

I N Ż Y N I E R I A
BIOMATERIAŁÓW

ENGINEERING OF BIOMATERIALS
CZASOPISMO POLSKIEGO STOWARZYSZENIA BIOMATERIAŁÓW

Numer 38–42
Rok VII
ISSN 1429-7248

PA DZIERNIK–
GRUDZIE 2004

WYDAWCA:

Polskie
Stowarzyszenie
Biomateriałów
w Krakowie

**KOMITET
REDAKCYJNY:**

Redaktor naczelny
Stanisław Bła ewicz

Sekretarz redakcji,
Skład komputerowy
Augustyn Powro nik

**RADA
NAUKOWA:**

**Jan Ryszard
D browski**

Jan Chłópek

Tadeusz Cie lik

**Monika Gierzy ska-
Dolna**

Andrzej Górecki

Wojciech Maria Ku

Jan Marciniak

Stanisław Mazurkiewicz

Stanisław Mitura

Roman Pampuch

**Bogna Pogorzelska-
Stronczak**

ADRES REDAKCJI:

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



SPIS TRE CI

SURFACE DESIGN TO CONTROL SOFT AND HARD TISSUE ADHESION FOR INTERNAL FRACTURE FIXATION	9
R.G. RICHARDS	
BIODEGRADABLE POLYURETHANES FOR SUBSTITUTIVE MEDICINE	10
S. GOGOLEWSKI	
IN VIVO CHARACTERIZATION OF POLY-L/D-LACTIDE (PLDLA) 96/4 SUTURES IN THE ACHILLES TENDON OF RABBITS	10
J. KANGAS, A. PAJALA, J. LEPPILAHTI, J. RYHÄNEN, S. LÄNSMAN, P. TÖRMÄLÄ, T. WARIS, N. ASHAMMAKHI	
RESORBABLE MULTIFUNCTIONAL ANTIBIOTIC RELEASING TACKS	11
J. TIAINEN, K. KNUUTILA, M. VEIRANTO, E. SUOKAS, T. WARIS, P. TÖRMÄLÄ, O. KAARELA, N. ASHAMMAKHI	
STUDY OF COMPLETE RESORPTION OF SELF-REINFORCED POLYLACTIDE-POLYGLYCOLIDE 80/20 SCREWS IN RABBIT CRANIAL BONE	12
J. TIAINEN, Y. SOINI, P. TÖRMÄLÄ, T. WARIS, N. ASHAMMAKHI	
RESORBABLE FIXATION OF MANDIBULAR FRACTURES	12
L. YLIKONTIOLA, K. SUNDQUIST, G. SANDOR, P. TÖRMÄLÄ, N. ASHAMMAKHI	
BIOASORBABLE OSTEOFIXATION USED DEVICES IN 165 CRANIAL AND MAXILLOFACIAL CASES: A MULTICENTER REPORT	13
N. ASHAMMAKHI, D.R. ENIER, E. ARNAUD, D. MARCHAC, M. NINKOVIC, D. DONAWAY, B. JONES, W. SERLO, K. LAURIKAINEN, P. TÖRMÄLÄ, T. WARIS	
INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CIPROFLOXACIN-RELEASING BIOABSORBABLE IMPLANT ON STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS ATTACHMENT AND BIOFILM FORMATION IN VITRO	13
S.M. NIEMELÄ, I. IKÄHEIMO, M. KOSKELA, M. VEIRANTO, E. SUOKAS, P. TÖRMÄLÄ, T. WARIS, N. ASHAMMAKHI, H. SYRJÄLÄ	
REPORT ON A NEW TECHNIQUE FOR CORRECTION OF TRIGONOCEPHALY USING BIOABSORBABLE OSTEOFIXATION TACKS AND PLATES AND A NOVEL TACK-SHOOTER	14
W. SERLO, N. ASHAMMAKHI, S. LÄNSMAN, P. TÖRMÄLÄ, T. WARIS	
STUDY OF BIOMECHANICAL PROPERTIES OF SELF-REINFORCED BIO-ABSORBABLE IMPLANTS FOR USE IN SMALL BONE FIXATION IN THE HAND	15
E. WARIS, H. HAPPONEN, T. RAATIKAINEN, O. KAARELA, P. TÖRMÄLÄ, S. SANTAVIRTA, Y.T. KONTTINEN, N. ASHAMMAKHI	
ADHESION AND GROWTH ON HUMAN OSTEOBLAST LIKE MG 63 CELLS IN CULTURES ON CALCIUM PHOSPHATE-BASED BIOMATERIALS CULTURES ON CALCIUM PHOSPHATE-BASED BIOMATERIALS	15
L. BAÁKOVÁ, I. JUNGOVÁ, A. LÓSARCZYK, A. ZIMA, Z. PASZKIEWICZ	

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

CONTENTS

SURFACE DESIGN TO CONTROL SOFT AND HARD TISSUE ADHESION FOR INTERNAL FRACTURE FIXATION	9
R.G. RICHARDS	
BIODEGRADABLE POLYURETHANES FOR SUBSTITUTIVE MEDICINE	10
S. GOGOLEWSKI	
IN VIVO CHARACTERIZATION OF POLY-L/D-LACTIDE (PLDLA) 96/4 SUTURES IN THE ACHILLES TENDON OF RABBITS	10
J. KANGAS, A. PAJALA, J. LEPPILAHTI, J. RYHÄNEN, S. LÄNSMAN, P. TÖRMÄLÄ, T. WARIS, N. ASHAMMAKHI	
RESORBABLE MULTIFUNCTIONAL ANTIBIOTIC RELEASING TACKS	11
J. TIAINEN, K. KNUUTILA, M. VEIRANTO, E. SUOKAS, T. WARIS, P. TÖRMÄLÄ, O. KAARELA, N. ASHAMMAKHI	
STUDY OF COMPLETE RESORPTION OF SELF-REINFORCED POLYLACTIDE-POLYGLYCOLIDE 80/20 SCREWS IN RABBIT CRANIAL BONE	12
J. TIAINEN, Y. SOINI, P. TÖRMÄLÄ, T. WARIS, N. ASHAMMAKHI	
RESORBABLE FIXATION OF MANDIBULAR FRACTURES	12
L. YLIKONTIOLA, K. SUNDQUIST, G. SANDOR, P. TÖRMÄLÄ, N. ASHAMMAKHI	
BIOASORBABLE OSTEOFIXATION USED DEVICES IN 165 CRANIAL AND MAXILLOFACIAL CASES: A MULTICENTER REPORT	13
N. ASHAMMAKHI, D. RENIER, E. ARNAUD, D. MARCHAC, M. NINKOVIC, D. DONAWAY, B. JONES, W. SERLO, K. LAURIKAINEN, P. TÖRMÄLÄ, T. WARIS	
INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CIPROFLOXACIN-RELEASING BIOABSORBABLE IMPLANT ON STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS ATTACHMENT AND BIOFILM FORMATION IN VITRO	13
S.M. NIEMELÄ, I. IKÄHEIMO, M. KOSKELA, M. VEIRANTO, E. SUOKAS, P. TÖRMÄLÄ, T. WARIS, N. ASHAMMAKHI, H. SYRJÄLÄ	
REPORT ON A NEW TECHNIQUE FOR CORRECTION OF TRIGONOCEPHALY USING BIOABSORBABLE OSTEOFIXATION TACKS AND PLATES AND A NOVEL TACK-SHOOTER	14
W. SERLO, N. ASHAMMAKHI, S. LÄNSMAN, P. TÖRMÄLÄ, T. WARIS	
STUDY OF BIOMECHANICAL PROPERTIES OF SELF-REINFORCED BIO-ABSORBABLE IMPLANTS FOR USE IN SMALL BONE FIXATION IN THE HAND	15
E. WARIS, H. HAPPONEN, T. RAATIKAINEN, O. KAARELA, P. TÖRMÄLÄ, S. SANTAVIRTA, Y.T. KONTTINEN, N. ASHAMMAKHI	
ADHESION AND GROWTH ON HUMAN OSTEOBLAST LIKE MG 63 CELLS IN CULTURES ON CALCIUM PHOSPHATE-BASED BIOMATERIALS CULTURES ON CALCIUM PHOSPHATE-BASED BIOMATERIALS	15
L. BAÁKOVÁ, I. JUNGOVÁ, A. LÓSARCZYK, A. ZIMA, Z. PASZKIEWICZ	

*Wydanie dofinansowane przez Komitet Bada Naukowych
Edition financed by State Committee for Scientific Research*

ADHESION AND PROLIFERATION OF VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS ON POLYLACTIDE-POLYETHYLENE OXIDE COPOLYMERS WITH DIFFERENT CONTENT AND LENGTH OF POLY ETHYLENE OXIDE CHAINS	19	ADHESION AND PROLIFERATION OF VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS ON POLYLACTIDE-POLYETHYLENE OXIDE COPOLYMERS WITH DIFFERENT CONTENT AND LENGTH OF POLY ETHYLENE OXIDE CHAINS	19
E. FILOVÁ, L. BA ÁKOVÁ, V. LISÁ, D. KUBIES, L. MACHOVÁ, M. LAP ÍKOVÁ, F. RYPÁ EK		E. FILOVÁ, L. BA ÁKOVÁ, V. LISÁ, D. KUBIES, L. MACHOVÁ, M. LAP ÍKOVÁ, F. RYPÁ EK	
JAK CZYNNIKI MIKROSTRUKTURALNE WPŁYWAJ NA DEGRADACJ Ę IN VITRO I IN VIVO KOPOLIMERU GLIKOLIDU Z L-LAKTYDEM	22	HOW MICROSTRUCTURAL FACTORS INFLUENCE IN VITRO AND IN VIVO DEGRADATION OF POLY(GLYCOLIDE-CO- L-LACTIDE)	22
E. PAMUŁA, J. BUCZY SKA, E. MENASZEK, P. DOBRZY SKI		E. PAMUŁA, J. BUCZY SKA, E. MENASZEK, P. DOBRZY SKI	
BADANIA WŁA CIWO CI MAGNETYCZNYCH ODLEWNICZEGO STOPU KOBALTU	27	MAGNETIC PROPERTIES OF COBALT CAST ALLOY	27
B. SUROWSKA, M. BŁASZCZAK		B. SUROWSKA, M. BŁASZCZAK	
BADANIE ZU YCIA POWŁOK CERAMICZNYCH NA TYTANIE I JEGO STOPIE	30	WEAR STUDY CERAMIC COATINGS ON Ti AND Ti-BASED ALLOY	30
B. SUROWSKA, M. WALCZAK, J. BIENIA		B. SUROWSKA, M. WALCZAK, J. BIENIA	
NISKOTOKSYCZNE ACETYLACETONIANY INICJATORAMI POLIMERYZACJI W GLANÓW	33	LESS TOXIC ACETYLACETONATES AS INITIATORS OF CARBONATE'S POLYMERIZATION	33
P. DOBRZY SKI, M. PASTUSIAK, M. BERO		P. DOBRZY SKI, M. PASTUSIAK, M. BERO	
KSZTAŁTOWANIE NADSPR YSTYCH PIER CIENI I SPR YN ZE STOPÓW NiTi DLA KRANIOPLASTYKI	36	FORMATION OF SUPERELASTIC NITI RINGS AND SPRINGS FOR CRANIOPLASTY	36
H. MORAWIEC, Z. LEKSTON, K. KOBUS, M. W GRZYN, J. DRUGACZ		H. MORAWIEC, Z. LEKSTON, K. KOBUS, M. W GRZYN, J. DRUGACZ	
OCENA WPŁYWU WYBRANYCH MATERIAŁÓW CERAMICZNYCH NA FIBROBLASTY I OSTEOBLASTY W HODOWLI IN VITRO	39	HUMAN FIBROBLASTS AND OSTEOBLASTS IN CONTACT WITH CALCIUM CARBONATES	39
A. CHRÓ CICKA, P. Wo NIAK, R. OLKOWSKI, M. LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ, S. MICHAŁOWSKI, Z. JAEGERMANN, J. KARA		A. CHRÓ CICKA, P. Wo NIAK, R. OLKOWSKI, M. LEWANDOWSKA - SZUMIEŁ, S. MICHAŁOWSKI, Z. JAEGERMANN, J. KARA	
MODYFIKACJA TYTANU TECHNICZNEGO I STOPU Ti6Al4V POPRZEZ AZOTOWANIE JARZENIOWE - MIKROSTRUKTURA I WŁA CIWO CI	42	MODIFICATION OF CP Ti AND Ti6Al4V BY NITRIDING UNDER GLOW DISCHARGE - MICROSTRUCTURE AND PROPERTIES	42
A. CZYRSKA-FILEMONOWICZ, T. MOSKALEWICZ, M. ŁUCKI, M. KOT, S. ZIMOWSKI, W. RAKOWSKI, T. WIERZCHO		A. CZYRSKA-FILEMONOWICZ, T. MOSKALEWICZ, M. ŁUCKI, M. KOT, S. ZIMOWSKI, W. RAKOWSKI, T. WIERZCHO	
OCENA EFEKTÓW CIEPLNYCH PODCZAS UTWARDZANIA MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH DO ZASTOSOWA W STOMATOLOGII ZACHOWAWCZEJ	45	EVALUATION OF THERMAL EFFECTS DURING THE PROCESS OF CURING OF COMPOSITE MATERIALS FOR APPLICATIONS IN RESTORATIVE DENTISTRY	45
J. KARA , L. CIOŁEK		J. KARA , L. CIOŁEK	
WPŁYW PREPARATÓW WYBIELAJ CYCH Z NADTLENKIEM MOCZNIKA NA MIKROTWARDKO POWIERZCHNI SZKLIWA - BADANIA IN VITRO	47	IN VITRO EFFECT OF CARBAMIDE PEROXIDE GEL BLEACHING AGENTS ON THE MICROHARDNESS OF HUMAN ENAMEL	47
D. Ko CIELNIAK, M. CHOMYSZYN-GAJEWSKA, E. PAMUŁA		D. Ko CIELNIAK, M. CHOMYSZYN-GAJEWSKA, E. PAMUŁA	
OCENA WŁA CIWO CI KOMPOZYTÓW NA BAZIE STOPU IMPLANTACYJNEGO Co-Cr-Mo	50	THE ESTIMATION OF THE PROPERTIES OF IMPLANT Co-Cr-Mo-ALLOY BASED COMPOSITES	50
M. GR DZKA-DAHLKE, J.R. D BROWSKI		M. GR DZKA-DAHLKE, J.R. D BROWSKI	
WPŁYW EFEKTU GI CIA NA ZACHOWANIE STOPU TYTANU Ti6Al4V W BADANIACH IN VITRO	53	THE EFFECT OF BENDING ON THE ELECTROCHEMICAL BEHAVIOUR OF Ti6Al4V ALLOY IN VITRO	53
E. KRASICKA-CYDZIK, A. KIERZKOWSKA		E. KRASICKA-CYDZIK, A. KIERZKOWSKA	
BIOAKTYWNO POWIERZCHNI STOPÓW TYTANU PODDANYCH UTLENIANIU ANODOWEMU W H ₃ PO ₄	57	BIOACTIVITY OF TITANIUM ALLOYS SURFACE PREPARED BY ANODIC OXIDATION IN H ₃ PO ₄	57
E. KRASICKA-CYDZIK, I. GŁAZOWSKA, M. MICHALSKI		E. KRASICKA-CYDZIK, I. GŁAZOWSKA, M. MICHALSKI	
MODYFIKACJE POWIERZCHNI SIATECZEK TYTANOWYCH PRZEZNACZONYCH NA IMPLANTY	60	SURFACE MODIFICATIONS OF TITANIUM MESH INTENDED FOR BONE IMPLANTS	60
M. LEWANDOWSKA, H. GARBACZ, W. FABIANOWSKI, B. POLAK, M. LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ		M. LEWANDOWSKA, H. GARBACZ, W. FABIANOWSKI, B. POLAK, M. LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ	

WPLYW CZĘSTOTLIWOŚCI PRACY LASERA NA TEKSTURĘ I NAPIĘCIE WŁASNE W WARSTWACH Z HAP OSADZANYCH Z WYKORZYSTANIEM LASERA ArF	63	INFLUENCE OF LASER FREQUENCY ON THE TEXTURE AND RESIDUAL STRESS IN THE HAp LAYERS DEPOSITED BY ArF LASER	63
W. MRÓZ, R. MAJOR, A. PROKOPIUK, T. WIERZCHO, J. BONARSKI, K. HABERKO, B. MAJOR		W. MRÓZ, R. MAJOR, A. PROKOPIUK, T. WIERZCHO, J. BONARSKI, K. HABERKO, B. MAJOR	
BIOZGODNE POWŁOKI NA BAZIE TiN WYTWORZONE NA PODŁOŻU METALICZNYM I NIEMETALICZNYM Z WYKORZYSTANIEM ABLACJI LASEROWEJ	66	BIOCOMPATIBLE TiN BASED COATINGS ON METALLIC TITANIUM SUBSTRATE PRODUCED BY LASER	66
R. MAJOR, E. CZARNOWSKA, A. SOWIŃSKA, R. KUSTOSZ, J.M. LACKNER, W. WALDHAUSER, M. WOŃNIAK, W. MRÓZ, T. WIERZCHO, B. MAJOR		R. MAJOR, E. CZARNOWSKA, A. SOWIŃSKA, R. KUSTOSZ, J.M. LACKNER, W. WALDHAUSER, M. WOŃNIAK, W. MRÓZ, T. WIERZCHO, B. MAJOR	
WIELOWARSTWOWE POWŁOKI TRIBOLOGICZNE TYPU Ti/TiN ORAZ Cr/CrN WYTWORZONE NA DRODZE ABLACJI LASEROWEJ DO ZASTOSOWA W WSPOMAGAJĄCEJ APARATURZE MEDYCZNEJ	68	TRIBOLOGICAL MULTILAYERS OF Ti/TiN AND Cr/CrN TYPE PRODUCED BY LASER ABLATION FOR APPLICATION IN ASSISTED MEDICAL EQUIPMENT	68
Ł. MAJOR, J. M. LACKNER, J. MORGIEL, R. KUSTOSZ, T. WIERZCHO, B. MAJOR		Ł. MAJOR, J.M. LACKNER, J. MORGIEL, R. KUSTOSZ, T. WIERZCHO, B. MAJOR	
TECHNOLOGIA WYTWARZANIA TYTANOWEJ KOMORY WSPOMAGAJĄCEJ SZTUCZNEGO SERCA W PROCESIE TŁOCZENIA ELEMENTÓW O ZŁOŻONYM KSZTAŁCIE	71	TECHNOLOGY OF THE TITANIUM DEEP DRAWING PROCESS OF THE SEMI-PRODUCT ELEMENTS WITH COMPLEX SHAPE FOR THE HEART SUPPORT CHAMBER	71
W. MUZYKIEWICZ, A. RAKAS, R. MAJOR, R. KUSTOSZ, B. MAJOR		W. MUZYKIEWICZ, A. RAKAS, R. MAJOR, R. KUSTOSZ, B. MAJOR	
WŁAŚCIWOŚCI KOMPOZYTÓW CERAMICZNO-POLIMEROwych PRZEZNACZONYCH NA STAŁE WYPEŁNIENIA STOMATOLOGICZNE	73	PROPERTIES OF THE CERAMIC-POLYMER COMPOSITES USED FOR PERMANENT FILLINGS	73
M. LEWANDOWSKA, M. ANDRZEJCZUK, K. SIKORSKI, K.J. KURZYDŁOWSKI		M. LEWANDOWSKA, M. ANDRZEJCZUK, K. SIKORSKI, K.J. KURZYDŁOWSKI	
OCENA WYTRZYMAŁOŚCI UTWIERDZENIA TYTANOWEJ KOTWICY O-C-A-M Z PRZEZNACZENIEM DO KRĘGOSŁUPA	77	EVALUATION OF FIXATION STRENGTH OF THE SPINAL TITANIUM O-C-A-M ANCHOR	77
L. CIUPIK, A. KIERZKOWSKA, W. JARMUNDOWICZ, A. RADEK, D. ZARZYCKI		L. CIUPIK, A. KIERZKOWSKA, W. JARMUNDOWICZ, A. RADEK, D. ZARZYCKI	
NOWE FUNKCJE PROTEZ KRĘGOSŁUPA ZŁĄCZENIA SPECYFICZNYCH WŁASNOŚCI POLIMERU PEEK I ROZWIĄZANIA KONSTRUKCYJNEGO	80	NEW FUNCTIONS OF THE SPINAL PROSTHESES RESULTING FROM COMBINING DESIGN AND SPECIFIC PROPERTIES OF PEEK POLYMER	80
L. CIUPIK, Ł. J. DRYCH, P. POWCHOWICZ, J. PIENIEK		L. CIUPIK, Ł. J. DRYCH, P. POWCHOWICZ, J. PIENIEK	
ANALIZA NUMERYCZNA UKŁADU STENT - NACZYNIENIE W WARUNKACH ANGIOPLASTYKI WIECOWEJ	84	NUMERICAL ANALYSIS OF THE STENT-CORONARY VESSEL SYSTEM IN CONDITIONS OF CORONARY ANGIOPLASTY	84
J. MARCINIAK, W. WALKE, Z. PASZENDA		J. MARCINIAK, W. WALKE, Z. PASZENDA	
FUNKCJE LECZNICZE A MATERIAŁ I KONSTRUKCJA IMPLANTU TYPU INSPIN DO STABILIZACJI MIĘDZYWYROSTKOWEJ KRĘGOSŁUPA	86	MATERIAL AND DESIGN INFLUENCE ON THE HEALING FUNCTIONS OF THE INSPIN TYPE IMPLANT FOR THE INTERSPINOUS STABILIZATION	86
L. CIUPIK, A. GRACZYK, M. GAJEWSKI, A. MACIEJCZAK, A. RADEK, D. ZARZYCKI		L. CIUPIK, A. GRACZYK, M. GAJEWSKI, A. MACIEJCZAK, A. RADEK, D. ZARZYCKI	
WSZCZEPY SOCZEWEK TYLNOKOMOROWYCH MOCOWANYCH DO TWARDÓWKI-MODYFIKACJA WŁASNA METODY FIKSACJI	92	TRANSCLERAL FIXATION OF PCIO-L-MODIFICATION OF THE METHOD	92
M. FORMIŃSKA-KAPUŚCIK, E. STEUER, G. PIETEK-KORONOWSKA, B. KAMIŃSKA OLECHNOWICZ, O. DOMAŃSKA		M. FORMIŃSKA-KAPUŚCIK, E. STEUER, G. PIETEK-KORONOWSKA, B. KAMIŃSKA OLECHNOWICZ, O. DOMAŃSKA	
WŁAŚCIWOŚCI TWORZYW KALCYTOWYCH PRZEZNACZONYCH NA NOKLE WYWIJANYCH KOMÓREK	94	PROPERTIES OF CALCITE MATERIALS FOR CELL CULTURE SCAFFOLDS	94
S. MICHAŁOWSKI, Z. JAEGERMANN, J. KARA		S. MICHAŁOWSKI, Z. JAEGERMANN, J. KARA	
ANTYINFEKCYJNE WŁAŚCIWOŚCI ELATYNOWANYCH PROTEZ NACZYNIOWYCH MODYFIKOWANYCH GENTAMYCYN	96	ANTI-INFECTION PROPERTIES OF GELATINATED VASCULAR PROSTHESES MODIFIED BY COVALENT GENTAMICIN IMMOBILIZATION	96
M. OSIŃSKA, G. GINAŁSKA, A. BELCARZ		M. OSIŃSKA, G. GINAŁSKA, A. BELCARZ	
MODYFIKACJA POLIETYLENU O WYSOKIEJ GĘSTOŚCI I KOPOLIMEREM KWASU ASPARAGINOWEGO	99	MODIFICATION OF HD POLYETHYLENE USING HOMO AND COPOLYMER OF POLY(ASPARTIC ACID)	99
J. POŁACZEK, E. DZIKI, M. WĄS, J. PIELICHOWSKI		J. POŁACZEK, E. DZIKI, M. WĄS, J. PIELICHOWSKI	

ODPORNO NA ZUŻYCIE NARZĘDZI MEDYCZNYCH	102
GIERZYŃSKA-DOLNA M., ADAMUS J., SZYPROWSKI J., SOBOCIŃSKI M.	
WPLYW MODYFIKACJI POWIERZCHNIOWEJ Z ZASTOSOWANIEM CIENKICH FILMÓW POLIELEKTROLITOWYCH NA OSTEOLASTY IN VITRO	106
B. POLAK, W. FABIANOWSKI, M. LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ	
BADANIE SPĘCZNIANIA MULTIBLOKOWEGO POLI(ALIFATYCZNO/AROMATYCZNEGO-ESTRU) (PED)	109
P. PROWANS	
BADANIE UWALNIANIA GENTAMYCYN Z NOWEGO MULTIBLOKOWEGO POLI(ALIFATYCZNO/AROMATYCZNEGO-ESTRU) - BADANIA IN VIVO	112
P. PROWANS	
STRUKTURA POŁĄCZEŃ METAL-CERAMIKA W STOPACH DO NAPALANIA PORCELANY	114
M. RICHERT, R. ORLICKI	
BIODEGRADOWALNE PODŁOŻA DO HODOWLI TKANKOWYCH O BIMODALNYM ROZKŁADZIE WIELKOŚCI PORÓW	118
M. GADZINOWSKI, S. SOSNOWSKI, S. SŁOMKOWSKI	
WPLYW TIN NA TWORZENIE BIOFILMU I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNYCH KOMÓREK W WARUNKACH IN VITRO	120
A. SOWIŃSKA, A. ZAJCZKOWSKA, B. CUKROWSKA, T. WIERZCHO, R. SOBIECKI, E. CZARNOWSKA	
OCENA WPLYWU MATERIAŁÓW Z DIBUTYRYLOCHITYNY NA AKTYWACJĘ UKŁADU KRZEPNI CIĄ	123
M. SZYMONOWICZ, D. PALUCH, L. SOLSKI, S. PIELKA, A. BŁASIŃSKA, I. KRUCIŃSKA, L. SZOSLAND	
PRZEŻYWALNOŚĆ KOMÓREK ENKAPSULOWANYCH W HYDROGELACH ALGINIANOWYCH	126
P. WOŃNIAK, K. FILIPCZAK, A.K. OLEJNIK, M. LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ	
OCENA WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNYCH BŁON CHITOZANOWYCH	129
E. WYŁON, Z. MODRZEJEWSKA, P. OW CZARZ, R. ZARZYCKI	
BADANIE PROCESU DEGRADACJI KOMPOZYTÓW Z POLIMERÓW RESORBOWALNYCH W WARUNKACH IN VITRO	132
J. CHŁOPEK, A. MORAWSKA, L. UMASKA, C. PALUSZKIEWICZ	
PRZEMIESZCZENIA ODŁAMÓW KOSTNYCH JAKO CZYNNIK DETERMINUJĄCY ROZWÓJ REGENERATU KOSTNEGO	136
J. FILIPIAK, K. CIGAŁA	
BIOZGODNOŚĆ W WARUNKACH IN VITRO DYFUZYJNEJ WARSTWY TYPU Ti₃P WYTWORZONEJ NA STOPIE TYTANU	139
A. ZAJCZKOWSKA, A. SOWIŃSKA, E. SIKORSKA, B. CUKROWSKA, T. WIERZCHO, E. CZARNOWSKA	
POWŁOKI FOSFORANOWO-KRZEMIANOWE I KRZEMIANOWE MODYFIKOWANE CZĘSTKAMI HYDROKSYAPATYTU	141
M. ROKITA, A. BRODZIEK, M. HANDKE	

WEAR RESISTANCE OF THE MEDICAL TOOLS	102
GIERZYŃSKA-DOLNA M., ADAMUS J., SZYPROWSKI J., SOBOCIŃSKI M.	
INFLUENCE OF SURFACE MODIFICATION BY POLYELECTROLYTE THIN FILMS ON OSTEOLAST IN VITRO	106
B. POLAK, W. FABIANOWSKI, M. LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ	
SWELLING BEHAVIOUR OF MULTIBLOCK POLI(ALIPHATIC/AROMATIC-ESTER) (PED)	109
P. PROWANS	
EVALUATION OF GENTAMYCIN RELEASE FROM NEW MULTIBLOCK POLI(ALIPHATIC/AROMATIC-ESTER) - IN VIVO INVESTIGATIONS	112
P. PROWANS	
STRUCTURE OF METAL-CERAMICS JOINS IN PORCELAIN COATING ALLOYS	114
M. RICHERT, R. ORLICKI	
BIODEGRADABLE SCAFFOLDS WITH A BIMODAL PORE SIZE DISTRIBUTION	118
M. GADZINOWSKI, S. SOSNOWSKI, S. SŁOMKOWSKI	
THE EFFECT OF TIN ON FORMED BIOFILM AND CELL BEHAVIOR IN VITRO	120
A. SOWIŃSKA, A. ZAJCZKOWSKA, B. CUKROWSKA, T. WIERZCHO, R. SOBIECKI, E. CZARNOWSKA	
EVALUATION OF THE INFLUENCE OF DIBUTYRYLOCHITIN MATERIALS FOR ACTIVATION OF BLOOD COAGULATION SYSTEM	123
M. SZYMONOWICZ, D. PALUCH, L. SOLSKI, S. PIELKA, A. BŁASIŃSKA, I. KRUCIŃSKA, L. SZOSLAND	
VIABILITY OF CELLS ENCAPSULATED IN ALGINATE HYDROGEL	126
P. WOŃNIAK, K. FILIPCZAK, A.K. OLEJNIK, M. LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ	
ASSESSMENT OF PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF CHITOSAN MEMBRANES	129
E. WYŁON, Z. MODRZEJEWSKA, P. OW CZARZ, R. ZARZYCKI	
THE "IN VITRO" STUDY OF DEGRADATION PROCESS IN COMPOSITES MADE OF RESORBABLE POLYMERS	132
J. CHŁOPEK, A. MORAWSKA, L. UMASKA, C. PALUSZKIEWICZ	
DISPLACEMENT OF BONE FRAGMENTS AS A FACTOR DETERMINING BONE REGENERATE FORMATION	136
J. FILIPIAK, K. CIGAŁA	
BIOCOMPATIBILITY OF DIFFUSION Ti₃P LAYER PRODUCED ON TITANIUM ALLOY SURFACE IN IN VITRO STUDY	139
A. ZAJCZKOWSKA, A. SOWIŃSKA, E. SIKORSKA, B. CUKROWSKA, T. WIERZCHO, E. CZARNOWSKA	
PHOSPHO-SILICATE AND SILICATE LAYERS MODIFIED BY HYDROXYAPATITE PARTICLES	141
M. ROKITA, A. BRODZIEK, M. HANDKE	

WPLYW POLIMERÓW ZASTOSOWANYCH JAKO NO NIKI
LEKÓW W PO-ROWATYCH IMPLANTACH
KORUNDOWYCH NA LEUKOCYTY LUDZKIEJ KRWI
OBWODOWEJ- BADANIA IN VITRO 143
S. PIELKA, A. CZARNY, E. ZACZY SKA, B. YWICKA, J. KARA ,
Z. JAEGERMANN, S. MICHAŁOWSKI

POPRAWA WŁA CIWO CI IMPLANTACYJNEGO
STOPU Co-Cr-Mo ZA POMOC POWŁOKI TiO₂
NAKLADANEJ METOD ZOL- EL 146
B. PIETRZYK, L. KLIMEK, S. MISZCZAK

WARSTWA WIERZCHNIA TYTANU TECHNICZNEGO
PRZEZNACZONEGO NA IMPLANTY 148
J. JASI SKI, B. STODOLNIK, R. TORBUS , L. JEZIORSKI

KOMPOZYTY CERAMICZNO-POLIMEROWE NA BAZIE
POROWA-TEGO HYDROKSYAPATYTU I MAKRO-
MONOMERÓW LAKTYDOWO-W GLANOWYCH 150
M. SZAFRAN, E. BOBRYK, M. BEREZA, P. PARZUCHOWSKI

WPLYW NA WIETLANIA PROMIENIOWANIEM UV
I DZIAŁANIA PLAZMY H₂O₂ NA WŁA CIWO CI
POLISULFONU I POLIPROPYLENU 154
J. KOWAL, B. CZAJKOWSKA, E. BULWAN

WPLYW CHEMICZNEJ I FIZYCZNEJ MODYFIKACJI
POWIERZCHNI POLISULFONU NA REAKCJE
KOMÓRKOWE IN VITRO 157
B. CZAJKOWSKA, J. KOWAL, M. BŁA EWICZ,
M. PTAK, M. BOBEK, J. CIE LIK

KOROZJA ELEKTROCHEMICZNA STOPU Ti6Al4V
Z WARSTWAMI NANOKRYSTALICZNEGO
DIAMENTU 160
G. BOGUSŁAWSKI, T. BŁASZCZYK, H. SCHOLL

POWŁOKI HYDROKSYAPATYTU NA AZOTOWANYM
STOPIE TYTANU Ti6Al4V 164
A. STOCH, E. DŁUGO , W. JASTRZ BSKI, B. TRYBALSKA,
T. WIERZCHO

WPLYW OBRÓBKII TERMICZNEJ POWŁOK NA
PODŁO U TYTANU NA AKTYWNO KOMÓREK IN
VITRO 168
A. STOCH, B. CZAJKOWSKA, E. DŁUGO , M. BOBEK,
A. MORAWSKA

WPLYW WYBRANYCH NAPEŁNIACZY PROSZKOWYCH
NA WŁA CIWO CI KOMPOZYTÓW NA BAZIE
YWICY Bis-GMA 171
J. ROMANIUK, M. LEWANDOWSKA,
J.R. D BROWSKI, K.J. KURZYDŁOWSKI

WPLYW PROCESU PEŁ-ZANIA W WARUNKACH
IN VITRO NA CZAS YCIA POLI(LAKTYDO-
KO-GLIKOLIDU) I JEGO KOMPOZYTÓW 175
J. CHŁOPEK, P. ROSÓŁ, W. KRZANOWSKI, K. MIGACZ

BADANIA ZM CZENIOWE KOMPOZYTÓW W GIEL-
W GIEL MODYFIKOWANYCH HYDROKSY-
APATYTEM 178
B. SZARANIEC, J. CHŁOPEK, J. PIEKARCZYK

MAGNETYZM W SŁU BIE ORGANIZMÓW YWYCH 181
M. WÓJCIK

BIOMINERALIZACJA W WIECIE ORGANIZMÓW
YWYCH. BIOMIMETYZM 188
A. STOCH

INFLUENCE OF POLYMERS USED AS MEDICAMENTS
CARRIERS IN POROUS CORUNDUM GRAFTS ON
LEUKOCYTES OF HUMAN PERIPHERAL BLOOD-
IN VITRO STUDIES 143
S. PIELKA, A. CZARNY, E. ZACZY SKA, B. YWICKA, J. KARA ,
Z. JAEGERMANN, S. MICHAŁOWSKI

IMPROVEMENT IN PROPERTIES OF THE Co-Cr-Mo
IMPLANT ALLOY BY MEANS OF TiO₂
SOL-GEL COATING 146
B. PIETRZYK, L. KLIMEK, S. MISZCZAK

SURFACE LAYER OF TECHNICAL TITANIUM
USEING FOR PRODUCING IMPLANTS 148
J. JASI SKI, B. STODOLNIK, R. TORBUS , L. JEZIORSKI

CERAMIC-POLYMER COMPOSITES BASED ON
OROUS HYROXYAPATITE AND LACTIDE-CARBONATE
MACROMONOMERS 150
M. SZAFRAN, E. BOBRYK, M. BEREZA, P. PARZUCHOWSKI

THE EFFECT OF UV IRRADIATION AND H₂O₂ PLASMA
TREATMENT ON THE PROPERTIES OF POLYSULFONE
AND POLYPROPYLENE 154
J. KOWAL, B. CZAJKOWSKA, E. BULWAN

THE IMPACT OF CHEMICAL AND PHYSICAL
MODIFICATION OF POLYSULFONE SURFACE
ON CELLULAR REACTIONS IN VITRO 157
B. CZAJKOWSKA, J. KOWAL, M. BŁA EWICZ,
M. PTAK, M. BOBEK, J. CIE LIK

ELECTROCHEMICAL CORROSION OF Ti6Al4V
ALLOY WITH NANOCRYSTALLINE DIAMOND
COATINGS 160
G. BOGUSŁAWSKI, T. BŁASZCZYK, H. SCHOLL

HYDROXYAPATITE COATINGS ON NITRIDED
TITANIUM ALLOY SURFACE 164
A. STOCH, E. DŁUGO , W. JASTRZ BSKI, B. TRYBALSKA,
T. WIERZCHO

THE INFLUENCE OF THERMAL TREATMENT
OF COATINGS ON TITANIUM SUPPORT
ON CELLULAR REACTIONS IN VITRO 168
A. STOCH, B. CZAJKOWSKA, E. DŁUGO , M. BOBEK,
A. MORAWSKA

THE EFFECT OF SELECTED POWDER FILLERS ON
PROPERTIES OF THE BIS-GMA RESIN BASED
COMPOSITES 171
J. ROMANIUK, M. LEWANDOWSKA,
J.R. D BROWSKI, K.J. KURZYDŁOWSKI

THE ETECT OF "IN VITRO" CREEP ON LIFETIME
OF POLY(LACTIDO-CO-GLYCOLIDE)
AND ITS COMPOSITES 175
J. CHŁOPEK, P. ROSÓŁ, W. KRZANOWSKI, K. MIGACZ

FATIGUE TESTS OF CARBON-CARBON COMPOSITES
MODIFIED WITH HYDROXY-APATITE 178
B. SZARANIEC, J. CHŁOPEK, J. PIEKARCZYK

MAGNETISM IN SERVICE WITH LIVING ORGANISMS 181
M. WÓJCIK

BIOMINERALIZATION IN LIVING ORGANISMS.
BIOMIMETISM 188
A. STOCH

PROSZEK DIAMENTOWY JAKO INHIBITOR STRESU OKSYDACYJNEGO INDUKOWANEGO PRZEZ AAPH K. B. KOWICZ, G. BARTOSZ	192	DIAMOND POWDER PARTICLES AS AN INHIBITOR OF OXIDATIVE STRESS INDUCED BY FREE RADICAL INITIATOR AAPH K. B. KOWICZ, G. BARTOSZ	192
OCENA MODYFIKOWANEJ POWIERZCHNI NiTi ZA POMOC WARSTWY NANOKRYSTALICZNEGO DIAMENTU M. CZERNIAK-RECZULSKA, A. PEŁKA, A. SYSA, J. GRABARCZYK	193	ESTIMATION NiTi SURFACE MODIFICATION FOR NANOCRYSTALLINE DIAMOND LAYER M. CZERNIAK-RECZULSKA, A. PEŁKA, A. SYSA, J. GRABARCZYK	193
WPŁYW WYBRANYCH METOD OBRÓBKI CHEMICZNEJ NA WŁA CIWO CI STRUKTUR KOSTNYCH A. OSTROWSKA, P. KUROPKA, R. B. DZI SKI, J. KURYSZKO	194	THE INFLUENCE OF CHOISSING CHEMICAL METHODS TO BONE STRUCTURES PROPERTIES A. OSTROWSKA, P. KUROPKA, R. B. DZI SKI, J. KURYSZKO	194
WPŁYW PROMIENIOWANIA JONIZUJ CEGO NA POLI(SILOKSANOURETANY) – MATERIAŁU PRZEZNACZONEGO DO ZASTOSOWA BIOMEDYCZNYCH I. LEGOCKA, J. SĄDŁO, S. WARCHOŁ, G. PRZYBYTNIK	197	AN INFLUENCE OF IONISING RADIATION ON POLY-(SILOXANEURETHANES)-MATERIAL FOR BIOMEDICAL APPLICATION I. LEGOCKA, J. SĄDŁO, S. WARCHOŁ, G. PRZYBYTNIK	197
WYBRANE ASPEKTY FORMOWANIA BIOZGODNYCH POWŁOK DWUWI ZKOW METOD IBAD B. RAJCHEL, L.M. PRONIEWICZ, M. MITURA, J. BONARSKI, W. RAKOWSKI	199	SOME ASPECTS OF CREATION BIO-COMPATIBLE COATING LAYERS BY DUAL BEAM IBAD METHOD B. RAJCHEL, L.M. PRONIEWICZ, M. MITURA, J. BONARSKI, W. RAKOWSKI	199
BIOMEDYCZNE SKUTKI KONTAKTU TKANKI Z IMPLANTEM B. WALKOWIAK	200	BIOMEDICAL EFFECT OF TISSUE CONTACT WITH AN IMPLANT B. WALKOWIAK	200
PODATNO POWIERZCHNI BIOMATERIAŁU NA KOLONIZACJ BAKTERIAMI ZALE Y OD RODZAJU TEJ POWIERZCHNI W. JAKUBOWSKI, W. SZYMA SKI, W. OKRÓJ, I. PRZYBYSZEWSKA-DORO , M. PIREK, B. WALKOWIAK	206	A SUSCEPTIBILITY OF BIOMATERIAL SURFACE TO BACTERIAL COLONIZATION DEPENDS ON TYPE OF THIS SURFACE W. JAKUBOWSKI, W. SZYMA SKI, W. OKRÓJ, I. PRZYBYSZEWSKA-DORO , M. PIREK, B. WALKOWIAK	206
BADANIA IN VITRO, TERPOLIMERU PVDF-PTFE-PP, MODYFIKOWANEGO WŁÓKNAMI ALGINIANOWYMI E. STODOLAK, B. CZAJKOWSKA, M. BŁA EWICZ, T. MIKOŁAJCZYK, D. WOŁOWSKA-CZAPNIK	208	IN VITRO BEHAVIOR OF PP-PVDF-PTFE TERPOLYMER MODIFIED WITH ALGINATE FIBRES E. STODOLAK, B. CZAJKOWSKA, M. BŁA EWICZ, T. MIKOŁAJCZYK, D. WOŁOWSKA-CZAPNIK	208
WŁA CIWO CI ZM CZENIOWE I BIOLOGICZNE PROTEZY TCHAWICY WYKONANEJ Z POLIMERU I AKTYWNYCH WŁÓKIEN W GŁOWYCH W. CIERSKI, G. NAMYSŁOWSKI, S. BŁA EWICZ, J. PILCH	211	FATIGUE AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF TRACHEAL PROsthESIS MADE FROM POLYMER AND ACTIVE CARBON FIBRES W. CIERSKI, G. NAMYSŁOWSKI, S. BŁA EWICZ, J. PILCH	211
ODPOWIED TKANEK MI KKICH NA POROWATE I LITE IMPLANTY PGLA E. MENASZEK, B. OGRODNa, M. OŁNIEREK, E. PAMUŁA	212	THE SOFT-TISSUE RESPONSE TO POROUS AND SOLID IMPLANTS OF PGLA E. MENASZEK, B. OGRODNa, M. OŁNIEREK, E. PAMUŁA	212
ZASTOSOWANIE IMPLANTÓW W OKULISTYCE R. LESZCZY SKI, B. KAMI SKA -OLECHNOWICZ, M. FORMI SKA-KAPU CIK	217	IMPLANTS IN OPHTHALMOLOGY R. LESZCZY SKI, B. KAMI SKA-OLECHNOWICZ, M. FORMI SKA-KAPU CIK	217
CHARAKTERYSTYKA WARSTW PASYWNYCH WYTWORZONYCH NA IMPLANTACYJNYM STOPIE TYTANU J. MARCINIAK, W. CHRZANOWSKI, G. NAWRAT	221	CHARACTERISATION OF PASSIVE LAYERS ON THE TITANIUM ALLOY USED FOR MEDICINE J. MARCINIAK, W. CHRZANOWSKI, G. NAWRAT	221
WPŁYW NANODODATKU SiO ₂ NA WŁA CIWO CI PREKURSOROWYCH WŁÓKIEN PAN I UZYSKANYCH Z NICH WŁÓKIEN W GŁOWYCH T. MIKOŁAJCZYK, M. BOGU , I. PIEKARCZYK, M. BŁA EWICZ, D. WOŁOWSKA-CZAPNIK	224	EFFECT OF SILICA NANO- PARTICLES ON THE PROPERTIES OF PRECURSOR PAN FIBRES AND OBTAINED FROM THEM CARBON FIBRES T. MIKOŁAJCZYK, M. BOGU , I. PIEKARCZYK, M. BŁA EWICZ, D. WOŁOWSKA-CZAPNIK	224
WCZESNY OKRES OBSERWACJI BIORESORBOWALNEGO KOMPOZYTU KOPOLIMERU P(LLA/GLA) WPROWADZONEGO W KO UDOWA KRÓLIKA- BADANIA DO WIADCZALNE G. BAJOR, M. ADWENT, A. CIE LIK-BIELECKA, P. STARZAK, M. PROSZEK, J. CHŁOPEK, D. SABAT, T. CIE LIK	228	THE PRELIMINARY PERIOD OF THE OBSERVATION OF THE BIORESORBABLE COMPOSITE OF THE COPOLYMER P (LLA/GLA) INSERTED INTO RABBIT'S FEMORAL BONE-EXPERIMENTAL RESEARCHES G. BAJOR, M. ADWENT, A. CIE LIK-BIELECKA, P. STARZAK, M. PROSZEK, J. CHŁOPEK, D. SABAT, T. CIE LIK	228

SZE CIOTYGODNIOWY OKRES OBSERWACJI WSZCZEPÓW P(LLA/GLA)+CF WPROWADZONYCH W KO UDOW KRÓLIKA	231
G. BAJOR, M. ADWENT, A. CIE LIK-BIELECKA, P. STARZAK, M. PROSZEK, D. SABAT, T. CIE LIK	
BIOZGODNE I NIE BIOZGODNE PRODUKTY DEGRADACJI WŁÓKIEN W GLOWYCH	234
M. BŁA EWICZ, E. MENASZEK, E. STASZKÓW, A. POWRO NIK	
POROWATE WSZCZEPY Z BOWE Co-Cr-Mo Z BIOSZKŁEM Z NATYCH-MIASTOW ODBUDOW PROTETYCZNYCH - WST PNE BADANIA DO WIADCZALNE	236
M. ADWENT, A. CIE LIK-BIELECKA, T. CIE LIK	
OCENA WST PNA KOPOLIMERÓW P(LLA/GLA) WPROWADZONYCH W TKANKI MI KKIE I UCHWY KRÓLIKÓW NOWOZELANDZKICH	238
A. CIE LIK-BIELECKA, M. ADWENT, M. PROSZEK, G. BAJOR, D. SABAT, T. CIE LIK	
WCZESNE OBSERWACJE GOJENIA SI WSZCZEPÓW KOPOLIMERÓW P(LLA/GLA)+HA WSZCZEPIONYCH W UCHWY I TKANKI MI KKIE KRÓLIKÓW	240
M. ADWENT, A. CIE LIK-BIELECKA, M. PROSZEK, G. BAJOR, D. SABAT, T. CIESLIK	
OCENA GOJENIA RAN KOSTNYCH UCHWY KRÓLIKÓW WYPEŁNIONYCH KOPOLIMEREM P(LLA/GLA) WZMACNIANYM WŁÓKNAMI W GLOWYMI	242
M. PROSZEK, M. ADWENT, A. CIE LIK-BIELECKA, G. BAJOR, D. SABAT, T. CIE LIK, A. MORAWSKA	

THE SIX WEEKS OBSERVATION PERIOD OF THE IMPLANTS P (LLA/GLA)+C INSERTED IN TO RABBIT'S FEMORAL BONE	231
G. BAJOR, M. ADWENT, A. CIE LIK-BIELECKA, P. STARZAK, M. PROSZEK, D. SABAT, T. CIE LIK	
BIOCOMPATIBLE AND NON - BIOCOMPATIBLE DEGRADATION PRODUCTS OF CARBON FIBERS	234
M. BŁA EWICZ, E. MENASZEK, E. STASZKÓW, A. POWRO NIK	
POROUS COMPOSITES Co-Cr-Mo+ BIOGLASS IMPLANTS WITH IMMEDIATE PROSTHETIC RECONSTRUCTION-PRELIMINARY ANIMAL STUDY	236
M. ADWENT, A. CIE LIK-BIELECKA, T. CIE LIK	
PRELIMINARY RESULTS OF P(LLA/GLA) COPOLYMERS IMPLANTED INTO RABBITS SOFT TISSUES AND MANDIBLE	238
A. CIE LIK-BIELECKA, M. ADWENT, M. PROSZEK, G. BAJOR, D. SABAT, T. CIE LIK	
THE COPOLYMERS P(LLA/GLA)+HA IMPLANTED INTO MANDIBLE AND SOFT TISSUES OF THE RABBITS - EARLY STAGE EVALUATION	240
M. ADWENT, A. CIE LIK-BIELECKA, M. PROSZEK, G. BAJOR, D. SABAT, T. CIESLIK	
HEALING ESTIMATION OF RABBITS MANDIBLE OSSEOUS WOUNDS FILLED WITH LACTIDE- GLYCOLIDE CO-POLYMER REINFORCED BY CARBON FIBERS	242
M. PROSZEK, M. ADWENT, A. CIE LIK-BIELECKA, G. BAJOR, D. SABAT, T. CIE LIK, A. MORAWSKA	

*Wersja angielska zamieszczonych artykułów jest
zgodna z dostarczoną przez autorów*

SURFACE DESIGN TO CONTROL SOFT AND HARD TISSUE ADHESION FOR INTERNAL FRACTURE FIXATION

R. G. RICHARDS

AO RESEARCH INSTITUTE, DAVOS, SWITZERLAND

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 9]

Studying cell adhesion, morphology and behaviour on prospective implant surfaces describes the surface cytocompatibility and gives an initial indication as to the appropriateness for fracture repair applications. With long term or permanent orthopaedic and osteosynthesis implants osseointegration is vital to their success. Early soft tissue integration without liquid filled capsule formation is also important for internal fixation plates. Good vascularisation is necessary at the implant / tissue interface, especially for deterrence of infection. In certain cases such as distal radius fractures where tendons have to glide over internal fixation plates, or in the cranio-maxillofacial area in orbital fractures tissue adhesion is undesirable since this prevents normal tissue motion. Bacterial adhesion to internal fracture fixation implants is always detrimental. Microtopography is one of the primary factors controlling cell and bacterial adhesion and can be used simply to control this. A method to quantify cell morphology and adhesion on implant surfaces will be shown to help determine their cytocompatibility and predict the outcome with in vivo use.

The aim of this talk will be to illustrate with some simple examples of controlling tissue adhesion to surfaces which function both in vitro and are able to withstand the harsh in vivo surroundings. Another aim of the talk will be to introduce the laboratory scientist to real examples of what happens to internal fracture fixation devices during surgical implantation.

In general, biomaterial scientists do not start at the beginning. One should look at the clinical problem first, at what material is available that may be able to be used to help this situation both biologically and mechanically, or possibly develop such a material. The material should be tested both in vitro (biologically and mechanically modelling the situation in which it will be used) considering its strength for what it is to be used, and surface design before initiating in vivo testing. Many scientists are detached from the clinical problem and have a favourite material that they test in vitro and sometimes in vivo with no true idea what the clinical problem is and after several random tests that fit the current trend, look for a use it for 'their' material. This should be discouraged.

Acknowledgements

Surfaces were provided by Robert Mathys Foundation and Synthes. Thanks to present & ex interface biology group students who have contributed in this work: Mauro Stiffanic, Gethin Owen, Louise Baxter, Osian Meredith, Llinos Harris, Manuel Bühler, Louisa Patterson and Claire Bacon.

Own references

Cells

- Meredith DO, Owen GRh., ap Gwynn I, Richards RG. (2004). Variation in cell-substratum adhesion in relation to cell cycle phases. *Exp.Cell Res.* 293 (1) 58-67.
- Baxter L, Frauchiger V, Textor M, ap Gwynn I, Richards RG (2002). Fibroblast and osteoblast adhesion and morphology on calcium phosphate surfaces. *Eur Cell Mater* (4) 1-17.
- Owen GRh, Meredith DO, ap Gwynn I, Richards RG. (2002) Simultaneously identifying S-phase labelled cells and immunogold-labelling of vinculin in focal adhesions. *J.Microsc.* 207 (1) 27-36.
- Owen GRh, Meredith DO, ap Gwynn I, Richards RG (2001) Enhancement of immunogold-labelled focal adhesion sites in fibroblasts cultured on metal substrates: Problems and Solutions. *Cell Biology International.* 25 (12) 1251-1259.
- Richards RG, Stiffanic M, Owen GRh, Riehle M, ap Gwynn I, Curtis ASG (2001) Immunogold labelling of fibroblast focal adhesion sites visualised in fixed material using scanning electron microscopy and in Vivo, using Internal Reflection Microscopy. *Cell Biology International.* 25 (12) 1237-1249.
- Bundy KJ, Harris LG, Rahn BA, Richards RG (2001) Measurement of Fibroblast and Bacterial Detachment from Biomaterials Using Jet Impingement. *Cell Biology International.* 25 (4) 289-307.
- Richards RG, Owen GRh, Rahn BA, ap Gwynn I (1997) A quantitative method of measuring cell adhesion areas. *Review. Cells and Materials.* 7 (1), 15-30.
- Richards RG (1996) The effect of surface roughness on fibroblast adhesion in vitro. *Injury,* 27 S3, 38-43.
- Richards RG, ap Gwynn I, Bundy KJ, Rahn BA (1995) Microjet impingement followed by scanning electron microscopy as a qualitative technique to compare cellular adhesion to various biomaterials. *Cell Biology International.* 19 (12) 1015-1024
- Vinall RL, Gasser B, Richards RG (1995) Investigation of cell compatibility of titanium test surfaces to fibroblasts. *Injury,* 26, S1, 21-27.
- Richards RG, ap Gwynn I (1995) Backscattered electron imaging of the undersurface of resin-embedded cells by field emission scanning electron microscopy. *J.Microsc.*177 (1): 43-52.
- Richards RG, Rahn BA, ap Gwynn I. (1995) Scanning electron microscopy of the undersurface of cell monolayers grown on metallic implants. *J.Mat. Sci.- Mat. in Med.*6, 120-124.
- Richards RG, Lloyd PC, Rahn BA, ap Gwynn I. (1993) A new method for investigating the undersurface of cell monolayers by scanning electron microscopy. *J.Microsc.*171 (3), 205-213.

Bacteria

- Harris LG, Tosatti S, Wieland M, Textor M, Richards RG. Staphylococcus aureus adhesion to titanium oxide surfaces coated with non-functionalized and peptide-functionalized poly(L-lysine)-graft-poly(ethylene glycol) copolymers. *Biomaterials.* 2004; 25 (18) 4135-4148.
- Harris LG, Richards RG. Staphylococcus aureus adhesion to different treated titanium surfaces. *J Mat Sci-Mater Med.* 2004; 15 (4)309-312.
- Harris LG, Foster SJ, Richards RG (2002). An introduction to Staphylococcus Aureus, and techniques for identifying and quantifying S. Aureus adhesins in relation to adhesion to biomaterials: Review. *Eur Cell Mater* (4) 39-60.
- Clarke S, Harris LG, Richards RG, Foster SJ. (2002) Analysis of Ebh, a 1.1 mega Dalton surface, fibronectin binding protein of staphylococcus aureus. *Infection and Immunity* 70 (12) 6680-6687.

SEM of surfaces for Biomaterials

- Richards RG, Wieland M, Textor M (2000) Advantages of stereo imaging of metallic surfaces with low voltage backscattered electrons in a field emission scanning electron microscope. *J.Microsc.* 199 (2) 115-123.
- Richards RG, Owen GRh, ap Gwynn I (1999) Low Voltage Backscattered Electron Imaging (<5kV) using Field Emission Scanning Electron Microscopy. *Scanning Microsc* 13 (1), 55-60.
- Richards RG, Owen GRh, ap Gwynn I (1997) Backscattered electron imaging revisited. *Microsc. Anal.*, 48 (EUR), 29-31.

BIODEGRADABLE POLYURETHANES FOR SUBSTITUTIVE MEDICINE

SYLWESTER GOGOLEWSKI

POLYMER RESEARCH, AO RESEARCH INSTITUTE, CH-7270
DAVOS, SWITZERLAND

[Engineering of Biomaterials, 38-43,(2004),10]

Interest for synthetic bioresorbable polymers as candidates for implantable devices goes back to the early 1950. Although initially the interest was purely academic, soon first implants in the form of sutures became commercially available. Gradually, the use of bioresorbable polymers for implants broadened, primarily for drug delivery, internal fixation of bone fractures and various constructs for stapling and binding soft and hard tissues.

Over the last few years there has been increasing interest in the use of bioresorbable polymers in the design of structural scaffolds which could be used as substitutes for damaged, resected or malfunctioning tissues and internal organs. Optimally, such scaffolds implanted in place of missing tissues or organs would initiate their healing and/or regeneration. The regenerative potential of the scaffolds can be intensified by loading them with autogenous and/or synthetic growth factors or by applying "tissue engineering", i.e. seeding scaffolds with autogenous or transfected cells. The candidate polymers for scaffolds that have been investigated the most extensively over the last few years are polyhydroxyacids. Recently, new aliphatic segmented polyurethanes have been attracting increased interest. Biostable medical polyurethanes have been used for years in total artificial hearts, heart valves, intraaortic balloons, mammary implants, wound dressings, pacing leads insulation, and angioplasty balloons, to mention but a few. It has been found, however, that these polyurethanes have limited long-term molecular stability in vivo. The biologically active environment of the living organisms degrades polyurethanes, mainly through hydrolytic chain scission within ester and urethane linkages in the backbone chain and oxidative attack within polyether segments - processes which can be facilitated by the presence of enzymes and cell peroxides.

The relative molecular instability of polyurethanes may, however, be deliberately exploited in the design biodegradable materials. This can be achieved by incorporating labile moieties susceptible to hydrolysis in the polymer chain. Labile moieties are based on polyols of hydroxyacids, caprolactone, polysaccharides, aminoacids, short-chain peptides and aliphatic diisocyanates. The diisocyanates of interest are aliphatic hexamethylene diisocyanate, lysine di- or triisocyanate and tetramethylene diisocyanate. The products of degradation of these polyurethanes are biocompatible and easily metabolized. Putrescine formed upon degradation of tetramethylene diisocyanate is claimed to possess a growth factor property for various cell types. The hydrophilicity, degradation rates and mechanical properties of polyurethanes can be controlled by using specific monomers and varying synthesis conditions. Polyurethanes can be made hydrophilic, hydrophobic or amphiphilic. Their mechanical properties can be adjusted according to the intended application. Hydrophilic polyurethane elastomers are preferred for the preparation of implants to be used in contact with blood or as tissue adhesion barriers. Polyurethanes

with higher amounts of hydrophobic component may be required for cancellous bone graft substitutes and for repair of articular cartilage. The ratio between the hydrophilic and hydrophobic components in amphiphilic polyurethanes may play an important role during contact of the material surface with blood proteins, cells and tissues. In the early eighties experimental biodegradable polyurethanes based on lactide diols and hexamethylene diisocyanate or on mixtures of aliphatic polyurethanes with poly(L-lactide) were used for the preparation of small-caliber vascular grafts, artificial skin, esophageal and tracheal prostheses, pericardial patches and porous membranes for the treatment of periodontitis. Vascular prostheses from these polyurethanes induced in animals the growth of functional "neo-arteries". The neo-arteries had cellular structure, compliance and biological activity similar to those of the natural vessels. Endothelial cells of the neo-artery produced prostaglandins. An "artificial skin" from biodegradable polyurethanes promoted healing of full-thickness skin wounds. Tubular microporous prostheses facilitated regeneration of resected segments of trachea and esophagus in animals. Interest in biodegradable polyurethanes gained new momentum in the late nineties. Tubular polyurethane implants that form primary scaffolding for oriented migration of fibroblasts, Schwann cells and regenerating axons, facilitated healing of large defects in the sciatic nerve. Microporous 3-D scaffolds used as bone substitutes enhanced the regeneration of critical-size segmental long bone defects and mono-, bi- and tricortical defects in the ilium. Such defects under normal circumstances do not heal in the patient's lifetime. New attractive applications of polyurethanes would be as injectable tissue augmentation materials, injectable cements for the treatment of compression fractures of osteoporotic vertebrae and as injectable hydrogels for the replacement of calcified nucleus pulposus.

IN VIVO CHARACTERIZATION OF POLY-L/D-LACTIDE (PLDLA) 96/4 SUTURES IN THE ACHILLES TENDON OF RABBITS

JARMO KANGAS*, ARI PAJALA*, JUHANA LEPPILAHTI*,
JORMA RYHÄNEN*, SATU LÄNSMAN**, PERTTI TÖRMÄLÄ***,
TIMO WARIS*, NUREDDIN ASHAMMAKHI*

*Department of Surgery, Oulu University Hospital, Oulu, Finland.

**Department of Ophthalmology, Oulu University Hospital, Oulu, Finland.

***Institute of Biomaterials, Tampere University of Technology, Tampere, Finland.

Keywords: Achilles, polylactide, tendon repair, suture

[Engineering of Biomaterials, 38-42, (2004), 10-11]

STUDY OF COMPLETE RESORPTION OF SELF-REINFORCED POLYLACTIDE-POLYGLYCOLIDE 80/20 SCREWS IN RABBIT CRANIAL BONE

JOHANNA TIAINEN*, YLERMI SOINI**, PERTTI TÖRMÄLÄ***, TIMO WARIS*, NUREDDIN ASHAMMAKHI*

*DEPARTMENT OF SURGERY, OULU UNIVERSITY HOSPITAL, OULU, FINLAND.

**DEPARTMENT OF PATHOLOGY, OULU UNIVERSITY HOSPITAL, OULU, FINLAND.

***INSTITUTE OF BIOMATERIALS, TAMPERE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, TAMPERE, FINLAND.

Abstract

The aim of this study was to assess tissue reactions to bioabsorbable self-reinforced polylactide/polyglycolide (SR-PLGA) 80/20 miniscrews in rabbit cranial bone. One PLGA screw was implanted on one side and one titanium screw on the other side of the sagittal suture (n=21). Three animals were sacrificed after 2, 4, 8, 16, 24, 54 and 72 weeks. In histological examination the numbers of macrophages, giant cells, active osteoblasts and fibrous tissue layers were assessed and degradation of the bioabsorbable screws was evaluated. After two weeks, macrophages were seen near the heads of both screws. After 4 and 8 weeks, the bioabsorbable screws were surrounded by fibrous tissue. Osteoblastic activity and groups of several giant cells were seen. After 24 weeks, a significant change in the morphology of the PLGA screws had occurred. Osteoblastic activity and the amount of giant cells had decreased. After one year, some PLGA biomaterial was still present. PLGA screws had been replaced by adipose tissue, fibrous tissue and "foamy macrophages" which had PLGA particles inside them. After 11 years, the amount of biomaterial remaining had decreased remarkably. The particles of biomaterial were inside "foamy macrophages". SR-PLGA 80/20 screws are biocompatible and have no clinically manifested complications when used in cranial bone of rabbits. No contraindications as regards their clinical use in craniofacial surgery was found when studied in cranial bone of rabbit.

Keywords: Cranial bone, rabbit, SR-PLGA, tissue reaction, titanium

[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 12]

Acknowledgements

Research funds from the Technology Development Center in Finland (TEKES, Biowaffle Project 40274/03 and MFM Project 424/31/04), the European Commission (Project BMH4-98-3892, Project QLRT-2000-00487, EU Spare Parts Project QLK6-CT-2000-00487), the Academy of Finland (Projects 37726 and 73948), and the Ministry of Education (Graduate School of Biomaterials and Tissue Engineering) are greatly appreciated.

RESORBABLE FIXATION OF MANDIBULAR FRACTURES

LEENA YLIKONTIOLA*, KAI SUNDQUIST*, GEORGE SANDOR**, PERTTI TÖRMÄLÄ***, NUREDDIN ASHAMMAKHI****

*DEPARTMENT OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY, OULU UNIVERSITY HOSPITAL, UNIVERSITY OF OULU, OULU, FINLAND.

**THE HOSPITAL FOR SICK CHILDREN, UNIVERSITY OF TORONTO, TORONTO, CANADA.

***INSTITUTE OF BIOMATERIALS, TAMPERE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, TAMPERE, FINLAND.

****DEPARTMENT OF SURGERY, OULU UNIVERSITY HOSPITAL, OULU, FINLAND.

[*ENGINEERING OF BIOMATERIALS*, 38-43, (2004), 12]

Objective

Bioresorbable osteofixation devices are being increasingly used in orthognathic surgery and in cases of trauma to avoid problems associated with conventional metal osteofixation devices. The aim of this clinical study was to assess the reliability and efficacy of bioresorbable self-reinforced poly-L/DL-lactide (SR-P(L/DL)LA 70/30) plates and screws in the fixation of mandibular fractures in adults.

Study Design

Ten patients (20 to 49 years old) with isolated anterior mandibular parasymphiseal fractures were treated by means of open reduction and internal fixation using SR-P(L/DL)LA 70/30 bioresorbable plates and screws.

Results

During the minimum of 6 months of follow-up, no problems were encountered except for 1 case where a plate became exposed intraorally and infected. This required debridement and later excision of the exposed part of the plate. Despite this setback the fractured bone healed well.

Conclusions

SR-P(L/DL)LA 70/30 plates and screws are reliable for internal fixation of anterior mandibular fractures in adults. Proper soft tissue coverage should be ensured to avoid plate exposure. Should implant exposure occur, it might be necessary to excise the exposed part after fracture healing (6-8 weeks postoperatively).

Acknowledgements

Research funds from the Technology Development Center in Finland (TEKES, Biowaffle Project 40274/03 and MFM Project 424/31/04), the European Commission (EU Spare Parts Project QLK6-CT-2000-00487), the Academy of Finland (Project 73948) and the Ministry of Education (Graduate School of Biomaterials and Tissue Engineering) are greatly appreciated.

BIOASORBABLE OSTEOFIXATION USED DEVICES IN 165 CRANIAL AND MAXILLOFACIAL CASES: A MULTICENTER REPORT

NUREDDIN ASHAMMAKHI*, DOMINIQUE RENIER**, ERIC ARNAUD**, DANIEL MARCHAC**, MILOMIR NINKOVIC***, DAVID DONAWAY****, BARRY JONES****, WILLY SERLO****, KARI LAURIKAINEN****, PERTTI TÖRMÄLÄ*, TIMO WARIS*****

*INSTITUTE OF BIOMATERIALS, TAMPERE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, TAMPERE, FINLAND.

**CRANIOFACIAL UNIT, HOPITAL NECKER-ENFANTS MALADES, PARIS, FRANCE.

***DEPARTMENT OF PLASTIC AND RECONSTRUCTIVE SURGERY, UNIVERSITY OF INNSBRUCK, AUSTRIA.

****CRANIOFACIAL UNIT, GREAT ORMOND STREET HOSPITAL FOR SICK CHILDREN, LONDON, UK.

*****DEPARTMENT OF PEDIATRICS, OULU UNIVERSITY HOSPITAL, OULU, FINLAND.

*****LINVATEC BIOMATERIALS LTD., TAMPERE, FINLAND.

*****DEPARTMENT OF SURGERY, OULU UNIVERSITY HOSPITAL, OULU, FINLAND.

Abstract

Bioabsorbable osteofixation devices were developed to avoid problems associated with metals. Bioabsorbable devices are mostly made of the polymers polylactide (PLA), polyglycolide (PGA) and their copolymers (PLGA and P(L/DL)LA). Using the technique of self-reinforcement of bioabsorbable materials, it is possible to manufacture osteofixation devices with ultra high strength. Self-reinforced (SR) polyglycolide-co-polylactide (SR-PLGA) 80/20 was selected to make devices (Biosorb™ PDX) for this study because of its favorable degradation characteristics. The aim of this study was to evaluate the efficacy of using SR-PLGA (Biosorb™) plates and screws in the fixation of osteotomies in craniomaxillofacial (CMF) surgery. In a prospective study, 165 patients (161 children and 4 adults) were operated on in four EU centers (Paris, Innsbruck, London and Oulu) from May 1st, 1998 to January 31st, 2002. Indications included correction of dyssynostotic deformities (n=159), reconstruction of bone defects following trauma (n=2), tumor removal (n=2), and treatment of encephalocele (n=2). Plates used were 0.8, 1 or 1.2 mm thick and screws had an outer (thread) diameter of 1.5 or 2 mm and a length of 4, 6 or 8 mm. Tacks had an outer diameter of 1.5 or 2 mm and a length of 4 or 6 mm. Intraoperatively the devices were easy to handle and apply and provided stable fixation apart from two cases. Postoperative complications occurred in 12 cases (7.3%), comprising infection (n=6), bone resorption (n=4), diabetes insipidus (n=1), delayed skin wound healing/skin slough (n=2), and liquorrhea (n=1). Accordingly, SR-PLGA 80/20 (Biosorb) plates and screws can be used safely and with favorable outcome in corrective cranioplasties,

especially in infants and young children.

Keywords: Bioabsorbable, biosorb, bone, fixation, poly lactide, polyglycolide, self-reinforced
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 13]

1 3

Acknowledgements

Research funds from The Technology Development Center in Finland (TEKES, 90220), The European Commission (Biomedicine and Health Programme, European Union Demonstration Project BMH4-98-3892 and R&D Project QLRT-2000-00487) and The Academy of Finland (Project 37726 and 73948) are greatly appreciated.

.....

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CIPROFLOXACIN- RELEASING BIOASORBABLE IMPLANT ON STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS ATTACHMENT AND BIOFILM FORMATION IN VITRO

SANNA-MARI NIEMELÄ*, IRMA IKÄHEIMO**, MARKKU KOSKELA**, MINNA VEIRANTO***, ESA SUOKAS****, PERTTI TÖRMÄLÄ****, TIMO WARIS*, NUREDDIN ASHAMMAKHI*, HANNU SYRJÄLÄ*****

*DEPARTMENT OF SURGERY, OULU UNIVERSITY HOSPITAL, OULU, FINLAND.

**CLINICAL MICROBIOLOGY LABORATORY OF OULU UNIVERSITY HOSPITAL, OULU, FINLAND.

***INSTITUTE OF BIOMATERIALS, TAMPERE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, TAMPERE, FINLAND.

****LINVATEC BIOMATERIALS LTD., TAMPERE, FINLAND.

*****DEPARTMENT OF INFECTION CONTROL, OULU UNIVERSITY HOSPITAL, OULU, FINLAND.

Keywords: Antibiotic, bioabsorbable, biofilm, ciprofloxacin, polylactide-co-glycolide
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 13-14]

Background

Antibiotic coating systems have been successfully used to prevent bacterial attachment and biofilm formation. Our purpose was to evaluate whether bioabsorbable polylactide-co-glycolide (PLGA) 80/20 on its own, and PLGA together with ciprofloxacin (PLGA+AB) have any advantages over titanium in preventing Staphylococcus epidermidis attachment and biofilm formation in vitro.

.....

Cylindrical specimens of titanium, PLGA and PLGA+AB in triplicate were examined for *S. epidermidis* ATCC 35989 attachment and biofilm formation after incubation with a bacterial suspension of ca. 105 cfu/ml for 1, 3, 7, 14 and 21 days, using scanning electron microscopy. Growth inhibition properties of PLGA and PLGA + AB cylinders were tested on agar plates.

Results

On days 1, 3 and 21, no bacterial attachment was seen in 19.5%, 9.2% and 41.4% of the titanium specimens, in 18.4%, 28.7% and 34.5% of the PLGA specimens and in 57.5%, 62.1% and 57.5% of the PLGA + AB specimens, respectively. During the whole study period no biofilm was observed on 74%-93% of the titanium specimens, 58%-78% of the PLGA specimens and 93%-100% of the PLGA+AB specimens. PLGA + AB showed clear bacterial growth inhibition on agar plates while PLGA and titanium did not show any inhibition.

Conclusions

PLGA + AB bioabsorbable material was superior to titanium in preventing bacterial attachment and biofilm formation and may have clinical applicability, for example, in prevention of infection in trauma surgery or in the treatment of chronic osteomyelitis.

Acknowledgements

We greatly appreciate research grants from the Technology Development Center of Finland (TEKES; project 40225/01drno 1206/401/00, Biowaffle Project 40274/03 and MFM Project 424/31/04), the European Commission (European Union Demonstration Project BMH4-98-3892, R&D Project QLRT-2000-00487, EU Spare Parts Project QLK6-CT-2000-00487), the Academy of Finland (Project 73948) and the Ministry of Education (Graduate School of Biomaterials and Tissue Engineering).



REPORT ON A NEW TECHNIQUE FOR CORRECTION OF TRIGONOCEPHALY USING BIOABSORBABLE OSTEOFIXATION TACKS AND PLATES AND A NOVEL TACK-SHOOTER

WILLY SERLO*, NUREDDIN ASHAMMAKHI**, SATU LÄNSMAN***, PERTTI TÖRMÄLÄ**, TIMO WARIS****

*DEPARTMENT OF PEDIATRICS, OULU UNIVERSITY HOSPITAL, OULU, FINLAND.

**INSTITUTE OF BIOMATERIALS, TAMPERE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, TAMPERE, FINLAND.

***DEPARTMENT OF OPHTHALMOLOGY, OULU UNIVERSITY HOSPITAL, OULU, FINLAND.

****DEPARTMENT OF SURGERY, OULU UNIVERSITY HOSPITAL, OULU, FINLAND.

Abstract

We report on the feasibility of applying bioabsorbable tacks using a new tack-shooter to fix bioabsorbable plates applied endocranially for the correction of three cases of trigonocephaly. Tacks do not require tapping or tightening because they are applied using a tack-shooter directly into drill holes in the bone. Hence, the technique saves valuable operative time. A 1.5- to 2.0-cm broad supraorbital bar (bandeau) was raised and reshaped. The corrected shape was maintained using a Biosorb plate (Bionx Implants Ltd, Tampere, Finland), and tacks were applied on the endocranial side of the bar. The plate extended a few centimeters laterally beyond the edge of the supraorbital bar, and it was fixed with Biosorb miniscrews and/or tacks affixed to the temporal bones. Other molded bone pieces were fixed using Biosorb plates, screws, and/or tacks. The technique of using tacks was easy, and it provided secure osteofixation. Cosmetic results were excellent, and no complications were encountered except for palpability of plate edges on the right side of the skull in one case.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 14]

Acknowledgements

Research funds from the Technology Development Center in Finland (TEKES, Biowaffle Project 40274/03 and MFM Project 424/31/04), the European Commission (EU Spare Parts Project QLK6-CT-2000-00487), the Academy of Finland (Project 73948) and the Ministry of Education (Graduate School of Biomaterials and Tissue Engineering) are greatly appreciated.



STUDY OF BIOMECHANICAL PROPERTIES OF SELF-REINFORCED BIOABSORBABLE IMPLANTS FOR USE IN SMALL BONE FIXATION IN THE HAND

EERO WARIS*, HARRI HAPPONEN**, TIMO RAATIKAINEN***, OUTI KAARELA****, PERTTI TÖRMÄLÄ*****, SEPPÖ SANTAVIRTA***, YRJÖ T. KONTTINEN***, NUREDDIN ASHAMMAKHI*****

*INSTITUTE OF BIOMEDICINE/ANATOMY, BIOMEDICUM HELSINKI, UNIVERSITY OF HELSINKI, FINLAND.

**LINVATEC BIOMATERIALS LTD., TAMPERE, FINLAND.

***HELSINKI UNIVERSITY CENTRAL HOSPITAL, HELSINKI, FINLAND.

****DEPARTMENT OF SURGERY, OULU UNIVERSITY HOSPITAL, OULU, FINLAND.

*****INSTITUTE OF BIOMATERIALS, TAMPERE UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, TAMPERE, FINLAND.

Abstract

Bioabsorbable fixation devices offer a useful option to treat small bone fractures of the hand, if the prerequisite of reliable and stable osteofixation is met. In a biomechanical study in transversally osteotomized cadaver metacarpal bones, bioabsorbable self-reinforced (SR) poly-L/DL-lactide (P(L/DL)LA) 70/30 and polylactide-polyglycolide (PLGA) 80/20 miniplates were compared with standard metallic fixation methods. One hundred twelve fresh-frozen metacarpals from humans had three-point bending and torsional loading after transverse osteotomy followed by fixation using seven methods: dorsal and dorsolateral 2.0-mm SR-PLGA plating, dorsal and dorsolateral 2.0-mm SR-P (L/DL)LA plating, dorsal 1.7-mm titanium plating, dorsal 2.3-mm titanium plating, and crossed 1.25-mm Kirschner wires. In apex dorsal and palmar bending, dorsal SR-PLGA and SR-P(L/DL)LA plates provided stability comparable with dorsal titanium 1.7-mm plating. When the bioabsorbable plates were applied dorsolaterally, apex palmar rigidity was increased and apex dorsal rigidity was decreased. Bioabsorbable platings resulted in higher torsional rigidity than 1.7-mm titanium plating. In another biomechanical study in obliquely (radial to ulnar orientation) osteotomized pig metacarpal bones, we compared the stabilities of various bioabsorbable fixation devices with metallic fixation devices. 1.5 mm self-reinforced poly-L-lactide (SR-PLLA) pins provided fixation rigidity comparable with 1.5 mm Kirschner wires in dorsal and palmar apex bending, whereas in lateral apex bending and in torsion the rigidity was equal to that of 1.25 mm Kirschner wires. 2.0 mm SR-P(L/DL)LA screws provided rigidity comparable with that of 1.5 mm Kirschner wires in all testing modes. The bioabsorbable plate considerably enhanced the bending stabilities of the fixation system, but a single interfragmentary screw provided only limited rotational rigidity. The results demonstrate that using ultra-high strength SR implants, adequate fixation stability for hand fracture fixation can be achieved. These findings suggest that bioabsorbable miniplate

can be used safely in the clinical stabilization of metacarpal and phalangeal fractures.

[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 15]

15

Acknowledgements

Research funds from the Technology Development Center in Finland (TEKES, Biowaffle Project 40274/03 and MFM Project 424/31/04), the European Commission (EU Spare Parts Project QLK6-CT-2000-00487), the Academy of Finland (Project 73948) and the Ministry of Education (Graduate School of Biomaterials and Tissue Engineering) are greatly appreciated.

ADHESION AND GROWTH ON HUMAN OSTEOBLAST LIKE MG 63 CELLS IN CULTURES ON CALCIUM PHOSPHATE-BASED BIOMATERIALS

LUCIE BAÁKOVÁ*, IVANA JUNGOVÁ**, ANNA LÓSARCZYK***, ANETA ZIMA***, ZOFIA PASZKIEWICZ***.

*INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC, VÍDEŤSKÁ 1083, PRAGUE 4, CZECH REPUBLIC

**2ND MEDICAL FACULTY, CHARLES UNIVERSITY, V ÚVALU 84, 150 06 PRAGUE 5, CZECH REPUBLIC

***AGH - UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, KRAKOW, POLAND

[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 15-18]

Introduction

Calcium phosphate-based ceramics, such as hydroxyapatite (HAp) or tricalcium phosphate (TCP) are promising materials for orthopaedic and dental surgery. They closely resemble the mineral phase of the bone extracellular matrix, so that they could be expected to be osteoinductive and osteoconductive, i.e. promoting regeneration of the damaged bone tissue [1-4]. They could be used for construction of solid, permanent bone replacements as well as biodegradable scaffolds for new bone formation [5]. After reinforcement with synthetic polymer-based or carbon fibres, which improve their mechanical properties, they could also serve for bone fixation [3]. Because of their basic nature, these materials can be applied as pH stabilizing fillers for neutralization of acids released from various biomaterials, e.g. polyesters [4]. Calcium phosphate cements can be utilized as carriers for delivery of various drugs, such as antibiotics, cytostatics, anti-inflammatory or anti-ischemic agents [3, 6].

The physicochemical properties and bioactivity of these materials could be further modified by addition of various

Material symbol	Initial raw materials
HA	hydroxyapatite powder $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - 100wt%
HA+CP	hydroxyapatite powder $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - 87 wt% calcium metaphosphate $\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$ - 13 wt%
HA+MP	hydroxyapatite powder $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - 91 wt% trimagnesium phosphate 8-hydrate $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ - 9wt%

TABLE 1. Materials on the basis of calcium phosphates.

ions, such as sodium, potassium, magnesium, calcium, chloride, fluoride or citrate, which are physiologically present in the bone tissue [5, 7]. Addition of these ions to hydroxyapatite, tricalcium phosphate ceramics or glass-ceramics of the $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ system affected crystallization, solubility and biodegradation rate of these materials, and usually enhanced differentiation of adhering osteoblasts, which was manifested by deposition of mineralized bone matrix and increase in strength of the newly formed bone [1, 5, 7-9]. Therefore, in the present paper, we investigated three types of calcium phosphate-based materials (TABLE 1), i.e., hydroxyapatite (HA) and hydroxyapatite modified with 13wt% of calcium metaphosphate (CP) or 9wt% of trimagnesium phosphate 8-hydrate (MP). The influence of the additives on the physicochemical properties of the ceramics as well as adhesion and proliferation of human osteoblast-like cells of the line MG 63 in cultures on these materials was studied.

Material and methods

The initial hydroxyapatite powder was synthesized at the AGH - University of Science and Technology, Krakow, Poland, by the aqueous precipitation method from CaO and H_3PO_4 as the reagents. In the process of preparing $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspension, CaO was added to distilled water, which, in turn, was stirred with a propeller-like stirrer; the stirring was continued for 0.5 h after the addition of the entire portion of the powder. 0.5 M $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspension in 1000 ml distilled water was used in the synthesis. A solution of 0.3 M H_3PO_4 in 1000 ml distilled water was prepared. The solution was slowly added to $\text{Ca}(\text{OH})_2$ suspension at a rate of 17 ml/min. The reaction mixtures were vigorously stirred during the precipitation process, which was performed in the temperature range of 23-25°C. The reaction environment pH was continuously measured during the synthesis and controlled using an aqueous ammonium solution (25% solution diluted in 1:1 proportion). During powder precipitation, the ammonium solution was added in such a way that pH=11 was maintained until the end of the process. The reaction mixture was stirred for 4 h after the acid had been added. After 2 h, checks were made of the pH value to ensure that it was maintained at the estimated level. The resulting gelatinous precipitate was aged for 48 h at room temperature, washed, dried at 90°C and subsequently ground in a rotating/vibrating mill. A portion of the powder precursor was subjected to preliminary calcination at 800°C for 3 h [10].

The additives i.e. $\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$ and $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ used as modifiers of microstructure of the investigated materials were obtained from Taihei Chemical Industrial, Japan. The above compounds have been used in preparation of porous multifunction implantation materials on the basis of calcium phosphates [11, 12].

The HA powder was mixed with the additives in methyl alcohol solution and dried. The samples of cylinder shape of ~ 8 mm in diameter were uniaxially pressed under a pressure of 100 MPa. Sintering was performed in the air at 1250°C with a 2 h soaking time.

The phase composition of the investigated materials was X-rayed for 2θ angle ranging from 10° to 60° (Dyfractometr XRD7, Seifert-FTM). The open porosity of the sinters was measured by Archimedes method. Additionally the water absorbability of the samples was evaluated (TABLE 2).

The samples were sterilized in dry hot air sterilizer (160°, 2 h), inserted in polystyrene multidishes (24 wells, diameter 15 mm, TPP Company, Switzerland), and seeded with osteoblast-like MG 63 cells (European Collection of Cell Cultures, Salisbury, UK; passage 160) i.e., a cell line derived from human osteosarcoma retaining markers of osteogenic differentiation, such as production of osteocalcin, activity of alkaline phosphatase and formation of multilayered regions called "noduli" [for review see 13]. Each well contained 50 000 cells/cm² and 1.5 ml of Dulbecco-modified Eagle Minimum Essential Medium supplemented with 10% of fetal bovine serum and gentamycin (40 mg/ml). Conventional cell culture supports, i.e., glass coverslips or the bottom of polystyrene dish, served as control materials. Cells were incubated at 37°C in air atmosphere with 5% CO₂. On day 1, 3 or 7 after seeding, the cells were harvested by trypsin-EDTA solution (Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.), and counted in Bürker hemocytometer. Concomitantly, the cells on parallel set of samples were fixed by 70% cold ethanol (-20°C, 5min), visualized by staining with propidium iodide (5 mg/ml, 5 min), and their morphology was evaluated and documented using epifluorescence microscope IX 50 equipped with a digital camera DP 70 (Olympus, Japan).

Quantitative results were expressed as means ± S.E.M from 4 - 8 measurements obtained from 2 independent samples for each experimental group. Statistical analyses were performed using SigmaStat (Jandel Corporation, U.S.A.). Multiple comparison procedures were made by the One Way Analysis of Variance (ANOVA), Student-Newman-Keuls method. The p values equal to or less than 0.05 were considered significant.

Results and discussion

The results of physicochemical investigations are presented in TABLE 2. The X-ray study confirmed that hydroxyapatite material (HA) without any modifiers was monophase hydroxyapatite ceramics. The addition of 13wt% of calcium metaphosphate results in decomposition of hydroxyapatite to bTCP with a small amount of $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (material HA+CP). The hydroxyapatite ceramics modified with trimagnesium phosphate 8-hydrate (HA+MP) consisted of hydroxyapatite, MTCP - $(\text{Ca,Mg})_3(\text{PO}_4)_2$ and MgO. Open porosity of the samples ranged from 0.9% (HA) to 24.0% (HA+MP). It was found that materials with CP and MP additions revealed much higher open porosity (and water absorbability) in comparison to monophase HA ceramics. On day 1 after seeding, the number of cells initially adhered to all tested ceramic materials was similar to that found on conventional tissue culture polystyrene dishes and even significantly higher than on glass coverslips (FIG. 1A). The cells on ceramic samples were usually better spread than those

Material Symbol	Phase composition	Open porosity [%]	Water- absorbability [%]
HA	HAp	0.9	0.3
HA+CP	β TCP + $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	13.7	4.4
HA+MP	HAp + $(\text{Ca,Mg})_3(\text{PO})_4 + \text{MgO}$	24.0	10.6

TABLE 2. The physicochemical properties of the investigated materials (see TABLE 1).

on glass, i.e. adhering by a larger cell-material contact area, which was apparent especially on HA with both additives (FIG. 2A, B, C, D), and distributed more homogeneously than on glass or even tissue culture dish, where regions with higher and lower cell population densities were found (FIG. 2E, F). The relatively good cell adhesion on ceramic materials could be explained by adsorption of cell adhesion-mediating molecules (e.g., vitronectin, fibronectin, collagen) to these samples from the serum of the culture medium in amount, spectrum and spatial conformation advantageous for accessibility of specific amino acid sequences on these molecules, such as Arg-Gly-Asp-containing oligopeptides, by integrin adhesion receptors on cells [5, 7-9, 13, 14]. This adsorption could be positively influenced by the open porosity and water-absorbability of the ceramic samples, which was relatively high especially on HA+MP material (TABLE 2). Also the availability of divalent cations, especially Ca^{++} , which is necessary for integrin-mediated cell adhesion [for review see 14], was probably higher on calcium phosphate-based ceramics than on glass or tissue culture polystyrene.

From day 1 to day 3, the cells on HA and HA+MP grew faster than on tissue culture plastics, as revealed by a steep rise of growth curves (FIG.1B) as well as by significantly shorter cell population doubling time (TAB.3). Also the doubling time of cells on HA+CP was about twice as short than on the polystyrene, although this difference was not significant (TAB.3). As a result, on day 3 after seeding, the cells on HA and HA with MP reached a significantly higher population density than those on polystyrene. However, the cell population density on HA was significantly higher than that on HA+MP (about 1.7 times) or HA+CP (about 3 times; FIG. 1C).

From day 3 to 6 after seeding, the cell number on all samples did not change significantly or even had tendency to be lower, which is a sign of transition from exponential to stationary phase of cell population growth. The average final cell population density decreased in the following order: HA > HA+MP > HA+CP > glass > polystyrene (FIG. 1D).

The higher proliferation activity of cells on the all three tested ceramic materials in comparison with that on polystyrene could be explained, similarly to a higher initial adhesion of cells, to a higher availability of divalent cations, which catalyze numerous cellular enzymatic reactions including those associated with cell growth [5, 7-9]. On the other hand, addition of calcium or magnesium phosphate to hydroxyapatite in the present study was associated with attenuation

Material parameter	Glass	HA	HA+CP	HA+MP	Cult. dish
DT ₁₋₃ (h)	19.3 ± 2.0	18.0 ± 0.4	40.4 ± 2.5	27.6 ± 3.4	80.3 ± 23.4
Significance	D	D	n.s.	D	G, HA, MP

TABLE 3. The population doubling time (DT) of MG 63 cells between days 1 and 3 after seeding on glass coverslips (G), hydroxyapatite (HA), hydroxyapatite with 13% of calcium phosphate (HA+13% CP), hydroxyapatite with 9% of magnesium phosphate (HA+9% MP) and tissue culture polystyrene (Cult. dish).

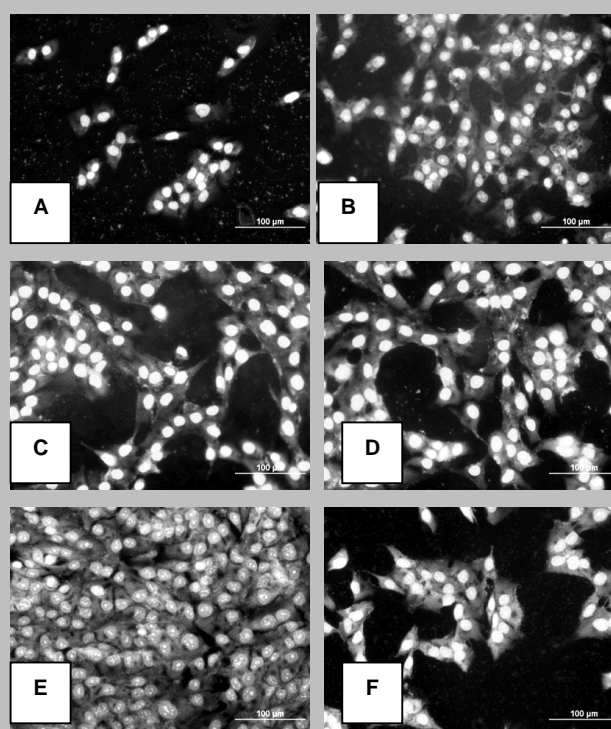


Fig. 2. Morphology of osteoblast-like MG 63 cells on day 1 after seeding on: (A) glass coverslips, (B) HA, (C) HA+CP, (D) HA+MP, (E), (F) tissue culture polystyrene. Stained with propidium iodide, epifluorescence

of cell proliferation. These ions are known to promote expression of differentiated phenotype of osteogenic cells, manifested by production of mineralized extracellular matrix and low proliferation activity [5,7-9]. At higher concentrations, however, both Mg and Ca ions can be cytotoxic. Apatite, in which 20% of calcium was substituted for magnesium, decreased adhesion, proliferations and differentiation activity of osteoblasts, and the samples in which almost all Ca was substituted for Mg fully inhibited these events [5]. Similarly, certain cytotoxicity was also reported for calcium phosphate cements includ

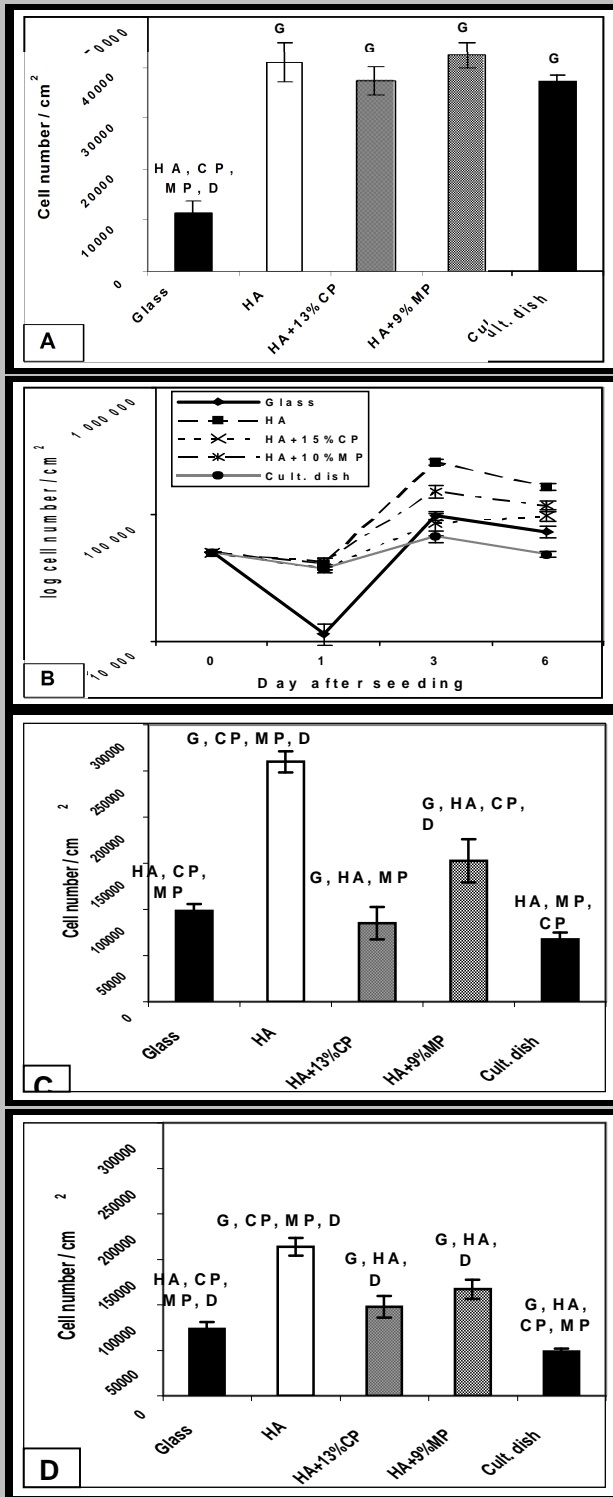


FIG. 1. Number of initially adhered osteoblast-like MG 63 cells

(A) on day 1 after seeding on glass coverslips (Glass), HA, HA+CP, HA+MP and tissue culture polystyrene (Cult. dish)

(B) growth curves of these cells from day 0 to 7

(C) cell population density on day 3

(D) cell population density on day 6

Average \pm SEM from 8 measurements, ANOVA, statistical significance: G, HA, CP, MP, D: $p < 0.05$ in comparison with values obtained on glass coverslips, HA, HA+CP, HA+MP or cult. dish, respectively.

associated with a relatively highly basic nature of these substances [1, 3, 4].

Another explanation for the decreased cell proliferation on HA with both additives could be a higher open porosity of these samples. The pores of several-micron-diameter were probably too fine to allow ingrowth of cells but the presence of pores might increase the material surface roughness, which was often negatively correlated with the cell proliferation activity [for review see 13,14]. FIG.2C and D demonstrates that on HA with additives, some regions, probably those with holes or protuberances, are avoided by adhering cells.

Conclusion

Hydroxyapatite allowed similar adhesion and faster proliferation of osteoblast-like MG 63 cells in comparison with commercially available tissue culture polystyrene. The cell proliferation activity on hydroxyapatite based materials modified by additives of calcium metaphosphate and trimagnesium phosphate 8-hydrate decreased in comparison with that on pure hydroxyapatite. It was probably due to a higher porosity of these materials as well as the presence of new crystalline phases.

Acknowledgements

This study was supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of CR (COST, Action 527, grant No. OC/PR 00680; 527.130), by a research project No. AVOZ 5011922 of the Inst. Physiol., Acad. Sci. CR. And by the Polish Ministry of Science and Informatics, grant No. 7 T08D 044 98C/3962. We also thank Dr. V ra Lisá for maintaining the cell line MG 63 in culture.

References

- [1] Fernandez E, Planell JA, Best SM: J Biomed Mater Res, 47: 466-471, 1999.
- [2] dos Santos LA, Carrodeguas RG, Rogero SO, Higa OZ, Boschi AO, de Arruda AC: Biomaterials 23: 2035-2042, 2002.
- [3] dos Santos LA, Carrodeguas RG, Bosch AO, de Artura AC: J Biomed Mater Res 65A: 244-250, 2003.
- [4] Schiller C, Matthias Eppe M: Biomaterials 24: 2037-2043, 2003.
- [5] Serre CM, Papillard M, Chavassieux P, Voegel JC, Boivin G: J Biomed Mater Res 42: 626-633, 1998.
- [6] Ióscarczyk A, Szymura-Oleksiak J, Mycek B: Biomaterials 21: 1215-21, 2000.
- [7] Ł czka M, Cholewa-Kowalska K, Ł czka-Osyczka A, Tworzydło M, Turyna B: J Biomed Mater Res. 52: 601-612, 2000.
- [8] Zreiqat H, Evans P, Howlett CR: J Biomed Mater Res 44: 389-396, 1999.
- [9] Knabe C, Berger G, Gildenhaar R, Meyer J, Howlett CR, Markovic B, Zreiqat H: J Biomed Mater Res. 69A: 145-154, 2004.
- [10] Ióscarczyk A, Stobierska E, Paszkiewicz Z, Gawlicki M: J Am Ceram Soc 79: 2539-2544, 1996.
- [11] Ióscarczyk A, Paszkiewicz Z: Szklo i Ceramika 2: 60-64, 2003.
- [12] Ióscarczyk A, Zima A: Szklo i Ceramika, 4: 144-149, 2003.
- [13] Ba áková L, Starý V, Kofro ová O, Lisá V: J Biomed Mater Res 54: 567-578, 2001.
- [14] Ba áková L, Filová E, Rypá ek F, Švor ík V, Starý V: Cell adhesion on artificial materials for tissue engineering. Physiol Res 53(Suppl.1): S35-S45, 2004.
- [15] Higashi S, Ohsumi T, Ozumi K, Kuroki K, Inokuchi Y, Terashita M: Dent Mater J. 17: 186-194, 1998.

ADHESION AND PROLIFERATION OF VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS ON POLYLACTIDE-POLYETHYLENE OXIDE COPOLYMERS WITH DIFFERENT CONTENT AND LENGTH OF POLYETHYLENE OXIDE CHAINS

E. FILOVÁ*, L. BAÁKOVÁ*, V. LISÁ*, D. KUBIES***, L. MACHOVÁ**, M. LAPÍKOVÁ**, F. RYPÁEK**

*INSTITUTE OF PHYSIOLOGY,
ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC,
VÍDEŇSKÁ ST. 1083, 142 00, PRAGUE 4-KR, CZECH REPUBLIC
**INSTITUTE OF MACROMOLECULAR CHEMISTRY
ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC,
HEYROVSKÝ SQ. 2, 162 06 PRAGUE 6, CZECH REPUBLIC
***CENTRE FOR CELL THERAPY AND TISSUE REPAIR,
2ND FACULTY OF MEDICINE,
V ÚVALU 84, PRAGUE 5, CZECH REPUBLIC

Abstract

We evaluated antiadhesive effects of polymer surfaces prepared from PDLLA-PEO copolymers using PEO with a different molecular weight and different PEO content in comparison with the native poly(L-lactide) (PLLA) surface. All PDLLA-PEO copolymers significantly decreased number of initially adhered cells (by 23- 55% in comparison with pure PLLA) as well as spreading area 24 hours after seeding (by 39-79%). Cell proliferation, estimated by cell number on the 6 day after seeding and bromodeoxyuridine (BrdU) labeling index, was significantly lower on PEO-containing copolymers (by 58-96% and 21 - 35%, respectively) compared to pure PLLA surface. Immunofluorescence staining of vinculin showed that the ability of VSMC to form focal adhesion plaques was markedly reduced on surfaces with the highest content of PEO (33 and 44%). Thus, these copolymers are promising for creation of surfaces preventing uncontrolled adsorption of proteins and adhesion of cells. Consecutively, binding of defined ligands for cell adhesion receptors would enable to control cell behaviour on these materials, which could be used for construction of vascular prostheses.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 19-21]

Introduction

Poly lactide based polymers are extensively studied as a potential material for construction of artificial prosthesis due to their biodegradability and biocompatibility (Aframian et al. 2002, Tsuji et al. 2001) as well as physical parameters enabling preparation of polymer scaffolds (Zhang

2000). Adhesion of VSMC on PLLA is similar as on conventional culture plastics (Ba áková et al. 2003). PLLA in a form of nano-fibrous scaffolds increases adsorption of ECM proteins and adhesion of osteoblasts in vitro (Woo et al. 2003) as well as supports bone regeneration in vivo (Meining et al. 1996). PDLLA can serve as a drug carrier (Wildemann et al. 2004, Liang et al. 2004). On the other hand, poly(ethylene oxide) is known for its resistance to adsorption of cell adhesion-mediating proteins due to hydrophilic but uncharged nature of the polymer (Groll et al. 2004). In micelles, it can be used as carries for oral DNA delivery in vivo (Chang et al. 2004), or creating reverse thermo-responsive polymers used as a drug delivery system (Sosnik et al. 2004).

Material and methods

High-molecular-weight homopolymers poly(L-lactide) (PLLA) and poly(DL-lactide) (PDLLA) were synthesized by ring-opening polymerisation of the monomer L-lactide and/or DL-lactide in presence of tin(II) octoate as a catalyst. Alpha-methoxy-w-hydroxy poly(ethylene oxide)s (MeO-PEO) were prepared by anionic polymerization of ethylene oxide. Block copolymers MeO-PEO-b-PDLLA (referred as PDLLA-PEO) were synthesized by controlled ring-opening polymerisation of the monomer DL-lactide with MeO-PEO as a macroinitiator in presence of tin(II) octoate as a catalyst. Preparation of polymers has been described in details by Kubies et al. (2000), Rypáek et al. (2001) and Ba áková et al. (2003). The composition of the copolymers varied as followed: the sample LM235 - M_n (PEO) = 11 000, M_n (PDLLA) = 20 000; the sample LM 285 - M_n (PEO) = 23 800, M_n (PDLLA) = 20 600; the sample LM 286 - M_n (PEO) = 23 800 and M_n (PDLLA) = 10 000. Therefore, we compared the copolymers with short (M_n = 11 000) and long (M_n = 23 800) length of PEO chain.

The copolymers 285a, b, c, were deposited on polymeric support, prepared in advance on silanized glass coverslips by spin casting of 0.5% wt PLLA solution in chloroform. The set of the copolymer surfaces with different PEO content diluted with the PDLLA homopolymer was prepared by spin casting of the copolymer solutions (1%wt in acetone) on the polymer PLLA support. The copolymer LM 286 was deposited directly on silanized glass by spin casting from the 0.5%wt micellar solution in dioxane/water = 6/4 vol/vol. The final concentration of the PEO phase on the surface of the polymeric film deposited on glass was as followed: the surface LM 235 with 33% wt of PEO phase, surfaces LM 285a, LM 285b and LM 285c with 44,6 %, 33% and 18%wt of PEO phase, respectively, and surface LM 286 with 70.4% PEO.

Both the length of PEO chains and percentage of PEO were reported to affect markedly the cell non-adhesive properties of PEO-PDLLA and related copolymers (Kim and Kim 2002).

The covered glass slides were inserted into 24-well-Nunclon Multidishes (Nalge Nunc Int., Denmark, diameter 1.5 cm) for cell experiments. From two to four samples were used for each experimental group and time interval.

VSMC were derived from the intima- media complex of the thoracic aorta of 8-week- old male Wistar SPF rats by explantation method (Ba áková and Kuneš 1995), and used in passages 15 to 19. Cells were seeded at the initial number of 30 000 cells/well (i.e., population density of 16000 cells/cm²) into 1.5 ml of Dulbecco-modified Eagle medium (DMEM; Sigma, U.S.A.), supplemented with 10% of fetal bovine serum (FBS; Sebak GmbH, Aidenbach, Germany) and 40µg/ml of gentamicin (LEK, Ljubljana, Slovenia).

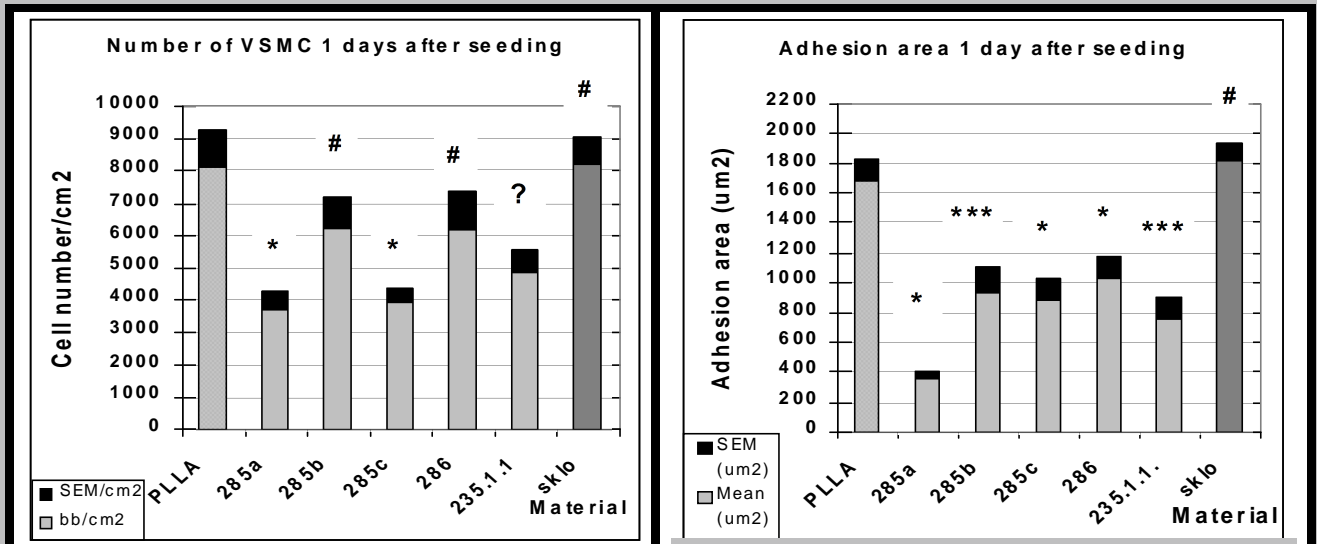


FIG. 1. Population density (A) and adhesion area (B) of VSMC on day 1 after seeding on PDLLA-PEO copolymers with various length of PEO chains and different PEO content. Mean \pm SEM, statistical sign.: *** $p < 0.001$, $p < 0.05$, ** $p < 0.02$, * $p < 0.01$, # $p = n.s.$

The number of initially adhered VSMC and spreading area were evaluated 24 hours after seeding. The cells were fixed with 10% neutral formol and stained with Gill's hematoxylin and eosin (Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.). The number of VSMC was counted in 21-36 randomly selected fields (0.14 mm², Olympus, Japan, objective 20x). The size of cell spreading area was measured on microphotographs taken by a digital camera (Olympus, DP70, Japan) using a software Atlas (Tescan, Czech Rep.) in 10-30 microscopic fields for each sample (1-20 cells per field, objective 20x, 0.14mm²). On day 6 after seeding, cells were counted on 3-4 samples using hemocytometer.

BrdU labelling index was measured in cells three days after seeding. The VSMC were incubated with BrdU for 40 min and incorporated BrdU was immunolabelled using immunoperoxidase method (monoclonal antibody against 5-BrdU, EXBIO Prague, Czech Rep., dilution 1:200). Positively stained cells were counted in 21-30 randomly selected fields (0.25 mm², objective 20x) homogeneously distributed

in each sample using a phase-contrast microscope (Opton, Axioplan, Germany) equipped with a calibrated eye-piece grid.

Immunofluorescence staining of vinculin for determination of focal adhesion plaques was performed on 3-day-old cultures. The cells were fixed in methanol (5 min, -20°C), pretreated with 3% fetal bovine serum in PBS containing 0.1% Triton X-100 solution (20 min at room temperature). As a primary antibody, monoclonal mouse anti-human vinculin antibody (dilution 1:50, Sigma, U.S.A.) and as a secondary antibody goat anti-mouse IgG fluorescein isothiocyanate (FITC) conjugate (1:200, Sigma, U.S.A.) were used. Digital photographs of cells were taken under epifluorescence microscope (Opton, Axioplan, Germany) using an oil immersion 100x objective.

Quantitative data were given as means \pm SEM and statistically evaluated by Student's *t*-test for unpaired data, using a 5% error probability criterion.

Results and discussion

All types of PDLLA-PEO copolymers showed statistically significant decrease (by 23-55%) in number of initially adhered VSMC 24 hours after seeding (FIG. 1A) in comparison with pure PLLA homopolymer. Spreading area of VSMC was also markedly inhibited by additive of PEO in copolymer (by 39-79%; FIG. 1B). The maximum inhibition of cell adhesion was observed on the sample 285a, i.e. the copolymer with the highest PEO concentration and with the longest PEO chain among samples of the set 285. This could be explained by prevention of adsorption of cell adhesion-mediating proteins from culture medium on PEO in PDLLA-PEO copolymer. Similar results were observed in osteoblast-like cells cultured on poly(L-lactide-co-glycolide) scaffolds modified with PEO (Koegler and Griffith 2004). Grafting the PDLLA-PEO with 5 or 20% of GRGDSG, an oligopeptide present in integrin-binding sites of natural extracellular matrix molecules (e.g., fibronectin, vitronectin, laminin, collagen, osteopontin; Hynes 1999), significantly increased the number and spreading of attached cells almost to the values found on PDLLA or standard cell culture plastics (Filová et al. 2003).

Immunocytochemical staining of vinculin, an integrin asso-

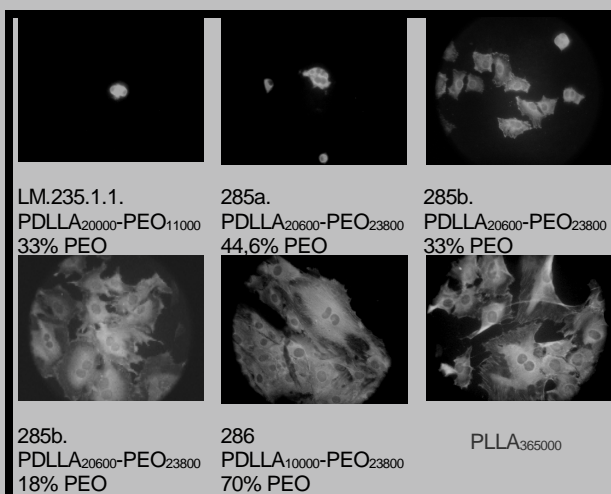


FIG. 2. Immunofluorescence staining of vinculin in rat VSMC on PDLLA-PEO copolymers with various length of PEO chains and different PEO content, 3 days after seeding, microscope Opton Axioplan, objective 100x, immerse oil.

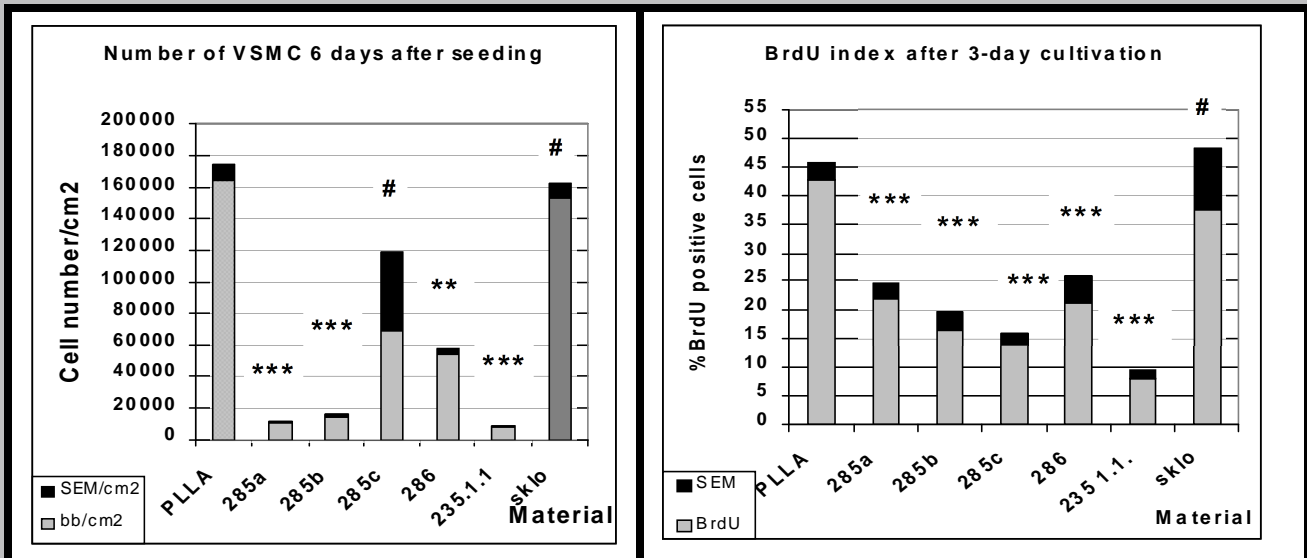


Fig. 3. Population density on day 6 (A) and BrdU labeling index on day 3 (B) after seeding of VSMC on PDLLA-PEO copolymers with various length of PEO chains and different PEO content. Mean \pm SEM, statistical sign.: * $p < 0.001$, $p < 0.05$, ** $p < 0.02$, * $p < 0.01$, # $p = n.s.$**

ciated protein, revealed that on copolymers 285 the ability of VSMC to form focal adhesion plaques decreases with increasing PEO concentration. On the other hand, the copolymer 286 with very high PEO concentration, i.e. 70%, showed relatively good cell adhesion including formation of focal adhesion plaques. The latter finding, which may be related to different technology of preparation of this material, remain to be elucidated. In addition, on copolymers with comparable PEO content (i.e., LM235.1.1. and 285b, both with 33% PEO), the formation of focal adhesion plaques was better on the copolymer with longer PEO chains (FIG.2), whereas a contrary result was expected (Kim and Kim 2002). On day 6 after seeding, the decrease in cell number on PDLLA-PEO copolymers (by 58-96 % compared to PLLA) after 6-day incubation (Fig. 3A) was even more apparent than that on the first day after seeding (FIG.1) which suggest low or none proliferation activity. Accordingly, BrdU labelling index (FIG.3B), a marker of new synthesized DNA, showed fall (by 21 - 35% compared to PLLA) on samples containing PEO. As cell proliferation is dependent on cell adhesion (reviewed by Ba áková et al. 2004), noticeably, surfaces with very poor adhesion protected cells from proliferation.

Conclusion

On PDLLA-PEO copolymers with 18-44.6% PEO, the reduction of adhesion and proliferation of VSMC is proportional to increasing PEO concentration on the material surface. Thus, the copolymers with higher PEO concentration are promising as inert background for attachment of ligands for cell adhesion receptors in defined concentrations and spatial distribution.

Acknowledgement

This study was supported by the Grant Agency of the Acad. Sci. CR (grant No. A4050202), Ministry of Education of CR (grant No. LN00A065) and by research project No. AVOZ 5011922 of the Inst. Physiol., Acad. Sci. CR.

References

- [1] Aframian D.J., Redman R.S., Yamano S., Nikolovski J., Cukierman E., Yamada K.M., Kriete M.F., Swaim W.D., Mooney D.J., Baum B.J.: *Tissue Eng.* 8: 649-59, 2002.
- [2] Ba áková L., Kuneš J.: *Physiol. Res.* 44: 127-130, 1995.
- [3] Ba áková L., Filová E., Rypá ek F., Švor ík V., Starý V.: *Physiol. Res.* 53 (Suppl.1): 35-45, 2004.
- [4] Ba áková L., Lap íková M., Kubies D., Rypá ek F.: *Adv. Exp. Med. Biol.* 534: 179-189, 2003.
- [5] Chang S.F., Chang H.Y., Tong Y.C., Chen S.H., Hsiao F.C.; Shao-Chun L.S.C.; Liaw J.: *Hum. Gene Ther.* 15: 481-93, 2004.
- [6] Filová E., Ba áková L., Lisá V., Machová L., Lap íková., Kubies D., Proks V., Rypá ek F.: *Eng. Biomater. (Inzynieria Biomaterialów)* 6: 9-11, 2003.
- [7] Groll J., Amirgoulova E.V., Ameringer T., Heyes C.D., Rocker C., Nienhaus G.U., Moller M.: *J. Am. Chem. Soc.* 126: 4234-4239, 2004.
- [8] Hynes R.O.: *Trends Cell Biol.* 9: M33-M37, 1999.
- [9] Kim J.H., Kim S.C.: *Biomaterials* 23: 2015-25, 2002.
- [10] Kim B.S., Mooney D.J.: *J. Biomed. Mater. Res.* 41: 322-332, 1998.
- [11] Koegler W.S., Griffith L.G.: *Biomaterials* 25: 2819-2830, 2004.
- [12] Kubies D., Rypá ek F., Ková ová J., Lednický F.: *Biomaterials* 21: 529-536, 2000.
- [13] Liang L.S., Jackson J., Min W., Risovic V., Wasan K.M., Burt H.M.: *J. Pharm. Sci.* 93: 943-956, 2004.
- [14] Meinig R.P., Rahn B., Perren S.M., Gogolewski S.: *J. Orthop. Trauma.* 10: 178-190, 1996.
- [15] Rypá ek F., Machová L., Kotva R., Škarda V.: *Polym. Mater. Sci. Eng.* 84: 817-818, 2001.
- [16] Sosnik A., Cohn D.: *Biomaterials* 25: 2851-2858, 2004.
- [17] Tsuji T., Tamai H., Keiji I. K., Kyo E., Kosuga K., Hata T., Okada M., Nakamura T., Komori H., Motohara S., Uehata H: *Curr. Interv. Cardiol. Rep.* 3: 10-17, 2001.
- [18] Wildemann B., Lubberstedt M., Haas N.P., Raschke M., Schmidmaier G.: *Biomaterials* 25: 3639-3644, 2004.
- [19] Woo K.M., V.J. Chen V.J., Ma P.X.: *J. Biomed. Mater. Res.* 67: 531-537, 2003.
- [20] Zhang R.Y., Ma P.X.: *J. Biomed. Mater. Res.* 52: 430-438, 2000.

JAK CZYNNIKI MIKROSTRUKTURALNE WPŁYWAJ NA DEGRADACJĘ IN VITRO I IN VIVO KOPOLIMERU GLIKOLIDU Z L-LAKTYDEM

EL BIETA PAMUŁA*, JOANNA BUCZYŃSKA*,
EL BIETA MENASZEK**, PIOTR DOBRZYŃSKI***

*AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLSKA
**UNIwersytet Jagielloński, Collegium Medicum,
Zakład Cytobiologii i Histochemii,
Wydział Farmaceutyczny,
ul. Medyczna 9, 30-688 KRAKÓW, POLSKA
***POLSKA AKADEMIA NAUK, CENTRUM CHEMII POLIMERÓW,
ul. Curie-Skłodowskiej 34/20, 41-819 ZABRZE, POLSKA

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań degradacji w warunkach *in vitro* i *in vivo* resorbowalnego kopolimeru glikolidu z L-laktydem (PGLA). Badaniom poddano polimer w postaci folii i gąbek, które otrzymano stosując metodę porowatych gąbek. Przeprowadzono analizę mikrostruktury otrzymanych materiałów i zbadano degradację w buforowanym roztworze soli fizjologicznej (PBS) przez 22 tygodnie i w warunkach *in vivo* (w mięśniu szkieletowym szczurów) przez 12 tygodni. Badania wykazały, że w obu przypadkach (*in vitro* i *in vivo*) folia ulega degradacji znacznie szybciej niż gąbka.

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 22-27]

Wprowadzenie

Resorbowalne poliestry alifatyczne: polilaktydy (PLLA, PDLA, PDLLA), poliglikolid (PGA) i ich kopolimery (PGLA) są wykorzystywane w medycynie, farmacji i inżynierii tkankowej kości i chrząstki. Określenie profilu degradacji tych materiałów ma kluczowe znaczenie dla ich wszystkich zastosowań biomedycznych. Na degradację wpływają takie czynniki jak: budowa chemiczna, masa cząsteczkowa, polidispersja, krystaliczność [1], kształt [2], morfologia, a także warunki przeprowadzenia eksperymentu [3]. Najważniejszymi czynnikami wpływającymi na procesy degradacji w badaniach *in vitro* są: pH, siła jonowa, pojemność buforowa [3], podczas gdy w badaniach *in vivo*: miejsce implantacji, aktywność komórkowa, obecność enzymów przyspieszających degradację [4].

Celem pracy była ocena degradacji kopolimeru glikolidu z L-laktydem w postaci folii i porowatych gąbek w warunkach *in vitro* (buforowany roztwór soli fizjologicznej) i *in vivo* (mięsień pośladkowy szczura). Zastosowany w pracy model badawczy *in vivo* został użyty, ponieważ mięsień szkieletowy

HOW MICROSTRUCTURAL FACTORS INFLUENCE IN VITRO AND IN VIVO DEGRADATION OF POLY(GLYCOLIDE-CO- L- LACTIDE)

EL BIETA PAMUŁA*, JOANNA BUCZYŃSKA*,
EL BIETA MENASZEK**, PIOTR DOBRZYŃSKI***

*AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,
30 MICKIEWICZA AVE., 30-059 KRAKÓW, POLAND
**JAGIELLONIAN UNIVERSITY, COLLEGIUM MEDICUM,
DEPARTMENT OF CYTOBIOLOGY AND HISTOCHEMISTRY,
FACULTY OF PHARMACY,
9 MEDYCZNA ST, 30-688 KRAKÓW, POLAND
***POLISH ACADEMY OF SCIENCES,
CENTRE OF POLYMER CHEMISTRY,
34/20 CURIE-SKŁODOWSKIEJ ST., 41-819 ZABRZE, POLAND

Abstract

This study presents the results of *in vitro* and *in vivo* degradation of resorbable copolymer of glycolide and L-lactide. The copolymer was manufactured in two forms: i) foils and ii) foams, obtained by solvent casting / particulate leaching method. The resulting two forms of copolymer were submitted to degradation in phosphate buffered saline (PBS) at 37°C for 22 weeks, and implanted into gluteal muscle of rats for 12 weeks. The results show that the foils in both conditions (*in vitro* and *in vivo*) degrade much faster than the foams.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 22-27]

Introduction

Resorbable aliphatic polyesters: polylactides (PLLA, PDLA, PDLLA), polyglycolide (PGA) and their copolymers (PGLA) are widely used in medicine, pharmacy and tissue engineering of bone and cartilage. For all biomedical applications the degradation profile is of a key importance. The rate of the degradation is influenced by polymer molecular mass, polydispersity, crystallinity [1], shape [2], morphology, and the conditions under which the polymer is examined [3]. For *in vitro* conditions: pH, ionic strength, buffering capacity [3], while for *in vivo*: place of implantation, cellular activity and presence of enzymes accelerating the degradation process are the most important factors affecting degradation phenomena [4].

The aim of this study was to examine the *in vitro* (in phosphate-buffered saline, PBS) and *in vivo* (gluteal muscle of rats) degradation of copolymer of glycolide and L-lactide, processed into two forms: non-porous foils and porous foams. The rat model was used because skeletal muscle are generally considered to show a more intense inflamma-

wy wykazuje intensywniejszą odpowiedź komórkową, niż np. kość czy chrząstka. Ponadto, materiały wykorzystywane do zastąpienia ubytków tkanki kostnej czy chrząstki, kontaktują się również z otaczającymi je tkankami miękkimi (okostnina, tkanki łączne, mięśnie) [5].

Materiały

Kopolimeryzację glikolidu z laktydem (Purac, Holandia) prowadzono w stopie w temperaturze 100°C z wykorzystaniem inicjatora acetyloacetonianu cyrkonu (IV) $Zr(acac)_4$, przy stosunku molowym inicjator/komonometry wynoszącym 1.2×10^{-3} , zgodnie z metodą opisaną poprzednio [6]. Otrzymany kopolimer, w celu usunięcia ładów nieprzereagowanych komonomerów, rozpuszczono w chloroformie i wytrącono w alkoholu metylowym. Następnie wysuszono pod próżnią do stałej masy.

Geleki otrzymano stosując metodę odlewania z roztworu i wypłukiwania soli zgodnie z metodą zaproponowaną przez Mikos'a i wsp. [7]. Cytrynian sodu (POCH, Gliwice) o zdefiniowanej wielkości ziaren ($500 \pm 100 \text{ nm}$), zmieszano z 10% (m/v) roztworem kopolimeru w takiej proporcji, aby udział objętościowy porożenu był równy 85%, odlane na szalki Petriego, wysuszono na powietrzu i w suszarce próżniowej przez 24h. Następnie usuwano sól poprzez płukanie w wodzie destylowanej.

Folieki otrzymano poprzez odlanie na szalki Petriego 10% (m/v) roztworu kopolimeru w chlorku metylenu i wysuszeniu na powietrzu i w suszarce próżniowej.

Metody

Właściwości materiałów

Skład chemiczny badanego kopolimeru określono za pomocą magnetycznego rezonansu jądrowego, ^1H NMR (spektrometr firmy Varian Unity Inova). Masy cząsteczkowe M_n i M_w kopolimeru wyznaczono stosując metodę chromatografii elucyjnej GPC (chromatograf Spectra Physics SP 8800).

Obserwacje mikrostruktury folii i gelek przeprowadzono za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (JSM - 5400 firmy Jeol, Japonia) przy powiększeniach odpowiednio 3500 i 50 razy po napyleniu próbek cienkimi warstwami węgla. Grubość folii i gelek zmierzono za pomocą mikrometrycznej.

Badania degradacji *in vitro*

Badania degradacji prowadzono w buforowanym roztworze 0.9% soli fizjologicznej (PBS) o następującym składzie: 24 mM Na_2HPO_4 oraz 16 mM KH_2PO_4 i pH 7.0. Geleki o masie 0.20 g (± 0.01 g) i folieki 0.23g (± 0.02 g) umieszczono w oddzielnych pojemnikach, zalano 100 ml roztworu PBS i inkubowano w temperaturze 37°C. Co tydzień wyjmowano jedną próbkę, a pozostałe próbki zalewano tym samym roztworem PBS. Badania prowadzono przez 22 tygodnie. Wyjęte próbki przepłukiwano ultra czystą wodą (UHQ-water, Purelab, Elga, Niemcy) i suszono w suszarce próżniowej przez co najmniej 24 godziny w temperaturze 25°C. Względne zmiany masy próbek wyznaczono ze wzoru:

$$MR = ((m_t - m_0)/m_0) \cdot 100\%$$

gdzie:

m_t - masa próbek po każdym tygodniu inkubacji w [g],

m_0 - masa próbek przed inkubacją w [g].

Lepkość polimeru wyznaczono metodą wiskozymetryczną stosując wiskozymetr Ubbelohde'a. Graniczną liczbę lepkościową ($[\eta]$) wyznaczono metodą jednopunktową dla stężenia polimeru 0.8 g/100ml korzystając ze wzoru [8]:

bone or cartilage but also with the surrounding soft tissues (periosteum, connective tissue, muscles) [5].

Materials

Copolymerization of glycolide and L-lactide (Purac, Holland) was performed in bulk with a $Zr(acac)_4$ molar ratio of 1.2×10^{-3} at 100°C by a conventional method using a vacuum line for degassing and sealing of the ampoules according to the method described previously [6]. The obtained copolymer was purified by dissolution in chloroform and precipitation into a 10-fold volume of methanol. The copolymer was dried under reduced pressure until constant weight.

The foams were produced by solvent casting / particulate leaching technique, according to a method proposed by Mikos et al. [7]. Briefly, sieved sodium citrate particles (POCH, Gliwice, Poland) of defined size ($500 \pm 100 \text{ nm}$), were mixed with 10% (w/v) copolymer solution in methylene chloride in such proportion to receive salt volume fraction of 85%. The mixture was cast on glass Petri dishes, dried overnight in air, followed by vacuum treatment at a decreased pressure for 24h. Next salt was leached in distilled water. After that the samples were dried in the oven under decreased pressure for 24h and stored in a desiccator prior to use.

Methods

Properties of materials

The copolymer composition was determined by ^1H NMR measurements (Varian Unity Inova spectrometer). The molecular masses M_n and M_w were determined by gel permeation chromatography with the Physics SP 8800 chromatograph. The microstructure of foils and foams was studied by JSM 5400 scanning microscope from JEOL, Japan at magnification of 3500 and 50 times, respectively. Before analysis the samples were coated with a thin carbon layer in order to make them conductive. The thickness of foils and foams was measured by micrometric screw.

In vitro degradation study

Degradation of foils and foams was performed in phosphate-buffered saline (PBS) [24mM Na_2HPO_4 and 16 mM KH_2PO_4 , pH= 7] at 37°C. The foams weighing 0.2 g (± 0.01 g) and foils weighing 0.23g (± 0.02 g) were incubated in 100ml of buffer in plastic vials for 22 weeks. The buffer was exchanged every week. After every week one piece of foam and foil was taken, washed thoroughly in ultra high quality water (UHQ-water, Purelab, Elga) and dried in vacuum oven for at least 24h. The relative mass change was calculated from the formula:

$$MR = ((m_t - m_0)/m_0) \cdot 100\%$$

where

m_t - mass of the sample after each week of incubation [g],

m_0 - initial mass of the sample [g].

The viscosity of foils and foams was measured by Ubbelohde viscometer in chloroform at 25°C, and the intrinsic viscosity was calculated for the concentration of solution 0.8 g/dL, according to the formula [8]:

$$[\eta] = [2(t/t_0 - \ln(t/t_0 - 1))]^{1/2} / c,$$

where

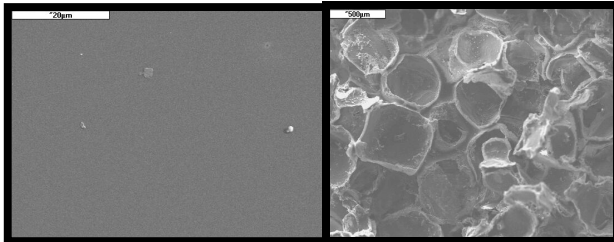
c - the concentration of the solution,

t - the flow time of the solution,

t_0 - flow time of pure solvent.

In vivo degradation study

Foils and foams weighing 0.02 g were implanted into gluteal muscle of adult hooded rats. At the same time a sham



RYS.1a. Obraz SEM folii (powi kszenie 2000x).
FIG.1a. SEM micro-
photograph of foil
(magnification 2000x).

RYS.1b. Obraz SEM
g bki PGLA
(powi kszenie 50x).
FIG.1b. SEM micro-
photograph of foam
(magnification 50x).

$$[\eta] = [2(t/t_0 - \ln(t/t_0) - 1)]^{1/2}/c$$

gdzie:

c jest st eniem polimeru;

t - czas przepływu roztworu polimeru przez kapilar ;

t₀ - czas przepływu czystego rozpuszczalnika przez kapilar .

Badania degradacji *in vivo*

Folie i g bki o masie 0.02 g wszczepiono do mi nia na laskowego dorosłych szczurów kapturowych. Jednocześnie taki sam zabieg chirurgiczny, lecz bez wprowadzenia materiału, przeprowadzono w grupie kontrolnej. Po 1, 4 i 12 tygodniach zwier z ta u miercano przez dootrzewnowe podanie Vetbutalu. Implanty wraz z otaczaj cą tkank ą pobierano i natychmiast zamra ano w ciekłym azocie. Nast pnie za pomoc mikrotomu kriostatowego przygotowywano skrawki tkankowe o grubo ci 6 mm, które barwiono metod MGG [9] i obserwowano pod mikroskopem optycznym (Olympus BH2, obiektyw 40x).

Wyniki

Wła ciwo ci folii i g bek

W wyniku przeprowadzonych bada 1H NMR okre lono skład kopolimeru: 18% monomeru glikolidu i 82% monomeru L-laktydu. Metoda chromatografii elowej wykazała, e liczbowo rednia masa cz steczkowa polimeru wynosiła 34 000 D, za wagowo rednia masa cz steczkowa była równa 85 000 D.

Na RYS. 1 przedstawiono obrazy powierzchni folii i g -bek uzyskane za pomoc mikroskopu skaningowego SEM. Powierzchni folii jest gładka podczas gdy g bki maj rozmiar porów zbli ony do rozmiaru cz steczek porogenu (400 ÷ 600 μm). Porowato otrzymanych g bek wynosiła 87.0%±1.4%. Grubo folii polimerowych wynosiła: 0.18 mm ±0.014 mm, a grubo g bek wynosiła 1.7 mm±0.1 mm. Oszacowane rozwini cie powierzchni g bek (S_v~ 0.07 m²/g) było o 1 rz d wielko ci wi ksze ni folii (S_v~0.008 m²/g).

Degradacja *in vitro*

RYS. 2 przedstawia folie i g bki po inkubacji w PBS. Do 4 tygodnia inkubacji folie s prze roczyste i stabilne, a nast pnie staj si matowe i zaczynaj si kruszy . G bki natomiast zachowuj swoje wymiary przez 20 tygodni inkubacji w PBS; zaczynaj si one kruszy dopiero po 22 tygodniach inkubacji.

RYSUNKI 3 i 4 przedstawiaj ą odpowiednio wzgl dn zmian masy i granicznej liczby lepko ciowej (η) w funkcji czasu inkubacji w PBS. Do czwartego tygodnia inkubacji zmiany masy folii i g bek s bardzo podobne, pó niej masa folii zaczyna spada gwałtowniej. Masa g bek praktycznie nie zmienia si w przeci gu 18 tygodni.

operation was performed in animals of control group. Both the experimental and control animals were divided in series counting 5 individuals for each group. 1, 4 and 20 weeks after operation the animals were euthanized by an overdose of Vetbutal. Implants and surrounding muscles were excised, frozen in liquid nitrogen and subsequently cut in cryostat microtome to sections of 6mm thick. The samples were stained by a conventional MGG method [9], and observed under the optical microscope (Olympus BH2, objective 40x).

Results

Properties of foils and foams

A molar ratio of glycolide to L-lactide in copolymer was 18:82, as determined by ¹H NMR. Gel permeation chromatography showed that number average molecular mass, M_n, of copolymer was 34000 D and weight average molecular mass, M_w, was 85 000D.

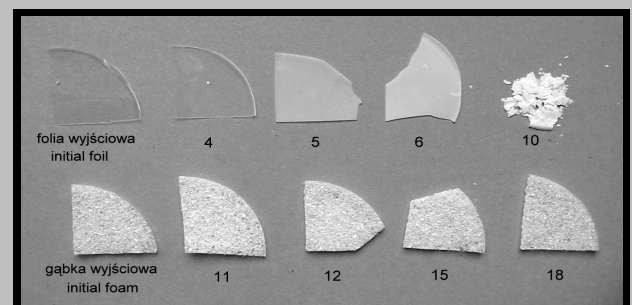
FIGURE 1 shows representative microstructure of foils and foams obtained by scanning electron microscope (SEM). The surface of foils is smooth while the foams have the pores of the size close to the size of porogen particles (400÷600 μm). The porosity of foams was 87%±1.4%. The thickness of foams was 1.68mm±0.11mm, while the foils had the thickness of 0.18mm ±0.014mm. The estimated specific surface area of foams (S_v~0.07 m²/g) was about one order of magnitude higher than that of foils (S_v~0.008 m²/g).

In vitro degradation

FIGURE 2 presents the foils and the foams as a function of incubation in PBS. Up to the 4th week the foils are transparent and stable, but afterwards they become mat, and start to crumble. On the other hand, the foams are dimensionally stable within 20 weeks of incubation; they start to disrupt after 22 weeks in PBS.

FIGURES 3 and 4 present relative masses and intrinsic viscosities η as a function of incubation time in PBS, respectively. Decrease of relative mass of the foils and the foams followed the same trends up to the 4th week of incubation. Later, the mass of foils started to decrease more sharply. The weight of the foams remained relatively constant up to the week 18th.

The intrinsic viscosity of the starting copolymer was 1.03 dL/g. Processing of the copolymer into the foams resulted in an increase of η up to 1.35 dL/g. On the other hand



RYS. 2. Folie PGLA: wyj ciowa, po 4, 5, 6 i 10 tygodniach inkubacji oraz g bki PGLA: wyj ciowa, po 11, 12, 15 i 18 tygodniach inkubacji w PBS.

FIG. 2. PGLA foils: initial, after 4, 5, 6 and 10 weeks of incubation in PBS and PGLA foams: initial, after 11, 12, 15 and 18 weeks of incubation

Przetworzenie kopolimeru na g bki spowodowało wzrost granicznej liczby lepkościowej z 1.03 dL/g do 1.35 dL/g, natomiast przetworzenie na folie praktycznie nie wpłynęło na lepkość wyrobu. Inkubacja g bek w PBS przez 3 tygodnie wywołała znaczny spadek ich lepkości. Dalsza inkubacja nie spowodowała już dalszego spadku lepkości g bek; wartość ustaliła się na poziomie powyżej 0.6 dL/g. Natomiast inkubacja folii przez czas dłuższy niż 7 tygodni spowodowała spadek η do wartości poniżej 0.4 dL/g.

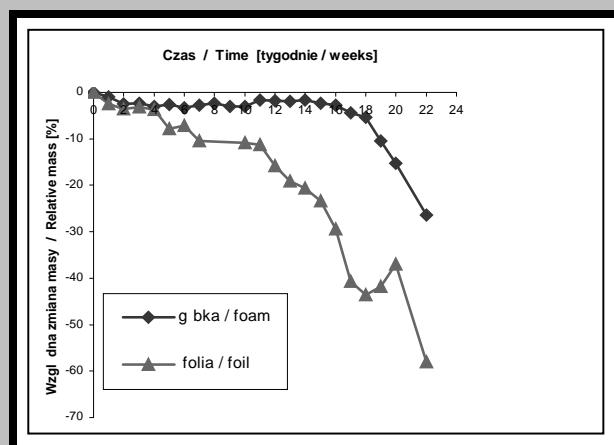
Degradacja *in vivo*

RYS.5 przedstawia przekroje przez mięsień szkieletowy szczura z wszczepionymi materiałami po 1, 4 i 12 tygodniach od operacji. W serii 1-tygodniowej [RYS. 5a, b] widoczny jest napływ komórek (głównie neutrofilów i monocytów/makrofagów) w kierunku implantów, wskazujący na wczesny proces zapalny. Folia i g bka wydają się być niezmięnione w wyniku implantacji. 4 tygodnie po implantacji [RYS.5c] jedna z powierzchni folii jest wyraźnie zmieniona pod wpływem otaczającej tkanki, zawierającej głównie komórki zapalne. Wyraźnie widoczne są obszary (kanały degradacji), które absorbują więcej barwnika. Druga strona folii, kontaktująca się z ziarniną, jest mniej zdegradowana. W przypadku 4-tygodniowej implantacji w g bce widoczne są pęknięcia [RYS. 5d]. 12 tygodni po implantacji folia ulega fragmentacji i jest dobrze osadzona w ziarninie [RYS. 5e]. Rodkowca z folii uległa wykruszeniu podczas przygotowywania skrawków tkankowych. Silniejsza absorpcja barwnika w wewnętrznej części folii wskazuje, że folia jest bardziej zdegradowana w rodku niż na zewnętrznej, gdzie była silnie związana z tkanką. W przeciwieństwie do folii, g bka po 12 tygodniach jest o wiele słabiej zdegradowana [RYS. 5f]. Można zauważyć obszary wewnętrznej g bki, absorbujące więcej barwnika i weryfikację na powierzchni.

Dyskusja

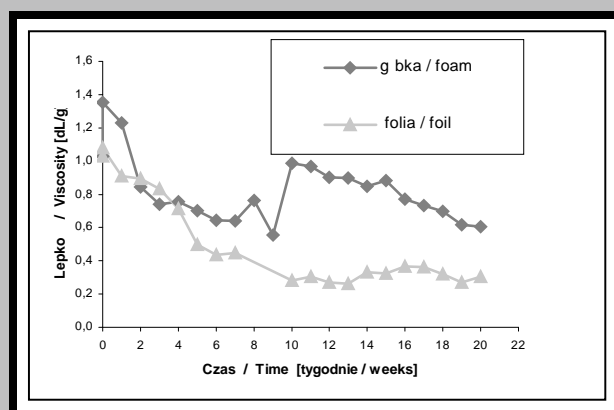
W celu wytworzenia dwóch materiałów o odmiennej mikrostrukturze kopolimer glikolidu i L-laktydu przetworzono w postaci nieporowatej folii i porowatej g bki. Sposób otrzymywania g bki sprawił, że wzrosła jej graniczna liczba lepkościowa, a co za tym idzie masa cząsteczkowa, w porównaniu z wyjściowym kopolimerem. Było to spowodowane tym, że w czasie intensywnego wymywania cząstek soli, były również wymywane oligomery i krótkie łańcuchy polimerowe, w wyniku czego występował relatywny wzrost lepkości.

Podatność otrzymanych materiałów na degradację zbadano w warunkach *in vitro* i *in vivo*. Proces degradacji monitorowano poprzez śledzenie zmian masy i lepkości (*in vitro*) i obserwacje mikroskopowe morfologii materiałów (*in vivo*). Folia degradowała się znacznie szybciej niż g bki: po 4 tygodniach *in vitro* stawały się matowe i zaczynały się kruszyć, podczas gdy g bki zachowały swoje wymiary przez 20 tygodni. Szybsza degradacja folii była spowodowana szybszym spadkiem masy cząsteczkowej, co stwierdzono za pomocą badania lepkości i ubytku masy. Ponadto folie ulegały degradacji heterogenicznej, co stwierdzono w badaniach *in vivo*: degradacja w wewnętrznej części przebiegała szybciej niż w warstwach przypowierzchniowych, gdzie tworzyła się warstwa materiału mniej podatnego na degradację. Zjawisko to, opisane w literaturze dla wyrobów z PDLA o grubości powyżej 200-300 μm, jako efekt 'naskórka i rdzenia' jest spowodowane reakcjami dyfuzji i autokatalitycznym wpływem grup karboksylowych na degradację takich materiałów [2]. W naszym przypadku, grubość folii wynosiła 180 ± 14 μm, więc wydawałoby się, że efekt 'naskórka i rdzenia' nie powinien wystąpić.



RYS. 3. Względna zmiana masy folii i g bek z PGLA w funkcji czasu inkubacji w PBS.

FIG. 3. Relative mass changes of the PGLA foils and foams as a function of incubation time in PBS.



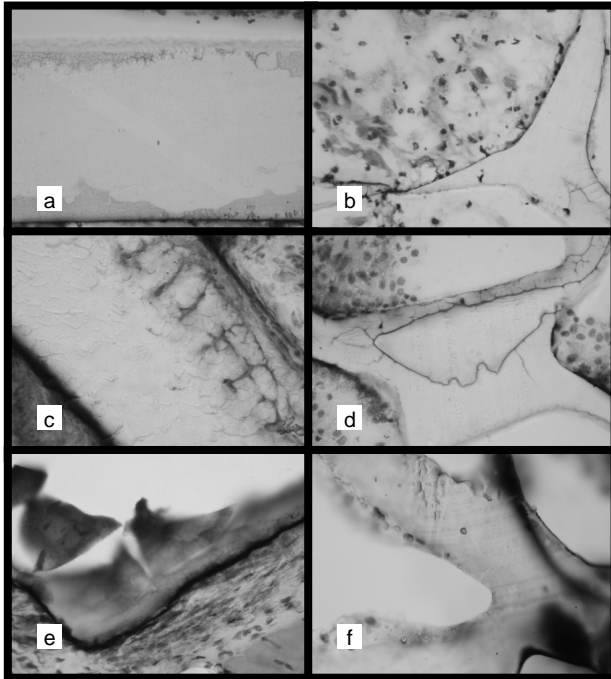
RYS. 4. Zależność granicznej liczby lepkościowej (η) folii i g bek PGLA od czasu inkubacji w PBS.

FIG. 4. Variation of intrinsic viscosity (η) of the foils and foams as a function of incubation time in PBS.

processing into the foils has no impact on η . The incubation in PBS caused a big drop of the inherent viscosity of the foams within three weeks. The further incubation did not cause a decrease of $[\eta]$ below the value of 0.6 dL/g. Contrary, the incubation of foils for more than 7 weeks in PBS, caused a decrease of η below 0.4 dL/g.

In vivo degradation

FIGURE 5 presents the cross-sections of foils and foams implanted into the skeletal muscle of rats for 1, 4 and 12 weeks. 1 week after implantation [FIG. 5a, b] the influx of cells, mainly neutrophils and monocytes/macrophages towards the implants, indicating early inflammation process is visible, and the structure of both the foil and the foam seems not to be changed *in vivo*. 4 weeks after implantation [FIG.5c] one surface of foil is clearly altered by the surrounding tissue (mainly inflammatory cells): degradation channels which absorb more of stain are apparent. The other side of foil, which contacts granulation tissue is less degraded. 4 weeks after implantation the cracks appear in the foam [FIG. 5d]. 12 weeks after implantation the foil is well settled in granulation tissue, and the fragmentation of the foil is evident [Fig. 5e]. The central part of the foil was probably removed during the preparation of tissue slices.



RYS. 5. Folie i g bki z PGLA po implantacji w mi niu szkieletowym szczurów: a, b - przez 1 tydzie , c, d - przez 4 tygodnie, e, f - przez 12 tygodni; barwienie MGG, mikroskop optyczny Olympus BH2, obiektyw 40x.

FIG. 5. PGLA foils and foams after implantation in skeletal muscle of rats: a, b - 1 week, c, d - 4 weeks, e, f - 12 weeks; MGG staining, optical microscope Olympus BH2, objective 40x.

G bki, w przeciwie stwie do folii degradowały si znacznie wolniej poniewa : i) wyj ciowo miały wy sz mas cz - steczkow , a oddziaływanie ich z PBS nie spowodowało tak dramatycznego spadku długo ci ła cuchów jak w przypadku folii, ii) grubo cianek w g bkach była du o ni sza ni warto krytyczna, przy której degradacja przebiega heterogenicznie.

Podzi kowania

Autorzy dzi kuj Pani Mgr B. Trybalskiej za badania SEM. Badania były finansowane z projektu KBN 'Nowe materiały i technologie dla in ynierii biomedycznej (Nr PBZ-KBN-082/T08/2002).

The higher absorption of the stain in the inner part suggests that the degradation was more advanced inside the implant, than in the outer part tightly bounded up with the tissue. Contrary to the foil, the foam after 12 weeks is less degraded [FIG. 5f]. There are some inner parts of the foam absorbing more stain and several erosions on the surface.

Discussion

Copolymer of glycolide and L-lactide was processed in order to produce two materials of different microstructure, e.g. non-porous foils and porous foams. The manufacturing procedure caused that the viscosity of the foams, as well their molecular mass increased. The reason was that during intense salt leaching procedure, oligomers and short chains were also leached out, thus resulting in increase of viscosity.

The materials were submitted to degradation in both *in vitro* and *in vivo* conditions. The degradation was monitored by weight loss and viscosity changes (*in vitro*) and by microscopic observations of the materials morphology (*in vivo*). The foils degraded much faster than the foams: after 4 weeks *in vitro* they became mat and start to crumble, while the foams were dimensionally stable for 20 weeks. The faster degradation of foils was caused by the faster decrease of molecular mass, as shown by viscosity measurements and weight loss. Moreover, the foils degraded heterogeneously, as shown by *in vivo* observations, the degradation in the internal part being faster than at the surface where a layer of less degraded material was formed. This effect caused by diffusion-reaction phenomena and autocatalytic effect of carboxylic chain ends, was already described in the literature for large-size (more than 200-300 mm thick) PDLA 50 devices [2]. In the case of our foils, which had the thickness of 180 ± 14 mm, the 'skin-core' effect should not appear.

The foams, on the other hand, degrade much slowly, because: i) initially they had much higher molecular mass and ageing in PBS did not cause such dramatic decrease of the length of the polymeric chains as in the case of foils and ii) the thickness of the walls in the foams was smaller than the critical value, above which the material degrades heterogeneously.

Acknowledgements

The authors thank MSc B. Trybalska for SEM studies. This study was supported by the research program of the Polish Committee for Scientific Research "New materials and technologies for biomedical engineering" (project PBZ-KBN-082/T08/2002).

- [1] L. Lu, S. J. Peter, M. D. Lyman, H-L Lai, S.M. Leite, J.A. Tamada, S. Uyama, J.P. Vacanti, R. Langer, A. G. Mikos "In vitro and in vivo degradation of porous poly(DL-lactic-co-glycolic acid) foams", *Biomaterials* 21 (2000), 1837-1845.
- [2] I. Grizzi, H. Garreau, S. Li, M. Vert: "Hydrolytic degradation of devices based on poly(DL-lactic acid) size-dependence", *Biomaterials* 16 (1995), 305-311.
- [3] Ch. E. Holy, S. M. Dang, J. E. Davies, M. S. Shoichet "In vitro degradation of a novel poly(lactide-co-glycolide) 75/25 foam", *Biomaterials* 20 (1999), 1177-1185.
- [4] R. C. Thomson, A. G. Mikos, E. Beahm, J. C. Lemon, W. C. Satterfield, T. B. Aufdemorte, M. J. Miller "Guided tissue fabrication from periostum using preformed biodegradable polymer scaffolds", *Biomaterials* 20 (1999), 2007-2018.

- [5] E. M. Ooms, E. A. Egglezos, J. G. C. Wolke, J. A. Jansen, "Soft tissue response to injectable calcium phosphate cements", *Biomaterials* 24 (2003), 749-757
- [6] P. Dobrzyński, J. Kasperczyk, H. Janeczek, M. Bero "Synthesis of biodegradable copolymers with the use of low toxic zirconium compounds. 1. Copolymerisation of glycolide with L-lactide initiated by Zr(acac)₄", *Macromolecules* 34 (2001), 5090-5098.
- [7] A. G. Mikos, J. S. Temenoff: "Formation of highly porous biodegradable scaffolds for tissue engineering", *Biotechnology of Human Disorders* 3(2) (2000), 1-7.
- [8] G. Seretoudi, D. Bikiaris, C. Panayiotou: "Synthesis, characterization and biodegradability of poly(ethylene succinate)/poly(?-caprolactone) block copolymers", *Polymer* 43 (2002), 5405-5415.
- [9] S. Zawistowski, *Technika histologiczna, histologia i podstawy histopatologii*, PZWL 1986, str. 145.

BADANIA WŁAŚCIWOŚCI MAGNETYCZNYCH ODLEWNICZEGO STOPU KOBALTU

B. SUROWSKA**, M. BŁASZCZAK*

*POLITECHNIKA LUBELSKA, WYDZIAŁ MECHANICZNY, INSTYTUT TECHNOLOGICZNYCH SYSTEMÓW INFORMACYJNYCH

**POLITECHNIKA LUBELSKA, WYDZIAŁ MECHANICZNY, KATEDRA INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43,(2004),27-29]

Wprowadzenie

Zawartości chromu, niklu i molibdenu zarówno w stopach odlewniczych jak i przerabianych plastycznie są tak dobrane, by osnow stopów był paramagnetyczny roztwór β -Co o strukturze A1. Ze względu na alotropię kobaltu w stopach tych może być obecny ferromagnetyczny roztwór α -Co o strukturze A3.

Stopy kobaltu posiadające strukturę roztworu A1 na bazie β -Co nie wykazują spontanicznego namagnesowania przy braku pola zewnętrznego, nawet, jeżeli wytworzy się w ich strukturze pewna ilość fazy ferromagnetycznej np. w procesie przeróbki plastycznej na zimno. Redukcja pola magnetycznego wynika ze struktury domenowej. Małe wydzielenia fazy ferromagnetycznej, np. roztworu α , mogą być pojedynczymi domenami o chaotycznym rozmieszczeniu [3]. Zmiana kierunku namagnesowania w takich strukturach wymaga bardzo silnych pól. Prawdopodobieństwo uzyskania namagnesowania biomateriału w warunkach eksploatacji wydaje się znikomo małe. Dlatego problem odstopstw od paramagnetyzmu biomateriałów w świetle zaleceń ISO i dostępnej literatury jest traktowany marginalnie, ale nie może być pomijany [1, 4].

Celem badania jest określenie wpływu zabiegów technologicznych - obróbki cieplnej - na właściwości magnetyczne stopu zawierającego fazy: paramagnetycznej i ferromagnetycznej.

W pierwszym etapie badano wpływ obróbki cieplnej na zmiany struktury

MAGNETIC PROPERTIES OF COBALT CAST ALLOY

B. SUROWSKA**, M. BŁASZCZAK*

*LUBLIN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING, INSTITUTE OF TECHNOLOGICAL INFORMATIVE SYSTEMS

**LUBLIN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING, DEPARTMENT OF MATERIALS SCIENCE

[Engineering of Biomaterials, 38-43,(2004),27-29]

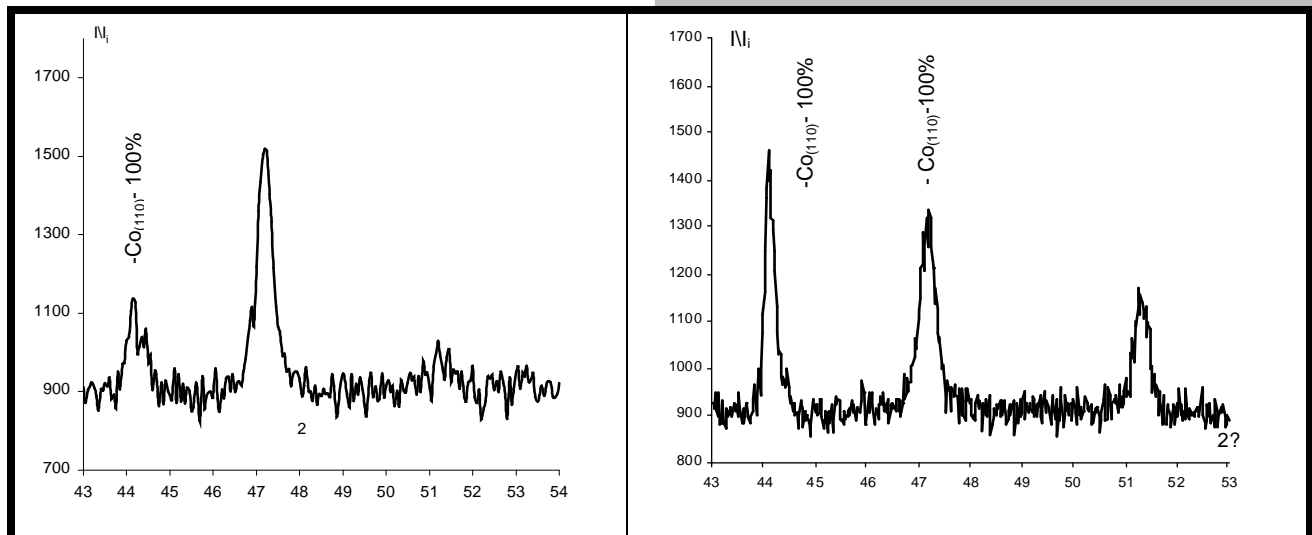
Introduction

Additions of chromium, nickel, molybdenum in cast and worked plastically alloys are so selected that matrix of these alloys was paramagnetic β -Co solution with A1 crystallographic structure. Due to allotropy of cobalt in these alloys ferromagnetic α -Co solution with A3 crystallographic structure may be present.

Cobalt alloys with A1 crystallographic structure on the β -Co base do not show spontaneous magnetization with the lack of external magnetic field, even if some amount of ferromagnetic phase is present in their structure e.g. after cold working process. Reduction of magnetic field results from domain structure. Insignificant precipitates of ferromagnetic phase e.g. α solution may be single domain with chaotic disposition [3]. Change of direction of magnetization in such structures demands very strong magnetic fields. Probability of obtaining the magnetization of biomaterials in working conditions seems low. In the light of ISO standard recommendation and available literature data the problem of departure from paramagnetism of biomaterials is treated marginally, but it can not be omitted.

The aim of the study is estimation of the influence technological processes - heat treatment - on magnetic properties of the alloy containing paramagnetic and ferromagnetic phases.

In the first stage the influence of heat treatment on the change of structure was studied.



RYS. 1. Dyfraktogramy stopów kobaltu po wyarzaniu: a) 1223K - 0,75h , b) 1173 K - 12 h.

FIG. 1. Diffraction pattern of cobalt alloys after annealing a) 1223K - 0,75h, b) 1173K - 12 h.

Materiał i metodyka bada

Badania przeprowadzono na do wiadczalnym stopie odlewniczym kobaltu o składzie chemicznym (w % mas.): C - 0,01; Cr - 19,78; Ni - 9,97; Mo - 0,94; Ti - 0,01; Nb - 0,49; Mn - 0,01; Si - 0,3; Co - r, oraz 0,004% S, 0,003% P, N₂ <200 ppm, O₂ <100 ppm [2].

Stop wytopiono w pró niowym piecu indukcyjnym Balzers typ VSG 50. Topienie przeprowadzono w tyglu zasadowym w pró ni 2,7Pa (0,02 Tr), nast pnie odgazowywano ciekły stop pró niowo, rafinowano w atmosferze argonu o ci nieniu 267 hPa (200 Tr) i odlewano do wlewnicy w temperaturze 1773±20K.

Próbki poddano wy arzaniu w zakresie temperatur od 1173÷1473K przy wzro cie temperatury o 50K w atmosferze powietrza w czasie 0,75 godz. chłodzone na powietrzu. W celu dokonania oceny przemian strukturalnych w stopach podczas obróbki cieplnej wykonano analiz fazow i badania mikrostrukturalne.

Analiz fazow przeprowadzono metod dyfraktometryczn na dyfraktometrze rtg. TUR M62 z goniometrem HZG 4 sterowanym programem „XIMAGE”. Badania mikrostrukturalne po obróbce cieplnej wykonano metod mikroskopii wietlnej. Wielko namagnesowania badano przy u yciu wagi magnetycznej.

Wyniki bada

Próbki poddane wy arzaniu analizowane na mikroskopie wietlnym wykazały du niejednorodno pod wzgl dem krystalograficznym. Osnow stopu stanowi dendryty z niewielk ilo ci fazy ziarnistej. Dla stopów wy arzanych w temperaturach 1173 K, 1373 K, badania dyfrakcyjne wykazały istnienie tekstury, z tego te powodu stopy te nie były uwzgl dniane w dalszych badaniach.

Badania dyfrakcyjne wykazały, i w stopach wy arzanych zachodzi przemiana A1 → A3, w stopniu zale nym od temperatury obróbki cieplnej (RYS. 1).

Wzgl dny udział ilo ciowy fazy α-Co w osnowie stopów obliczono jako stosunek:

Material and methods

The studies was conducted using experimental cobalt cast alloy with chemical composition (in wt.%): C-0,01; Cr-19,78; Ni-9,97; Mo-0,94; Ti-0,01; Nb-0,49; Mn-0,01; Si-0,3; Co-bal. and 0,004%S, 0,003%P, N₂<200ppm, O₂<100ppm [2].

The alloy was melted in Balzers VSG 50 vacuum induction furnace. The melting was carried out in basic crucible in the vacuum of 2,7 Pa (0,02Tr). Then liquid alloy was vacuum degassed, refined in argon with 267 hPa (200 Tr) pressure and casted into ingot mould at the temperature of 1773±20K. The samples were annealed with the temperature ranging from 1173K to 1473 K with the rise in temperature of 50 K in atmospheric air during 0,75 h. The samples were then cooled in air.

X-ray diffraction and microstructural analysis were investigated in order to estimate microstructural change during heat treatment.

The TUR M62 - HZG4 X-ray diffractometer was controlled by "XIMAGE" computer programme. The microstructure studies after heat treatment were investigated by optical microscopy. Intensity of magnetization was studied with magnetic balance.

Results

The samples after annealing demonstrated high heterogeneity with regard to crystallographic structure. The alloy matrix consists of dendrites with not large amount of grainy phase. X-ray diffraction studies revealed texture in annealed alloys at the temperature of 1173K and 1373K. Therefore, these alloys were not taken into account in further investigation.

X-ray diffraction analysis demonstrated that in annealed alloys phase change A1 → A3 occurred to the extent depending on the temperature of heat treatment (FIG. 1).

Relative quantitative participation of α-Co phase in the matrix was presented as a relation:

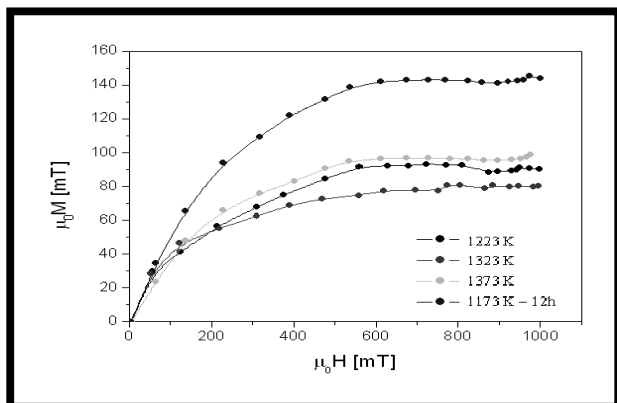
$$\frac{c_\alpha}{c_\beta} = \frac{R_\beta}{R_\alpha} \cdot \frac{S_{\alpha(011)}}{S_{\beta(111)}}$$

gdzie: R_α, R_β - współczynniki zależne od rodzaju fazy, płaszczyzny dyfrakcji i kąta ϱ , obliczone na podstawie literatury [2]. Powierzchnia pików dyfrakcyjnych została obliczona przy użyciu programu XMASURE.

Uzyskane wyniki przedstawia RYS. 2.

Pomiary twardości wykazały nieznaczne różnice (w granicach błędów pomiaru) w mikrotwardości ziaren zbliżonych (fazy b-Co) i ziaren bez bliźniaków - średnio twardość wynosiła 406,16HV.

Z włókna ciwości magnetycznych badano namagnesowanie i koercję. Otrzymane wyniki przedstawia RYSUNEK 3



RYS. 3. Namagnesowanie próbek po obróbce cieplnej.
FIG. 3. Magnetization of samples after heat treatment.

Dyskusja wyników

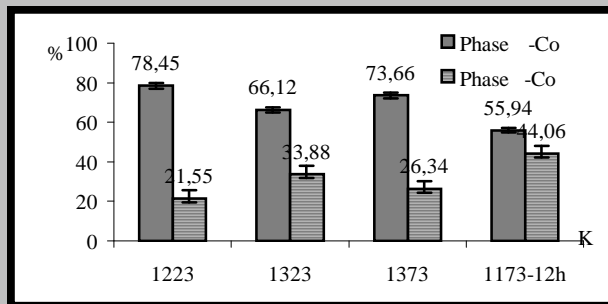
W stopach kobaltu z chromem, niklem i molibdenem przemiana A1↔A3 zachodzi wg Rajana [5] z bardzo małą prędkością, hamowaną obecnością niklu, umożliwiając utrzymanie metastabilnej fazy A1 (roztworu na bazie b-Co) do temperatury otoczenia przez właściwy dobór składu chemicznego oraz prędkości chłodzenia.

W badanych stopach po obróbce cieplnej udział fazy a-Co obniża się wraz ze wzrostem temperatury, jednocześnie wzrasta udział fazy b-Co. Zaobserwowano, iż w temperaturze 1423 K następuje odwrócenie tendencji wzrostowej udziału fazy b-Co. Może to być związane z procesem wydzielania się faz wtórnych. Wydłużenie czasu obróbki cieplnej (wyżarzanie ujednorodniające - 12h) już w niższych zakresach temperatur obróbki cieplnej (1173 K) powoduje zwiększenie udziału fazy b-Co do 44%.

Wydaje się celowym wykonanie dwustopniowej obróbki cieplnej składającej się z wyżarzania ujednorodniającego i wyżarzania normalizującego celem uzyskania możliwie największej ilości fazy b-Co.

Pi miennictwo

[1] Marciniak J.: Biomateriały, Wyd. P, Gliwice 2002.
[2] Surowska B.: Kształtowanie składu chemicznego i struktury stopów Co-Cr-Ni-Mo jako biomateriałów, Wyd. Uczelniane PL, Lublin 1997.
[3] Wadas R.: Biomagnetyzm, PWN, Warszawa 1991.



RYS. 2. Udział fazy a-Co po obróbce cieplnej w wybranych stopach kobaltu.
FIG. 2. Participation of a-Co phase in selected cobalt alloys after heat treatment.

$$\frac{c_\alpha}{c_\beta} = \frac{R_\beta}{R_\alpha} \cdot \frac{S_{\alpha(011)}}{S_{\beta(111)}}$$

where R_α and R_β - coefficients depending on the kind of phase, crystallographic plane and ϱ angle, calculated on the base of data literature [2]. The area of diffraction peaks was estimated using XMASURE computer programme.

The obtained results are given in FIG. 2.

Microhardness measurements revealed insignificant differences (within limits of error in measurements) between twinned grains (b-Co phase) and grains without twins - average microhardness was 406,16 HV. Magnetization and coercive force were investigated. The obtained results are shown in FIG. 3.

Discussion

According to Rajan [5] in cobalt alloys with chromium, nickel and molybdenum phase change A1↔A3 occurred at a very low speed, which was braked by the presence of nickel, making it possible to maintain metastable A1 phase (the solution on the base of b-Co) to the ambient temperature through suitable selection of chemical composition and cooling speed.

In the studied alloys after heat treatment amount of a-Co phase decreases along with the increase of temperature. Simultaneously the amount of b-Co phase increases. Reversal of growing tendency amount of b-Co phase at the temperature of 1423K was observed. It may be connected with the process of releasing of secondary phases. The increase of time duration of heat treatment (homogenizing treatment - 12 h) causes the increase of amount of b-Co phase to 44% already in low ranges of the temperature of heat treatment (1173K).

It seems purposeful to carry out two-stage heat treatment consisting of homogenizing and normalizing in order to obtain as much amount of b-Co phase as possible.

References

[4] Gonet B., Oddziaływanie stałego pola magnetycznego na organizmy żywe, Wyd. Pomorskiej Akademii Medycznej, Szczecin 1991.
[5] Rajan K.: Metall.Trans.A, vol.13A, no 7, 1982.

BADANIE ZUŻYCIA POWŁOK CERAMICZNYCH NA TYTANIE I JEGO STOPIE

BARBARA SUROWSKA, MARIUSZ WALCZAK, JAROSŁAW BIENIA

KATEDRA INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ, POLITECHNIKA LUBELSKA

Streszczenie

W artykule przedstawiono badania porcelany dentystycznej i warstw po rednich zol- el SiO_2 na technicznie czystym tytanie i stopie tytanu Ti6Al4VELI. Analizowano strukturę warstwy wierzchniej przed i po teście zużycia metodą pin-on-disc. Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić: (1) jednorodność chemiczną warstwy SiO_2 , (2) warstwy po rednie wykazują trwałe połączenie między metalem a porcelaną oraz (3) porcelana dentystyczna na warstwach SiO_2 wykazuje dużą odporność na zużycie.

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 30-32]

Wprowadzenie

Nowoczesnym trendem w biomateriałach są ceramiczne warstwy stosowane na metalowych stopach. Warstwy po rednie zol- el między metalem a porcelaną, charakteryzuje się bardzo dobrą przyczepnością, co sprawia, że są one przedmiotem nowoczesnych badań w zakresie technologii wszczepów dentystycznych. Dlatego wytwarzanie trwałego połączenia układu metal-porcelana, przy użyciu warstwy po redniej jest rezultatem rozwoju tych technologii w inżynierii materiałów stomatologicznych [1]. W ostatnich latach zostało przeprowadzonych wiele badań dotyczących otrzymywania warstw po rednich na tytanie [2, 3]. Jednakże, główne problemy wynikają z niewystarczającą przyleganiem porcelany do tytanowego podłoża, grubości warstwy i wysokiej temperatury podczas procesu wytwarzania [4]. Jedną z metod do wytwarzania warstw po rednich stosowanych na biomateriałach jest proces zol- el [1, 3, 4]. Warstwy te, charakteryzują się niską grubością, wysoką homogenicznością oraz stabilnością chemiczną i mechaniczną.

Prezentowana praca przedstawia badania krzemionkowych warstw zol- el i dentystycznej porcelany na czystym Ti i stopie tytanu Ti6Al4VELI. Przedmiotem badań była mikrostruktura połączenia warstw po rednich z tytanem oraz ich odporność na zużycie.

Metodyka badań

Do badań użyto czystego technicznie tytanu Ti (ASTM-grade 2) i stopu Ti6Al4VELI (ASTM-grade 5). Ti były kuty i wyarszane. Stop tytanu był gorcowalcowany i przesycony.

Powłoki SiO_2 na stopie Ti6Al4V i na czystym Ti nakładano metodą zol- el. Zol krzemionkowy otrzymano przez hydroliz cztereoetoksylanu $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ (TEOS) z dodatkiem HCl jako katalizatora. Stężenie molowe zolu krzemionki miało następującą proporcję $\text{H}_2\text{O}:\text{TEOS}:\text{HCl} = 4:1:0.01$, a końcowe stężenie SiO_2 w krzemionce wynosiło 3-5% wagowych. Próbkę tytanu pokrywano techniką wynurzeniową

WEAR STUDY CERAMIC COATINGS ON Ti AND Ti-BASED ALLOY

BARBARA SUROWSKA, MARIUSZ WALCZAK, JAROSŁAW BIENIA

DEPARTMENT OF MATERIALS ENGINEERING, LUBLIN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

Abstract

The paper presents the study of intermediate SiO_2 sol-gel coatings and dental porcelain coatings on commercially pure titanium Ti (cp) and titanium alloy Ti6Al4VELI. Surface microstructures and wear behaviour by pin-on-disc method of the ceramic coatings were investigated. The analysis revealed: (1) a compact, homogenous SiO_2 coating, and (2) that intermediate coatings may provide a durable joint between metal and porcelain, and (3) that dental porcelain on SiO_2 coatings shows high wear resistance.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 30-32]

Introduction

Ceramic coatings on metal-based alloys are a modern trend in biomaterials. Preparation of intermediate layers between a metal and porcelain, characterized by a very good adhesion, is an area of modern investigations in dental materials. Therefore, production of durable joints composed of metal-porcelain systems via intermediate layers is a result of application of advanced technologies in materials engineering to stomatology [1]. In recent years many studies on the methods of obtaining intermediate layers on titanium have been carried out [2, 3]. However, the main problems are: insufficient bonding between titanium and porcelain coatings, higher thickness, and influence of high temperature during manufacturing process [4]. One of the methods of producing intermediate layers used in biomaterials is sol-gel process [1, 3, 4]. These intermediate layers are characterized by low thickness, high homogeneity, and satisfactory mechanical and chemical stability.

The work presents a study of intermediate silica sol-gel layers and dental porcelain coatings on pure titanium Ti and titanium alloy Ti6Al4VELI. Microstructure of intermediate layers, bonding with the titanium and wear resistance are investigated.

Experimental

Commercially pure titanium (ASTM-grade 2) and Ti6Al4VELI alloy (ASTM-grade 5) were used. Ti (cp) was forged and annealed. Titanium alloy was hot-rolled and solution treated.

SiO_2 coatings on Ti6Al4V alloy and on Ti (cp) were deposited using sol-gel method. Silica sol was prepared by hydrolysis of tetraethoxysilane ($\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$; abbreviated as TEOS) diluted in ethanol with addition of HCl as a catalyst. The composition of silica sol in molar ratio was $\text{H}_2\text{O}:\text{TEOS}:\text{HCl} = 4:1:0.01$, while the final concentration of SiO_2 in silica sol was 3-5 wt.%.

The deposition of layers consisted of withdrawing the metal discs from sol solution with constant speed of 20 cm/min. Thickness of the deposit was controlled by multiple

ze stał pr dko ci wynosz c 20 cm/min. Grubo powłoki regulowano przez stosowanie wielokrotnego wynurzania. Po nałożeniu filmu próbki suszono i wygrzewano w atmosferze argonu. Obróbka cieplna usuwa wodę i zagażenia powłok, zwi ksza c trwałość złączenia pomiędzy powłokami i podłożem. Na warstwy podłoża SiO₂ nałożono niskotopliwy porcelan dentystyczny Triceram (firmy Dentaurum).

Oporność na zużycie warstw zol-elu i porcelany dentystycznej badano metodą pin-on-disc. Element testowy stanowiła kulka o średnicy 0.5 mm, wykonana z WC-6%Co. Obciążenie kulki podczas próby zużycia wynosiło 0.29 N dla testu warstwy zol-elu, natomiast dla porcelany dentystycznej 0.78 N. Próbki miały kształt dysków o średnicy 25 mm i grubości 0.5, 0.8 mm. Prędkość podczas testów zużycia warstw zol-elu wynosiła od 37 mm/s do 53 mm/s. Testy porcelany dentystycznej wykonywano z prędkością 53 mm/s. Badania zużycia wykonano przy 150, 300 i 600 cyklach pełnych obrotów dysku dla warstw zol-elu i 1600 cyklach dla porcelany dentystycznej w temperaturze pokojowej (ok. 25°C). Wielkość zużycia została oceniona z profilu chropowatości ładów wytarcia próbki po testach, za pomocą profilometru Taylor Hobson.

Rezultaty i dyskusja

Miary zużycia powłok były polem powierzchni profilu wytartego ładów powstałego na powierzchni próbki w metodzie pin-on-disc [1, 5]. Wyniki testów przedstawiono w TABELI 1.

Cycles	Wear [μm^2]	
	SiO ₂ /cpTi	SiO ₂ /Ti6Al4VELI
150	124.93	87.71
300	160.61	120.39
600	229.98	222.09

TABELA 1. Wielkość zużycia powłok w zależności od liczby cykli.
TABLE 1. Wear measurements of coating with numbers of cycles.

Wyniki przedstawione w TABELI wskazują na mniejsze zużycie powłok SiO₂ na stopie Ti6Al4VELI niż w przypadku czystego Ti. Taka zależność obserwowana jest podczas wszystkich cykli pomiarowych. W przypadku powłoki SiO₂/Ti6Al4VELI całkowite zużycie warstwy obserwowane jest przy 600 cyklach. Wówczas kulka zaczyna zużywać podłożę Ti6Al4VELI. Dla powłoki SiO₂/cpTi niemal całkowite zużycie występuje po 300 cyklach. Twardość warstw wynosi ok. 460 HV 0.1. Różnice w zużyciu wynikają z różnej mikrostruktury podłoża i wielkości chropowatości powłok SiO₂. Parametr wielkości chropowatości warstw SiO₂ wynosił ok. R_a = 0.63 μm .

Analiza SEM ładów zużycia wykazała, że największym zużyciom ulegają miejsca o największej koncentracji mikropęknięć. Ta cecha jest wyraźnie widoczna na RYS. 1a. Poczynając od zużycia ulegają miejsca o największym profilu chropowatości. Zachowanie takie jest obserwowane dla obu przypadków podłoża. Widoczne są miejsca z wyrwanymi fragmentami powłoki w pobliżu ładów zużycia. Takie zachowanie jest typowe dla bioceramiki [6], kruchej materiału z wysokimi granicami plastyczności, ale niską odpornością na kruche pęknięcie (tak jak bioceramiczne warstwy zol-elu). Strefa uszkodzenia pod wpływem działania kulki jest zasadniczo elastyczna, a pęknięcie koncentruje się blisko obwodu przeciwpróbki. Jednakże, dotychczas nie opubli-

dipping. After the completion of deposition, the as-deposited coatings were carefully dried and annealed in an argon atmosphere. The heating removed water and residual organic substances, densified the layer and increased its extent of bonding with the substrate. On SiO₂ and intermediate coatings was deposited the Triceram (Dentaurum) low-melting dental porcelain.

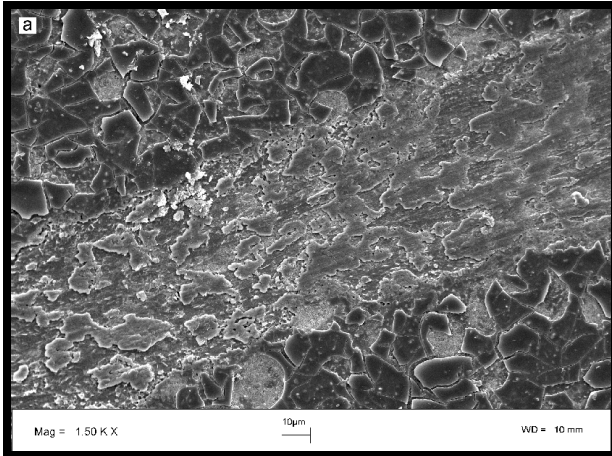
The wear resistance of the sol-gel coatings and of dental ceramics were determined using a pin-on-disc method. The test apparatus consisted of a 0.5 mm diameter WC-6%Co ball. A load (normal force) of 0.29 N was applied on the ball for layers sol-gel. Whereas load 0.78 N was applied for wear test of dental porcelain. The samples were in the form of discs of about 25 mm diameter and 0.5, 0.8 mm thickness. During wear tests of coatings sol-gel, the sliding speeds between the rubbing surface were from 37 mm/s to 53 mm/s. In case of dental ceramics sliding velocity 53 mm/s was used. The tests were performed at 150, 300 and 600 cycles for sol-gel layers, and 16000 cycles for dental ceramics, at the room temperature (about 25°C). The wear test was evaluated from the cross-sectional profiles of the wear tracks measured by means of a Taylor Hobson Profilometer.

Results and discussion

A measure of wear of coatings is the transverse field section of wiping trace on the sample in method pin-on-disc [1, 5]. Results of pin-on-disc testing are summarized in TABLE 1.

This TABLE shows that the wear of SiO₂ coatings on Ti6Al4VELI is smaller than that on cpTi. Such a dependence was observed in all cycles. In the case of SiO₂/Ti6Al4VELI coatings the test shows that the total layers rupture occurs near 600 cycles. During this trial the ball begins to wear off Ti6Al4V material. However, in the case of SiO₂/cpTi coating almost complete rupture of the layer occurs already near 300 cycles. The hardness of the layers is similar (about 460 HV 0.1). The difference in wear is associated with differences in the microstructure of base material and their roughness. SiO₂ layers had roughness about R_a = 0.63 μm .

The SEM analysis of wear tracks showed that the rupture of layers occurs by the detachment of coating fragments from the sites of higher microcrack concentration. This feature is clearly seen in FIG. 1a. In the initial wear stage shear of the highest peaks of roughness is observed. The behaviour of this wear is similar for both types of base materials. The visible sites of torn out fragments are in the vicinity of the traces of the wear. This type of behaviour is typical for bioceramics [6], of brittle material with high yield strength but low fracture toughness (such as bioceramics sol-gel layers). The damage zone beneath the indenter is basically elastic and a pin crack forms near the perimeter of the indenter. However, until now there is no published work on the nature of wear of SiO₂ coatings deposited by using sol-gel method on titanium and titanium alloys. The dental porcelain was examined also on pin-on-disc tester. The tests confirmed, that wear was ranging between 151.48 and 175.28 μm^2 . The wear of sol-gel layers didn't take the place. The analysis of wear track (FIG. 1b) showed the characteristic micro-cracks. According to Teoh [6], behavior the micro-cracking is quasi-brittle and is typical of materials with moderate toughness and yield strength. Numerous dental ceramics materials exhibit this of behavior under repeated impact loading arising from a spherical indenter. The cracks aren't deep and they don't influence on dental ceramics adhesion. Preliminary studies showed good adhesion of ceramic layers sol-gel to base metal but there is still a great



RYS. 1a. Powierzchnia zuycia powłoki SiO₂ po 300 cyklach.
FIG. 1a. Worn surfaces of SiO₂ coatings after 300 cycles.

powierzchni tej pracy charakteryzującej zuycie warstw SiO₂ nanoszonych metodą zol- el na stopach tytanu.

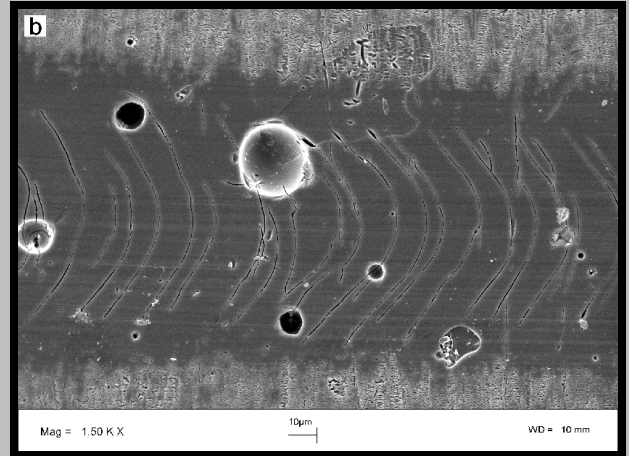
Porcelana dentystyczna została poddana testom na stanowisku pin-on-disc. Zuycie porcelany wahało się w granicach 151.48÷175.28 µm². Nie nastąpiło jednak zuycie warstwy przejściowej zol- el. Analiza ładów zuycia wykazała charakterystyczne mikropęknięcia (RYS.1b). Według Teoha [6], takie zachowanie jest typowe dla materiałów quasi-kruchych, z umiarkowaną twardością i granic plastyczności. Liczne dentystyczne materiały ceramiczne wykazują taki rodzaj zuycia, wynikający z uderzenia sferycznego wgłębienia. Pęknięcia te jednak nie są głębokie i nie wpływają na przyleganie porcelany. Wstępne badania wykazały dobre przyleganie warstw zol- el do metalowego podłoża, lecz istnieje potrzeba przeprowadzenia bardziej wnikliwych badań.

Wnioski

Procesy wykorzystujące metodę zol- el pozwalają otrzymać warstwy o korzystnych właściwościach fizycznych i szerokim zakresie zastosowań. Pośrednie warstwy SiO₂ charakteryzują się niską grubością i wysoką strukturalną homogenicznością. Zuycie warstw SiO₂ na stopie Ti6Al4V/ELI było mniejsze niż na czystym Ti. Z pierwszych badań warstw ceramicznych, wynika że warstwy pośrednie mogą dostarczyć trwałe połączenie między tytanem a porcelaną.

Podziękowania

Praca została sfinansowana przez MNIi w ramach projektu badawczego (grant nr 4T08A04523).



RYS. 1b. Powierzchnia zuycia porcelany dentystycznej po 1600 cyklach.
FIG. 1b. Worn surfaces of dental ceramics after 16000 cycles.

need for further investigation.

Conclusions

The process of synthesis of coatings using sol-gel methods allows to obtain coatings with attractive physical properties and a wide range of applications. Intermediate SiO₂ coating are characterised by low thickness and high structural homogeneity. The wear of SiO₂ coating on Ti6Al4V was smaller than that on cpTi. From the first studies of porcelain coatings it results that the intermediate coatings may provide durable joint between titanium and porcelain.

Acknowledgements

The work was financed by State Committee for Scientific Research (grant No. 4T08A04523).

Piśmiennictwo

References

- [1] B. Surowska, M. Walczak, J. Bienia : Application of the sol-gel in dental prosthetics. 12th International Scientific Conference, Achievements in Mechanical & Materials Engineering - AMME'2003, Gliwice - Zakopane 7-10 December 2003.
- [2] J. Breme, Y. Zhou, L. Groh: Development of titanium alloy suitable for an optimized coating with hydroxyapatite. *Biomaterials* 16 (1995) 239.
- [3] E. Milella, F. Cosentino, A. Licciulli, C. Massaro: Preparation and characterization of titania/ hydroxyapatite composites coatings obtained by sol-gel process. *Biomaterials* 22 (2001) 1425.
- [4] H. Matraszek, A. Stoch, Cz. Paluszkiwicz, A. Brodek: Zastosowanie metody zol- el w praktyce dentystycznej. In: *Wyniki Biomateriałów* 23-25 (2002) 72.
- [5] M. Kalin, S. Jahanmir, L.K. Ives: Effect of counterface roughness on abrasive wear of hydroxyapatite. *Wear* 252 (2002) 679.
- [6] S.H. Teoh: Fatigue of biomaterials: a review. *International Journal of Fatigue* 22 (2000) 825.

NISKOTOKSYCZNE ACETYLACETONIANY INICJATORAMI POLIMERYZACJI W GLANÓW

PIOTR DOBRZYŃSKI, MAŁGORZATA PASTUSIAK, MACIEJ BERO

CENTRUM CHEMII POLIMERÓW PAN, 41-819 ZABRZE
[In *ynieria Biomateriałów*, 38-43, (2004), 33-35]

Wst p

Bioresorbowalne poliestry s materiałami o wci ro-
sn cym zastosowaniu w medycynie i farmacji. Z tego po-
vodu, istotnym zagadnieniem staje si odpowiednie dobra-
nie rodzaju materiału, z uwzgl dnieniem wymaganych pa-
rametrów wytrzymało ciowych oraz degradacyjnych. Jest
to główn przyczyn szukania wci nowych materiałów i
modyfikacji składu i struktury znanych ju tego typu polime-
rów.

W wielu wypadkach do wytwarzania bioresorbowalnych
implantów i g bek u ywanych jako no niki hodowli komór-
rek w technikach in ynierii tkankowej, wymagany jest bio-
degradowalny bardzo elastyczny materiał. Warunki te obok
kopolimerów ϵ -kaprolaktonu spełniaj niektóre poli w glany
charakteryzuj ce si wysokimi masami cz steczkowymi, jak
równie kopolimery syntezowane na ich bazie. Polimery-
zacji sze ciocłonowych cyklicznych w glanów, do których
zaliczamy trimetylenow glan (TMC), oraz jego pochodn
2,2 dimetylo trimetylenow glan (DTMC) mo na prowadzi
z wykorzystaniem zarówno inicjatorów jonowych i koordy-
nacyjnych jak równie enzymów [2]. Jednak polimery o
bardzo wysokich masach cz steczkowych, a wi c o dobrych
wła ciwo ciach mechanicznych, otrzymuje si głównie na
drodce polimeryzacji koordynacyjnej, przede wszystkim z
wykorzystaniem inicjatorów cynowych. U ycie zwi zków
cyny, przy uwzgl dnieniu ich stosunkowo silnej toksyczno-
ci i trudno ci z całkowit ekstrakcją, staje si spraw do
dyskusyjn w wypadku przeznaczenia otrzymanych na tej
drodce polimerów dla medycyny. Fakt ten zmusza bada-
czy do poszukiwania bardziej kompatybilnych z organizmem
człowieka inicjatorów bazuj cych na biometalach takich jak:
wap , magnez, cynk czy elazo [3]. Wybrane przez nas ini-
cjatory b d ce acetylacetonianami wła nie tych metali: Ca,
Mg, Fe, Zn [3], charakteryzuj si stosunkowo niski tok-
syczno ci [4]. Równie acetylacetonian cyrkonu, nale y
do zwi zków relatywnie niskotoksycznych [4]. Cyrkon chod
nie jest biometalem, uwa any jest za metal generalnie in-
ertny w procesach metabolicznych człowieka.

Wyniki

Polimeryzacja TMC z udziałem acetylacetonianów wap-
nia i magnezu

Przeprowadzono polimeryzacji TMC inicjowan acetylace-
tonianami wapnia i magnezu. Wyniki przedstawiono w TA-
BELI 1, nr 1-2.

W wypadku stosowania jako inicjatora kompleksu $Mg(acac)_2$
otrzymali my polimer z około 70 % wydajno ci , o niskiej
redniej masie cz steczkowej. Na chromatogramie GPC,
obok zasadniczego sygnału PTMC zaobserwowali my
obecno wyra nej frakcji oligomerycznej w ilo ci około 30
% sumy otrzymanych produktów. Gdy inicjatorem był

LESS TOXIC ACETYLACETONATES AS INITIATORS OF CARBONATE'S POLYMERIZATION

PIOTR DOBRZYŃSKI, MAŁGORZATA PASTUSIAK, MACIEJ BERO

POLISH ACADEMY OF SCIENCES, CENTRE OF POLYMER CHEMISTRY,
41-819 ZABRZE, POLAND,
[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 33-35]

Introduction

Bioresorbable polyesters belong to the group of materi-
als with still growing importance in medicine and pharmacy.
For this reason the suitable selection of material kind taking
mechanical parameters and degradation ratio into consid-
eration is an important issue. This is a main cause of search
for new materials and for composition and structure modifi-
cation methods of already well-known biopolymers.

In many cases, for medical implants and porous scaf-
folds production biodegradable and high elastic material is
necessary [1]. Besides ϵ -caprolactone copolymers, some
high-molecular aliphatic polycarbonates and its copolymers
can meet this requirements. The polymerization of six-
membered cyclic carbonates, trimethylcarbonate (TMC) and
2,2 dimethylene trimethylcarbonate (DTMC) included, can
carry out with ionic or coordination initiators as well as en-
zymes [2]. But polymers with very high molecular weight,
so with good mechanical properties are obtained mainly with
the insertion-coordination mechanism and stannous com-
plexes as initiators. The use of stannous compounds as
initiators in production of material for medicine, taking into
consideration its relatively high toxicity and lot of difficulty
with total extraction, is a rather questionable matter. This
fact force scientists to look for initiators more compatible
with human organism, based on biometals such as calcium,
magnesium, zinc or iron³. The initiators, selected by us,
which are acetylacetonates of this biometals: Ca, Mg, Fe,
Zn [3] possess relatively small toxicity [4]. Also zirconium
(III) acetylacetonate belongs to this less toxic compounds
group [4].

Results

TMC polymerization with calcium and magnesium
acetylacetonates

The TMC polymerization, initiated with calcium and mag-
nesium acetylacetonates was conducted. The obtained re-
sults are showed in TABLE 1, entry 1-2.

When we used $Mg(acac)_2$ as initiator, we obtained polymer
with yield about 70% and with relatively small molecular
weight. At GPC graph beside of PTMC general signal, we
observed presence of oligomeric fraction - about 30% of
total obtained products. When $Ca(acac)_2$ was as initiator,
obtained oligomeric fraction was significantly smaller and
not exceeded several percents. Unfortunately in polymeriza-
tion conducted with this initiator it is impossible to obtain
poly(TMC) with very high molecular weight which can en-
sure good mechanical properties.

**TMC polymerization with zinc, iron and zirconium
acetylacetonates**

We carried out series of TMC polymerizations with

No	initiator	^{a)} I/M	time [h]	conversion [%]	^{b)} M _n [kDa]	^{c)} M _n ^t [kDa]	^{d)} M _n /M _w	^{e)} inherent viscosity [dL/g]	^{f)} T _g [°C]
1	Mg(acac) ₂	1:800	48	72	25.4	56.5	1.5	0.54	-17.8
2	Ca(acac) ₂	1:800	48	99	34.1	80.8	1.6	0.62	-17.3
3	Fe(acac) ₃	1:400	6	97	64.4	39.6	2.0	0.88	-13.9
4		1:400	24	98	8.8	40.0	1.8	0.32	
5		1:800	5	96	93.0	78.3	1.9	1.12	-12.6
6		1:800	24	98	9.3	80.0	2.0	0.38	
7		1:1500	6	96	75.0	146.9	2.2	0.96	-12.7
8		1:1500	24	97	11.2	148.4	1.9	0.38	
9	Zn(acac) ₂	1:800	0.2	98	98.2	80.0	1.6	1.05	-12.6
10		1:800	24	98	64.0	80.0	1.7	0.88	
11		1:1500	1.5	97	125.1	148.4	1.6	1.18	-12.1
12		1:1500	24	98	115.4	149.9	1.7	1.00	-12.5
13		1:2000	1.5	97	195.1	197.9	1.8	1.98	-12.3

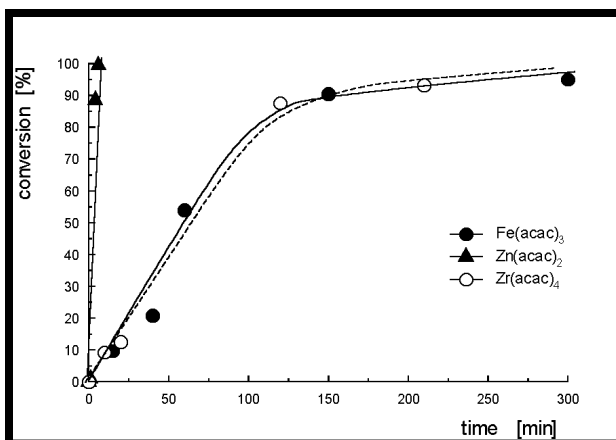
^{a)} I/M – molecular ratio initiator : monomer;
^{b)} M_n – Molecular weight determined from GPC (styrene standards);
^{c)} M_n^t – Molecular weight calculated theoretically;
^{d)} M_w/M_n – polydispersity index determined from GPC (styrene standards);
^{e)} in CH₂Cl₂ at 25°C with polymer concentration 2g/L;
^{f)} glass transition temperature [°C];

TABELA 1. Polimeryzacja trimetylenow glanu TMC prowadzona w stopie w temperaturze 110°C.
 TABLE 1. Polymerization of trimethylene carbonate, TMC in bulk at 110°C.

Ca(acac)₂ powstała frakcja oligomeryczna była znacznie mniejsza i nie przekraczała kilku procent. Jednak z udziałem tego inicjatora nie można było uzyskać poli(TMC) o wystarczająco wysokich masach cząsteczkowych zapewniających dobre właściwości mechaniczne temu materiałowi.

Polimeryzacja TMC z udziałem acetylacetonianów cynku, elaza i cyrkonu

Stosując acetylacetoniany cynku, elaza i cyrkonu, z zachowaniem stosunku molowego monomer/inicjator jak 1:800 przeprowadzono w temperaturze 110°C serię polimeryzacji TMC. RYSUNEK 1 przedstawia zależność czasu prowadzenia polimeryzacji, a konwersji TMC. W wypadku zastosowania wszystkich wybranych kompleksów wydajność polimeryzacji sięgała 100%. W obecności Zr(acac)₄ i Fe(acac)₃ szybkości prowadzonych reakcji były zbliżone do siebie. Gdy inicjatorem był Zn(acac)₂ reakcja przebiegała nieporównywalnie szybciej. Zależność wzrostu masy cząsteczkowej od postępu tej reakcji przedstawiono



RYS. 1. Zależność pomiędzy konwersją TMC a czasem polimeryzacji prowadzonej w 110°C.
 FIG. 1. Conversion of TMC as a function of time of polymerization conducted at 110°C.

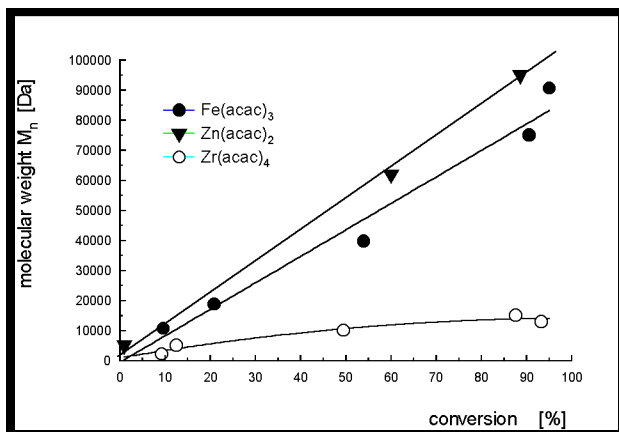
monomer/initiator ratio as 1:800 at 110°C and zinc, iron and zirconium acetylacetonates as initiators. FIGURE 1 shows dependence of polymerization time on TMC conversion. In all cases, for usage of all selected initiators polymerization yield reached 100%. At present Zr(acac)₄ and Fe(acac)₃ ratio of conducted reactions was similar. When polymerization was initiated with Zn(acac)₂, polymerization ratio was incomparably higher.

The dependence of molecular weight increases with the conversion at FIGURE 2 was shown. When we used iron (III) and zinc (II) acetylacetonates, this dependence was directly proportional. Obtained poly(TMC) possessed a little higher molecular weights (GPC measurements) than calculated theoretically, for the polymer chain propagation on the one growth center. Applying zinc and iron acetylacetonates and changing an initiator content as a reaction time, a number of TMC polymerizations were carried out. We pictured obtained data on TABLE 1. At the higher initiator / monomer molar ratios and shorter reaction times the molecular weights of obtained polymers were higher than theoretical for both initiators (TABLE 1, entry 1,3,7). At smaller initiator contents, only polymers obtained with Zn(acac)₂ usage possessed a molecular weight similar to the expected. (TABLE 1, entry 5,9,11). Above, over reaction time necessary to reach TMC conversion at about 96-97%, we observed molecular weight increase of obtained polymers. This phenomenon was especially dramatic for polymerization conducted with ferrous initiator (TABLE 1, entry 4, 6, 8). The observed influence of reaction time elongation on the molecular weight is unquestionable connected with the thermal degradation of formed polymer.

DTMC polymerization initiated with zinc and iron acetylacetonates

Zinc (II) and iron (III) acetylacetonates were applied as initiators of DTMC polymerization. This reaction was conducted at bulk, at 130°C with initiator / monomer molar ratio as 1:800 too. The polymerization course was shown on FIGURES 3 and 4.

The DTMC polymerization ratio was significantly smaller than the TMC polymerizations ratio, earlier showed. Ob-



RYS. 2. Zależność pomiędzy cięciem cząsteczkowym otrzymanego PTMC, a stopniem konwersji monomeru podczas polimeryzacji prowadzonej w 110°C.

FIG. 2. Relationship between M_n of obtained PTMC and the degree of monomer conversion in polymerization conducted at 110°C.

na RYSUNKU 2. Gdy inicjatorami były acetylacetoniany elaza (III) i cynku (II) zależność była prostoliniowa. Otrzymane masy cząsteczkowe (pomiar GPC) są nieco wyższe od teoretycznych liczonej dla propagacji łańcucha na jednym centrum wzrostu. Wykorzystując jako inicjator acetylacetoniany cynku i elaza przeprowadzono szereg polimeryzacji TMC, zmieniając stopień zastosowanego inicjatora, jak i czasy trwania reakcji. Otrzymane wyniki ilustruje TABELA 1. Przy wyższych stosunkach molowych inicjator / monomer i krótszych czasach reakcji, otrzymano polimery o masach cząsteczkowych wyższych od zakładanych, dla obu inicjatorów (TABELA 1 nr 1, 3, 7). Przy niższych zawartościach inicjatora tylko polimery otrzymane z udziałem Zn(acac)₄ charakteryzowały się masami cząsteczkowymi nieznacznie niższymi od oczekiwanej (Tabela 1, nr 5, 9, 11). Powyżej czasu reakcji koniecznego dla osiągnięcia konwersji TMC 96-97%, zaobserwowaliśmy spadek masy cząsteczkowej otrzymanego polimeru. Zjawisko to było szczególnie dramatyczne w wypadku zastosowania inicjatora elazowego (TABELA 1, nr 4, 6, 8). Obserwowany wpływ wydłużenia czasu reakcji na masę cząsteczkową jest niewątpliwie związany z degradacją termiczną tworzącego się polimeru.

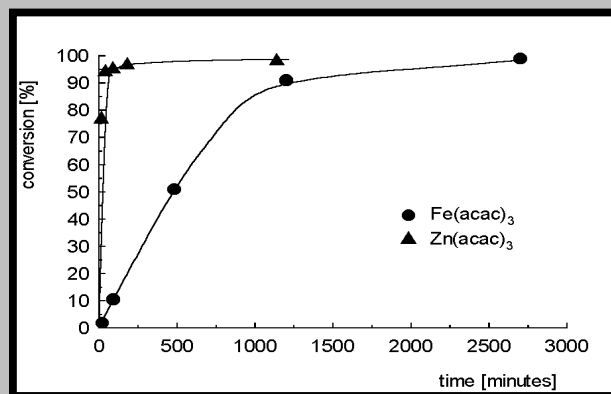
Polimeryzacja DTMC inicjowana acetylacetonianami cynku i elaza

Stosując acetylacetoniany cynku (II) i elaza (III) jako inicjatory przeprowadzono polimeryzację DTMC. Reakcję prowadzono równie szybko, przy stosunku molowym inicjator/monomer równym 1:800, w temperaturze niedużo wyższej od temperatury topnienia monomeru tj. w 130°C. Przebieg prowadzonych polimeryzacji ilustrują RYSUNKI 3, 4.

Szybkość polimeryzacji DTMC jest znacznie mniejsza w porównaniu do szybkości przedstawionej wcześniej polimeryzacji TMC. Otrzymane masy cząsteczkowe (wartość otrzymane z GPC z użyciem wzorców polistyrenowych) były ponad dwukrotnie niższe od teoretycznej wyliczonej średniej liczbowej masy cząsteczkowej (RYSUNEK 4).

Podziękowania

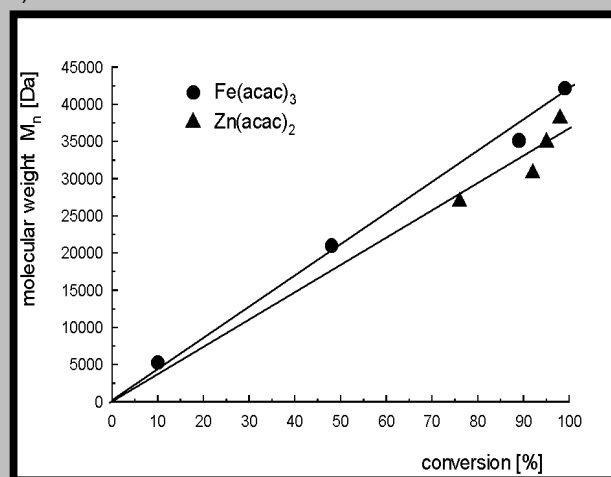
Badania finansowane przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji, grant PBZ-KBN



RYS. 3. Zależność konwersji DTMC od czasu polimeryzacji prowadzonej w 130°C.

FIG. 3. Conversion of DTMC as a function of time of polymerization conducted at 130°C.

otrzymane polimerowe masy cząsteczkowe (wartości z pomiaru GPC oparte na standardach polistyrenowych) były ponad dwukrotnie mniejsze niż teoretycznie obliczone (RYSUNEK 4).



RYS. 4. Zależność pomiędzy cięciem cząsteczkowym otrzymanego PDTMC, a stopniem konwersji monomeru podczas polimeryzacji prowadzonej w 130°C.

FIG. 4. Relationship between M_n of obtained PDTMC and the degree of monomer conversion in polymerization conducted at 130°C.

Acknowledgements

This study was supported by the research program of the Polish Committee for Scientific Research: "New materials and technologies for biomedical engineering" (project PBZ-KBN-082/T08/2002).

Piśmiennictwo

References

- [1] Stock U.A., Vacanti J.P., Annu. Rev. Med. 2001, 52, 443-451.
- [2] Rokicki G., Prog. Polym. Sci. 25, 2000, 259-342.
- [3] Metal Coordination Complexes in Medicine, Naucova Dumcova Kiev 1986, (in Russian).
- [4] Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials, 8th ed.; Lewis, R.J., Ed.; Van Nostrand R.: New York, 1992.

KSZTAŁTOWANIE NADSPRĘŻYSTYCH PIERCIEŃ I SPRĘŻYN ZE STOPÓW NiTi DLA KRANIOPLASTYKI

H. MORAWIEC*, Z. LEKSTON*, K. KOBUS**,
M. W GRZYŃ**, J. DRUGACZ***

* INSTYTUT NAUKI O MATERIAŁACH, UNIwersYTET Łódzki,
40-007 KATOWICE, BANKOWA 12

** SZPITAL CHIRURGII PLASTYCZNEJ,
57-320 POLANICA ZDRÓJ, KO CIELNA 1

*** KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ,
Łódzka AKADEMIA MEDYCZNA,
40-027 KATOWICE, FRANCUSKA 20/24

Streszczenie

Opracowano proces indukowania własności nadsprężystych pierścieni i sprężyn do klinicznego modelowania czaszki u dzieci z kraniostenozą. Zdolność do nadsprężystego odkształcania pierścieni wywołuje istotne umocnienie wskutek wydzielenia koherentnych cząstek Ni_4Ti_3 . Charakterystyka odkształcania pierścienia do elipsy i powrót do stanu początkowego wykazuje, że zachodzi ono przy stałej sile.

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 36-39]

Wstęp

Stopy NiTi stały się ważnym materiałem, który umożliwia rozwój szerokiego zakresu technicznych i konstrukcyjnych problemów związanych z miniaturyzacją medycznych urządzeń i oferuje mniej inwazyjne i mniej traumatyczne procedury medyczne [1].

Ostatnie osiągnięcia w technologiach wytwarzania wyrobów medycznych ze stopów z pamięcią kształtu i nadsprężystości oraz ich wykorzystanie w zastosowaniach medycznych potwierdzają szybki rozwój w tej dziedzinie [2]. Podstawowym założeniem przy zastosowaniu elementów nadsprężystych jest wykorzystanie stałej siły działającej w szerokim zakresie odkształceń. Na krzywych histerezy nadsprężystej stopów NiTi podczas obciążenia i odciążenia występuje plateau naprężenia. Stała siła działająca podczas odciążenia może być wykorzystana do dystrybucji kości [3].

W tej pracy przedstawiono proces kształtowania nadsprężystych pierścieni i sprężyn z drutów NiTi, które wykorzystano w badaniach klinicznych modelowania sklepienia czaszki u dzieci z kraniostenozą.

Materiał i metody badań

Badania prowadzono na dwóch rodzajach komercyjnie dostępnych drutów. W pierwszym stadium do badań użyto nadsprężyste druty o średnicach 0,8; 1,0 i 1,2 mm dostarczone przez firmę SMATEC. Rozciągnięte sprężyny w kształcie U i W jak również pierścienie o różnych średnicach (60-90 mm) były formowane przez ścisnięcie z prostych nadsprężystych drutów. Pomiar siły i odkształcenia sprężyn

FORMATION OF SUPERELASTIC NiTi RINGS AND SPRINGS FOR CRANIOPLASTY

H. MORAWIEC*, Z. LEKSTON*, K. KOBUS**,
M. W GRZYŃ**, J. DRUGACZ***

* INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE, UNIVERSITY OF SILESIA,
40-007 KATOWICE, BANKOWA 12

** HOSPITAL OF PLASTIC SURGERY,
57-320 POLANICA ZDRÓJ, KO CIELNA 1

*** CLINIC OF MAXILLOFACIAL SURGERY,
SILESIA ACADEMY OF MEDICINE,
40-027 KATOWICE, FRANCUSKA 20/24

Abstract

The process of induction the superelastic properties of rings and springs for clinical modelling of the skull in children with craniostenosis has been worked out. Superelastic properties of the rings were induced in the process of ageing of the already formed rings that caused significant hardening as a result of the precipitation/liberation of coherent Ni_4Ti_3 particles. The deformation of the ring to its elliptic shape and the release of this deformation proceed at constant force. [Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 36-39]

Introduction

NiTi alloys have become an important material that makes it possible to overcome a wide range of technical and constructional problems related to the miniaturisation of medical devices and offers less invasive, and therefore less traumatic medical procedures [1].

The latest achievements connected with the technologies used to produce medical equipment out of shape memory and superelastic alloys confirm that rapid progress in this field is being made [2]. The fundamental condition while using superelastic elements is a constant force operating within a wide range of deformations. During loading and unloading, on the curves of the superelastic hysteresis of NiTi alloys we can observe the stress plateau. This constant force that operates during stress releasing may be used for bone distraction [3].

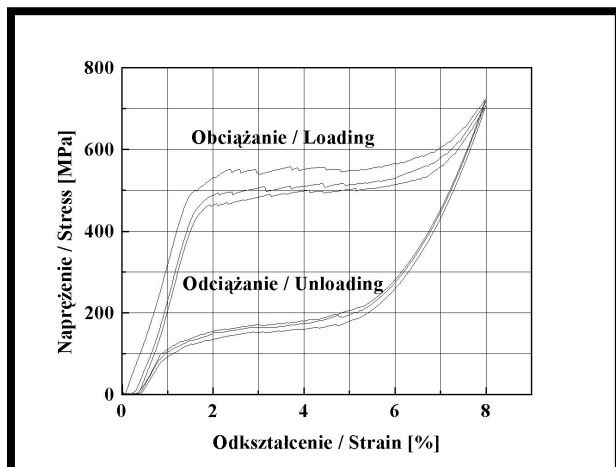
This study presents the process of forming out the superelastic rings and springs of NiTi wire that has been used in clinical research of modelling the cranial vault in children with craniostenosis.

Material and experimental methods

The studies were carried out on two kinds of wire available on the market. At the first stage of the studies superelastic wires of 0.8, 1.0 and 1.2 mm diameter provided by SMATEC were used. The U- and W-shaped expansion springs as well as rings of different diameters (60-90 mm) were formed by compression from straight superelastic wire. The measurements of forces and defor-

yn podczas zginania i odciążenia były rejestrowane na skomputeryzowanym stanowisku pomiarowym i przedstawione jako wykresy zależności siły od przemieszczenia. W drugim stadium badań zostały użyte druty NiTi o średnicy 1,0 mm dostarczone z AMT (Belgia) w stanie wyarzonym. Skład chemiczny tych drutów był następujący: 51,02%at.Ni; 48,71%at.Ti; 0,12%at.Al.; 0,14%at.Si. Przygotowane sprężyny i pierścienie przed implantacją poddano pasywacji w autoklawie, w parze wodnej, w temperaturze 130°C przez 30 minut. Struktura otrzymanej warstwy TiO₂ o grubości około 4 nm była amorficzna, co potwierdzono badaniami HREM.

Wyniki



RYS. 1. Krzywe naprężenie-odkształcenie w trzech cyklach odkształcania supersprężystego drutu o średnicy 0,8 mm.

FIG. 1. Stress-strain curves for the three cycles of loading-unloading of the superelastic wire with the diameter of 0.8 mm.

Nadsprężyste sprężyny

Nadsprężyste właciwośći drutów SMATEC na krzywych rozciągania naprężenie-odkształcenie przedstawiono na RYSUNKU 1. Charakterystyk sprężystego zachowania podczas obciążania i odciążania sprężyny w kształcie W pokazano na RYSUNKU 2.

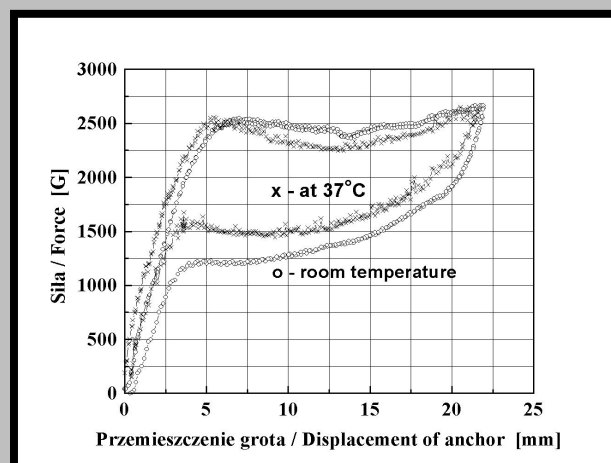
Sprężyny były formowane z drutu o średnicy 1,0 mm. Dwie krzywe uzyskano odpowiednio w temperaturze pokojowej i w 37°C, która może być odnoszona do temperatury ciała pacjenta. Długość drutu, która odpowiada obwodowi sprężyn wynosiła 40 mm. Możliwość wydłużenia kości z użyciem nadsprężystych dystraktorów była eksperymentalnie sprawdzona na młodych winiach [4, 5].

Nadsprężyste pierścienie

Pierścienie formowane z nadsprężystych drutów były spawane wiązki laserowo. Ich sprężyste charakterystyki podczas obciążania i odciążania, które uzyskano podczas zginania pierścienia do elipsy nie wykazują typowego plateau siły lecz raczej liniową zależność pomiędzy nieznacznym nachyleniem i strzałką ugięcia. Dla uzyskania takiej nadsprężystego zachowania ugięcia pierścienia opracowano nową metodę indukowania nadsprężystości pierścieni. W tym celu pierścienie były formowane z całkowicie wyarzonych prostych drutów w stanie fazy materyzycznej. Deformacja drutu w stanie wyarzonym powodowała indukowanie stabilnego martenzytu i trwałego odkształcenia po odciążeniu. Wynik testu rozciągania jako krzywe naprężenie-odkształcenie przedstawiono na RYSUNKU 3. Ukształtowane pierścienie były zgrzewane oporowo i starzone w

mations of springs taken during bending and unloading were recorded at a computerised measuring point and presented in the form of a graph showing the relation between force and displacement. At the second stage of the studies the annealed NiTi wire of 1.0 mm diameter delivered by AMT (Belgium) was used. Chemical composition of this wire was as follows: 51.02%at.Ni, 48.71%at.Ti, 0.12 %at. Al, 0.14%at.Si. Before implantation the springs and rings had undergone the passivity in an autoclave in water vapour at 130°C for 30 min. The structure of the obtained TiO₂ layer, about 4 nm thick, was amorphous, which was confirmed by HREM examination.

Results



RYS. 2. Wpływ temperatury na sprężyste właciwośći sprężyny w kształcie W podczas obciążania i odciążania.

FIG. 2. The influence of temperature on the elasticity of W-shaped spring during loading and unloading.

Superelastic springs

Superelastic properties of the SMATEC wire in tension stress-strain curves is shown in FIG. 1. The bending tests of the wire also show a force plateau, which is a characteristic feature of superelasticity. The characteristic of the elastic behaviour during loading and unloading of W-shape springs is shown in FIG. 2.

The spring was formed from the wire of 1.0 mm in diameter. The two curves were obtained for room temperature and the temperature of 37°C, respectively; the latter may be related to the patient's body temperature. The length of the wire which corresponds to the perimeter of the W-springs was 40 mm.

The possibility of bone elongation with the use of superelastic springs was experimentally proved on young pigs [4, 5].

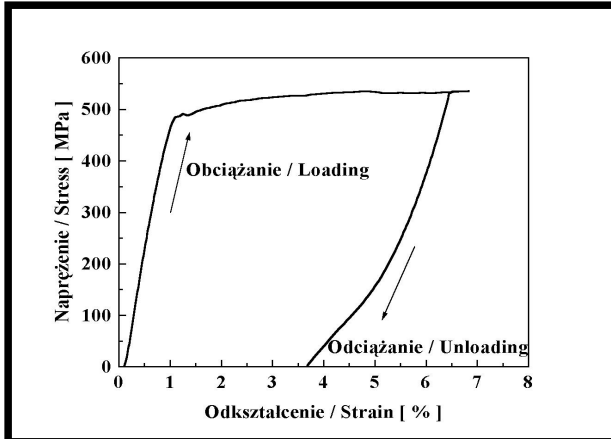
Superelastic rings

The rings formed from the superelastic wire were welded with the use of a laser beam. Their elastic characteristic during loading-unloading which was obtained when the ring was flattened to an ellipse does not show the presence of a typical force plateau but rather a linear relationship between force and deflection with a insignificant slope to the deflection axis. In order to obtain typical superelastic properties of the ring ellipse deflection a new method of superelastic induction for the rings was worked out. For this reason the rings were formed from straight wire fully annealed in the parent phase. The deformation of the wire in its annealed state caused the induction of stable martensite and perma-

optymalnej temperaturze i czasie. Starzenie pierścieni spowodowało umocnienie fazy macierzystej poprzez wydzielenie koherentnej fazy Ni_4Ti_3 . W konsekwencji materiał podczas odkształcania wykazuje nadprężyste zachowanie z wyrównanym plateau siły przedstawionym na RYSUNKU 4 dla pierścieni o różnych średnicach. Jak można zauważyć plateau siły obniża się ze wzrostem średnicy pierścieni.

Kliniczne użycie nadprężystych pierścieni i sprężyn w kranioplastyce

Powiększenie i modelowanie sklepienia czaszki przez dystrakcję kości z użyciem nadprężystych pierścieni lub sprężyn wykonano w Szpitalu Chirurgii Plastycznej w Polanicy. Sprężyny lub pierścienie zakładano na modelowane sklepienie czaszki po rozcięcia przedwczesnego zrostu szwów czaszkowych. Pozytywne rezultaty operacji przepro-



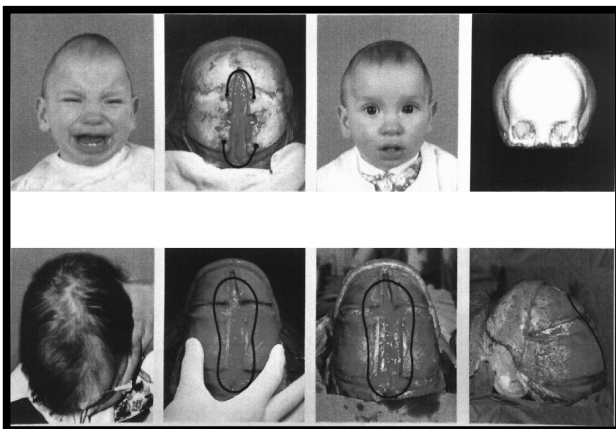
RYS. 3. Krzywa naprężenie-odkształcenie drutu w stanie wyjściowym.

FIG. 3. Stress-strain curve of the wire in the initial state.

wadzonych z użyciem supersprężystych sprężyn lub pierścieni przedstawiono na RYS. 5.

Wnioski

• Badania kliniczne potwierdziły możliwość zastosowania nadprężystych pierścieni i sprężyn w kranioplastyce.



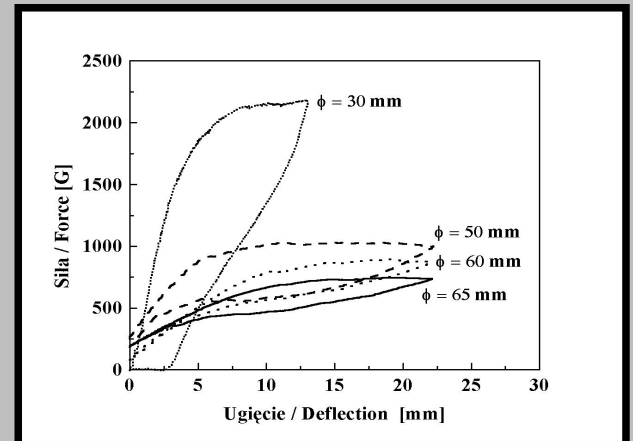
RYS. 5. Ilustracja użycia nadprężystych sprężyn i pierścieni w kranioplastyce.

FIG. 5. Application of superelastic springs and rings in cranioplasty.

cedent deformation after unloading. The results of the stretching test in the form of a stress strain curve is shown in FIG.3. The rings underwent resistance welding and then ageing at optimal temperature and time. The ageing of rings resulted in hardening the parent phase by the precipitation of the coherent Ni_4Ti_3 phase. As a consequence during deformation the parent phase exhibits the superelastic behaviour with a clear force plateau shown in FIG.4 for rings of different diameters. As one can see, the force plateau is lowered while the diameter increases.

Clinical use of superelastic springs and rings in cranioplasty

Clinical modelling and cranial correction obtained by cranial bone distraction with the use of superelastic springs and rings were carried out in the Hospital of Plastic Surgery in Polanica. Spring or rings were applied onto the cranial vault while it was being modelled after cutting of the craniostosis. Positive results of the operations carried out with the use of the superelastic springs and rings can be



RYS. 4. Nadprężyste zachowanie pierścieni o różnych średnicach podczas ugięcia pierścienia do elipsy i powrotu do pierwotnego kształtu.

FIG. 4. Superelastic behaviour of the rings of different diameters by deflection the ring to elliptic shape and their reversion to previous ring shape.

seen in FIG. 5.

Conclusions

- Clinical research confirmed the possibility of applying superelastic rings and springs in cranioplasty.
- Superelastic springs and rings deformed by bending effects operate with constant force in the desired displacement range.
- A new method of forming superelastic rings was worked out using precipitation hardening of the rings previously formed out of the NiTi wire with a higher nickel composition when compared with the equiatomic composition.

Piśmiennictwo

References

- [1] Phillippe P. Poncet, SMST - 2000, Proceedings of the International Conference on Shape memory and Superelastic Technologies, Pacific Grove, California, USA, 30 April to 4 May, 2000, 441, Ed. by Scott M. Russel, Alan R. Pelton.
- [2] A. R. Pelton, D. Stockel, T. W. Duerig, Mater. Sci. Forum. 327-328 (2000) 363.
- [3] J. Drugacz, Z. Lekston, H. Morawiec, J. of Med. Informatics

· Nadsprysy pierścienie i sprężyny deformowane przez zginanie działają ze stałą siłą w po-
danym zakresie odkształceń.

· Opracowano nową metodę przygotowania nadspryszonych pierścieni z użyciem umocnienia wydzieleniowego wstępnie kształtowanych drutów NiTi o wyszej zawartości niklu niż w stanie równoatomowym.

OCENA WPŁYWU WYBRANYCH MATERIAŁÓW CERAMICZNYCH NA FIBROBLASTY I OSTEObLASTY W HODOWLI IN VITRO

ANNA CHRÓCICKA*, PIOTR WOŃNIAK*, RADOŚLAW OŁKOWSKI*, MAŁGORZATA LEWANDOWSKA - SZUMIEŁ*, SŁAWOMIR MICHAŁOWSKI**, ZBIGNIEW JAEGERMANN**, JOANNA KARA **

*ZAKŁAD BIOFIZYKI I FIZJOLOGII CZŁOWIEKA, AKADEMIA MEDYCZNA W WARSZAWIE

**INSTYTUT SZKŁA I CERAMIKI W WARSZAWIE

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 39-41]

Wstęp

Uzyskanie materiału odpowiedniego do stworzenia trójwymiarowego nośnika dla żywych komórek i jego wykorzystanie w inżynierii tkankowej jest celem wielu aktualnie prowadzonych badań. Wiadomo, że materiał taki powinien umożliwiać przyleganie, odpowiedni wzrost, proliferację i różnicowanie komórek. Dużym zainteresowaniem budzą nośniki ceramiczne oparte na węglenie wapnia. Z pierwszych prób wykonanych zarówno na materiałach naturalnych białych jak i syntetycznie otrzymanych materiałach kalcytowych wynika, że są one nie tylko biologicznie i resorbowalne, ale również bardzo dobrze tolerowane przez tkankę kostną [1-3]. Obecnie mo-
żliwe jest uzyskanie wysokoporowatych tworzyw kalcytowych w postaci pianek o różnej porowatości i wielkości porów. Taka tekstura biomateriału umożliwia łatwe zasiedlenie nośnika komórkami, a w warunkach in vivo także powstanie od żywych naczyń krwionośnych [4].

Celem niniejszej pracy było zbadanie zachowania się komórek w kontakcie z wybranymi biomateriałami ceramicznymi. W doświadczeniu użyto kilku odmian materiałów kalcytowych o różnej porowatości i różnym udziale procentowym węglenia wapnia. Badano wpływ tych materiałów na ludzkie komórki (fibroblasty i osteoblasty) w hodowli in vitro.

Materiały i metody

Wszystkie użyte do doświadczeń materiały kalcytowe zostały wytworzone w Zakładzie Badawczo-Produkcyjnym Bioceramiki Instytutu Szkła i Ceramiki w Warszawie. Do

and Technologies. 2 (2001) 85.

[4] H. Morawiec, Z. Lekston, J. Drugacz, Proceedings of the Materials and Processes for Medical Devices Conference, Anaheim, California, USA, 8-10 September, 2004, 444, Ed. by Sanjay Shrivastava.

[5] Z. Lekston, H. Morawiec, J. Drugacz, Mat. Sci. and Eng. (2004) 1737.

HUMAN FIBROBLASTS AND OSTEObLASTS IN CONTACT WITH CALCIUM CARBONATES

ANNA CHRÓCICKA*, PIOTR WOŃNIAK*, RADOŚLAW OŁKOWSKI*, MAŁGORZATA LEWANDOWSKA - SZUMIEŁ*, SŁAWOMIR MICHAŁOWSKI**, ZBIGNIEW JAEGERMANN**, JOANNA KARA **

*DEPARTMENT OF BIOPHYSICS AND HUMAN PHYSIOLOGY MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

**INSTITUTE OF GLASS AND CERAMICS, WARSAW

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 39-41]

Introduction

There is a growing interest in three dimensional scaffolds for transplantation of viable cells. It is well known that the material which could serve as a scaffold should allow for adherence, growth, proliferation and differentiation of the cells growth. One of the candidate materials are ceramic scaffolds based upon calcium carbonate.

The first studies of natural materials and artificially obtained calcium carbonate show that both of them are not only biocompatible and resorbable but well tolerated by the bone tissue as well [1-3]. It is now possible to obtain greater porosity calcium carbonate materials in a form of sponge with variable porosity and size of individual pores. Such a structure of the biomaterial allows easy inhabitation of cells within the scaffold allowing also for development of blood vessel [4].

The purpose of the study presented here was to elucidate the behavior of human cells in contact with different calcium carbonate materials. Five biomaterials with different porosity and different content of calcium carbonate were used in to determine their influence on human cells (fibroblasts and osteoblasts) culture in vitro.

Materials and methods

All calcite materials were made in Institute of Glass and Ceramics in Warsaw. Calcites of five types, each having different porosity and size were used. In addition materials varied in pore structure. Specification of the materials presents as follows: 2 calcites profiles (material "1" - 99% CaCO₃+1% LiF; material "2" - 95% CaCO₃+5% LiF) and 3 in the form of sponge (material "3" - 95% CaCO₃+5% LiF; material "4" - 99% CaCO₃+1% LiF; material "5" - 99%

do wiadcze u yto 5 rodzajów tworzyw ró ni cych si m. in. porowato ci i wielko ci porów: 2 w formie kształtek prasowanych (materiał "1" - 99% CaCO₃+1% LiF; materiał "2" - 95% CaCO₃+5% LiF) oraz 3 w postaci pianek (materiał "3" - 95% CaCO₃+ 5% LiF; materiał "4" - 99% CaCO₃+1% LiF; materiał "5" - 99% CaCO₃+1% LiF. Materiały "4" i "5" ró niły si sposobem przygotowania).

Wszystkie do wiadczenia prowadzono w standardowych 24-studzienkowych płytkach polistyrenowych do hodowli komórkowych. Jako po ywk hodowlan u yto roztworu DMEM z dodatkiem 10% płodowej surowicy bydl cej (FBS), L-glutaminy (2mM) i antybiotyku (1%). Po ywka do hodowli osteoblastów dodatkowo zawierała witamin C. Hodowle prowadzono w inkubatorze zapewniaj cym stał temperatur (37°C), wysok wilgotno (90%) oraz atmosfer 5% CO₂. W grupie kontrolnej komórki hodowano na standardowym podło u do hodowli komórkowych. Przeprowadzono 2 do wiadczenia:

1) Badano równolegle wpływ 5 wybranych materiałów kalcytowych na hodowl fibroblastów i osteoblastów. Materiały przyklejono acetonem do dna studzienek i wysiano na nie komórki. W czasie eksperymentu prowadzono obserwacje morfologiczne w odwróconym mikroskopie (Nikon Eclipse TE 2000-U), za po 9 dniach hodowli wykonano test aktywno ci mitochondrialnej komórek (XTT) oraz barwienie fioletem krystalicznym (FK).

2) Wybrano próbki tworzyw kalcytowych w postaci pianek oznaczone "3", "4" i "5". Próbki zalano buforowan po ywk (HEPES) i wytrzsano w celu usuni cia powietrza zamkni tego w porach materiału. Nast pnie usuni to po ywk i na tak przygotowanych podło ach wysiano komórki. Po 3 dniach po ywk wymieniono. W czasie eksperymentu prowadzono obserwacje morfologiczne, a nast pnie wykonano test XTT oraz FK. Celem uwidocznienia komórek w porach materiału do do wiadczenia u yto osteoblastów zabarwionych fluorescencyjnie (CFSE).

Materiały Materials	Do wiadczenie 1 Experiment 1		Do wiadczenie 2 Experiment 2	
	Fibroblasty Fibroblasts	Osteoblasty Osteoblasts	Osteoblasty niezabarwione Osteoblasts	
	XTT	FK	XTT	FK
	(% kontroli) / (% of control)			
„1”	28,95	10,02	–	–
„2”	38,46	3,10	–	–
„3”	22,08	14,67	57,78	115,91
„4”	17,12	21,18	1,78	18,26
„5”	41,82	149,40	32,49	269,24

TABELA 1. Wyniki przeprowadzonych do wiadcze . Warto ci s przedstawione w procentach w stosunku do kontroli.

TABLE. 1 Results of the experiments. The values are shown as a percentage of control.

Wyniki

W czasie obserwacji morfologicznych prowadzonych podczas pierwszego do wiadczenia stwierdzono, e wi kszo komórek nie rozplaszczają si w kontakcie z biomateriałami, du a ich cz była martwa. Obraz morfologiczny cz ci komórek odpowiadał zmianom zachodz cym w pro-

CaCO₃+1% LiF were used. The materials "4" and "5" had a different kind of preparation).

All experiments were prepared in a standard polystyrene, 24-wells culture plates. The cells were cultured in DMEM modified with 10% fetal bovine serum (FBS), L-glutamine (2mM), antibiotic (1%), at standard conditions (37°C, 5% CO₂ in humidified atmosphere). The culture of osteoblasts medium was supplemented with L-ascorbic acid. Simultaneously the control cells were seeded on the standard polystyrene cell culture surface.

The experiment consisted of two parts:

1) The influence of the 5 above described biomaterials on the culture of osteoblasts and fibroblasts was examined. The cells were seeded on the materials previously attached to the wells. The cell morphology was examined during the study using a microscope (Nikon Eclipse TE 2000-U). After 9 days two tests were performed, i.e.: XTT test, which indicates viability of cells in culture and crystal violet staining (FK).

2) 3 sponge materials ("3", "4" and "5" of the ones described above) were chosen for further observation. A buffer medium (HEPES) has been poured over the samples. It was further shaken in order to remove air from the pores of materials and removed. Cells were then seeded upon such prepared scaffold. After 3 days the medium was changed. During that study the cell morphology was observed and after 9 days two tests were performed (XTT and FK). Fluorescent (CFSE) labeled osteoblasts were used in order to make observation of the cells in the pores of the materials possible.

Results

Morphological observation, witch was made during the first experiment, shows that the majority of the cells were not spread around the biomaterials. Many cells were dead. Morphological picture of these cells corresponded with the characteristic image of apoptotic cells.

In the second experiment, were plates with biomaterials were shaken, the morphological observation shown much fewer cells around the material "3" as compared to the control. The cells were not spread. On the contrary, there were a lot of cells spread in the contact with material "5". The CFSE labeled cells penetrated deeply into the pores of the materials as visualized in fluorescent microscopy.

Results of the tests are shown in TABLE 1.

Discussion

Results of experiments conducted on chosen calcite materials, prove that the way the cells are seeded upon the 3D scaffolds, strongly influences behavior of the cells in the culture. Results of the experiments performed were compared on a basis of the cell amount determined by means of FK test.

Low cell viability observed in the first experiment, was most likely caused by a high alkalization of the media and entrapment of high amount of the air within pores of the materials. Change of the methodology of the medium application to the material resulting in the air removal and use of the buffered medium positively influenced cell in culture as can be judged on the basic of cell morphology. Among calcite materials used in the study, the "5-th" ones seems the most promising (the highest number of cells present on its surface, the best spreading and adherence of the cells). It should be mentioned that low XTT test results may indicate handicapped mitochondrial activity of the cells or the

cesie apoptozy.

W do wiadczeniu drugim, w którym zastosowano wytrzymanie płytek z biomateriałami, w czasie obserwacji mikroskopowych stwierdzono, że w otoczeniu materiału "3" komórki nie rozpuszczają się i jest ich dużo mniej niż w kontroli. Na materiale "5" było dużo rozpuszczonych komórek. W mikroskopie fluorescencyjnym uwidoczniło się zabarwienie CFSE komórki w porach materiału.

Wyniki wszystkich przeprowadzonych testów zostały przedstawione w TABELI 1.

Dyskusja i wnioski

Wyniki badań prowadzonych na wybranych tworzywach kalcytowych udowodniają, że sposób przesycania trójwymiarowego rusztowania medium hodowlanym ma istotny wpływ na odpowiedź komórek w hodowli. Podstawą porównania otrzymanych wyników była liczba komórek określona na podstawie wyniku testu FK. Niska przeżywalność komórek zaobserwowana w pierwszym do wiadczeniu, które miało charakter wstępnego, była prawdopodobnie spowodowana silną alkalizacją środowiska i zamknięciem otworów powietrza wewnątrz porów materiału. Z obserwacji morfologii komórek wynika, iż zmiana sposobu osadzania próbek umożliwia usunięcie pierzawych komórek z powierzchni i zwiększenie liczby komórek w kontakcie z materiałem. Spośród badanych biomateriałów kalcytowych wyróżnia się materiał "5", który może okazać się najlepszym podłożem do hodowli komórek *in vitro* (najwyższa liczba komórek, najlepsze przyleganie i rozpuszczanie się komórek). Choć prawdziwe wyniki testu XTT w populacji komórek hodowanych na podłożu tego materiału są niskie, co mogłoby wskazywać na upośledzoną aktywność mitochondrialną komórek lub też mniejszą liczbę żywych komórek pozostających w kontakcie z tym materiałem. Nie zgadza się to jednak z obrazem morfologicznym wskazującym na bardzo dobrą tolerancję komórek względem tego materiału. Wydaje się, że wyniki testu XTT mogą być obciążone wysokim błędem wynikającym z trójwymiarowej struktury materiału. Trwają prace nad dostosowaniem tej metody do specyficznych warunków hodowli w trójwymiarowym rusztowaniu.

Fluorescencyjne znakowanie komórek w do wiadczeniu drugim umożliwiło obserwację ich wnikania do wnętrza próbek kalcytowych. Potwierdza to skuteczność zastosowanej techniki osadzania komórek w trójwymiarowym rusztowaniu ceramicznym.

Przedstawione tu wyniki są bardzo zachęcające, mają jednak wstępny charakter i wymagają potwierdzenia. Planuje się dalsze prace nad oceną biomateriałów kalcytowych jako potencjalnych nośników dla komórek w inżynierii tkankowej.

Podziękowania

Praca finansowana przez KBN w ramach projektu badawczego zamawianego Nr 05/PBZ-KBN-082/T08/2002/06.

lower number of viable cells in contact with the material. However, it is accompanied by a good spreading of cells in contact with the material as visualized under the microscope. This would indicate a good biocompatibility of this calcite material. XTT test results might be misleading as a consequence of the 3D structure of the material. XTT method is now being adjusted to the specific condition of the 3D scaffolds.

Fluorescent labeling of the cells in the second experiment allowed their observation upon the entry inside calcite samples. It proves that the seeding method used in the second experiment enables cell migration into 3D ceramic scaffolds.

The results presented seem promising. They are however only preliminary and further works on the valuation of the calcite biomaterials as potential scaffolds in the tissue engineering will be conducted.

Acknowledgements

Conducted work was supported by KBN grant 05/PBZ-KBN-082/T08/2002/06.

Piśmiennictwo

References

- [1] Ohgushi, H., et al., Bone formation process in porous calcium carbonate and hydroxyapatite. *J Biomed Mater Res*, 26(7), (1992), p. 885-95.
- [2] Guillemin, G., et al., Comparison of coral resorption and bone apposition with two natural corals of different porosities. *J Biomed Mater Res*, 23(7), (1989), p. 765-79.
- [3] Guillemin, G., et al., The use of coral as a bone graft substitute. *J Biomed Mater Res*, 21(5), (1987), p. 557-67.
- [4] Jaegermann, Z., J. Kara, and S. Michałowski, Porous structures of ceramic materials used as scaffolds for living cells for application in tissue engineering. *Engineering of Biomaterials*, (2003), p. 12-14.

MODYFIKACJA TYTANU TECHNICZNEGO I STOPU Ti-6Al-4V POPRZEZ AZOTOWANIE JARZENIOWE - MIKROSTRUKTURA I WŁAŚCIWOŚCI

A.CZYRSKA-FILEMONOWICZ*, T.MOSKALEWICZ*, M.ŁUCKI*,
M.KOT*, S.ZIMOWSKI*, W.RAKOWSKI*, T.WIERZCHO **

*AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,
AL. MICKIEWICZA 30, PL-30 059 KRAKÓW
**POLITECHNIKA WARSZAWSKA,
UL. NARBUTTA 85, PL-02 524 WARSZAWA

Streszczenie

Przeprowadzono charakterystykę mikrostruktury, właściwości mikromechanicznych

i trybologicznych tytanu technicznego oraz stopu Ti-6Al-4V po azotowaniu w warunkach wyładowania jarzeniowego. Badania cienkich folii, wykonanych z przekrojów poprzecznych, przeprowadzone za pomocą analitycznej transmisyjnej mikroskopii elektronowej wykazały złożoną mikrostrukturę warstw azotowanych wytworzonych na obu materiałach. Zewnętrzna strefa α -TiN charakteryzowała się nanokrystaliczną strukturą. Azotowanie jarzeniowe istotnie zwiększa mikrotwardość i odporność na zużycie przez tarcie badanych materiałów.

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 42-44]

Wprowadzenie

Stosowanie tytanu i jego stopów w medycynie jest ograniczone ze względu na możliwość przechodzenia pierwiastków wchodzących w ich skład do otaczającego środowiska biologicznego oraz względną małą odporność na zużycie przez tarcie. Z tego względu materiały te są poddawane obróbkom powierzchniowym [1]. Azotowanie jarzeniowe umożliwia wytwarzanie warstw powierzchniowych o kontrolowanej mikrostrukturze [2].

Celem badań była korelacja właściwości mikromechanicznych i trybologicznych z mikro/nanostrukturą dyfuzyjnych warstw azotowanych wytworzonych w warunkach wyładowania jarzeniowego na tytanie technicznym (cp Ti) oraz stopie Ti-6Al-4V.

Materiał i metodyka badań

Badania przeprowadzono na tytanie technicznym (cp Ti) i dwufazowym ($\alpha+\beta$) stopie Ti-6Al-4V. Materiały do badań, dostarczone w stanie wyarszonym (700°C/2h), poddano następnie azotowaniu w warunkach wyładowania jarzeniowego. Proces prowadzono w czasie 4 godzin w atmosferze czystego azotu przy ciśnieniu 4 hPa w temperaturze 900°C.

Badania mikrostruktury przeprowadzono przy użyciu mikroskopii świetlnej (LM), skaningowej oraz analitycznej transmisyjnej mikroskopii elektronowej (SEM, TEM). Anali-

MODIFICATION OF CP Ti AND Ti-6Al-4V BY NITRIDING UNDER GLOW DISCHARGE- MICROSTRUCTURE AND PROPERTIES

A.CZYRSKA-FILEMONOWICZ*, T.MOSKALEWICZ*, M.ŁUCKI*,
M.KOT*, S.ZIMOWSKI*, W.RAKOWSKI*, T.WIERZCHO **

* AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY (AGH-UST),
AL. MICKIEWICZA 30, PL-30 059 KRAKÓW
**WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
UL. NARBUTTA 85, PL-02 524 WARSZAWA

Abstract

The microstructure as well as micro-mechanical and tribological properties of the cp Ti and Ti-6Al-4V alloy after nitriding under glow discharge have been examined. Transmission electron microscopy investigation of cross-section thin foils revealed a complex microstructure of the nitrided multilayers formed on both materials. The outermost α -TiN sublayers were nanocrystalline. Nitriding under glow discharge significantly improved microhardness and wear resistance of both alloy.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 42-44]

Introduction

The application of titanium and its alloys as biomaterials is limited by the release of elements into the surrounding cells or tissues in biological environment and relatively poor wear resistance, therefore their surface treatment is required [1]. Nitriding under glow discharge allows for formation of layers with sophisticated shapes and controlled microstructure [2].

The goal of this study was to correlate the micro-mechanical and tribological properties of the nitrided layer formed by diffusion under a glow discharge on the cp Ti and Ti-6Al-4V alloy with their micro/nanostructure.

Materials and methods

The investigation was performed on commercially pure titanium (cp Ti) and on two phase ($\alpha+\beta$) alloy, Ti-6Al-4V. Delivered as mill annealed (700°C/2h) materials were subsequently nitrided under a glow discharge during 4h at 900°C in a nitrogen atmosphere with a pressure of 4 hPa.

The microstructural analyses were performed by light microscopy (LM), scanning electron microscopy (SEM) and analytical transmission electron microscopy (TEM). Analytical TEM includes energy dispersive X-ray spectrometry (EDS) and electron energy-loss spectrometry (EELS). Phase identification was performed by means of electron diffraction and EDS. The diffraction patterns were interpreted with the JEMS [3] software.

The microhardness and Young's modulus were meas-

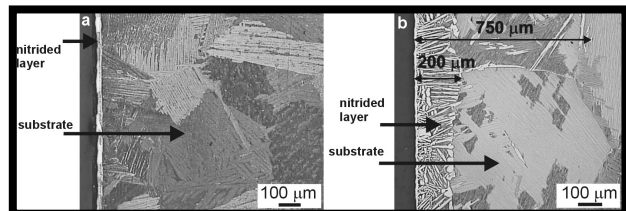
tyczna TEM obejmowała spektroskopię promieniowania rentgenowskiego z dyspersją energii (EDS) i spektroskopię strat energii elektronów przechodzących przez próbkę i nieulegających ugięciu (EELS). Identyfikację faz przeprowadzono metodami selektywnej dyfrakcji elektronów oraz EDS. Do interpretacji dyfraktogramów elektronowych stosowano program komputerowy JEMS [3].

Pomiary mikrotwardości i modułu Younga przeprowadzono na przekrojach poprzecznych próbek za pomocą urządzenia Micro Combi Tester (MCT) firmy CSEM Instruments stosując wgłębnik Vickers'a. Badania odporności na zużycie przez tarcie wykonano za pomocą tribotestera typu "kulatarcza" stosując kulki Al_2O_3 . Szczegóły eksperymentu podano w pracach [4, 5].

Wyniki i dyskusja badań

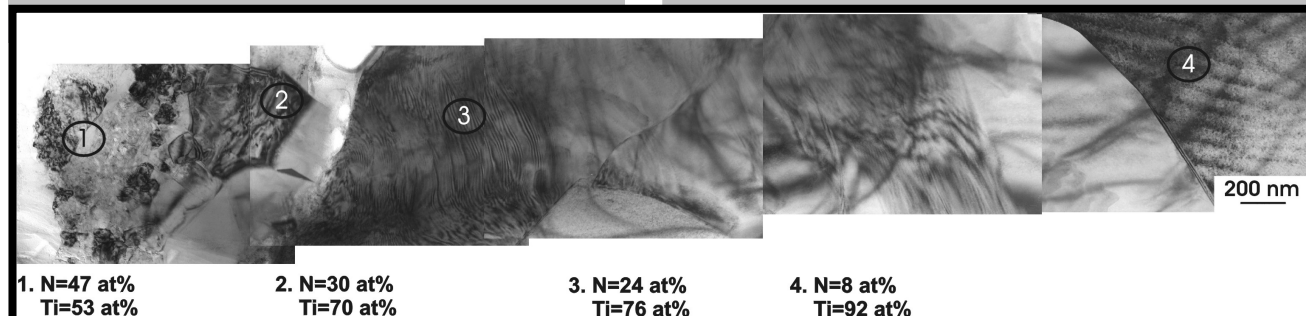
Grubość warstw azotowanych oszacowana przy użyciu LM na próbkach z przekroju poprzecznego wynosiła ok. 30 μm (dla cp Ti) i od ok. 130 do ok. 200 μm (dla stopu Ti-6Al-4V) (RYS. 1a, b). Jednak w przypadku stopu Ti-6Al-4V zmiany mikrostruktury wywołane azotowaniem obserwowano w niewielkich obszarach nawet w odległości 750 μm od powierzchni (RYS. 1b).

Badania cienkich folii wykonanych z przekroju poprzecznego przeprowadzone za pomocą analitycznej TEM wykazały złożony mikrostrukturę warstwy azotowanej na obu materiałach. Typowe mikrostruktury warstwy wytworzonej na stopie Ti-6Al-4V pokazano na RYSUNKU 2. Zewnętrzna, nanokrystaliczna strefa (o grubości ok. 0,3-0,5 μm) zbudowana jest z azotka tytanu α -TiN (faza równoważna TiN osbornite, A1). Jako kolejne strefy zidentyfikowano: Ti_2N o strukturze tetragonalnej przestrzennie centrowanej, Ti_2N o strukturze tetragonalnej prymitywnej, Ti_2AlN i sporadycznie inne fazy. Ostatnią strefę stanowił roztwór stały α (N).



RYS. 1. Mikrostruktura tytanu technicznego (a) i stopu Ti-6Al-4V (b) po azotowaniu: warstwa azotowana oraz podłoże; LM - przekrój poprzeczny.

FIG. 1. Microstructure of the nitrided cp Ti (a) and Ti-6Al-4V alloy (b): surface and substrate (bulk); LM-cross section image.



RYS. 2. Mikrostruktura warstwy azotowanej wytworzonej na stopie Ti-6Al-4V, TEM. Kolejnymi cyframi (1,2,3,4) zaznaczono miejsca analizy zawartości azotu wykonanej metodą EELS.

FIG. 2. Microstructure of the multilayer formed on Ti-6Al-4V alloy, BF TEM. The results of EELS analysis taken in areas marked as 1,2,3,4 are attached.

ured on cross-section samples using Micro Combi Tester (MCT) of CSEM Instruments with a Vickers' indenter. Friction wear resistance was tested by means of the "ball-on-disc" method using a ball of Al_2O_3 . The experimental details are given in refs. 4, 5.

Results and discussion

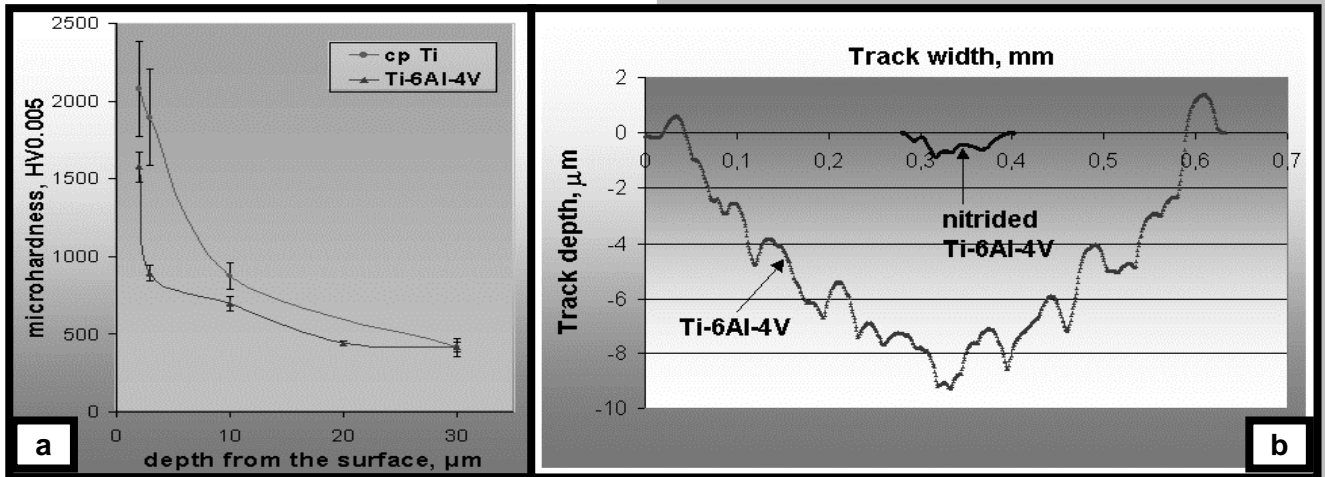
The thickness of the surface layers formed on both materials was measured on the cross-section specimens using LM as 30 μm for cp Ti and varied from about 130 to 200 μm for Ti-6Al-4V alloy (FIGS. 1a, b). However, it was observed in the Ti-6Al-4V alloy some areas where the effect of nitriding is visible up to 750 μm (FIG. 1b).

Analytical TEM investigation of the cross section thin foils revealed a complex microstructure of the nitrided multilayers formed on both materials. As an example, we present a microstructure of the layer formed on Ti-6Al-4V only (FIG.2). Outermost, nanocrystalline sublayer (thickness of 0.3-0.5 μm) consists of the α -TiN (equivalent to the TiN osbornite, fcc). The following sublayers consist of Ti_2N tetragonal body centred, Ti_2N tetragonal primitive, Ti_2AlN and other minor phases. The sublayer closest to the underlying bulk material is identified as the α (N) solid solution. EELS investigations show that the α (N) solid solution contains up to 24 at% nitrogen. The microstructure of the bulk material consists of the α phase (hcp) platelets with β (bcc) matrix.

A relationship between surface treated cp Ti and Ti-6Al-4V alloy and their micromechanical and tribological properties was established. It was found that nitrided layers exhibit much better microhardness and wear resistance (FIGS. 3a, b) than those of bulk materials. The nanocrystalline α -TiN sublayer and Ti_2N sublayer significantly improves microhardness. The result of "ball-on-disc" test shows that the friction coefficient of nitrided layer is 0.13 while for a bulk material it is 0.4. Wear resistance of Ti-6Al-4V has been considerably improved by nitriding. The track depth during wear test was measured as 9.0 μm in a case of the untreated material surface, while it was only 0.8 μm for nitrided material. The results show, that the nitriding under glow discharge is a very effective method for improvement of the mechanical and tribological properties of titanium and its alloys.

Conclusions

1. The nitrided multilayers formed on the cp Ti and Ti-6Al-4V alloy revealed a complex microstructure. Outermost α -TiN sublayers are nanocrystalline.
2. The microhardness of the nitrided multilayers is strongly dependent on their chemical composition and microstructure.



RYS. 3. Mikrotwardość warstw azotowanych wytworzonych na tytanie technicznym i stopie Ti-6Al-4V (a) oraz odporność na zużycie przez tarcie stopu Ti-6Al-4V przed i po azotowaniu (b).
FIG. 3. Microhardness of the nitrided cp Ti and Ti-6Al-4V alloy (a) and frictional wear resistance of the bulk and nitrided Ti-6Al-4V alloy (b).

Analiza zawartości azotu w tej warstwie przeprowadzona metodą EELS wykazała, że roztwór stały $\alpha(N)$ zawiera do 24% at. azotu. Mikrostruktura podłoża zbudowana jest z płytek fazy $\alpha(A3)$ w osnowie fazy $\beta(A2)$.

Stwierdzono istotny wpływ azotowania jarzeniowego na właściwości mikromechaniczne i tribologiczne badanych materiałów. Warstwy azotowane charakteryzują się znacznie większą mikrotwardością i odpornością na zużycie przez tarcie niż podłoża (RYS.3a,b). Nanokrystaliczna strefa δ -TiN i strefa Ti_2N istotnie zwiększają mikrotwardość. Wyniki testu tribologicznego wykazały, że współczynnik tarcia warstwy azotowanej wynosi 0,13, zaś materiału podłoża - 0,4. Głębokość wytarcia stopu w stanie dostawy wynosiła 9 μm , natomiast stopu po azotowaniu tylko 0,8 μm . Można więc stwierdzić, że azotowanie jarzeniowe jest skuteczną metodą poprawy właściwości mechanicznych i tribologicznych tytanu i jego stopów.

Wnioski

1. Warstwy azotowane wytworzone na tytanie technicznym i stopie Ti-6Al-4V charakteryzują się złośliwą mikrostrukturą. Zewnętrzna strefa δ -TiN ma nanokrystaliczną strukturę.
2. Mikrotwardość warstw azotowanych istotnie zależy od ich składu chemicznego i mikrostruktury. Największą mikrotwardość ma nanokrystaliczna strefa δ -TiN.
3. Azotowanie w warunkach wyładowania jarzeniowego istotnie poprawia odporność stopu Ti-6Al-4V na zużycie przez tarcie.

Podziękowania

Badania zostały dofinansowane przez AGH-UST (projekt nr 10.10.110.427) oraz KBN (projekty nr 4 T08C 024 24 i PBZ-KBN 082/T08/2002). Autorzy dziękują Prof. Philippe-A. Buffat (EPFL) za pomoc w badaniach i cenną dyskusję.

ture. The nanocrystalline δ -TiN on the top of the Ti_2N sublayers exhibit the higher microhardness.

3. Nitriding under glow discharge significantly improves a wear resistance of the Ti-6Al-4V alloy.

Acknowledgment

The study was partially supported by the AGH-UST (project nr 10.10.110.427) and by the KBN (projects nr 4 T08C 024 24 and PBZ-KBN 082/T08/2002). Valuable contribution of Prof. Philippe-A. Buffat (EPFL) is kindly acknowledged.

Piśmiennictwo

References

- [1] Brunette, D.M., Tengvall P., Textor M., Thomsen P., Titanium in Medicine, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 2001, ISBN 3-540-66936-1.
- [2] T. Wierzcho, Materials Science Forum, 4256-423 (2003) 2563-2568.
- [3] P. Stadelmann, EMS Java Electron Microscopy Software, <http://cimewww.epfl.ch/people/stadelmann/jemsWebSite/jems.html>
- [4] M. Łucki, PhD thesis, AGH University of Science and Technology, Kraków 2004.
- [5] A. Czyrska-Filemonowicz, P.A. Buffat, M. Łucki, T. Moskalewicz, W. Rakowski, J. Lekki, T. Wierzcho, submitted to Acta Materialia.

OCENA EFEKTÓW CIEPLNYCH PODCZAS UTWARDZANIA MATERIAŁÓW KOMPOZYTOWYCH DO ZASTOSOWA W STOMATOLOGII ZACHOWAWCZEJ

JOANNA KARA , LIDIA CIOŁEK

INSTYTUT SZKŁA I CERAMIKI,
UL. POSTĘPU 9, 02-676 WARSZAWA

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 45-47]

Wprowadzenie

Wśród materiałów stosowanych w stomatologii zachowawczej istotną rolę odgrywają kompozyty na bazie żywicy. Materiały te głównie przeznaczone są do wypełniania i odbudowy ubytków zębów utraconych przez uraz lub przez próchnicę.

Materiały te są utwardzane w wyniku reakcji polimeryzacji, która jest egzotermiczna z natury. Niezależnie od tego, czy reakcja polimeryzacji inicjowana jest chemicznie czy poprzez zastosowanie energii ze źródła zewnętrznego, reakcja jest podobna. Dla chemicznie aktywowanych materiałów utwardzanie rozpoczyna się po zmieszaniu dwóch past lub pasty z płynem. Szybkość utwardzania jednakowa przez cały czas powoduje stopniowy wzrost lepkości. Jednak te materiały mają ograniczony tzw. czas pracy i muszą być umieszczone w przygotowanym ubytku zanim staną się mniej przydatne, czyli zaczną tracić plastyczność. Inaczej sprawa przedstawia się jeśli chodzi o materiały światłoutwardzalne. Dla aktywowanych światłem materiałów kompozytowych tylko minimalny wzrost lepkości ma miejsce przy umieszczeniu w ubytku, zanim materiał zostanie poddany ekspozycji światłem. Później polimeryzacja biegnie bardzo szybko. Producenci kompozytów światłoutwardzalnych mogą kontrolować głębokość utwardzenia przez zalecanie stosowania różnej mocy światła o odpowiedniej intensywności i wyznaczenie czasu ekspozycji wymaganego do osiągnięcia właściwej głębokości utwardzenia. Ta możliwość utwardzania "na zawołanie" stanowi ułatwienie w pracy stomatologów.

Cel pracy

Celem badania była ocena zmian temperatury podczas polimeryzacji materiałów kompozytowych do zastosowania w stomatologii zachowawczej. Proces polimeryzacji tych materiałów związany jest z wydzielaniem znacznych ilości ciepła, pochłanianego następnie przez twarde tkanki zęba i przekazywanego do miazgi. Jeśli miazga nie jest odpowiednio odizolowana to istnieje niebezpieczeństwo miejscowego wzrostu jej temperatury.

EVALUATION OF THERMAL EFFECTS DURING THE PROCESS OF CURING OF COMPOSITE MATERIALS FOR APPLICATIONS IN RESTORATIVE DENTISTRY

JOANNA KARA , LIDIA CIOŁEK

INSTITUTE OF GLASS AND CERAMICS, DEPARTMENT OF
BIOMATERIALS,
9, POSTĘPU ST., 02-676 WARSZAWA

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 45-47]

Introduction

Dental composite resins are widely used in restorative dentistry as they are intended for use mainly for filling and restoration of cavities in teeth, caused by injury or caries.

Composite resins are cured through exothermic polymerisation reaction. The final effect of the polymerisation is similar for both chemical (CA) and blue light-activated (BLA) composite materials. In chemically activated materials curing begins after pastes compounds or paste and liquid compounds are mixed. Equal curing rate in time causes the increase of viscosity. But these types of materials have limited working time and they have to be placed in the cavity before the plasticity begins to decrease. In the case of BLA materials the problem is different. Before exposing the material to the light a slight increase of viscosity occurs while the material is being placed in the cavity. Then the polymerisation progresses very rapidly. Manufacturers of light-activated dental materials control the depth of curing by recommending the intensity and time exposure of the light. The application of light-activated composites is much easier for dentists.

Evaluation of thermal effects during the process of curing of composite materials for restorative dentistry applications was the purpose of the investigation. Polymerisation causes high heat emission, absorbed by enamel and dentine, and transferred to the dental pulp. If the pulp is not isolated well its temperature can increase dangerously.

Method and materials

For the temperature measurement the prototypic instrument was manufactured. It consists of the polyethylene pipe mounted on the fixing part of polyamide block with a hole in which stainless steel tube with stabilised thermocouple was placed. The tube is 8mm height, internal diameter is of 4 mm and the wall thickness is of 1 mm. The diameter of fixing part of the block is of 4 mm and its height is of 2 mm. Once assembled both elements create a hole for the sample having 6 mm in height and 4 mm in diameter. In order to facilitate the removal of the sample after tests, the thermocouple has a conic end projecting 1 mm above the base of

Wykonano przyrząd, który składa się z rurki z polietylenu, ustawionej na bloku z poliamidu, mającym otwór, w którym umieszczona jest z nierdzewnej stali rurka zawierająca stabilizowany termopar. Rurka ma długość 8 mm, wewnętrzny średnicę 4 mm i grubość ścianki 1 mm. Rednica zewnętrzna ustalającej blok wynosi 4 mm, a wysokość 2 mm. Po złożeniu obydwu elementów tworzący próbkę 6 mm wysokość i 4 mm średnicy. W celu ułatwienia wyjęcia próbki po badaniu, termopara ma stożkowe zakończenie, wystające 1 mm ponad podstawę zagłębienia na próbce. Wykonana termopara połączona została z rejestratorem, co umożliwiło zapis temperatury wewnętrznie utwardzanego materiału z dokładnością $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

Do prezentacji graficznej zebranych wyników pomiaru temperatury zastosowano program komputerowy. Program umożliwiał zapisywanie w ustalonych odstępach czasu wartości mierzonej temperatury wraz z dokładnym czasem pomiaru i pozwalał wykreślać charakterystyki $T = f(t)$.

Badania materiałów kompozytowych chemoutwardzalnych przeprowadzono w temperaturze $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, natomiast materiałów wiatłoutwardzalnych w temperaturze otoczenia tj. $(27 \pm 1)^{\circ}\text{C}$. Zmiany temperatury rejestrowano co 2 sekundy. Badane materiały wiatłoutwardzalne utwardzano przy użyciu lampy Heliolux II firmy Vivadent w dwóch warstwach, każda o grubości 2 mm, w czasie 20 lub 40 sekund w zależności od produktu.

Badania przeprowadzono dla materiałów chemo- i wiatłoutwardzalnych, będących produktami handlowymi wielu firm oraz kompozytu wiatłoutwardzalnego o symbolu MS opracowywanego w ramach grantu.

Wyniki badań

Przykładowe zmiany temperatury podczas utwardzania kompozytu chemoutwardzalnego przedstawia RYSUNEK 1, a dla kompozytu wiatłoutwardzalnego RYSUNEK 2.

Wyniki badań kompozytów wiatłoutwardzalnych przedstawiono w TABELI 1.

Kompozyt Composites	Producent Manufacturer	Różnica między temperaturą wyjściową termopary a temperaturą mierzoną materiału The difference between initial temperature of the thermocouple and measured temperature of the material [°C]	
		po nałożeniu pierwszej warstwy after applying first layer	po nałożeniu drugiej warstwy after applying second layer
Durafill	Kulzer	4,7	2,5
Esthet X	Den tsply	4,9	2,2
MS		5,2	3,5
Tetric Ceram	Vivadent	5,5	3,8
Ionosit-Base Liner	DMG	5,6	2,5
Compa Molar	Wilde	5,7	2,8
Crystal	USA	5,9	3,5
Herculite XRV	Kulzer	6,0	2,2
Spectrum	Dentsply	6,1	3,0
Charisma	Kulzer	6,2	1,8
Pertac II	Espe	6,7	4,9
Durafill flow	Kulzer	7,2	3,3
Arkon	Arkon	7,4	2,8
Pertac II	ESPE	7,4	5,9
Estiseal	Kulzer	8,3	3,3
Tetric Flow	Vivadent	8,8	3,8
Pentra Seal	Jeneric/Pentron	9,4	2,9
Helioseal-F	Vivadent	9,7	4,3

TABELA 1. Zmiany temperatury podczas utwardzania kompozytów wiatłoutwardzalnych.
TABLE 1. Temperature changes during the process of curing of light-activated composite materials.

the hole for the sample. The thermocouple is connected with a recorder, which enables registration of the temperature inside curing material with accuracy of $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

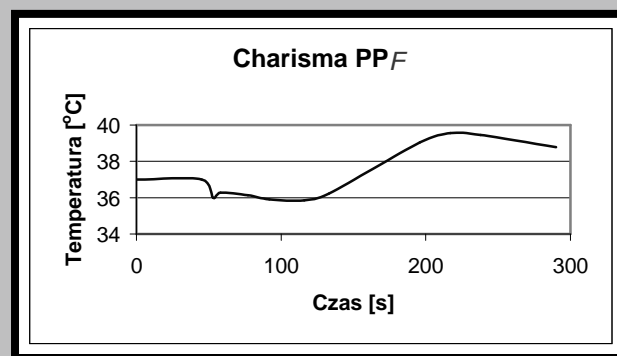
Computer program was applied for the graphic presentation of results. The program registered curing temperatures in determined periods of time, accurate time measurements and plotted the curve of the characteristic $T = f(t)$.

Examination of chemically activated composite materials was made in the temperature of $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$, while light-activated ones in ambient temperature $(27 \pm 1)^{\circ}\text{C}$. Temperatures were registered every 2 seconds. BLA materials were cured in two layers, of 2 mm each in time of 20 or 40 seconds depending on the material, using blue light lamp Heliolux II (Vivadent). Tests were conducted for CA and BLA commercial composite materials as well as light-activated composite coded MS, elaborated within the research grant program.

Results

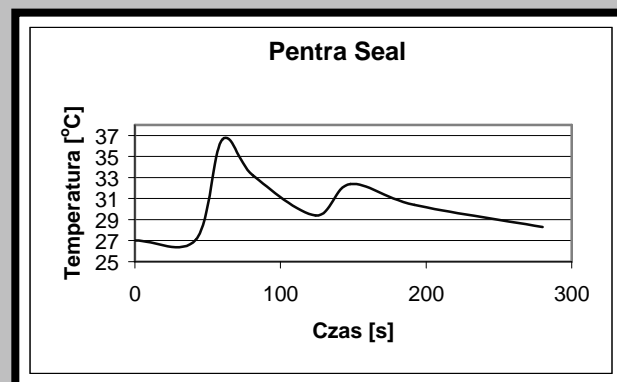
FIGURE 1 shows an example of temperature changes of chemically activated composite material, while FIGURE 2 shows an example of temperature changes of light-activated composite material.

The results of tests of light-activated materials are summarized in the TABLE 1.



RYS. 1. Zmiany temperatury podczas polimeryzacji chemoutwardzalnego materiału Charisma PPF.

FIG. 1. Temperature changes during the process of curing of chemically activated Charisma PPF composite material.



RYS. 2. Zmiany temperatury podczas polimeryzacji wiatłoutwardzalnego materiału Pentra Seal.

FIG. 2. Temperature changes during the process of curing of light-activated Pentra Seal composite material.

Porównuj c wzrost temperatury podczas polimeryzacji badanych chemo- i wiatłoutwardzalnych kompozytów mo na stwierdzi , e wzrost ten dla kompozytów wiatłoutwardzalnych jest wy szy, gdy ciepło uwalniane jest w krótszym czasie. Dodatkowo ciepło emitowane przez lamp p powoduje wzrost temperatury materiałów do 3°C. Ponadto wyst puj znaczne ró nice w ilo ci ciepła uwalnianego podczas reakcji polimeryzacji ró nych materiałów kompozytowych szczególnie wiatłoutwardzalnych. Mo na przypuszcza , e uwarunkowane jest to głównie ilo ci wypełniaczy nieorganicznych zastosowanych w kompozytach. Nale y tak e podkre li , e po nało eniu drugiej warstwy kompozytów wiatłoutwardzalnych zanotowano ni -szy wzrost temperatury z uwagi na jej oddalenie od punktu pomiarowego.

Opracowywany w ramach grantu kompozyt o symbolu MS, wyró nia si jednym z najni szych wzrostów temperatury podczas utwardzania spo ród wszystkich badanych materiałów wiatłoutwardzalnych. Jest to bardzo korzystna cecha, która powinna umo liwi wprowadzenie na rynek polski materiału kompozytowego o wysokim kontra cie radiologicznym i wysokich walorach u ytkowych.

Podzi kowania

Prace finansowane przez KBN w ramach projektu badawczego zamawianego Nr PBZ-KBN-082/2002

WPŁYW PREPARATÓW WYBIELAJ CYCH Z NAD-TLENKIEM MOCNIKA NA MIKROTKWARDO POWIERZCHNI SZKLIWA – BADANIA IN VITRO

DOROTA KO CIELNIAK*, MARIA CHOMYSZYN-GAJEWSKA*, EL BIETA PAMUŁA**

*UNIWERSYTET JAGIELLO SKI, COLLEGIUM MEDIUM, KATEDRA I ZAKŁAD STOMATOLOGII ZACHOWAWCZEJ, UL MONTELUPICH 4, 31-155 KRAKÓW

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

Streszczenie

W pracy zbadano wpływ dwóch eli wybielaj cych o zawarto ci 10% i 20% nadtlenku mocznika na mikrotwardo szkliwa z bowego. 18 zdrowych z bów trzonowych i przedtrzonowych (usuni tych ze wska-za ortodontycznych i periodontologicznych) wybielano przez 12 dni. Stwierdzono , e proces wybielania nie wpływa na mikrotwardo szkliwa z bowego.
[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 47-50]

Temperature increase taking place during the process of polymerisation is higher for light cured material because the heat is released in a shorter period of time. Additionally the heat emitted by the lamp increases the temperature up to 3°C. There are significant differences in quantity of heat releasing during polymerisation of different composite materials especially of the light cured ones. They depend, probably on the quantity of inorganic fillers used. As the temperature is measured in the bottom part of the sample, after the application of second layer of light-cured composite material, lower temperature increase was detected due to bigger distance from the measuring point, located in the bottom part of the sample.

Among light-cured materials tested, the composite coded MS, elaborated within research grant distinguishes by one of the lowest values of temperature increases during polymerisation. This advantage together with high radio-opacity and utility decide upon the MS composite high market value.

Acknowledgement

This work was supported by the State Committee of Scientific Research (grant No. PBZ-KBN-082/2002)

IN VITRO EFFECT OF CARBAMIDE PEROXIDE GEL BLEACHING AGENTS ON THE MICROHARDNESS OF HUMAN ENAMEL

DOROTA KO CIELNIAK*, MARIA CHOMYSZYN-GAJEWSKA*, EL BIETA PAMUŁA**

*CHAIR AND DEPARTMENT OF CONSERVATIVE DENTISTRY IS CMUJ, UL MONTELUPICH 4, 31-155 KRAKÓW, POLAND

**AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, FACULTY OF MATERIALE SCIENCE AND CERAMICS, DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

Abstract

The effect of two bleaching gels containing 10% and 20% carbamide peroxide on the enamel microhardness was examined. 18 non-carious human molars and premolars (extracted for orthodontic and periodontal reasons) were bleached for 12 days. The results show that bleaching agents did not significantly affect the microhardness of the enamel as compared to the control.
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 47-50]

Wybielanie zębów z użyciem miazg jest obecnie najbardziej popularnym zabiegiem w stomatologii estetycznej [1]. Domowe wybielanie zębów jest prowadzone pod kontrolą stomatologa przy użyciu preparatów zawierających od 10% do 20% nadtlenku mocznika, umieszczanych codziennie w dopasowanych nakładkach na bryły przez okres około 2 tygodni, a do uzyskania zadawanego efektu wybielenia [2]. Mechanizm wybielenia nie jest dostatecznie poznany. Uważa się, że preparaty zawierające nadtlenek wodoru lub mocznika usuwają przebarwienia w wyniku reakcji utleniania [3]. W wielu pracach badano wpływ powyższych substancji wybielających na strukturę szkliwa. W większości przypadków stwierdzono, że wybielanie jest bezpieczne dla zębów z miazgami, ponieważ nie wpływa negatywnie na strukturę i właściwości szkliwa [1-5]. Murchison i wsp. [4] i Kozak i wsp. [5] wykazali, że krótkoterminowe stosowanie nadtlenku mocznika nie obniża istotnie twardości szkliwa. Jednakże w innym badaniu doszło do obniżenia twardości szkliwa po zastosowaniu preparatów z 16% nadtlenkiem mocznika oddziałujących ze szkliwem przez 8 godzin dziennie w ciągu tygodnia [6]. W poprzedniej naszej pracy nie stwierdziłyśmy wpływu wybielenia na mikrostrukturę i budowę chemiczną szkliwa [7].

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu dwóch rodzajów zawierających nadtlenek mocznika na mikrotwardość powierzchni szkliwa. Wybielanie prowadzono w czasie 4 godzin dziennie przez 12 dni. Ponadto, w celu określenia stopnia wybielenia, porównano kolor zębów kontrolnych i wybielonych za pomocą kolorymetra Esthet X (Dentsply DeTrey).

Materiał i metoda

Zastosowano 2 preparaty wybielające: Perox 10% (Chema-Elektromet, Rzeszów, Polska) o składzie: 10% nadtlenek mocznika, karbomer, glikol propylenowy, glicerol, wodorotlenek sodu, woda oczyszczona, aromat miętowy (pH = 6.7) oraz Opalescence 20% (Ultradent Products Inc., USA), o składzie: 20% nadtlenek mocznika, karbopol, woda, azotan potasu, 0,11% związek fluoru (pH = 6.5). Badanie przeprowadzono na 18 zębach przedtrzonowych i trzonowych, usuniętych ze wskazań ortodontycznych i periodontologicznych, które po ekstrakcji, a do czasu wybielenia przechowywano w 1% Chloraminie T. Dziewięć zębów poddano wybieleniu za pomocą Peroxu i dziewięć z zastosowaniem Opalescence.

Próbki wybielane i kontrolne wycięto z powierzchni policzkowej zębów za pomocą wysokoobrotowej tarczy diamentowej, umyto w wodzie destylowanej i umieszczono w 0.9% roztworze chlorku sodu w 37°C. Na próbki testowe nakładano preparaty wybielające na 4 godziny dziennie i umieszczano w cieplarni w temperaturze 37°C. Pomiędzy cyklami wybielenia próbki przechowywano w soli fizjologicznej w 37°C. Próbki kontrolne przetrzymywano w soli fizjologicznej w 37°C przez cały czas badania.

Kolor próbek testowych i kontrolnych określano po 6 i 12 dniach po wybieleniu poprzez porównywanie z kolorymetrem Esthet X (Dentsply DeTrey), zgodnie z metodą opisaną poprzednio [7] i wykonywano zdjęcia za pomocą aparatu cyfrowego (Nikon Coolpix 995).

Mikrotwardość szkliwa zmierzono za pomocą mikrotwardościomierza Vickers FM 700 (Future Tech, Japonia) przy obciążeniu 100 G, przykładanym przez 15 sekund. Dla każdej próbki wykonywano po 6 pomiarów. Wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą t-testu, aby ocenić różnicę pomiędzy próbkami wybielanymi i kontrolnymi.

Introduction

Over the past 10 years a vital tooth bleaching has become more and more popular [1]. For at-home bleaching, most dentists are using about 10 to 20 % carbamide peroxide gels in fitted trays, daily, for up to about two weeks until the desired tooth colour is achieved [2]. Little is known about the exact mechanism of bleaching. It is believed that peroxide-containing bleaching agents remove tooth discolorations through oxidation [3]. Numerous studies evaluated the effects of such agents on enamel surface, and most of them had found that vital tooth bleaching is indeed a safe procedure, not altering significantly the structure and properties of the enamel [1-5]. Murchison et al. [4] and Kozak et al. [5] showed that a short-time application of carbamide peroxide did not significantly decrease the hardness of the enamel. However, other study reports a decrease in the human enamel hardness after application of 16% bleaching agent for 8 hours daily per 1 week [6]. In our previous study we did not find the influence of bleaching on microstructure and chemistry on the enamel [7].

The purpose of this study was the evaluation of the enamel microhardness after application of two peroxide-based gels for 4 hours of daily exposure during 12 days. Moreover, in order to characterise the degree of whitening the colour of the bleached and the control samples was analysed by the Colour Standard Esthet X (Dentsply DeTrey).

Materials and methods

Two commercially available tooth bleaching agents were tested on human tooth enamel: Perox (Chema-Elektromet, Rzeszów, Poland) containing: 10% carbamide peroxide, carbomer, polypropylene glycol, glycerol, sodium hydroxide, purified water (pH = 6.7); and Opalescence (Ultradent Products Inc., USA) containing: 20% carbamide peroxide, carbopol, water, potassium nitride, fluoride compound 0.11% (pH = 6.5).

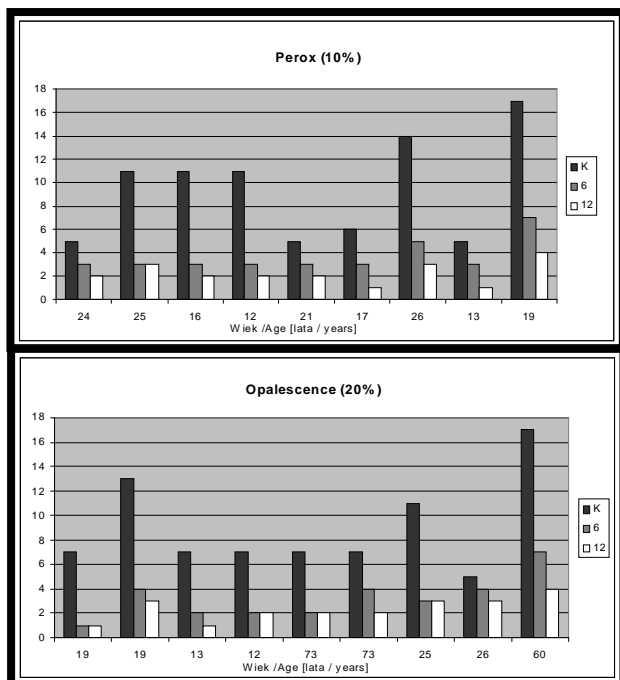
18 non-carious human molars and premolars, extracted for orthodontic and periodontal reasons, were placed in 1% Chloramine T solution, until use. The samples were assigned to 2 groups (n = 9) according to bleaching agents applied. The tested and control parts were obtained by a high-speed diamond rotary from buccal surfaces of the same teeth. The samples were washed with distilled water and placed in separate tubes containing 0.9% physiological saline at 37°C. The test parts were treated with the bleaching agent applied 4 hours daily for 12 days, and during intervals between gel applications were immersed in physiological saline at 37°C. The controls were kept in physiological saline at 37°C for the whole time.

6 and 12 days after bleaching the colour of the test and control specimens was compared to the Colour Standard Esthet X (Dentsply DeTrey), according to the method described previously [7], and both samples were photographed by a digital camera (Nikon Coolpix 995).

Enamel microhardness was measured with a Vickers Microhardness Tester FM 700 (Future Tech, Japan) with a load of 100 G for 15 seconds. A total of 6 measurements were made for each specimen. Data were analysed with a paired t-test to evaluate the differences between test specimens and their respective controls.

Results and Discussion

The results of colour of the enamel before, and after 6, and 12 days of bleaching with Perox and Opalescence in



RYS. 1. Kolor próbek kontrolnych (K), po 6 i 12 dniach wybielania preparatem: a) Perox (10%) i b) Opalescence (20%), według kolornika Esthet X (Dentsply DeTrey); wysokie wartości liczbowe na osi rzędnych odpowiadają ciemniejszym a niskie jaśniejszym zabarwieniom szkliwa. Na osi odciętych zaznaczono wiek pacjentów.

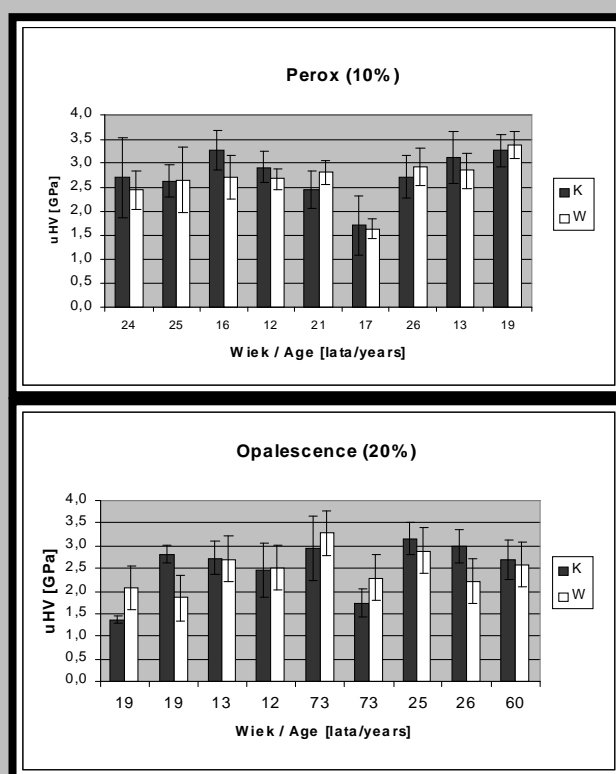
FIG. 1. The colour of the control (K), and after 6 and 12 days of bleaching with: a) Perox (10%) and b) Opalescence (20%) according to the Colour Standard Esthet X (Dentsply DeTrey); high numbers correspond to dark, while low numbers to light tone of the teeth. The age of the patients is indicated in the abscissa.

Wyniki i dyskusja

Na RYS. 1 przedstawiono zestawienie koloru szkliwa przed, oraz po 6 i 12 dniach wybielania preparatem Perox [RYS. 1a] i Opalescence [RYS. 1b]. Na osi odciętych zaznaczono wiek pacjentów, który mieścił się w przedziale od 12 do 26 lat (średnia 19 ± 4 lat) dla zębów wybielanych Peroxem, i od 12 do 73 (średnia 35 ± 20 lat) dla zębów wybielanych Opalescence.

We wszystkich przypadkach stwierdzono wyraźne zmiany zabarwienia szkliwa po zastosowaniu obu rodzajów wybielających. Podczas gdy kolor próbek kontrolnych był zróżnicowany, z uwagi na czynniki osobnicze, genetyczne i wiekowe, kolor zębów po wybielaniu uległ istotnej poprawie i był dla wszystkich próbek zbliżony. Wiadcząco to o bardzo wysokiej skuteczności wybielających obu preparatów. Zastosowanie ich wybielających przez czas 12 dni nieznacznie poprawiło efekt wybielania, w porównaniu z wybielaniem przez 6 dni. Wyniki nasze są zgodne z wcześniejszymi badaniami wskazującymi, że efektywność wybielania jest najwyższa przez pierwsze dni stosowania ich [1, 2].

Wyniki mikrotwardości wszystkich próbek przed i po wybielaniu przedstawiono na RYS. 2. Mikrotwardość szkliwa mieściła się w zakresie od 1.71 do 3.26 GPa przed i 1.63 do 3.36 GPa po wybielaniu preparatem Perox, podczas gdy wynosiła od 1.36 do 3.18 GPa przed i od 1.84 do 3.28 GPa po wybielaniu preparatem Opalescence. Analiza statystyczna (t-test) nie wykazała różnicy pomiędzy próbkami wybie-



RYS. 2. Mikrotwardość próbek kontrolnych (K) i po 12 dniach wybielania (W) preparatami: a) Perox (10%) i b) Opalescence (20%). średnie \pm odchylenia standardowe z 6 pomiarów. Na osi odciętych zaznaczono wiek pacjentów.

FIG. 2. The microhardness of the enamel of the control samples (K), and after 12 days of bleaching (W) with: a) Perox (10%) and b) Opalescence (20%). Averages \pm Standard deviations from 6 measurements. The age of the patients is indicated in the abscissa.

comparison with the controls are presented in Fig. 1. The age of patients is also presented in the abscissa of Fig. 1. The age of patients varied from 12 to 26 (average 19 ± 4) for Perox and 12 to 73 (average 35 ± 20) for Opalescence. In all studied samples the whitening of the enamel due to exposure to both bleaching agents is evident. While the colour of controls varied considerably, most likely due to individual, genetic and age factors, the colour of the teeth after bleaching was very similar, indicating a very good efficacy of both bleaching gels. Application of the gels for 12 days caused a further slight bleaching of the teeth in comparison with the 6-day bleaching. Our findings are in accordance with previous studies, indicating that the efficiency of whitening is the highest in the very beginning of the bleaching procedure [1, 2].

The results of the microhardness of all the samples before and after treatment with Perox and Opalescence are presented in Fig. 2. Enamel microhardness values varied from 1.71 to 3.26 GPa before and 1.63 to 3.36 GPa after bleaching with Perox, while for Opalescence from 1.36 to 3.18 GPa before and 1.84 to 3.28 GPa after treatment. The statistical analysis (a paired t-test) showed no significant differences between bleached and control samples treated with Perox and Opalescence.

Our results of human enamel microhardness are similar to the data reported previously in the literature [4-6, 8]. Interestingly, as in other reports, we observed a high variability among the control samples, being a consequence of their different mineral and crystalline structure. As in our paper,

lanymi i kontrolnymi, niezależnie od rodzaju preparatu. Wyniki mikrotwardości uzyskane w naszej pracy są bardzo zbliżone do danych uzyskanych przez innych autorów [4-6, 8]. W pracach tych występowała również duża rozpiętość twardości szkliwa pomiędzy samymi próbkami kontrolnymi, z powodu różnego stopnia zmineralizowania szkliwa i jego struktury krystalicznej. Nie stwierdzono natomiast znaczącego wpływu nadtlenku mocznika na mikrotwardość powierzchni szkliwa. Kozak i wsp. badali wpływ 10% i 20% Opalescence na mikrotwardość szkliwa, zębiny i miazgi po 70 godz. wybielania. Stwierdzili oni, że wybielanie nie powoduje spadku twardości ani zmian mikrostruktury szkliwa i zębiny [5]. Podobnie Ferreira i wsp. wykazali, że użycie dwóch badanych domowych preparatów wybielających, zawierających od 4.5% do 10% nadtlenku mocznika nie obniża mikrotwardości szkliwa [9].

Podziękowania

Autorki dziękują Panu Dr Z. P. Dzichowi za pomoc przy badaniach mikrotwardości.

Piśmiennictwo

- [1] G.J. Christensen, The tooth-whitening revolution, JADA 133, 2002, 1277-1279.
- [2] G.J. Christensen, Bleaching Teeth: practitioner trends, JADA 128, 1997, 16S-18S.
- [3] M.C. Flaitz, M.J. Hicks, Effects of carbamide peroxide whitening agents on enamel surface and caries-like lesion formation: a SEM and polarised light microscopic in vitro study, Journal of Dentistry for Children 63, 1996, 249-256.
- [4] D.F. Murchison, D.G. Charlton, B.K. More, Carbamide peroxide bleaching: effects on enamel surface hardness and bonding, Operative Dentistry 17, 1992, 181-185.
- [5] K.M. Kozak, H.J. Duschner, H. Gotz, D.J. White, J.R. Zoladz, Effects of peroxide gels on enamel and dentin in vitro, P&G Dental ResourceNet, 2001, 1390-1394.

the majority of the previous studies found no effect of carbamide peroxide on the enamel microhardness. Kozak et al. studied the effect of 10% and 20% Opalescence applied for 70 hours on enamel, dentin and pulp microhardness. They found, that bleaching produced no softening or ultrastructural changes of the surface/subsurface enamel and dentin [5]. Similarly, Ferreira et al. showed that none of the five commercial home-bleaching agents (containing from 4.5% to 10% of carbamide peroxide) reduced the enamel microhardness [9].

Conclusions

Our study revealed a very good efficiency of Perox (10%) and Opalescence (20%) in whitening of the human enamel. Even though the colour of the control samples varied considerably, the final effect of application of two gels on the colour of the enamel was very similar. Prolonged treatment up to 12 days caused only a slight improvement of the colour in comparison with 6-day bleaching.

The bleaching of the teeth by means of Perox (10%) and Opalescence (20%) 4 hours daily during 12 days did not significantly affect the microhardness of the enamel.

Acknowledgements

The authors thank Dr Z. P. Dzich for his help in microhardness measurements.

References

- [6] E.C. Pinheiro Jr, R.A.S. Fidel, A.M. da Cruz Filho, R.G. Silva, J.D. Pecora, In vitro action of various peroxide gel bleaching agents on the microhardness of human enamel, Braz. Dent. J., 75-79.
- [7] D. Kocielniak, M. Chomyszyn-Gajewska, E. Pamuła, Wpływ wybielania na mikrostrukturę i budowę chemiczną szkliwa - badania in vitro, Czasopismo Stomatologiczne - submitted.
- [8] I. Potocnik, L. Kosec, D. Gaspersic, Effect of 10% carbamide peroxide bleaching gel on enamel microhardness, microstructure, and mineral content, Journal of Endodontics 26, 2000, 203-206
- [9] I. Ferreira, G.C. Lopes, E. Araujo, L.C.C. Vieira, L.N. Baratieri, Effect of hydrogen peroxide based home bleaching agents on enamel hardness, J. Dent. Res., 82, 2003, 960.

OCENA WŁAŚCIWOŚCI KOMPOZYTÓW NA BAZIE STOPU IMPLANTACYJNEGO Co-Cr-Mo

MAŁGORZATA GRDZKA-DAHLKE, JAN R. D. BROWSKI

WYDZIAŁ MECHANICZNY,
POLITECHNIKA BIAŁOSTOCKA W BIAŁYMSTOKU

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 50-53]

THE ESTIMATION OF THE PROPERTIES OF IMPLANT Co-Cr-Mo- ALLOY BASED COMPOSITES

MAŁGORZATA GRDZKA-DAHLKE, JAN R. D. BROWSKI

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING,
BIAŁYSTOK TECHNICAL UNIVERSITY

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 50-53]

Wprowadzenie

Jednym z ważniejszych kierunków badań w dziedzinie alloplastyki stawów jest opracowanie materiałów na waleczniowy - panewka/głowa endoprotezy. Stosowane dotychczas na szeroką skalę rozwiązania z użyciem panewki z polietylenu wysokociepłego zapewnia niskie wartości współczynników tarcia. Jednak długoterminowe obserwacje wskazują na niebezpieczeństwo nadmiernej zużycia polietylenu. Powstałe produkty zużycia mogą prowadzić do poważnych powikłań [1-3]. Zastosowanie pary tarcia metal-metal wymaga modyfikacji trących powierzchni celem zapewnienia minimalnych oporów ruchu i zużycia.

Jednym ze sposobów modyfikacji jest zastosowanie materiału kompozytowego o korzystnych właściwościach tribologicznych. W pracy przedstawiono wyniki badań właściwości materiałów kompozytowych na bazie stopu implantacyjnego Co-Cr-Mo. Wyboru dodatków modyfikujących dokonano na podstawie wcześniejszych badań modelowych [4].

Materiały i metodyka badań

Badano materiały kompozytowe na bazie spieków z proszków stopu Co-Cr-Mo typu Vitalium z 10% objętościowym udziałem modyfikatorów: pirofosforanu wapnia, Si_3N_4 i B_4C . Materiały wykonano metodą MP. Proces technologiczny obejmował prasowanie jednostronne i spiekanie. Wartości nacisków przy prasowaniu wstępny wynosiły 600MPa. Spiekanie prowadzono w temperaturze 1150-1190°C w atmosferze argonu. Zakres temperatur spiekania wyznaczono na podstawie wcześniejszych wyników badań dla stopów Co-Cr-Mo [5] z uwzględnieniem wpływu składników dodatków modyfikujących na temperatury likwidacji stopów [6].

Badano wpływ dodatków na zagęszczenie i strukturę uzyskanych materiałów oraz na ich właściwości mechaniczne i tribologiczne. Głównym celem badań materiałów kompozytowych określano metodami wagowymi. Mikrotwardość oceniano metodą Vickersa przy użyciu głowicy Hannemana na mikroskopie Neophot 21.

Ocenę właściwości wytrzymałościowych przeprowadzono podczas próby ścisania statycznego na maszynie wytrzymałościowej INSTRON. Badania tribologiczne wykonano na symulatorze tarcia stawu biodrowego w Katedrze Materiałoznawstwa Politechniki Białostockiej. Umocniono odwzorowanie dynamiki obciążenia, jakim poddawane są materiały w elementach trących sztucznych stawów (ruch cyklicznie zmienny z małymi prędkościami oraz zmienne naciski). Badano skojarzenie: pierścień tarcza przy ruchu obrotowo-rewersyjnym. Częstotliwość ruchu wynosiła 1Hz, maksymalna prędkość poślizgu - $v_{p,max} = 0,018m/s$. Obciążenie zadawane było w sposób sinusoidalny. Maksymalna wartość nacisków jednostkowych $p=8MPa$. Przeciwwróbka w kształcie pierścienia wykonana była z litego stopu Co-Cr-Mo. Badania przeprowadzono w środowisku 0,9% wodnego roztworu NaCl w temperaturze pokojowej. Czas trwania pojedynczego pomiaru wynosił 240 min.

Wyniki badań i dyskusja

Analiza uzyskanych wyników pokazuje znaczący wpływ zastosowanych dodatków na właściwości kompozytów. Głównym celem otrzymanych spieków kobaltowych wynosi ok. 60% (RYS. 1). Jedynie w przypadku kompozytu z dodatkiem pirofosforanu wapnia zaobserwowano znaczący wzrost gęstości (do ok. 83%). Badania mikrostruktury i

Introduction

One of the major research directions in the area of total joint reconstruction is to develop materials for a tribological system - endoprosthesis head/cup. The temporary wide used solution with UHMWPE (Ultra High Molecular Weight Polyethylene) cup sets the good tribological conditions in artificial joints with a low friction coefficient. However, the long period observations showed the danger of excessive wear of polyethylene. The PE wear products could cause different complications [1-3]. Application of the metal-metal tribological system needs the modification of sliding surfaces to minimize movement resistance and wear during friction.

One of the modification ways is usage of composite materials with good tribological properties. The paper presents research results of composite materials based on the implant Co-Cr-Mo alloy. The modifying additions were chosen on the basis of earlier model researches [4].

Materials and research methods

Composite materials based on Co-Cr-Mo-alloy Vitalium type powder with 10% volume contribution of modifiers: calcium pyrophosphate ($Ca_2P_2O_7$), boron carbide (B_4C) and silicon nitride (Si_3N_4) were researched. Materials were produced with the usage of powder metallurgy method.

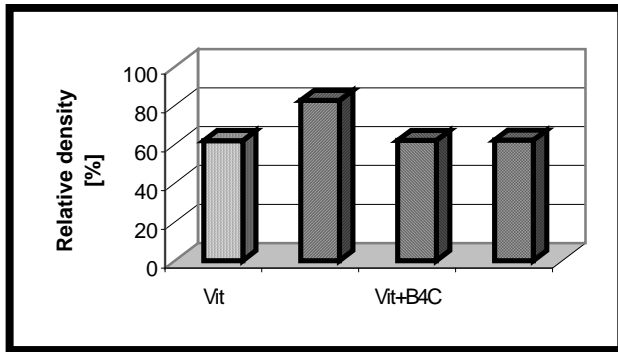
The technological process comprised ironing and initial sintering stages as well as final ironing and sintering. The pressure value during the ironing was 600 MPa. The sintering was conducted in the temperature of 1150+1190°C in the argon atmosphere [5,6].

The influence of additions on condensation and the structure of acquired materials as well as their mechanical and tribological properties were researched. The relative density of composite materials was described through the usage of weight method. Microhardness was evaluated by the usage of Vickers Hanneman method on the microscopy Neophot 21. The yield strength was determined in static compressing test in an universal testing machine INSTRON. The tribological tests were performed with a simulator of hip joint in Białystok Technical University. The simulator imitates load dynamics in real joint. A reciprocating ring-on-disc system was used with a frequency of 1Hz. The rings were loaded along their axis (maximum contact pressure $p_{max}=8MPa$). Friction force was measured. To describe extreme resistances to motion friction coefficients were calculated from maximum value of friction force. Tribological tests were carried on in lubricant conditions (0.9% water solution of NaCl).

The results of research and discussion

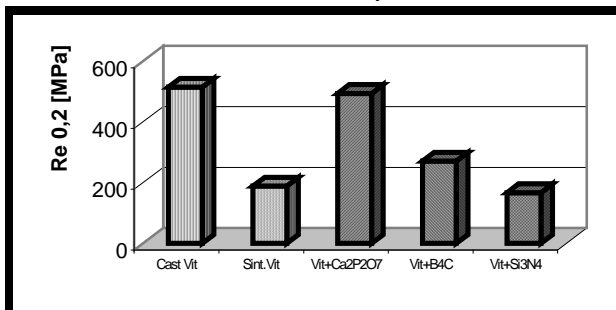
On the basis of friction results analysis it can be stated. The best results were achieved for the composite with 5% addition of HAP: the friction coefficient was decreased 3 times in comparison to the non-modified material.

The analysis of achieved results shows that the influence of used additions on the tribological properties of sintered Co-Cr-Mo alloys was different. Materials of relative density of 60% were obtained. In the case of composite with calcium pyrophosphate the improving of sinter condensation was observed (FIG. 1). Research of microstructure and microhardness of materials along the axis of the samples does not demonstrate the anisotropy of the structure, only just under the surface a minimal decrease of porosity and the increase of material microhardness can be



RYS. 1. Wpływ dodatków modyfikujących na zagęszczenie spieków ze stopu Co-Cr-Mo.
FIG. 1. The influence of modifying additions on compactibility of Co-Cr-Mo-alloy based composite.

mikrotwardość materiałów wzdłuż osi próbek nie wykazują anizotropii struktury, jedynie tu pod powierzchnią można zaobserwować nieznaczne zmniejszenie porowatości i wzrost mikrotwardości materiału. Największą mikrotwardość



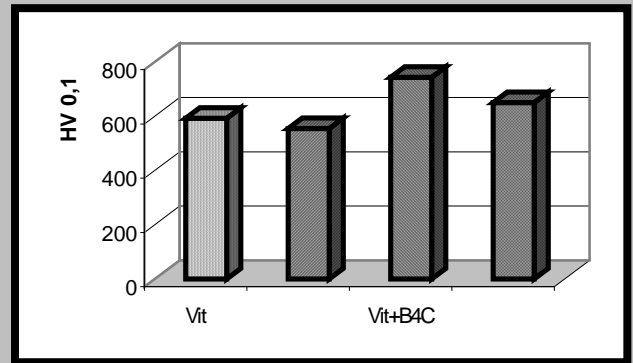
RYS. 3. Wyniki badania umownej granicy plastyczności Re_{0,2} kompozytów na bazie stopu Co-Cr-Mo.
FIG. 3. Yield strength Re_{0,2} results of Co-Cr-Mo-alloy based composite.

uzyskano dla kompozytu modyfikowanego w gliku boru (RYS. 2).

Na RYSUNKU 3 przedstawiono wyniki badania umownej granicy plastyczności Re_{0,2} kompozytów na bazie stopu Co-Cr-Mo w porównaniu z analogicznym stopem litym. Jak widać z zestawienia właściwości mechanicznych spieków znacznie odbiegają od litego materiału. Jedynie zastosowanie pirofosforanu wapnia spowodowało istotny wzrost wytrzymałości kompozytu - uzyskano materiał o właściwościach zbliżonych do litego stopu. Wykonane badania tarcia nie potwierdziły korzystnego wpływu zastosowanych dodatków na właściwości tribologiczne spieku kobaltowego. Opory ruchu mierzone podczas tarcia kompozytu z pirofosforanem wapnia były zbliżone do wartości uzyskanych dla niemodyfikowanego spieku Co-Cr-Mo (RYS.4). W przypadku kompozytów modyfikowanych w gliku boru i azotkiem krzemu zaobserwowano wzrost współczynników tarcia.

Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że spośród badanych materiałów najlepszą właściwością wykazuje kompozyt na bazie stopu Co-Cr-Mo z 10% dodatkiem pirofosforanu wapnia, zapewniając dobrą zagęszczenie spieku oraz znaczne poprawy właściwości me-

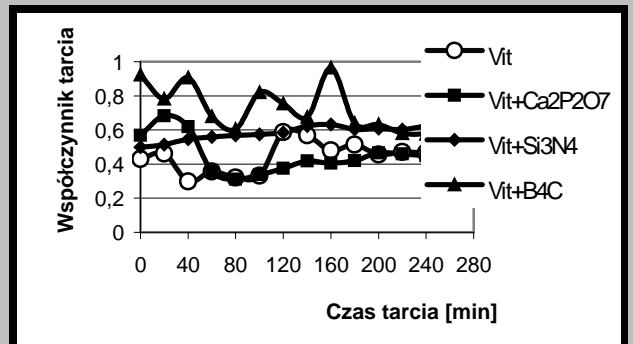


RYS. 2. Wpływ dodatków modyfikujących na mikrotwardość spieków ze stopu Co-Cr-Mo.
FIG. 2. The influence of modifying additions on microhardness of Co-Cr-Mo-alloy based composite.

observed. The highest value of microhardness was obtained for composite with boron carbide (FIG. 2).

The results of yield strength Re_{0,2} of Co-Cr-Mo alloy based composite are presented on FIGURE 3 in comparison with cast Vitalium alloy. On the ground of obtained results it can be declared that the mechanical properties of sintered materials are worse than cast alloy. Only the addition of calcium pyrophosphate significantly improved mechanical properties of composite. The value yield strength was comparable with the ones obtained for cast Vitalium alloy.

The friction results analysis did not confirm a good influence of used additions on composites tribological properties. The movement resistance during friction of composite with Ca₂P₂O₇ were close to results obtained for the non-modified material (FIG. 4). The addition of boron carbide and silicon nitride caused the worsening of friction conditions. The effect of increasing friction coefficient during the tests was observed in a case of composite modified with B₄C and Si₃N₄.



RYS. 4. Wpływ modyfikatorów na właściwości tribologiczne kompozytu.
FIG. 4. The influence of additions on tribological properties of composite.

Conclusion

On the ground of obtained results it can be declared that the sintered Co-Cr-Mo-alloy with 10% addition of calcium pyrophosphate has the best properties among materials researched, which ensures good material condensation as well as significant improvement of mechanical properties in comparison with non-modified material. Further research should be conducted for this composite in order to evaluate

chanicznych w porównaniu z materiałem niemodyfikowanym. Dalsze badania powinny być przeprowadzone w celu optymalizacji właściwości tribologicznych tego kompozytu.

Metallurgia proszków oferuje interesujące rozwiązania technologiczne w zakresie otrzymywania nowych materiałów implantacyjnych. Kontrolowana porowatość oraz możliwość konstruowania praktycznie dowolnych tworzyw kompozytowych, stanowi podstawowe atuty tej techniki wytwarzania, w tym również w kontekście wymogów biofunkcjonalności stawianych implantom dokostnym.

Podziękowania

Praca finansowana w ramach projektu KBN nr PBZ-082/T08/2002. Autorzy pragną wyrazić wdzięczność studentowi Wydziału Mechanicznego Politechniki Białostockiej, panu Bogdanowi D. browskiemu za udział w realizacji badań.

Piśmiennictwo

- [1] Balcerowiak W., Otwinowski J., Pawelec A.: Analiza przyczyn przedwczesnego zużycia polietylenowych panewek endoprotezy stawu biodrowego. In: *ynieria Biomateriałów*, 9, (2000), s.14-17.
- [2] Gierzyńska-Dolna M.: Problemy tribologiczne w endoprotezoplastyce. In: *ynieria biomateriałów*, 1, (1997).
- [3] Gierzyńska-Dolna M., Krzesiński G., Lacki P., Adamus J.: Aspekty materiałowe i tribologiczne doboru materiałów na endoprotezy stawu biodrowego, *Materiały I Sympozjum IOiP, Białystok 1997*, s. 81-87.

WPLÝW EFEKTU GIÓCIA NA ZACHOWANIE STOPU TYTANU Ti6Al4V W BADANIACH IN VITRO

EL BIETA KRASICKA-CYDZIK, AGNIESZKA KIERZKOWSKA

UNIwersytet Zielonogórski,

UL. PODGÓRNA 50, 65-246 ZIELONA GÓRA

[In: *ynieria Biomateriałów*, 38-43, (2004), 53-56]

Wstęp

Mechaniczne odkształcenie materiału wywołuje zmiany w elektrochemicznym zachowaniu warstw powierzchniowych na implantach metalowych, powodując zmiany podatności tych materiałów na korozję lokalną. Naprężenia ciskające zmniejszają podatność [1, 2], podczas gdy naprężenia rozciągające [3] zwikszej podatność odpornej na korozję stali austenitycznej do powstania naprężeń i korozji w erozji. Skład chemiczny warstw pasywnych zależy od rodzaju (ciśnienie lub rozciąganie) i poziomu naprężenia [4]. Okazuje się również, że niski poziom naprężenia może doprowadzić, w pewnych elektrochemicznych warunkach, do wzrostu zdolności pasywowanej warstwy do ochrony podłoża przed korozją. Szereg czynników, obejmujących strukturę, rozkład dyslokacji i właściwości warstwy pasywnej może przyczynić się do wyjaśnienia zmian zachodzących we właściwościach elektrochemicznych warstw. Wiedza o mechanizmach i zachowaniu anodowanych ma-

the optimal tribological parameters.

Powder metallurgy offers interesting technological solutions in the range of new implant materials acquiring. The controlled porosity and the possibility of constructing practically any new composite materials determine the basic advantages of this manufacturing technique, also important in the context of biofunctionality demands put to bone implants.

Acknowledgements

The work was supported by the State Committee of Scientific Research No PBZ-082/T08/2002. Authors wish to express appreciation to Bogdan D. browski, a student of the Białystok Technical University for his participation in researches.

References

- [4] Gródzka-Dahlke M., D. browski J.R.: Ocena wpływu dodatków modyfikujących na właściwości tribologiczne kompozytu na bazie celulozy. In: *ynieria Biomateriałów*, nr 30-33 (2003), s. 41-43.
- [5] D. browski J.R., Oksiuta Z.: Porowaty materiał implantacyjny z proszku stopu typu Vitalium, In: *ynieria Materiałowa*, 4, (2000) s. 174-179.
- [6] Smithells C.J.: *Metals Reference Book*, BUTTERWORTHS, London & Boston 1976.

THE EFFECT OF BENDING ON THE ELECTROCHEMICAL BEHAVIOUR OF Ti6Al4V ALLOY IN VITRO

ELZBIETA KRASICKA-CYDZIK, AGNIESZKA KIERZKOWSKA

UNIVERSITY OF ZIELONA GÓRA,

UL. PODGÓRNA 50, 65-246 ZIELONA GÓRA

[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 53-56]

Introduction

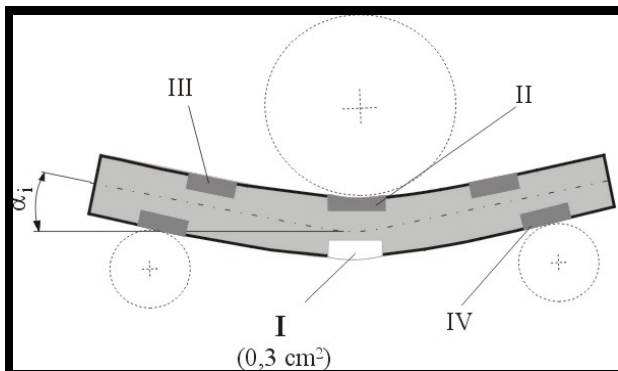
Mechanical deformation induces changes in the electrochemical behaviour of surface layer on implant metals, which may change the local corrosion susceptibility of these materials. Compressive stresses improve [1, 2], whereas tensile stresses worsen [3] the stress corrosion cracking and pitting resistance of austenitic SS. The composition of passive films formed depends on the nature (compression or tension) and level of stresses [4]. Several assumptions, including structure, distribution of dislocations and properties of the passive film, may be proposed to explain changes in the electrochemical properties of surface layer. Knowledge of these mechanisms is of a great importance in order to define electromechanical parameters leading to the best performance of bio-metals in vivo. Only a few workers [5, 6] have attempted to analyze the effects of a mechanical deformation on the behaviour of anodic passive films on titanium alloys in Ringer's solution. In the present paper, the influence of bending, which is applied in

teriałów w badaniach in vitro jest istotna do zdefiniowania elektrochemicznych parametrów, prowadzących do uzyskania najbezpieczniejszych bio-wyrobów.

Niewielu autorów [5, 6] analizowało skutki mechanicznej deformacji na zachowanie anodowych warstw pasywnych stopów tytanu w roztworze Ringera. W pracy przedstawiono badania wpływu trwałych odkształceń plastycznych, które bardzo często mają miejsce w chirurgicznych procedurach operacyjnych, na zachowanie i własności warstw stopu Ti6Al4V w roztworze Ringera.

Badania

Gięcia oraz badania elektrochemiczne były prowadzone na stopie tytanu Ti6Al4V (skład chemiczny: C: 0,08 wt.%, O: 0,2, H: 0,015, V: 3,95, Al: 6,20, pozostałe pierwiastki



RYS. 1. Strefy zmian powierzchniowych wynikających z gięcia próbek: I - max. rozciągania (wyeksponowana do badawczego roztworu), II - max. ściskania i zgniotu, III - ściskania, IV - rozciągania i zgniotu.
FIG. 1. Zones of surface changes due to bending: I-max tensile (exposed to electrolyte), II-max compressive and cold working, III-compressive, IV-tensile and cold working stresses.

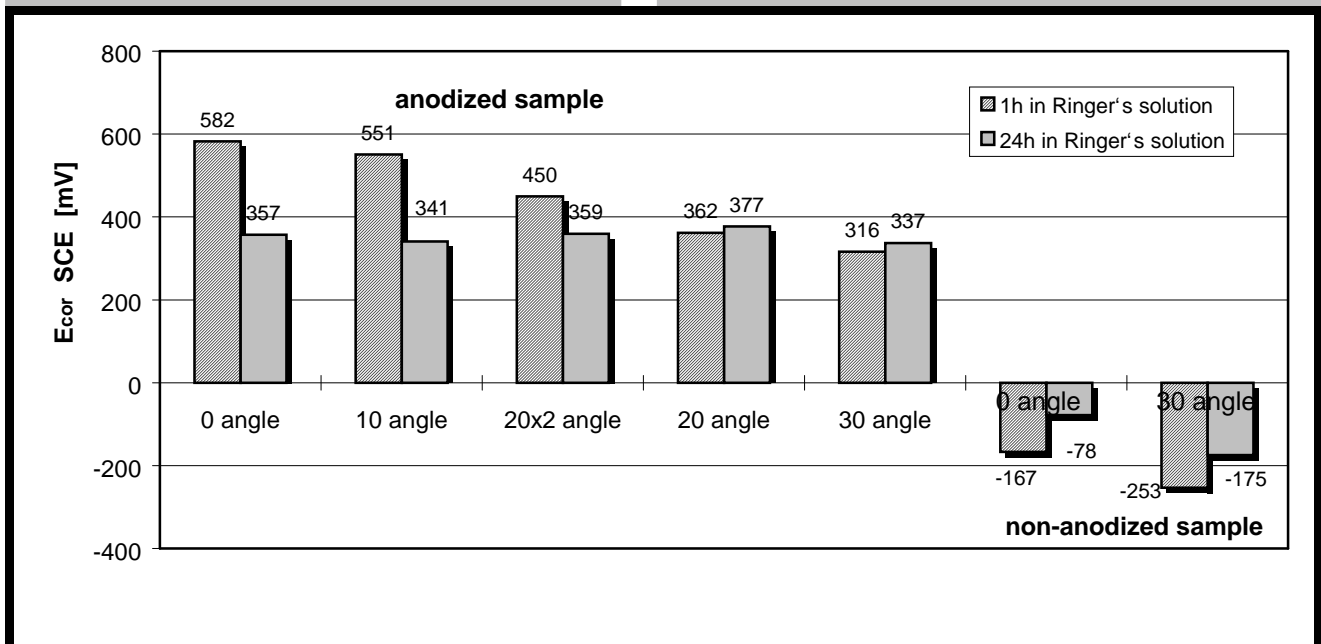
many surgical procedures, on the behaviour and properties of anodic layers on Ti6Al4V alloy in Ringer's solution is investigated.

Experimental

Bending and electrochemical experiments were performed on the Ti6Al4V alloy (chemical composition: C: 0,08 wt.%, O: 0,2, H: 0,015, V: 3,95, Al: 6,20, other elements 0,3, Ti: balance) specimens of 6 mm diameter, 40 mm long with a circular cross-section. Samples were mechanically polished by using emery papers and anodized according to [8]. The anodic film on chemically pretreated samples was formed by applying 60 V dc for 900 s vs. titanium cathode in 0.5 M H_3PO_4 solution. Bending was performed (with angles of 10°, 20°, 30° and twice 20°) according to PN-EN-ISO 7438-2002 in analogy to surgical procedures. Specimens were coated with a lacquer and only the upper area (I) of an area 0.3 cm² was exposed to Ringer's solution (FIG. 1). An ATLAS 9831 electrochemical interface was used to perform potentiodynamic and impedance measurements of samples immersed in Ringer's solution pH7,2. The counter-electrode was a platinum plate and the reference electrode was a saturated calomel electrode (SCE). Electrochemical impedance measurements (EIS) were performed after 1 h, 24 h and 37 days h at 105,0,18 Hz, whereas the potentiodynamic scan of 3 mVs⁻¹ was applied in the anodic direction up to 5.5 V (SCE). Roughness measurements (PN-EN ISO 4287) and SEM observations were carried out with profilograph ME 10 Zeiss Jena and scanning microscope JSM 5600 with ESD facilities, respectively. All the experiments were performed at least twice, in order to verify the reproducibility of the results.

Results

The increase of bending angle influences the roughness parameters, for instance Rz increases from 1.12 mm for angle 0° to 1.28 mm for angle 10° and 1.55 mm for 20°. The



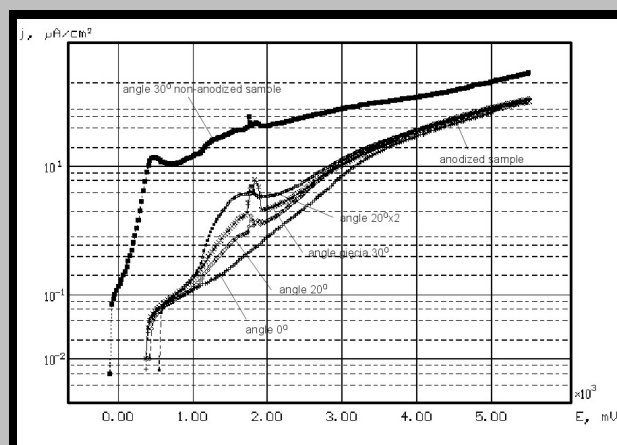
RYS. 2. Potencjał korozyjny E_{corr} próbek stopu Ti6Al4V po 1 godzinnym i 24 godzinnym przebywaniu w roztworze Ringera.
FIG. 2. Corrosion potential E_{corr} values for the samples of Ti6Al4V alloy after 1h and 24 h of immersion in Ringer's solution.

0,3, Ti: reszta) o przekroju kołowym o 6 mm i długości 40 mm. Próbki polerowano mechanicznie, a następnie anodowano według [7]. Warstw anodów formowano w 0,5 M roztworze H_3PO_4 przy napięciu 60 V, w czasie 900 s. Gięcia (określenia 10°, 20°, 30° i 2 × 20°) wykonano wg PN-EN ISO 7438-2002 z zachowaniem analogii do sposobu kształtowania próbek podczas operacji chirurgicznych. Próbki pokrywano lakierem w celu wyekspozycji do roztworu Ringera tylko strefy I o powierzchni 0,3 cm² (RYS.1). Badania potencjodynamiczne i impedancyjne na próbkach zanurzonych w roztworze Ringera (pH7,2) przeprowadzono z wykorzystaniem zestawu ATLAS 9831 z platynowymi elektrodami pomocniczymi i nasyconymi elektrodami kalomelowymi (NEK) jako elektrodami odniesienia. Elektrochemiczne pomiary impedancyjne (EIS) były wykonane po 1h, 24 h i 37 dniach, przy czym stężenie było w zakresie od 105 Hz do 0,18 Hz. Polaryzacje prowadzono w kierunku anodowym do potencjału 5,5 V (NEK), przy szybkości skaningu 3 mVs⁻¹. Pomiary chropowatości wg PN-EN ISO 4287 oraz analizy mikroskopowej (SEM i EDS) wykonano przy użyciu odpowiednio: profilografometru ME10 firmy Carl Zeiss Jena oraz mikroskopu skaningowego JSM 5600 z przystawką do mikroanalizy. Wszystkie eksperymenty przeprowadzono dwukrotnie, w celu sprawdzenia powtarzalności wyników.

Wyniki

Zwiększenie kąta gięcia wpływa na podwyższenie parametrów chropowatości, na przykład Rz=1,12 μm dla kąta 0°, Rz=1,28 μm dla kąta 10° i 1,55 μm dla kąta 20°.

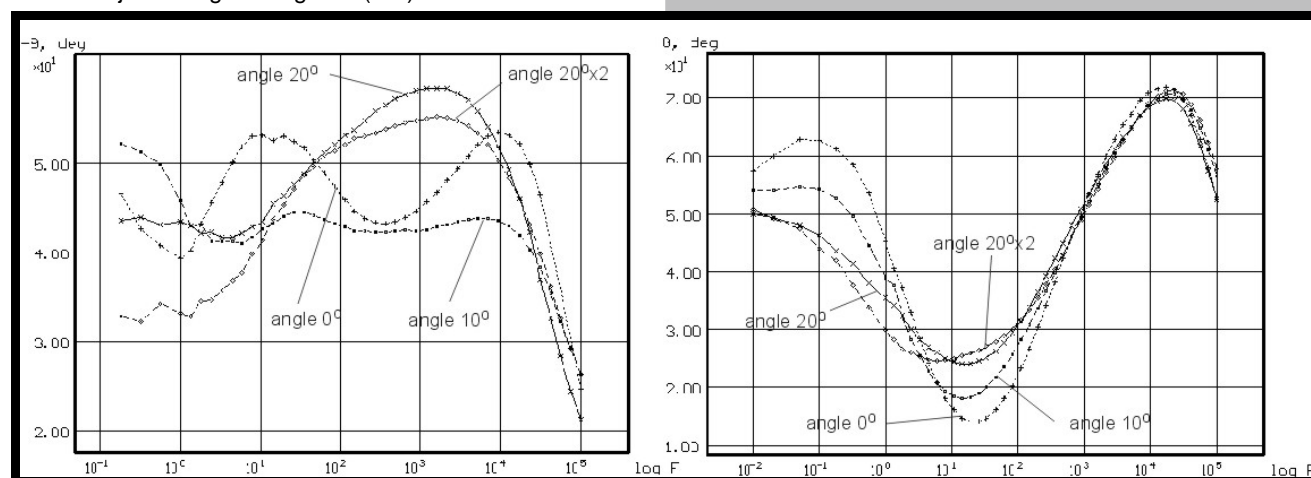
Pomiary potencjałów korozyjnych E_{kor} (RYS.2), badania potencjodynamiczne (RYS.3) i impedancyjne (Rys.4) były wykonane na próbkach anodowanych i nie anodowanych, giętych i nie giętych, giętych jednokrotnie i dwukrotnie przeginanych. Wyznaczenie wartości potencjałów korozyjnych E_{kor} i krzywych polaryzacyjnych dla próbek anodowanych i nie anodowanych miało na celu określenie zachowania próbek w zakresie pasywności. Próbka nie anodowana (RYS. 2) charakteryzowała się niskim E_{kor} @ -100 mV (NEK) oraz występowaniem pików zakresu przejściowego (~400 mV NEK), zwiększonego z jej utlenianiem. Wartości E_{kor} po 1h od zanurzenia w roztworze Ringera dla próbek anodowanych uzależnione były od kąta gięcia, podczas gdy po 24h wartości E_{kor} wyrównywały się i mieściły w zakresie od 340 mV dla największego kąta gięcia (30°) do 370 mV dla kąta



RYS. 3. Anodowe krzywe polaryzacyjne dla próbek anodowanych i nie anodowanych, w stanie nieodkształconym oraz po odkształceniu przez gięcie.

FIG. 3. Anodic polarization curves for anodized and non-anodized Ti6Al4V samples, non-deformed and deformed by bending.

OCP immersion (FIG.2), potentiodynamic (FIG. 3) and EIS measurements (FIG.4) were performed on specimens anodized and non-anodized, non deformed and deformed by bending. The corrosion potential values E_{cor} and potentiodynamic curve were determined on the anodized specimens at a scanning rate of 0,3 mVs⁻¹ in order to determine the potential range corresponding to the passivity and to test their behaviour in this range. Non-anodized sample (Fig. 2) characterised by low E_{cor} @ -100 mV SCE and the active-passive transition peak at ~400 mV SCE, which indicates the sample oxidation. 1 hour after immersion in Ringer's solution the anodized specimens adopt corrosion potential values E_{cor} , dependent on bending angle, whereas after 24 hours they reach E_{cor} ranging from +340 mV for the highest angle (30°) to 370 mV (SCE) for the angle 20° and twice bent specimens. The lower values of corrosion potential as the bending angle increases, prove the breaking of anodic layer, and the presence of microcracks of the alloy. During immersion in Ringer's solution the samples reach the same level of corrosion potential values, which



RYS. 4. Diagramy Bode'a $-Z'' = f(\log F)$ dla anodowanych próbek stopu Ti6Al4V, nieodkształconych i odkształconych plastycznie: a) po jednym dniu, b) po 37 dniach w roztworze Ringera.

FIG. 4. Bode diagrams $-Z'' = f(\log F)$ for anodized samples of Ti6Al4V alloy deformed and non-deformed by bending: a) after 1 and b) 37 days of immersion in Ringer's solution.

20° i podwójnie gi tej próbki. Ni sze warto ci potencjału korozyjnego próbek w miar zwi kszania k ta gi cia, wiadcz o naruszeniu spoisto ci anodowej warstwy wierzchniej, odkryciu podło a, ale tak e o wyst pieniu mikrop kni . W trakcie przechowywania próbek w roztworze Ringera dochodzi do wyrównywania E_{kor} , co wskazuje na proces pokrywania powierzchni próbek warstw substancji jednorodnych chemicznie. Wy sze warto ci E_{kor} wskazywane przez próbki gi te po zanurzeniu mog sugerowa korzystne oddziaływanie zniekształconej warstwy wierzchniej na proces pokrywania powierzchni próbki składnikami roztworu Ringera. Jak pokazano na rys. 3, wszystkie próbki wykazuj stan pasywny w całym zakresie zastosowanego potencjału - od 400 mV do 5,5 V NEK. Przy wi kszych odkształceniach krzywe polaryzacyjne charakteryzuj si wy szymi g sto ciami pr dów pasywnych oraz wyst powaniem pików wiadcz ych o wydzielaniu tlenu (przy 1,8 V NEK) [8]. Analiza diagramów Bode'a (RYS. 4) wskazuje na zmiany zachodz ce w warstwie w skutek odkształce zwi zanych z gi ciami. Dla mniejszych k tów gi cia 10° otrzymano wykresy Bode'a z dwiema stałymi czasowymi (dwupoziomowa struktura warstwy) (RYS.4a), natomiast dla wyszych k tów (20° i 2'20°) krzywe z jedn stał czasow . Jednak e po 37 dniach przechowywania w roztworze Ringera, wszystkie próbki wykazuj t sam charakterystyk (RYS.4b).

Wnioski

Rezultaty bada dowodz , e odkształcenie przez zginanie prowadzi do podwy szenia chropowato ci i g sto ci pr du pasywnego, obni enia potencjału korozyjnego oraz zmiany charakterystycznej dwu-poziomowej struktury warstwy na powierzchni anodowanego stopu Ti6Al4V. Zmiany towarzysz ce odkształceniom przy k cie zginania ł 20° wiadcz o wyst powaniu mikrop kni i przerwaniu ci - gło ci warstwy anodowej, co pierwotnie powoduje pogorszenie wła ciwo ci ochronnych warstw. W trakcie przechowywania w roztworze Ringera anodowane próbki stopu Ti6Al4V odzyskuj dwu-poziomow struktur i wykazuj du oporno warstw powierzchniowych w wyniku wydzielania hydroksyapatytu, co potwierdzono w obserwacjach SEM i analizie EDS. Wst pne wyniki bada wskazuj , e plastyczne odkształcenia wywołane gi ciami wywieraj korzystny wpływ na proces wydzielania hydroksyapatytu na anodowanych w roztworze H_3PO_4 próbkach stopu Ti6Al4V.

suggest the covering of the samples surface with the homogeneous chemical layer. The higher values of corrosion potential observed after immersion in Ringer's solution may suggest the advantageous effect of the deformation on the process of deposition of electrolyte components on the surface of the material. As shown in FIG. 3, in Ringer's solution the passive region lies from about +400 mV NEK in the whole applied potential range. At higher deformations the polarization curves are characterized by higher passive densities currents and peaks linked to oxygen evolution at 1.8 V SCE [8].

As can be seen in FIG.4a curves of Bode diagram change due to mechanical deformation. Two time constant curves obtained for bending angles 10° change into curves with one time constant for bigger angles, 20° and 2'20°. However, after 37 days in Ringer solution all samples show the same impedance characteristics (FIG. 4b).

Conclusions

The results indicate, that mechanical deformation (bending) leads to the increase of roughness parameters and passive current density, the decrease of corrosion potential and to a change of the characteristic two layered structure of anodic film on Ti6Al4V alloy. The phenomena accompanying the deformation at the bending angle ł 20° confirm the presence of microcracks and the breaking of anodic layer, which initially worsen the protective properties of surface layer. However, in Ringer's solution the surface layers of Ti6Al4V alloy samples regain the two-layer structure and show the high corrosion resistance as result of hydroxyapatite deposition, confirmed by SEM and EDS investigations. Preliminary experiments indicate that mechanical deformation enhances the deposition of hydroxyapatite on the Ti6Al4V alloy anodised in H_3PO_4 solutions and the investigations on the mechanism of this process are in progress.

Pi miennictwo

- [1] Y. Sano, N. Mukai, K. Okasaki, Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res. B 121 (1997) 432.
- [2] P. Peyre, X. Scherpereel, L. Berthe, Mater. Sci. Eng. A 280 (2000) 294.
- [3] V. Vignal et al., Corrosion Science 44 (2002) 1477-1496 1481.
- [4] F. Navai, O. Debbouz, J. Mater. Sci. 34 (1999) 1073.

References

- [5] J. Marciniak, W. Chrzanowski, J. ak, In ynieria Biomateriałów, 30-33 (2003) 55-58.
- [6] J.R. Goldberg, J.L. Gilbert, Biomaterials, 25 (2004) 851-864.
- [7] E. Krasicka-Cydzik, Patent PL 185176, 2003, Uniw. Zielonogórski, LfC z o.o. Zielona Gora.
- [8] F. Di Quatro, S. Piazza, C. Sunseri, Electrochem. Acta, 35 (1990) 99.

BIOAKTYWNO POWIERZCHNI STOPÓW TYTANU PODDANYCH UTLENIANIU ANODOWEMU W H_3PO_4

EL BIETA KRASICKA-CYDZIK, IZABELA GŁAZOWSKA,
MARIUSZ MICHALSKI

UNIWERSYTET ZIELONOGÓRSKI,
UL. PODGÓRNA 50, 65-246 ZIELONA GÓRA, POLSKA

[Inżynieria Biomateriałów 38-43, (2004), 57-59]

Wstęp

Pasywne warstewki na stopach tytanu składają się głównie z amorficznego dwutlenku tytanu [1], lecz gdy formują się w roztworach kwasu fosforowego, wykazują silną adsorpcję anionów fosforanowych [2, 3]. W ten sposób, anodowanie w kwasie fosforowym pozwala na wbudowanie biologicznie ważnych jonów fosforanowych do warstwy tlenku tytanu [4]. Bioaktywne i biogodne względem tkanki [5] warstwy powierzchniowe pobudzają proces wrastania kości, są wysoko oceniane w zastosowaniach biomedycznych. Anodowanie stosowano do wytworzenia warstw fosforanu wapnia na implantach metalicznych w elektrolicie zawierającym wapń i/lub fosforany [6, 7]. Anodowe utlenianie stopów tytanu w kwasie fosforowym wytworzyłoby na ich powierzchniach anatazy i/lub rutyl wzbogacony fosforanami, które byłyby zdolne do tworzenia apatytu. W pracy przedstawiono wpływ anodowego utleniania w roztworach H_3PO_4 na strukturę i zdolność formowania apatytu na implantowych stopach tytanu.

Badania

Eksperymenty prowadzono w naczyniu z 3 elektrodami: nasyconym kalomelowo jako elektrodą odniesienia (NEK) i platynową elektrodą pomocniczą. Badano wypracowane okręgi (6 mm r., 20 mm dł.) z tytanu (a) i stopów tytanu Ti6Al7Nb i Ti6Al4V (a+b) [8-10]. Próbkę szlifowaną, odtłuszczaną w acetonie i płukaną w wodzie destylowanej, były galwanostatycznie anodowane w 2 M H_3PO_4 przy gęstości prądu 0,5 Am^{-2} w ciągu 600 s. Analizę impedancyjną (EIS) prowadzono po 1 h, 2 i 9 dniach przechowywania próbek w roztworze Ringera, w temperaturze pokojowej przy zakłóceniu prądu zmiennym 10 mV o częstotliwości od 105 Hz do 0,18 Hz, nakładanym na potencjał korozyjny E_{kor} (NEK). Wszystkie testy elektrochemiczne powtarzano trzy razy. Badania mikroskopowe (SEM) warstw powierzchniowych próbek po 9 dniach w roztworze Ringera wykonywano przy użyciu mikroskopu skaningowego typu JSM 5600 (15 kV), z przystawką EDS.

Wyniki

Diagramy Bode'a (RYS. 1) pokazują znaczne zmiany struktury warstw na próbkach Ti i jego stopów oraz wskazują, że pojemność elektryczna próbek rośnie w trakcie przechowywania przez 9 dni w roztworze Ringera. Wykresy Bode'a z jednym przebiegiem (jednym stałym czasem) obser-

BIOACTIVITY OF TITANIUM ALLOYS SURFACE PREPARED BY ANODIC OXIDATION IN H_3PO_4

ELZBIETA KRASICKA-CYDZIK, IZABELA GŁAZOWSKA,
MARIUSZ MICHALSKI

UNIVERSITY OF ZIELONA GÓRA,
UL. PODGÓRNA 50, 65-246 ZIELONA GÓRA, POLAND,

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 57-59]

Introduction

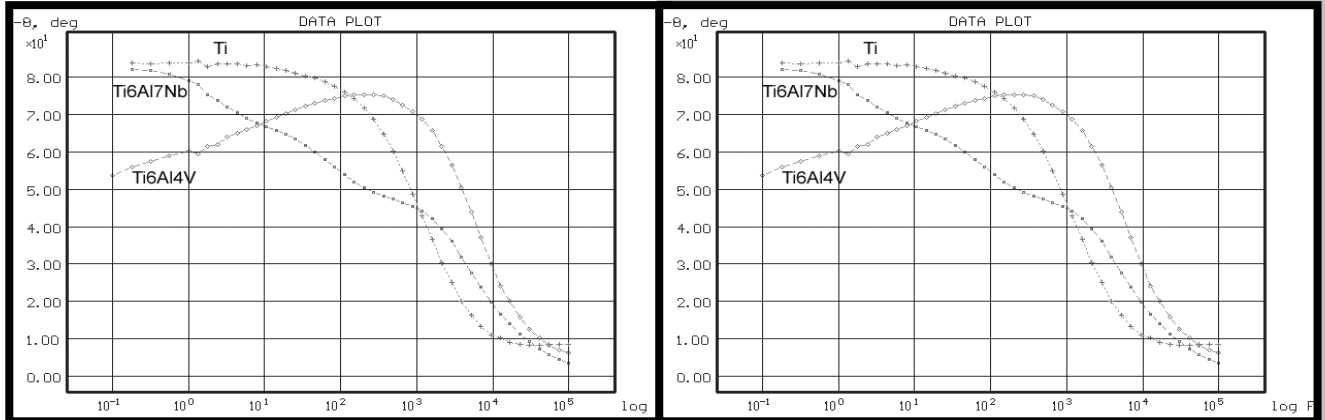
The passive films on titanium alloys consist mainly of amorphous titanium dioxide [1], but when formed in phosphoric acid solutions, they exhibit strong adsorption of phosphate anions [2, 3]. Thus, the anodising in phosphoric acid solutions can lead to incorporation of biologically important species, e.g. phosphate ions into the oxide layer [4]. Bioactive in a biological environment and compatible to tissue surface layers [5], inducing the in-growth of bone, are highly desirable for medical implants. Anodic oxidation was employed to produce calcium phosphate coatings on metallic implants in calcium and/or phosphate-containing electrolyte [6, 7]. Anodic oxidation of titanium alloys in phosphoric acid electrolytes would produce anatase and/or rutile on their surfaces enriched with phosphates, which might possess high apatite-forming ability. This paper presents the effect of anodic oxidation in H_3PO_4 solutions on the structure and the apatite-forming ability of the implant titanium alloys.

Experimental

The experiments were performed in a three-electrode cell, with the saturated electrode calomel (SCE), as a reference and a platinum foil as a counter electrode. The working electrodes were annealed round rods (6 mm of dia., 20 mm long) of a phase titanium and Ti6Al4V, Ti6Al7Nb (a+b) alloys [8-10]. The specimens abraded with silica papers, degreased in acetone and rinsed with redistilled water, were anodised galvanostatically in 2 M H_3PO_4 at 0.5 Am^{-2} current density for 600 s. EIS analysis was conducted after 1 h, 2 and 9 days in Ringer's solution at room temperature with an ac signal of 10 mV, of frequency from 105 Hz to 0.18 Hz, superimposed to corrosion potential E_{corr} (SCE). In order to obtain the reliable results all electrochemical tests were repeated three times. SEM observations of surface layers of samples after 9 days in Ringer's solution were carried out with JSM 5600 instrument (15 kV) equipped with EDS analyser.

Results

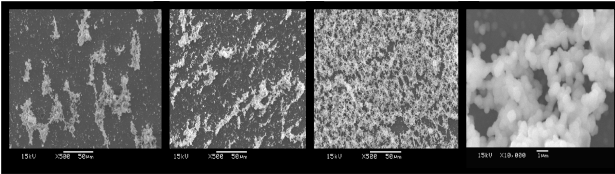
Bode spectra (FIG. 1) show the increased capacitance with time and significant changes of surface layers character on Ti and its alloys samples when immersed for 9 days in Ringer's solution. Bode plots with one peak (one time constant) observed initially for Ti and Ti6Al7Nb, which trans-



Rys.1. Przykłady diagramów Bode'a dla próbek Ti i jego implantowych stopów, anodowanych w H_3PO_4 , rejestrowane podczas zanurzenia w czasie 1 h i 9 dni w roztworze Ringera, 298 K

FIG.1. Examples of Bode spectra for anodised in H_3PO_4 samples of Ti and its implant alloys recorded during immersion for 1 h and 9 days in Ringer's solution at 298 K.

wowane pocz tkowo dla Ti i Ti6Al7Nb, które przechodz



RYS. 2. Mikrofotografie SEM warstw powierzchniowych na anodowanych w 2 M roztworze H_3PO_4 próbkach Ti (a), Ti6Al7Nb (b) i Ti6Al4V (c,d) po 9 dniach zanurzenia w roztworze Ringera, 298 K.

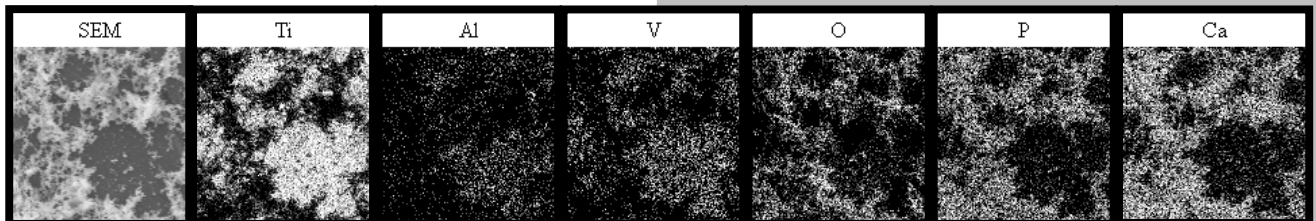
FIG. 2. SEM micrographs of surface layers on anodised samples of Ti (a), Ti6Al7Nb (b) and Ti6Al4V (c,d) after 9 days immersion in Ringer's solution at 298 K.

po 9 dniach w bardziej zło one krzywe, potwierdzaj powstawanie dodatkowej warstwy ponad warstw tlenkow . Wykresy z dwiema stałymi czasowymi (RYS. 1b) zwykle odpowiadaj dwu-warstwie tlenkowej: porowatej na powierzchni i szczelnej wewn trznej, albo mog si odnosi do pojemno ci i rezystancji zaadsorbowanych składników roztworu [11]. Ponadto pocz tkowo, diagramy Bode dla próbek Ti i stopu Ti6Al7Nb (RYS. 1a), pokazuj k ty fazowe -φ wy sze ni - 80°, natomiast dla próbek stopu Ti6Al4V k t fazowy -50°, co w tym ostatnim przypadku wiadczy o prawdopodobnej zawarto ci jonowych składników wbudowanych do tlenku. Badania SEM i EDS (RYS. 2 i 3) ujawniły, e

form after 9 days into more complex curves, confirm the formation of sub-layers over the anodic oxides. Plots with two time constant (FIG. 1b) are usually related to a two-layered oxide consisting of a porous outer oxide and a barrier inner oxide or can be assigned to capacitance and resistance parameters concerned with adsorption of solution species [11]. Moreover, Ti and Ti6Al7Nb alloy samples (FIG. 1a) exhibit at the beginning the Bode plots with phase angles $-\phi$ above -80° , contrary to the Ti6Al4V alloy sample, which shows -50° phase angle, indicating that the surface layer is not entirely dielectric, probably containing ionic species incorporated in the oxide straight after immersion.

SEM and EDS (FIG. 2 and 3) investigations revealed that the surface of titanium and its alloys is covered by the film formed of oxides with globules of Ca-O-P deposits (FIG.3) of diameter varied from 100 to 300 nm, suggesting the heterogeneous nucleation of Ca-O-P on oxides covered surface. At higher magnification it is seen that Ca-O-P deposits merge in large clusters and they are seen in large numbers on both alloys, particularly on Ti6Al4V (FIG. 2).

The previous studies [12-15] showed that the bioactivity of titanium oxides might come from the negative charge on it surface formed in the SBF solution. This charge causes the adsorption of calcium ions, and in turn the adsorption of phosphate ions, which leads to the deposition of hydroxyapatite. Other authors [16] claim, that a certain thickness for titanium oxide was necessary for the bioactivity of this material, which can be obtained under spark-discharge, by the heat treatment or by the increase of the electrolyte concentration. It suggested that a three-dimensional structure of the micro-porous titanium oxide structure might be necessary for the apatite formation on the surfaces. On the basis



RYS. 3. Rozmieszczenie pierwiastków na powierzchni anodowanych w 2 M roztworze H_3PO_4 próbek stopu tytanu Ti6Al4V po 9 dniach zanurzenia w roztworze Ringera, 298 K.

FIG. 3. Distribution of elements on the surface of the anodised in H_3PO_4 samples of Ti6Al4V alloy soaked in Ringer's solution for 9 days at 298 K.

powierzchni tytanu i jego stopów stanowi warstwa uformowana z tlenków oraz kulistych wydzielań Ca-O-P (RYS. 3) o średnicy od 100 do 300 nm, wskazujących na heterogeniczne zarodkowanie Ca-O-P na tlenkach pokrywających powierzchnię. Przy większym powiększeniu ($\times 10000$) jest widoczne, że wydzielenia Ca-O-P zlewają się w duże skupiska, liczne na obu stopach, szczególnie na Ti6Al4V (RYS.2). Wcześniejsze badania [12-15] wykazały, że aktywność biologiczna tlenków tytanu pochodzi z ujemnego ładunku składników warstwy powierzchniowej formowanej w sztucznym roztworze fizjologicznym (SBF). Powoduje on adsorpcję jonów wapnia, a te z kolei jonów fosforanowych PO_4 z roztworu, w celu wytworzenia apatytu na powierzchni. Inni autorzy [16] twierdzą, że dla aktywności biologicznej materiału konieczna jest odpowiednia grubość tlenku tytanu uzyskiwana w warunkach wyładowania iskrowego, lub obróbki cieplnej albo zwiększenie stężenia elektrolitu. To sugeruje, że do budowy apatytu na powierzchni tytanu konieczna jest trójwymiarowa budowa mikroporowatej struktury tlenku tytanu TiO_2 . Na podstawie analizy TF-XRD [16] stwierdzono, że płaszczyzna krystalograficzna (101) rutylu wykazuje dopasowanie do płaszczyzny (0004) hydroksyapatytu, ponieważ parametry rozmieszczenia atomów tlenu w płaszczyźnie (101) są podobne do parametrów rozmieszczenia grup OH- w płaszczyźnie (0004). W trakcie anodowania tytanu w roztworach H_3PO_4 obserwuje się formowanie warstwy tlenkowej TiO_2 z wydzieleniami trudno rozpuszczalnego fosforanu $Ti(HPO_4)_2 \cdot nH_2O$ [17]. Zdolność formowania apatytu na tytanie utlenianym anodowo w roztworach H_3PO_4 uzasadnia dopasowanie tetraedrów wbudowanych do warstwy tlenkowej fosforanów do tetraedrów fosforanów hydroksyapatytu. Podobieństwo strukturalne i chemiczne tytanu i stopu Ti6Al7Nb [17] tłumaczy podobne zachowanie i charakterystykę warstw powierzchniowych na obu materiałach. W przypadku stopu Ti6Al4V większa ilość wydzielonych fosforanów działa indukująco na proces wydzielenia hydroksyapatytu.

Wnioski

Podczas zanurzenia w roztworze Ringera próbek tytanu i jego stopów implantowych, anodowane w 2 M roztworze H_3PO_4 wykazują zróżnicowane wartości pojemności elektrycznej i odmienny przebieg zmian zachodzących na powierzchni materiałów. Różnice w wartościach pojemności, jak również diagramy Bode'a, wskazują różnicę w strukturze i morfologii wydzielań, uzależnionych od typu materiału. Zastosowana metoda może być wykorzystana do pokrywania implantowych stopów tytanu dodatkami, porowatymi warstwami bioaktywnych wydzielań Ca-O-P.

of TF-XRD analysis [16] it was determined that the rutile (101) crystal plane matches the (0004) crystal plane of hydroxyapatite and the parameters of O atoms in crystal plane (101) are similar to the parameters of OH- arrangement in plane (0004). During titanium anodizing in H_3PO_4 solutions the deposition of sparingly soluble $Ti(HPO_4)_2 \cdot nH_2O$ is observed [17]. The ability to form apatite on titanium anodized in H_3PO_4 solutions may be explained by matching of tetrahedra of phosphates incorporated into oxides with the tetrahedra of phosphates in hydroxyapatite. The structural and chemical similarity of titanium and its alloy Ti6Al7Nb may explain the similar behaviour and characteristics of surface layer on both materials. In a case of Ti6Al4V alloy the greater amount of phosphates in the anodic layer enhances the process of hydroxyapatite deposition on this material.

Conclusions

Specimens of titanium and its implant alloys, anodized in 2 M H_3PO_4 solution, show different values of electrical capacitance and diverse changes during immersion in Ringer's solution at room temperature. Changes in capacitance values as well as Bode plots obtained during immersion imply different structure and morphology of deposits on the anodic surfaces, which are dependent on type of the material. The applied method may be used to cover implant alloys with additional porous layer of bioactive Ca-O-P deposits.

Pi miennictwo

References

- [1] J.L. Delplancke and R. Winand, *Eletrochimica Acta*, 33, 11 (1988) 1551-1559.
- [2] C. Sittig, G. Hahner, A. Marti, M. Textor and N. D. Spencer, *J. Mater. Sci.: Mat. in Medicine*, 10 (1999) 191-198.
- [3] C.V. D'Alkaine, L. M. de Souza and F.C. Nart, *Corros. Sci.*, 34, 1(1993)109-49.
- [4] Li Panjian, *J. Am. Ceram. Soc.* 77 (5) 1307-12 (1994).
- [5] K. Hayashi, K. Uenoyama, N. Matsuguchi, Y. Sugioka, *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 25 (1999) 515.
- [6] H. Ishizawa, M. Ogino, *J. Biomed. Mater. Res.*, 1995, 29:65-72.
- [7] H. Ishizawa, M. Ogino, *J. Biomed. Mater. Res.*, 1995;29:1071-9.
- [8] ISO 5832-2. Implants for surgery-Metallic materials. Part 2. Unalloyed titanium.
- [9] ISO 5832-3. Implants for surgery: Wrought titanium-6 aluminium-4 vanadium alloy.
- [10] ISO 5832-11. Implants for surgery: Wrought titanium 6-aluminium 7-niobium alloy.
- [11] K. Azumi, N. Yasui, M. Seo, *Corrosion Sci.*, 42 (2000) 885-896.
- [12] Yang B.C., Weng J., Li X.D., Zhang X.D., *J. Biomed. Mater. Res.*, 1999; 47:213-9.
- [13] Takadama H., Kim H.M., Kokubo T., Nakamura T., *J. Biomed. Mater. Res.*, 2001; 55:185-93.
- [14] Li P.J., Ohtsuki C., Kokubo T., Nakanishi K., Soga N., de Groot K., *J. Biomed. Mater. Res.*, 1994; 28:7.
- [15] Takadama H., Kim H.M., Kokubo T., Nakamura T., *J. Biomed. Mater. Res.* 2001; 57:441-8.
- [16] Yang B., Uchida M., Kim H.-M., Zhang X., Kokubo T., *Biomaterials* 25 (2004) 1003-1010.
- [17] E. Krasicka-Cydzik, *Formowanie cienkich warstw anodowych na tytanie i jego implantowych stopach w środowisku kwasu fosforowego*. Monografia. UZ, Zielona Góra 2003.

MODYFIKACJE POWIERZCHNI SIATECZEK TYTANOWYCH PRZEZNACZONYCH NA IMPLANTY

MAŁGORZATA LEWANDOWSKA*, HALINA GARBACZ*, WOJCIECH FABIANOWSKI**, BEATA POLAK**, MAŁGORZATA LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ***

*POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ;
UL. WOŁOSKA 141, 02-507 WARSZAWA

**POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WYDZIAŁ CHEMICZNY,
UL. NOAKOWSKIEGO 3, 00-664 WARSZAWA

***AKADEMIA MEDYCZNA W WARSZAWIE,
ZAKŁAD BIOFIZYKI I FIZJOLOGII CZŁOWIEKA,
UL. CHAŁUBIŃSKIEGO 5, 02-004 WARSZAWA

Streszczenie

W pracy zastosowano 3 rodzaje modyfikacji powierzchni siateczek tytanowych: trawienie w roztworze "pirania", wodny roztwór dekstranu, wodny roztwór aldehydu glutarowego w połączeniu z wodnym roztworem dekstranu. Powierzchni obserwowano przy użyciu SEM oraz scharakteryzowano jej chropowatość. Wstępna ocena zachowania siateczek w bezpośrednim kontakcie ze wszystkimi badanymi materiałami wskazuje na dobrą tolerancję komórek w stosunku do tytanowych podłoży.

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 60-62]

Wprowadzenie

Wśród grup materiałów stosowanych w biologii i medycynie są metale i ich stopy. Wśród nich najkorzystniejszymi właściwościami charakteryzuje się tytan. Podstawowym jego zaletą są korzystne właściwości mechaniczne i dobra biogodność [1]. Decydujące znaczenie w przypadku reakcji żywych komórek w kontakcie z materiałem ma stan powierzchni, w tym m.in.: jej skład chemiczny oraz chropowatość i topografia. Celem niniejszej pracy jest zastosowanie różnych metod modyfikacji powierzchni siateczek Ti oraz badania ich wpływu na topografię i chropowatość powierzchni w aspekcie wykorzystania w inżynierii tkankowej.

Materiał i metodyka badań

Do badań wykorzystano siateczki firmy Tiomesh wykonane z blachy tytanowej o grubości 0,2 mm stosowane w chirurgii. Rednica oczek w tych siateczkach wynosiła 1 mm. Z siateczki o wymiarach 3x3 cm wycięto próbki w postaci krążków o średnicy 6 mm. Zastosowano 3 rodzaje modyfikacji powierzchni:

- Trawienie w roztworze stężonego H_2SO_4 i 30% H_2O_2 w stosunku objętościowym 1:1 (tzw. roztwór "pirania") przez 4 godziny, RT. Celem tej obróbki było czyszczenie siateczek tytanowych, funkcjonalizacja ich powierzchni poprzez jej

SURFACE MODIFICATIONS OF TITANIUM MESH INTENDED FOR BONE IMPLANTS

MAŁGORZATA LEWANDOWSKA*, HALINA GARBACZ*, WOJCIECH FABIANOWSKI**, BEATA POLAK**, MAŁGORZATA LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ***

*WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING;
WOŁOSKA 141, 02-507 WARSZAWA

**WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, FACULTY OF CHEMISTRY,
KOSZYKOWA 75, 00-662 WARSZAWA

***MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW,
DEPARTMENT OF BIOPHYSICS AND HUMAN PHYSIOLOGY,
CHAŁUBIŃSKIEGO 5, 02-004 WARSZAWA

Abstract

The surface of a titanium mesh was subjected to modification using the three methods: etching in a 'piranha' solution, immersing in a water dextran solution, and immersing in a water glutar aldehyde solution mixed and in a water dextran solution. The surface topography of the mesh (before and after the modifications) was examined in a scanning electron microscope, and its surface roughness was measured. Preliminary observations show that all the materials are well tolerated by the living cells cultured in direct contact with them.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 60-62]

Introduction

Metals and alloys belong to an important group of materials that are used in biology and medicine. Among these materials, commercially pure titanium exhibits advantageous mechanical properties and a good biocompatibility [1]. When a material is in contact with living cells, the condition of its surface (e.g. the chemical composition, topography and roughness) plays the critical role. The aim of the present work was to compare various methods of surface modification of a titanium mesh, and to examine how they affect the surface topography and roughness.

Material and experimental procedure

A titanium mesh (delivered by the Tiomesh) made of a sheet 0.2 mm thick was used in the present study. The diameter of the eyelets was 1 mm. The samples in the form of discs 6mm in diameter were cut off from a 3 x 3 cm mesh. The sample surfaces were modified by the three methods: etching in RT in a mixture of concentrated sulfuric acid and a 30% hydrogen peroxide solution (the vol. ratio = 1:1). This modification was aimed at improving the osteoblast adhesion, cleaning the Ti meshes, oxidizing their surface and introducing hydroxyl groups into it [2].

utlenienie i wprowadzenie grup hydroksylowych [2] oraz polepszenie adhezji osteoblastów.

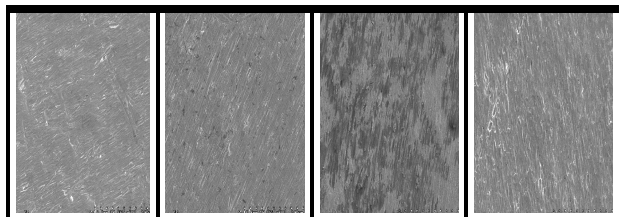
· Wodny roztwór dekstranu o stężeniu 0,05% wag. z poli(kwasem akrylowym) (PAA) (0,05% wag.) z dodatkiem jonów wapnia ($C = 0,01M$) w postaci $Ca(NO_3)_2$, których zadaniem było usieciowanie łańcuchów polisacharydu i PAA. Siateczki tytanowe zostały zanurzone w roztworze na 5 min. Celem tej modyfikacji było polepszenie adhezji osteoblastów na podłożach tytanowych [3].

· Wodny roztwór aldehydu glutarowego ($C_p=5\%$) (GA) i wodny roztwór dekstranu (j.w.). Siateczki tytanowe zostały zanurzone w roztworze GA na 5 min. Nadmiar aldehydu glutarowego został odpłukany wodą dejonizowaną. Następnie siateczki zanurzone na 5 min. w roztworze dekstran/PAA/ Ca^{2+} . Aldehyd glutarowy został zastosowany w celu kowalencyjnego związania łańcuchów dekstranowych z podłożem [3].

Powierzchnie siateczek w stanie wyjściowym i po modyfikacjach obserwowano przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM). Następnie scharakteryzowano chropowatość badanych powierzchni. Do tego celu wykorzystano profilometr uniwersalny firmy BENDIX.

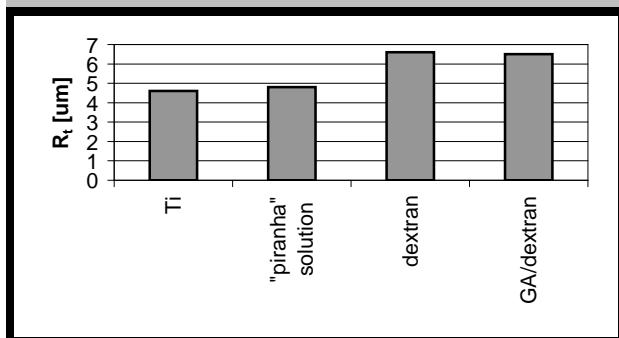
Po sterylizacji radiacyjnej dawką 25 kGy oceniano poddane zachowanie się komórek w kontakcie z badanymi materiałami. Do tego celu użyto komórek izolowanych z ludzkiej tkanki kostnej w pierwszym pasażu. Hodowle prowadzono w warunkach standardowych. Oceniano morfologię komórek przy użyciu w mikroskopie optycznym przez wietlenie oraz po utrwaleniu komórek po 14 dniach od założenia hodowli w SEM.

Wyniki badań



RYS. 1. Obraz powierzchni siateczek tytanowych: w stanie wyjściowym (a), po trawieniu (b), z warstw dekstranu (c), z warstw aldehydu glutarowego (d).

FIG. 1. Surface of the titanium meshes: as-received state (a), after etching (b), with a dextran coating (c), with a GA/dextran coating (d).



RYS. 2. Wartości parametru R_t modyfikowanych i niemodyfikowanych siateczek tytanowych.

FIG. 2. Values of R_t parameter for unmodified and modified surfaces.

· immersing in a water dextran solution (0.05wt.%) and in a water polyacrylic acid (PAA) solution (0.05wt.%) added with calcium ions in the form of the $Ca(NO_3)_2$ salt ($C=0.01M$) in order to crosslink the dextran and PAA molecules. The Ti meshes were immersed in the mixture of the solutions for 5 min. This modification resulted in the osteoblast adhesion to the titanium supports being improved [3].

· immersing in a water solution of glutar aldehyde (GA)(5wt.%) for 5 min (in order to form covalent bonds between dextran and the support [3]), removing the GA excess by washing with DI water and, then, immersing in a dextran/PAA/ Ca^{2+} solution for 5 min.

The surfaces of the meshes in the as-received state and after the modifications were observed in a scanning electron microscope. Then, their surface roughness was measured using a BENDIX profile gauge.

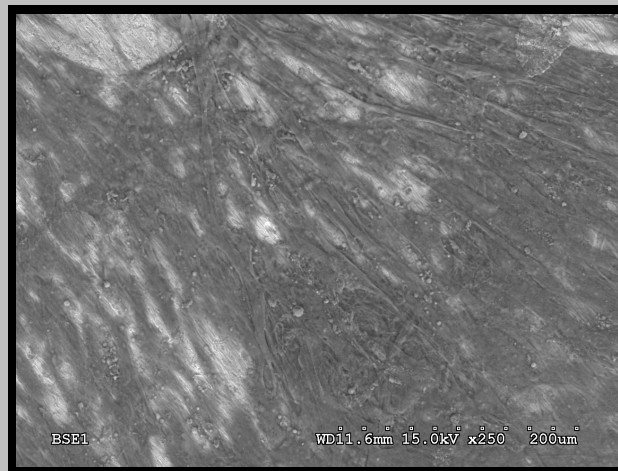
All the samples were sterilized (radiation sterilization, 25 kGy) and then used as the support for living cells (human bone derived cells in the first passage) in vitro. The cells were cultured in direct contact with the titanium meshes under standard conditions. The morphology of the living cells was examined in an inverted microscope, and after 14 days when the cells were fixed - in a SEM.

Results

FIG.1 shows images of the surface of titanium meshes observed in a SEM. In the as-received state (FIG. 1a), we can see characteristic oriented grooves resulting from machining. Etching in the "piranha" solution (Fig. 1b) leads to the formation of micropores on the sample surface. The topography of the polymer coated surfaces (FIG. 1c, d) is similar to that in the as-received state.

One of the important factors affecting the cell behavior in contact with a material is the surface roughness. The roughness measurements have shown that etching does not change significantly the roughness of the surface, whereas the polymer coatings increase the surface roughness. The parameter R_t (FIG. 2) defined as the distance between the peak line and the valley line in the roughness profile illustrates well these changes.

The cells observed in direct contact with titanium meshes, irrespective of whether modified or unmodified, were numerous and well spread. In all the cases their morphology was similar (FIG. 3).



RYS. 3. Obraz komórek na powierzchni siateczki trawionej roztworem "pirania" (SEM).

FIG. 3. Cells on the surface of a mesh etched in the "piranha" solution (SEM).

RYS. 1 przedstawia obraz powierzchni siateczek tytanowych obserwowanych w SEM. W stanie wyjściowym (RYS. 1a) na powierzchni widoczne są charakterystyczne dla obróbki mechanicznej ukierunkowane rysy. Trawienie w roztworze "pirania" (RYS. 1b) spowodowało pojawienie się mikroporowatości powierzchniowej. Powierzchnie pokryte polimerem (RYS. 1c, d) zachowują topografię zbliżoną do stanu wyjściowego.

W tym czynnikiem wpływającym na zachowanie komórek w kontakcie z materiałem jest rozwiniecie powierzchni. Pomiary chropowatości pokazały, że trawienie nie zmienia w sposób znaczący chropowatości powierzchni, natomiast powierzchnie w warstwach polimerów charakteryzują się znacznie większą chropowatością, co dobrze ilustrują zmiany parametru R_a (RYS. 2) definiowanego jako odległość między liniami wzniesienia a liniami wgnębień profilu chropowatości.

W ocenie przyrostowej stwierdzono, że komórki widoczne w oczkach siateczek tytanowych, przylegające do cięciwna materiału, zachowują prawidłową morfologię. Na podstawie obserwacji komórek na powierzchni tytanu we wszystkich analizowanych grupach stwierdzono, że zarówno na powierzchni tytanu niemodyfikowanego jak i na powierzchniach poddanych poszczególnym modyfikacjom widoczne są rozplaszczone komórki o wyglądzie podobnym do komórek w grupie kontrolnej (Rys. 3).

Dyskusja wyników i podsumowanie

Zastosowane modyfikacje poprawiają funkcjonalne parametry powierzchni. Trawienie roztworem "pirania" zmienia topografię powierzchni, ale tak i w jego wyniku powierzchnia zostaje wzbogacona w grupy hydroksylowe [2], które sprzyjają adhezji komórek. Ponadto obróbka ta może doprowadzić do zmian topografii powierzchni tytanu w skali nanometrycznej [4], co przyspiesza osteogenezę w warunkach in-vitro.

Należy one warstwy dekstranu, również zawierające grupy hydroksylowe, wykazują większe rozwiniecie powierzchni, co, jak wiadomo z literatury, sprzyja adhezji komórek [5]. Wstępna ocena zachowania się komórek w bezpośrednim kontakcie ze wszystkimi badanymi materiałami wskazuje na dobrą tolerancję komórek w stosunku do tytanowych podłoży. Dla porównania przeprowadzono również funkcję komórek hodowanych w kontakcie z materiałami o modyfikowanych powierzchniach prowadzone są badania ilościowe.

Podziękowanie

Praca naukowa finansowana ze środków KBN jako zadanie badawcze zamawiane 05/PBZ-KBN-082/T08/2002.

Discussion and summary

The applied modifications improve the functional properties of the titanium mesh surfaces. Etching not only changes the surface topography, but also introduces the hydroxyl groups [2] which improve osteoblasts adhesion. Moreover, this treatment can lead to nanotexturing of the titanium surface, which enhances the in-vitro osteogenesis [4].

The dextran coatings are rich in surface hydroxyl groups and in addition are rougher, which improves the cell attachment to the material [5].

Preliminary qualitative observations of human bone derived cells in direct contact with the surface of the investigated materials show that both the unmodified titanium surface and the surface modified by the methods used in the experiment is well tolerated by living cells. Qualitative measurements of the cell viability and function are required.

Acknowledgement

This work was supported by the State Committee for Scientific Research - Grant No 05/PBZ-KBN-082/T08/2002.

Piśmiennictwo

References

- [1] J. Marciniak: "Biomateriały", Wyd. Pol. I., Gliwice 2002.
- [2] H. Pan, J. Liao, C. Leygraf, D. Thierry, J. Li: J. Biomed. Mater. Res. 40 (1998) 244-256.
- [3] W. Fabianowski, B. Polak, M. Lewandowska-Szumiel: Polimery, 49, (2004), 48-55.
- [4] P. Tambasco de Oliveira, A. Nanci: Biomaterials 25, (2004), 403-413.
- [5] D.D. Deligianni, N. Katsala, S. Ladas, D. Sotiropoulou, J. Amedee, Y.F. Missirlis: Biomaterials 22, (2001), 1241-1251.

WPŁYW CZ STOTLIWO CI PRACY LASERA NA TEKSTUR I NAPR ENIA WŁASNE W WARSTWACH Z HAp OSADZANYCH Z WYKORZYSTANIEM LASERA ArF

W. MRÓZ*, R. MAJOR**, A. PROKOPIUK*, T. WIERZCHO ***,
J. BONARSKI**, K. HABERKO****, B. MAJOR**

*INSTYTUT OPTOELEKTRONIKI, WOJSKOWA AKADEMIA TECHNICZNA,
WARSZAWA

**INSTYTUT METALURGII I IN YNIERII MATERIAŁOWEJ
POLSKIEJ AKADEMII NAUK W KRAKOWIE

***WYDZIAŁ IN YNIERII MATERIAŁOWEJ, POLITECHNIKA WARSZAW-
SKA, WARSZAWA

****WYDZIAŁ IN YNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI;
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 63-65]

Wst p

W chirurgii kostnej wykorzystuje si aktualnie coraz szze-
rej wiele rodzajów materiałów o wła ciwo ciach specjal-
nych. Du a grupa bada ukierunkowana jest na materiały
resorbowalne. Ceramika fosforanu wapnia (CaP) kształtu-
je główny nieorganiczny składnik ko ci i z tego powodu jest
dobrym kandydatem jako materiał do rekonstrukcji ko ci,
u ywany jako wypełniacz do implantów i rusztowanie w in-
ynierii tkankowej [1, 2]. Ponadto, ceramiki CaP s znane
jako materiały tworzące silne i ci głe połączenia z ko ci .
Jednak e nawet najbardziej biozgodny materiał jakim jest
hydroksyapatyt, posiada wady wynikające z krucho ci i małej
szybko ci rozpadu [3]. Implanty poddawane obciążeniom,
nie mog by całkowicie wykonane z hydroksyapatytu, ze
wzgl du na jego wysok krucho . W celu wykorzystania
zalety HAp jak s wysokie właściwości bioaktywne, a po-
mimo jego wad wynikających z krucho ci, u ywany mo e
by jako warstwa na podłożu metalowe [4, 5]. Celem ba-
da była analiza wpływu cz stotliwości pracy lasera na wa-
runki krystalizacji powłoki HAp i rozwijanie w niej tekstur
krystalograficznych oraz generowanie poziomego napr e wła-
snych.

Cz do wiadczalna

Warstwy hydroksyapatytu naniesione zostały laserem
excimerowym ArF ($\lambda = 193 \text{ nm}$). Jako podłożu zastosowano
stop tytanu Ti6Al4V, stosując jego podgrzewanie do tempe-
ratury $650 \pm 70^\circ\text{C}$. Warunki osadzania: HAp na Ti6Al4V z H_2O ;
 $p = 2 \cdot 10^{-1} \text{ mba}$; 5Hz, HAp na Ti6Al4V z H_2O ; $p = 2 \cdot 10^{-1} \text{ mba}$;
20Hz, HAp na Ti6Al4V z H_2O ; $p = 2 \cdot 10^{-1} \text{ mba}$; 50Hz. War-
stwy nanoszono przy zmiennej cz stotliwości pracy lasera,
zachowując stałe inne parametry.

W oparciu o wyniki rentgenowskiej analizy fazowej i ob-
serwację mikroskopem sił atomowych (AFM) stwierdzono,
e wszystkie warstwy posiadały charakter krystaliczny. Jest

INFLUENCE OF LASER FREQUENCY ON THE TEXTURE AND RESIDUAL STRESS IN THE HAp LAYERS DEPOSITED BY ArF LASER

W. MRÓZ*, R. MAJOR**, A. PROKOPIUK*, T. WIERZCHO ***,
J. BONARSKI**, K. HABERKO****, B. MAJOR**

*INSTITUTE OF OPTOELECTRONIC,
MILITARY UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, WARSAW, POLAND

**INSTITUTE OF METALLURGY AND MATERIALS SCIENCE,
POLISH ACADEMY OF SCIENCES, CRACOW, POLAND

***MATERIALS ENGINEERING FACULTY,
WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, WARSAW, POLAND

****FACULTY OF MATERIAL SCIENCE AND CERAMICS,
AGH-UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW,
POLAND

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 63-65]

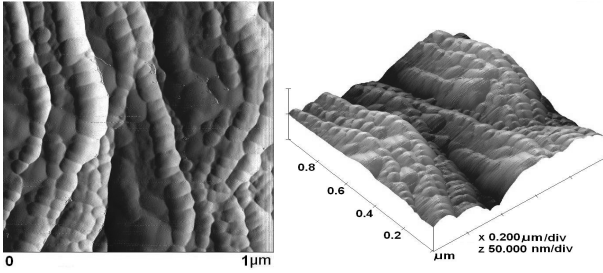
Introduction

Many kinds of special materials are currently used in bone
surgery. Recently, biodegradable materials for bone tissue
have been developed to respond to the requirement. Calcium
phosphate (CaP) ceramics form the major inorganic con-
stituent of bone, and are therefore an obvious candidate to
be used as a bone-bonding biomaterial. Indeed, CaP ce-
ramics are known to form a strong and continuous interface
with bone and exhibits bioactive properties [1, 2]. Even hy-
droxyapatite (HAp), the same as the main inorganic com-
ponent of bone, has disadvantages. Major drawback of CaPs
is their limited fracture toughness and brittleness, thus load
bearing implants cannot be entirely made of HAp [3]. How-
ever, to take profit of the HAp bioactive properties in spite
of its brittleness as a bulk material, it can be applied as
coating on the surface of metallic implants [4, 5]. The goal
of this work was to study the contribution of laser frequency
on the crystallinity of the deposited layer as well as crystallographic
texture and level of residual stress.

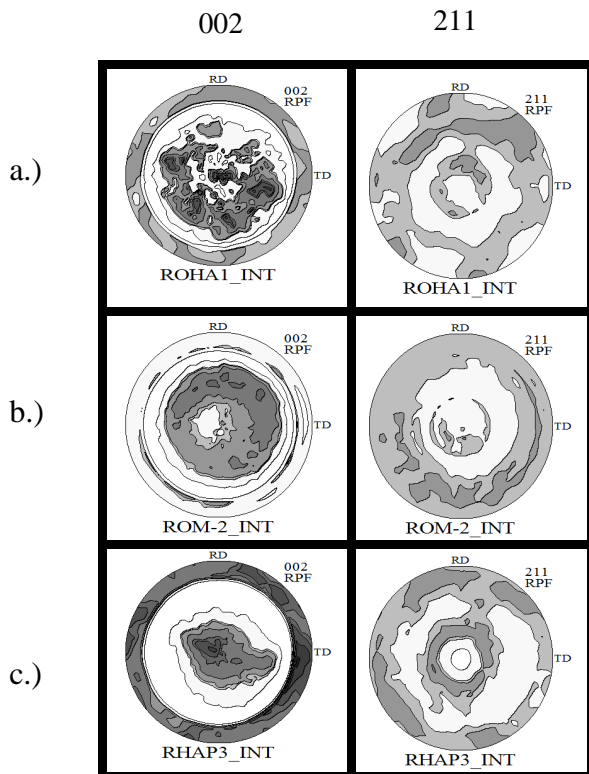
Experimental

Hydroxyapatite (HAp) layers were deposited by means of
the ArF laser ($\lambda = 193 \text{ nm}$) on Ti6Al4V alloy used as a substrate
heated to $650 \pm 70^\circ\text{C}$. Three different laser frequencies were
applied for the hydroxyapatite deposition: HAp on Ti6Al4V
with H_2O ; $p = 2 \cdot 10^{-1} \text{ mba}$; 5Hz, HAp on Ti6Al4V with H_2O ;
 $p = 2 \cdot 10^{-1} \text{ mba}$; 20Hz, HAp on Ti6Al4V with H_2O ; $p = 2 \cdot 10^{-1} \text{ mba}$;
50Hz (all samples were deposited with H_2O ; $p = 2 \cdot 10^{-1} \text{ mbar}$).
On the basis of the X-ray phase analysis and atomic force
microscopy (AFM), it was observed that deposition in H_2O
atmosphere in the reactive chamber led to a crystallized
structure of the layers (FIG. 1).

The texture character as well as residual stress distribution
could inform about the crystallite packing and its homoge-
neity in the layer which strongly influence on biocompatibility.
The ring shape of the pole figures proves the axial charac-
ter of the crystallographic texture. The ideal, central axial
orientation type (001) was calculated and it was revealed



RYS. 1. Topografia powierzchni AFM przedstawiająca krystaliczną warstwę HAp osadzoną z częstotliwością 5 Hz.
FIG. 1. AFM image presenting the crystalline layer deposited at 5 Hz.

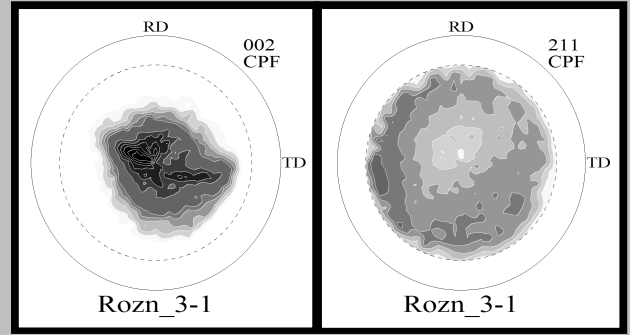


RYS. 2. Figury biegunowe tekstury:
a.) cz. stotliwości 50Hz, b.) cz. stotliwości 20Hz,
c.) cz. stotliwości 5Hz.
FIG. 2. Texture pole figures:
a.) laser frequency 50Hz, b.) laser frequency 20Hz,
c.) laser frequency 5Hz.

to istotne, gdy struktura krystaliczna w odróżnieniu od amorficznej posiada dobrą biogodność. Wytworzona atmosfera pary wodnej w komorze reakcyjnej sprzyjała otrzymaniu krystalicznych warstw hydroksyapatytowych (RYS. 1).

Badaniami informujemy o rozłożeniu krystalitów w warstwie jest analiza tekstury. Kołowy charakter figury biegunowej wiadczy o osiowość tekstury osadzonej warstwy. Najsilniejszą teksturę zaobserwowano dla najmniejszej częstotliwości. Jest to tekstura osiowa typu (001). Stwierdzono, że wraz ze wzrostem częstotliwości charakter osiowy jest coraz słabszy (RYS. 2).

W celu określenia miejsc największych zmian na figurach biegunowych, wykonano różnicowe figury biegunowe



RYS. 3. Różnicowe figury biegunowe; porównanie figury dla 5 Hz i 50 Hz.
FIG. 3. Differential pole figures; subtraction of the pole figure for 5 Hz and 50 Hz.

that with the lowering of the laser frequency, the orientation was more pronounced (Fig. 2). To observe the area of the changes in orientation, the differential pole figures gained



by subtracted intensities of pole figures type 002 and 211 (FIG. 3) were performed for 5Hz and 50Hz laser frequency. Presented results show the area which are responsible for the texture orientation weakening.

Residual stress is generated in all physico-chemical processes. First type is called macro residual stress and its influence on the lattice parameter change from a_0 to a_1 . X-ray investigations allow to estimate micro-residual stress so called second and third type. They play a main role in the a_1 level fluctuation. On basis of the pole figures examination, correlation between laser frequency and texture as well as macro type of the residual stress was observed, especially in the layer deposited with the lowest laser frequency. The stress decreased with the laser frequency increase. Position pole figures which inform about the macro stress distribution revealed the axial character and weakening towards the high frequency. To examine the values of the residual stress, $\sin^2\psi$ method was used. The examination was performed for the 20 and 5 Hz deposition conditions. The results shown below (FIG. 4). The change of the stress character was observed.

typu 002 i 211 przez odjęcie intensywność z figury najślabiej wykształconej (50Hz) od najsilniej (5Hz) (Rys. 3). Prezentowane wyniki wskazują obszary odpowiedzialne za osłabienie tekstury wraz ze wzrostem częstotliwości.

Reakcja materiału na zmiany wymiarowe w strukturze sieci w procesach fizyko-chemicznych są naprężenia własne. W oparciu o pomiary zmiany odległości między płaszczyznami metodami rentgenowskimi można określić wartość naprężenia własnych. Naprężenia pierwszego typu są to naprężenia makro, które mają silny wpływ na zmianę parametru sieci z wartości a_0 do a_1 . Badania pozwalają także na oszacowanie mikro naprężenia własnych, tak zwanych naprężenia drugiego rodzaju. One wpływają na fluktuacje w obrębie zmienionego naprężeniami makro, parametru sieci. Na podstawie pozycyjnych figur biegunowych, stwierdzono silny udział naprężenia własnych w warstwie, zwłaszcza nanoszonej przy najmniejszej częstotliwości lasera. Ich charakter jest osiowy i coraz słabszy wraz ze zwiększaniem częstotliwości. W celu określenia wartości naprężenia własnych zastosowano rentgenowską metodę $\sin^2\psi$. W badaniu porównano warstwę naniesioną przy częstotliwości 20 i 5Hz. Wyniki przedstawiono poniżej (RYS. 4). Zaobserwowano, że zmiana częstotliwości lasera przy nanoszeniu warstw może mieć wpływ nawet na zmianę charakteru naprężenia własnych.

Podsumowanie

W pracy przedstawiono zależność częstotliwości pracy lasera na zmiany tekstury i wartości naprężenia własnych w naniesionej warstwie. Stwierdzono, że we wszystkich przypadkach zaszła pełna krystalizacja warstw, co wynika z zastosowania odpowiedniej atmosfery (H_2O) w komorze reakcyjnej. Krystaliczna warstwa w zastosowaniach biomedycznych jest bardzo istotna, gdy tym bardziej materiał posiada budowę krystaliczną, tym lepsza jest jego biogodność. Badania tekstury wykazały silny wpływ częstotliwości lasera na teksturę krystalograficzną jak również wartość i charakter naprężenia własnych.

Podziękowanie

Praca finansowana w ramach projektu badawczego: PBZ-KBN-082/T08/2002/

Concluding remarks

The influence of a laser frequency on deposition of HAP layers was examined. The crystalline character of HAP structure due to water atmosphere application and proper substrate temperature was stated. Crystallized layers are very important from the biocompatibility point of view. The more the layers are crystallized the better is their biocompatibility. Texture examination showed high influence of the laser frequency on the crystallographic texture as well as residual stress distribution.

Acknowledgement

The work was supported by the State Committee for Scientific Research of Poland under Project: PBZ-KBN-082/T08/2002/

Piśmiennictwo

References

- [1] Fernandez-Pradas J.M., Cleries L., Sardin G., Morenza J.L.; Characterization of calcium phosphate coatings deposited by Nd:YAG laser ablation at 355 nm: influence of thickness, *Biomaterials*, 23 (2002) 1989-1994.
- [2] Suchanek W., Yoshimura M.; Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. *J. Mater. Res.*, 13 (1998) 94-117.
- [3] Masanori Kikuchi, Hiroko N. Matsumoto, Takeki Yamada, Yoshihisa Koyama, Kazuo Takakuda, Junzo Tanaka; Glutaraldehyde cross-linked hydroxyapatite/collagen self-organized nanocomposites; *Biomaterials*, 25 (2004) 63-69.
- [4] Koeneman J., Lemons J., Ducheyne P., Lacefield W., Magee F., Calahan T., Kay J. Workshop on characterization of calcium phosphate materials. *J. Appl Biomater.*, 1 (1990) 79-90.
- [5] Sobiecki J.R., Mróz W., Wierzcho T.: Wytwarzanie powłok hydroksyapatytu metodą PLD na azotowanych stopach tytanu: *Inżynieria Biomateriałów*, 34 (2004) 6-8.

BIOZGODNE POWŁOKI NA BAZIE TiN WYTWORZONE NA PODŁOŻU METALICZNYM I NIEMETALICZNYM Z WYKORZYSTANIEM ABLACJI LASEROWEJ

ROMAN MAJOR*, EL BIETA CZARNOWSKA**, AGNIESZKA SOWI - SKA**, ROMAN KUSTOSZ***, JÜRGEN M.LACKNER****, WOLFGANG WALDHAUSER****, MICHAŁ WOŃIAK****, WALDEMAR MRÓZ*****, TADEUSZ WIERZCHO****, BOGUSŁAW MAJOR*

*INSTYTUT METALURGII I INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ
POLSKIEJ AKADEMII NAUK W KRAKOWIE

**CENTRUM ZDROWIA DZIECKA, ODDZIAŁ PATOLOGII, WARSZAWA

***FUNDACJA ROZWOJU KARDIOCHIRURGII,

INSTYTUT PROTEZ SERCA

****JOANNEUM RESEARCH FORSCHUNGSGESELLSCHAFT MBH, ,

LASER CENTER LEOBEN, LEOBEN, AUSTRIA

*****WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ,

POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WARSZAWA

*****INSTYTUT OPTOELEKTRONIKI,

WOJSKOWA AKADEMIA TECHNICZNA, WARSZAWA

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 66-68]

Powłoki TiN wytworzone zostały na tytanie metalicznym z wykorzystaniem osadzania laserem impulsowym tzw. metod PLD bazująca na ablacji laserowej tarczy tytanowej. Układ do osadzania oparty był o laser typu Nd:YAG pracujący na podstawowej harmonicznej 1064 nm. Do komory reakcyjnej wprowadzano atmosferę azotową stosując przepływ 30scm. Przedmiotem badań była struktura analizowana metodą dyfrakcji rentgenowskiej (XRD), morfologia powierzchni z wykorzystaniem mikroskopu sił atomowych (AFM) oraz mikrostruktura badana na przekroju poprzecznym metodą transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM). Przeprowadzone zostały pomiary tekstury krystalograficznej metodą rentgenograficzną oraz wartości naprężeń własnych w podłożu i osadzonej warstwie.

Analizowano wpływ szorstkości powierzchni podłoża tytanowego na pojawiającą się teksturę krystalograficzną i jej dziedziczenie do warstwy oraz poziom naprężeń własnych w podłożu i warstwie. Trzy rodzaje materiałów o różnej chropowatości wytypowane zostały do badań: blacha o powierzchni po walcowaniu o średniej chropowatości 0.9229 mm, o powierzchni po mechanicznym szlifowaniu na papierach wodnych, chropowatość średnia 0.6409 mm i mechanicznym polerowaniu o średniej chropowatości 0.3483 mm (RYS. 1).

W pierwszym przypadku, gdzie warstwę osadzono na podłożu nie obrabianym mechanicznie, stwierdzono osiowy charakter tekstury zarówno w podłożu jak i w warstwie. Maksyma występuje w tych samych miejscach co może świadczyć o dobrej dziedziczności tekstury podłoża przez teksturę warstwy. Orientacja warstwy osadzonej na podłożu szlifowanym jest silna mimo silnego zaburzenia tekstury podłoża. W trzecim przypadku, tekstura podłoża jest osiowa, dobrze dziedziczona przez teksturę warstwy. Zastosowanie detektora pozycyjnie czułego, pozwoliło wykreślić figu-

BIOCOMPATIBLE TiN BASED COATINGS ON METALLIC TITANIUM SUBSTRATE PRODUCED BY LASER ABLATION

ROMAN MAJOR*, EL BIETA CZARNOWSKA**, AGNIESZKA SOWI - SKA**, ROMAN KUSTOSZ***, JÜRGEN M.LACKNER****, WOLFGANG WALDHAUSER****, MICHAŁ WOŃIAK****, WALDEMAR MRÓZ*****, TADEUSZ WIERZCHO****, BOGUSŁAW MAJOR*

*INSTITUTE OF METALLURGY AND MATERIALS SCIENCE
POLISH ACADEMY OF SCIENCES, CRACOW, POLAND

**THE CHILDREN'S MEMORIAL HEALTH INSTITUTE,
PATHOLOGY DEPARTMENT, WARSAW, POLAND

***FOUNDATION OF CARDIAC SURGERY DEVELOPMENT,
ZABRZE, POLAND

****JOANNEUM RESEARCH FORSCHUNGSGESELLSCHAFT MBH, ,
LASER CENTER LEOBEN, LEOBEN, AUSTRIA

*****MATERIALS ENGINEERING FACULTY,

WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, WARSAW, POLAND

*****INSTITUTE OF OPTOELECTRONIC

MILITARY UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, WARSAW, POLAND

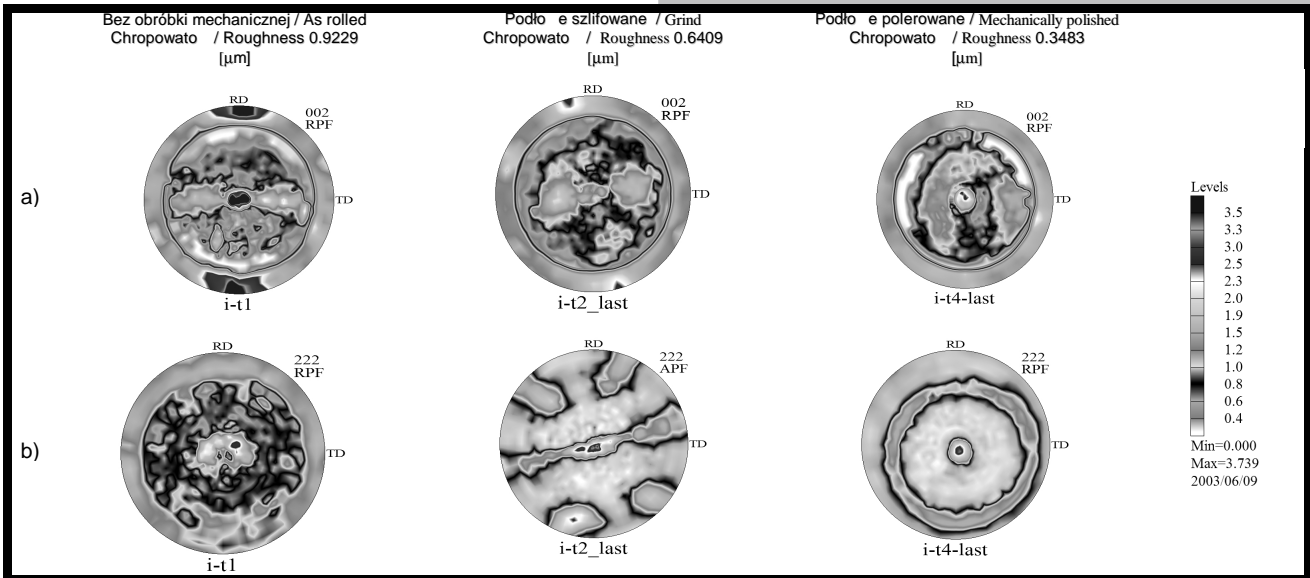
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 66-68]

TiN coatings on metallic titanium were produced by pulsed laser deposition using a system working with a Nd:YAG laser for ablation of titanium target. Nitrogen environment was applied in the reactive chamber in flow of 30scm. Structure examinations X-ray diffraction (XRD), atomic force microscopy (AFM) and transmission electron microscopy (TEM) were performed to study surface morphology (AFM) and microstructure of the cross-section (TEM) as well as crystallographic texture and residual stresses (XRD).

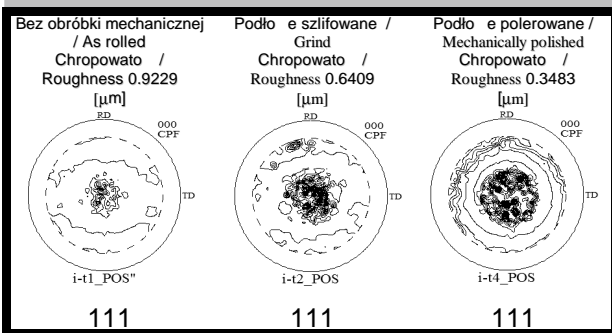
Contribution of roughness of the metallic titanium sheet to the developed crystallographic texture and its generation by the layer as well as the residual stress in the substrate and the deposited layer was examined. Three materials were under examination i.e. not treated surface of the titanium sheet just after rolling with average roughness 0.9229 mm, mechanically ground, roughness 0.6409 mm and mechanically polished roughness 0.3483 mm (FIG. 1). The heritage of the crystallographic texture in the substrate and the deposited layer was discussed.

Texture in the substrate in all cases are different and it could cause on the texture of the layer. In the first case when the TiN was deposited on as rolled substrate with 0.9229 mm roughness the maximums of the substrate and the layer are in the same position. The character of both pole figures is axial and well generated. In the second layer the orientation is strong in spite of the high disturbance of the orientation of the substrate. No generation is observed. The texture character of the TiN layer deposited on mechanically polished substrate (roughness 0.3483 mm) is axial, similar to the substrate. Inheritance is good. Application of the position sensitive detector allows to draw pole figures of residual stress distribution (FIG. 2).

The most uniform and isotropic stress distribution was observed for the layer deposited on the substrate with the lowest roughness. The type of the stress distribution is axial. Variation of the compressive residual stress in the range of



RYS. 1. Figury biegunowe tekstury podło a tytanowego a.) warstwy TiN b.).
 FIG. 1. Pole figures of the titanium texture a.) and TiN coating b.).

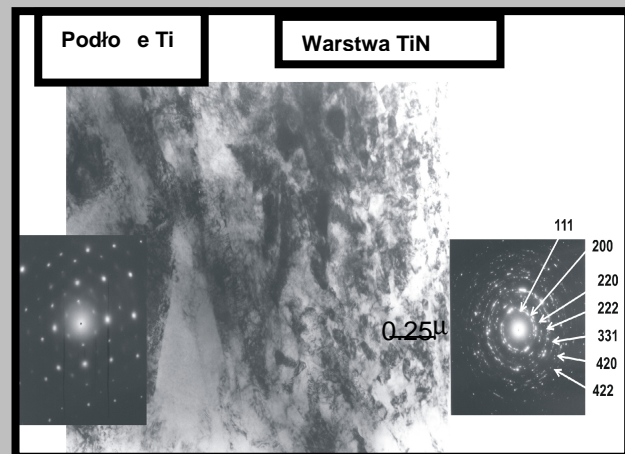


RYS. 2. Figury biegunowe rozkładu napr e własnych w warstwie.
 FIG. 2. Residual stress distribution in the layer.

ry biegunowe rozkładu napr e w warstwie (RYS. 2). Najbardziej równomierny i izotropowy rozkład napr e własnych stwierdzono w trzecim przypadku, dla warstw osadzonych na podło u o najni szej chropowato ci. Stwierdzono silny wpływ tekstury podło a na tekstur warstwy i rozkład napr e własnych w warstwie. Makro napr enia własne w warstwie TiN w zale no ci od stanu podło a kształtowały si na poziomie -4 do -10 GPa. Analiza cienkich folii na elektronowym mikroskopie transmisyjnym wykazała ci gę przeji cie od nanokrystalicznej struktury powłoki TiN do polikrystalicznego tytanu stanowi cego podło e (RYS. 3). Pier cieniowy charakter dyfrakcji elektronowych uzyskanych za techniki pomoc "selected area diffraction" dowodzi nanokrystalicznemu charakterowi naniesionej warstwy, co mo e wpłyn na równomierny rozkład krystalitów w warstwie.

Podsumowanie

Powłoki azotku tytanu s przewidziane do zastosowania do komór w pełni implantowalnego sztucznego serca. Chorym z przewlekł lub nieodwracaln niewydolno ci serca niezb dne jest wspomaganie serca przez okres kilku lub kilkunastu lat - docelowo permanentnie - z zagwarantowaniem ycia w warunkach domowych oraz mo liwo ci czyn-



RYS. 3. Mikrostruktura TEM azotku tytanu osadzonego na tytanie.
 FIG. 3. TEM microstructure TiN deposited on Ti.

4 to 10 GPa measured in the TiN coating was stated in respect to the surface state. Thin foil examination on TEM revealed a blurred character between the nanocrystalline deposited TiN coating to the polycrystalline metallic titanium (FIG. 3).

Electron diffraction pattern achieved by selected area diffraction technique revealed nanocrystalline structure of the layer deposited on metallic which could be associated with the uniform distribution of the particles. In the samples with Ti substrate the interlayer has a blurred character from the TiN coating to the substrate, which could confirm good adhesion.

Concluding

Titanium nitride layers will be potentially used for the implantable chambers of the ventricle assist device. People who suffer from the heart dysfunctions need to be supported by artificial heart supply for the period of the few months. The intended target is to build such device which would be implanted permanently and which would allow a

nej pracy zawodowej i rekreacji. Wymagania takie spełniają jedynie implantowalne protezy serca. Jest to urządzenie wszczepiane całkowicie (wraz z napędem i baterią) do ciała pacjenta. W przypadku materiałów kontaktujących się z krwią niezbędne jest zagwarantowanie odpowiedniego stopnia chropowatości powierzchni. Jest to konieczne dla formowania się naturalnej warstwy proteinowej, czyli akceptacji biomateriału przez organizm. Z dotychczasowych prac i uzyskanego doświadczenia wynika, że metoda PLD umożliwia sterowanie chropowatością powierzchni i jej optymalizowanie.

Podziękowanie

Praca finansowana w ramach projektu badawczego: PBZ-KBN-082/T08/2002/

Piśmiennictwo

- [1] E. Czarnowska, T. Wierzcho, et al.: J of Mat. Sci.: Materials in medicine 11 (2000) 73.
 [2] B. Major, R. Ebner, T. Wierzcho, W. Mroz, W. Waldhauser, R. Major, M. Wozniak; Thin layers of TiN fabricated on metallic titanium and polyurethane by pulsed laser deposition; Anals of Transplantation; in press.

patient close to normal existence. Such requirements are covered by the implantable heart prostheses. When blood comes in contact with biomaterial surface it is necessary to guarantee a degree of the roughness. It is necessary to form natural biolayer formed by blood proteins. The summary that the PLD method allows to control the surface roughness follows from the current experience and achieved results.

Acknowledgement

The work was supported by the State Committee for Scientific Research of Poland under Project: PBZ-KBN-082/T08/2002/

References

- [3] J.M. Lackner, W. Waldhauser, W. Lenz, R. Ebner, B. Major, T. Schöberl; Structural and tribological characterization of pulsed laser deposited TiN thin films; Thin Solid Films xx(2003)xxx; preprint.

WIELOWARSTWOWE POWŁOKI TRIBOLOGICZ- NE TYPU Ti/TiN ORAZ Cr/CrN WYTWORZONE NA DRODZE ABLACJI LASE- ROWEJ DO ZASTOSO- WA WE WSPOMAGAJ- CEJ APARATURZE MEDYCZNEJ

ŁUKASZ MAJOR*, JÜRGEN M. LACKNER**, JERZY MORGIEL*,
ROMAN KUSTOSZ***, TADEUSZ WIERZCHO****,
BOGUSŁAW MAJOR*

*INSTYTUT METALURGII I INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ
PAN W KRAKOWIE

**JOANNEUM RESEARCH FORSCHUNGSGESELLSCHAFT MBH,
LASER CENTER LOEBEN, LOEBEN, AUSTRIA

***FUNDACJA ROZWOJU KARDIOCHIRURGII W ZABRZU

****WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ
POLITECHNIKI WARSZAWSKIEJ

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 68-70]

Perspektywę rozwoju powłok tribologicznych nowej generacji stanowi gradientowe materiały funkcjonalne. W pojedynczych warstwach tribologicznych generowane są zwyżającą wysokość naprężenia własne prowadzące niejednokrotnie do pojawiania się mikropęknięć. Jednym ze sposobów uniknięcia tego bardzo niekorzystnego zjawiska jest redukcja naprężenia poprzez zastosowanie warstw po red-

TRIBOLOGICAL MULTILAYERS OF Ti/TiN AND Cr/CrN TYPE PRODUCED BY LASER ABLATION FOR APPLICATION IN ASSISTED MEDICAL EQUIPMENT

ŁUKASZ MAJOR*, JÜRGEN M. LACKNER**, JERZY MORGIEL*,
ROMAN KUSTOSZ***, TADEUSZ WIERZCHO****,
BOGUSŁAW MAJOR*

*INSTITUTE OF METALLURGY AND MATERIALS SCIENCE
POLISH ACADEMY OF SCIENCES, CRACOW, POLAND

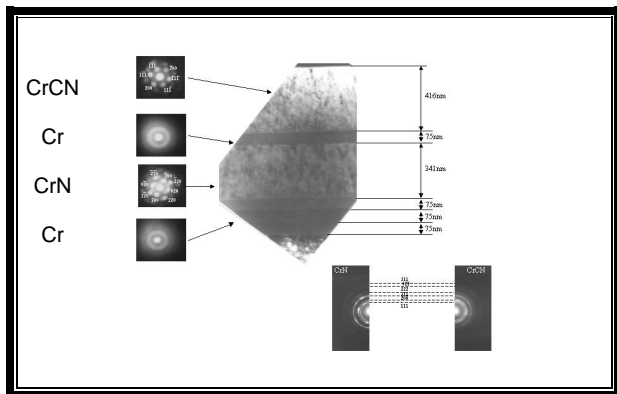
**JOANNEUM RESEARCH FORSCHUNGSGESELLSCHAFT MBH,
LASER CENTER LOEBEN, LOEBEN, AUSTRIA

***FOUNDATION OF CARDIAC SURGERY DEVELOPMENT,
ZABRZE, POLAND

****MATERIALS ENGINEERING FACULTY,
WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, WARSAW, POLAND

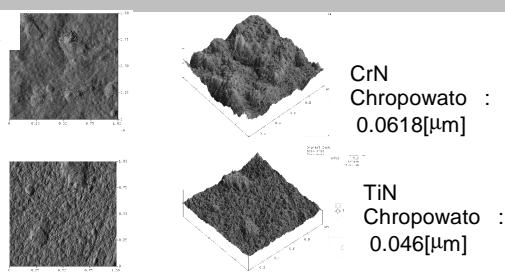
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 68-70]

Perspective development of tribological coatings of new generation seems to be expected in functionally gradient materials. Appearing high value of stress in monolayer tribological coatings leads in many cases to micro-cracks formation. One of elimination methods of this disadvantage is expectation in stress reduction due to interlayer application of super-elastic material which separates super-hard layers and could moreover block cracks propagation during



RYS. 1. Mikrostruktura TEM przekroju poprzecznego powłoki Cr/CrN/Cr/CrCN.

FIG. 1. TEM microstructure of the cross-section coating of the Cr/CrN/Cr/CrCN fabricated by means of PLD method.



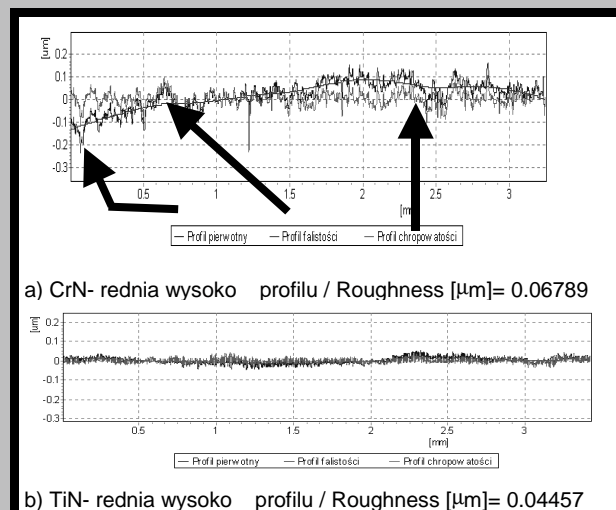
RYS. 2. Morfologia AFM powierzchni powłoki uzyskanej metodą PLD typu: a) CrN; b) TiN.

FIG. 2. AFM morphology of surface coatings produced by PLD: a) CrN; b) TiN.

nich z materiału super-sprężystego, rozdzielających warstwy super-twarde. Celem jest wytworzenie formy powłoki wielowarstwowej, w której dojdzie do redukcji naprężeń i bloków

przepływu energii w czasie eksploatacji elementu. Wielowarstwowe powłoki na bazie układu Cr/CrN i Ti/TiN wytworzone zostały techniką laserową (Pulsed Laser Deposition-PLD), stosując laser Nd:YAG pracujący w trybie podstawowym 1064 nm, wyposażony w modulator dobroci generujący nanosekundowe impulsy o długości 10 ns i repetycji 50 Hz. RYS. 1 przedstawia mikrostrukturę TEM przekroju poprzecznego wielowarstwowego materiału typu Cr/CrN/Cr/CrCN o grubości około jednego mikrometra uzyskaną z cienkiej folii przygotowanej zaawansowaną metodą preparatyki FIB (Focused Ion Beam). Pierścieniowe dyfrakcje uzyskane za pomocą techniki "selected area diffraction", jak również mikrodyfrakcje uzyskane za pomocą wiązki zbitej, wskazują na nanokrystaliczną formę faz typu CrN oraz CrCN stanowiących warstwy twarde w powłocie tribologicznej. Rozmycie pierścieni dyfrakcyjnych w przypadku warstw chromowych, miedziowych, sugeruje na ich budowę amorficzną.

Morfologia powierzchni analizowana z wykorzystaniem mikroskopu sił atomowych (AFM), wykazała, tak w przypadku powłoki na bazie CrN jak i TiN charakter jednorodny, o niskiej chropowatości 0.0618[mm] i 0.046[mm], odpowiednio dla warstw bazujących na CrN i na TiN (RYS. 2). Uzyskane wyniki zostały potwierdzone badaniami na profilometrze (RYS. 3). Średnia wysokość nierówności była na poziomie setnych mikrometra, co weryfikuje metodę PLD



RYS. 3. Analiza nierówności powierzchni dla powłok na bazie: a) CrN; b) TiN.

FIG. 3. Profile Measurements Gauge analysis of surface roughness: a) CrN; b) TiN.

exploitation.

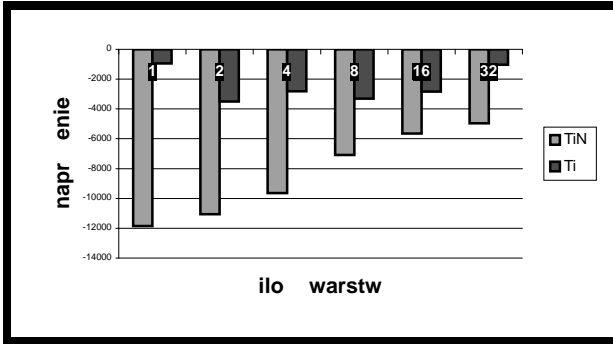
Multilayer coatings basing on the Cr/CrN and Ti/TiN were fabricated using PLD method with application of a Nd:YAG laser working in basic mode 1064nm with Q-switch generating nanosecond pulses of 10ns with 50Hz repetition. Cross-section of the multilayer coating Cr/CrN/Cr/CrCN was investigated by means of transmission electron microscopy (TEM) in order to solve their growth mechanism and microstructure (FIG. 1). The application of the standard preparation technique was impossible for this coating. Thus, the ion cutting with a focused gallium ion beam (FIB) was used. Diffraction rings obtained by selected area diffraction technique as well as micro-diffraction obtained by the focused beam technique informed that CrN and CrCN have nanocrystalline structure. The blurred rings of the Cr layers could make an assumption that they have amorphous character.

The surface morphology, analysed by atomic force microscopy (AFM) of the Cr and Ti based multilayer coatings revealed a high uniformity in both cases (FIG. 2). A mean roughness was in order of hundredths of micrometer which verified the PLD as the method producing high quality surfaces.

Layers produced by pulsed laser deposition technique are characterized by high, compressive residual stress 9 and 4.5 GPa for Ti/TiN/Ti/TiN and Cr/CrN/Cr/CrCN, respectively. The recent results obtained on materials with different numbers of layers based on Ti, presented that residual stress decreases with increasing number of layers (FIG. 4).

The tribological wear tests were performed using the pin-on-disc method with application of 9.81N load and the obtained results showed the friction coefficient of order of 0.2 for Ti/TiN/Ti/TiN system. Moreover, the wearing process of super-hard TiN and compensation Ti layers could be examined by variation of the friction coefficient.

A goal of the performed research examinations of the multilayer tribological materials of new generation has been a search for materials which could be used in miniature elements of medical equipment. Fulfilling a non-failure service of elements at difficult exploitation conditions makes a new challenge for research workers. Application of the PLD method for fabrication of the multilayer tribological system seems to be helpful.



RYS. 4. Zależność naprężenia własnego od liczby warstw w powłoce.

FIG. 4. Residual stress dependence on the number of layers.

jako dają dobrą powierzchnię.

Warstwy nakładane metodą laserową cechują się wysokimi, ciśnieniami naprężeniami własnymi 9 i 4.5 GPa odpowiednio dla Ti/TiN/Ti/TiN i Cr/CrN/Cr/CrCN. Aktualnie przeprowadzone pomiary dla układów z większą liczbą warstw bazujących na tytanie, pokazały tendencję zmniejszania się naprężenia wraz ze wzrostem liczby warstw (RYS. 4).

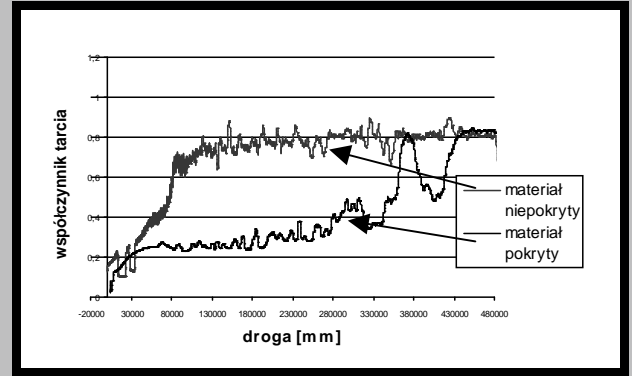
Przeprowadzone testy zużycia wielowarstwowego materiału Ti/TiN/Ti/TiN z wykorzystaniem metody pin-on-disc pod obciążeniem 9.81 N wykazały wartość współczynnika tarcia na poziomie 0.2. Charakterystyczne skoki współczynnika tarcia dla materiału pokrytego wiadczyły o zużyciu kolejnych warstw (RYS. 5).

Celem prowadzenia prac w zakresie materiałów tribologicznych nowej generacji opartych o układy wielowarstwowe jest potrzeba uzyskania materiału do wykorzystania w zminiaturyzowanych elementach aparatury medycznej. Zapewnienie niezawodności pracy w zadanych trudnych warunkach eksploatacyjnych, stanowi nowe wyzwanie dla badaczy.

W oparciu o prowadzone prace wydaje się, że wykorzystywana metoda PLD do uzyskiwania gradientowych materiałów funkcjonalnych jest w tym celu bardzo pomocna.

Podsumowanie

Praca realizowana była przy wsparciu finansowym projektu PBZ-KBN-082/T08/2002, 4T08C 02823 oraz projektu Eureka E! decyzja Nr 62 E-88/SPB/Eureka/T-08DZ 348/2002-2004.



RYS. 5. Wyniki pomiarów zużycia trybologicznego wielowarstwowego powłoki na bazie Ti.

Acknowledgement

The parts of the work were supported by the State Committee for Scientific Research of Poland (KBN) under contract PBZ-KBN-082/T08/2002, 4T08C 02823 and Eureka, decision Nr62 E-88/SPB/Eureka/T-08DZ 348/2002-2004

Piśmiennictwo

References

- [1] B. Major, Ablacja i osadzanie laserem impulsowym, Wyd.Naukowe AKAPIT, Kraków (2002).
- [2] B. Major, W. Mróz T. Wiercho, W. Waldhauser, J.M. Lackner, R. Ebner, Pulsed laser deposition of advanced titanium nitride thin layers, Surface and Coatings Technology, 180-181 (2004) 580-584.
- [3] J.M. Lackner, W. Waldhauser, R. Ebner, B. Major, T. Schöberl, Pulsed laser deposition of titanium oxide coatings at room temperature - structural, mechanical and tribological properties, Surface and Coatings technology 180-181 (2004) 585-590.

TECHNOLOGIA WYTWARZANIA TYTANOWEJ KOMORY WSPOMAGAJĄCEJ SZTUCZNEGO SERCA W PROCESIE TŁOCZENIA ELEMENTÓW O ZŁOŻONYM KSZTAŁCIE

WACŁAW MUZYKIEWICZ*, ARTUR RYKAS*, ROMAN MAJOR**,
ROMAN KUSTOSZ***, BOGUSŁAW MAJOR**

*WYDZIAŁ METALI NIE ELAZNYCH; AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,
KRAKÓW

**INSTYTUT METALURGII I INŻYNIERIA MATERIAŁOWEJ
POLSKIEJ AKADEMII NAUK, KRAKÓW

***FUNDACJA ROZWOJU KARDIOCHIRURGII,
INSTYTUT PROTEZ SERCA, ZABRZE

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 71-73]

Wstęp

Znaczącą grupę biomateriałów metalicznych wykorzystywanych w chirurgii rekonstrukcyjnej narządów ruchu i stomatologii, a także ostatnio w kardiochirurgii, stanowi tytan i jego stopy. Jego zastosowanie w medycynie i biologii wynika z dobrej odporności korozyjnej w środowisku tkanek i płynów ustrojowych oraz dobrej biotolerancji. W laboratoriach Thorateca w USA opracowano w ostatnich latach, zastosowano w praktyce oraz wszczepiono w 2001 roku, komory wspomaganie serca z tytanu, które są komorami implantowanymi. W zagadnieniach biofizyki tkanek i lansowanych aktualnie nowych modelach biologicznych rozpatrywane są różne poziomy struktury i odpowiadających im procesów [1]. Stanowi to podstawę do ustalania warunków czy właściwości układów biologicznych, do których zamierzamy wbudować układ techniczny. Poziom struktur anatomii narządów z procesami fizjologicznymi został dotychczas wystarczająco rozpoznany i na tej bazie zbudowano podstawy biomechaniki, zaś w oparciu o podstawy anatomii komórkowej i subkomórkowej rozbudowane zostały zagadnienia biotolerancji tworzyw implantowanych do organizmu. Do doboru optymalnego implantowanego tworzywa konieczna jest uprzednia analiza stanu naprężenia i odkształcenia i ostateczna weryfikacja laboratoryjna i kliniczna [2, 3]. Implantat podlega niskocyklicznym obciążeniom zmiennym i dlatego konieczne jest ustalenie wytrzymałości zmiennej na podstawie rzeczywistej dynamiki zmian naprężenia i ich koncentracji w przekrojach niebezpiecznych. W pracy przedstawiono projekt technologii kształtowania półwyrobu powłokowego z docelowym przeznaczeniem jako sztuczna komora wspomaganie serca.

Materiały i metodyka badań

W pracy przedstawiono projekt wytłaczania półfabrykatu na komory wspomaganie serca z tytanowej blachy o grubości 0.5 mm. Wyznaczono własności mechaniczne i tech-

TECHNOLOGY OF THE TITANIUM DEEP DRAWING PROCESS OF THE SEMI- PRODUCT ELEMENTS WITH COMPLEX SHAPE FOR THE HEART SUPPORT CHAMBER

7 1

WACŁAW MUZYKIEWICZ*, ARTUR RYKAS*, ROMAN MAJOR**,
ROMAN KUSTOSZ***, BOGUSŁAW MAJOR**

*FACULTY OF NON FERROUS METALLS; AGH-UNIVERSITY OF
SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW, POLAND

**INSTITUTE OF METALLURGY AND MATERIALS SCIENCE POLISH
ACADEMY OF SCIENCES, CRACOW, POLAND

***FOUNDATION OF CARDIAC SURGERY DEVELOPMENT, ZABRZE,
POLAND

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 71-73]

Introduction

Materials for medical application form a huge market, in volume as well as diversity. Depending on the specific application, different materials are used [1]. For instance, in jaw and skull surgery the osseointegration behaviour is the deciding factor, whereas the prevention of platelet adhesion and subsequent clotting for material in contact with blood is the main focus. Furthermore, mechanical properties like wear, hardness and elastic modulus can have an important influence on biocompatibility. Good corrosion resistance of titanium in the tissue environment and systemic fluids as well as high biocompatibility confirms its application in medicine and biology. A prominent group of implants used in reconstruction surgery, stomatology and recently in cardiochirurgy are titanium and its alloys. Fully implantable artificial heart supply chambers have been produced in 2001 from titanium by the Thoratec Laboratories in USA.

To choose an optimal material it is necessary to consider a state of stress and strain as well and finally laboratory and clinical verification [2, 3]. A project of the deep pressed semi-finished titanium product for the artificial heart chambers support is considered in this work.

Experimental

Titanium Ti1 with the nominal impurities: O- 0.12%, N- 0.05%, C- 0.06%, Fe- 0.15%, H- 0.013% with the thickness of 0.5 mm was investigated. Mechanical properties of the investigated material were defined on the basis of the static tensile test in three directions rolling direction, 45° and perpendicular to the rolling direction.

These results were used to calculate plastic boundary $R_e(R_{0.2})$, tension resistance R_m (FIG. 1), total A50 and linear extension A_r (FIG. 2).

Normal anisotropy was estimated by the Lankford coefficient r determination. The coefficient r was calculated for three directions (0°, 45°, 90°). The average value of the normal anisotropy coefficient is 3.00, and the flat anisotropy coefficient $Dr = -2.52$.

nologiczne badanej blachy tytanowej. Określono jej anizotropię normalną i płaską, wyznaczając współczynnik Lankforda "r". Materiałem do badań była blacha tytanowa gatunku Ti1 o grubości 0.5 mm, której maksymalny procent wagowy zawartości zanieczyszczeń wynosi: O 0.12%, N 0.05%, C 0.06%, Fe ~0.15%, H 0.013%. Właściwości mechaniczne badanej blachy zostały wyznaczone na podstawie statycznej próby rozciągania w trzech kierunkach: w kierunku walcowania 0°, kierunku prostopadłym do niego 90° oraz w kierunku 45°. Wyznaczono granicę plastyczności $R_e(R_{0.2})$, wytrzymałość na rozciąganie R_m (RYS. 1), wydłużenie całkowite A_{50} i równomierne A_r (RYS. 2).

Obliczono wartości współczynnika anizotropii Lankforda "r" jako stosunku rzeczywistego odkształcenia plastycznego, mierzonego wzdłuż szerokości, do rzeczywistego odkształcenia plastycznego, mierzonego na grubości próbek z różnych kierunków w płaszczyźnie blachy. Średni wskaźnik anizotropii normalnej r_r badanej blachy tytanowej wynosi 3,00, natomiast wskaźnik anizotropii płaskiej $r_f = -2.52$.

W próbie misczkowania uzyskano cylindryczne wyłóczki z krzywymi o coraz większych średnicach $D=70, 72, 74, 76, 78$ i 80 mm. Badania przeprowadzono ze stałą wartością nacisku jednostkowego dociskacza, wynoszącą 1.4 MPa (RYS. 3).

Na podstawie zależności siły w funkcji stopnia wyłóczania, wyznaczono wartość granicznego stopnia wyłóczania $K_{gr} = 2.0$ ($m_{gr} = 0.5$), czyli stosunku maksymalnej średnicy krzywki wsadowego, przy której nie następuje jeszcze pęknięcie materiału do średnicy wyłóczki. Wartość granicznego stopnia wyłóczania na poziomie $K_{gr} = 2.0$ dowodzi wysokiej podatności materiału do odkształceń.

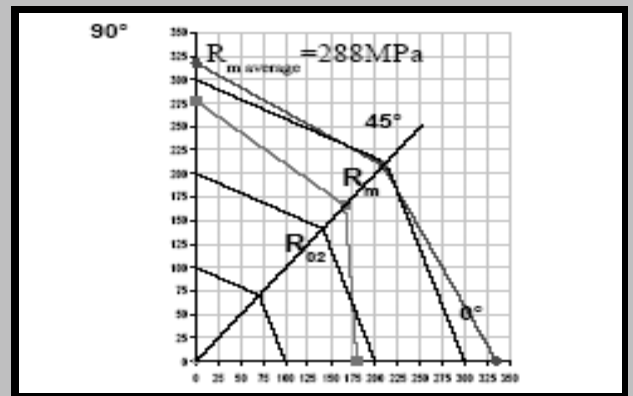
Bezpośrednio do projektowania bardzo niesymetrycznego kształtu półfabrykatu czaszy krwistej był model (RYS. 4), którego kształt został opracowany na podstawie badań hydrodynamicznych, zapewniających optymalne przepływy krwi w implancie.

Na podstawie kształtu modelu czaszy krwistej (RYS. 4) oraz wyników badań technologicznych blachy tytanowej przeprowadzono optymalizację kształtu wyłóczki, która może na uzyskać w jednej operacji tłoczenia (RYS. 5). Otrzymana wyłóczka poddana będzie w kolejnych operacjach dalszemu kształtowaniu plastycznemu, celem uzyskania tytanowej komory wspomagającej serce.

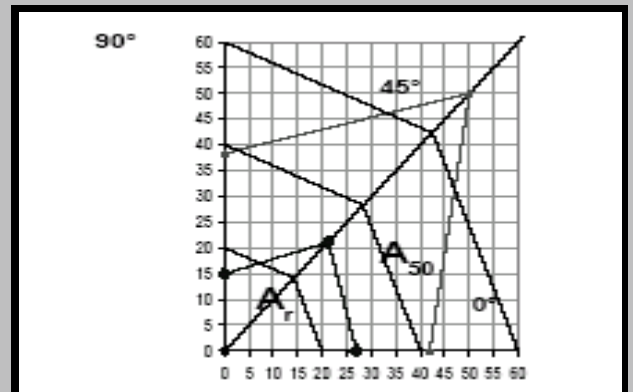
Z technologicznego punktu widzenia półfabrykat ma kształt złożony. W pracy rozważane są dwa alternatywne rozwiązania technologii jego tłoczenia: kształtowanie sztywnym stemplem z zastosowaniem przeciwnienia (tworzywo elastyczne i ciecz, wypełniające komórki tłoczenia) oraz kształtowanie elastycznym stemplem w sztywnej matrycy. W tym celu zaprojektowano uniwersalny tłocznik, pozwalający na przeprowadzenie zaproponowanych wariantów tłoczenia. Na podstawie przygotowanego modelu (RYS.5) opracowano numeryczny projekt asymetrycznej matrycy i stempla do wyłóczania i wykonano te narzędzia na obrabiarce cyfrowej.

Podsumowanie

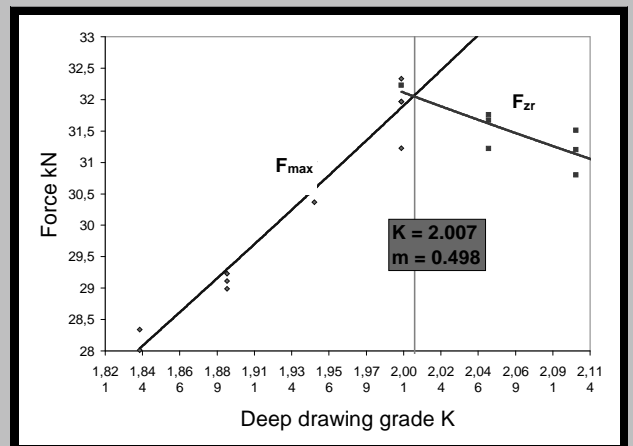
Równolegle prowadzone prace w zakresie podjętej problematyki dotyczą dwóch zagadnień, obejmujących technologię wytworzenia elementu komory na drodze tłoczenia oraz wykorzystania inżynierii powierzchni do uzyskania powłok o podwyższonej biokompatybilności. Zagadnienie jest skomplikowane, gdyż w dotychczasowym implancie stosowanym przez ośrodek w Zabrzcu w formie pozaustrojowej występują bardzo niesymetryczne kształty. Wynikami z badań hydrodynamicznych, zapewniających optymalne przepływy krwi w implancie. Aktualnie, w oparciu o opraco-



RYS. 1. Rozkład własności wytrzymałościowych.
FIG. 1. Distribution of the strength properties.



RYS. 2. Rozkład własności plastycznych.
FIG. 2. Distribution of the plastic properties.

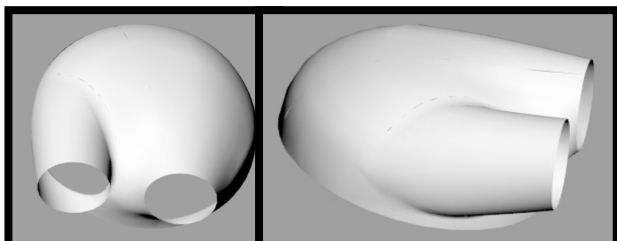


RYS. 3. Próba misczkowania.
FIG. 3. Cupping test.

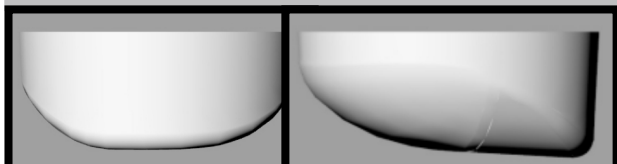
The limiting deep drawing grade K_{gr} was defined using the force in function of the deep drawing grade [7]. The crossing point of the maximal and rip forces lines projected on the x axis shows K_{gr} . (FIG. 3).

The K value on the level of 2 proves high formability of the investigated material. Strain distribution in the cup is diversified on the circuit and it depends on the plastic anisotropy. The basic model for the designing very nonsymmetrical semi-product of the chamber directly contacted with blood is shown below (FIG. 4).

Its shape was elaborated on basis of the hydrodynamical investigations which considered the optimal flow of the



RYS. 4. Model czaszy krwistej.
FIG. 4. Digital model of the current blood contacting bowl.



RYS. 5. Kształt wytłoczki (symulowany) po pierwszej operacji tłoczenia: strona przednia (po lewej), strona boczna (po prawej).
FIG. 5. Digital model of the semi-product (simulated): front side (left), profile side (right).

wany projekt matrycy oraz stempla, wykonywane jest urządzenie do tłoczenia, a po jego skompletowaniu rozpocznie się do wiadczenia próby wykonania półfabrykatu, który poddany zostanie badaniom strukturalnym, hydrodynamicznym i biomedycznym.

Podziękowanie

Praca jest finansowana w ramach projektu badawczego: PBZ-KBN-082/T08/2002/

blood. In the first step with designing the technological process the shape of tools, was estimated. It is necessary to predict the different material flow during the material forming. Two different solution have been considered i.e. (i) forming with rigid matrix against the soft punch, (ii) forming with the rigid punch against the soft matrix. A huge lack of the symmetry in the shape was the main characteristic feature of the digital proposals of the matrix or punch (FIG. 5).

Concluding remarks

High value of the total extension was observed. It was found high anisotropical properties of the titanium sheet, which was taken under the investigation. The biggest anisotropical features were found for the 45 direction. Technological investigations revealed a high formability in spite of the hexagonal structure. Such very important background allowed to establish the real process of deep pressing very complicated and nonsymmetrical shape of the semi-product which is intended to be used for the artificial heart support system.

Acknowledgement

The work was supported by the State Committee for Scientific Research of Poland under Project: PBZ-KBN-082/T08/2002/

Pi miennictwo References

- [1] S. Mändl, B. Rauschenbach: Improving the biocompatibility of medical implants with plasma immersion ion implantation: Surface and Coatings Technology 156 (2002) 276-283.
- [2] J. Marciniak: Stopy tytanu jako biomateriały, Biomateriały, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice (2002).
- [3] Bulcata et al: THP - 1 Cells as a Transfectable Mode for Titanium - Induced Cytokine Release. ASBMR (1997).

WŁA CIWO CI KOMPOZY TÓW CERAMICZNO-POLIMEROWYCH PRZEZNACZONYCH NA STAŁE WYPEŁNIENIA STOMATOLOGICZNE

MAŁGORZATA LEWANDOWSKA, MARIUSZ ANDRZEJCZUK, KRZYSZTOF SIKORSKI, KRZYSZTOF J. KURZYDŁOWSKI

POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WYDZIAŁ IN YNIERII MATERIAŁOWEJ, UL. WOŁOSKA 141, 02-507 WARSZAWA

Streszczenie

W pracy wykonano badania szeregu kompozytów ceramiczno-polimerowych przeznaczonych na stałe wypełnienia stomatologiczne. Jako wypełniacz zastosowano szkło o redniej wielko ci cz stek 5 mikrometrów oraz nanokrzemionk o redniej wielko ci cz stek 40 nanometrów. Stwierdzono, e nawet niewielkie ilo ci nanowypełniacza wpływaj na podwy szenie wła ciwo ci mechanicznych kompozytów oraz ograniczenie skurczu polimeryzacyjnego.

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 74-76]

Wprowadzenie

Ceramiczno-polimerowe materiały kompozytowe stanowi perspektywiczn grup materiałów przeznaczonych na stałe wypełnienia stomatologiczne. Wymagania stawiane tego typu materiałom zostały opisane w Polskiej Normie [1]. S to w szczególno ci: gł boko utwardzania, wytrzymało na zginanie, chłonno wody, trwało barwy i nieprzezroczysto dla promieniowania rtg. W celu udoskonalenia wła ciwo ci u ytkowych kompozytów ceramiczno-polimerowych niezbd na jest tak e minimalizacja skurczu polimeryzacyjnego oraz poprawa wła ciwo ci mechanicznych w tym wytrzymało ciowych i trybologicznych. W pracy zało ono, e mo na to osi gn przez odpowiedni dobór udziału i wielko ci cz stek wypełniacza [2] oraz wykorzystanie cz stek o rozmiarach nanometrycznych. Celem niniejszej pracy było zbadanie wybranych wła ciwo ci materiałów kompozytowych, w których jako jeden z wypełniaczy zastosowano nanokrzemionk .

Materiał i metodyka bada

Jako fazy organicznej u yto mieszaniny monomerów BisGMA oraz TEGDMA w stosunku wagowym 1:1. Wypełniaczem kompozytu było szkło ($\text{SiO}_2\text{-BaO-Al}_2\text{O}_3\text{-B}_2\text{O}_3$), które zostało wytworzone w Instytucie Szkła i Ceramiki w Warszawie. rednia wielko cz stek proszku szkła wynosiła 5 μm . W celu polepszenia adhezji polimeru i wypełniacza u yto krzemooorganicznego rodka sprz gaj cego. Zastosowano tak e nanowypełniacz w postaci krzemionki Aerosil R709 firmy Degussa o redniej wielko ci cz stek 40 nm (n-SiO_2).

Wykonano kompozyty ceramiczno-polimerowe o ró nym udziale wypełniacza szklanego oraz kompozyty o stałym sumarycznym udziale wypełniacza i ró nej zawarto ci nanowypełniacza. Próbkki były utwardzane przez 50 sekund

PROPERTIES OF THE CERAMIC-POLYMER COMPOSITES USED FOR PERMANENT FILLINGS

MAŁGORZATA LEWANDOWSKA, MARIUSZ ANDRZEJCZUK, KRZYSZTOF SIKORSKI, KRZYSZTOF J. KURZYDŁOWSKI

WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING, WOŁOSKA 141, 02-507 WARSAW

Abstract

Series of ceramic-polymer composites used for permanent fillings were fabricated during this work. Ceramic glass, of the average particle size of a few μm , and nanosilica, of the average particle size of 40 nm, were used as fillers. It was found that even a small amount of the nanofiller increases the mechanical properties of the composites and reduces the polymerization shrinkage.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 74-76]

Introduction

Ceramic-polymer composites are prospective materials for permanent fillings in dentistry. The requirements for the polymer-based filling materials are described in [1]. In particular, these are: depth of cure, flexural strength, water sorption, color stability and x-ray opacity. In order to improve the functional properties of the composites, the reduction of polymerization shrinkage and increase of mechanical properties (i.e. strength and tribological properties) are necessary. This may be achieved by an appropriate selection of the volume fraction and size of filler particles [2] and by the use of particles of nanometric size. The aim of this work was to study the selected properties of composite materials, in which nanosilica was used as one of the fillers.

Material and experimental procedure

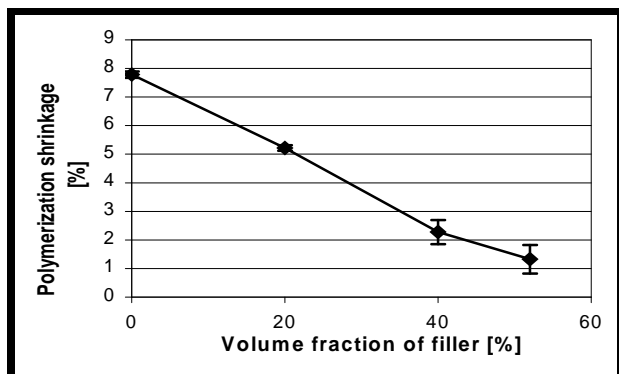
In order to obtain the organic phase a mixture of monomers BisGMA and TEGDMA was prepared in 1:1 weight ratio. As the filler ceramic glass, manufactured at the Glass and Ceramic Institute in Warsaw, was used. The average grain size of the glass powder was $5\mu\text{m}$. In order to improve adhesion of the polymer and the filler, a silicone-organic coupling agent was applied. A nanofiller, in form of silica Aerosil R709 (n-SiO_2), manufactured by Degussa, and of the average grain size 40 nm was also used.

Ceramic-polymer composites characterized by a varying ceramic glass filler volume fraction and composites characterized by a constant summaric filler volume fraction and a varying nanofiller volume fraction were fabricated. The samples were hardened for 15 seconds with the use of a halogen lamp, Hilux 250 type. Next, measurements of the polymerization shrinkage, microhardenss, flexural strength and water sorption were performed.

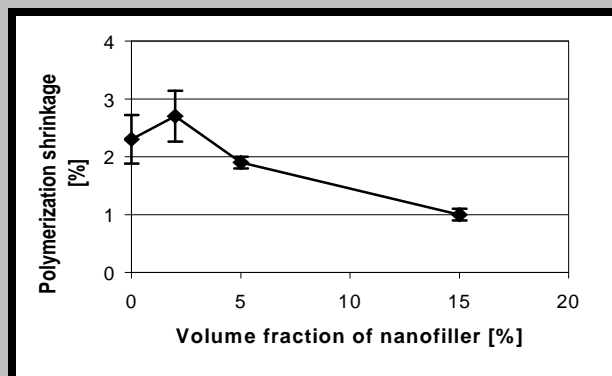
Results

Polymerization shrinkage

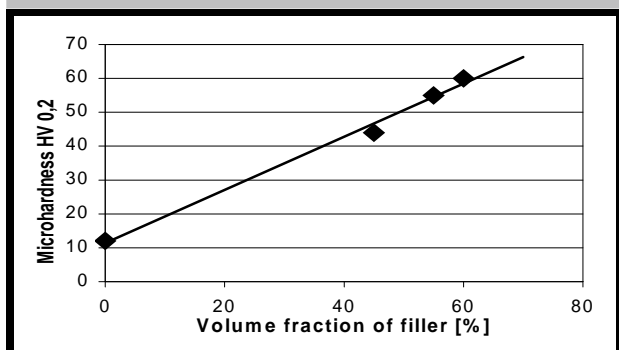
Polymerization shrinkage is a serious disadvantage of



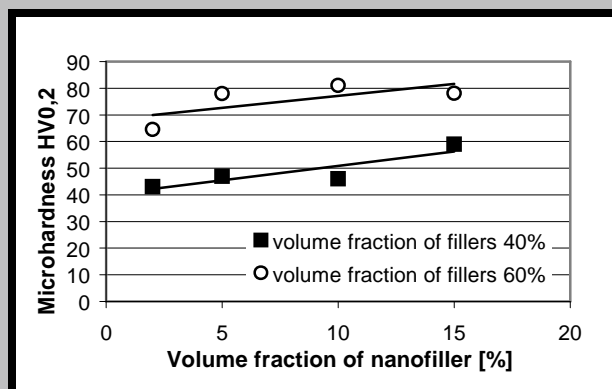
RYS. 1. Wpływ udziału obj to ciowego wypełniacza na skurcz polimeryzacyjny kompozytu.
FIG. 1. Influence of the volume fraction of filler on polymerization shrinkage of composites.



RYS. 2. Wpływ udziału nanowypełniacza na skurcz polimeryzacyjny kompozytu.
FIG. 2. Influence of the volume fraction of nanofiller on polymerization shrinkage of composites.



RYS. 3. Wpływ udziału wypełniaczy szklanych na mikrotwardość kompozytów.
FIG. 3. Influence of the volume fraction of the filler on microhardness of composites.



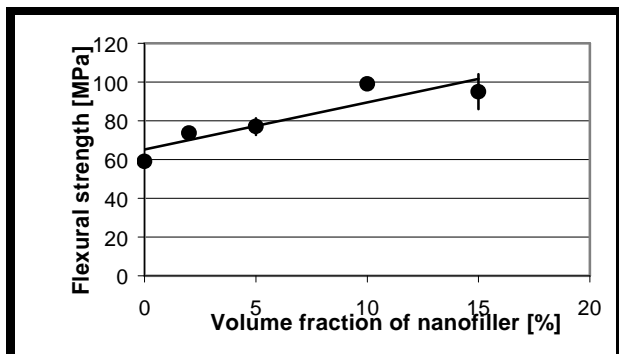
RYS. 4. Wpływ nanowypełniacza na mikrotwardość kompozytów o sumarycznym udziale wypełniacza 40 i 60%.
FIG. 4. Influence of n-SiO₂ volume fraction on the microhardness of the composites containing 40% and 60% of fillers.

za pomoc lampy halogenowej typu Hilux 250. Następnie przeprowadzono pomiary skurczu polimeryzacyjnego, mikrotwardości, wytrzymałości na zginanie oraz nasiłki wodnej.

Wyniki badań

Skurcz polimeryzacyjny

Skurcz polimeryzacyjny jest powodem wad materiałowych kompozytowych, powoduje bowiem naprężenia na granicy



RYS. 5. Wpływ udziału nanowypełniacza na wytrzymałość na zginanie kompozytów.
FIG. 5. Influence of the volume fraction of the nanofiller on flexural strength.

composite materials, since it causes the forming of crevices on the tooth - filling boundary, which subsequently promote of decay in these places. Reduction of the polymerization shrinkage is thus an actual research field of composite materials. Measurements of the polymerization shrinkage were performed on samples in the form of cylinder 14 mm diameter and 3 mm high using a gas pycnometer AccuPyc 1330, manufactured by Micrometrics.

The polymerization shrinkage can be reduced by an appropriate selection of filler particles. According to the measurements' results an increase of the volume fraction of the filler

Udział wypełniacza (w tym nanowypełniacza) Volume fraction of fillers (nanofiller)	Chłonność wody Water sorption [$\mu\text{g}/\text{mm}^3$]
40% (2%)	3,02
40% (5%)	9,62
40% (10%)	4,88
40% (15%)	8,26
50% (15%)	10,52

TABELA 1. Chłonność wody kompozytów o różnym udziale wypełniacza.
TABLE 1. Water sorption for composites with various volume fractions of fillers.

wypełnienie - tkanka, a w konsekwencji powstawanie szczelin i wypadanie wypełnienia. Ograniczenie skurczu polimerizacyjnego jest w tym aktualnym kierunkiem badań materiałów kompozytowych. Skurcz polimerizacyjny badano za pomocą piknometru helowego typu AccuPyc 1330 firmy Micrometrics na próbkach o średnicy około 14 mm i wysokości 5 mm.

Jednym ze sposobów zmniejszania skurczu polimerizacyjnego jest odpowiedni dobór cz. stek wypełniacza. Jak wykazały pomiary, wzrost udziału wypełniacza (RYS. 1) powoduje zmniejszenie skurczu polimerizacyjnego z 7,8% dla czystej żywicy do 1,3% dla zawartości wypełniacza 52%. RYS. 2 przedstawia wpływ udziału cz. stek n-SiO₂ na skurcz polimerizacyjny kompozytu o sumarycznym udziale wypełniacza 40%. Z rysunku tego widać, że wprowadzenie nanowypełniacza zmniejsza znacznie skurcz polimerizacyjny.

Właściwości mechaniczne

W celu porównania właściwości mechanicznych wytworzonych materiałów kompozytowych wykonano pomiary mikrotwardości oraz przeprowadzono próby trójpunktowego zginania. Próbkę do próby zginania miały wymiary 25x2x2 mm. Pomiary mikrotwardości wykonano przy obciążeniu 200G.

Uzyskane wyniki potwierdzają, że mikrotwardość silnie zależy od udziału wypełniacza (RYS. 3). Uzasadnia to dążenie do uzyskania maksymalnych udziałów objętościowych wypełniacza ceramicznego. Ograniczeniem zawartości cz. stek ceramicznych jest jednak konieczność otrzymania spójnego materiału (perkolacja fazy polimerowej). W praktyce zawartość wypełniacza nie przekracza 70% i zależy od wielkości oraz kształtu cz. stek.

Właściwości mechaniczne mogą kształtować poprzez odpowiedni dobór wielkości cz. stek. Szczególnie korzystne może być zastosowanie nanowypełniacza w połączeniu z mikrowypełniaczami ze szkła ceramicznego. RYS. 4 przedstawia wpływ udziału n-SiO₂ na mikrotwardość kompozytów dla sumarycznej zawartości wypełniacza 40% i 60%. Natomiast RYS. 5 przedstawia wpływ udziału nanowypełniacza na wytrzymałość na zginanie. Można zauważyć, że wzrost udziału nanocz. stek SiO₂ powoduje znaczny wzrost wytrzymałości na zginanie. Należy także zaznaczyć, że kompozyty z zawartością nanowypełniacza powyżej 5% spełniają wymagania normy ISO 4049 i ich wytrzymałość na zginanie wynosi powyżej 80 MPa.

Chłonność wody

Na wykonanych kompozytach przeprowadzono również badania chłonności wody wg normy [1]. Wyniki badań przedstawiono w Tabeli 1. Norma ISO 4049 określa maksymalną chłonność wody - 40 mg/mm³. Z przeprowadzonych pomiarów wynika, że wszystkie kompozyty spełniają wymagania normy w tym zakresie.

Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że właściwości mechaniczne takie jak wytrzymałość na zginanie oraz mikrotwardość wzrastają po wprowadzeniu nanowypełniacza do kompozytu. Dodatek nanowypełniacza powoduje również ograniczenie skurczu występującego podczas polimerizacji.

Podziękowanie

Praca badawcza sfinansowana przez KBN jako zadanie badawcze zamawiane 21/PBZ-KBN-082/T08/2002.

(FIG. 1) causes a decrease of the polymerization shrinkage from 7,8% for pure resin to 1,3% for the composite containing 52% of the filler. An additional factor influencing the polymerization shrinkage is the introduction of the nanofiller to composite material. FIG. 2 shows the influence of the volume fraction of SiO₂ particles on polymerization shrinkage of composites containing 40% of fillers. It can be observed that a small amount of nanofiller reduces significantly the polymerization shrinkage.

Mechanical properties

In order to compare the mechanical properties, microhardness measurements and three-point flexural testing were performed on the fabricated composites. Samples for bending test had dimensions of 25 x 2 x 2 mm. The microhardness measurements were carried out under loading of 200G.

The obtained results confirm that the microhardness strongly depends on the volume fraction of the filler (Fig. 3). Due to this fact it is desirable to obtain the maximum ceramic filler volume fraction. The limitation here is a requirement to create a cohesive material. Practically, the volume fraction of the filler does not exceed 70% and depends on the particles size. Mechanical properties can be modeled by an appropriate selection of the particles size. The use of nanofiller together with ceramic glass microfillers can be particularly favorable. FIG. 4 shows the influence of n-SiO₂ volume fraction on the microhardness of the composites for sumaryc volume fraction of the filler 40% and 60%. FIG. 5 shows the influence of the volume fraction of the nanofiller on flexural strength. It can be observed that an increase of the SiO₂ nanoparticles volume fraction causes a significant increase of the flexural strength. It should also be noted that the composites containing over 5% of the nanofiller are in agreement with the requirements of ISO 4049 standard and their flexural strength amounts to over 80MPa.

Water sorption

The fabricated composites were also tested on the account of water sorption according to standard [1]. The tests' results are shown in TAB. 1. ISO 4049 standard specifies the maximum water sorption - 40 μg/mm³. According to the performed measurements it can be stated that all of the composites meet the requirements of the standard in that range.

Summary

Based on the results of the performed tests it can be stated that the mechanical properties such as flexural strength and microhardness increase with introduction of the nanofiller in the composite. Also, the addition of the nanofiller brings about a decrease of the polymerization shrinkage.

Acknowledgements

This work was financed by KBN as an ordered research assignment 21/PBZ/KBN/028/T08/2002.

Piśmiennictwo References

- [1] PN-EN ISO 4049:2003 "Polimerowe materiały do wypełnień, odbudowy i cementowania".
- [2] M. Lewandowska, M. Andrzejczuk, J. Kara, M. Szafran, G. Rokicki, K.J. Kurzydłowski: kompozyty, 11 (2004) 302-305.

OCENA WYTRZYMAŁO CI UTWIERDZENIA TYTANOWEJ KOTWICY O·C·A·M Z PRZEZNACZE- NIEM DO KR GOSŁUPA

L. CIUPIK*, A. KIERZKOWSKA**, W. JARMUNDOWICZ***,
A. RADEK****, D. ZARZYCKI*****

*INSTYTUT BIOMEDYCZNEJ INŻYNIERII - LFC (IBME-LFC),
ZIELONA GÓRA;
**IBME-LFC, UNIwersYTET ZIELONOGÓRSKI, ZIELONA GÓRA;
***KATEDRA I KLINIKA NEUROCHIRURGII AKADEMII MEDYCZNEJ,
WROCLAW;
****KLINIKA NEUROCHIRURGII I CHIRURGII NERWÓW OBWODO-
WYCH, UNIwersYTET MEDYCZNY, ŁÓD ;
*****KATEDRA I KLINIKA ORTOPEDII I REHABILITACJI
COLLEGIUM MEDICUM UNIwersYTETU JAGIELLO SKIEGO,
KRAKÓW-ZAKOPANE.

Słowa kluczowe: kotwica, stabilizacja, badania
biomechaniczne, siła wyrywania, kręgosłup szyjny
[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 77-79]

Wstęp

Stopy tytanu znajdują obecnie szerokie zastosowanie w implantologii. Dobre własności, szczególnie mechaniczne sprawiają, że wydają się być, przy obecnym stanie wiedzy, materiałami jeszcze niezastąpionymi, szczególnie na elementy przenoszące znaczne obciążenia. Stop tytanu Ti6Al4V ELI jest wykorzystywany także na elementy zaczepowe w postaci kotwic potylicznych O·C·A·M (Occipito Cervical Anchorage Method) -- projekt celowy KBN nr T11/022 2000 C/5312 - na stabilizatory pogranicza czaszkowo-kręgosłupowego. Stabilizator zyskał duże uznanie, a trafny wybór tego materiału została potwierdzona dobrymi wynikami biomechanicznymi oraz doniesieniami medycznymi na materiale klinicznym dotyczącym ok. 100 przypadków [2, 5]. Efektywność wspomaganie leczenia, wykazana w stosunku do innych rodzajów stabilizatorów bazujących na wkrętach lub hakach [3, 4], czynnikiem do niedomagań [1], zachęca twórców do szerszej analizy i szuka-

EVALUATION OF FIXATION STRENGTH OF THE SPINAL TITANIUM O·C·A·M ANCHOR

L. CIUPIK*, A. KIERZKOWSKA**, W. JARMUNDOWICZ***,
A. RADEK****, D. ZARZYCKI*****

*INSTYTUT BIOMEDYCZNEJ INŻYNIERII - LFC (IBME-LFC),
ZIELONA GÓRA;
**IBME-LFC, UNIwersYTET ZIELONOGÓRSKI, ZIELONA GÓRA;
***KATEDRA I KLINIKA NEUROCHIRURGII AKADEMII MEDYCZNEJ,
WROCLAW;
****KLINIKA NEUROCHIRURGII I CHIRURGII NERWÓW OBWODO-
WYCH, UNIwersYTET MEDYCZNY, ŁÓD ;
*****KATEDRA I KLINIKA ORTOPEDII I REHABILITACJI
COLLEGIUM MEDICUM UNIwersYTETU JAGIELLO SKIEGO,
KRAKÓW-ZAKOPANE.

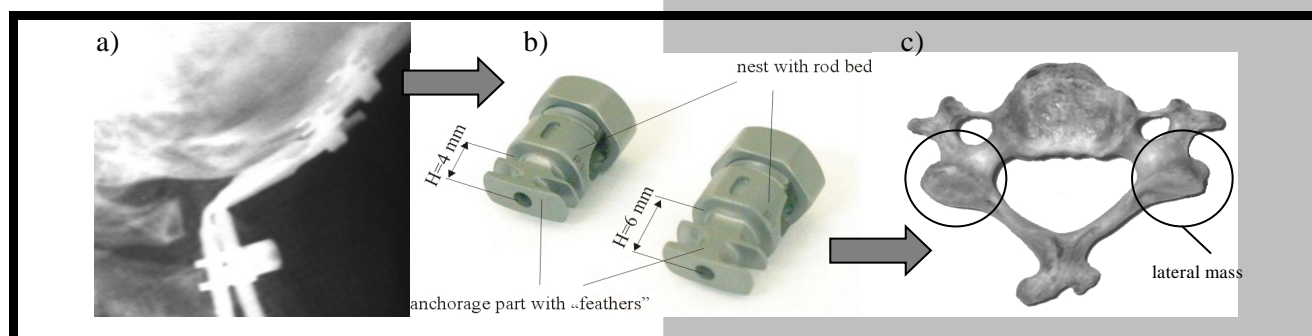
Key words: anchor, stabilization, biomechanical
tests, pull-out strength, cervical spine
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 77-79]

Introduction

Nowadays the titanium alloys have a wide application in the field of orthopaedics. Good properties, including mechanical ones, make them indispensable, especially when destined for load bearing elements.

The alloy Ti6Al4V ELI is used for the tap elements - occipital anchors O·C·A·M (Occipito Cervical Anchorage Method) in the occipito-cervical stabilization (KBN project nr T11/022 2000 C/5312). The O·C·A·M stabilizer gained much acceptance and the material choice adequacy was confirmed by good biomechanical results and clinical application in about 100 cases [2, 5].

The effectiveness of healing-aid properties, demonstrated superiority over other stabilization systems [2, 3], based on screw and hooks, often with defects [1], encouraged the creators to further analysis and looking for the possibility to use this method of fixation in the bone in other parts of the spine. One of such possibilities is using the titanium anchors in the cervical part - their fixation in the vertebral lateral mass (FIG. 1).



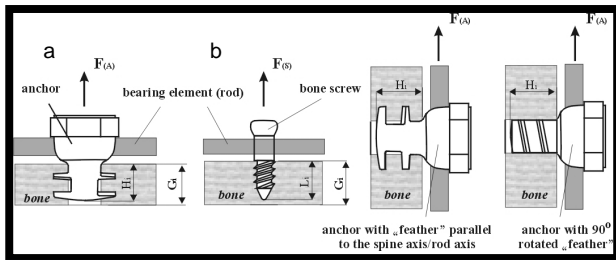
RYS. 1. Kotwica O·C·A·M: a) dotychczasowe
zastosowanie w kości potylicznej, b) budowa c)
nowe miejsce wykorzystania w części szyjnej
kręgosłupa.
FIG. 1. O·C·A·M anchor: a) up to now fixation in
the occiput, b) design, c) new fixation site in
cervical spine.

The subject of this work is the interdisciplinary and clinical - confirming the Ti6Al4V alloy suitability in the anchorage elements in the cervical spine.

Material and methods

The subject of investigation was the evaluation of cervical anchors fixation in the bone (FIG. 1), which was the

nia mo liwo ci wykorzystania tego sposobu ł czenia pr ta z ko ci w kr gosłupie człowieka. Jednym z pomysłów jest zastosowanie tytanowych kotwic w cz ci szyjnej przez ich wprowadzenie do masywów bocznych kr gów (RYS. 1). Tematem pracy s interdyscyplinarne badania biomechaniczno-kliniczne potwierdzaj ce przydatno stopu Ti6Al4V na elementy kotwiczne w cz ci szyjnej kr gosłupa.



RYS. 2. Schematy obci eniowe testów wytrzymał ciowych: a) dla kotwicy, b) dla wkr ta, c) dla kotwic o ró nie zorientowanych "piórach".

FIG. 2. Loading schemes for strength tests: a) for anchor, b) for screw, c) for anchor with differently directed "feathers".

Materiały i metody

Przedmiotem bada była ocena utwierdzenia kotwic szyjnych (RYS. 1) w ko ci, wyra ona sił wrywania w zale no ci od jako ci ko ci w miejscu osadzenia, konstrukcji kotwicy, wytrzymał ci materiału, z którego została wykonana, prawidłowego planowania operacji oraz techniki wszczepiania.

Badania sprowadzały si do znalezienia relacji mi dzy anatomi i zale no ciami wymiarowymi kr gów szyjnych oraz okre lenia optymalnych rejonów sytuowania, najbardziej racjonalnych ze wzgl dów biomechanicznych i bezpiecznych z klinicznego punktu widzenia; wykorzystano modele odcinka szyjnego, preparaty oraz technik diagnozowania TK. Ponadto przeprowadzono teoretyczn analiz modeli: tkanka kostna-implant z zastosowaniem MES, w celu wyznaczenia sumarycznych stanów przemieszcze oraz napr e. Bior c pod uwag aspekt praktyczny/kliniczny pracy dokonano weryfikacji zało e , dotycz cych techniki wszczepiania.

Badania wytrzymał ciowe przeprowadzono z u yciem maszyny wytrzymał ciowej wraz z odpowiednim oprzyrz - dowaniem. Testy wytrzymał ciowe w pierwszym etapie wykonano na ko ciach zwierz cych. Polegały na wyznaczeniu osiowej siły wrywania $F_{(A)}$ (RYS. 2a) w zale no ci od wysoko ci kotwicy $H=4$ i $H=6$ mm i sposobu osadzenia w ko ci: jedno- lub dwukorówkowo. Porównywano równie siły potrzebne do wrywania kotwic $F_{(A)}$ "6" i wkr tów kostnych $F_{(S)}$ (RYS. 2b) o tej samej długo ci lecz ró nych rednicach: ± 3.5 , ± 4 i ± 4.5 . Oceniono te wpływ kierunku usytuowania w ko ci "piór" kotwicy w odniesieniu do osi pr ta/kr gosłupa w te cie z poprzecz n sił wrywaj c $F_{(A)}$ (RYS.2c). Próby wytrzymał ciowe zako czyła ocena ko ci oraz materiału.

Wyniki

W badaniach wytrzymał ciowych najwi ksze warto ci osiowych sił wrywania otrzymano dla kotwic osadzonych dwukorówkowo: ~ 1100 N dla "6" i ~ 700 N dla "4" - RYS. 3.

pull-out strength dependant on the bone quality in the fixation place, anchor design, material strength, operation planning and implantation technique.

The goal was to find the correlation between the anatomy and dimensional relations of the cervical vertebrae and to determine most optimal fixation sites - the most biomechanically rational and clinically safe. The cervical spine model, spinal preparations and CT technique were used. Moreover, the theoretical analysis of the bone-implant model: was carried out using FEM (Finite Elements Method) to determine the displacement and stress. Considering the practical - clinical aspect the implantation technique assumptions were verified.

The strength test were carried out on animal bone, using a standard testing machine with proper equipment. Their aim was to investigate the axial pull-out force (strength) $F_{(A)}$ (FIG. 2a) dependant on: anchor weight "4" and "6" mm, method of fixation in the bone: mono-cortical or bi-cortical.

The strength required to pull-out the anchors $H=6$ mm - $F_{(A)}$ and bone screws $F_{(S)}$ (FIG. 2b) of the same length L and different diameters were compared: ± 3.5 mm, ± 4 mm and ± 4.5 mm. There was also evaluated the "feather" positioning direction when referred to the rod/spine axis were verified in the transversal pull-out strength $F_{(A)}$ test (FIG. 2c). The strength tests were finished after the bone material evaluation.

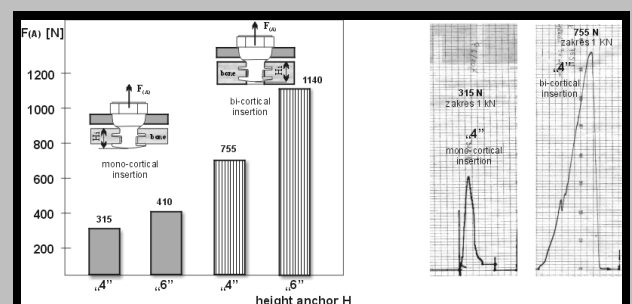
Results

The highest values of axial pull-out forces ($F_{(A)}$) were achieved for the bi-cortically fixed anchors: "1100N for "6" and "700N for "4" - see FIG. 3. Also, the anchorage using "6" anchors was stronger in each case, however the proportions were differentiated for different bone quality. Similar force values were archived for the bone screw of 6mm length and diameters ± 3.5 mm, ± 4 mm and ± 4.5 mm, 125-165N for mono-cortical fixation and 295-310N for bi-cortical fixation.

No distinct correlation between the screw diameter and pull-out force $F_{(S)}$ was noted.

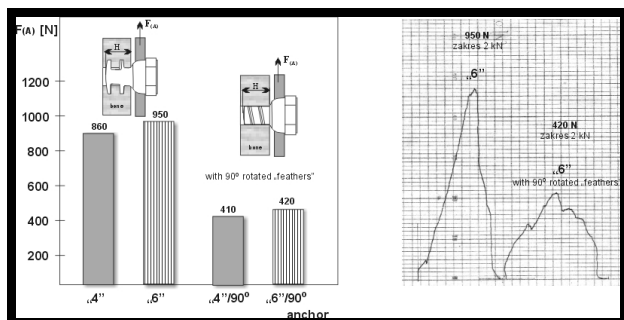
The anchors design "with feathers" seems to be more favourable for physiological pull-out of the bone (FIG. 4). The forces values in each test were higher for such construction but differed depending on the preparation quality.

The example models of C3-C4 motion segment with fixed O.C.A.M anchor stabilization analyzed for displacement and stress states using FEM are presented on FIGURE 5.



RYS. 3. Warto siły wrywania kotwicy $F_{(A)}$ dla: wysoko ci kotwic "4" i "6" mm oraz stabilizacji jedno- i dwukorówkowej.

FIG. 3. Pull-out strength value $F_{(A)}$ - for anchor weight "4" and "6" and for mono- and bi-cortical stabilization.



RYS. 4. Warto siły wyrwania kotwicy FA dla kotwic "4" i "6" mm o różnie zorientowanych "piórach".

FIG. 4. Pull-out strength value FA for "4" and "6" anchors with differently directed "feathers".

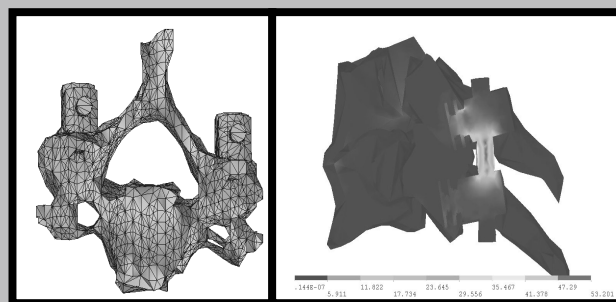
Równie kotwiczenie z użyciem kotwicy "6" w każdym przypadku było mocniejsze, przy czym proporcje były różne i zależne od właściwości kości. Dla wkrętów kostnych o długości $L=6$ mm, odpowiadającej wysokości kotwicy $H=6$ mm i średnicach ± 3.5 , ± 4 i ± 4.5 , otrzymano zbliżone wartości sił od 125–165 N przy zamocowaniu jednokorówkowym i od 295–310 N przy dwukorówkowym osadzeniu. Nie zauważono wyraźnej korelacji pomiędzy średnicą wkręta a siłą $F(S)$. Konstrukcja kotwicy z "piórami" usytuowanymi zgodnie z osią przemieszczenia wypadła korzystniej podczas fizjologicznego wyrwania z kości (RYS. 4). Wartości sił w każdym z prób były dla nich wyższe i zależne od rodzaju i jakości preparatu.

Przykładowe modele segmentu ruchowego C3-C4 z wmontowanym stabilizatorem opartym na kotwicy O.C.A.M, które poddano analizie stanu przemieszczenia oraz naprężenia za pomocą analizy elementów skończonych MES, przedstawia RYS. 5.

Podsumowanie

Analiza otrzymanych wyników wskazuje, że jako utwierdzenia kotwicy wykonanej ze stopu Ti6Al4V w dużym stopniu zależy od jakości kości w miejscu osadzenia oraz prawidłowego przygotowania łóżka. Znacznie korzystniejsze jest mocowanie dwukorówkowe, które podwyższa siłę wyrwania nawet 2–3 krotnie. Mniejszy wpływ na opór (siłę $F_{(A)}$) przy wyrwaniu ma natomiast wysokość kotwicy. Podobnie wypada porównanie wartości $F_{(A)}$ pomiędzy kotwicami "współosiowymi" z kręgosłupem a kotwicami z odwróconym gniazdem. Siła wyrwania otrzymana dla kotwic zamocowanych dwukorówkowo była również 2–3 razy większa, co zwiastuje pewno utwierdzenia tych elementów w kości. Wstępna analiza MES pokazała, że dla przyjętego stanu obciążenia i odpowiednio dobranych wartości stałych materiałowych, konstrukcja tytanowa dobrze spełnia swoją funkcję.

Wyniki z przeprowadzonych badań potwierdzają, że pod względem biomechanicznym kotwice wykonane ze stopu tytanu Ti6Al4V spełniają dobrze rolę elementu zaczepowego w stabilizacjach kręgosłupa, szczególnie części szyjnej z dostępu operacyjnego tylnego, a stop tytanu Ti6Al4V jest materiałem doskonale nadającym się na tego typu stabilizatory. Zastosowanie kotwic w praktyce ułatwia chirurgowi proces budowania układów korekcyjno-stabilizacyjnych, daje więc szansę pewno biomechaniczną w porównaniu z obecnie stosowanymi stabilizatorami i mniej obciąża pacjenta.



RYS. 5. Model MES segmentu C3-C4 z wmontowanym stabilizatorem oraz analiza MES stanu naprężenia zredukowanych (Von Mises's'a) [MPa].

FIG. 5. FEM model of C3-C4 segment with fixed O.C.A.M stabilizer and FEM analysis of reduced strain (Von Mises's'a) [MPa].

Conclusions

The results analysis indicates that the fixation quality of the Ti6Al4V anchor highly depends on the bone quality in the fixation site and on proper anchor bed preparation. Much more favourable is bi-cortical fixation, which increases the required pull-out strength even twice or three times.

The reliability of fixation increases adequately. A lesser influence on pull-out resistance $F_{(A)}$ has anchor weight. When compared, values of $F_{(A)}$ achieved for coaxial anchors and anchors with reversed nest. Similarly, the pull-out strength of bi-cortical anchors was 2-3 times higher, what ensures good fixation in the bone.

The initial FEM Analysis indicated, that for the assumed loading and material constant the titanium alloy construction fulfils its function well.

The test results confirm the fact that biomechanically the titanium alloy anchors are proper elements for fixation in the bone to serve as a stabilising structure, especially for the posterior part. Also, the Ti6Al4V alloy is a material highly suitable for such stabilisation. Anchors application facilitates the surgical process of building the correction-stabilization systems, ensures higher biomechanical reliability in comparison to other clinically used stabilization systems and burdens the patient less.

Piśmiennictwo

References

- [1] Kuniyoshi Abumi, M.D., Yasuhiro Shono, M.D., Manabu Ito, M.D., Hiroshi Taneichi, M.D., Yoshihisa Kotani, M.D., and Kiyoshi Kanada, M.D.: Complication of Pedicle Screw Fixation in Reconstructive Surgery of the Cervical Spine, Spine Vol.25, 8, pp 962-969.
- [2] Łabadzka A., Ciupik L., Tysiorowski M., Zarzycki D.: Biomechaniczne uwarunkowania stosowania kotwicy potylicznej w stabilizacji pogranicza czaszkowo-kręgosłupowego, Acta of Bioengineering and Biomechanics, Vol. 3, Suppl. 1/2001, Oficyna Wyd. Politechniki Wrocławskiej 2001.
- [3] Richter M., Wilke Kluger, Neller S., Claus L., Puhl W.: Biomechanical evaluation of a New modular rod-screw implant system for posterior instrumentation of the occipito-cervical spine: in-vitro comparison with two established implant systems, Eur. Spine. J. (2000) 9:417-425.
- [4] Ronald W. Lindsy, M.D., Theodore Miclau, M.D.: Posterior Lateran Mass Plate Fixation of the Cervical Spine, J. South Orthop. Assoc. vol. 9(1): 36-44, 2000.
- [5] Tysiorowski M., Zarzycki D., Ciupik L., Łabadzka A., Lipik E.: Kotwica potyliczna - nowy wszczep w stabilizacji potyliczno-szyjnej. Aspekty biomechaniczne i kliniczne, Ortopedia, Traumatologia, Rehabilitacja, nr 3/2000, Rok II.

NOWE FUNKCJE PROTEZ KR GOSŁUPA Z Ł CZE- NIA SPECYFICZNYCH WŁASNO CI POLIMERU PEEK I ROZWI ZANIA KONSTRUKCYJNEGO

L. CIUPIK*, Ł. J DRYCH *, P. POWCHOWICZ *, J. PIENI EK **

* INSTYTUT BioMEDYCZNEJ IN YNIERII - LFC (IBME-LFC),
ZIELONA GÓRA;

** KATEDRA I ODDZIAŁ KLINICZNY NEUROCHIRURGII I NEUROTRAU-
MATOLOGII Ł SKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH.

Streszczenie

*Post p w implantologii wymusza poszukiwanie bio-
materiałów, które spełniłyby szereg, czasami przeciw-
stawnych wymaga stawianych implantom. Nowym
materiałem w medycynie jest polimer PEEK (polyether-
etherketone). Moduł spr ysto ci wzdłu nej zbli o-
ny do ko ci, przezierno radiologiczna oraz wysoka
odporno chemiczna umo liwiają nadanie protezom
kr gosłupa wykonanym z PEEK nowych funkcji. Na-
tomiaś niska wytrzymało mechaniczna polimerów
stwarza ograniczenia konstrukcyjne protez-implantów.
Wydaje si , e wyroby z polimeru PEEK stanowi al-
ternatyw dla implantów metalicznych.*

Słowa kluczowe: implant, biomateriał, polimer,
konstrukcja implantu, biomechaniczny akcelerator
zrostu kostnego, bio-akcelerator, badania kliniczne.
[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 80-83]

Wprowadzenie

Post p w dziedzinie implantologii stymuluje zastosowa-
nie nowych biomateriałów, które mogłyby spełni wielo-
raki wymagania zwi zane z instalacj i funkcjonowaniem
implantu w ciele człowieka. Fakt ten nabiera szczególnego
znaczenia w przypadku implantów stanowiących protezy,
które z racji swoich funkcji, winny pozosta na stałe lub prze-
bywa w organizmie długookresowo. Biomateriał powinien
charakteryzowa si m.in. nast puj cymi cechami: biotole-
rancj , odporno ci na korozj , dobr wytrzymało ci przy
obci eniu statycznym i dynamicznym, nie utrudnia sto-
sowania znanych technik diagnostycznych, a ponadto np.
dobr obrabialno ci i niskim kosztem. Dotychczas po-
wszechnie stosowane materiały do wytwarzania implantów
to głównie stałe implantowe, stopy tytanu i ich modyfikacje.
Nowym, obecnie "modnym" materiałem, który dzi ki swo-
im specyficznym własno ciom znalazł zastosowanie w
medycynie jest polimer (polyetheretherketone) znany pod
nazw handlow PEEK-Optima. W spondylochirurgii, PEEK
znajduje szczególnie zastosowanie na implanty, które głów-
nie "pracuj na ciskanie". Stanowi , wi c mog np. prote-
zy trzonowe i mi dzytrzonowe przeznaczone dla odcinka
szyjnego, piersiowego i l d wiowego. W konstruowaniu
protezy nale y bra pod uwag obni one własno ci wytrzyma-
ło ciowe polimerów w stosunku do materiałów metalicz-
nych. Własno ci nowego biomateriału w odniesieniu do in-
nych materiałów implantowych podano w TABELI 1.

NEW FUNCTIONS OF THE SPINAL PROSTHESES RESULTING FROM COMBINING DESIGN AND SPECIFIC PROPERTIES OF PEEK POLYMER

L. CIUPIK*, Ł. J DRYCH *, P. POWCHOWICZ *, J. PIENI EK **

* INSTYTUT BioMEDYCZNEJ IN YNIERII - LFC (IBME-LFC),
ZIELONA GÓRA;

** KATEDRA I ODDZIAŁ KLINICZNY NEUROCHIRURGII I NEUROTRAU-
MATOLOGII Ł SKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH.

Abstract

*The progress in the field of implantology forces the
search for materials, which would fulfil many require-
ments, set for implants (often opposing ones). A new
material in medical application is polymer PEEK
(polyetheretherketone). The elastic modulus of PEEK,
similar to the bone one, radiolucency and high chemi-
cal resistance allow giving the spinal implants made
of PEEK new functions. However, low mechanical
strength of polymers causes the design limitations.
It seems that the medical products made of PEEK set
an interesting alternative for the metallic devices.*

Key words: implant, biomaterial, polymer, implant
design, biomechanical of bone healing, bio-accelera-
tor, clinical tests.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 80-83]

Introduction

The progress in the field of implantology stimulates the
application of new materials, which are to fulfil the differen-
tiated requirements resulting from indication and work con-
ditions of the implant in human body. It seems to be espe-
cially essential when the implant is to be a long-term pros-
thesis. Thus, a biomaterial has the following features:
biocompatibility, corrosion resistance, good static and dy-
namic strength, facility to be used with standard techniques
and also good machinability and low cost. Up to now, the
commonly used materials are: implant steel, titanium alloys
and their modifications. A new material, which specific prop-
erties caused it is now used in medical applications is a
polymer (polyetheretherketone), known as PEEK-Optima.
It finds especially wide field of application in the spondylo-
surgery, mostly for implants subjected to high compressive
forces - vertebral body prostheses and intervertebral pros-
theses. During the prosthesis design one should take un-
der consideration reduced strength properties of the poly-
mers when compared to the metallic materials. The me-
chanical properties in comparison to other implant materi-
als are presented in TABLE 1.

Material properties and implant design

PEEK-Optima is a semi-crystalline, thermoplastic mate-
rial (polyetheretherketone). From the point of view of ortho-

Materiał <i>Material</i>	1	2	3	4	5	6
	Granica plastyczności <i>Yield Point</i> [MPa]	Wytrzymałość na rozciąganie <i>Tensile Strength</i> [MPa]	Moduł Younga <i>Elastic Modulus</i> [GPa]	Wytrzymałość na zginanie <i>Bending Strength</i> [MPa]	Gęstość <i>Density</i> [g/cm ³]	Twardość <i>Hardness</i> [HRC]
PEEK-Optima	≥ 90	≥ 100	≥ 3,8	≥ 150	1,3	
PEEK-Optima + 20% CF		≥ 200	≥ 15	≥ 288		
PEEK-Optima + 30% CF		≥ 228	≥ 19	≥ 324		
PEEK-Optima + 60% CF		≥ 340	≥ 50	≥ 590		
Ceramika Al ₂ O ₃ <i>Ceramics Al₂O₃</i>		≥ 500	≥ 380	400	3,94	
Polietylen UHMWPE 1000 <i>Polyethylene</i>	≥ 21	≥ 42	≥ 3	≥ 30	0,94	
Ti6Al4V <i>Titanium alloy</i>	≥ 795	≥ 860	≥ 100		4,05	32
TiAl6Nb7 <i>Titanium alloy</i>	≥ 800	≥ 900	≥ 105			35
316LVM <i>Implant steel</i>	≥ 860	≥ 980	≥ 220		8,1	30
Kość kortykałna <i>Cortical bone</i>		≥ 90	≥ 13	≥ 160		
Kość gąbczasta <i>Cancellous bone</i>			≥ 0,1			

TABELA 1. Właściwości biomateriałów stosowanych na implanty.
TABLE 1. The properties of the implant materials.

Właściwości materiału a konstrukcja implantu

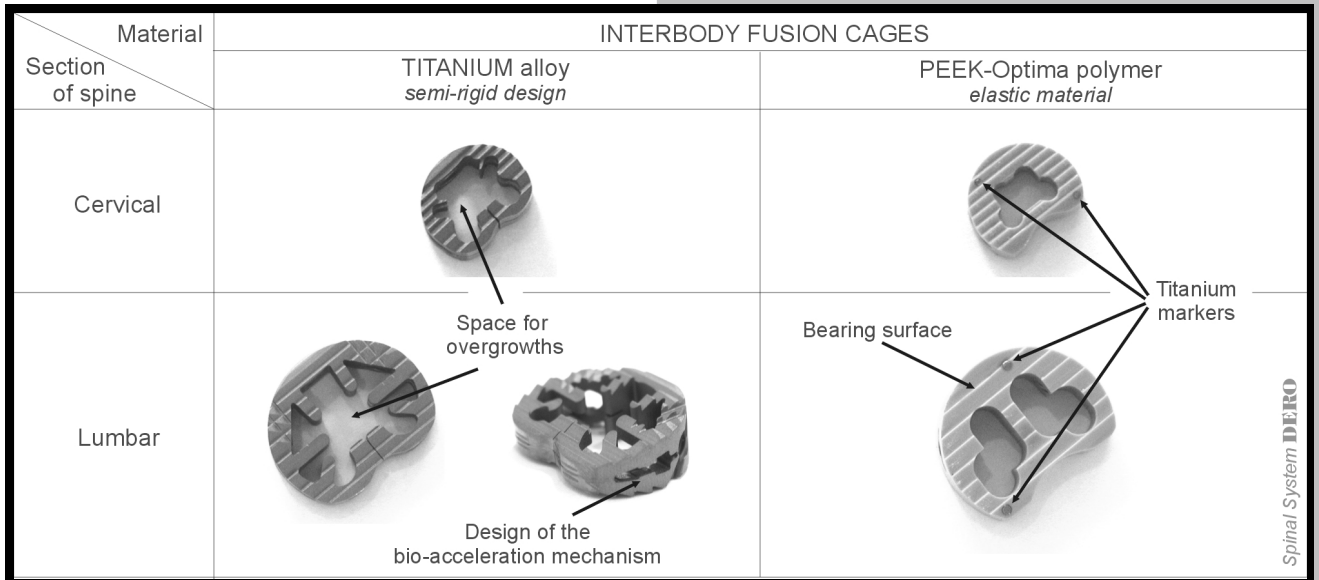
Polimer PEEK Optima (polyetheretherketone) to półkryształiczny, termoplastyczny tworzywo sztuczne. Jedną z najważniejszych cech materiału typu PEEK z punktu widzenia zastosowań ortopedycznych jest moduł sprężystości (E moduł Younga) zbliżony do modułu kości (kolumna 3, TAB. 1). Badania wykazały, że moduł sprężystości PEEK (bez dodatków) sytuuje go w pobliżu wartości E dla kości gąbczastej i kortykałnej [5, 6, 8]. Dla stopu tytanu Ti6Al4V wartość ta jest kilkadziesiąt razy większa. Proporcje te zmieniają się w przypadku polimeru wzmocnionego włóknami w głowicy, dla PEEK Optima z 60% zawartości włókien w głowicy moduł Younga jest już tylko dwa razy mniejszy niż w przypadku stopu tytanu Ti6Al4V. Polepszone właściwości sprężyste materiału PEEK korzystnie wpływają na biokompatybilność w stabilizacjach ortopedycznych. Powstaje po danej relacji sztywności na styku implant-kość. Umożliwia to unikanie negatywnej przebudowy struktury kości (remodeling) oraz (stress shielding), czyli powstawania bezodkształceniowej strefy w rejonie implantu [2, 10].

Polimery cechują się niską wytrzymałością mechaniczną w stosunku do materiałów metalicznych, ograniczając ich zastosowanie w implantach silnie obciążonych. Wytrzymałość na rozciąganie PEEK bez dodatków jest o 8-krotnie mniej-

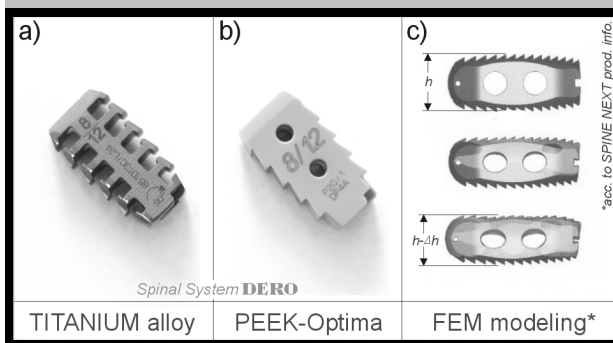
paedically application, one of the most important features of PEEK is the elasticity modulus (Young's modulus), which is similar to the bone one (see TAB. 1). The research indicated that the PEEK modulus situates it near the value for the cancellous and cortical bone [5, 6, 8]. The elasticity modulus value for titanium alloy Ti6Al4V is almost dozens times higher. These proportions are changed for the PEEK reinforced with carbon fibres - the value of elasticity modulus of PEEK-Optima with 60% of carbon fibres is only few times lower than the Ti6Al4V alloy. The improved properties of PEEK influence favourably the biocompatibility in the orthopaedic stabilizations. There appears the required ratio of bone and implant stiffness. It allows avoiding the destructive bone remodelling and stress shielding (a zero-loading zone near the implant) [2, 10].

When compared to the metallic materials, the polymers mechanical strength is low, what definitely limits their application in the highly loaded implants. The tensile strength of PEEK is 8 times lower than Ti6Al4V strength (see TAB. 1) [1]. A little bit better properties can be found for polymers reinforced with carbon fibres. Nevertheless, the strength is still about 4 times lower than for mentioned alloy Ti6Al4V [1]. The differences in the mechanical properties force the design changes of the implant. The examples of intervertebral prostheses made of PEEK-Optima and titanium alloy are presented on FIG. 1 and 2.

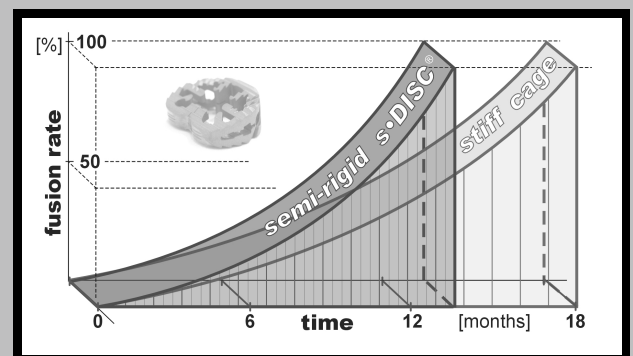
Fulfillment of the biomechanical conditions caused the change of polymeric prostheses design. The strength considerations caused that with the remaining contour of the prosthesis the volume and the bearing surface increased. The total volume of such polymeric prostheses is about 1,5-2 times bigger than the titanium equivalents, in which the material amount was minimized. The area for bone fusion was decreased and the micromotions, resulting from the



RYS. 1. Tytanowe i polimerowe protezy kręka mi dzytrzonowego dla kręgośłupa szyjnego i lędźwiowego.
FIG. 1. The titanium and polymer prostheses of intervertebral disc: for cervical and lumbar spine.



RYS. 2. Tytanowa i polimerowa proteza-czop do stabilizacji mi dzytrzonej poprzedzonej ródoperacjyn dystrakcj przez rotacj wg zmodyfikowanej metody R-PLIF/ALIF (DERO).
FIG. 2. The titanium and polymer prosthesis for the intervertebral stabilization, prior to the intra-operative distraction through rotation according to the modified method R-PLIF/ALIF (DERO).



RYS. 3. Bio-akceleracja zrostu kostnego mikroruchami w obszarze implantu wypełnionego autogennymi przeszczepami kostnymi, w protezie typu semi-rigid Disc/DERO [11].
FIG. 3. The bio-acceleration of the bone fusion with micromotions in the area of implant filled with autogenous bone graft in the semi-rigid prosthesis sDisc/DERO [11].

sza ni w przypadku Ti6Al4V (kolumna 2, TAB.1). Nieco lepsze własno ci posiadaj polimery wzmocnione włókna- mi w głowymi. Mimo to ich wytrzymało jest nadal około 4-krotnie mniejsza ni w przypadku przytaczanego stopu Ti6Al4V [1]. Ró nice we własno ciach wytrzymało ciowych wymuszaj zmiany konstrukcji implantu. Na RYS. 1 i 2 przedstawiono przykład protez mi dzytrzonowych wykonanych ze stopu tytanu i PEEK-Optima.

Spełnienie uwarunkowa biomechanicznego funkcjonowa- nia protezy sprawiło, e konstrukcja protez z polimeru musiała ulec zmianie. Wzgl dy wytrzymało ciowe spowodowały, e przy zachowaniu obrysu zewn trznego protezy wzrosła obj to materiału, a w konsekwencji tak e powierzchnia no na protezy. Całkowita obj to kształ- towanych protez polimerowych jest około 1,5 do 2 razy wi ksza ni odpowiedników tytanowych, w których zminimali- zowano ilo materiału. Zmniejszył si obszar dla przero- stów kostnych i usuni to mikroruchy wynikaj ce ze spr - ysto ci konstrukcyjnej protezy.

elasticity of titanium prosthesis design were eliminated.

Another important feature of PEEK is its radiolucency, es- sential in the neurological diagnostics. It allows a complete post surgical control, including the bone fusion control, with the diagnostic methods such as: RTG, CT, MRI [3, 7]. When filled with proper filling material it gives a clear radiological picture. However, PEEK is not identified, so the prostheses must have metal/titanium markers allowing the intra- and post surgical placement control (in two planes).

The bearing surfaces have properly formed slots, which filled with bone graft or bone substitute hasten the bone healing. The ratio of the total prosthesis volume and bone graft filled volume is a compromise between proper strength and proper bone fusion conditions. As far as the authors are aware, up till now, there are no data concerning the influence of the material deformation on the speeding up the spondylodesis. It was proved, however, that the titanium prostheses cause the micromotions resulting from the special design and has- ten the bone fusion (according to the Wolff's law). Such a system was developed in LfC laboratories and first used in

Inn wa n cech polimeru PEEK jest jego „przezierno”, szczególnie istotna w diagnostyce neurologicznej. Umo liwia ona kompletno kooperacyjną kontrolę obejmując również obserwację zrostu kostnego z zastosowaniem różnych technik diagnostycznych takich jak RTG, CT i MRI [3, 7]. Dzięki modyfikacji materiału odpowiednimi wypełniaczami można uzyskać wyraźny kontrast w obrazach RTG. PEEK nie jest identyfikowalny, w związku z tym protezy muszą być wyposażone w znaczniki-markery metalowe/tytanowe umożliwiający różnicową kooperacyjną identyfikację położenia w dwóch płaszczyznach oceny radiologicznej. Powierzchnie nie posiadają odpowiednio ukształtowane otwory, które są wypełniane gruzem kostnym lub substytutem kości umożliwiając powstawanie zrostu kostnego. Stosunek objętości całkowitej protezy do objętości przestrzeni wypełnianej gruzem kostnym jest w przypadku PEEK swoistym kompromisem pomiędzy uzyskaniem odpowiedniej wytrzymałości a zapewnieniem jak najlepszych warunków do powstania zrostu kostnego. Dotychczas nie ma danych dotyczących wpływu odkształceń sprężystych materiału na powstawanie/przyspieszenie spondylodezy. Tymczasem protezy wykonane z tytanu w porównaniu z ruchami wynikającymi z normalnych czynności życiowych pacjenta, dzięki specjalnej konstrukcji wywołują mikroruchy, które zgodnie z prawem Wolffa - przyspieszają zrost kostny. Utworzony w ten sposób mikroruchowy układ biomechaniczny został opracowany w laboratorium firmy LfC i wykorzystany po raz pierwszy w spondyloimplantologii w półsztywnych protezach dysków zwanych soDisc/DERO i stanowi tzw. "biomechaniczny akcelerator zrostu kostnego". Wstępne obserwacje kliniczne przy zastosowaniu "bio-akceleratora" potwierdzają jego korzystne działanie, co wyraża się skróceniem o około 1/3÷1/4 czasu spondylodezy. (RYS. 3).

Biopolimer PEEK zastosowany na implanty ograniczył zjawisko uczulenia na metal ("metalozę"). Około 10% populacji jest uczulona na pierwiastki zawarte w materiałach metalowych [9], a w przypadku zastosowania polimeru pacjent nie musi być poddawany testom uczulenia na metal. Ponadto przy stosowaniu PEEK znika czyśto pojawiający się opór psychiczny (bojaźń) pacjenta związana ze wszczepieniem implantu metalowego. Materiał ten jest odporny chemicznie w agresywnym środowisku fizjologicznym pacjenta, i jest całkowicie odporny na korozję.

Podsumowanie

1. Poprzez wykorzystanie szczególnych właściwości materiału, odpowiedniej konstrukcji implantu oraz naturalnej ruchomości człowieka można stworzyć bio-akcelerator sprzyjający szybszej spondylodezie. Pierwszym tego typu urządzeniem w świecie zastosowanym w spondylochirurgii jest proteza do stabilizacji miedzyprzonowej semi-rigid Disc/DERO.
2. Właściwości biomateriału PEEK takie jak wartość modułu sprężystości zbliżona do kości, przezierność radiologiczna, odporność chemiczna w porównaniu z odpowiednią konstrukcją implantu-protezy powodują, że jest on alternatywą dla dotychczas stosowanych w chirurgii neuroortopedycznej materiałów metalowych.
3. Polimer PEEK (polyetheretherketon) ma jednak ograniczone zastosowanie w implantologii głównie ze względu na małe właściwości wytrzymałościowe.
4. Protezy polimerowe "pracujące na ściskanie" spełniają wymagania stawiane tego typu wyrobom/stabilizatorom kręgosłupowym i są dobrymi zamiennikami w stosunku do odpowiedników wykonanych z materiałów metalicznych.

semi-rigid disc prostheses known as soDisc/DERO and sets so called bio-accelerator of the bone healing. The initial clinical data concerning the use of bio-accelerator confirm its beneficial influence and action, which can be expressed with shortening the spondylodesis time of about 1/3÷1/4 (see FIG.3).

The bio-polymer PEEK applied in the implants has definitely limited the phenomenon of allergic reactions - so called metallosis. It was observed in about 10% of population the allergic reaction on the elements contained in the metallic materials [9], when in the case of polymer application the patient doesn't have to be tested for allergic reaction. It is also very important, from the psychological point of view, the patients fear of metallic device implantation disappears. PEEK is chemically resistant in the aggressive environment of the body and also totally corrosion resistant.

Conclusions

1. Taking advantage of the specific material properties, proper implant design and natural human motions, one may create a bio-accelerator, which favours spondylodesis hastening. The first device of such type used in spondylo-surgery is an intervertebral stabilization prosthesis - semi-rigid Disc/DERO.
2. The PEEK properties such as: the value elasticity modulus similar to the bone one, radiolucency, chemical resistance combined with proper implant design allow treating it as an alternative for metallic materials used in the neuro-orthopaedics up till now.
3. PEEK has a limited application in the implantology, mainly because of its poor strength properties.
4. The polymeric prostheses subjected to high compressive loads fulfil the requirements set for this kind of spinal implants; they are also an interesting alternative for metallic implants.

Pi miennictwo

References

- [1] Albrektsson T., Hansson H-A.; An ultrastructural characterization of the interface between bone and sputtered titanium or stainless steel surfaces; *Biomaterials* 7 (1986), pp 201-205.
- [2] Albert K.; Characterization of wear in composite material orthopaedic implants. 2. The implant/ bone interface; *Bio-Med-Mater-Eng.*, 1994, pp 199-211.
- [3] Behling C.A., Spector M.; Quantitative characterization of cells at the interface of long-term implants of selected polymers; *J. Biomed. Mat. Res.* 1986, 20: 653-666.
- [4] Black J.; Orthopaedic biomaterials in research and practice; Churchill Livingstone, New York, 1988.
- [5] Munstedt H., Zeiner H.; Polyaryletherketone - neue Möglichkeiten für Thermoplaste; *Kunststoffe* 79 (1998). pp 993-996.
- [6] Reimer W., Weidig R.; Polyetheretherketon (PEEK); *Kunststoffe*, 86 (1996). pp 1540-1544.
- [7] Von Recum A.; Handbook of Biomaterials Evaluation: Scientific, Technical and Clinical Testing of Implant Materials; Macmillan. New York 1986.
- [8] Williams D.F., Me Namara A., Turner R.M.; Potential of polyetheretherketone (PEEK) and carbon-fibre reinforced PEEK in medical applications; *J. Mater. Sci. Lett.*, 1987, 6, 188-190.
- [9] Wenz L.M., Merritt K., Brown S.A.; In vitro biocompatibility of polyetheretherketone and polysulfone composites; *J. Biomed. Mat. Res.*, 1990, 24: 207-215.
- [10] Turner C. H., Three Rules for Bone Adaptation to Mechanical Stimuli, *Bone* (1998) Vol. 23, No.5:399-407.
- [11] Radek M., Ciupik L., Radek A., Grochel M., Referat na XII Sympozjum Sekcji Neuroortopedii Polskiego Towarzystwa Neurochirurgów, Kazimierz Dolny 21-23 maj 2004.

ANALIZA NUMERYCZNA UKŁADU STENT – NACZYNIĘ WIECOWE W WARUNKACH ANGIOPLASTYKI WIECOWEJ

JAN MARCINIAK, WITOLD WALKE, ZBIGNIEW PASZENDA

CENTRUM INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ, POLITECHNIKA ŁÓDZKA,
UL. AKADEMICKA 2A, 44-100 GŁIWICE

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 84-86]

Wprowadzenie

Istotnym problemem w procesie kształtowania właściwości użytkowych stentów jest dobór właściwości mechanicznych biomateriału metalowego, z którego one wytwarzane. W odniesieniu do tego rodzaju implantów proces ten powinien być realizowany w oparciu o charakterystyki biomechaniczne wyznaczane w warunkach uwzględniających przede wszystkim ich technikę implantacji [1-5]. Wynika to z konieczności rozprężenia stentu do wymaganej średnicy w udrańnianym naczyniu krwionośnym. Efektem rozprężenia implantu musi być jego trwałe odkształcenie, zapewniające po usunięciu balonika drożność naczynia. Z uwagi na fakt, iż nie ma 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. Przydatność tego rodzaju obliczeń jest związana z przyjętymi założeniami, które powinny odzwierciedlać warunki anatomiczno-fizjologiczne występujące w układzie naczyń wiecowych. Na wyznaczenie charakterystyk stentu wywiera również wpływ naczynie wiecowe, w którym implant jest rozprężany. Jego właściwości biomechaniczne są związane m.in. z przebiegiem procesu chorobowego (miażdżycowego) [5]. Zatem dla poprawności wyznaczenia charakterystyki biomechanicznej stentu wiecowego konieczne jest opracowanie również modelu numerycznego naczynia wiecowego. Dopiero opracowanie kompleksowego modelu stent-naczynie wiecowe z uwzględnieniem nieliniowości fizycznej i geometrycznej stentu oraz właściwości biomechanicznych naczynia zapewnia prawidłowe ocenienie zjawisk zachodzących w trakcie implantacji.

Metodyka badań

Analizie biomechanicznej poddano stent wiecowy typu "slotted tube". Stent o wyjściowej średnicy $d_0=1,85$ mm wstępnie zaciskano do średnicy $d_1=1,55$ mm, a następnie rozprężano do średnicy $d_2=2,45$ mm. Na bazie wykonanego modelu geometrycznego implantu wygenerowano siatkę elementów do obliczeń metod elementów skończonych (SOLID 95). Ze względu na powtarzalność struktury obiektu obliczenia prowadzono dla pojedynczego segmentu stentu. Do wyznaczenia charakterystyki biomechanicznej stentu wiecowego przyjęto następujące dane materiałowe (stal Cr-Ni-Mo typu AISI 316L): moduł Young'a $E=200\,000$ MPa, liczba Poisson'a $\nu=0,33$, $R_m=470$ MPa, $R_{p0,2}=195$ MPa. W pracy opracowano również model geometryczny naczy-

NUMERICAL ANALYSIS OF THE STENT – CORONARY VESSEL SYSTEM IN CONDITIONS OF CORONARY ANGIOPLASTY

JAN MARCINIAK, WITOLD WALKE, ZBIGNIEW PASZENDA

CENTRUM INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ, POLITECHNIKA ŁÓDZKA,
UL. AKADEMICKA 2A, 44-100 GŁIWICE

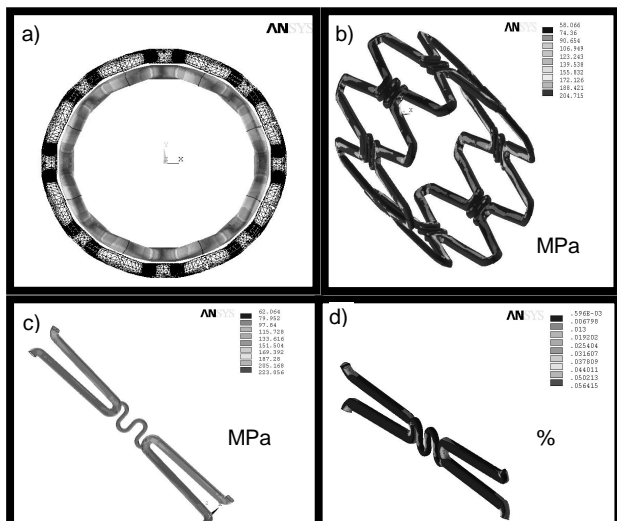
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 84-86]

Introduction

The selection of mechanical properties of metallic biomaterials is an important issue in the formation process of application properties of stents. With reference to this type of implants, the optimization process of their mechanical properties should be realized with reference to the loads resulting from the operating technique [1-5]. It results from the necessity to expand the stent to the required diameter in the blood vessel. The effect of the implant expansion should be a plastic strain ensuring the patency of the vessel after the balloon removal. Owing to the fact there is no possibility to investigate the interaction of stents and blood vessels in vivo tests, more and more literature reports are devoted to model investigations realized with the use of the finite element method. Usefulness of the mentioned calculations is strongly connected with established guidelines which should reflect anatomical-physiological conditions in the coronary vessels system. The coronary vessel where the stent is expanded exerts an influence on the determined stent characteristic. Biomechanical properties of coronary vessels are strongly connected with the course of a disease (atherosclerosis) [5]. It manifests itself in the decrease of suppleness of vessel walls to deformations. Therefore to determine the biomechanical characteristic of the coronary stent correctly it is necessary to formulate a numerical model of the coronary vessel. Only the complex model (stent - coronary vessel) taking physical and geometrical nonlinearities of the stent as well as biomechanical properties of the vessel into consideration ensures the correct evaluation of phenomena occurring during the implantation.

Methodology

A "slotted tube" type stent was analyzed. The stent of the initial diameter $d_0=1,85$ mm was initially clamped to the diameter $d_1=1,55$ mm and then extended to the diameter $d_2=2,45$ mm. On the basis of the developed geometrical model, a mesh of elements for finite element calculations was generated (SOLID 45). Because of the repeating structure of the object, the calculations were carried out for a single convolution of the stent. To determine the biomechanical characteristic of the coronary stent the following material data were assumed (316L stainless steel): Young's modulus $E=200\,000$ MPa, Poisson's ratio $\nu=0,33$, ultimate tensile strength $R_m=470$ MPa, yield point $R_e=195$ MPa. The geometrical model of the coronary vessel with a thin-walled tube shape was also developed. The following



RYS. 1. Wyniki analizy numerycznej stent wie cowego: a - etap zaciskania stentu na balonik, b, c - rozkład napr e w elementach pojedynczego segmentu stentu, d - rozkład odkształce w ramionach pojedynczego segmentu stentu.

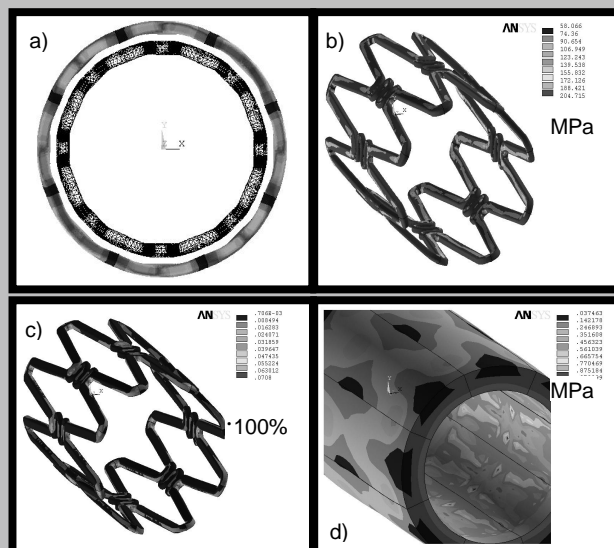
FIG. 1. Results of the coronary stent analysis: a - clamping of the stent on the balloon, b, c - stress distribution in a single segment of the stent, d - strain distribution in a single segment of the stent.

nia wie cowego w postaci cienko ciennej rury. Dla takiego modelu przyj to nast puj ce cechy geometryczne: rednica wewn trzna naczylnia $d = 2,35$ mm, grubo cianki naczylnia $g = 0,80$ mm. Długo modelu naczylnia wie cowego odpowiadała podwojonej długo ci pojedynczego segmentu stentu. Dla potrzeb oblicze przyj to warto modułu Younga równ $E = 0,75 \times 10^7$ Pa i liczby Poisson'a $n=0,4$ [5].

Wyniki bada

Pierwszy etap pracy obejmował analiz stanu napr e i odkształce elementów stentu, odnosz c si do procesu symuluj cego jego wst pne zaciskanie na baloniku. Na podstawie przeprowadzonych oblicze stwierdzono, e warto napr e zredukowanych mie ciła si w zakresie $s_{red} = 62-223$ MPa i osi gała maksimum w obszarze zagi - cia ramion stentu - RYS. 1. Wyznaczone warto ci odkształce pojedynczego ramienia stentu nie przekraczały 5%.

Drugi etap pracy obejmował analiz numeryczn procesu rozpr ania stentu ze rednicy $d_1 = 1,55$ mm do $d_2 = 2,50$ mm w naczylniu wie cowym o rednicy 2,40 mm - RYS. 2a. Przeprowadzona analiza numeryczna wykazała, e warto ci napr e zredukowanych w pojedynczym segmencie stentu mie ciły si w zakresie $s_{red} = 60-210$ MPa - RYS. 2b i osi gały równie warto ci maksymalne w obszarze zagi - cia ramion stentu. Maksymalne warto ci odkształce nie przekraczały warto ci 7% - RYS. 2c. Dodatkowo przeprowadzono obliczenia numeryczne dla opracowanego modelu naczylnia wie cowego. Na podstawie oblicze stwierdzono, e warto ci napr e zredukowanych b d cych efektem rozpr ania stentu w naczylniu mie ciły si w zakresie $s_{red} = 0,1-1$ MPa - RYS.2d, a warto ci odkształce wyniosły ok. 8%.



RYS. 2. Wyniki analizy numerycznej etapu rozpr ania stentu w naczylniu wie cowym: a - rozrost rednicy stentu, b - rozkład napr e w elementach pojedynczego segmentu, c - rozkład odkształce w elementach pojedynczego segmentu, d - rozkład napr e w elementach naczylnia wie cowego.

FIG. 2. Results of the numerical analysis of the stent expansion in the coronary vessel: a - increase of the diameter of the stent, b - stress distribution in a single segment of the stent, c - strain distribution in a single segment of the stent, d - stress distribution in the coronary vessel.

form features were assumed for this model: the inside diameter of the vessel $d = 2,35$ mm, the vessel wall thickness $g = 0,80$ mm. The coronary vessel model length was assumed to be the double length of a single segment of the stent. The Young's modulus $E = 0,75 \times 10^7$ Pa and Poisson's ratio $n=0,4$ was used for the calculations [5].

Results

The first stage of the work included stress and strain analysis of the stent elements. The analysis related to the process that simulated the initial clamping of the stent on the balloon. On the basis of the calculations it has been stated that reduced stresses were in the range $s_{red} = 62-223$ MPa and the maximum value was observed in the U-bend region - FIG. 1. Strains of the single bend did not exceed 5%.

The second stage of the work included a numerical analysis of the expansion process of the stent from the diameter $d_1 = 1,55$ mm up to the $d_2 = 2,50$ mm in the coronary vessel of the diameter equal to 2,40 mm. The analysis has shown that reduced stresses in the single segment of the stent were in the range $s_{red} = 60-210$ MPa - FIG. 2b. The maximum value of the stresses was observed in the U-bend region. Maximum strains did not exceed the value of 7% - FIG. 2c. Additionally, numerical calculations of the coronary vessel model were carried out. On the basis of the calculations it has been stated that reduced stresses resulting from the expansion of the stent in the vessel were in the range $s_{red} = 0,1-1$ MPa - FIG.2d and strain values were about 8%.

W pracy przeprowadzono analizę numeryczną układu stent - naczynie wieńcowe z uwzględnieniem uwarunkowania zabiegu angioplastyki wieńcowej. Zbieg ten związany jest z wstępnym zaciskaniem stentu na baloniku i następnym jego rozprężeniem do wymaganej średnicy. Wyznaczone wartości naprężenia i odkształcenia elementów stentu wieńcowego stanowi podstawę do optymalizacji cech geometrycznych i ukształtowania odpowiednich własności mechanicznych stali Cr-Ni-Mo w procesie obróbki cieplnej.

Pi miennictwo

- [1] Dumoulin C., Cochelin B.: Mechanical behaviour modeling of ballon-expandable stents. J. Biomech. 33, 2000, 1461-1470.
 [2] Etave F., Finet G., Boivin M., Boyer J.: Mechanical properties of coronary stents determined by using FEM. J. Biomech. 34, 2001, 1065-1075.
 [3] Migliavacca F., Petrini L., Colombo M., Auricchio F., Pietrabissa R.: Mechanical behaviour of coronary stents investigated through the FEM. J. Biomech. 35, 2002, 803811.

FUNKCJE LECZNICZE A MATERIAŁ I KONSTRUKCJA IMPLANTU TYPU INSPIN DO STABILIZACJI MI DZYWYROSTKOWEJ KR GOSŁUPA

L. CIUPIK*, A. GRACZYK*, M. GAJEWSKI*, A. MACIEJCZAK **,
A. RADEK***, D. ZARZYCKI ****

* INSTYTUT BIOMEDYCZNEJ INŻYNIERII - LFC (IBME-LFC),
ZIELONA GÓRA;

** SZPITAL WOJEWÓDZKI IM. W. ŁUKASZA, TARNÓW

*** KLINIKA NEUROCHIRURGII I CHIRURGII NERWÓW OBWODOWYCH,
UNIWERSYTET MEDYCZNY, ŁÓDŹ.

**** KATEDRA I KLINIKA ORTOPEDII I REHABILITACJI
COLLEGIUM MEDICUM UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO,
KRAKÓW-ZAKOPANE.

Słowa kluczowe: implant, stabilizacja mi dzykr -
gowa, stabilizacja mi dzywrostkowa, ból i d wiowy,
biomateriał, biomechanika mi dzykr gowa
[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 86-91]

Anatomia i biomechanika odcinka lędźwiowego kręgosłupa oraz jego dysfunkcje

Kręgosłup człowieka stanowi ruchomą dla tułowia oraz szyi spełniając trzy funkcje: ochronną dla rdzenia kręgowego, podporową oraz ruchową. Strukturę przenoszącą obciążenia i ciężar poszczególne kręgi jest tzw. triada stawowa (triada podparcia), którą tworzą kręgi i kręgi mi dzykr go-

Summary

The work presents results of the numerical analysis of the stent - coronary vessel system taking angioplasty conditions into consideration. This operation is connected with initial clamping of the stent on the balloon and the following expansion to a desired diameter. Calculated values of stresses and strains of the coronary stent are the basis for optimization of geometrical features as well as appropriate mechanical properties of the Cr-Ni-Mo stainless steel.

References

- [4] Chua S., Mac Donald B., Hashmi M.: FEM simulation of stent expansion. J. Mat. Process. Technology, 120, 2002, 335-340.
 [5] Paszenda Z., Marciniak J., Bzdowski R., Rusiński E., Smolnicki T.: Biomechanical characteristics of the stent-coronary vessel system. Acta of Bioengineering and Biomechanics, vol. 4, 1, 2002, 81-89.

MATERIAL AND DESIGN INFLUENCE ON THE HEALING FUNCTIONS OF THE INSPIN TYPE IMPLANT FOR THE INTERSPINOUS STABILIZATION

L. CIUPIK*, A. GRACZYK*, M. GAJEWSKI*, A. MACIEJCZAK **,
A. RADEK***, D. ZARZYCKI ****

* INSTITUTE OF BIO-MEDICAL ENGINEERING - LFC (IBME-LFC),
ZIELONA GÓRA;

** PROVINCIAL ST LUKAS HOSPITAL, TARNOW

*** DEPARTMENT OF NEUROSURGERY AND PERIPHERAL NERVES
SURGERY, MEDICAL UNIVERSITY OF LODZ

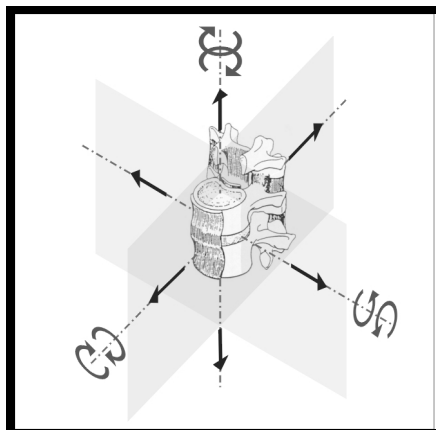
**** JAGIELLONIAN UNIVERSITY COLLEGE OF MEDICINE
DEPARTMENT OF ORTHOPAEDIC AND REHABILITATION IN ZAKOPANE,
KRAKÓW-ZAKOPANE.

Key words: implant, intervertebral stabilization,
interspinous stabilization, lumbar spine dysfunctions,
biomaterial
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 86-91]

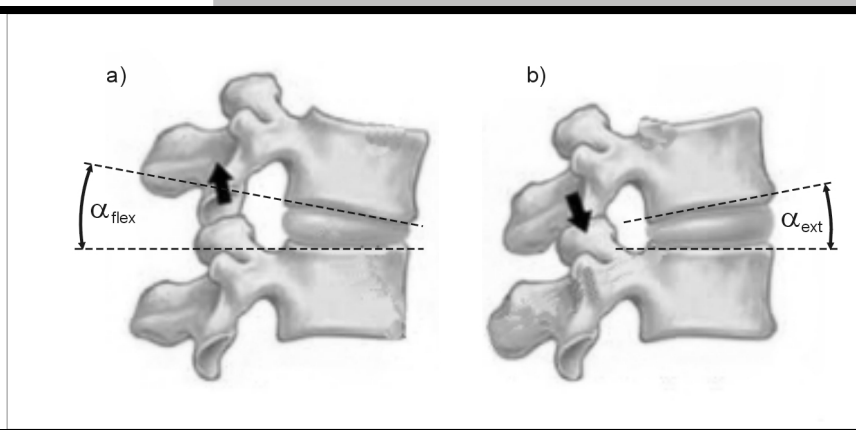
Anatomy and biomechanics of lumbar spine and its dysfunctions

In human, the vertebral column sets the mobile axis of the trunk and neck, situated on the dorsal side of the body and performing three functions: protective for the spinal cord, supportive (for the whole body) and mobile (sets a motor organ) [1]. The load bearing structure and the connection between particular vertebrae is so called articular triad (support triad), which includes intervertebral disc and two sym-

wy (dysk) i dwa symetryczne stawy międzywyrostkowe [1]. Pozwala ona na równomierne rozłożenie obciążenia, a to dzięki istnieniu dynamicznej równowagi sił i momentów. Dysk umożliwia ruch, działa jak "poduszka" łagodząca wstrząsy, mechanizm przenoszący obciążenia i element dystansowy. Stawy międzywyrostkowe (stawy maziowe) odgrywają znaczącą rolę nie tylko w przenoszeniu obciążenia, lecz również mają za zadanie ograniczać momenty zginające i powstrzymać przed zgięciem wyrostków podczas przeprostu, ograniczają obrót wokół kręka międzykręgowego oraz zapobiegają urazom. Ruchomość kręgosłupa lędźwiowego i stawów międzywyrostkowych przedstawiona jest na RYS. 1 i na RYS. 2.



RYS. 1. Ruchomość kręgosłupa.
FIG. 1. The mobility of the lumbar spine.



RYS. 2. Ruchomość stawów międzywyrostkowych (A-skłon; B-przeprost) (www.spineuniverse.com).
FIG. 2. The mobility of facet joints: a) flexion; b) extension (modified, according to www.spineuniverse.com).

Jedynym ruchem możliwym dla stawów międzywyrostkowych jest zgięcie w kierunku pionowym, następujące podczas zginania i przeprostu kręgosłupa. Stawy te in vivo mogą przenosić do 15% naprężenia ściskających działających na cały kręgosłup (największe obserwowano dla przeprostu). Stawy międzywyrostkowe są silnie unerwione - w torze stawowej stwierdzono obecność włókien oraz zakończeń nerwowych, w tym zawierających substancję P (domniemany neuromediator bólu). Uważa się, że tak silne unerwienie jest jednym z powodów pojawiania się bólu lędźwiowego towarzyszącego przecięciu stawów międzywyrostkowych [2].

Statystyki wskazują, że główną przyczyną niepełnosprawności ludzi poniżej 45 roku życia jest ból lędźwiowy i cierpi z jego powodu około 75% ludności [7]. Zazwyczaj jest on związany z dyskopatią, (w następstwie której pojawia się ucisk na korzenie nerwowe i rdzeń kręgowy), jednak również częstym jego powodem okazują się zmiany chorobowe stawów międzywyrostkowych. Powyższe dane jasno wskazują na istotną rolę triady stawowej oraz dysfunkcji jej elementów na prawidłowe funkcjonowanie kręgosłupa.

Metody leczenia bólu lędźwiowego

W zależności od indywidualnych potrzeb pacjenta określanych z użyciem różnorodnych technik diagnostycznych, stosuje się kilka metod leczenia bólu lędźwiowego. Obok leczenia farmakologicznego, stosowane są metody chirurgiczne, z których najpopularniejsze są: całkowite usunięcie dysku, laminektomia (usunięcie blaszki łuku kręgowego) oraz zrost kostny (spinal fusion). Niestety, duża inwazyjność, konieczność dodatkowej stabilizacji, usztywnienie całego segmentu kręgosłupa i ograniczona ruchomość oraz zwi-

metrical facet joints [1]. Thanks to the dynamic equilibrium of moments and forces it allows the uniform load bearing. The intervertebral disc allows motion, serves as a shock absorber, load distributor and spacer. The facet joints are paired, true synovial joints. They play an important role not only in load bearing, but also in limiting the slide of the articular processes during extension, limiting bending and rotation moments and in injury prevention. The mobility of the lumbar spine and facet joints is presented on FIG. 1 and FIG. 2.

The only movement permitted by the facet joints is a sliding movement in a vertical direction, which is executed during flexion and extension of the vertebral column. It appeared

that they can carry a significant amount of total compressive load (about 15%) applied to the spine in vivo (maximal pressure occurs during extension).

The facet joints are highly innervated - in the capsule there was stated the presence of nerve fibres and endings, including nerves containing the substance P (a putative neuromodulator of pain). It is thought that such high innervation may be a reason for low back pain accompanying the facet overloading [2].

The statistics indicate that the main cause of disability in people younger than 45 years of age is low back pain and that about 75% of all people experience it at some time in their lives [7]. Low back pain is usually connected and referred to disc herniation (resulting in the spinal cord and nerve roots compression), however, an equally often reason appear to be the pathological changes of the facet joints. The above data clearly indicate the essential role of articular triad and its elements dysfunction in the correct functioning of the spine.

Methods of treatment the low back pain

In the clinical practice, there are used several methods of low back pain treatment, dependently on the individual patients needs and evaluated using different diagnostic techniques. Except the pharmacological treatment, the surgical methods such as discectomy, laminectomy and spinal fusion are common. Unfortunately, high invasiveness, need for additional stabilization, stiffening of the spinal segment, limited mobility and increased risk of adjacent segments degeneration are undoubted disadvantages of these meth-

szone ryzyko degeneracji segmentów przylegających, stanowi niewątpliwie wady tych metod [7].

W ostatnich latach zdobywa uznanie nowa chirurgiczna metoda leczenia bólu lędźwiowego - stabilizacja międzywyrostkowa tj. stabilizacja struktur tylnych kręgosłupa za pomocą implantu umieszczonego pomiędzy wyrostkami kolczystymi. Wydaje się, że nie posiada ona wad wymienionych metod. Funkcje oraz wymagania stawiane stabilizacji międzywyrostkowej w odniesieniu do konstrukcji i materiału oraz dotychczasowe rozwiązania przedmiotem dalszych rozważań.

Stabilizacja międzywyrostkowa - funkcje i wymagania

W odcinku lędźwiowym kręgosłupa istnieje dynamiczna równowaga sił i momentów, taka, że dominują siły ściskające [6]. W przypadku wystąpienia zmian zwyrodnieniowych struktur kolumny przedniej lub tylnej kręgosłupa równowaga ta zostaje zachwiana, co powoduje zmiany obciążenia, prowadzą do degeneracji. Towarzyszy temu silny ból, zwłaszcza podczas zginania i przeprostu. Głównym zadaniem stabilizacji międzywyrostkowej jest więc odciążenie tylnych struktur kręgosłupa i przywrócenie równowagi w możliwie dużym zakresie, a więc przeniesienie dużej części obciążenia ściskającego i ograniczenie ruchu przeprostu. Nie może się to jednak odbywać kosztem ruchomości kręgosłupa w pozostałych płaszczyznach. Badania na zwierzętach wykazały bowiem, że zachowanie ruchomości poprzez stabilizację elastyczną sprzyja odbudowie struktury dysku [8] oraz zmniejsza ryzyko uszkodzenia segmentów przylegających [3]. Z biomechanicznego punktu widzenia istotne jest również, aby sam implant znajdujący się między wyrostkami kolczystymi siedzących kręgowców posiadał pewną elastyczność i nie powodował zniszczenia struktury wyrostków.

Reasumując, implant do stabilizacji międzywyrostkowej winien zapewniać przeniesienie obciążenia ściskającego z ograniczeniem przeprostu, przy równoczesnym zachowaniu fizjologicznej ruchomości w pozostałych płaszczyznach - zginania bocznego i rotacji. Istotne jest więc zachowanie możliwie maksymalnej funkcji kręgosłupa.

Ważnym cechem, związanym z procedurą wszczepiania implantu jest ograniczona inwazyjność dostępu chirurgicznego i minimalna destrukcja in situ (zachowanie struktur strefy osadzania implantu) oraz łatwość jego wszczepiania.

Aby osiągnąć powyższe cele konieczna jest właściwa optymalizacja zarówno w wyborze materiału jak i konstrukcji. Należy tak rozwinąć implant konstrukcyjnie by osiągnąć jak najwięcej funkcji warunkujących poprawne działanie kręgosłupa. Czynnikiem funkcji implantu można uzyskać odpowiednio dobierając właściwość biomateriałów, przy czym, przy wyborze materiału nie należy zapominać o takich wymaganiach jak biogodność, odporność na korozję, odpowiednio właściwość cieplną czy elektryczną. Na RYSUNKACH 3 i 4 zestawiono najczęściej używane materiały na implanty kręgosłupa.

Analiza funkcji dotychczas istniejących stabilizatorów

Pierwszym rozwiązaniem implantów do stabilizacji międzywyrostkowej były tytanowe bloczki o jednorodnej strukturze umieszczone w przestrzeni międzywyrostkowej (RYS. 5a). Posiadały one dużą wytrzymałość, w tym zmniejszenie

ods [7].

Recently, a new surgical method of low back pain treatment gains popularity - an interspinous stabilization, which is the posterior structures stabilization using an implant placed between the spinous processes of two adjacent vertebrae. It seems that the disadvantages of all the above methods do not concern this one. The functions and requirements set for the interspinous stabilization and up-to-now design solutions will be discussed further.

Interspinous stabilization - functions and requirements

In the lumbar spine there exists the dynamic equilibrium of moments and forces such, that the compressive forces predominate [6]. When the spinal structures are degenerated (the anterior or the posterior column) there appears the loss of equilibrium, what changes the loads and leads to degeneration. It is accompanied by a severe pain, especially while flexion and extension. The main goal of the interspinous stabilization is to relieve loading of the posterior structures, to bring back the equilibrium in maximal possible range and to limit the motion for extension. However, it should be done without limiting the spinal motions in other planes. The tests carried out on animals indicated that mobility preservation (through elastic stabilization) favours regeneration of the disc fibrous tissue [8] and reduces the risk of adjacent segments destruction [3]. From the biomechanical point of view it is essential for the implant itself to be somehow flexible, not to cause the adjacent spinous processes failure.

To recapitulate, an interspinous implant is to ensure the compressive loads bearing and to limit extension with simultaneous preservation of physiological range of motion in remaining planes - for lateral bending and axial rotation. It is essential to preserve maximal spine function.

Another important implant feature, connected with implantation procedure is limited invasiveness of surgical approach and minimal invasiveness in situ (preservation of implant embedding area) and implantation facility.

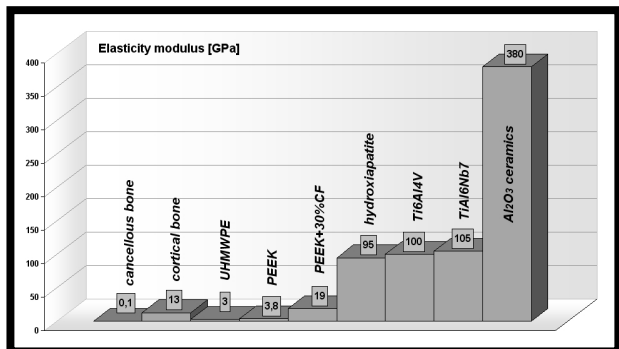
To achieve the above goals, an optimization of the material and design features is necessary. The implant design should be solved in a way to achieve the biggest number of functions conditioning proper spine function. Some implant functions may be achieved by appropriate biomaterial properties selection. Selecting the implant material one should not forget about such requirements as: biocompatibility, corrosion resistance, proper electric and frictional properties.

FIG. 3 and FIG. 4 present the properties comparison of the most commonly used biomaterials.

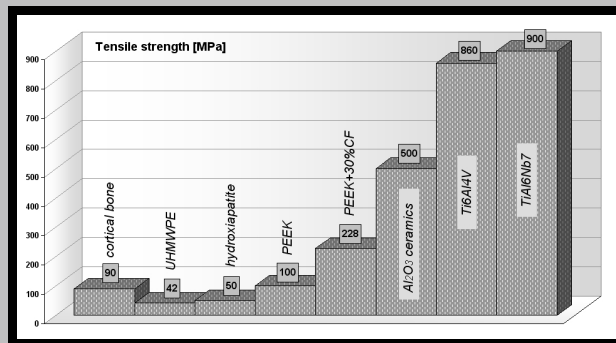
The function analysis of existing stabilizer solutions

The first solutions of the interspinous implants were homogeneous titanium blocks placed in the interspinous space (FIG. 5a). They had a high static and dynamic strength, ensured by the material, but they did not guarantee the mobility preservation. Moreover, the titanium elasticity modulus, much higher than the bone one (a lack of flexible bone-implant interface) caused adjacent tissue damage.

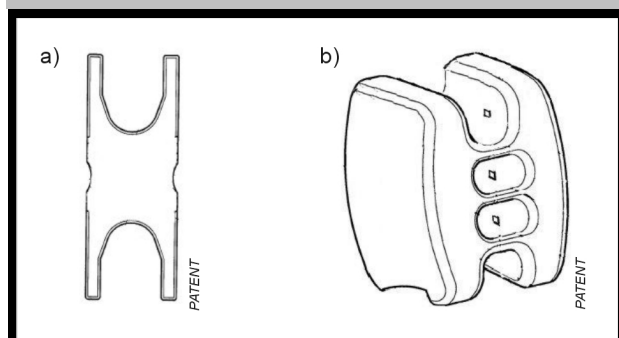
The modifications of this solution proceeded in two directions: there was changed either material or construction. In the first modification, the most important implant feature was connected with the material properties. A material was used with elasticity modulus similar to the bone one (PEEK



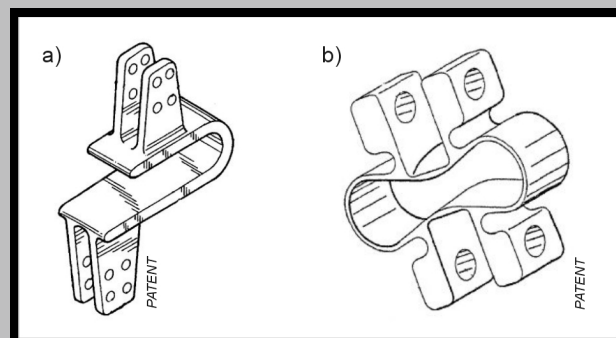
RYS. 3. Moduł Young'a dla kości oraz najczęściej stosowanych materiałów implantowych.
FIG. 3. The elasticity modulus of the bone and some most popular biomaterials.



RYS. 4. Wytrzymałość na rozciąganie dla kości oraz najczęściej stosowanych materiałów implantowych.
FIG. 4. The tensile strength of the bone and some most popular biomaterials.



RYS. 5. Tytanowy blok międzywyrostkowy: a) pierwsze rozwiązanie; b) modyfikacja.
FIG. 5. The titanium interspinous block: a) the first solution; b) modification



RYS. 6. Modyfikacje konstrukcyjne - tytanowe elementy sprężyste: a) typ "U"; b) typ "O".
FIG. 6. Design modifications: titanium elastic elements: a) "U" type; b) "O" type.

w , lecz nie gwarantowały zachowania ruchomości zbliżonej do naturalnej. Ponadto, moduł sprężystości wzdłuż osi (brak elastycznego połączenia bloczka z wyrostkami) powodował ich uszkodzenie. Modyfikacje tego rozwiązania nastąpiły dwukierunkowo: zmieniano materiał lub konstrukcję.

W innym rozwiązaniu, najważniejszą funkcją stabilizatora międzywyrostkowego związane z własnościami materiału. Zastosowano materiał o module Young'a zbliżonym do modułu kości (PEEK - polieteroeteroketon lub PEEK wzbogacony włóknami węglowymi, patrz RYS. 3 i 4). Zmodyfikowano jednocześnie rozwiązanie konstrukcyjne (RYS. 5b). Wynikami tych modyfikacji miały być zwiększona sprężystość implantu i co za tym idzie, polepszenie własności połączenia kości-implant, przy zachowaniu pewnej ruchomości.

Inną grupę implantów stanowiły modyfikacje konstrukcyjne (z zachowaniem materiału implantowego), które polegały głównie na zastosowaniu tytanowego elementu silnie sprężystego jako części międzywyrostkowej, przenoszącej obciążenia, np. w postaci "U" lub "O" (RYS. 6a i 6b). Zamocowanie implantu na wyrostkach kołczystych polegało tu na "objęciu" ich metalową konstrukcją z ew. dodatkowym zamocowaniem wkrętami kostnymi.

Również powyższe modyfikacje nie są wolne od wad. Zastosowanie PEEK-u jako materiału implantowego spowodowało znaczne zwiększenie wymiarów implantu. Mimo zagwarantowanej właściwości materiałowych i konstrukcyjnych sprężystości implantu w płaszczyźnie strzałkowej trudno jest przyznać bez odległych obserwacji klinicznych by ta sprężystość w wystarczającym stopniu odpowiadała

- polyetheretherketone or PEEK reinforced with carbon fibres, see FIG. 3 and 4). Simultaneously, the design features were modified (see FIG. 5b). The result was to be the increased implant flexibility and improved bone-implant interface with mobility preservation.

Another group of implants were the design modifications, which consisted mainly in titanium elastic element application as a load bearing part, "U" or "O" shaped (FIG. 6a and 6b). The implant fixation on the spinous processes comprised of metal brackets "embracing" the processes with additional attachment with bone screws.

The above solutions are also not free from disadvantages. PEEK application as a biomaterial resulted in considerable increase of implant dimensions. In spite of flexibility in the sagittal plane guaranteed by the material and design properties, it is hard to state without clinical observations if this flexibility responds enough with the physiological interspinous movements. Concentration on the block design elasticity caused limiting the lateral bending and axial rotation mobility. The material strength also decreased, which is very important in the case of high frequency compressive loads.

Also, the "U" type design with elastic element increased the mobility (with simultaneous good strength properties maintained), however only in the sagittal plane, what should be avoided (the extension was to be considerably limited). Except that, the need of cyclic loads damping was not taken into consideration - the design does not ensure the shock absorption, which was previously ensured by the support triad.

naturalnym ruchom mi dzywyrostkowym. Skoncentrowanie si na "spr ysto ci" zwi zanej z blokow konstrukcj spowodowało, e ograniczona została ruchomo dla zginania bocznego i rotacji. Zmniejszyła si równie wytrzymało implantu, co w wypadku działania sił osiowych o du ej cz - stotliwo ci ma istotne znaczenie. Z kolei, zastosowanie konstrukcji typu "U" zwi kszycło ruchomo (z zachowaniem dobrych własno ci wytrzymało ciowych), lecz jedynie w płaszczy nie strzałkowej, czego nale ało wła ciwie unikn (przeprost miał by znacznie ograniczony). Poza tym, przy zastosowaniu elementu spr ystego nie brano pod uwag istotnej potrzeby tłumienia cyklicznych obci e - ciskaj cych - konstrukcja nie zapewnia amortyzacji (zapewnianej wcze niej przez triad stawow).

Analizuj c istniej ce rozwi zania wydaje si , e wspomniany wcze niej kompromis - optymalizacja implantu ze wzgl - du na materiał, konstrukcj i wszczepialno - w adnym z omawianych przypadków nie został osi gni ty. Podj to wi c kroki w celu stworzenia implantu, który mo liwie najlepiej spełniałby wymagania stawiane stabilizacji mi dzywyrostkowej.

Cechy konstrukcyjne i materiałowe nowego implantu InSpin oraz uzyskane funkcje

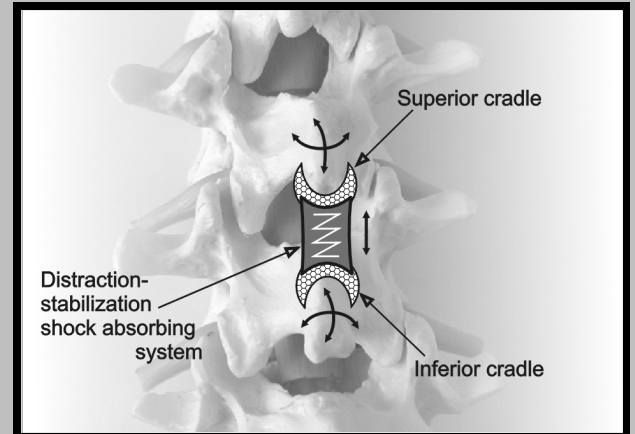
Istotne dla uzyskania jak najpełniejszego efektu leczniczego jest, zdaniem autorów, odci enie całej struktury triady stawowej, czyli implantacja układu wspomagaj cego zarówno kolumn przedni - dysk, jak i tyln - stawy mi - dzywyrostkowe. Z punktu widzenia biomechaniki, implantacja samej protezy dysku, lub implantu mi dzywyrostkowego nie prowadzi do rozwi zania problemu, przeciwnie - jak wcze niej wspomniano, odsuwaj c problem w czasie prowadzi do jego pogł bienia. Dlatego te autorzy proponuj nowy sposób my lenia: stabilizacja mi dzywyrostkowa powinna zapewni jednoczesne wspomaganie obu kolumn kr gosłupa. Nowemu rozwi zaniu towarzyszy równie nowe podej cie do leczenia dysfunkcji kr gosłupa l d wowego: "Zachowaniu ruchomo ci kolumny przedniej kr gosłupa powinno towarzyszy zachowanie ruchomo ci kolumny tylnej i odwrotnie".

Maj c na uwadze dotychczasowe rozwi zania i ich wady oraz wymagania stawiane stabilizacji mi dzywyrostkowej, stworzono implant ł cz cy - zdaniem autorów - optymalnie, zalety materiału i konstrukcji oraz uwzgl dnij cy warunki implantacji (Rys. 7).

Elementem no nym jest element nastawny (metalowy lub PEEK), zapewniaj cy odpowiedni wytrzymało na cykliczne obci enia osiowe i długi czas pracy implantu. Ma on dodatkowo mo liwo płynnej zmiany wysoko ci - ułatwia dostosowanie całego implantu do indywidualnych cech anatomicznych pacjenta. Istotna jest równie nie tylko funkcjonalno implantu in situ, lecz tak e funkcjonalno w czasie implantacji. Płynna zmiana wysoko ci powoduje, e implant wprowadzany w postaci o minimalnej wysoko ci zmniejsza inwazyjno chirurgiczn (równie ergonomiczne instrumentarium i łatwa procedura chirurgiczna skraca j czas operacji, rekonwalescencji i pobytu pacjenta w szpitalu).

Bezstopniowa zmiana wysoko ci implantu umo liwia dodatkowo ustalon dystrakcj tylnych struktur, co w przypadku choroby degeneracyjnej (zmniejszenia przestrzeni mi - dzytrzonowych) jest bardzo istotnym elementem procesu leczenia [5]. Konstrukcja elementu no nego pozwala na ograniczon ruchomo w płaszczy nie strzałkowej (przy przepro cie), stanowi c podpor .

Analyzing the existing solutions it seems that the implant optimization in respect of material, design and implantability was not achieved in any of the above cases. The attempt was then undertaken to develop an implant, which would possibly widely fulfil the requirements set for the interspinous stabilization.



RYS. 7. Nowy implant do stabilizacji mi dzywyrostkowej (InSpin) [patent].

FIG. 7. A new implant for interspinous stabilization (InSpin) [patented].

The material and design features of new implant InSpin and achieved functions

According to the authors, achieve the full healing effect it is essential to relieve the load of the whole structure of the articular triad, so to implant the system supporting the anterior and posterior spinal column. From the biomechanical point of view, implantation the disc prosthesis only or interspinous posterior stabilization only, does not give the problem solution, on the contrary, by postponing the problem in time it leads to its deepening.

The above encouraged the authors to offer a new way of thinking about the interspinous stabilization, which should simultaneously support both spinal columns. A new solution is accompanied by a new approach to healing the lumbar spine dysfunctions: "Mobility preservation in the anterior spinal column should be accompanied by adequate mobility preservation in the posterior column".

Considering the existing solutions, their disadvantages and the requirements set for the interspinous stabilization, a new implant was created, which, according to the authors, optimally couples the advantages of design, material and also gives consideration to implantation conditions.

The bearing element of the new implant is an adjustable (metallic or made of PEEK) element, ensuring a proper fatigue strength and implant longevity. Additionally, it has the possibility of continuous height change - it facilitates implant adaptation to the individual anatomical features of the patient. Not only implant functionality in situ, but also its functionality during implantation is essential. Thus, a continuous height change decreases surgical invasiveness, especially that the implant is inserted in a form of minimal height (also the ergonomic instruments and simple surgical procedure decrease the time of operation, hospital stay and convalescence).

Also, a step-less height change additionally allows the de-

Bezpośredni kontakt z kośćmi (wyrastkami kolczystymi górnego i dolnego kręgu) posiadają wahlwe elementy wykonane z materiału o module Young'a zbliżonym do kości i dobrych własnościach ciernych (np. UHMWPE), współpracujące z elementem nośnym. Ich konstrukcja umożliwia "fizjologiczny" ruch zginania bocznego, rotacji oraz skłonu, z równoczesnym stabilnym usytuowaniem wyrostków i zachowaniem osi kręgosłupa.

Użycie różnych materiałów pozwala na uzyskanie pożądanego własności całego układu: stabilizacji, wspomaganie struktury kręgosłupa poprzez przenoszenie obciążenia, elastyczności sprzyjającej zachowaniu "fizjologicznego" (optymalnego) zakresu ruchomości i ochronie tkanki kręgowi przed zniszczeniem.

Wnioski

1. Implant do stabilizacji międzywyrostkowej powinien wspomagać struktury tylne kręgosłupa z równoczesnym zachowaniem maksymalnego zakresu jego funkcji.
2. Istotną jest optymalizacja rozmiaru implantu do stabilizacji międzywyrostkowej zarówno ze względu na wymagane cechy materiałowe, konstrukcyjne jak i wszczepialność.
3. W leczeniu dysfunkcji międzykręgosłupowej i dowiowego wynikającej z degeneracji dysku lub stawów międzywyrostkowych, konieczne jest jednoczesne wspomaganie biomechaniczne przedniej i tylnej kolumny kręgosłupa celem zastąpienia triady stawowej.
4. Wielofunkcyjny implant typu InSpin stanowi nowe rozwiązanie konstrukcyjne i zdaje się najlepiej spełniać wymagania stawiane grupie implantów do stabilizacji międzywyrostkowej i współdziała z elastycznymi układami wspomagającymi przednią kolumnę kręgosłupa.
5. Zaproponowano nowe podejście do leczenia dysfunkcji kręgosłupa dowiowego: "Zachowaniu ruchomości kolumny przedniej kręgosłupa powinno towarzyszyć zachowanie ruchomości kolumny tylnej i odwrotnie".

Piśmiennictwo

- [1] Bochenek A., Reicher M., Anatomia człowieka, PZWL, W-wa, 1978.
- [2] Cavanaugh, J.M., Ozaktay, A.C., Toshihiko, H.T., King, A.I., Lumbar facet pain: biomechanics, neuroanatomy and neurophysiology, *J. Biomechanics* (1996), Vol. 29, No. 9, 117-1129.
- [3] Lindsey, D.P., Swanson, K.E., Fuchs, P., Hsu, K.Y., Zucherman, J.F., Yerby, S.A., The effect of an interspinous implant on the kinematics of the instrumented and adjacent levels in the lumbar spine, *Spine* (2003) Oct. 1; 28(19): 2192-7.
- [4] Minns, R.J., Walsh, W.K., Preliminary design and experimental studies of a novel soft implant for correcting sagittal plane instability in the lumbar spine, *Spine* (1997), Vol. 22(16): 1819-1825.

financed distraction of the posterior structures, what is an important element of the healing process in the degenerative spine diseases (intervertebral space decrease) [5]. The design of the bearing element allows a limited motion in sagittal plane (during extension), setting a secure support. The self-aligning, rocking elements made of material with Young's modulus similar to the bone one and very good frictional properties (e.g. UHMWPE) have the direct contact with the spinous processes tissue. Their shape allows the "physiological" motion of lateral bending, axial rotation and flexion with simultaneous stable positioning of the processes and spine axis preservation.

The use of different materials allows gaining required implant system properties: stabilization, supporting the posterior spinal structures, flexibility favouring the "physiological" (optimal) range of motion and adjacent tissue protection.

Conclusions

1. An interspinous stabilization implant should support the posterior structures of the spine with simultaneous maximal preservation of spinal function.
2. An optimization of implant design in respect of material, design features and implantability is very essential.
3. In healing the lumbar spine intervertebral dysfunctions (especially concerning any of the articular triad elements) it is necessary to use an implant system, which would simultaneously support both the anterior and posterior spinal column and substitute the articular triad.
4. A new solution - multifunctional In Spin implant - seems to fulfil the requirements set for interspinous stabilization implants in the widest range and to mate with flexible system for anterior spinal column support.
5. A new approach to healing the lumbar spine dysfunctions is offered: "Mobility preservation in the anterior spinal column should be accompanied by adequate mobility preservation in the posterior column".

References

- [5] Neumann, P., Wang, Y., Karrholm, J., Malchau, H., Nordwall, A., Determination of inter-spinous processes distance in the lumbar spine; Evaluation of reference population to facilitate detection of severe trauma, *Eur. Spine J.* (1999), 8: 272-278.
- [6] Panjabi, M.M., Krag, M.H., Chung, T.Q., Effect of disc injury on mechanical behavior of the human spine, *Spine* (1984) Vol. 9, No. 7:707-713.
- [7] Santhos, T., Facet joints and low back pain, published online 09/11/2002 www.spineuniverse.com.
- [8] Senegas, J., Mechanical supplementation by non-rigid fixation in degenerative Intervertebral lumbar segments: the Wallis system, *Eur. Spine J.*, (2002), Vol. 11, Suppl. 2, S164-S169.
- [9] Swanson, K.E., Lindsey, D.P., Hsu, K.Y., Zucherman, J.F., Yerby, S.A., The effect of an interspinous implant on intervertebral disc pressures, *Spine* (2003), Jan. 1; 28(1): 26-32.

WSZCZEPY SOCZEWEK TYLNOKOMOROWYCH MOCOWANYCH DO TWARDÓWKI- MODYFIKACJA WŁASNA METODY FIXSACJI

M. FORMI SKA-KAPU CIK, E. STEUER, G. PI TEK-KORONOWSKA,
B. KAMI SKA OLECHNOWICZ, O. DOMA SKA.

I KATEDRA I KLINIKA OKULISTYKI L.A.M.KATOWICE

Streszczenie

W pracy przedstawiono do wiadzenia zwi zane z wszczepami soczewek tylnokomorowych mocowanych do twardówki wg. własnej modyfikacji. Okres obserwacji wynosił 12 miesi cy. Badano ostro wzroku, ustawienie soczewki w ocenie biomokroskopii ultrad wi kowej (UBM), ilo komórek ródbłonka oraz omówiono powikłania pooperacyjne. Okre lono zalety tego sposobu podszycia soczewek tylnokomorowych.

Słowa kluczowe: soczewki wewn trzgałkowe tylnokomorowe, fiksacja przetwardówkowa, chirurgia soczewki.

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 92-94]

Wprowadzenie

Metoda umieszczenia tylnokomorowej soczewki wewn trzgałkowej w bru dzie rz skowej z podszyciem jej do twardówki w przypadkach kiedy tylna torba soczewki nie stanowi wystarczaj cego dla niej podparcia jest metod uznan i stosowan [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]. Od 1986 roku, kiedy to Malbran i współpracownicy zastosowali j po raz pierwszy doczekała si wielu modyfikacji [6, 7, 8, 9, 10].

Materiał i metoda

Operacje wszczepu soczewki tylnokomorowej mocowanej do twardówki wykonano u 16 pacjentów (16 oczu) w tym 10 m czyzn i 6 kobiet. redni wiek pacjentów wynosił 61 lat (od 54 do 88 lat). Czas obserwacji po operacji wynosił 10 do 14 miesi cy (rednio 12 miesi cy). W 12 oczach przyczyn stanowi c wskazanie do zastosowania techniki dotwardówkowego mocowania soczewki było przedarcie tylnej torby w przebiegu usuni cia za my metod fakoemulsyfikacji, w dwóch oczach podwichni cie soczewki a w pozostałych brak soczewki po usuni ciu za my technika wewn trztoebkow w przeszło ci. Badania ustawienia soczewki przeprowadzono u ywaj c biomikroskopu ultrad wi kowego firmy Humphrey Instruments model 840 z u yciem głowicy 50 MHz. G sto komórek ródbłonka badano w mikroskopie endotelialnym.

Technika zabiegu

Technika tej modyfikacji polega na mocowaniu jednego w zła fiksacyjnego z wklucia igły od zewn trz gałki ocznej pod płatkiem twardówki 2 mm od r bka rogówki w kwadrancie skroniowo-dolnym na godzinie 7 w oku prawym,

TRANSCLERAL FIXATION OF PCIOI-MODIFICATION OF THE METHOD

M. FORMI SKA-KAPU CIK, E. STEUER, G. PI TEK-KORONOWSKA,
B. KAMI SKA OLECHNOWICZ, O. DOMA SKA.

1ST DEPARTMENT OF OPHTHALMOLOGY SILESIA N UNIVERSITY OF MEDICINE, KATOWICE-POLAND

Abstract

This paper present our personal experiences with im-plantation of posterior chamber IOL attached to the sclera according to our own modified method.

Observation was carried out for 12 months, included: visual acuity, placement of IOL by ultrabiometry, endothelial cell count and post operation complications. Assessment found this method of IOL insertion beneficial.

Key words: posterior chamber intraocular lens (PCIOI), transscleral fixation, lens surgery.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 92-94]

Introduction

Insertion on posterior chamber IOL in the sulcus, with attachment to the sclera in cases when the low capsule is damaged is a well established technique [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]. Since Malbran pioneered the technique in the 1986, the method has undergone many modifications [6, 7, 8, 9, 10].

Matherial and methods

Posterior chamber IOL insertion with scleral stitching was performed on 16 patients (16 eyes), 10 male, 6 female. Average age was 61 with a range of 54 to 88 years. Post operation observation was between 10 and 14 months with average 12 months.

In 12 cases the reason for use the technique was posterior capsule tears during phacoemulsification, 2 cases were due to IOL missplacement, the remaining 2 required the technique due to prior ECCE.

Technique of the operation

The technique of this modification is such that one fixation stitch with insertion of the needle from external part of the eyeball under the scleral cut, 2 mm from the limbus in the inferior temporal quadrant, at 7 o clock position in the right eye, 5 o clock position in the left. The second stitch is at 1 o clock position in the left eye and 11 o clock in the right eye from the interior of the globe and hiding it into the sclero-corneal incision.

Results

Results of the best corrected vision are presented in TABLE 1.

In 60% of cases after 12 months post operation astigmatism was approximately 2 D. To insert the IOL correctly,

lub na godzinie 5 w oku lewym (RYS. 1), oraz podszycia drugiego w łał fiksacyjnego na godzinie 1 w oku prawym, lub 11 w oku lewym od wn trza oka i ukryciu go w ci ciu rogówkowo-twardówkowym (RYS. 2). We wszystkich przypadkach wykonano witrektomi przedni . U ywano soczewek wewn trzgałkowych model CZ70BP firmy Alcon.

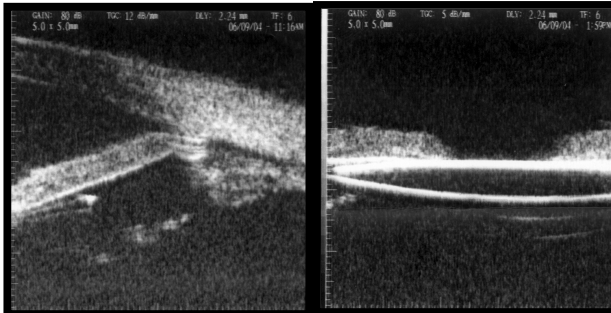
Wyniki

Ostro wzroku / Visual acuity	Liczba oczu / Number of eyes
5/5-5/7	4
5/8-5/10	6
5/12.5-5/16.5	6

TABELA 1. Ostro wzroku po operacji do dali z korekcji .
TABLE 1. Postoperative best corrected visual acuity.

W TABELI I przedstawiono wyniki ostro ci wzroku z korekcji do dali.

W 60% przypadkach po 12 miesi cach astygmatyzm pooperacyjny wynosił ± 2.0 Dsph. Za prawidłow lokalizacji soczewki przyj li my stan w którym obie cz ci haptyczne umieszczone s w rowku rz skowym [RYS. 3] a cz optyczna znajduje si w centrum renicy [RYS. 4].



RYS. 3. UBM, cz haptyczna PC-IOL umieszczona w rowku rz skowym.
FIG. 3. UBM, haptic part of PC-IOL placed in the sulcus.

RYS. 4. UBM prawidłowe ustawienie cz ci optycznej PC-IOL.
FIG. 4. UBM, correct positioning of the optic part of PC-IOL.

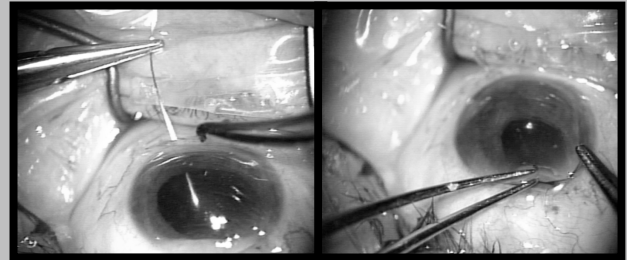
Prawidłow lokalizacji stwierdzono w 13 oczach (81%). W 1 przypadku cz haptyczna była przesuni ta poza rowek rz skowy, w 2 oczach zanotowano decentracji cz ci optycznej (RYS. 5, 6).

Spadek ilo ci komórek ródoblonka wynosił rednio 9%. Z powikła ródoperacyjnych w 2 oczach stwierdzili my niewielkie krwawienie, które ust piło w trakcie zabiegu. Z powikła pó nych wymieni nale y niewielkiego stopnia niekształcenie renicy, które wyst piło w 3 oczach.

Dyskusja

Metoda fiksacji soczewek tylnokomorowych jest uznawan metod alternatywn do wszczepów soczewek przedniokomorowych, które obci one s znaczni ilo ci powikła .

Jest to metoda do trudna technicznie i ka da jej modyfikacja jest godna polecenia. Zalet naszej techniki operacji jest precyzja zaplanowanego ci cia i zminimalizowanie powikła rodoperacyjnych i pooperacyjnych. Uzyskana

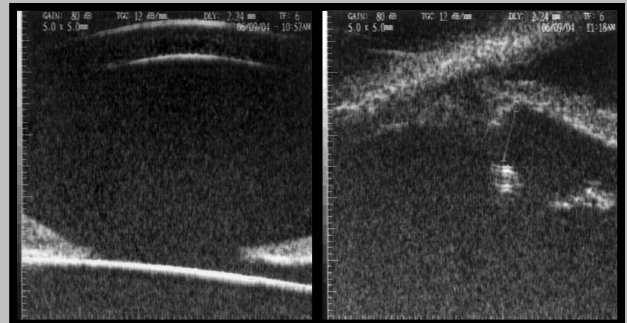


RYS. 1. Igła prowadzi ca szew fiksacyjny na godzinie 5 lub 7 od zewn trz gałki ocznej pod płatkim twardówki.

FIG. 1. Needle threading the fixation stitch at 5 or 7 o'clock position from external part of the eyeball under the scleral lobul.

RYS. 2. Igła prowadzi ca szew fiksacyjny od wewn trz gałki ocznej na godz. 1 lub 11 z wyprowadzeniem i zawi za-niem w ranie r o g ó w k o w o - twardówkowej.

FIG. 2. Needle threading the fixation stitch at 1 or 11 o'clock position fixed in corneo-scleral incision.



RYS. 5. UBM decentracja cz ci optycznej PC-IOL.
FIG. 5. UBM, decentration of the optic part of PC-IOL.

RYS. 6. UBM cz haptyczna PC-IOL poza rowkiem rz skowym.
FIG. 6. UBM, haptic part of the PC-IOL out side the sulcus.

both haptics were placed in the sulcus with the optic centre of the lens in the middle of the pupil. Correct insertion was achieved in 13 eyes (81%). In one case a haptic was outside the sulcus. In 2 eyes the IOL optic was decentred On average there was a 9 % loss of endothelial cells. In 2 eyes small bleeds occurred during operation. Post operation 3 patients had a slightly distorted pupil.

Discussion

Posterior chamber IOL insertion is a recognised alternative to the anterior chamber method which often causes complications. This method is technically difficult and modifications are worthy of note. The advantage of our technique is the precision of the planned incision and minimalisation of complications during and post operation. Resultant vision is comparable to that found in literature and our own results with previous techniques which used internal stitching. Assessment with ultrasound biomicroscopy found correct IOL placement in 81 % of cases, com-

ostro wzroku jest porównywalna do danych literaturowych oraz naszych wyników z poprzedniej pracy, gdzie szwy fiksyjne zakładali my od wn trza gałki ocznej [2, 3, 5, 6]. W ocenie biomikroskopii ultrad wi kowej uzyskali my prawidłow lokalizacj soczewki w 81% przypadków. W modyfikacji opisywanej w poprzedniej pracy [5], taki efekt uzyskano w 64% przypadków. Spadek g sto ci komórek ród-błonka u pacjentów operowanych według naszej metody wynosił 9% , stosuj c wkłucia od wewn trz gałki notowalimy spadek od 7% do 11 [5]. Podobny odsetek podaj inni autorzy [3, 11, 12].

Powikłania ródoperacyjne byly przeji ciowe, a pó ne w postaci niewielkiego zniekształcenia renicy mało istotne.

Wnioski

Fiksacja przezetwardówkowa soczewki wewn trzgałkowej tylnokomorowej przeprowadzona według własnej modyfikacji wydaje si by metod prost technicznie, bezpieczn i skuteczn . Na podkre lenie zasługuje precyzyjność tej metody.

Pi miennictwo

- [1] Basti S., Tejaswi P. C., Singh S. K., Sekhar G. C.: Outside in transcleral fixation for ciliary sulcus intraocular lens placement. *I. Cataract Refract. Surg.* 1994; 20: 89-92.
- [2] Romaniuk W., Fronczek M., Wyl gała E., Nita E., Muskalski K.: Soczewki wewn trzgałkowe tylnokomorowe mocowane do twardówki sze lat do wiadcz , *Klin. Oczna* 1999; 101 (4): 267-270.
- [3] Palacz O., Lubi ski W., Barnyk K.: Wszczyepy soczewek tylnokomorowych mocowanych do twardówki. *Klin. Oczna* 1999; 101 (6): 433-436.
- [4] Uthoff D., Teichman K. D.: Secondary implantation of scleral-fixed intraocular lenses. *I. Cataract Ref. Surg.* 1998; 24: 45-50.
- [5] Formi ska-Kapu cik M., Gierek-Ciaciura S., Kami ska-Olech-nowicz B., Filipecka I., Pi tek-Koronowska G.: Stan przedniego odcinka gałki ocznej z soczewk tylnokomorow mocowan do twardówki. *Klinika Oczna* 2001;103(2): 101-106.
- [6] Szaflik J., Langwi ska-Wo ko E., Rowi ski M., Ambroziak A. M.: Soczewki wewn trzgałkowe tylnokomorowe mocowana do twardówki jako metoda w chirurgii soczewki. *Klinika Oczna* 2003; 105 (1-2): 31-35.

WŁA CIWO CI TWORZYW KALCYTO- WYCH PRZEZNACZO- NYCH NA NO NIKI YWYCH KOMÓREK

SŁAWOMIR MICHAŁOWSKI, ZBIGNIEW JAEGERMANN,
JOANNA KARA

ZAKŁAD BADAWCZO-PRODUKCYJNY BIOCERAMIKI, INSTYTUT SZKŁA I
CERAMIKI, WARSZAWA

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 94-96]

Wst p

In ynieria tkankowa jest dziedzin wykorzystuj c wie-
dz z zakresu nauk biologicznych, medycznych i technicz-
nych, której celem jest odtwarzanie, podtrzymywanie i ulep-

pared to 64% with previous technique [5]. Endothelial cell loss with our technique was 9%, internal stitching caused 7 to 11% loss [3, 11, 12]. Surgical complications were temporary. Later complications of distorted pupils were insignificant.

Conclusions

Insertion of posterior chamber IOLs with scleral attachment accrding to our modifications is a technically simple method, safe and effective with the precision of the method deserving special note.

References

- [7] Kwok A. K., Cheng A. C., Lam D.S.: Surgical technique for transcleral fixation of a dislocated posterior chamber intraocular lens. *Am. J. Ophthalmol.* 2001; 132 (3): 406-408.
- [8] Malbran E., Malbran Jr. E., Negri J: Lens guide suture for transport in secondary IOL implantation after intracapsular cataract extraction. *Jnt. Ophthalmol.* 1986; 9: 151-160.
- [9] Biro Z., Cseke J., Kovacs J.: Closed technique surgery for ciliary sulcus fixation of secondary implanted PC-IOL. *Eur. J. Implant Ref. Surg.* 1994; 6: 83-86.
- [10] Schmidt J., Nietgen G.W., Freisberg L., Neisskenwitth N. N.: Modified transcleral suture for sulcus fixation of posterior chamber lenses. *J. Cataract Refract. Surg.* 2002; 28 (1): 15-17.
- [11] Burne W.M., Nelsen R.Z, Hodge D.O.: Continued endothelial cell loss ten years after lens implantation. *Ophthalmology* 1994; 101: 1014-1022.
- [12] Lesiewska-Junk H., Halukiewicz-Wi niewska G.: Odległe wyniki utraty komórek ród-błonka po operacji za my. *Klinika Oczna* 2002;104: 5-6.

PROPERTIES OF CALCITE MATERIALS FOR CELL CULTURE SCAFFOLDS

SŁAWOMIR MICHAŁOWSKI, ZBIGNIEW JAEGERMANN,
JOANNA KARA

INSTITUTE OF GLASS AND CERAMICS, BIOCERAMIC DEPARTMENT
9, POSTEPU ST. 02-676 WARSAW

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 94-96]

Introduction

Tissue engineering applies biological, medical and technical science for the sake of regeneration, maintenance and improvement of tissue functions. Studies concerning new materials for cells culture scaffolds are a quickly developing domain of biomedical engineering.

The goal of the present research consisted in elaboration of calcite materials for biological tests of cell culture on their surface.

szanie funkcji tkanek. Badania nad nowymi materiałami jako nośnikami komórek należą do najszybciej rozwijających się kierunków w inżynierii biomedycznej.

Celem prowadzonych na tym etapie badań było opracowanie tworzyw kalcytowych przeznaczonych do badań biologicznych komórek hodowanych na powierzchni wytworzonych materiałów.

Materiały i metody badań

Próby wytworzenia nośników kalcytowych przeprowadzono poprzez opracowanie szeregu tworzyw o składach mieszanym CaCO_3 i odpowiednio 5÷1% wag. LiF. Zastosowano w glazurach wapniowych w odmianie krystalograficznej aragonitu, którego metoda otrzymywania została opracowana w wdrożonej w ISiC. Próbkami mikroporowatymi formowano metodą prasowania jednoosiowego. Do wytworzenia próbek tworzyw makroporowatych zastosowano metodę odwzorowania tekstury matrycy z gąbki poliuretanowej o gęstości 45 ppi (porów na cal). Przeprowadzono próby spiekania powyższych tworzyw w różnych temperaturach z zakresu 430÷510°C.

Badano właściwości fizyczne opracowanych tworzyw jak: gęstość pozorną, oznaczoną dla tworzyw mikroporowatych metodą wagi hydrostatycznej, a dla tworzyw makroporowatych metodą geometryczną, porowatość otwartą obliczoną dla tworzyw mikroporowatych na podstawie wagi hydrostatycznej, porowatość całkowitą dla tworzyw makroporowatych obliczoną na podstawie gęstości pozornej i gęstości właściwej, wytrzymałość na ściskanie zmierzona na maszynie wytrzymałościowej LR10K (Lloyd Instruments),

Badania składu fazowego przeprowadzono przy pomocy rentgenowskiego analizatora dyfrakcyjnego typu D5000 firmy Siemens stosując promieniowanie CuK α .

Obserwację tekstury tworzyw przeprowadzono przy pomocy mikroskopu stereoskopowego Stemi 2000-C (Carl Zeiss), a ich mikrostrukturę badano przy pomocy mikroskopu skaningowego LEO 1530 z kolumną Gemini.

Wyniki badań

Najlepszym stopniem spieczenia charakteryzowały się tworzywa kalcytowe wypalane w temperaturach 450 i 470°C. W czasie wypału nastąpiła przemiana fazowa aragonitu w calcit (RYS. 1).

Mikroporowate tworzywa kalcytowe charakteryzowały się porowatością otwartą ok. 3÷26% w zależności od gęstości formowania i temperatury spiekania. Gęstość pozorną dla tych tworzyw wahała się w przedziale 2,00÷2,65 g/cm³. W zależności od gęstości pozornej i porowatości otwartej wytrzymałość mechaniczna na ściskanie tworzywa wynosiła 25÷150 MPa.

Porowatość całkowitą makroporowatych tworzyw kalcytowych otrzymanych metodą odwzorowania tekstury zależała głównie od właściwości ceramicznej masy lejnej i techniki wyciskania nadmiaru gęstości. Otrzymane w ten sposób tworzywa charakteryzowały się porowatością całkowitą w granicach 70÷90%, gęstością pozorną 0,3÷0,7 g/cm³ i wytrzymałością mechaniczną na ściskanie rzędu 0,5÷3,0 MPa. Dla wybranych tworzyw mikroporowatych przeprowadzono badanie mikrostruktury przy pomocy mikroskopu skaningowego (RYS. 2, 3, 4, 5). Analiza obrazów mikroskopowych wykazała bardzo duże podobieństwo obu badanych tworzyw szczególnie pod względem wielkości ziaren, charakteru granic międzyziarnowych, a także wielkości porów. W obu przypadkach wielkość ziaren można oszacować na 4-

Materials and methods

Several materials with chemical compositions ranging between 95-99% of calcium carbonate (CaCO_3) and 1-5% lithium fluoride (LiF) contents were elaborated. Calcium carbonate in crystallographic form of aragonite, obtained by the method developed in the Institute of Glass and Ceramics, was used. Microporous samples were formed by uniaxial pressing. For macroporous ones the method of mapping the matrix texture of polyurethane structural sponge (45 ppi) was applied. Samples of the materials were sintered in temperatures ranging from 430°C to 510°C.

The following physical properties were determined by corresponding methods:

- apparent density of microporous samples - by hydrostatic weighting and of macroporous samples - by geometrical method,
- open porosity of microporous samples, - by hydrostatic weighting,
- total porosity of macroporous samples was calculated on the basis of apparent and specific density,
- compression strength - by tests on resistance testing machine LR10K (Lloyd Instruments).

The phase composition was evaluated by X-ray diffractometer D5000 (Philips) using CuK α radiation.

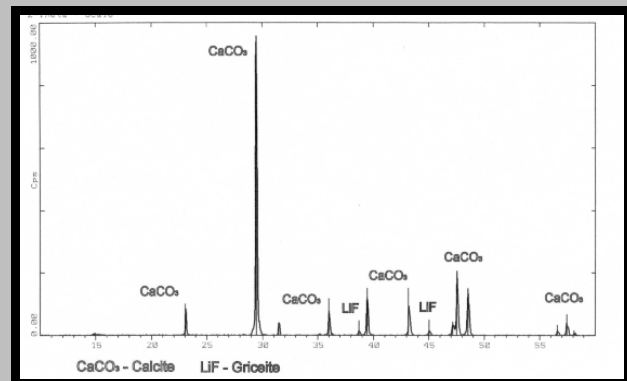
Observation of the porous texture was conducted with the use of stereoscopic microscope Stemi-2000-C (Carl Zeiss) and of microstructure by scanning electron microscope LEO 1530 Gemini.

Results

During the process of sintering, phase transition from aragonite to calcite was observed (FIG. 1). The samples sintered in the temperatures of 450°C and of 470°C reached the best concentration ratio.

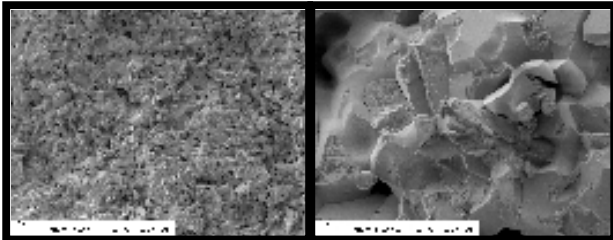
The microporous calcite materials were characterised by open porosity ranging from 3% to 26%, apparent density between 2,00 g/cm³ and 2,65 g/cm³ and the compression strength ranging from 25 MPa to 150 MPa. Their properties differed according to forming pressure and sintering temperature.

The physical properties of macroporous calcite materials obtained by sponge method depended mainly on properties of the ceramic slip and the technique of extrusion of the surplus slurry applied. The total porosity of these materials ranged from about 70% to 90%, apparent density from about 0,3 g/cm³ to 0,7 g/cm³ and compression strength from about



RYS. 1. Dyfraktogram tworzywa kalcytowego wypalonego w temperaturze 450°C.

FIG. 1. Diffraction pattern of calcite material sintered in 450°C.



RYS. 2. Mikrostruktura tworzywa kalcytowego "1" (SEM, 500x).
FIG. 2. Microstructure of calcite material coded "1" (SEM, 500x).

RYS. 3. Mikrostruktura tworzywa kalcytowego "1" (SEM, 5000x).
FIG. 3. Microstructure of calcite material coded "1" (SEM, 5000x).

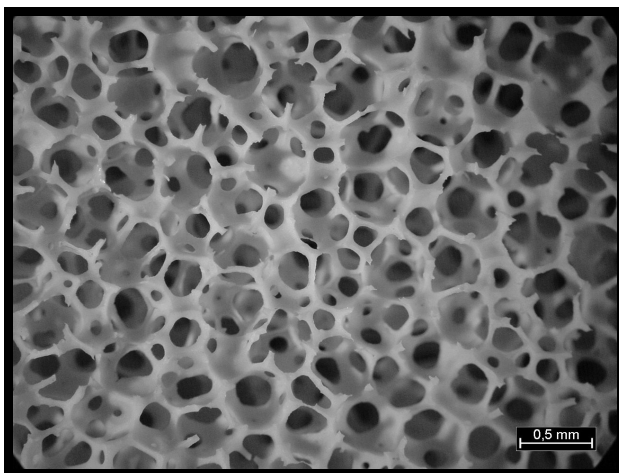
10 mm, a wielkość porów na 2-3 mm. Zdarzają się jednak również pojedyncze pory o wielkości nawet 30-40 mm, które prawdopodobnie zostały utworzone w procesie formowania. Zaobserwowano także obszary (do 100 mm) o bardziej zwartej mikrostrukturze i mniejszej porowatości. W przypadku obu badanych tworzyw granice międzyziarnowe są praktycznie niewidoczne, a wielkość ziaren można ocenić na podstawie charakteru przełamania próbek. Na RYSUNKU 6 przedstawiono przykład tekstury makroporowego tworzywa otrzymanego na bazie gąbki o gęstości 45 ppi.

Podsumowanie

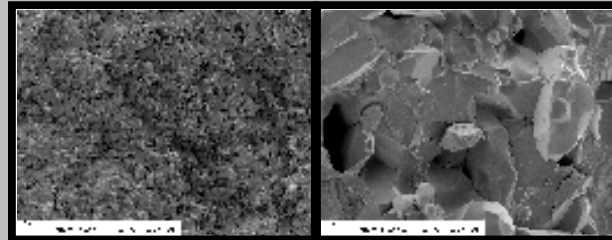
Aby ocenić wpływ zawartości fluorku litu w opracowanych tworzywach na żywotność komórek, do badań wybrano następujące próbki o zawartości LiF 1% i 5% (TAB.1)

Podziękowania

Prace finansowane przez KBN w ramach projektu badawczego zamawianego Nr 05/PBZ-KBN-082/T08/2002/06.



RYS. 6. Tekstura makroporowego tworzywa kalcytowego otrzymanego na bazie gąbki o gęstości 45 ppi.
FIG. 6. Texture of macroporous calcite material coded "3" formed by using 45 ppi sponge (stereomicroscope magn. 100x).



RYS. 4. Mikrostruktura tworzywa kalcytowego "2" (SEM, 500x).
FIG. 4. Microstructure of calcite material coded "2" (SEM, 500x).

RYS. 5. Mikrostruktura tworzywa kalcytowego "2" (SEM, 5000x).
FIG. 5. Microstructure of calcite material coded "2" (SEM, 5000x).

0,5 MPa to 3,0 MPa.

SEM observations of the microstructure of selected materials were provided (FIG. 2, 3, 4, 5). The analysis of images showed high similarity of microstructures of both materials. The grain size ranged from about 4 mm to 10 mm and the pore size from about 2 mm to 3 mm. It is possible to find single pores of bigger size - 30-40 mm which are probably result of forming defects. Some areas of the size up to 100 mm in diameter characterised by much more compact microstructure and lower porosity were also observed. In both materials intergranular boundaries are rarely visible and grain size can be evaluated only on the basis of sample's fracture.

Conclusions

In order to evaluate the impact of the content of LiF in the calcite material on vitality of the cells, the following materials containing 1% and 5% of LiF were selected for the cell culture tests (TABLE 1).

Acknowledgement

This work was supported by the State Committee of Scientific Research (grant No. 05/PBZ-KBN-082/2002/06)

Symbol materiału	Zawartość LiF	Gęstość pozorna	Wytrzymałość na ściskanie
Code of the material	LiF content [%mas]	Apparent density [g/cm ³]	Compressive strength [MPa]
Microporous materials			
"1"	1	2,41	132
"2"	5	2,42	150
Macroporous materials			
"3"	5	0,35	2,1
"4"*	1	0,28	1,8
"5"*	1	0,31	2,0

*tworzywa „4” i „5” różniły się sposobem przygotowania proszku wyjściowego
* materials coded „4” and „5” were manufactured from different aragonite powder

TABELA 1. Wybrane tworzywa kalcytowe do badań komórkowych.
TABLE 1. Calcite materials selected for cell culture test.

ANTYINFEKCYJNE WŁAŚCIWOŚCI ELATYNOWANYCH PROTEZ NACZYNIOWYCH MODYFIKOWANYCH GENTAMYCYN

OSIŃSKA M., GINAŁSKA G., BELCARZ A.

ZAKŁAD BIOCHEMII, UNIWERSYTET M. CURIE-SKŁODOWSKIEJ,
20-031 LUBLIN, POLSKA

[In *ynieria Biomateriałów*, 38-43, (2004), 97-99]

Powszechne stosowanie protez naczyniowych spowodowało zwiększenie liczby infekcji związanych z użyciem sztucznych materiałów. Jest to poważny problem dla chirurgów, gdyż zakażenia syntetycznych przeszczepów naczyniowych

niejednokrotnie prowadzą do zgonu chorego lub spowodowaniem amputacji kończyny. Dotychczasowe badania nad uzyskaniem ochrony przeciwbakteryjnej wszczepianych biomateriałów obejmują unieruchamianie antybiotyków na drodze adsorpcji lub związane z wytwarzaniem słabych wiązań jonowych pomiędzy lekiem a materiałem wszczepionym (Kinney 1991; Gahtan 1995; Haverich 1998).

Głównym celem pracy było nadanie właściwości antybakteryjnych elatynowanym protezom naczyniowym wykonanym z politereftalanu etylenu (gel-PET) poprzez ich kowalentne związanie z gentamycyną, antybiotykiem aminoglikozydowym.

Procedura immobilizacji wymienionego leku została przeprowadzona według zgłoszenia patentowego naszego autorstwa (Ginałska 2003). Ilość gentamycyny związanej z protezą gel-PET, wydajność procesu immobilizacji oraz poziom elucji leku z materiału do buforu określano techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) według zoptymalizowanej metody farmakopealnej (Farmakopea Brytyjska 1998). Uzyskane wyniki prezentuje TABELA I.

Stwierdzono, że każda forma gentamycyny wiąże się z biomateriałem, a całkowita ilość leku na protezie wynosi ponad 12000 mg/kg biomateriału. Trwałość wiązań kowalencyjnych utworzonych między antybiotykiem a protezą gel-PET sprawdzono przez wytrącanie protez w buforowanym roztworze soli (PBS) i określano w czasie ich uwalniania leku. Stwierdzono, że po 30 dniach trwania do wiadczenia na protezach pozostało 97.8% antybiotyku w porównaniu z poziomem wyjściowym (RYS.1). Niski poziom elucji leku (około 3%) świadczy o stabilności utworzonego wiązania kowalencyjnego. Ta ilość gentamycyny uwolniona w pierwszych 7 dniach do wiadczenia prawdopodobnie była wiązana jonowo lub pasywnie.

W dalszym etapie badań sprawdzono działanie unieruchomionych form gentamycyny na wzrost bakterii. Wykorzystano tu szczepki referencyjne *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* oraz izolaty kliniczne tych bakterii pochodzące od pacjentów.

Uzyskane rezultaty (TABELA II) świadczą o hamującym działaniu immobilizowanej gentamycyny na wzrost bakterii. Dla każdego ze szczepów obserwowano wystąpienie silnego zahamowania wzrostu bakterii - efekt bakterioobójczy, a w przypadku wysokiego miana wyjściowego bakterii - efekt bakteriostatyczny. Stwierdzono ponadto, że modyfi-

ANTI-INFECTION PROPERTIES OF GELATINATED VASCULAR PROSTHESES MODIFIED BY COVALENT GENTAMICIN IMMOBILIZATION

OSIŃSKA M., GINAŁSKA G., BELCARZ A.

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY,
M. CURIE-SKŁODOWSKA UNIVERSITY, 20-031 LUBLIN, POLAND
[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 97-99]

Common use of vascular prostheses provoked an increase of frequency of their infections. This makes a significant problem for surgeons because infections of synthetic vascular grafts frequently lead to patients' decease or to limb amputations. Previous research on antibacterial material included antibiotics immobilization via adsorption or weak ionic bonding between the medicine and implanted material (Kinney 1991; Gahtan 1995; Haverich 1998). This type of modification protects vascular prostheses against bacterial infections only up to 5 days because the antibiotic is being eluted from biomaterial by circulating blood.

Main aim of the research was to protect the gelatinated vascular prostheses made of poly (ethylene terephthalate) (gel-PET) by their covalent bonding with gentamicin (aminoglycoside antibiotic).

Immobilization procedure of this medicine was performed according to our Patent pending (Ginałska 2003). Amount of gentamicin bound to prosthesis gel-PET, yield of immobilization and level of antibiotic eluted from prosthesis to buffer were determined by HPLC technique (high pressure liquid chromatography) according to British Pharmacopoeia (1998). The results were presented in Table I.

It was found that each of gentamicin form bound to the biomaterial. Total amount of antibiotic on prosthesis exceeded 12000 mg/kg of biomaterial. Stability of covalent bonds created between antibiotic and gel-PET prosthesis was tested by shaking of prosthesis with buffered saline solution (PBS). Amount of antibiotic released to buffer was estimated at time intervals. After 30 days of experiment duration, 97.8% of initial amount of antibiotic remained on prostheses (FIG.1). Such a low level of antibiotic elution (about 3%) confirms the stability of such created covalent bonds. This amount of gentamicin eluted from prostheses during first 7 days of experiment suggests that it was bound passively or via ionic bonds. Activity of gentamicin immobilized on prostheses was tested against reference strains of *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* and also against clinical isolates of these strains from hospital patients.

The results (TABLE II) testify that immobilized gentamicin exerts inhibitory effect on bacterial growth. Strong inhibition of bacterial propagation - bactericidal effect - was observed for each bacterial strain; in a case of high cfu/ml this effect was bacteriostatic. Moreover, gentamicin-modified vascular prostheses reveal antibacterial effect during subsequent multiple infections of environment surrounding this biomaterial by fresh doses of bacterial cells (TABLE III).

In vitro experiment included also growth of bovine aorta endothelial cells on gentamicin-modified biomaterial.

Stężenie gentamycyny Concentration of gentamicin [mg/ml]										Wydajność immobilizacji Immobilization yield (%)	Gentamycyna związana z protezami Gentamicin bound to prosthesis (mg/kg)
C1		C1a		C2a		C2		Całkowita ilość gentamycyny Total amount of gentamicin			
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B		
2.973	1.811	1.146	0.666	0.490	0.300	0.632	0.359	5.242	3.138	40.15	12 620

TABELA I. Rezultaty immobilizacji gentamycyny na protezach naczyniowych PET uszczelnianych elastynami. C1, C1a, C2a, C2 - formy gentamycyny, A-stężenie składników gentamycyny przed immobilizacją, B-stężenie składników gentamycyny po immobilizacji

TABLE I. Results of gentamicin immobilization on gelatinated vascular prostheses PET.

C1, C1a, C2a, C2 - gentamicin forms, A-concentration of gentamicin components before immobilization, B-concentration of gentamicin components after immobilization

Szczep / Strain	MIC µg/ml	Wyjściowe miano bakterii Cell density cfu/ml	% zahamowania wzrostu bakterii Percent of bacterial growth inhibition
<i>Escherichia coli</i>			
izolat z ucha / isolated from ear	1,0	4×10^6	100
izolat z układu moczowego / isolated from urinary system	1,5	4×10^6	100
ATCC 25922	4,0	4×10^6 4×10^8	100 80±5
<i>Staphylococcus aureus</i>			
izolat z gardła / isolated from throat	1,0	$1,9 \times 10^7$	100
izolat z kału / isolated from stools	1,0	$1,9 \times 10^7$	100
ATCC 25923	3,0	$1,9 \times 10^7$ $1,9 \times 10^9$	100 50 ±8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
izolat ze skóry powieki / isolated from eyelids	3,0	$5,9 \times 10^6$	100
ATCC 27853	0,5	$5,9 \times 10^6$ $5,9 \times 10^8$	100 50 ±8

TABELA II. Hamujące działanie immobilizowanej gentamycyny na wzrost bakterii wytrząsanych w pożywce Luria-Bertani w temp. 37°C przez 28 dni.

TABLE II. Inhibitory effect of immobilized gentamicin on bacterial growth during shaking in Luria-Bertani medium at 37°C during 28 days.

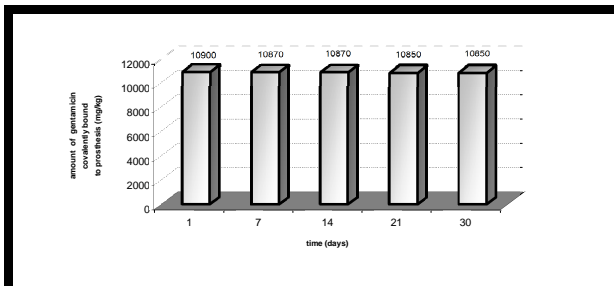
kowane gentamycynowe protezy naczyniowe wykazują skuteczne hamowanie wzrostu bakterii w warunkach wielokrotnego zakażenia środowiska otaczającego biomateriał w tym samym czasie bakterii (TABELA III).

W doświadczeniach *in vitro* przeprowadzono hodowlę komórek róbki aorty wołowej na zmodyfikowanym gentamycynowym biomateriale. Ilość komórek róbki stwierdzona na protezach gel-PET-genta była porównywalna z

Amount of endothelial cells found on gel-PET-genta prostheses was comparable with their number on control prostheses (FIG. 2).

Therefore, it was found that chemical modification of gel-PET prosthesis by the antibiotic did not exert any toxic effect on growth of endothelial cells.

To sum up: covalent immobilization of gentamicin on surface of vascular prostheses provides a stable antibacterial protection of biomaterial as the antibiotic remains on prosthesis surface at appropriate concentration for a long time.

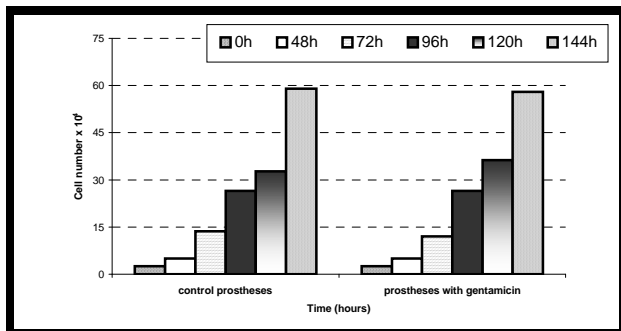


RYS. 1. Uwalnianie gentamycyny z protez naczyniowych gel-PET wytrząsanych przez 30 dni w PBS w temp. 37°C.

FIG. 1. Release of gentamicin from vascular prosthesis gel-PET during 30 days of continuous shaking in PBS at 37°C.

References

- [1] British Pharmacopoeia, (1998). HMSO, London, 1: 302.
- [2] Gahtan, V., Esses, G.E., Bandyk, D.F., Nelson, R.T., Dupont, E., Mills, J.L. Antistaphylococcal activity of rifampin-bonded gelatin impregnated Dacron grafts. *J. Surg. Res.*, 58, (1995), 105-110.
- [3] Ginalska G., Uryniak A., Łobarzewski J., Osińska M., A method of antibiotics immobilization. Polish Patent no P-358934, (2003).
- [4] Haverich, A., Hirt, S., Karak, M., Sialari, F., Wahling, H., Prevention of graft infection by bonding gentamicin to Dacron prostheses. *J. Vasc. Surg.* 15, (1998), 187-193.
- [5] Kinney, E.V., Bandyk, D.F., Seabrook, G.A., Antibiotic bonded PTFE vascular grafts: the effect of silver antibiotic on bioactivity following implantation. *J. Surg. Res.*, 50, (1991), 430-435.



RYS. 2. Ocena wzrostu komórek ródbłonka na protezach naczyniowych zwi zanych z gentamycyn .

FIG. 2. Evaluation of endothelial cells growth on vascular prostheses with immobilized gentamicin.

ilo ci komórek zasiedlaj cych protezy kontrolne (RYS.2). Stwierdzono wi c, e modyfikacja chemiczna protez gel-PET podczas immobilizacji antybiotyku nie wpływa toksycznie na wzrost komórek ródbłonka.

Reasumuj c: immobilizacja kowalencyjna gentamycyny na powierzchni protez naczyniowych doprowadziła do uzyskania stabilnej ochrony antybakteryjnej biomateriału ze wzgl du na utrzymanie antybiotyku na powierzchni w odpowiednim st eniu przez długi czas.

szczep/proteza strain/prosthesis		% OD _{550nm} oznaczany w dniu: % OD _{550nm} measured at day:				
		7	14	21	28	30
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	PK PG	100 0	182 0	191 0	295 0	332 0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	PK PG	100 0	200 0	286 0	280 0	280 0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	PK PG	100 0	190 0	180 0	280 0	290 0

TABELA III. Ocena wzrostu bakterii w obecno ci protez: kontrolnych (PK) i zawieraj cych zwi zan gentamycyn (PG). Protezy zaka ano co 7 dni wie dawk inokulum bakterii (1x 10⁶ cfu/ml).

TABLE III Estimation of bacterial growth by OD 550 nm measurement in presence of control (CP) and gentamicin -bound (GP) prostheses. Fresh bacterial cells (1x 10⁶ cfu/ml) were added to the medium with prosthesis every 7 days.

MODYFIKACJA POLIETYLENU O WYSOKIEJ G STO CI HOMO I KOPOLIMEREM KWASU ASPARAGINOWEGO

JOLANTA POLACZEK, EWA DZIKI, MAŁGORZATA W S, JAN PIELICHOWSKI,

SAMODZIELNA KATEDRA CHEMII I TECHNOLOGII TWORZYW SZTUCZNYCH,
POLITECHNIKA KRAKOWSKA
UL. WARSZAWSKA 24, 31 -155 KRAKÓW

Streszczenie

W pracy przedstawiono kompozyty polietylen - poli(kwas asparaginowy) oraz wyniki bada fizyko - mechanicznych i analiz tych wła ciwo ci po znu e - niu w płynie imituj cym działanie płynów ustrojowych

Słowa kluczowe: poli(kwas asparaginowy), polietylen, wła ciwo ci fizyko - mechaniczne.

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 99-102]

Wprowadzenie

Polietylen o wysokiej g sto ci (HD PE), obok innych tworzyw termoplastycznych tj. polilaktyd (PL), polisulfon (PS), jest podstawowym materiałem polimerowym stosowanym

MODIFICATION OF HD POLYETHYLENE USING HOMO AND COPOLYMER OF POLY(ASPARTIC ACID)

JOLANTA POLACZEK, EWA DZIKI, MAŁGORZATA W S, JAN PIELICHOWSKI,

DEPARTMENT OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF POLYMERS,
CRACOW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY
UL. WARSZAWSKA 24, 31 -155 KRAKÓW

Abstract

This paper presents polyethylene - poly(aspartic acid) composites and its physico - mechanical properties after exposure to model liquid, imitating the effect of body fluids.

Key words: poly(aspartic acid), polyethylene, physico - mechanical properties.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 99-102]

Introduction

High density polyethylene HDPE, like polylactide (PL) and polysulphone (PS) is a thermoplastic material used to manufacture orthopedic implants, especially pelvic joints, where the material is exposed to high load. Its advantage is high mechanical durability, good biological toleration, biodegradability resistance and low price [1, 2]. Unfortunately, there are also some disadvantages which appear after long time exploitation in a human body, such as excessively fast

do otrzymywania implantów twardych, głównie endoprotez stawów biodrowych, gdzie materiał poddawany jest dużej obciążeniu. Do jego zalet zalicza się wysoką wytrzymałość mechaniczną, dobrą tolerancję biologiczną jako materiału wszczepiennego, odporność na biodegradację oraz niskie ceny. Jednak, obok swych niewątpliwych zalet polimer ten posiada również wady, które ujawniają się dopiero w czasie dłuższej eksploatacji wszczepu. Główną wadą polietylenu jest zbyt szybkie zużycie panewki, złuszczenie lub rozwarstwianie powierzchni na niej, podatność na pękanie, złamanie i rozkawałkowanie panewek oraz niekorzystne oddziaływanie produktów zużycia (mikrodrobin) na organizm ludzki. Należy jednak podkreślić, że mimo licznych poszukiwań nie znaleziono dotychczas materiału o bardziej korzystnych właściwościach mechanicznych i biologicznych, toteż polietylen służy nadal jako podstawowy materiał endoprotez stawów biodrowych.

Obecne badania prowadzone są w kierunku otrzymania biokompozytów, czyli materiałów składających się z fazy inertej i bioaktywnej, która to faza zapewni stabilizację i akceptację implantu po wszczepieniu i tym samym przyspieszy wyleczenie. Spodziewamy się, że polimerem, stanowić może fazę bioaktywną, może być poli(kwas asparaginowy) (PKA), który ze względu na nietoksyczność oraz zdolność do biodegradacji z utworzeniem aminokwasów coraz mocniej ugruntowuje swoją pozycję na rynku medycznym. PKA jest ponadto polimerem o wysokiej odporności termicznej (do 300°C), można go zatem bezpiecznie zastosować jako modyfikator PE HD. Pierwsze wyniki pokazują, że dodatek polikwasu poprawia właściwości wytrzymałościowe oraz trybologiczne implantów.

Materiały i metody badań

- Polietylen wysokiej gęstości - producent Slovnaft, Słowacja
- Wtryskarka ślimakowa typ M/250 Firmy "ARBURG" Niemcy, (ciężarownia 1458 barów, temperatury procesu od 170 do 200°C).

Badano następujące właściwości fizykomechaniczne modyfikowanego PE - HD:

- Twardość, metodą Rockwella, według normy PN - 93/C - 89030/02, na aparacie Hardness Tester Zwick 3106
- Cieralność, według normy PN - 69/C - 89081 na aparacie Schopera typ APGi
- Cechy wytrzymałościowe przy statycznym rozciąganiu, według normy PN - 81/C - 89034, przy użyciu maszyny wytrzymałościowej Zwick typ 1445.

Przeprowadzono modyfikację polietylenu o wysokiej gęstości stosując jako dodatki poli(kwas asparaginowy) (PKA) oraz poli(kwas asparaginowy - co - aminokapronowy) (KAK) w ilości 5 i 10 % masowych. Z tak przygotowanych kompozycji otrzymano kształtki do badań metod formowania wtryskowego. Przeprowadzono badania fizyko-mechaniczne otrzymanych wioseł. Wyniki badań przedstawiono w TABELI 1.

Jak wynika z przeprowadzonych badań, wszystkie modyfikowane próbki cechują się podwyższoną twardością i odpornością na ścieranie oraz niewielkim spadkiem właściwości wytrzymałościowych, rzędu 5% w stosunku do czystego polietylenu.

Degradacja modyfikowanego polietylenu

Ponieważ wiadomo, że poli(kwas asparaginowy) jest polimerem łatwo ulegającym degradacji, przeprowadzono badania próbek modyfikowanego PE HD w warunkach przyspieszonej degradacji. Próbki inkubowano w roztworze soli fizjologicznej, w temperaturze 70°C, w czasie 30 dni. Na-

wierając o element, złuszczenie, rozdzielanie sztucznej endoprotezy i szkodliwy wpływ produktów trybologicznych (microparticles of PE) na ciało człowieka. Pomimo szerokiego zakresu badań materiałowego nie udało się znaleźć materiału o lepszych właściwościach mechanicznych i biologicznych, a HD PE jest nadal używany jako główny element sztucznej endoprotezy [3].

Obecnie badania skupiają się na uzyskaniu biokompozytów, składających się z części inertej i bioaktywnej. Część bioaktywna umożliwia stabilizację i akceptację sztucznej tkanki po wszczepieniu i przyspiesza gojenie. Oczekuje się, że homopolimer lub kopolimer kwasu asparaginowego może być częścią bioaktywną. Ze względu na toksyczność i biodegradowalność aminokwasów, poli(kwas asparaginowy) już ustalił swoją pozycję w dziedzinie inżynierii medycznej [4]. Ten polimer charakteryzuje się wysoką stabilnością termiczną (300°C) i może być bezpiecznie używany do modyfikacji HDPE. Pierwsze doświadczenia wykazały, że dodatek poli(kwasu asparaginowego) skutkuje poprawą właściwości mechanicznych i trybologicznych w porównaniu z czystym PE.

Materials and methods

- High density polyethylene (HD PE) - SLOVNAT, Slovakia
 - Poly(aspartic acid) (PKA), poly(aspartic acid - co - e - aminokaproic acid) (KAK) - synthesized by own authors' method under microwave irradiation [5].
 - Injection machine type M/250 'ARBURG', Germany (pressure 1458 bar, temperature process 170 - 200°C).
- Physico - mechanical properties of modified HD PE were evaluated using following apparatus:
- Hardness (method of Rockwell), according to Polish Standard PN - 93/C - 89030/02 -Hardness Tester Zwick 3106.
 - Abrasion resistance according to Polish Standard PN - 69/C - 89081 - Shopper Type APGi.
 - Static tensile tests, according to Polish Standard PN - 81/C - 89034 - Zwick 1445.

Modifications of HD PE using PKA and KAK in amount of 5 and 10 mass % were carried out. The components were added into granulated polyethylene and this mixture was used to manufacture paddles by injection processing. The results of physico - mechanical analyses are shown in TABLE 1.

The experiments have indicated that all samples were characterised by increase of hardness and abrasion resistance and a small decrease of durability, about 5% comparing to pure polyethylene.

Degradation of modified polyethylene

As poly(aspartic acid) degrades easily, analyses of modified polyethylene samples under degradation condition were carried out. The samples were kept in physiological NaCl solution at 70°C for 30 days. After removing the extracts physico - mechanical analyses were performed. The results are shown in TABLE 2 and FIGURES 1 and 2.

In spite of that after 30 days of incubation hardness and abrasion resistance of analysed samples have decreased by their values were still higher than those of polyethylene without modifications. However, for some samples durability after incubation was better than before.

The pH measurements of physiological NaCl solution have indicated that after 48 hours of incubation the value of pH change from 6 to 3. During this time the most abundant degradation products, probable oligomers, were passed through into solution. Later, in the next 28 days the value of PH decreased much slower.

After 30 days in vitro tests mass loss of all samples was observed to occur higher for samples containing 5 and 10

Próbka Sample	Twardość Hardness [N/mm ²]	Cieralność [mm ² /m]	Wytrzymałość na rozciąganie Static tensile tests [MPa]	Moduł Younga [MPa]	Wydłulenie wzgl. przy maks. sile [%]
A Polietylen PE	11,10	2,19	21,74	1,14	10,40
B PE + 5% PKA	13,10	1,62	20,51	1,13	10,96
C PE + 10% PKA	15,06	2,09	19,11	1,11	10,49
D PE + 5% KAK	14,40	1,70	19,24	1,06	11,49
E PE + 10% KAK	12,91	1,42	19,77	0,96	10,96

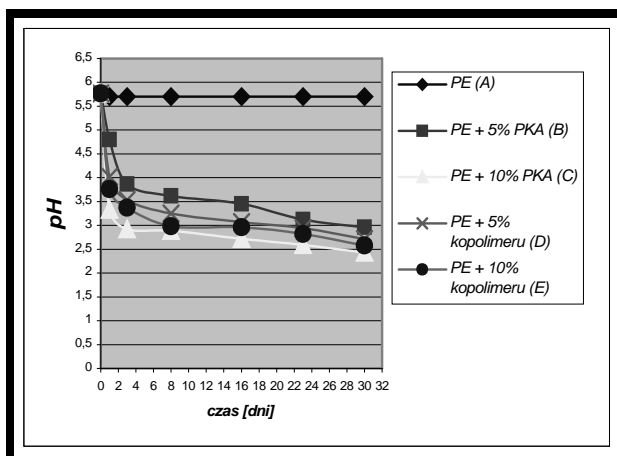
TABELA 1. Właściwości fizyko-mechaniczne PE-HD modyfikowanego PKA i KAK.
TABLE 1. Physico-mechanical properties of HD PE modified PKA and KAK.

Stwierdzono, że zmiana wartości pH roztworów w czasie 30 dni inkubacji dokonano oceny stopnia degradacji za pomocą badania pH roztworów soli fizjologicznej w czasie inkubacji (według PN-89/C-04963) i ubytku masy próbek. Wyniki badania przedstawiono w Tabeli 2 oraz na Rys. 1 i 2.

Pomimo, iż po 30 dniach inkubacji twardość i cieralność badanych próbek zmalała, to jednak wartości te pozostały wyższe niż w przypadku polietylenu bez modyfikatorów. Natomiast właściwości wytrzymałościowe modyfikowanych próbek w niektórych przypadkach, uległy poprawie w porównaniu do wartości przed inkubacją.

Pomiar pH roztworów soli fizjologicznej wykazał, że po upływie 48 godzin pH uległo znacznemu obniżeniu z wartości pH=6 do pH=3. W tym czasie do roztworu wydzielili się najwięcej produktów degradacji, prawdopodobnie oligomerów. Ponadto, w ciągu następujących 28 dni wartości pH obniżyły się zaledwie o 0,5.

Po 30 dniach badania in vitro obserwowano spadek masy we wszystkich badanych próbkach, na skutek wydzielania się do roztworu produktów rozpadu bądź migracji modyfikatora do roztworu. Największy ubytek masy nastąpił w przypadku próbek z 5% i 10% dodatkiem PKA.



RYS. 1. Zmiana wartości pH roztworów w czasie 30 dni inkubacji.
FIG. 1. Change of values pH of solutions after 30 days of incubation.

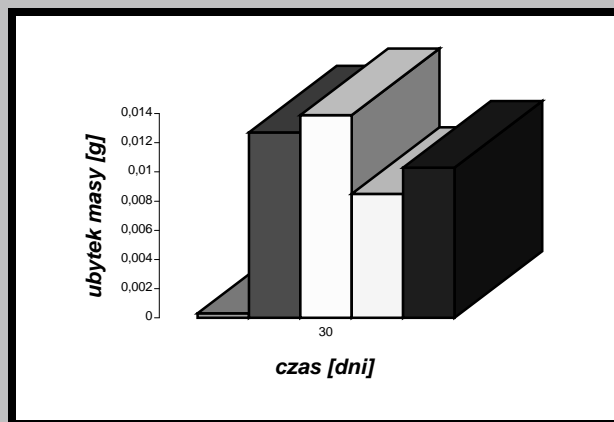
Próbka Sample	Twardość Hardness [N/mm ²]	Cieralność [mm ² /m]	Wytrzymałość na rozciąganie Static tensile tests [MPa]	Moduł Younga [MPa]	Wydłulenie wzgl. przy maks. sile [%]
A Polietylen PE	11,01	2,24	22,04	1,06	12,39
B PE + 5% PKA	12,42	1,83	22,38	1,00	10,94
C PE + 10% PKA	12,60	2,25	21,06	1,11	10,03
D PE + 5% KAK	12,13	1,83	21,89	0,84	11,32
E PE + 10% KAK	11,70	1,58	20,83	0,96	9,97

TABELA 2. Właściwości fizyko-mechaniczne PE-HD modyfikowanego PKA i KAK po 30 dniach inkubacji.
TABLE 2. Physico-mechanical properties of HD PE modified PKA and KAK after 30 days of incubation.

% of PKA was a results of mowing into solution of some decomposition products or migration of a modifying agent.

Conclusions

1. Polyethylene modified of PKA and KAK characterised by increase of physico-mechanical properties, especially hardness and abrasion resistance comparing to pure polyethylene. The highest value of hardness displays polyethylene containing PKA.
2. Durability increases (static tensile tests) or is still invariable (Young Modulus) after incubation. The biggest value of abrasion resistance was observed for polyethylene with PKA.
3. Under in vitro conditions degradation of modification agent and migration of its products into physiological NaCl solution, as evaluated changes of pH values and mass loss of samples, were observed.
4. For the research performed it can be calculated that, the best prognosis for potential material of implantation purposes shows polyethylene with 5% of PKA. It can be expected, that poly(aspartic acid) may find application in treatments



RYS. 2. Ubytek masy próbek po 30 dniowej inkubacji w 0,9 % roztworze NaCl.
FIG. 2. Mass loss of samples after 30 days incubation into 0,9% NaCl.

1. Polietylen modyfikowany PKA oraz KAK wykazuje poprawę właściwości fizyko-mechanicznych, w szczególności twardości oraz odporności na ścieranie w stosunku do czystego polietylenu i utrzymuje to zależność po 30 dniach inkubacji. Najwyższą twardość wykazuje polietylen z 5% i 10% dodatkiem PKA.
2. Właściwości wytrzymałościowe ulegają poprawie (wytrzymałość na rozciąganie) lub pozostają niezmiennione (Moduł Younga) po inkubacji, przy czym najwyższą wartość wydłużenia względnie przy zerwaniu zaobserwowano dla polietylenu z 5% dodatkiem PKA.
3. W warunkach in vitro zachodzi degradacja modyfikatora i równocześnie nie ma migracji produktów degradacji do roztworu soli fizjologicznej, o czym świadczą zmiana pH roztworów oraz ubytek masy próbek.
4. W świetle przeprowadzonych badań, najlepsze rokowania na potencjalny materiał implantacyjny wykazuje polietylen z 5% dodatkiem PKA. Spodziewamy się, że poli(kwas asparaginowy) może być materiałem, który rozwiąże niektóre problemy endoprotezoplastyki, tj. nadmierne zużycie materiału implantacyjnego oraz niekorzystne reakcje biologiczne wokół wszczepionych endoprotez.

ODPORNOŚĆ NA ZUŻYCIE NARZĘDZI MEDYCZNYCH

GIERZYŃSKA-DOLNA M.*, ADAMUS J.*, SZYPROWSKI J.***, SOBOCIŃSKI M.*

*POLITECHNIKA CZ. STOCHOWSKA

**WOJEWÓDZKI SZPITAL SPECJALISTYCZNY W CZ. STOCHOWIE

Streszczenie

W pracy omówiono podział narzędzi ze względu na różne kryteria. Podano przykłady zużycia narzędzi stosowanych do implantacji endoprotez. Omówiono wyniki badań tarciowo-zużyciowych par tarcyjnych: "metal-kość", "polietylen-kość".

Słowa kluczowe: narzędzia chirurgiczne, zużycie, obróbka powierzchniowa

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 102-106]

Wprowadzenie

Wzrost ilości wykonywanych zabiegów implantacji różnego typu endoprotez, jak też stosunkowo duża ilość wykonywanych zabiegów zespołu kostnych wymaga konieczności posiadania odpowiedniego instrumentarium chirurgicznego. Wysokie wymagania stawiane narzędziom chirurgicznym są powodem tego, iż produkcję tych narzędzi zajmują obecnie wysoko wyspecjalizowane firmy. Należy podkreślić, iż im bardziej złożony zabieg tym bardziej rozbudowane i kosztowne jest instrumentarium. Jeżeli chodzi o implantację endoprotez, to do każdego rodzaju implantatu dostosowane jest instrumentarium chirurgiczne, przydatne do określonej techniki operacyjnej.

Narzędzia chirurgiczne można podzielić ze względu na kilka kryteriów [1]. Ze względu na przeznaczenie można wyróżnić narzędzia:

- anatomiczne (do wykonywania sekcji zwłok),

by lowering both abrasion and, due to its biocompatibility, harmful bioreactions at the endoprosthesis outer layer.

Pi miennictwo References

- [1] Dzik A.: Mechanical damages of polyethylene acetabulum-complication of hip cement prosthesioplasty. Kwart. Ortop., 2001, 3.
- [2] Otfinowski J., Kowal J.: Changing hardness of polyethylene in acetabular cups of hip joint prostheses. In: Biomater., 2003, nr 26-29.
- [3] Gierzyńska-Dolna M.: Trybologiczne aspekty doboru materiałów na elementy trące endoprotez. In: Biomater., 2002, nr 23, 24, 25.
- [4] Pielichowski J., Dzik E., Polaczek J.: Poli(kwas asparaginowy) jako biomateriał. Synteza i właściwości fizyczne. In: Biomater. 2003, nr 26-29.
- [5] Polaczek J., Pielichowski J., Dzik E.: Synteza poli(kwasu asparaginowego) - polimeru stosowanego w inżynierii biomedycznej. In: Biomater., 2003, nr 26-29.

WEAR RESISTANCE OF THE MEDICAL TOOLS

GIERZYŃSKA-DOLNA M.*, ADAMUS J.*, SZYPROWSKI J.***, SOBOCIŃSKI M.*

*POLITECHNIKA CZ. STOCHOWSKA

**WOJEWÓDZKI SZPITAL SPECJALISTYCZNY W CZ. STOCHOWIE

Abstract

In the paper division of surgical tools according to the different criteria were discussed. Some examples of tool wear used for endoprosthesis implantation were shown. Results of the frictional and wear tests for frictional pairs: "metal-bone" and "polyethylene-bone" were given.

Keywords: surgical tools, wear, surface treatment [Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 102-106]

Introduction

Both an increase in the amount of endoprostheses reimplantation and high amount of the bone connections involve necessity of having the proper surgical instrumentarium. High requirements placed for surgical instrumentarium are the reason why only highly specialized firms deal with their production. It is necessary to emphasize that the more complicated operation is the more complex and expensive tools are applied. As regards endoprostheses implantation surgical instrumentarium must be adjusted to the implant kind and specific operation techniques.

Surgical tools can be divided regarding the following criteria [1]:

1. regarding their application we can distinguish:

- anatomic tools (for autopsies),
- universal tools,
- specialist tools (orthopaedic, cardiosurgical, gynaecological)

- chirurgiczne ogólnego przeznaczenia,
- chirurgiczne specjalistyczne np. ortopedyczne, kardiologiczne, ginekologiczne, stomatologiczne itp.,
- weterynaryjne.

Ze względu na rodzaj wykonywanej czynności możemy rozróżnić,

- narzędzia tnące,
- narzędzia chwytające,
- narzędzia kłujące,
- narzędzia uderzające, zagłębienie itp.

Ze względu na rodzaj trybologicznych materiałów:

- narzędzia współpracujące z tkankami miękkimi,
- narzędzia współpracujące z tkankami kostnymi.

Narzędzia chirurgiczne muszą posiadać szereg cech, do których należą:

- zespół własności mechanicznych,
- geometrii umożliwiającej wykonanie odpowiedniego zabiegu,
- odporność na korozję w płynach ustrojowych,
- wysoką odporność na zanieczyszczenia,
- podatność na sterylizację,
- ergonomiczny kształt.

Złożoność wykonywanych zabiegów chirurgicznych, między innymi takich jak implantacja endoprotez, wymaga stosowania specjalnych zestawów narzędzi, których koszt jest bardzo wysoki. Dlatego te istotne cechy tych narzędzi jest ich trwałość i niezawodność. Obniża się intensywność zużycia narzędzi, nie tylko z ich trwałości i kosztów, ale ma także aspekt medyczny. Wynika to z faktu, iż pozostające w organizmie metalowe produkty zużycia mogą powodować nieprzewidziane ujemne skutki.

Zużycie narzędzi chirurgicznych

Problemowi zużycia narzędzi chirurgicznych poświęcono dotychczas stosunkowo mało uwagi. Producenci zestawów narzędzi zwykle nie podają nawet w sposób szacunkowy ich trwałości. W zestawie instrumentarium chirurgicznego są narzędzia, które zużywają się mniej intensywnie (współpracujące z tkankami miękkimi) oraz te, których zużycie jest znaczne (współpracujące z tkankami kostnymi). W zestawie narzędzi służących do implantacji endoprotez stawu biodrowego intensywniejszemu zużyciu podlegają: frezy, raszple, wiertła.

Na RYSUNKU 1 pokazano typowy zestaw narzędziowy do implantacji endoprotez stawu biodrowego firmy Aesculap, a na RYSUNKU 2 przykłady zużytych powierzchni narzędzi chirurgicznych.

RYSUNEK 2a ilustruje powierzchnię zużytego freza do wiercenia otworu w kości miednicy. RYSUNEK 2c, d, e, f ilustruje zużyte krawędzie tnące dłuć chirurgicznych. Jak to ilustrują rysunki, dominującym procesem zużycia czynnikiem roboczym jest zużycie ciernie oraz makrowykruszenia krawędzi roboczych.

Redni trwałość elementów roboczych narzędzi służących do wykonywania otworów w kości miednicy i kości udowej szacuje się na 10-15 zabiegów. W zestawie służącym do implantacji endoprotez stawu biodrowego intensywnemu zużyciu podlegają także narzędzia jak frezy do wiercenia otworu pod panewkę w kości miednicy, wiertła do wiercenia otworu pod trzpień w kości udowej, dłuta i raspatory oraz w mniejszym stopniu raszple. Stosunkowo niską trwałość posiadają także piłki służące do przecinania kości (2-3 zabiegów).

Znacznemu zużyciu ulegają także czynniki chwytne (robocze) dłuć i przecinaków wykonane z tworzywa drewnopodobnego.

Wykonywanie zabiegów chirurgicznych przy pomocy st-

cal, stomatological etc.),

- veterinary tools.

2. regarding kind of action we can distinguish:

- cutting device,
- gripping device,
- prickly device,
- striking device, ect.

3. regarding tribological aspect we can distinguish:

- tools collaborating with soft tissue,
- tools collaborating with bone tissue.

Surgical tools should be characterised by:

- proper mechanical properties,
- geometry, which enable to perform a specific operation,
- corrosion resistance to tissue fluid,
- high wear resistance,
- susceptibility to sterilization,
- ergonomic shape.

Complexity of the performed surgical operations such as endoprosthesis implantation requires the use of the special, very expensive tool sets. Therefore, durability and reliability of the surgical tools are so essential. Decrease in tool wear intensity is connected not only with their durability and costs but also has a medical aspect. Metal wear products, remaining in the human being can cause unforeseen negative effects.

Wear of the surgical tools

So far little attention has been paid to a wear problem of the surgical tools. Tool kit producers usually do not give any information about tool durability, even in estimated way. The surgical instrumentarium consists both of the tools, which wear less intensively (collaborating with soft tissue) and tools, which wear severely (collaborating with bone tissue). Some tools such as milling cutters, rasps, bone drills being in the tool kit for hip joint implantation undergo more intensive wear.

FIGURE 1 the standard tool kit for hip endoprostheses implantation of Aesculap firm has been shown. In FIGURE 2, for example, worn surfaces of some surgical tools have been shown. FIGURE 2a illustrates a worn surface of the milling cutter, which was used for making holes in the pelvis bones. FIGURE 2b, c, d, e illustrate worn cutting edges of the surgical chisels. According to the figure abrasive wear and macrospalling of chisel working edges are the dominant wear process.

Mean durability of the working parts of the tools used for making holes in pelvis and thigh bones is estimated at 10-15 operations. Milling cutters, which are used for making holes in the pelvis in order to place cups, drills, which are used for making holes in order to place stems in the femoral bone, chisels and rasps undergo more intensive wear than the other tools from the instrumentarium for hip joint implantation. Bone saws also have poor durability (2-3 operations). Moreover, gripping parts of the chisels and cutting tools made from sham wood undergo high wear.

Performing surgical operations with the blunt medical instruments is troublesome both for the orthopaedist and its patients because it causes high harm (crush of the bone). Therefore, taking up works aiming at the increase in tool durability, which wear intensively, seems to be purposefully. New achievements of the surface engineering should be used.

ponionych narzędzi medycznych jest uciążliwe zarówno dla ortopedy jak też niekorzystne dla pacjenta, gdyż powoduje znaczne uszkodzenie (zmiana drożności). W tym świetle jest rzeczą celową podjąć prace mających na celu zwiększenie trwałości intensywnie używanych narzędzi chirurgicznych i wykorzystanie współczesnych osiągnięć inżynierii powierzchni.

Badania własne

Cel bada

Celem badań do wiadczalnych było wyznaczenie oporów tarcia występujących w parach tarczych: "metal-kość" oraz "metal-polietylen" i wyznaczenie krzywych zużycia w parach tarczych: "metal-kość", "polietylen-kość" oraz "metal-polietylen".

Parę tarczą typu "metal-kość" występuje w przypadku współpracy narzędzi medycznych z tkanką kostną, natomiast parę tarczą typu "polietylen-kość" występuje w przypadku tzw. endoprotez połowicznych, gdy głowa endoprotezy wykonana z polietylenu współpracuje z panewką kostną miednicy. Parę tarczą typu "metal-polietylen" jest typową parą tarczą występującą w endoprotezach stawu biodrowego w układzie "głowa - panewka".

Materiał i metody bada

Badania tarciowo-zużyciowe przeprowadzono na dwóch stanowiskach badawczych tj. Testerze T05, modelującym styk typu pierścień-półpanewka oraz na urządzeniu tarciowo-zużyciowym przy ruchu posuwisto-zwrotnym i styku powierzchniowym.

Badania tarciowo-zużyciowe na Testerze T05 przeprowadzono przy następujących parametrach:

siła obciążająca $P=600\text{ N}$
 powierzchnia styku $F=100\text{ mm}^2$
 średni nacisk jednostkowy $p=6\text{ N/mm}^2$
 prędkość obrotowa próbki (pierścienia) $v=0,91\text{ obr/s}$
 rodzaj smarowania płyn Ringera

Do badań przyjęto następujące pary tarcze:

- materiał próbki (pierścienia) - stop tytanu Ti6Al4V bez obróbki powierzchniowej oraz z warstwą TiN,
 - materiał przeciwpróbki - kość zwierzęca (wołowa).

Badania na maszynie tarciowo-zużyciowej przy ruchu posuwisto-zwrotnym przeprowadzono przy następujących



RYS. 1. Zestaw do implantacji endoprotez stawu biodrowego firmy Aesculap a) panewki, b) trzpienia.

FIG. 1. Tool kit for implantation of hip endoprostheses - Aesculap firm a) acetabular cup, b) stem.

RYS. 2. Powierzchnia zużytych narzędzi do implantacji endoprotez stawu biodrowego.

FIG. 2. Worn surfaces of some surgical tools.

Tests

Test aim

Tests were aimed at:

- determination of the frictional resistance occurring in the frictional pairs:

- "metal - bone"
 - "metal - polyethylene"
- determination of the wear curves for frictional pairs:
- "metal - bone",
 - "polyethylene - bone"
 - "metal - polyethylene".

Frictional pair "metal - bone" is when medical tools collaborate with bone tissue, while frictional pair: "polyethylene - bone" is when polyethylene endoprosthesis head collaborates with the bone cup of pelvis - so-called half-endoprostheses.

Frictional pair: "metal - polyethylene" is the typical frictional pair occurring in the hip endoprostheses with the system: "head - acetabular cup".

Materials and test methods

Frictional and wear tests were carried out on two test stands i.e. T05 Tester, which simulates contact: "ring - half-cup" and frictional and wear stand with reciprocating motion and area contact.

Frictional and wear tests on T05 Tester were carried out with the following parameters:

load force $P=600\text{ N}$
 area contact $F=100\text{ mm}^2$
 mean unit pressure $p=6\text{ N/mm}^2$
 rotational speed of the ring $v=0,91\text{ rot./s}$
 kind of lubrication Ringer's liquid

The following frictional pairs were taken into tests:

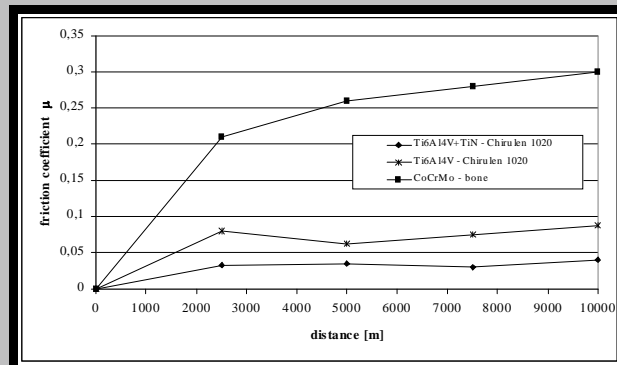
- material of the sample (ring) - titanium alloy Ti6Al4V with no surfacing and with TiN layer,
- material of the counter-sample - animal (ox) bone.

Tests on the frictional and wear test-stand with reciprocating motion were carried out with the following parameters:

load force $P=300\text{ N}$ and 600 N
 area contact $F=100\text{ mm}^2$
 mean unit pressure $p=3\text{ N/mm}^2$ and 6 N/mm^2
 rubbing speed $v=60\text{ cycle/min}$
 kind of lubrication Ringer's liquid

Frictional pairs:

- material of the sample - titanium alloy Ti6Al4V with no surfacing and titanium alloy Ti6Al4V after nitrogen titanizing,
- material of the counter-sample - animal (ox) bone, CoCrMo



RYS. 3. Zmiana współczynnika tarcia w funkcji drogi tarcia T05.

FIG. 3. Friction coefficient as a function of the frictional path.

parametrach:
 siła obciążająca cała powierzchnia styku
 średni nacisk jednostkowy przy dokonywaniu lizgania
 rodzaj smarowania

P=300N i 600N
 $p=3\text{N/mm}^2$ i 6N/mm^2
 v=60 cykli/min
 płyn Ringera

Para trące:
 - materiał próbki - stop tytanu Ti6Al4V bez obróbki powierzchniowej oraz stop tytanu Ti6Al4V po azototytanowaniu,
 polietylen - Chirulen 1020
 - materiał przeciwpróbki - kość zwierzęca (wołowa), stop CoCrMo.

Jako miarę zużycia przyjęto ubytek wagowy próbki.

Wyniki badań tarcio- zużyciowych

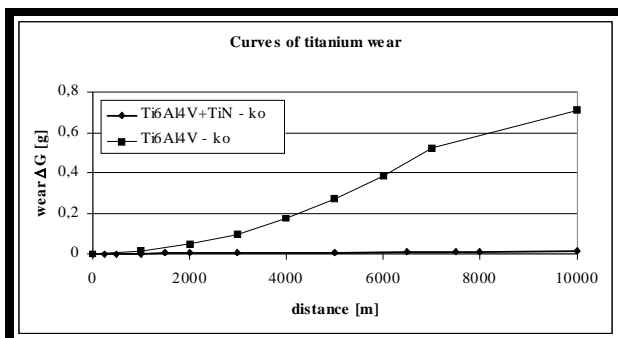
Wyniki badań tarcio-życiowych prowadzonych na testerze T05 ilustruje RYSUNEK 3. Na rysunku przedstawiono zmiany współczynnika tarcia w funkcji drogi tarcia dla badanych par trących.

Jak to wynika z przeprowadzonych badań współczynnik tarcia występujący w parze trącej "metal-kość" jest znacznie wyższy od współczynnika tarcia występującego w parze trącej "metal-polietylen". Występowanie tak wysokich oporów tarcia w parze trącej "CoCrMo-kość" wyjaśnia dużą intensywność zużycia narzędzi chirurgicznych, również tych wykonanych ze stopów tytanu. Intensywność zużycia narzędzi można znacznie zmniejszyć poprzez właściwie dobraną obróbkę powierzchniową np. azototytanowanie.

Wyniki badań tarcio-życiowych przeprowadzonych na maszynie przy ruchu posuwisto-zwrotnym ilustruje RYSUNEK 4 i 5.

Przeprowadzone badania tarcio-życiowe wskazują na dużą intensywność zużycia pary trącej "metal-kość". Jak to ilustrują założone przykładowo wykresy zużycia stopu tytanu współpracującego z kością (rys. 4) jest bardzo duże i po krótkiej drodze docierania występuje przyspieszone zużycie. Poddanie stopu tytanu procesowi azototytanowania powoduje wielokrotne zmniejszenie zużycia, a proces zużycia staje się stabilny.

RYSUNEK 5 ilustruje krzywe zużycia polietylenu współpracującego z kością oraz stopem CoCrMo. Zużycie polietylenu współpracującego z kością jest znacznie wyższe niż zużycie pary trącej: polietylen - metal. Wynika to z dużych oporów tarcia występujących w parze trącej: polietylen - kość. Przyrost masy próbki polietylenowej współpracującej ze stopem CoCrMo wynika z przenoszenia się metalowych



RYS. 4. Krzywe zużycia stopu tytanu Ti6Al4V współpracującego z kością, $p = 6\text{ N/mm}^2$.

alloy. Loss in weight was taken as a measure of wear.

Results of the frictional and wear tests

FIGURE 3 illustrates the results of the frictional and wear tests carried out on T05 Tester. Changes in friction coefficient versus frictional path for the tested pairs were presented in the FIGURE.

According to the tests, friction coefficient occurring in the frictional pair: "metal - bone" is much higher than friction coefficient occurring in the frictional pair: "metal - polyethylene". So high frictional resistance in the frictional pair: "CoCrMo - bone" explains high intensity in wear of the surgical tools, also these ones made from titanium alloys. Tool wear intensity can be decreased by the proper surface treatment e.g. nitrogen titanizing.

Results of the friction and wear tests, which were carried out on the machine with reciprocating motion, are presented in FIGURES 4 and 5.

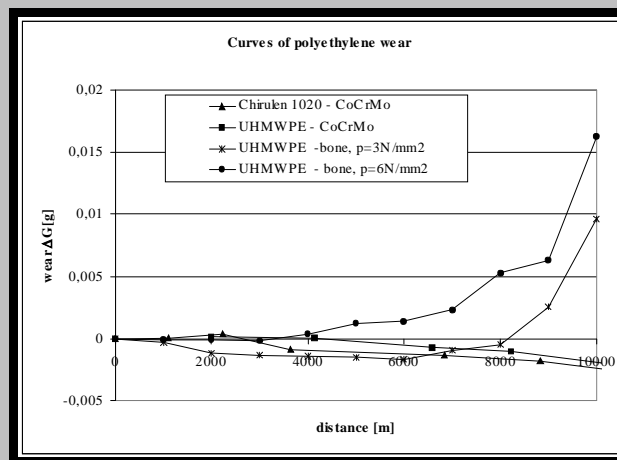
Friction and wear tests show high wear intensity of the frictional pair: "metal - bone".

According to the figures, wear of titanium alloy collaborating with the bone (FIG. 4) is very high and after a short lapping intensive wear occurs. Nitrogen titanizing process affects decrease in wear several times and wear process becomes more stable.

FIGURE 5 illustrates wear curves of polyethylene collaborating with bone and CoCrMo. Wear of polyethylene collaborating with the bone is much higher than wear of the frictional pair: "polyethylene - metal". It results from high frictional resistance occurring in the frictional pair: "polyethylene - bone". Increase in mass of polyethylene sample collaborating with CoCrMo alloy results from transfer of metal wear products on polyethylene and gives "negative wear".

Conclusions

1. According to the preliminary tests, wear of the metal elements collaborating with the bone is much higher than wear of elements of the frictional pair: "polyethylene - metal".
2. Surgical tools for operation on bones (drilling holes for



RYS. 5. Krzywe zużycia polietylenu współpracującego z kością oraz stopem CoCrMo.

Wnioski

1. Z przeprowadzonych wstępnych badań wynika, że zuycie elementów metalowych współpracujących z kością jest znacznie wyższe, niż zuycie elementów partrycej "polietylen - metal".

2. Narzędzia medyczne przeznaczone do wykonywania zabiegów w kości (wiercenie otworów pod trzpień, panewki itp.) powinny mieć odpowiednio utwardzone części robocze. Korzystną obróbkę powierzchni jest azototytanowanie.

3. Stosowanie narzędzi wykonanych ze stopów tytanu jest celowe z uwagi na ich wysoką wytrzymałość i mały ciężar. Narzędzia te muszą być jednak poddawane obróbce powierzchniowej celem poprawienia ich własności trybologicznych.

Podziękowania

Praca finansowana przez Komitet Badań Naukowych, projekt zamawiany nr 16/PBZ-KBN-082/T08/2002

WPŁYW MODYFIKACJI POWIERZCHNIOWEJ Z ZASTOSOWANIEM CIEN- KICH FILMÓW POLIELEK- TROLITOWYCH NA OSTEOBLASTY IN VITRO

B. POLAK*, W. FABIANOWSKI*, M. LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ,**

*WYDZIAŁ CHEMICZNY, POLITECHNIKA WARSZAWSKA
NOAKOWSKIEGO 3; 00 664 WARSZAWA

**ZAKŁAD BIOFIZYKI I FIZJOLOGII CZŁOWIEKA,
AKADEMIA MEDYCZNA W WARSZAWIE
CHAŁUBIŃSKIEGO 5; 02-004 WARSZAWA

[In *ynieria Biomateriałów*, 38-43, (2004), 106-108]

Wstęp

W zastosowaniach polimerów w inżynierii tkankowej bardzo ważną rolę odgrywają właściwości warstwy wierzchniej implantu [1, 2]. We wcześniejszych pracach nad modyfikacjami powierzchniowymi [3] badano odpowiedź komórek na różnego rodzaju podłoża polimerowe. Wykonano kilkanaście modyfikacji płytek do hodowli komórek TCPS (tissue culture polystyrene). Zaobserwowano, że podczas stopniowego nakładania warstw polielektrolitowych, charakter hydrofilowy powierzchni nie ulega zmianie a wyniki testu biologicznego (test XTT) zmniejszają się. Przeprowadzone są liczne badania nad rolą właściwości mechanicznych powierzchni [4-7]. W niniejszej pracy postanowiono znaleźć zależności pomiędzy odpowiedzią komórek i właściwościami badanych podłoży.

stems, cups ect.) should have hardened working parts. Nitrogen titanizing is a favourable surface treatment.

3. Using the tools from titanium alloys is purposeful regarding high strength and low weight. Tools must undergo surfacing in order to improve their tribological properties.

Acknowledgements

Financial support by KBN - project No: 16/PBZ-KBN-082/T08/2002

References

- [1] Paszenda Z., Trylik-Held J. - Surgical instrumentarium, Publishing House: Silesian University of Technology, Poland, Gliwice 2003.
- [2] Marciniak J. - Biomaterials, Publishing House: Silesian University of Technology, Poland, Gliwice 2002.
- [3] Aesculap-Chifa's catalogue of surgical tools, 2002.
- [4] PN-91/Z-54003 - Medical tools. Surgical cutting tools. Requirements and tests.
- [5] PN-EN 556:1999 Sterilization of medical products. Requirements.
- [6] AESCULAP's prospects. Prospect 0-053-11, 0-085-11, 0-099011.
- [7] Gierzyńska-Dolna M. - Biotribology, Publishing House: Czestochowa University of Technology, Poland, Czestochowa, 2002.

INFLUENCE OF SURFACE MODIFICATION BY POLYELECTROLYTE THINFILMS ON OSTEOBLAST IN VITRO

B. POLAK*, W. FABIANOWSKI*, M. LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ,**

*DEPARTMENT OF CHEMISTRY, WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
NOAKOWSKIEGO 3; 00 664 WARSZAWA

**DEPARTMENT OF BIOPHYSICS AND HUMAN PHYSIOLOGY,
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW,
CHAŁUBIŃSKIEGO 5; 02-004 WARSZAWA

[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 106-108]

Introduction

In the application of polymers in tissue engineering, the surface characteristic is of critical importance [1-2]. Therefore, we focused our research work on support state of polymeric implants. In previously reported studies [3] several modifications of TCPS (tissue culture polystyrene) surface have been observed from the point of view of the contact with cells in culture. It was noticed that with gradual deposition of the investigated polyelectrolyte supports and with simultaneously unchanging hydrophilic character of the surface quantitative results of biological tests are significantly decreased. There are many scientific works engaged in examination of the surface mechanical properties' role [4-7]. Therefore, we decided to verify the correlation between the cell response and mechanical properties (i.e. fluidity and

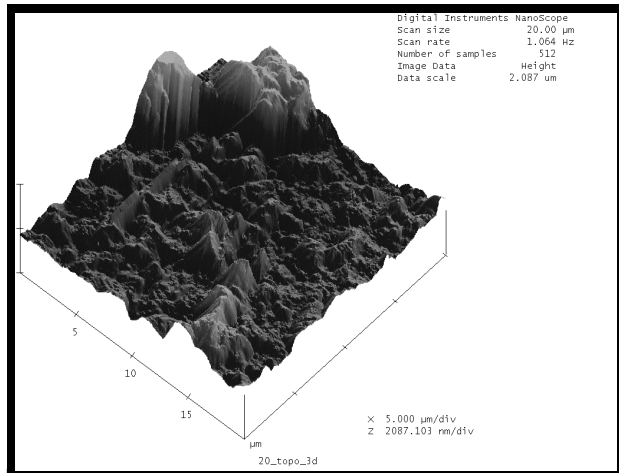
Na podłożach Si przygotowano naprzemiennie ułożone warstwy polielektrolitowe z poli(kwasu akrylowego) A oraz bentonitu B. Na tak przygotowanych powierzchniach założono następnie hodowle osteoblastów wyizolowanych z tkanki ludzkiej. Hodowle prowadzono w podłożu hodowlanej DMEM w warunkach standardowych: 37°C, 96% RH, 5% CO₂. Warstwy wylewano z roztworów wodnych według schematu: A, AB, ABA, ABAB, ABABA, ABABAB. W celu zbadania właściwości badanych podłoży wykonano pomiary wartości kąta zwilżania (CA) metodami goniometrycznymi oraz pomiary AFM w trybie topograficznym oraz tarcowym (Atomic Force Microscopy; Multimode AFM Nanoscope III a). Przeprowadzono również test na aktywność dehydrogenazy bursztynianowej (test XTT).

Wyniki

Zobserwowano, że dla warstw ABAB, ABABA oraz ABABAB wyniki testu XTT, oceniającego przeżywalność komórek w hodowli, zmniejszają się z 71% dla warstwy ABA do 38% dla warstw ABAB oraz ABABA i nawet do 14% dla warstwy ABABAB. Jednocześnie podłoża zachowują charakter hydrofilowy. Wartości kątów zwilżania zmieniają się w zakresie od 35° dla warstwy ABABAB do 55° dla warstwy ABAB i 54° dla podłoża ABA (WYKRES 1). RYSUNKI 2 i 3 przedstawiają topografię warstwy ABA, do której komórki jeszcze przylegały oraz topografię podłoża ABABA, na którym nie obserwowano już adhezji osteoblastów (RYS.4). Na przedstawionych zdjęciach widoczne są wyraźne różnice w topografii otrzymanych podłoży. Wraz ze stopniowym nakładaniem filmów polielektrolitowych wzrasta grubość podłoża i zwiększa się ich chropowatość. Na RYSUNKACH 5 i 6 pokazano zdjęcia AFM wykonane w trybie tarcowym dla warstw ABA oraz ABABA. Ponieważ napięcie, wytwarzające się podczas pomiaru AFM, jest proporcjonalne do powierzchniowej siły tarcia zauważono, że warstwa ABA-BA jest bardziej elastyczna w porównaniu z warstwą ABA.

Podsumowanie

Adhezja i proliferacja komórek obserwowana była tylko na hydrofilowych podłożach zbudowanych z warstw A, AB



RYS. 3. Warstwa Si/ABABA; AFM w trybie topograficznym.
FIG. 3. Si/ABABA layer; AFM in topography mode.

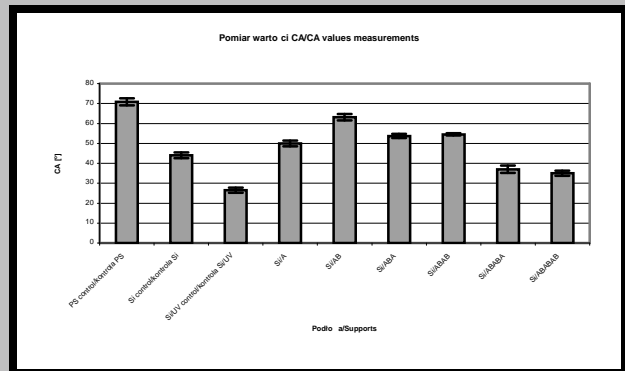
elasticity) of modified supports.

Materials and methods

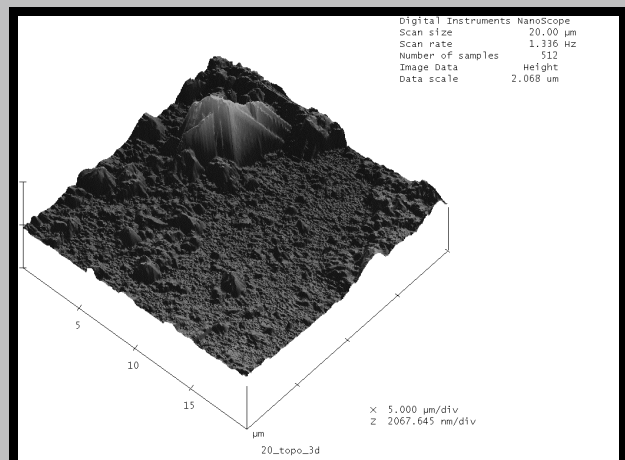
Osteoblasts isolated from human tissue were seeded on Si solid support modified with alternating polymeric polyelectrolyte films. Cell culture was performed in standard conditions i.e. DMEM - culture medium, 37°C, 96% RH, 5% CO₂. One Si support was coated with poly(acrylic acid) A film, the following with A and bentonite B film, the next one with ABA, ABAB, ABABA and ABABAB. Surface properties were characterized with contact angle measurements (CA) and AFM in topography and friction mode (Atomic Force Microscopy; Multimode AFM Nanoscope III a). Succinate anhydrase activity test (XTT test) was performed.

Results

It was noticed that for ABAB, ABABA and ABABAB layers results of viability test (XTT test) decreased from 71% for ABA layer to 38% for both ABAB and ABABA layers and even to 14% for ABABAB layer. At the same time hydrophilic character of support ranged from 35° for ABABAB layer to 55° for ABAB layer and 54° for ABA layer (FIGURE 1). FIGURE 2 and 3 present topography analysis of surface ABA to which cells adhered and ABABA to which cells did not adhere. Topography of both presented surfaces is significantly different. During gradual deposition of polyelectro-

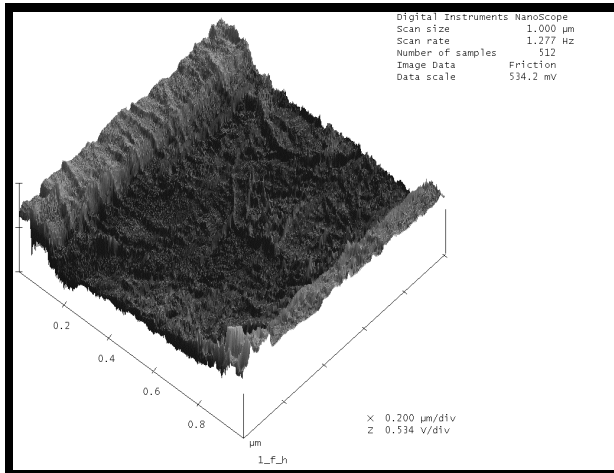


WYKRES 1. Wartości kątów zwilżania.
FIGURE 1. Contact angle values.



RYS. 2. Warstwa Si/ABA; AFM w trybie topograficznym.
FIG. 2. Si/ABA layer; AFM in topography mode.

oraz ABA. Zarówno topografia powierzchniowa jak i siły tarcia powierzchniowego ulegają zmianie wraz ze wzrostem grubości hydrofilowych filmów polielektrolitowych. Wskazywało to na fakt, że istotnym czynnikiem obok charakteru hydrofilowego/hydrofobowego powierzchni są również inne parametry powierzchniowe, takie jak topografia, grubość warstwy wierzchniej a nawet zmieniające się właściwości mechaniczne (elastyczność). Na tym etapie prowadzonych badań trudno jest jednoznacznie ocenić, który z wymienionych czynników odgrywa najważniejszą rolę. Niezbędne są dalsze obserwacje.



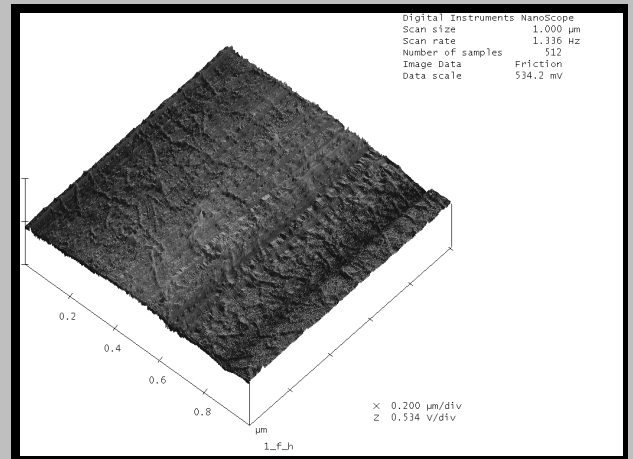
RYS. 5. Warstwa Si/ABABA; AFM w trybie tarciovym.
FIG. 5. Si/ABABA layer; AFM in friction mode.

Podziękowania

Praca realizowana w ramach grantu KBN 4 TO8E 01824.

Pi miennictwo

- [1] S.H. Kim, S. H. Lee, IUPAC World Polymer Congress, Beijing, China (2002), 965.
- [2] G. Chen, T. Ushida, T. Tateishi, IUPAC World Polymer Congress, Beijing, China (2002), 882.
- [3] W. Fabianowski, B. Polak, M. Lewandowska-Szumieł, Annals of the Polish Chemical Society 1 (2003), 199-204.
- [4] K. Anselme, Osteoblast adhesion on biomaterials, Biomaterials 21, 2000, 667-681.



RYS. 4. Warstwa Si/ABA; AFM w trybie tarciovym.
FIG. 4. Si/ABABA layer; AFM in friction mode.

lyte films, the roughness of surface increases. FIGURE 4 and 5 depict the same surfaces in friction mode. By the fact that occurring voltage is proportional to the surface friction force we can observe that ABABA support is more flexible than ABA one.

Concluding remarks

Cells adhered and proliferated on hydrophilic surfaces made up only of A, AB, and ABA sublayers. Both surface topography and surface friction force of the examined hydrophilic layers are changing with the increasing support thickness. We suggest that not only surface wettability characteristics but also other factors like topography, thickness of the support or even changing mechanical properties i.e. surface elasticity and fluidity might be playing an important role in osteoblast adherence in vitro. At this stage of investigation it is difficult to univocally estimate which of mentioned factors is the most important. Further observations are required.

Acknowledgements

Research was supported by grant KBN 4 TO8E 01824.

References

- [5] M.J. Dalby, D. Giannaras, Rapid fibroblast adhesion to 27nm high polymer demixed nano-topography, Biomaterials, 25, 2004, 77-83.
- [6] R.G. LeBaron, K.A. Athanasiou, Ex vivo synthesis of articular cartilage, Biomaterials 21, 2000, 2575-2587.
- [7] M.R. Brunstedt, N.P. Ziats, Attachment and proliferation of bovine aortic endothelial cells onto additive modified poly(ether urethane ureas), J. Biomed. Res. 27, 1993, 483-492.

BADANIE SP CZNIANIA MULTIBLOKOWEGO POLI(ALIFATYCZNO/AROMATYCZNEGO-ESTRU) (PED)

PIOTR PROWANS

KLINIKA CHIRURGII OGÓLNEJ I CHIRURGII RĘKI PAM W SZCZECINIE

Słowa kluczowe: sp cznianie, kopolimery, no niki antybiotyku.

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 109-111]

Wstęp

Jedną z cech charakteryzujących związki wielkocząsteczkowe (polimery) jest zdolność penetrowania substancji ciekłych do ich struktury. Zjawisko to nazywane jest spcznianiem i zależy od właściwości fizykochemicznych polimerów oraz właściwości rozpuszczalnika. Rozpuszczalnik penetrując do struktury polimeru powoduje rozpad wiązania między jego cząsteczkami. W przypadku tworzyw rozpuszczalnych może to doprowadzić do całkowitego zniszczenia struktury tworzywa. Przedmiotem badania jest kopolimer multiblokowy poli(alifatyczno/aromatyczny-ester) (PED) zawierający 26% wag. poli(tereftalanu butylenu) (PBT) - segment sztywny oraz 74% wag. dimeryzowanego kwasu tłuszczowego (DFA) - segment giętki [1, 2]. Wcześniej badania tego materiału wykazały, że jest on nierozpuszczalny w wodzie, natomiast ulega spcznieniu rozpuszczalnikami organicznymi [3]. Daje to podstawę wprowadzenia do jego struktury cząsteczek antybiotyków.

Cel pracy

Celem pracy jest określenie ilościowego spczniania kopolimeru blokowego wodnymi roztworami antybiotyków.

Materiał i metoda

Do badań wykorzystano próbki kopolimeru w postaci wtyki o przekroju eliptycznym 3,0 x 4,0 mm i długości 10 mm.

Spcznianie oceniano na podstawie przyrostu masy po 3, 6, 12 i 24 godzinach inkubowania polimerów w temperaturze 24°C i 37°C. Próbki kontrolne stanowiły próbki kopolimeru spczniane w wodzie podwójnie destylowanej. Efekt biologiczny działania wchłoniętych do kopolimeru antybiotyków sprawdzono w warunkach *in vitro* badając strefy zahamowania wzrostu gronkowców złocistych (S.a.) na podłożu Muller-Hinton (MHA). Kontrolny efekt biologiczny stanowiły strefy zahamowania powstałe dookoła wzorcowych krążków z antybiotykami stosowanymi w metodzie dyfuzyjno-krążkowej do oznaczania wrażliwości drobnoustrojów na antybiotyki. Ilość antybiotyku w krążku przedstawia TAB.1. Do wiadczenia powtórzono trzy razy.

Wyniki

RYS. 1 i 2 przedstawia strefy zahamowania wzrostu gron-

SWELLING BEHAVIOUR OF MULTIBLOCK POLI(ALIPHATIC/AROMATIC-ESTER) (PED)

109

PIOTR PROWANS

DEPARTMENT OF GENERAL AND HAND SURGERY, POMERANIAN MEDICAL UNIVERSITY IN SZCZECIN

Key words: swelling, copolymers, antibiotic carrier

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 109-111]

Introduction

One of the characteristic features of macromolecular compounds is the ability to be penetrated by liquid substances into their structure. This phenomenon is called swelling and depends on physicochemical properties of a polymer and solvent. Solvent penetrating into polymer structure causes the break-up of bonds among the macrochain. In case of soluble materials it can lead to total destruction of the material structure. The subject of investigation was multiblock poly(aliphatic/aromatic-ester) (PED) copolymer containing 26 wt% of poly(butylene terephthalate) (PBT) - hard segment and 74 wt% of dimer fatty acid (DFA) - soft segment [1, 2]. Previous investigations of this material showed, that it is not soluble in water, however it undergoes swelling in presence of organic solvents [3]. Based on above features it is possible to make an effort to introduce an antibiotic particles into copolymer structure.

Aim of work

The aim of this work was quantitative evaluation of a multiblock copolymer swelling behaviour in a presence of water solutions of antibiotics.

Material and method

Samples of copolymer in a form of thread with elliptical cross-section of 3,5 x 4,5 mm and length 15 mm were used for investigations.

Swelling behaviour was estimated from the increase of mass after 3, 6, 12 and 24 hours of incubation of polymers in antibiotics solutions at the temperature 24°C and 37°C. Copolymers immersed in double distilled water were used as a reference. The biological effect of absorbed antibiotics was evaluated *in vitro* by measuring inhibition zones of *Staphylococcus aureus* on a Muller-Hinton substrate (MHA). The control inhibition zone was read from the standard clinical discs used in HMA test. The amount and concentration of antibiotics used in this method shows TABLE 1. Experiments were repeated three times.

Results

FIGS. 1 and 2 show inhibition zones of *Staphylococcus aureus* for copolymer samples after incubation in different antibiotics.

Grupa chemiczna Chemical group	Antybiotyk Antibiotic	St enie Concentration [mg/ml]	Ilo antybioty- ku w kr ku Amount of antibiotic in disc [µg]
Penicyliny Synthetic Penicilins	Piperacylina / Piperacillin	200	100
	Amoksylicyna/kwas klawulonowy Amoxicillin/clavulanic acid	100	20
Cefalosporyny B-lactams	Cefuroksym II gen. Cefuroxime – cefalospor. II gen.	150	30
	Cefamandol II gen. Cefamandole – cefalospor. II gen.	100	30
	Ceftazydim III gen. Ceftazidime – cefalospor. II gen.	100	30
	Ceftriakson III gen. Ceftriaxon – cefalospor. III gen.	100	30
Aminoglikozydy Aminoglycosides	Gentamycyna Gentamycin	10, 40, 80, 160, 320	10
	Amikacyna / Amikacin	100	30
Chinolony Quinolons	Ciprofloksacyna / Ciprofloxacin	10	5
	Pefloksacyna / Pefloxacin	80	5
Glikiopeptydy Glycopeptides	Wankomycyna Vancomycin	100	30
Linkozamidy Linkosamides	Klindamycyna Clindamycin	150	2

TABELA 1. Wykaz antybiotyków zastosowanych do sp cznienia PED oraz zawarto antybiotyku we wzorcowym kr ku.

TABLE 1. List of antibiotics used to swell PED and concentration of antibiotic in standardized disc.

Czas Time [h]	St enie gentamycyny gentamycin concentration [mg/ml]							
	40	80	160	5	20	40	80	160
	Przyrost masy [%], temp. 24°C mass increase [%], temp. 24°C			Przyrost masy [%], temp. 37°C mass increase [%], temp. 37°C				
3	0,14	0,92	0,14	0,24	0,25	0,15	0,48	0,32
6	0,27	0,18	0,14	0,48	0,50	0,15	0,64	0,64
12	1,64	0,92	0,57	0,72	1,13	0,77	1,28	0,48
24	2,31	2,21	4,12	1,45	2,27	0,92	2,57	1,27

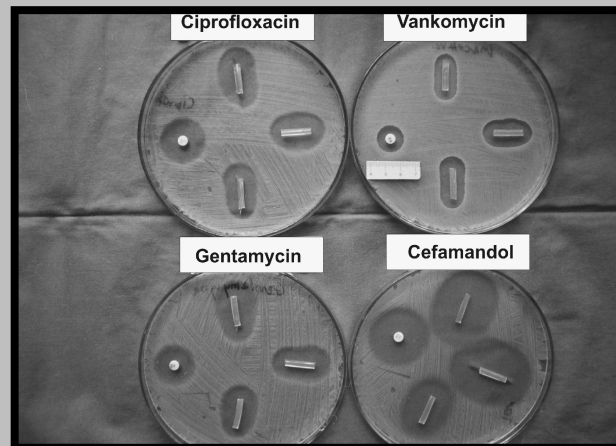
TABELA 2. Przyrost masy kopolimeru PED po sp cznieniu gentamycyny .

TABLE 2. Increase of PED copolymer mass after incubation in gentamycin.

kwoców złocistych dla poszczególnych próbek kopolimeru sp cznionych roztworami poszczególnych antybiotyków.

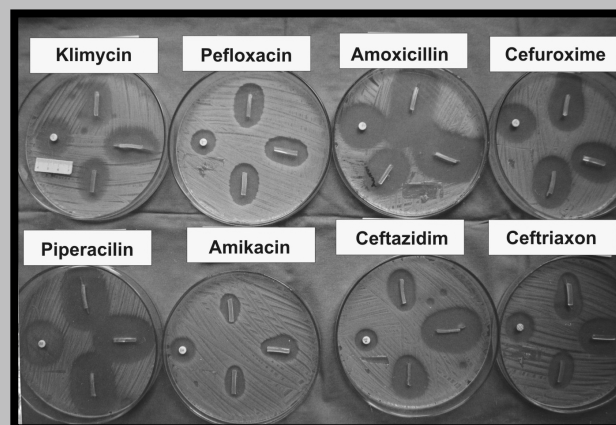
Omówienie

Przedstawione do wiadczzenie wykazuje niewielkie ró nice przyrostu masy sp cznionych kopolimerów zwi zane z czasem i temperatur . Wpływ st enia leku zbadany na przykładzie gentamycyny wydaje si nie mie znaczenia na wielko przyrostu masy kopolimeru. Du a ró nica mas próbek po sp cznieniu wodnymi roztworami antybiotyków w stosunku do sp cznienia wod wskazuje, e jest ona spowodowana przył czaniem cz steczek antybiotyku do polimeru. Na obecno antybiotyku w tworzywie wskazuje efekt biologiczny, a tak e wcze niejsze badania nad uwalnianiem gentamycyny [4]. Z bada tych wywnioskowano, e 1 g tworzywa uwalnia okolo 10-15 mg gentamycyny. Dokładna analiza ilo ci wchloni tego antybiotyku b dzie przedmiotem oddzielnego doniesienia. Strefy zahamowania wzrostu S.a. dookoła próbek kopolimeru PED były równe lub wi ksze od stref powstałych dookoła kr ków zawieraj -cych analogiczne antybiotyki (RYS. 1, 2). Oznacza to, e st enie antybiotyku uwolnionego z kopolimeru PED do pod-



RYS. 1. Strefy zahamowania wzrostu wokół polimerów impregnowanych ró nymi antybiotykami.

FIG. 1. Inhibition zones of St.a. for copolymer samples after incubation in different antibiotics.



RYS. 2. Strefy zahamowania wzrostu wokół polimerów impregnowanych ró nymi antybiotykami.

FIG. 2. Inhibition zones of St.a. for copolymer samples after incubation in different antibiotics.

Discussion

Described experiment shows small differences in increase of mass of incubated copolymers with the time and temperature. Also change of antibiotic concentration, examined for gentamycin, seems to have no effect on increase of the copolymer mass. Large difference of polymer mass after incubation in water and solutions of antibiotics shows to be caused by attaching of antibiotic particles into polymer structure. The biological effect is an evidence for the presence of antibiotic in the material, as well as earlier studies on gentamycin release [4]. From these studies we know that 1 g of material releases about 10-15 mg of gentamycin. Exact analysis of quantity of absorbed antibiotic will be the object of a separate report. Inhibition zones of S.a. around samples of PED copolymer were comparable or even larger than zones around discs including analogous antibiotics (FIG. 1, 2). It means that concentration of released antibiotic from PED copolymer is higher than minimum inhibitory concentration (MIC), which for S.a. stain was for gentamycin 1 mg/L, for vankomycin 1 mg/L and for ciprofloxacin 0,5 mg/L. Observed biological effect shows,

Antybiotyki Antibiotic	Przyrost masy kopolimeru [%] (rednia z 3 próbek) Increase of copolymer mass [%] (average from 3 samples)					
	temperatura inkubacji 24°C incubation temperature 24°C			temperatura inkubacji 37°C incubation temperature 37°C		
	Czas [h] Time [h]	3	12	24	3	12
Amikacyna Amikacin	0,16	0,18	0,16	0,18	0,21	0,36
Wancomycyna Vancomycin	0,08	0,17	0,38	0,15	0,23	0,63
Cefamandol	0,09	0,09	0,19	0,24	0,21	0,24
Ceftazydim Ceftazidim	0,10	0,23	0,22	0,20	0,25	0,81
Piperacylina Piperacilin	0,10	0,16	0,13	0,14	0,15	0,41
Ciprofloksacyna Ciprofloxacin	0,04	0,04	0,12	0,07	0,14	0,15
Klindamycyna Klimicin	0,05	0,25	0,86	*	*	*
Amoksycylina/kw. klaw Amoxicillin/ clavulonic acid	0,08	0,11	0,23	*	*	*

TABELA 3. Przyrost masy kopolimeru PED po sp cznieniu różnymi antybiotykami. (* brak danych).
TABLE 3. Increase of PED copolymer mass after incubation with different antibiotic. (* no data).

to a w obr bie strefy zahamowania wzrostu S.a. przekraczało minimalne st enie hamuj ce (MIC), które dla u ytego szczepu S.a. wynosiło: dla gentamycyny 1mg/l, dla wancomycyny 1mg/l, dla ciprofloksacyny 0,5 mg/l. Obserwowany efekt biologiczny wskazuje, e poszczególne antybiotyki ł cz si z badanym kopolimerem PED a nast pnie uwalniaj si do otoczenia zachowuj c swoje wła ciwo ci antybakteryjne. Badania mikrobiologiczne wykazały, e 12 godzinny okres inkubacji wystarcza dla uzyskania efektu biologicznego jednakowego z kr kami stosowanymi w metodzie dyfuzyjno-kr kowej. Daje to podstawy przypuszcza, e badany kopolimer blokowy mo e by wykorzystany jako no nik antybiotyku.

Podzi kowania

Praca finansowana w ramach projektu KBN nr 4T09B 10822.

Pi miennictwo

- [1] El Fray M., Słonecki J., Broza G.: Krystalizacja fazy stopionej segmentowych aromatyczno-alifatycznych kopolimerów (estero-estrow) na podstawie poli(tereftalanu butylenu) i dimeryzowanego kwasu tłuszczowego, Polimery, 42 (1997) 35-39.
[2] El Fray M., Słonecki J.: Multiblock copolymers consisting of polyester and polyaliphatic blocks, Angew. Makromol. Chem., 234 (1996) 103-117.

Czas [h] Czas [h]	Przyrost masa kopolimeru [%] (rednia z 3 próbek) Increase of copolymer mass [%] (average from 3 samples)					
	temperatura inkubacji 24°C incubation temperature 24°C			temperatura inkubacji 37°C incubation temperature 37°C		
	3	12	24	3	12	24
Woda Water	0,08	0,09	0,09	0,07	0,12	0,15

TABELA 4. Przyrost masy kopolimeru po sp cznieniu wód podwójnie destylowan .
TABLE 4. Increase of PED copolymer mass after incubation in double distilled water.

that individual antibiotics attaches to PED copolymer and then releases to environment maintaining antibacterial properties. Microbiologic experiment showed that 12 hour period of incubation gave equal effect with control discs applied in a standard clinical zone inhibition method. This can suggest that studied block copolymer can be used as carrier of antibiotic.

Acknowledgements

This work was financially supported by the project of KBN No. 4T09B 10822.

References

- [3] El Fray M., Altstadt V.: Fatigue behaviour of multiblock thermoplastic elastomers. 2. Dynamic creep of poly(aliphatic/aromatic-ester) copolymers.: Polymer, 45 (2004) 253-273.
[4] Prowans P.: Release of Gentamycin from new copolymer - in vitro study, Engineering Biomateriałów, 34 (2004) 38-41.

BADANIE UWALNIANIA GENTAMYCYNY Z NOWEGO MULTIBLOKOWEGO POLI(ALIFATYCZNO/AROMATYCZNEGO-ESTRU) - BADANIA IN VIVO

PIOTR PROWANS

KLINIKA CHIRURGII OGÓLNEJ I CHIRURGII RĘKI PAM W SZCZECINIE

Słowa kluczowe: uwalnianie gentamycyny, kopolimery, nośnik antybiotyku.

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 112-114]

Wstęp

Aktualne kierunki badań nad zabezpieczeniem wszczepianego materiału przed kolonizacją drobnoustrojami dotyczą modyfikacji powierzchni tworzywa oraz połączenia z czynnikiem antybakteryjnym [1]. Jednym z wykorzystywanych czynników antybakteryjnych są antybiotyki, które łączą się z tworzywem poprzez pokrycie jego powierzchni lub wprowadzenie do struktury materiału. Skuteczność ochrony zależy między innymi od ilości antybiotyku oraz sposobu jego uwalniania. Wydaje się, że kliniczny efekt może na osi gniazda uzyskiwać w tkankach otaczających wszczepiony materiał, stężenie antybiotyku przekraczające minimalne stężenie hamujące wzrost drobnoustrojów (MIC) przez możliwie długi czas [2, 3]. Wcześniej badania nad uwalnianiem gentamycyny z nowego kopolimeru multiblokowego jakim jest poli(alifatyczno/aromatyczny-ester) (PED) sugerują, że może on pełnić rolę nośnika antybiotyku i uwalniania go zapewniając wymagane stężenie w jego otoczeniu [4].

Cel pracy

Celem pracy była ocena stężenia gentamycyny uwalniającej do tkanek z wszczepionego kopolimeru PED sprężonego roztworem gentamycyny oraz w surowicy krwi szczeniaka.

Materiał i metoda

Do badania wykorzystano kopolimer multiblokowy poli(alifatyczno/aromatyczny - ester) (PED) zawierający 26% wag. poli(tereftalanu butylenu) (PBT) - segment sztywny oraz 74% wag. dimeryzowanego kwasu tłuszczowego (DFA) - segment giętki [5, 6]. Do sprężenia użyto preparat handlowy gentamycyny firmy KRKA o stężeniu 40 mg/ml. Próbkę tworzywa w postaci włókna o wymiarach 3 mm x 4 mm długości 10 mm sprężano przez 12 godzin w temperaturze 24°C i suszono w powietrzu przez 15 min w temperaturze 37°C. Tworzywo wszczepiano szczeniom rasy Wistar o masie 250 + 20 g w tkankę podskórną grzbietu. Łączna masa wszczepionego tworzywa jednemu zwierzęciu wynosiła 750 mg. Grupę kontrolną stanowiły zwierzęta otrzymujące gentamycynę domięśniowo w dawce 16 mg/kg.m.c., którym wszczepiono kopolimer PED nie zawierający antybiotyku. Wiel-

EVALUATION OF GENTAMYCIN RELEASE FROM NEW MULTIBLOCK POLI(ALIPHATIC/AROMATIC-ESTER) - IN VIVO INVESTIGATIONS

PIOTR PROWANS

GENERAL AND HAND SURGERY DEPARTMENT, POMERANIAN MEDICAL UNIVERSITY IN SZCZECIN

Keywords: gentamycin release, copolymer, antibiotic carrier

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 112-114]

Introduction

Current research directions of protection of implanted material against microorganism's colonization concern surface modification of the material and binding with antibacterial agents [1]. One from used antibacterial agents is an antibiotic, which can be grafted on the surface or introduced into material structure. The effectiveness of the protection depends among others from the amount of antibiotic and the release pattern. It seems, that clinical effect could be achieved by the concentration of antibiotic in tissues surrounding implanted material exceeding minimal inhibitory concentration (MIC) of antibiotic [2, 3]. Previous investigations concerning gentamycin release from new multiblock poly(aliphatic/aromatic-ester) copolymer (PED) suggest that the copolymer can be an efficient antibiotic carrier and can release it at the concentration which is required in surrounding tissue [4].

Aim of work

The aim of the work was evaluation of gentamycin concentration released from implanted copolymer saturated with gentamycin into surrounding tissue and in blood of experimental rats.

Material and method

Multiblock poly(aliphatic/aromatic-ester) (PED) copolymer containing 26 wt% of poly(butylene terephthalate) (PBT) - hard segment and 74 wt% dimer fatty acid (DFA) - soft segment was used in study [5, 6]. An antibiotic - gentamycin, in concentration of 40 mg/ml was used for impregnation of polymer. Sample of the material in form of threads with dimensions 3 mm x 4 mm x 10 mm were saturated for 12 hours in antibiotic at 24°C and next dried in air at 37°C. Impregnated polymeric samples were grafted into subcutaneous dorsal tissue of 250 + 20 g Wistar rats. Investigated animals got 750 mg of the total mass of impregnated polymer. Control animals received gentamycin intramuscularly in dose 8mg/kg of body weight and unsaturated copolymer was implanted subcutaneously. The amount of antibiotic passed i.m. was matched to the dose which could be released from impregnated copolymer. The amount of potentially released gentamycin from the copoly-

Czas po podaniu gentam. Time after application of gentam. [min.]	Stężenie gentamycyny w surowicy po wszczepieniu kopolimeru Gentamycin concentration in serum after implantation of saturated copolymer [mg/l]				Stężenie gentamycyny w surowicy po wstrzyknięciu domięśniowym Gentamycin concentration in serum after intramuscular injection [mg/l]			
	I	II	III	średnia	I	II	III	średnia
30	7,45	11,20	9,00	9,22	20,19	19,40	18,64	19,41
60	4,07	5,82	9,88	6,59	8,91	14,80	13,90	12,54
90	3,57	4,71	5,94	4,74	7,95	11,90	8,80	9,55
120	3,10	3,62	1,44	2,72	7,30	5,99	6,10	6,46
180	1,41	3,52	0,97	1,97	6,49	2,26	4,97	4,57
240	0,75	2,00	0,81	1,17	3,12	1,46	1,59	2,06

TABELA 1.
TABLE 1.

każda dawka podawanej domięśniowo dobrano tak, aby odpowiadała dawce gentamycyny, która może uwolnić się z wszczepionego kopolimeru. Ilość potencjalnie uwolnionej gentamycyny z kopolimeru określono szacunkowo na podstawie wcześniejszych badań in vitro dotyczących uwalniania gentamycyny [4]. Do badania pobierano krew żylną oraz fragmenty tkanek bezpośrednio otaczających wszczep oraz z miejsc odległych od wszczepu po 30, 60, 90, 120, 180 i 240 minutach. W każdym przedziale czasowym pobierano próbki krwi i tkanek od 3 różnych zwierząt. Pomiar stężenia gentamycyny prowadzono metodą immunofluorescencji polaryzacyjnej analizatorem Abbott TDX.

Wyniki

TABELA 1 przedstawia stężenia gentamycyny w surowicy krwi po wszczepieniu kopolimeru PED nasączonego gentamycyną oraz po domięśniowym wstrzyknięciu antybiotyku.

TABELA 2 przedstawia stężenia gentamycyny uwolnionej z PED do tkanek bezpośrednio otaczających wszczepiony kopolimer.

Omówienie

Przeprowadzone doświadczenie wykazało, że stężenie gentamycyny w surowicy po wstrzyknięciu domięśniowym było dwukrotnie wyższe niż stężenie gentamycyny uwalnianej z PED. Może to wynikać z faktu, że wstrzyknięcie gentamycyny domięśniowo, wprowadzono do tkanek jednorazowo całą dawkę. Natomiast gentamycyna, którą nasączono kopolimer PED uwalnia się powoli co uniemożliwia osiągnięcie tak wysokich stężeń. Dla zapewnienia skutecznej ochrony przed kolonizacją wszczepionego polimeru ważne jest, aby stężenie antybiotyku w bezpośrednim otoczeniu implantu przekraczało minimalne stężenie hamujące (MIC). Z przeprowadzonego doświadczenia wynika, że stężenia gentamycyny uwolnionej z PED do tkanki otaczającej polimer były większe niż w surowicy w pierwszych 30 min od wszczepienia/podania. Gwałtowne uwalnianie w pierwszych 30 min było także obserwowane w doświadczeniach in vitro. W dalszych przedziałach czasowych stężenie w tkankach uwolnionej z PED gentamycyny było porównywalne ze stężeniem w surowicy. Zachęcającym wynikiem było stwierdzenie, że w tkance po 4 godzinach stężenie gentamycyny przekraczało MIC. Zastosowana ocena metodą immunofluorescencji nie wykazała obecności gentamycyny w tkankach zwierząt, które otrzymały antybiotyk domięśniowo. Nie stwierdzono również obecności antybiotyku w tkankach odległych od miejsca wszczepienia kopolimeru PED nasączonego gentamycyną. Otrzymane wyniki wskazują, że uwalnianie antybiotyku z protezy umożliwi uzyskanie wysokich stężeń w miejscu wszczepienia. Natomiast

Czas po podaniu gentam. Time after application of gentam. [min]	Stężenie gentamycyny w tkance otaczającej nasączony kopolimer PED Gentamycin concentration in tissue surrounding saturated copolymer implant [mg/g of tissue]			
	I	II	III	średnia
30	19,49	7,60	25,68	17,59
60	4,48	4,19	8,14	5,60
240	1,53	0,68	3,86	2,02

TABELA 2.
TABLE 2.

mer was evaluated based on previous study [4]. Samples of venous blood, tissues directly surrounding implant and tissues from implant distant places after 30, 60, 90, 120, 180 and 240 minutes were taken for the analysis. Samples of blood and tissues were taken from 3 different animals at every time interval. Measurement of gentamycin concentration was carried out with use of polarized immunofluorescence method on Abbott TDX apparatus.

Results

TABLE 1 presents gentamycin concentration in serum of blood after implanting PED copolymer saturated with gentamycin and after intramuscular injections.

TABLE 2 presents concentration of gentamycin released from PED into tissues directly surrounding impregnated copolymer.

Discussion

Our study showed that gentamycin concentration in serum after intramuscular injection was two times higher than concentration of gentamycin released from impregnated PED copolymer. This can result from the fact, that by the injection it is possible to deliver whole dose at once. And gentamycin from PED is released slowly what makes impossible to achieve so high concentrations as in a case of injections. To assure the effective protection against colonization of implanted material it is important to maintain the concentration of antibiotic in direct surrounding of the material at the level exceeding minimum inhibitory concentration (MIC). It was found during experiment, that concentration of gentamycin released from PED into surrounding tissue was higher than in serum in first 30 min from implantation. An intensive release in first 30 minutes was also observed in earlier in vitro experiment. In further time intervals concentration of gentamycin released from PED into tissues was comparable with concentration in serum. It is interesting to point out, that gentamycin concentration in tissue after 4 hours exceeded MIC. Moreover, the applied immunofluorescence method did not demonstrate presence of gentamycin in tissues animals which received antibiotic intramuscularly. No presence of antibiotic in tissues distant from the place of PED saturated implant was detected.

wysokie stężenia antybiotyku w surowicy krwi mogą nie zapewnić równie wysokiego stężenia w tkankach otaczających wszczep. Do wiadczenia te wskazują więc, że potencjalnie najefektywniejszą ochroną przed kolonizacją drobnoustrojami może stanowić uwalnianie antybiotyku z wszczepionego polimeru oraz podanie go ogólnoustrojowo.

Podziękowania

Praca finansowana w ramach projektu KBN nr 4T09B 10822.

Piśmiennictwo

- [1] Pascual A.: Pathogenesis of catheter-related infections: lessons for new designs. *Clin Microbiol Infect.*, 8 (2002), 256-264.
 [2] Powels J.W., Spencer R.F., Lovering A.M.: Gentamicin release from old cement during revision hip arthroplasty. *J. Bone Joint Surg.*, 80 Br., (1998), 607-610.
 [3] Bielawski J.: Miejscowa aplikacja antybiotyków w chirurgii uszowo-oropedycznej. Materiały konferencji naukowo-szkoleniowej Sosnowka Górna 12-13 kwietnia 1991.

STRUKTURA POŁĄCZEŃ METAL-CERAMIKA W STOPACH DO NAPALANIA PORCELANY

MARIA RICHERT**, RAJMUND ORLICKI**

*AKADEMIA GÓRNICZO - HUTNICZA,
 WYDZIAŁ METALI NIE ELAZNYCH,
 AL. MICKIEWICZA 30, 30?059 KRAKÓW, EMAIL:
 ** KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNAWSTWA STOMATOLOGICZNEGO I BIOMATERIAŁÓW,
 41-900 BYTOM, PLAC AKADEMICKI 17
 **WY SZKOŁA IN YNIERII DENTYSTYCZNEJ,
 43-450 USTRO , UL. SŁONECZNA 2

Streszczenie

W pracy przedstawiono badania, dotyczące połączenia metali do napalania porcelany z ceramikami. Obserwacje przeprowadzono na trzech stopach, w tym dwóch, o nazwie Viron i Remanium, powszechnie używanych w praktyce protetycznej oraz na nowym stopie o nazwie Rodent, wytworzonym na zlecenie Wyższej Szkoły Inżynierii Dentystycznej w Ustroju. Badania dotyczyły oceny jakości połączeń i porównania przylegania ceramiki na stopie Rodent w odniesieniu do pozostałych stopów. Wykonano pomiary mikrotvardości stopów i napalanych warstw ceramiki oraz przeprowadzono szczegółowe obserwacje mikrostruktury za pomocą technik mikroskopii optycznej, skaningowej i transmisyjnej mikroskopii elektronowej, z uwzględnieniem badania składu chemicznego w mikroobszarach.

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 114-117]

Our results show, that release of antibiotic from impregnated copolymer implant makes possible to obtain high concentrations at the implantation site. However, high concentrations of antibiotic in blood serum could not provide high concentrations of gentamycin into surrounding tissues at the same level. This experiment shows that potentially the most effective protection to microorganisms colonization could be achieved by antibiotic released from implanted and impregnated/saturated PED copolymer as well as by antibiotic delivered systemically.

Acknowledgements

This work was financially supported by the project of KBN No. 4T09B 10822.

References

- [4] Prowans P.: Release of Gentamycin from new copolymer - in vitro study, *Inżynieria Biomateriałów*, 34 (2004) 38-41.
 [5] El Fray M., Słonecki J., Broza G.: Krystalizacja fazy stopionej segmentowych aromatyczno-alfatycznych kopolimerów (estrowo-estrowo) na podstawie poli(tereftalanu butyleno) i dimeryzowanego kwasu tłuszczowego, *Polimery*, 42 (1997) 35-39.
 [6] El Fray M., Słonecki J.: Multiblock copolymers consisting of polyester and polyaliphatic blocks, *Angew. Makromol. Chem.*, 234 (1996) 103-117.

STRUCTURE OF METAL-CERAMICS JOINS IN PORCELAIN COATING ALLOYS

MARIA RICHERT*, RAJMUND ORLICKI**

*AGH, UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
 DEPARTMENT OF NON FERROUS METALS,
 AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW,
 **MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA,
 CHAIR AND DEPARTMENT OF STOMATOLOGY AND BIOMATERIALS,
 41-900 BYTOM, PLAC AKADEMICKI 17
 **HIGHER SCHOOL OF DENTISTRY,
 43-450 USTRO , UL. SŁONECZNA 2

Abstract

Investigations, concerning the joints of metals with ceramics for porcelain coating alloys, are presented. The observations were carried out on two alloys: Viron and Remanium, commonly used in prosthetics and on a new alloy named Rodent, made to order of the Higher School of Dentistry in Ustroj. The investigations were intended to evaluate the quality of the joints and compare the adhesion of ceramics on the Rodent alloy with reference to the other alloy. The microhardness of the alloys and the heating layers of ceramics were measured. Using the optical, scanning and transmission electron microscopy there were carried out detailed observations of the microstructure with additional investigations of the microstructure with additional investigations of the chemical composition in the microareas.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 114-117]

W protetyce, powszechne zastosowanie na stalowe mosty i inne konstrukcje stalowe znajdują stopy na bazie niklu z chromem, o nazwie handlowej Wiron, Remanium i inne. S one sprowadzane z zagranicy w postaci gotowych półwyrobów. Wykazują się dobrymi własnościami antykorozyjnymi oraz łatwością napalania ceramiki. Ze względu na obecną tendencję do przenoszenia kosztów leczenia na pacjentów, korzystne byłoby produkowanie tego typu stopów w naszym kraju, co umożliwiłoby zmniejszenie ceny wytwarzanych mostów i uzupełnień protetycznych. Alternatywnie można do sprowadzania stopów protetycznych z firm zachodnich jest już opracowana produkcja nowego stopu pod nazwą Rodent. Trwają przygotowania do uruchomienia wytopów w byłych Zakładach Kuźni Ustroń. Nowy stop przechodzi obecnie badania, między innymi badania metaloznawcze, których celem jest porównanie właściwości stopu Rodent z już używanymi na rynku stopami. Skład chemiczny stopu Rodent jest zbliżony do innych stopów zawierających jako główne składniki nikiel i chrom. W stosunku do stopów Wiron i Remanium stop Rodent zawiera więcej molibdenu i elaza. Posiada natomiast mniejszą zawartość niklu, który ze względu na działanie uczulające nie jest pierwiastkiem pożądanym przy bezpośrednim styku z płynami ustrojowymi i tkankami ludzkimi [1, 2]. Wstępne badania, prowadzone na stopie Rodent, wykazały łatwość napalania ceramiki na tym stopie [3]. Stwierdzono także porównywalny poziom własności, z już stosowanymi stopami Wiron i Remanium.

W pracy skoncentrowano się na szczegółowych obserwacjach struktury połączeń stopów Wiron, Remanium i Rodent z ceramiką, z uwzględnieniem mikroanalizy składu chemicznego w utworzonych warstwach.

Metodyka badań

Próbki ze stopu Wiron, Remanium i Rodent, o składzie chemicznym przedstawionym w Tabeli 1, przygotowano w postaci zgładów metalograficznych, stosując szlifowanie na papierach ściernych, polerowanie mechaniczne, a następnie próbki trawiono w odczynniku o składzie: 4g CuSO₄, 20 ml HCl, 20 ml C₂H₅OH. Obserwacje struktur wykonano na mikroskopie optycznym Olympus GX 51 z cyfrową rejestracją obrazu. Na wypolerowanych próbkach wykonano także pomiary mikrotwardości, na mikrotwardościomierzu PMT3, stosując obciążenie 100 G.

Badania struktury wraz z mikroanalizą składu chemicznego przeprowadzono na mikroskopie skaningowym Philips XL30 z przystawką EDAX. Cienkie folie, do obserwacji elektronomikroskopowych, przygotowano klasyczną techniką Struersa. Obserwacje struktur przeprowadzono za pomocą transmisyjnego mikroskopu elektronowego JEM 2010 ARP, wyposażonego w systemem EDS do analizy składu chemicznego w mikroobszarach, współpracujący z programem ISIS.

Wyniki badań i ich dyskusja

Stwierdzono, że mikrotwardość, w obszarze złącza wykazuje monotoniczny wzrost wartości, wskazujący na płynne przejście struktury w połączeniach metal-opakera-ceramika (RYS. 1). Najwyższą mikrotwardość osiągnięto dla napalanej ceramiki, około 900 MPa. Stwierdzono ustalenie się mikrotwardości w obszarze opakera, czyli po redniej warstwy więcej metalu z ceramiką. Badania za pomocą technik mikroskopii skaningowej wy-

Alloys based on nickel with chromium, known under the trade names Wiron, Remanium, as well as others, are widely applied in prosthetics for steel bridges and other steel prosthetic constructions. They are imported from abroad as intermediate products. They show good anticorrosive properties and facility in covering by ceramic veneers. Considering the present tendency to make the patients participate in the costs of their medical treatment, it appears reasonable to produce alloys of this type in our country, which should allow reducing the price of the bridges and other prosthetic supplementary elements. An alternative, to the import of prosthetic alloys, is the already elaborated production of a new alloy called Rodent. The melting (now in preparation) will be started at the former forging factory Ustroń.

The new alloy is now subjected to metallurgical examinations the aim of which, is comparison of the functional properties of the Rodent alloy, with alloys available on the market. The chemical composition of the Rodent alloy is similar to that of other alloys containing nickel and chromium as the main components. In comparison with the Wiron and Remanium alloys, the Rodent alloy contains more molybdenum and iron, but a smaller content of nickel, which accounts of its allergenic effect is not a desired element for a direct contact with the body fluid and human tissue [1, 2]. Preliminary investigations of the Rodent alloy have shown facility in coating ceramics on the alloy [3]. The level of the other properties is comparable with that of the already used Wiron and Remanium alloys.

The investigations were concentrated on detailed observations of the structure of joints of Wiron, Remanium and Rodent alloys with ceramics, including the microanalysis of the chemical composition of the newly formed layers.

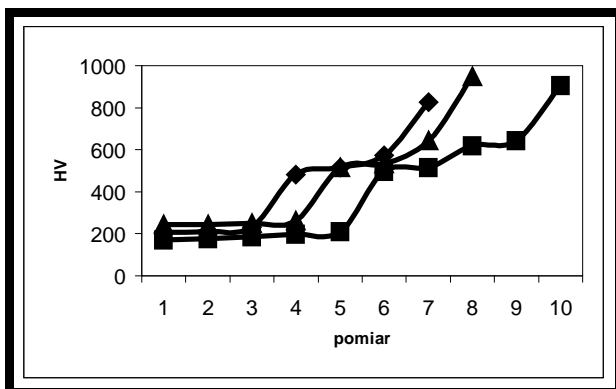
Investigation method

Samples of Wiron, Remanium and Rodent alloys of the chemical composition presented in TABLE 1, were prepared in the form of metallographic specimens, applying grinding on abrasive paper and mechanical polishing, then etching in a reagent containing: 4g of CuSO₄, 20 ml of HCl, 20 ml of C₂H₅OH. The structures were observed in the optical microscope Olympus GX51 with digital recording of the image. Microhardness measurements were made on polished samples on the microhardness tester PMT3, applying the load of 100 G.

Investigations of the structure including the microanalysis of the chemical composition were carried out on scanning microscope Philips XL 30 with EDAX attachment. Thin foils for electron microscopic observations were prepared by standard Struers method. Observations of the structures were realized by means of a transmission electron microscope JEM 2010 ARP, equipment with EDS system for the

Stop Alloy	Ni	Cr	Mo	Fe	Si	Co	Al	B	Mn
Rodent	54,6	23,6	10,3	3,1	0,48	0,08	0,15	0,16	0,06
Remanium CS	60,8	24,5	1,3	1,3	0,51	0,17	0,05	0,01	-
Wiron 99	64,6	22,9	0,1	0,1	0,15	0,05	0,03	-	0,29

TABELA 1. Skład chemiczny badanych stopów do napalania porcelany.
TABLE 1. Chemical composition of the examined coating porcelain alloys.



RYS. 1. Mikrotwardość cz stopów

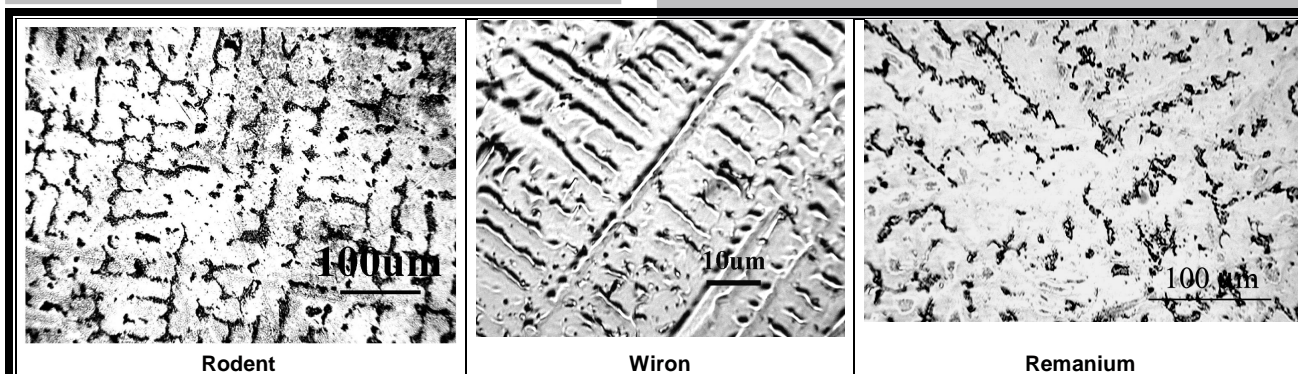
◆ - Wiron, ▲ - Remanium i ■ - Rodent, z ceramik .
 FIG.1. Microhardness of the alloy joints with ceramics: ◆ - Wiron, ▲ - Remanium, ■ - Rodent.

analyse of the chemical composition in microareas, cooperating with ISIS program.

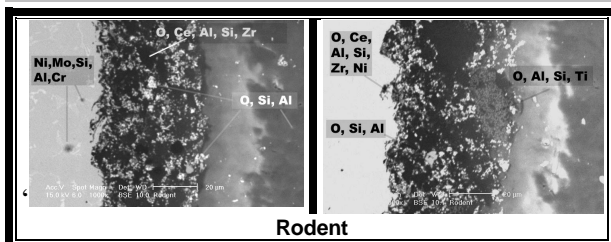
The investigation results and discussion

It has been found, that the microhardness in the area of the joints demonstrates a monotonic increase in the value, indicating easy transition of the structure in the combinations: metal-opaker- ceramics (FIG. 1). The highest microhardness of coated ceramics was attained at about 900 MPa. It has been found that the microhardness becomes established in the area of the opaker, i.e. the intermediate layer join the metal with ceramics.

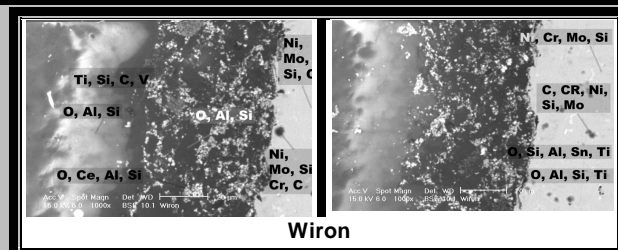
Investigations by means of scanning microscopy techniques have shown good join between the metal and ceramics, without pores and discontinuities. Coating of Vita Omega porcelain, used in the investigations, was performed at high temperatures, at about 900°C [4, 5]. The observations have



RYS. 2. Struktura dendrytyczna odlanych stopów Rodent, Wiron i Remanium.
 FIG. 2. Dendrite structure of cast Rodent, Wiron and Remanium alloys.



RYS. 3. Struktura warstw ceramiki napalanej na stop Rodent oraz wyniki badania składu chemicznego, (mikroskop skaningowy).
 FIG. 3. Structure of the layers of ceramics coated the Rodent alloy and the results of the investigations of the chemical compositions (scanning microscope).



RYS. 4. Struktura warstw ceramiki napalonej na stop Wiron oraz wyniki badania składu chemicznego, (mikroskop skaningowy).
 FIG. 4. Structure of the coated layers of ceramics on Wiron alloy and the results of investigations of the chemical composition (scanning microscope).

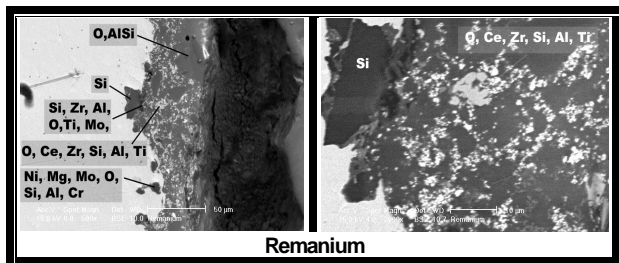
shown, that high temperature favours the penetrations of the metal ions into ceramics as well as certain ceramics atoms into the metal. Analysis of the chemical composition in the microareas was intended to confirm this thesis.

The structure of the examined alloys was typical for cast objects with the characteristic dendrites of γ phase (FIG. 2) [3, 6]. Any essential differences in the structure and properties of the examined alloys during microscopic observations and microhardness tests were not observed. The orientation of the dendrites was connected with the cylindrical shape of the samples.

In the case of examined alloys, the Ni ions were observed in the intermediate layer, were Al and Si ions were also found (FIGS. 3, 4, 5). What is characteristic, the Ti ions have been revealed in the area of ceramics, at the considerable distance from the metal of the base.

kazały dobre połączenie pomiędzy metalem i ceramiką, bez por i nieciągłości. Napalanie porcelany Vita Omega, zastosowanej do badania jest przeprowadzane w wysokich temperaturach, około 900°C [4, 5]. Przeprowadzone obserwacje wykazały, że wysoka temperatura sprzyja wnikaniu jonów metalu do ceramiki jak również niektórych atomów ceramiki do metalu. Analiza składu chemicznego w mikroszarach miała na celu potwierdzenie tej tezy.

Struktura badanych stopów była typowo odlewnicza z cha-



Remanium

RYS. 5. Struktura warstw ceramiki napalanej na stop Remanium wraz z wynikami badania składu chemicznego, zbadanego za pomocą mikroskopu skaningowego.

FIG.5 . Structure of the coated layers of ceramics on Remanium alloy and the results of investigations of the chemical composition (scanning microscope).

Charakterystycznymi dendrytami fazy σ (RYS. 2) [3, 6]. Nie stwierdzono istotnych różnic w strukturze i własnościach badanych stopów podczas obserwacji mikroskopowych oraz badań mikrotwardości. Ukierunkowanie dendrytów było związane z walcowym kształtem próbek.

W przypadku wszystkich badanych stopów, jony Ni stwierdzono w warstwie podrednej. Znalaziono tam także jony Al oraz Si (RYS. 3, 4, 5). Co charakterystyczne, jony Ti zostały ujawnione w obszarze ceramiki, w znacznym oddaleniu od metalu podłoża.

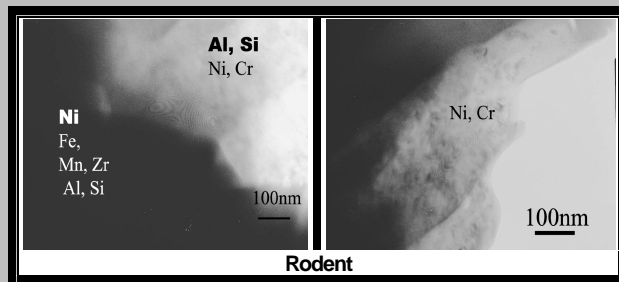
Obecność pierwiastków ziem rzadkich w badanych warstwach (Ce) potwierdza ich korzystny wpływ na powstanie warstwy tlenkowej ułatwiającej zespolenie ceramiki z metalem [5]. Przed napalaniem porcelany prowadzi się utlenianie powierzchni metalu, w celu wytworzenia tlenku, który sprzyja lepszemu połączeniu ceramiki z metalem [4, 5]. Dane dotyczące tego zjawiska wskazują, że obecność metali ziem rzadkich bardzo korzystnie wpływa na postać i rozłożenie tlenku na powierzchni metalu [7].

Wnioski

1. Przeprowadzone badania wykazały, że stop Rodent wykazuje właściwości porównywalne z właściwościami innych stopów dentystycznych, stosowanych do napalania porcelany.
2. Stwierdzono, że w obszarze złącza badanych stopów Wiron, Remanium i Rodent występuje przemieszczenie jonów metalu z ceramiki do metalu oraz z metalu do ceramiki, co sugeruje połączenie dyfuzyjne napalanych warstw.
3. Obecność pierwiastków ziem rzadkich, w badanych warstwach, sugeruje występowanie mechanizmu kotwiczenia tlenków, ułatwiających połączenie porcelany z podłożem.

Podziękowanie

Badania zostały dofinansowane przez Akademię Górniczo-Hutniczą (Prace Własne nr 10.10.180.276) oraz Instytut Akademii Medycznej (Badania Statutowe nr NN-1-308/03).



Rodent

RYS. 6. Struktura stopu Rodent, badana za pomocą transmisyjnego mikroskopu elektronowego.

FIG. 6. Structure of the Rodent alloy examined by means of transmission electron microscope.

The presence of the rare earth elements in the examined layers (Ce) confirm their beneficial influence on the formation of the oxide layer, facilitating the joint of ceramics with the metal [5]. Before coating the porcelain, the metal surface is oxidized in order to form oxide which contributes to a better joint of ceramics with the metal [4, 5]. Data concerning this phenomenon, indicate that the presence of the rare earth metals has an advantageous influence on the form and distribution of oxide on the metal surface [7].

Conclusions

1. The performed investigations have shown that the properties of the Rodent alloy are comparable with the properties of other, coated ceramics alloys, used in dentistry.
2. It has been found that in the area of joints of the examined Wiron, Remanium and Rodent alloys there takes place a displacement of the metal ions from ceramics to the metal and from the metal to ceramics, which suggests a diffusive joint of the coated layers.
3. The presence of the rare earth elements in the examined layers suggests the occurrence of the mechanism of anchoring the oxides, facilitating the joint of porcelain with the metal.

Acknowledgement

The investigations were financially supported by AGH-University of Science and Technology (Authors own studies No 10.10.180.276) and the Medical University of Silesia (statute investigations No. NN-1-308/03).

Piśmiennictwo

References

- [1] E. Spiechowicz.: "Allergy to chromium and nickel", Protetyka Stomatologiczna, 31 (1981) 1-6 (in Polish).
- [2] P. Grochowski.: "Pathogenic role of nickel in human organism", protetyka Stomatologiczna, 40 (1990) 57-63 (in Polish).
- [3] R. Orlicki, B. Kłaptocz, M. Richert.: "Metallic alloy rodent in the preparation of stable prosthetics structures with fired porcelain", "Inżynieria Biomateriałów", 23-25 (2002) 38 (in Polish).
- [4] M. Yamamoto.: "Basic technique of forming porcelain layers on metal", Wyd. Kw., 1993 (in Polish).
- [5] Instructions for the treatment of ceramics", VITA (in Polish).
- [6] B. Mikułowski.: "Heat resistant and heat tolerant alloys-superalloys", Wyd. AGH, 1997 (in Polish).
- [7] St. Mrowec.: "Kinetics and mechanics of metals oxidation", Wyd. Instytut, 1982 (in Polish).

BIODEGRADOWALNE PODŁO A DO HODOWLI TKANKOWYCH O BIMODALNYM ROZKŁADZIE WIELKO CI PORÓW

MARIUSZ GADZINOWSKI, STANISŁAW SOSNOWSKI, STANISŁAW SŁOMKOWSKI

CENTRUM BADA MOLEKULARNYCH I MAKROMOLEKULARNYCH
PAN, UL. SIENKIEWICZA 112, 90-363 ŁÓDŹ ,

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 118-120]

Alifatyczne, biodegradowalne poliestry kwasów karboksylowych (polilaktyd, poliglikolid, poli(e-kaprolakton), polihydroksyma lan i pochodne kopolimery) są stosowane jako materiały do otrzymywania rusztowa do hodowli komórkowych. Na przydatno poliesterów do wspomnianych powyżej celów wpływa nie tylko ich budowa chemiczna, lecz również struktura w skali submilimetrowej. Najbardziej dogodne wydają się rusztowania o budowie porowatej zawierającej nie tylko pory o szerokościach przekraczających kilkanaście mikrometrów, w których mogą wzrastać komórki, lecz i pory mniejsze, umożliwiające usuwanie produktów degradacji podłoża i akumulację wewnątrz utworzonych w szczelinach poliestrowych [1]. Jednym ze sposobów wytwarzania rusztowa o bimodalnym rozkładzie porów może być konstruowanie z mikroczystek polimerowych o odpowiedniej wielkości i kształtach. W pracy zaproponowano sposób otrzymywania rusztowa z mikroczystek poli(L,L-laktydowych) otrzymanych podczas dializy roztworu polimeru w rozpuszczalnikach organicznych wobec wody. Podczas powolnej wymiany rozpuszczalnika na wodę wytrącają się mikroczystki polimeru stabilizowane makrocząsteczkami dodanego terpolimeru blokowego poli(glikol etylenowy)-b-polyglycidol-b-poli(L,L-laktyd). Otrzymane mikroczystki wykorzystano do wytwarzania porowatych rusztowa, przeznaczonych do hodowli tkankowych, metod prasowania z NaCl.

Poli(L,L-laktyd) otrzymano metodą polimeryzacji pseudoanionowej inicjowanej triizopropoksyglinem ($Al(O-iPr)_3$) prowadzonej w suchym 1,4-dioksanie [2, 3]. Ciężar cząsteczkowy (M_n) poli(L,L-laktydu), oznaczony metodą GPC, wynosił 20 000.

Stabilizator (terpolimer blokowy poli(glikol etylenowy)-b-polyglycidol-b-poli(L,L-laktyd)).

Stabilizator zsyntetyzowano metodą polimeryzacji anionowej według SCHEMATU 1 [4].

Otrzymywanie mikroczystek

Poli(L,L-laktyd) rozpuszczono w następujących rozpuszczalnikach: 1,4-dioksan, THF, acetonitryl i DMSO. W każdym przypadku stężenie poli(L,L-laktydu) było równe 1,0%. Do roztworów dodano 0,1% terpolimeru blokowego poli(glikol etylenowy)-b-polyglycidol-b-poli(L,L-laktyd) w charakterze stabilizatora. Roztwory poddano dializie wobec wody w workach dializacyjnych SERVA SpectraPor, MWCO=1000. Mikroczystki otrzymywane na drodze dializy wydzielano wykorzystując ich sedymentację w polu grawitacyjnym. Obrazy mikroczystek rejestrowano za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego Jeol 5500 LV.

Zbadano zależność wielkości i kształtu otrzymanych cząstek od rodzaju użytego rozpuszczalnika i stężenia terpoli-

BIODEGRADABLE SCAFFOLDS WITH A BIMODAL PORE SIZE DISTRIBUTION

MARIUSZ GADZINOWSKI, STANISŁAW SOSNOWSKI, STANISŁAW SŁOMKOWSKI

CENTER OF MOLECULAR AND MACROMOLECULAR STUDIES,
POLISH ACADEMY OF SCIENCES,
SIENKIEWICZA 112, 90-363 ŁÓDŹ, POLAND

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 118-120]

Aliphatic, biodegradable polyesters of carboxylic acids (polylactides, polyglycolide, poly(ϵ -caprolactone), polyhydroxybutyrate and related copolymers) have been used as materials for tissue engineering. Suitability of polymers for the mentioned above purposes depends not only on their chemical nature but also on their structure on submillimeter level. Studies of a degradation of polylactide implants shows, that products of degradation accumulate inside solid samples [1]. This causes acceleration of degradation by autocatalysis. Thus, the best scaffolds should be made as porous materials containing not only pores larger than several tenths of micrometers (pores in which cells could grow) but also smaller pores enabling transportation products of the degradation. Such structures could be made by fusing microparticles possessing an appropriate sizes and morphology. In this work we used a poly(L,L-lactide) particles obtained by dialysis of polymer solution in organic solvents against water. During this process particles are formed by polymer precipitation. Poly(ethylene glycol)-b-polyglycidol-b-poly(L,L-lactide) block terpolymer has been used as a stabilizer of particle dispersions. Morphology of formed particles depends on selected solvent. Obtained poly(L,L-lactide) particles were used for construction of scaffolds by simple salt leaching technique.

Poly(L,L-lactide) was synthesized by pseudoanionic polymerization using aluminium triisopropoxide ($Al(O-iPr)_3$) as an initiator and 1,4-dioxane as a solvent [2, 3]. Number averaged molecular weight (M_n) of synthesized poly(L,L-lactide), determined by GPC, was equal 20000 Da.

Stabilizer (block terpolymer poly(ethylene glycol)-b-polyglycidol-b-poly(L,L-lactide)) was synthesized by living anionic polymerization as described earlier [4] (SCHEME 1).

Formation of microparticles

Poly(L,L-lactide) was dissolved in THF, acetonitrile, DMSO, DMF, and 1,4-dioxane. In each sample concentration of poly(L,L-lactide) was equal 1.0%. Concentration of poly(ethylene glycol)-b-polyglycidol-b-poly(L,L-lactide) block terpolymer, used as a stabilizer was equal 0.1%. Samples were placed into dialysis tubes (SERVA SpectraPor, MWCO=1000). Obtained particles were isolated by sedimentation. SEM microphotographs of microparticles were recorded using a Jeol 5500 LV apparatus.

Bellow there are SEM microphotographs of particles obtained from solutions in various solvents.

It has been found that morphology of obtained particles strongly depends on the nature of solvent but does not depend on concentration of terpolymer used as a stabilizer. Particles obtained from solutions in 1,4-dioxane were spherical. Dialysis from THF, acetonitrile, and DMSO solutions yielded crystalline microparticles with partially exfoli-

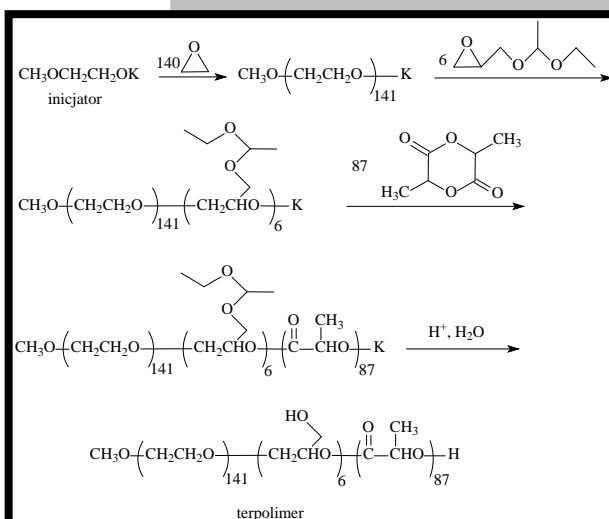
meru. Poniżej pokazano przykłady morfologii cząstek uzyskanych z roztworów w różnych rozpuszczalnikach.

Stwierdzono wyraźną zależność morfologii otrzymanych cząstek od rodzaju rozpuszczalnika. Cząstki otrzymywane na drodze dializy z roztworów w 1,4-dioksanie miały kształt kulisty. Dializa z roztworów w THF, acetonitrylu i DMSO prowadziła do powstawania cząstek pod postacią krystalitów rozwarstwiających się na pojedyncze lamelle. Mikrocząstki poli(L,L-laktyd)owe otrzymane stanowiły materiał wyjściowy do otrzymywania rusztowań na drodze tabletkowania w kontrolowanych warunkach.

Wytwarzanie podłoży do hodowli tkankowych

Mikrocząstki polilaktydowe, otrzymane przez dializę roztworu w acetonitrylu wobec wody, mieszano z kryształami NaCl (80-350 mm), umieszczano w cylindrycznej formie (o średnicy 6 mm) i ciskano pod ciśnieniem 10 MPa, w temperaturze 70°C, przez 24 h. NaCl usuwano z tabletek przez kąpiel w dużej nadmiarze wody destylowanej w ciągu 48 godzin. Następnie tabletki przemycano wodą destylowaną, suszono 24 godziny na powietrzu i 4 godziny pod próżnią (<0.01 mmHg).

Powyżej pokazano obrazy SEM ilustrujące szczegóły budowy otrzymanych podłoży. Można zaobserwować obecność porów o wielkości ok. 200-300 μm, dogodnych do za-



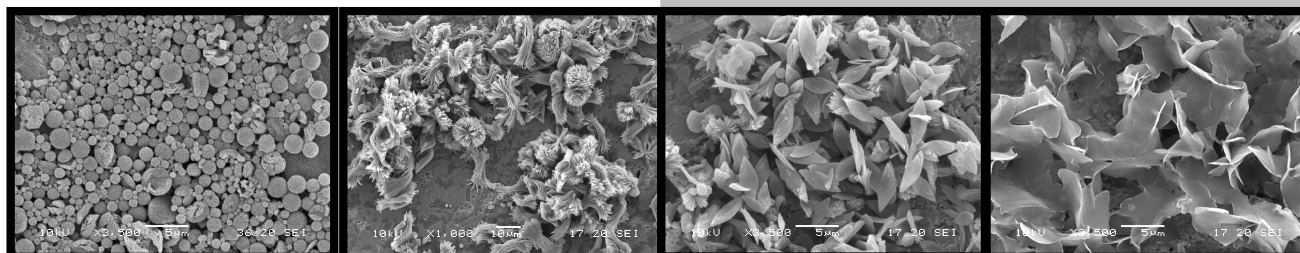
SCHEMAT 1.
SCHEME 1.

350 mm), placed in cylindrical molding form (diameter equal 6 mm), and pressed under pressure 10 MPa, at temperature 70°C, during 24 h. After that pellets were immersed in large excess of distilled water for 48 h, rinsed using distilled water, and dried 24 h in air, and finally 4 h under high vacuum. Above there are shown SEM microphotographs of various details of obtained scaffolds. Microphotographs show pres-

ented lamellar structures. Poly(L,L-lactide) microparticles have been used as starting material for preliminary studies on formation of scaffolds by pelleting microparticles under controlled pressure.

Formation of scaffolds

Poly(lactide) particles obtained from solution of poly(L,L-lactide) in acetonitrile against water were mixed with NaCl crystals (80-

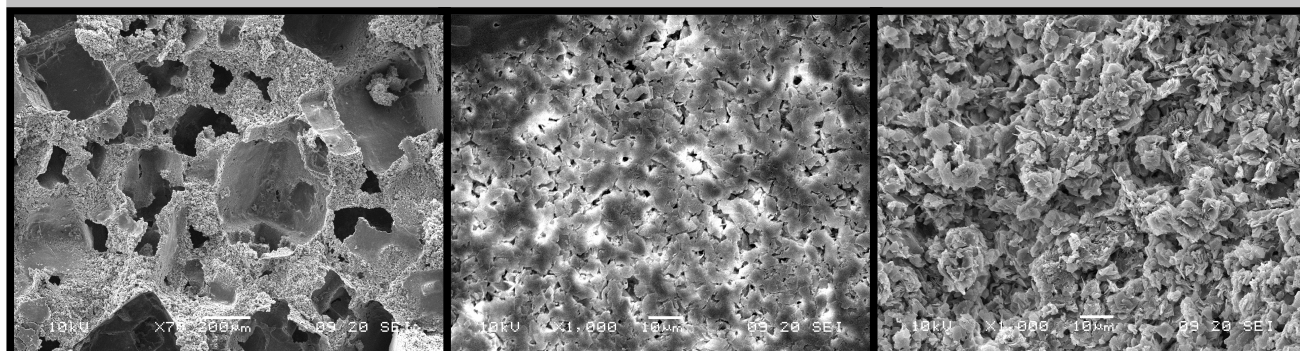


Mikrocząstki otrzymane z roztworu w 1,4-dioksanie.
Particles obtained from 1,4-dioxane solution.

Mikrocząstki otrzymane z roztworu w acetonitrylu.
Particles obtained from acetonitrile solution.

Mikrocząstki otrzymane z roztworu THF.
Particles obtained from THF solution.

Mikrocząstki otrzymane z roztworu w DMSO.
Particles obtained from DMSO solution.



Obraz podłoża otrzymanego przy niewielkim powiększeniu pokazuje obecność dużych porów.
Microphotograph at low magnification, showing coarse morphology of scaffold made from poly(L,L-lactide) microparticles.

Obraz ściany dużego poru, w której znajdują się pory o wielkości ok. 1 μm.
Microphotograph of the surface of macropore wall exhibits existence of pores of micrometer sizes.

Obraz przekroju ściany poru pokazujący mikroporowy charakter materiału.
Microphotograph of the macropore wall fracture shows microporous structure of the scaffold.

siedlenia przez komórki, a także porów o rozmiarach ok. 1 mm, odpowiednich do odprowadzanie produktów degradacji polilaktydu. Opisanie metody uzyskano całkowicie porowate przekraczające 80%. Testy przydatności takich podłoża do hodowli osteoblastów *in vitro* są w toku.

Podziękowania

Praca była finansowana ze środków KBN, grant 05/PBZ-KBN-082/2002/06.

Piśmiennictwo

- [1] I. Grizzi, H. Garreau, S. Li, M. Vert, *Biomaterials*, 16, 305-311 (1995).
 [2] A. Kowalski, A. Duda, S. Penczek, *Macromolecules*, 31, 2114-2122 (1998).
 [3] A. Duda, S. Penczek Mechanism of aliphatic polyester formation

ence of big pores appropriate for settlement of cultured cells and small pores across walls facilitating removal of products of degradation of polymeric material from walls. Proposed procedure allowed preparation of scaffolds with total porosity above 80%. *In vitro* tests of culturing osteoblast cells on these scaffolds are in progress.

Acknowledgements

This work was supported by the State Committee of Scientific Research, grant No. 05/PBZ-KBN-082/2002/06.

References

- in *Biopolymers*, Vol 3b: Polyesters II - Properties and Chemical Synthesis, ed. A. Steinbüchel, Y. Doi, Wiley-VCH, Weinheim 2002, chapter 12, pp 371-430.
 [4] M. Gadinowski, S. Sosnowski, *J. Polym. Sci., Part A*, 41, 3750-3760 (2003).

WPŁYW TiN NA TWORZENIE BIOFILMU I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNYCH KOMÓREK W WARUNKACH *IN VITRO*

SOWIŃSKA A.*, ZAJCZKOWSKA A.*, CUKROWSKA B.*,
WIERZCHOŃ T.**, SOBIECKI R.**, 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

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 120-123]

Wstęp

Struktura i właściwości warstw azotowanych na stopach tytanu zależą od zastosowanej metody i jej parametrów wytwarzania. Warstwy azotowane typu $TiN+Ti_2N+aTi(N)$ uzyskane w warunkach wyładowania jarzeniowego poprawiają odporność na zużycie i korozję stopów tytanu oraz wykazują dobrą biologiczną, co zostało stwierdzone w naszych badaniach [1, 2]. Wydaje się, że warstwy azotowane jarzeniowo wytworzone na implantach tytanowych, biologicznie zkompatybilne, pozwoliłyby na długotrwałe przebywanie tych implantów w organizmie. Celem obecnie przeprowadzanych badań była ocena biologicznej kompatybilności TiN z ludzkimi fibroblastami w warunkach *in vitro* pod kątem rozmieszczenia biofilmu i adhezji komórkowej do próbek oraz aktywności biologicznej zaadherowanych komórek.

Materiały i metody

Wytwarzanie warstwy azotowanej

Próbki ze stopu tytanu Ti6Al4V zostały poddane proce-

THE EFFECT OF TiN ON FORMED BIOFILM AND CELL BEHAVIOR IN VITRO

SOWIŃSKA A.*, ZAJCZKOWSKA A.*, CUKROWSKA B.*,
WIERZCHOŃ T.**, SOBIECKI R.**, CZARNOWSKA E.*

*PATHOLOGY DEPT.,
THE CHILDREN'S MEMORIAL HEALTH INSTITUTE,
04- 730 WARSAW, AL. DZIECI POLSKICH 20,
**FACULTY OF MATERIALS SCIENCES AND ENGINEERING,
WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
02-507 WARSAW, WOŁOSKA 141

[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 120-123]

Introduction

The method of producing nitrided surface layer, along with the process parameters used have a marked effect on surface properties and characteristic. Nitrided surface layers produced under glow discharge conditions improved wear and corrosion resistance of titanium alloys and exhibit good biocompatibility as have been shown in our studies [1, 2]. This layer might be a candidate for application in long term bone implants. In this study to create a requirement for these applications, we investigated the biocompatibility of TiN using human fibroblasts in terms of biofilm morphology, cell arrangement and physiological behavior.

Materials and methods

Nitrided surface layer preparation

Specimens of the Ti6Al4V alloy were subjected to a nitriding process under glow discharge conditions at a temperature of 850°C in an atmosphere of nitrogen and under 4 hPa pressure. Samples were cleaned with ethanol and distilled water and sterilised for one cycle in a plasma - Sterrad 100 apparatus in an atmosphere of H_2O_2 at 54°C for 1 h.

Surface layer characteristics

The surface layers were examined as regards their:

sowi azotowania 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, w aparacie Sterrad 100, w atmosferze H₂O₂, w 54°C, przez 1 godzinę.

Charakterystyka warstwy powierzchniowej

Wytworzone warstwy były poddane badaniom metalograficznym w mikroskopie optycznym Neophot 2. Zgład metalograficzny był trawiony odczynnikami o składzie: 96 cm³ H₂O + 2 cm³ HNO₃ + 2 cm³ HF. Topografię warstw badano w mikroskopie skaningowym Hitachi S-3500N, a chropowatość na profilometrze skanującym Form Talysurf Series 2 firmy Taylor Hobson. Skład fazy określano na dyfrakto-metrze rentgenowskim Philips PW1830 stosując promieniowanie CoKa. Morfologię powierzchni analizowano w mikroskopie elektronowym skaningowym JSM 35C.

Charakterystyka komórek

Fibroblasty z ludzkiej skóry inkubowano na próbkach biomateriałów przez 48 godzin według wcześniej opisanej procedury [3]. W badanych hodowlach komórkowych oceniano wytworzenie komórek, zdolność proliferacyjną, występowanie apoptozy, ekspresję receptora fibronektyny i rozmieszczenie fibronektyny w wytworzonym biofilmie. W badaniach zastosowano laserowy cytometr skaningowy (LSC, CompuCyte, Boston, MA) i mikroskop konfokalny (FV-500 system; Olympus, Hamburg, Germany).

Wyniki i dyskusja

Wytworzona powierzchniowa warstwa azotowana typu TiN+Ti₂N+aTi(N) charakteryzowała się grubością około 50 nm, w której zewnętrzna strefa TiN miała grubość około 4 nm (Rys. 1a). Twardość wytworzonej warstwy wynosiła 1900 HV_{0,05}, a jej odporność na korozję była porównywalna z wysoką odpornością stopu tytanu [2]. Morfologię i topografię powierzchni próbek po sterylizacji plazmowej przedstawiono na Rys. 1b, c. Parametry chropowatości były następujące: Ra (średnia arytmetyczna odchylenia profilu chropowatości) - 0,426 μm, Rv (maksymalna głębokość wgłębienia profilu chropowatości) - 2,56 μm, Rp (maksymalna wysokość wzniesienia profilu chropowatości) - 3,86 μm, Rt (maksymalna wysokość chropowatości; Rt=Rp+Rv) - 6,42 μm. Białkowy biofilm wytworzony na powierzchni TiN i stopie tytanu w warunkach hodowli fibroblastów charakteryzowała obecność delikatnej, włókienkowej sieci fibronektyny, białka odgrywającego istotną rolę w adhezji komórkowej (RYS. 2a, b). Badania metodą LSC wykazały, że ilość fibronektyny wytworzonej na TiN była mniejsza niż na stopie tytanu. Komórki, które zaadherowały na powierzchni próbek ze stopu tytanu i na warstwie azotowanej charakteryzowała podobna ekspresja receptora fibronektyny. Analiza cyklu ko-

- microstructure by etching of the metallographic microsection of the surface layers in a solution of chemical composition: 96cm³H₂O + 2 cm³HNO₃ + 2cm³HF, using a Neophot 2 microscope;
- Vickers microhardness using a Neophot microscope equipped with a Hanemann unit;
- phase composition using Philips PW 1830 x-ray diffractometer with CoKa radiation source;
- surface topography in a Taylor Hobson scanning profilometer Form Talysurf series 2, and scanning microscopy Hitachi S-3500N type.

Cell behaviour

Human skin fibroblasts were cultured for 48 hours on samples according to previously described methods [3]. Cell cultures were analysed in terms of cell viability, apoptosis, adhesion, fibronectin production and biofilm morphology. These were examined by laser scanning cytometry (LSC, CompuCyte, Boston, MA) and confocal microscopy (FV-500 system; Olympus, Hamburg, Germany).

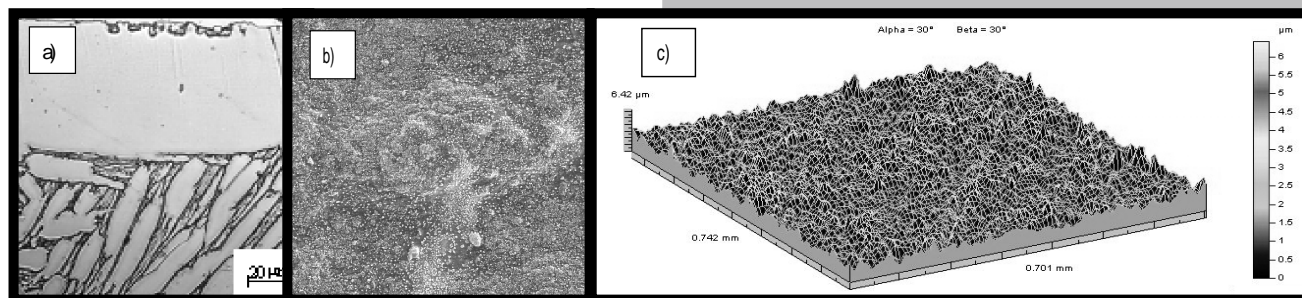
Results and discussion

The produced nitrided surface layer was of the TiN+Ti₂N+aTi(N) type of 50 nm thickness with a TiN about 4 nm (FIG. 1a) and hardness of 1900 HV_{0.05}. The corrosion resistance of this layer was similar to titanium alloy [2]. The morphology and layer topography after samples sterilization is shown in FIG.1b,c. The roughness parameters were: Ra (arithmetic mean deviation) - 0.426 μm, Rv (maximal depth of the peak) - 2.56 μm, Rp (maximal height of the peak) - 3.86 μm, Rt (maximum height of the roughness: Rt=Rp+Rv) - 6.42 μm.

Human fibroblasts cultured on TiN and titanium alloy substrate exhibited a fine fibre network with abundant fibronectin, a protein playing a role in cell adhesion (FIG. 2a, b). Investigations by LSC revealed a lower number of fibronectin on TiN substrate than on titanium alloy.

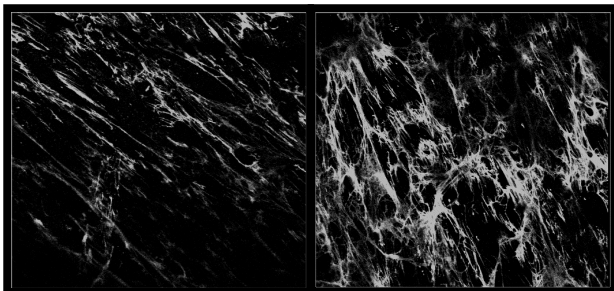
Cells adhered to the substrate exhibited similar expression of fibronectin receptor on the membrane of cells growing on TiN and on titanium alloy (not shown). Analysis of the cell growth shown that among the cells growing on TiN the highest number of cells was in G1 phase while about 3% cells were apoptotic (FIG. 3). Apoptosis was higher in cell population cultured on titanium alloy in comparison to TiN. Immunohistochemical investigations with antibody anti-Ki67 of fibroblasts cultured on samples confirmed their high proliferation potential.

From the literature it is well known that surface layer properties as microstructure, roughness and chemical composition are crucial for bone implants biocompatibility [4,5]. Our earlier study demonstrated that nitrided surface layer can be produced on parts with sophisticated shapes and



RYS. 1. Mikrostruktura, morfologia i topografia powierzchni warstwy wytworzonej w warunkach wyładowania jarzeniowego w 850°C i sterylizowanej plazmowo (Sterrad 100).

FIG. 1. Microstructure, morphology and topography of the nitrided surface layer produced under glow discharge conditions at 850°C and sterilized in plasma (Sterrad 100).



RYS. 2. Rozmieszczenie fibronektyny w biofilmie wytworzonym przez ludzkie fibroblasty na próbkach z powierzchni warstw azotowan wytworzonych w warunkach wyładowania jarzeniowego (a) i na stopie tytanu Ti6Al4V (b) sterylizowanych plazmowo.

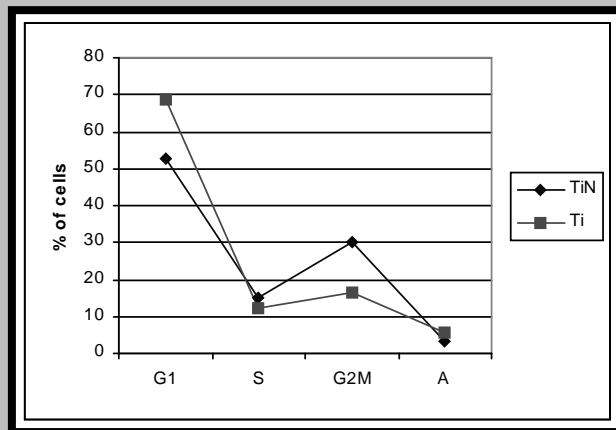
FIG. 2. Fibronectin network in biofilm produced by human fibroblast on samples with nitrided surface layer produced under glow discharge conditions (a) and on Ti6Al4V (b) and then sterilized in plasma.

mórkowego fibroblastów wykazała, że w populacjach rosnących na TiN najwięcej komórek było w fazie G1, a tylko około 3% stanowiły komórki apoptotyczne (RYS. 3). Wisk- apoptoz obserwowano w hodowlach na stopie tytanu ni na TiN. Badania immunohistochemiczne z zastosowaniem przeciwciała anti-Ki67 fibroblastów hodowanych na badanych materiałach potwierdziły ich wysoki potencjał proliferacyjny.

Dane literaturowe wskazują, że właściwość warstwy powierzchniowej wytworzonej na biomateriale takie, jak mikrostruktura, chropowatość i skład chemiczny mają podstawowy wpływ na biogodność implantów kostnych [4,5]. Nasze wcześniejsze badania wykazały, że powierzchniowa warstwa azotowana może być wytwarzana na implantach o skomplikowanych kształtach i zabezpiecza je przed uwalnianiem składników stopu tytanu do środowiska biologicznego [2]. Hodowle komórkowe, m.in. fibroblastów i osteoblastów są powszechnie stosowanym modelem w badaniach biogodności materiałów przeznaczonych na implanty, a wyniki badań TiN w warunkach in vitro potwierdziły dobrą biogodność tej warstwy [1, 6]. Obecnie badane wykładniki aktywności biologicznej komórek, jak: żywotność komórkowa, apoptoza, adhezja i wytwarzanie biofilmu sugerują, że implanty tytanowe azotowane w warunkach wyładowania jarzeniowego mogą wykazywać lepszą integrację z ludzkimi tkankami niż implanty tytanowe. Badania kliniczne implantów kostnych z wytworzonych warstw TiN są nieliczne i dotyczą przede wszystkim warstw otrzymanych metodą PVD, które w czasie przebywania w organizmie ulegają uszkodzeniu [7, 8]. Tylko badania implantów kostnych z warstw TiN wytworzonych metodą PIRAC, przeprowadzone przez Sovaka i wsp. (2000) wykazały ich bardzo dobrą osteointegrację, porównywalną ze stopem tytanu [9]. Należy zaznaczyć, że warstwa azotowana typu TiN+Ti₂N+aTi(N) wytworzona w warunkach wyładowania jarzeniowego, badana w naszych doświadczeniach z ludzkimi komórkami ma charakter dyfuzyjny o kontrolowanej mikrostrukturze, topografii powierzchni, składzie chemicznym i fazowym.

Podziękowania

Praca finansowana jest przez Komitet Badań Naukowych - projekty badawcze nr:08/PBZ-KBN082/T08/2002, Eureka 2841 oraz 7T08D03621.



RYS. 3. Fazy cyklu komórkowego populacji ludzkich fibroblastów hodowanych 48 godzin na próbkach z zewn. trzn. warstw TiN i na stopie Ti6Al4V sterylizowanych plazmowo (Sterrad 100). (G1,S,G2M - fazy cyklu komórkowego, A - apoptoza).

FIG. 3. Phase of growth of human fibroblasts population cultured 48h on samples with TiN outer layer and Ti6Al4V alloy sterilized in plasma (Sterrad 100). (G1,S,G2M-phase of cell growth, A-apoptosis).

protect against ion release from titanium alloy [2].

Cultures of fibroblasts and osteoblasts are widely used as a model to study biocompatibility of material for bone implant and in vitro TiN investigations confirmed good biocompatibility of this surface layer [1, 6]. Recent analysis of cell viability, apoptosis, adhesion and distribution of biofilm were promising in terms of better in-growth of implant in human tissue in comparison to titanium alloy. Clinical experience with TiN-coated bone implants are limited and concern of surface layers produced in PVD method, and they have been shown the layer delamination in time of use [7, 8]. While study of TiN produced in bone implant by PIRAC method revealed its good osseointegration, similar to titanium alloy [9]. Should be pointed that nitrided surface layer produced under glow discharge conditions, tested in our study is a diffusion layer, with controlled microstructure, topography, chemical and phase composition.

Acknowledgements

This study was supported by Polish Scientific Committee (KBN) within project 08/PBZ-KBN082/T08/2002, Eureka 2841 and 7T08D03621.

Piśmiennictwo

References

- [1] Czarnowska E., Wierzcho T., Maranda-Niedbała A., Mat. Proc. Tech., 92-93 (1999), 190-194.
- [2] Czarnowska E., Wierzcho T., Maranda-Niedbała A., i in., J. Mat. Sci. Mat. Med. 11 (2000), 73-81.
- [3] Czarnowska E., Sowińska A., Cukrowska B., Godlewski M., Wierzcho T., Ann. Transp., w druku.
- [4] Hanawa T., Mat. Sci. Eng. A267 (1999), 260-66.
- [5] Cooper L.F., J. Prosthet. Dent. 84 (2000), 522-34.
- [6] Cyster L.A., Parker K.G., Parker T.L., Grant D.M., Biomaterials 25 (2004), 97-107.
- [7] Harman M.K., Banks S.A., Hodge W.A., J. Arthroplasty 12 (1997), 938-45.
- [8] Massound S.N., Hunter J.B., Holdsworth B.J., i in., J. Bone Joint Surg. [Br] 79-B (1997), 603-608.
- [9] Sovak G., Weiss A., Gotman I., J. Bone Joint Surg. [Br] 82-B (2000), 290-296.

OCENA WPŁYWU MATERIAŁÓW Z DIBUTYRYLOCHITYNY NA AKTYWACJĘ UKŁADU KRZEPNI CIE

MARIA SZYMONOWICZ*, DANUTA PALUCH*, LESZEK SOLSKI*,
STANISŁAW PIELKA*, ANNA BŁASZKA**, IZABELLA KRUCIŁKA**,
LIDIA SZOSLAND**

*ZAKŁAD CHIRURGII EKSPERYMENTALNEJ I BADAŃ BIOMATERIAŁÓW
AKADEMII MEDYCZNEJ WE WROCŁAWIU,

**KATEDRA METROLOGII WŁÓKIENNICZEJ WYDZIAŁU INŻYNIERII
I MARKETINGU TEKSTYLÓW POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 123-126]

Wstęp

W latach osiemdziesiątych ubiegłego stulecia wiele o rodków naukowych, zwłaszcza japońskich, rozpoczęło badania nad chityną i jej pochodnymi. Chityna posiada unikatowe właściwości, polegające na zdolności przyspieszania gojenia się ran oparzeniowych, ropnych, odleżynowych lub ran pooperacyjnych. Chityna odznacza się dużym stopniem biodegradowalności i jest biodegradowalna. Takie właściwości chityny od wielu lat zachęcają placówki naukowe do prac, zmierzających do wykorzystania jej w medycynie.

Chityna budową przypomina celulozę, w której grupa hydroksylowa w pozycji C-2 została przez grupę acetamidową. Chityn, podobnie jak celuloza, charakteryzuje niska rozpuszczalność i słaba chemiczna reaktywność. Niska rozpuszczalność stanowi barierę trudną do pokonania dla procesów przetworstwa polimerów. Bariery te można pokonać w wyniku modyfikacji chemicznej chityny. Głównym celem modyfikacji jest otrzymanie takiej pochodnej chityny, która byłaby łatwo rozpuszczalna w dostępnych rozpuszczalnikach i jednocześnie nie zachowywałaby unikatowych właściwości chityny macierzystej.

Pochodną tak o nazwie dibutyrylochityna (DBC) opracowano w Katedrze Chemii Fizycznej Polimerów Politechniki Łódzkiej. Jest ona łatwo rozpuszczalna w popularnych rozpuszczalnikach, takich jak aceton, etanol lub N-metylopirolidon. Jest również błonko- i włóknotwórcza. Łatwo daje się z niej wytworzyć włókna, włókniny, tkaniny i dzianiny. Równie łatwo można z materiałów tych po zastosowaniu łagodnej obróbki alkalicznej otrzymać materiały chitynowe (chityna regenerowana) bez uszkodzenia ich makrostruktury [1-3].

Na podstawie własnych badań biologicznych stwierdzono, że włókna z regenerowanej chityny i dibutyrylochityny nie wywołują działania cytotoksycznego, hemolitycznego, drażniącego i wywołują minimalną reakcję miejscową tkanek po implantacji [4-6]. Nie jest natomiast znany ich wpływ na układ krzepnięcia, układ immunologiczny i na regenerację tkanek, co może mieć znaczenie w zaopatrywaniu narządów mięsnych, np. w trybie.

Celem badań była ocena wpływu pochodnych chityny na układ krzepnięcia krwi w badaniach *in vitro*.

Materiał i metody badań

Do badań użyto materiały z dibutyrylochityny (DBC), o

EVALUATION OF THE INFLUENCE OF DIBUTYRYLCHITIN MATERIALS FOR ACTIVATION OF BLOOD COAGULATION SYSTEM

DANUTA PALUCH*, MARIA SZYMONOWICZ*, LESZEK SOLSKI*,
STANISŁAW PIELKA*, ANNA BŁASZKA**, IZABELLA KRUCIŁKA**,
LIDIA SZOSLAND**

*DEPARTMENT OF EXPERIMENTAL SURGERY AND BIOMATERIALS
RESEARCH, MEDICAL UNIVERSITY OF WROCLAW.

**TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ,
DEPARTMENT OF TEXTILE METROLOGY

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 123-126]

Introduction

During the 1980's many scientific centers, mainly those in Japan, started the investigation of the chitin and its derivatives. Chitin is known to have some unique properties, of which the most important is the influence to accelerate the healing process of the infected, burned, decubitus or surgery wounds. Additionally chitin is showing the high level of biocompatibility and what more is bio-degradable. Such properties make it very attractive for many scientific centers in which it is tested for possibly use in human and veterinary medicine.

The chemical structure of chitin is similar to those of cellulose, in which the hydroxyl group in position C-2 was replaced by the acetamide group. Chitin, like the cellulose, is characterized by lower solubility and very low chemical reactivity. Such a low solubility is very difficult to overcome during the processing of polymers. Such barrier could be overcome by the chemical modification of the chitin. The main target of this modification is in receiving of such a derivative of the chitin, which should be easily soluble in most of available solvents but at the same time they should retain the specific properties of the pure chitin.

Such derivative named dibutyrylchitin (DBC) was worked out at Department of Physical Chemistry of Polymers in Lodz. It is easily soluble in most of the common solvents, such as acetone, ethanol or N-methylpyrrolidone. It also has the properties of being film and fiber makers. It could be easily transformed into fibers, knitting, woven and non-woven materials. What more by the mild chemical process it could be easily regenerated from other materials such as regenerated chitin, without destroying of the main chitin macro-structure. [1-3]. On the basis of our own biological assessments it was shown that the fibers from regenerated chitin and dibutyrylchitin do not have cytotoxicity, irritation and hemolytic effects, and produce the minimal local reaction of the tissues after implantation. [4-6]. But we do not know too much about their influences on the blood coagulation system, immunological system and tissues regeneration, what could be very important in the treatment of the injuries of such organs as liver. The main scope of this study was the *in vitro* evaluation of the influence of the chitin derivatives on the blood coagulation system.

stopniu estryfikacji bliskim 2, przygotowane z chityny krylowej, dostarczonej przez Morski Instytut Rybacki w Gdyni. Lepkość roztworu dibutyrylochityny w DMAc (dime-tyloacetamidzie), mierzona w temperaturze 25°C wynosiła 1,5 dL/g [1-2]. Próby różniły się między sobą sposobem formowania oraz postaci: włókna E1- formowane na mokro z roztworu DBC w etanolu; włókna B1- formowane na mokro z roztworu DBC w N-metylopirolidynie, błonki wylane z roztworu DBC w etanolu, mikrosfery z DBC otrzymane metodą "suszenia emulsyjnego" [6], nanowłóknina z DBC wytwarzana techniką elektrospinningu [7].

Ocenie poddano próbki o jednakowej wadze. Do wiadczenia wykonano na pełnej krwi cytrynianowej oraz na osoczu ubogopłytkowym. Krew ludzka grupy O Rh+ pobrano od dawców na cytrynian sodu w proporcji 1:10. Osocze otrzymano po odwirowaniu krwi (1500g x 10min) [8, 9].

Oznaczenie czasu krzepnięcia (rekalcytacji) pełnej krwi

Ludzka krew cytrynianowa inkubowana z próbką materiału (0,5ml/0,0037g) w probówce PS przez 15, 30 i 60 min. w temp. 37°C. Następnie dodano 0,5 ml 0,25 mm/l roztworu chlorku wapniowego i mierzono czas krzepnięcia. Pomiar zakończono w momencie pojawienia się pierwszych nitek fibryny. Równolegle wykonano pomiary dla krwi kontrolnej - bez kontaktu z materiałem.

Oznaczenie czasu krzepnięcia osocza ubogopłytkowego

Osocze cytrynianowe wraz z próbką materiału (0,8ml/0,0062g) delikatnie wytrząsano przez 120 min. w temp. pokojowej. Równolegle nastawiono próbki kontrolne - osocze bez kontaktu z materiałem. Oznaczono: czas czynnościowy tromboplastyny po aktywacji (aPTT), czas protrombinowy (PT), aktywność czynnika XII (F XII), stężenie fibrynogeny (Fb).

Badania wykonano na aparacie BCT (Behring Coagulation Timer), firmy Dada Behring. Wyniki poddano analizie statystycznej. Obliczono średnie arytmetyczne i odchylenie standardowe. Istotne różnice w średnich wartościach określono testem T studenta. Przyjmując współczynniki korelacji istotne przy *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

Wyniki badań

Wpływ materiałów z DBC na krzepnięcie krwi cytrynianowej, określono poprzez pomiar czasu rekalcytacji po 15, 30 i 60 minutach (RYS. 1). Czas krzepnięcia stwierdzony dla ocenianych materiałów z DBC, we wszystkich czasach badania, był istotnie skrócony (p < 0,01, p < 0,001) w porównaniu do kontroli. Najniższe wartości czasu rekalcytacji stwierdzono dla próbek o rozbudowanej powierzchni: włókien E1, B1 oraz nanowłókniny.

Wpływ materiałów z DBC na zewnętrzny układ krzepnięcia określono testem aPTT, a wewnętrzny testem PT. Oznaczono również stężenie fibrynogeny oraz aktywność czynnika XII.

Wartość aPTT, PT, aktywność czynnika XII i stężenie fibrynogeny, otrzymana dla osocza po 120 minutach kontaktu z różnymi próbkami DBC była porównywalna z wartościami dla osocza kontrolnego. Oceniane materiały z DBC nie wywoływały zmian w osoczym układzie krzepnięcia, a otrzymane wartości pomiarowe dla każdego materiału są porównywalne między sobą oraz z grupą kontrolną (RYS. 2-4).

Wnioski

1. Oceniane materiały z DBC wykazują aktywność prokoagulacyjną krwi.
2. Oceniane materiały z DBC nie wpływają na zmianę ak-

Materials and methods

For the study we used the materials made of dibutyrylchitin (DBC) of the esterification level 2, prepared from the krill chitin supplied by Sea Fisheries Institute in Gdynia. The intrinsic viscosity of the dibutyrylchitin solution in DMAc (dimethyl-acetamide), measured at +25°C was at the level of 1,5 dL/g [1, 2]. The particular samples were different in regard to their moulding and form: fibers E1- were wet shaped from DBC ethanol solution; fibres B1- were wet shaped from DBC solution in N-methylpyrrolidone. The membranes were outpoured from DBC ethanol solution, microspheres from DBC by the method of DBC of "emulsion drying" [6], while nonwoven nano-fibres of DBC were received by technique of electrospinning [7].

All evaluated samples were of the same weight. Tests were carried on the full human citrated blood and on the low-platelet plasma. Human blood of the group O and Rh+ was collected from the donors on sodium citrate in proportion 1:10. The plasma has been received by centrifugation of the blood (1500g x 10min) [8, 9].

Coagulation time (recalcination) in full blood

Human citrated blood with the tested sample (0,5 ml/0,0037 g) was incubated in PS tubes for 15, 30 and 60 minutes at +37°C. Afterwards the amount of 0,5 ml (0,25 mm/l) of calcium chloride solution was added and coagulation time was measured. The measurement was cut off at the point when the first fibers of fibrin were observed. At the same time the measurements for the control blood - without contact with any materials - were done.

Coagulation time in plasma

Citrate plasma together with the tested sample of materials (0,8ml/0,0062g) was gently shaken during 120 minutes at the room temperature. At the same time the control sample was set up, i.e. the plasma without contact with any material. The following parameters were determined: activated partial thromboplastin time (aPTT), prothrombin time (PT), factor XII activity (F XII), fibrinogen concentration (Fb). All aforementioned tests were carried out on BCT (Behring Coagulation Timer) apparatus made by Dada Behring Co. Results were subject of statistical analysis. The averages and standard deviations were calculated. The real differences in the mean values were calculated with student test T. It was accepted that correlation indexes are of importance at *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

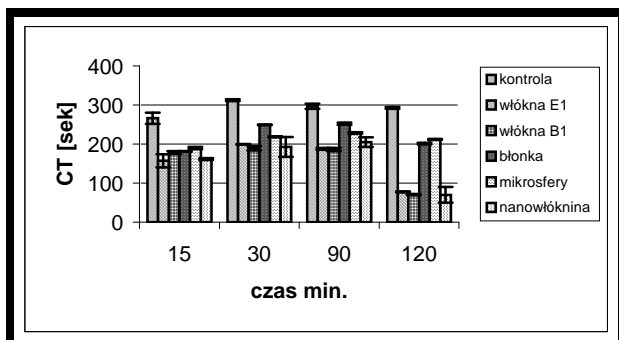
Results

The influence of DBC materials on coagulation of citrated blood was evaluated by the measurement of recalcination time after 15, 30, 60 minutes (Fig. 1). Coagulation time noted for these tested materials of DBC, at all investigated times, were significantly shorter (p < 0,01, p < 0,001) as compared to control group. The lowest values for recalcination time were noted for the samples of enlarged surface: fibers E1 and B1 and for the nonwoven nano-material.

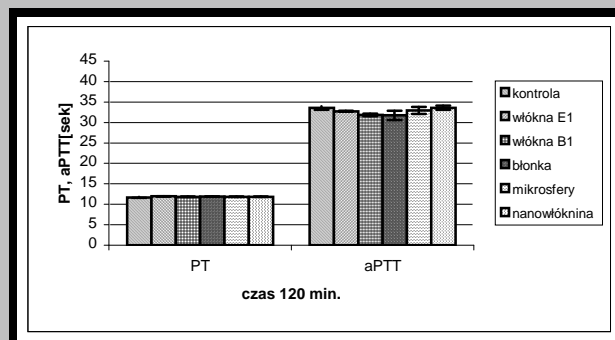
The influence of DBC materials on exogenic plasma coagulation system was evaluated by aPTT test, while endogenous - by PT test. At the same time the concentration of fibrinogen and factor XII activity were evaluated.

The values of aPTT, PT, factor XII activity and fibrinogen concentration received for the plasma after 120 minutes of contacts with different samples of DBC were all comparable with the values received for control plasma.

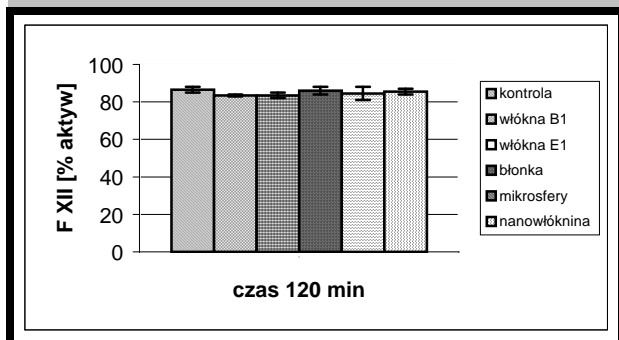
DBC materials, which have been evaluated, did not cause any changes in plasma coagulation system, and the values received for each material are comparable to each other.



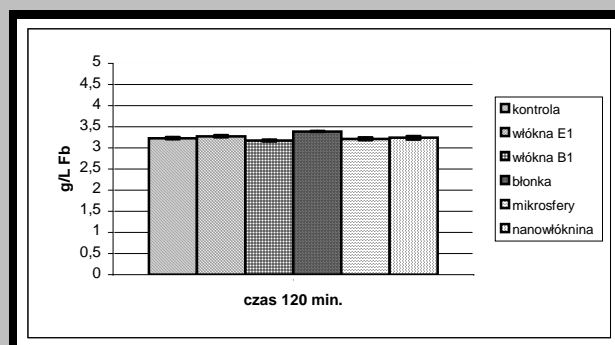
RYS. 1. Czas rekalcynacji krwi.
FIG. 1. The blood recalcination time.



RYS. 2. Czas protrombinowy (PT) i czas czyniowej tromboplastyny (aPTT) po aktywacji w osoczu.
FIG. 2. Prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) in plasma.



RYS. 3. Aktywność czynnika XII (F XII) w osoczu.
FIG. 3. Factor XII activity (F XII) in plasma.



RYS. 4. Stężenie fibrynowego (Fb) w osoczu.
FIG. 4. Fibrinogen (Fb) concentration in plasma.

tywności białek osocznego układu krzepnięcia. Włókna z DBC E1, B1 i nanowłóknina mogą znaleźć zastosowanie jako materiały hemostatyczne.

Podsumowanie

Badania wykonane zostały w ramach projektu badawczego nr 1063, w ramach prac własnych Uczelni.

Materiały do badań wykonano w ramach projektu badawczego Nr 4 T08E 001 24, wykonywanego w Katedrze Metrologii Włókienniczej Politechniki Łódzkiej i finansowanego przez Komitet Badań Naukowych.

Results

The influence of DBC materials on coagulation of citrated blood was evaluated by the measurement of recalcination time after 15, 30, 60 minutes (FIG. 1). Coagulation time noted for these tested materials of DBC, at all investigated times, were significantly shorter ($p < 0,01$, $p < 0,001$) as compared to control group. The lowest values for recalcination time were noted for the samples of enlarged surface: fibers E1 and B1 and for the nonwoven nano-material.

The influence of DBC materials on exogenic plasma coagulation system was evaluated by aPTT test, while endogenous - by PT test. At the same time the concentration of fibrinogen and factor XII activity were evaluated.

The values of aPTT, PT, factor XII activity and fibrinogen concentration received for the plasma after 120 minutes of contacts with different samples of DBC were all comparable with the values received for control plasma.

DBC materials, which have been evaluated, did not cause any changes in plasma coagulation system, and the values received for each material are comparable to each other and to those of control group. (FIG. 2-4).

Conclusions

1. Evaluated materials of DBC showed activity procoagulation blood.
2. Evaluated materials of DBC do not have any influence on the activity of plasma protein coagulation system.
3. DBC fibers of both types i.e. E1, B1 as well as the nonwoven nano-material could find their proper application as haemostatic dressing materials.

Pi miennictwo

- [1] Szosland L., Janowska G.: The method of preparation of dibutylchitin, 1996, PL 169077 B1
- [2] Szosland L.: Synthesis of highly substituted butyrylchitin in the presence of perchloric acid, *J. Bioactive and Compat. Pol.*, 11, (1996), pp. 61-71
- [3] A. Błasiska, L. Szosland, I. Kruci ska: "Metronidazole loaded microspheres and membranes of dibutylchitin: preparation and drug release determination", *Proceedings of "Healthcare and medical textiles'03" - The Third International Conference and Exhibition in Bolton on 8th and 9th July 2003.*
- [4] Paluch D., Szosland L., Staniszevska-Ku J., Solski L., Szymonowicz M., G barowska E.: The biological assessment of chitin fibres. *Polim. w Med.* 2000, XXX, V, 3-32.
- [5] Szosland L., Kruci ska I., Cisko R., Paluch D., Staniszevska-Ku J., Solski L., Szymonowicz M.: Synthesis of dibutylchitin and preparation of new textiles made from dibutylchitin and chitin for medical applications. *Fibres & Textiles in Eastern Europe* 2001, v.9, (34), 54-57.

PRZE YWALNO KOMÓREK ENKAPSULOWANYCH W HYDRO ELACH ALGINIANOWYCH

PIOTR WO NIAK*, KATARZYNA FILIPCZAK**, ALICJA K. OLEJ-
NIK**, MAŁGORZATA LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ*

*ZAKŁAD BIOFIZYKI I FIZJOLOGII CZŁOWIEKA,
AKADEMIA MEDYCZNA W WARSZAWIE

**INSTYTUT TECHNIKI RADIACYJNEJ, WYDZIAŁ CHEMICZNY,
POLITECHNIKA ŁÓDZKA

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 126-129]

Wst p

Rusztowania hydro elowe s obecnie szeroko badane jako potencjalne no niki do transplantacji komórek i regeneracji uszkodzonych tkanek m. in. chrz stnej, kostnej, mi niowej i nerwowej [1].

Szczególnie wiele prac dotyczy wykorzystania hydro eli w rekonstrukcji chrz stki [1-3]. Jednymi z najcz cieej stosowanych materiałów do konstrukcji hydro elowych no ników dla chondrocytów s ele alginianowe [4-6].

W ocenie wpływu podło a na hodowane komórki jedn z podstawowych informacji jakie chcemy uzyska jest ywotno /prze ywalno komórek w kontakcie z testowanym materiałem. Do najcz cieej wykorzystywanych testów ilociowych s tu cych do okre lenia ywotno ci komórek na-

Acknowledgements

The study was carried out as Medical University of Wroclaw research project no 1063.

All materials for the study were worked out in Chair of Department of Textile Metrology at Lodz Technical University as the part of research project no.4 T08E 001 2 granted by State Committee for Scientific Research.

References

- [6] Paluch D., Staniszevska-Ku J., Solski L., Szymonowicz M.: New textiles made from dibutylchitin and chitin for medical applications. *Proceedings of the 1 st. Autex Conference, Volume 1, Tecnitex 2001, Povo de Varzim, Portugal, June 2001 r.*
- [7] Błasi ska A., Kruci ska I., Chrzanowski M., Domaradzka-Ni-
ci ska S.: Wytwarzanie nanowłóknistych biomateriałów z dibuty-
rylochitiny przy zastosowaniu elektroprz dzenia. *Materiały Kon-
ferencyjne X Seminarium pt. "Nowe aspekty w chemii i zastosowa-
niu chityny i jej pochodnych"*, Gdynia, 25-27.09.2003 r., 17.
- [8] Szymonowicz M., Kratochwil J. Staniszevska-Ku J., Paluch
D., Solski L., ywicka B.: Badania wpływu materiałów hemosta-
tycznych na parametry układu krzepni cia i fibrynoliz . *In ynieria
Biomateriałów* 1999, 7, 8, 2, 45-52.
- [9] Paluch D., Szymonowicz M., Pielka S., Rutowski R.: Badania in
vitro wpływu materiałów poliestrowych o ró nym stopniu zwil al-
no ci powierzchni na parametry hematologiczne krwi oraz na
parametry układu krzepni cia i fibrynolizy. *Polim. w Med.* 2002,32,
1-2, 41-64.

VIABILITY OF CELLS ENCAPSULATED IN ALGINATE HYDROGEL

PIOTR WO NIAK*, KATARZYNA FILIPCZAK**, ALICJA K. OLEJ-
NIK**, MAŁGORZATA LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ*

*MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW,
DEPARTMENT OF BIOPHYSICS AND HUMAN PHYSIOLOGY

**TECHNICAL UNIVERSITY OF ŁÓD ,
INSTITUTE OF APPLIED RADIATION CHEMISTRY (IARC-TUL)

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 126-129]

Introduction

Hydrogel scaffolds are being investigated as a potential carriers for cell transplantation and reconstruction of wide range of tissues, including cartilage, bone, muscle and neurons [1]. Among them, hydrogel materials are being used for cartilage tissue engineering [1-3]. Particularly alginate has been used to construct 3-D scaffolds for chondrocytes delivery [4-6].

Cell viability is one of the most important and desirable information for evaluation of the influence of the material on cells. For this purpose, colorimetric assays (MTT, XTT and Neutral Red stain (NR)) and hemocytometer cell count (Trypan Blue stain -TB) are the most popular quantitative tests [7, 8].

In the present study, human chondrocytes encapsulated in alginate hydrogel were investigated by means of MTT, NR and TB tests.

le testy kolorymetryczne (MTT, XTT, barwienie czerwieni obojtno (NR)) oraz obliczenia cytometryczne (np.: barwienie błon kitem trypanu (TB)) [7, 8].

Celem prezentowanego do wiadomości była próba oceny żywotności i przeżywalności ludzkich chondrocytów zatopionych w hydrogeli alginianowym z wykorzystaniem testów ilościowych: MTT, barwienia NR oraz barwienia TB.

Materiały i metody

Do do wiadomości u cytów chondrocytów ludzkich, wyizolowanych z tkanki chrząstki amputowanej w czasie zabiegów operacyjnych.

Hodowla prowadzona w inkubatorze, w temp. 37°C, przy wilgotności 90%, w atmosferze CO₂ o stężeniu 5% z zastosowaniem medium hodowlanego na bazie Nutrient Mixture F-12 (HAM) (GIBCO BRL) wzbogaconego inaktywowanym płodowym serum bydlęcym (FBS) w stężeniu 10%. Alginian sodu (Sigma-Aldrich) w postaci proszku został rozpuszczony w 0,9% roztworze NaCl w stężeniu 2,0%(w/v). W celu enkapsulacji chondrocyty poddano działaniu trypsyny a następnie zmieszano z roztworem alginianu sodu (koncentracja roztworu alginianu sodu wyniosła 1,5%). Tak przygotowany zawiesin komórek naniesiono do 24 studzienkowej płytki hodowlanej a następnie poddano sieciowaniu 15 mM roztworu CaCl₂ w celu wytworzenia hydrogeli alginianowego. Po 5 min nadmiar roztworu CaCl₂ został usunięty a powstałe błony alginianowe zalano pożywnościami komórek w roztworze alginianowym.

W czasie trwania testów MTT i NR przeprowadzono obserwację mikroskopową (Nikon ECLIPSE TE 2000-U).

Żywotność i przeżywalność komórek w roztworze alginianowym oceniono 7 dni do wiadomości na podstawie wyników testów ilościowych, kolorymetrycznych - MTT i NR oraz testu hemocytometrycznego - TB. Test MTT opiera się na przemianie soli tetrazolowych do formazanów przez dehydrogenazę bursztynianową w mitochondriach żywych komórek. Rozpuszczenie kryształków formazanów daje barwny produkt, którego ilość mierzona jest spektrofotometrycznie. Barwienie czerwieni obojtno (NR) bazuje na zatrzymaniu barwnika w lizosomach żywych komórek. Wynik obu powyższych testów odczytywany jest spektrofotometrycznie w czytniku płytek ELISA (FLUOstar OPTIMA BMG Labtech) i porównywany z kontrolą, która stanowiły chondrocyty hodowane na powierzchni polistyrenu (TCPS - ang. Tissue Culture Polystyrene).

Liczenie komórek w kamerze hematologicznej połączone z barwieniem błon kitem trypanu (TB) poprzedzone było rozpuszczeniem hydrogeli alginianowego i uwolnieniem zatopionych w nim komórek. TB wnika tylko do martwych komórek, dzięki czemu możliwa jest ocena procentowej żywotności komórek.

Wyniki

Podczas obserwacji mikroskopowej prowadzonej w czasie wykonywania testów MTT i NR zaobserwowano, odpowiednio, komórki z wytrącającymi się kryształkami formazanów oraz komórki zabarwione czerwieni obojtno (RYS. 1, RYS. 2).

W testach MTT poziom absorbancji dla komórek zatopionych w błonach alginianowych wyniósł około 126% w odniesieniu do kontroli.

Wynik testu NR dla chondrocytów immobilizowanych w hydrogeli alginianowym osiągnął poziom około 61% w stosunku do kontroli.

Żywotność komórek określona na podstawie barwienia TB

Materials and methods

Human chondrocytes used in this experiment were isolated from cartilage tissue which otherwise would be discarded.

Cell culture was carried out in incubator under the standard conditions (temperature 37°C, 90% humidity, 5% CO₂). Medium, based on Nutrient Mixture F-12 (HAM) (GIBCO BRL) was supplemented with 10% (v/v) of heat-inactivated foetal bovine serum (FBS).

Sodium alginate powder (Sigma-Aldrich) was dissolved in 0,9% NaCl solution in concentration of 2% (w/v). For encapsulation, confluent chondrocytes were resuspended in the alginate solution after trypsinisation (final alginate concentration was equal to 1,5%). Then, the suspension was poured to the 24 well cell culture plate where the cross-linking of sodium alginate took place with the aid of 0,15M CaCl₂. The alginate/cell films were formed after 5-minute contact with CaCl₂ solution and afterwards they were immersed in the medium.

Viability of alginate-encapsulated chondrocytes was determined on day 7. The techniques used included colorimetric tests - MTT and NR as well as hemocytometer cell count - TB. The MTT assay is based on the reduction of tetrazolium salts to an insoluble formazan by succinic dehydrogenase in the mitochondria of viable cells. Formation of formazan crystals was observed under an inverted microscope (Nikon ECLIPSE TE 2000-U). The neutral red uptake test (NR) is based on the retention of neutral red dye in the lysosomes of viable cells. The results of both MTT and NR tests were read in ELISA reader (absorbance spectrophotometric measurement).

Chondrocytes seeded on polystyrene plate - TCPS (Tissue Culture Polystyrene) served as a positive control.

Prior to direct cell count and trypan blue exclusion (TB) alginate hydrogel was dissolved and encapsulated cells were released. Trypan blue is a stain which only enters across the membranes of dead/non-viable cells, so, as the result, the percentage of viable cells could be determined.

Results

In microscopy examination of chondrocytes during MTT and NR assays, cells were visualised in the whole 3-D structure of hydrogel. Both formazan crystals and NR stain were observed (FIG.1, FIG.2)

The result of MTT assay for encapsulated chondrocytes was higher (~126%), as compared to the cells cultured on TCPS.

The absorbance level in NR uptake for cells immobilized in alginate was about 61% of the control.

Viability of embedded chondrocytes calculated by TB stain was higher than 90%.

Discussion

For over a decade the MTT technique is being employed to quantify the metabolic activity of encapsulated cells [6, 9-11]. Colorimetric assays however, might be used not only for quantitative analysis but also for qualitative studies [11, 12]. In this paper, microscopic observations during MTT and NR tests confirmed viability of encapsulated cells up to the 7-day of culture.

The quantitative analysis of MTT and NR assays results did not unequivocally support the above microscopic observations. The absorbance level in both tests might be influenced by the time delay for the diffusion of tetrazolium

Dyskusja

Test MTT jest od wielu lat używany do ilościowej oceny aktywności metabolicznej immobilizowanych w hydrogelach komórek [4, 9-11]. Testy kolorymetryczne jednak, mogą być nie tylko źródłem danych ilościowych ale są również wykorzystywane do jakościowej oceny przez żywe komórki [11, 12]. Obserwacje mikroskopowe wykonane w tym cyklu do wiadczyły jako jakościowe ocenę żywotności chondrocytów. Obecność komórek z wytrącającymi się kryształkami formazanów oraz pozytywne barwienie czerwieni obojtnie potwierdziły przez żywe chondrocytów ludzkich w hydrogelach alginianowych.

Wyniki ilościowe testów MTT i NR nie potwierdzają w sposób jednoznaczny powyższej oceny jako jakościowej. Utrudniona dyfuzja soli tetrazolowych i czerwieni obojtniej poprzez hydrogel alginianowy oraz wolniejsze rozpuszczanie wytrąconych kryształków formazanów może wpływać na otrzymany poziom absorbancji [10]. Istotną może być także potencjalna zmiana poziomu aktywności metabolicznej komórek zawieszonych w hydrogelu w odniesieniu do kontroli (TCPS). Wzrost/spadek aktywności mitochondrialnej enkapsulowanych komórek lub też upośledzenie/pobudzenie transportu błonowego odpowiadające poziomowi absorbancji w testach MTT i NR nie muszą być skorelowane z liczbą żywych komórek. Ich pozytywny wynik wiadczy jednak po prostu o przez żywe komórki chondrocytów w hydrogelu. Przeprowadzenie tych testów nie wymaga niszczenia trójwymiarowej struktury hydrogelu i jest stosunkowo proste. Testy kolorymetryczne są zatem pomocne w ocenie enkapsulowanych komórek.

Inną metodą umożliwiających ocenę żywotności komórek zawieszonych w hydrogelach jest barwienie błękitem trypanu w połączeniu z użyciem hemocytometru [11, 13]. Wyniki ilościowe otrzymane z jej wykorzystaniem stanowi potwierdzenie obserwacji mikroskopowej przeprowadzonej w czasie testów MTT i NR. Duża dokładność oraz łatwość wykonania stanowi duże zalety tego testu. Jego wykonanie wiąże się jednak z rozpuszczeniem hydrogelu i uwolnieniem zawieszonych w nim komórek. Stwarza to sytuację, w której analizujemy żywotność np. chondrocytów w innym "rodowisku" niż do wiadczały. Może to w znaczący sposób wpływać na wynik testu.

Wnioski

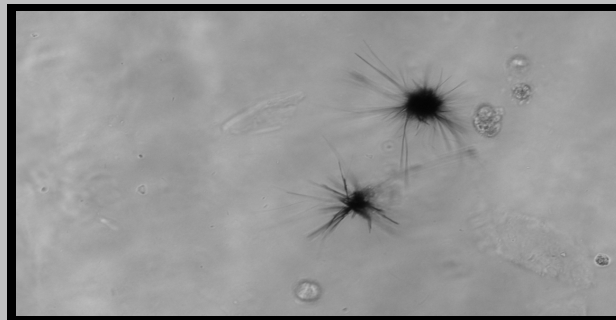
Przeprowadzenie testów ilościowych MTT i NR umożliwia jako jakościowe ocenę żywotności/przez żywe komórki zawieszonych w hydrogelu alginianowym.

Otrzymane wyniki testów ilościowych nie pozwalają na wybór jednej, optymalnej metody oceny żywotności komórek w opisanym układzie do wiadczałym.

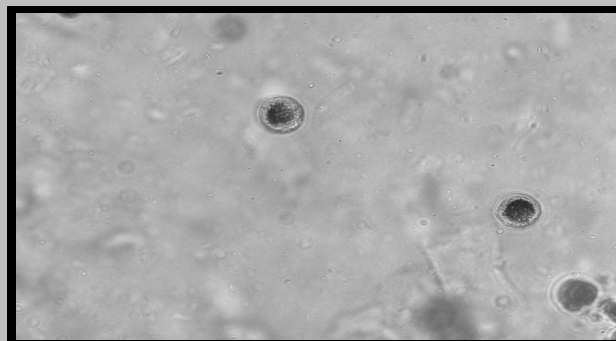
Wykorzystanie jednocześnie kilku testów ilościowych umożliwia bardziej obiektywną ocenę wpływu enkapsulacji w hydrogelu alginianowym na żywotność/przez żywe ludzkich chondrocytów.

Podziękowania

Niniejsza praca została sfinansowana ze środków KBN, grant 05/PBZ-KBN-082/T08/2002/06.



RYS. 1. (20x) (Kontrast fazowy) widok komórek z wytrącającymi się kryształkami formazanów.
FIG. 1. (20x) (phase contrast) cells with formazan-crystals formed.



RYS. 2. (20x) (Jasne pole) widok komórek wybarwionych NR.
FIG. 2. (20x) (bright field) cells stained with NR.

salts and neutral red dye [10], also neither MTT nor NR assays measure directly the cell number. They reflect on changes in metabolic activity of encapsulated cells compared to the control and the effectiveness of the cell membrane transport respectively. Thus they did not have to be correlated with viable cells number. However, the positive results of tests indirectly prove viability of embedded chondrocytes. Because of the simplicity of the presented assays (particularly, destruction of 3-D structure of hydrogel is not necessary), calorimetric assays could be a valuable tool in encapsulated cells examinations.

Hemocytometer cell count connected with trypan blue exclusion is an alternative method for the viability of hydrogel immobilized cell measurement [11, 13]. The cytometer counting is simple and precise but it requires dissolution of hydrogel. Thus, cells are studied in a different environment compared to the experimental one and it may seriously influence the result of the test.

Conclusions

Colorimetric assays, MTT and NR, enable qualitative studies of the viability of encapsulated human chondrocytes. The results of quantitative tests do not allow to choose the single optimum method for the evaluation of alginate immobilized cell viability.

Viability of chondrocytes embedded in hydrogel films could be estimated more objectively when a battery of tests is used.

Acknowledgements

This work was supported by the State Committee for Scientific Research (grant 05/PBZ-KBN-082/T08/2002/06).

- [1] Drury, J.L. and D.J. Mooney, Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. *Biomaterials*, 2003. 24(24): p. 4337-51.
- [2] Hutmacher, D.W., Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, 2000. 21(24): p. 2529-43.
- [3] Temenoff, J.S. and A.G. Mikos, Review: tissue engineering for regeneration of articular cartilage. *Biomaterials*, 2000. 21(5): p. 431-40.
- [4] Marijnissen, W.J., et al., Alginate as a chondrocyte-delivery substance in combination with a non-woven scaffold for cartilage tissue engineering. *Biomaterials*, 2002. 23(6): p. 1511-7.
- [5] Marijnissen, W.J., et al., Tissue-engineered cartilage using serially passaged articular chondrocytes. Chondrocytes in alginate, combined in vivo with a synthetic (E210) or biologic biodegradable carrier (DBM). *Biomaterials*, 2000. 21(6): p. 571-80.
- [6] Stevens, M.M., et al., A rapid-curing alginate gel system: utility in periosteum-derived cartilage tissue engineering. *Biomaterials*, 2004. 25(5): p. 887-94.

- [7] Lewandowska-Szumieł, M., Alternative methods for assessing biocompatibility and function of implant materials. *ATLA*, 1999. 27: p. 271-281.
- [8] Cell & Tissue Culture: Laboratory Procedures. 15 ed, ed. G.B.J. Doyle, A. Newell. D. G. 1997, Chichester: John Wiley & Sons Ltd.,
- [9] Orive, G., et al., Development and optimisation of alginate-PMCG-alginate microcapsules for cell immobilisation. *Int J Pharm*, 2003. 259(1-2): p. 57-68.
- [10] Uludag, H. and M.V. Sefton, Colorimetric assay for cellular activity in microcapsules. *Biomaterials*, 1990. 11(9): p. 708-12.
- [11] Lahooti, S. and M.V. Sefton, Effect of an immobilization matrix and capsule membrane permeability on the viability of encapsulated HEK cells. *Biomaterials*, 2000. 21(10): p. 987-95.
- [12] Payne, R.G., et al., Development of an injectable, in situ crosslinkable, degradable polymeric carrier for osteogenic cell populations. Part 2. Viability of encapsulated marrow stromal osteoblasts cultured on crosslinking poly(propylene fumarate). *Biomaterials*, 2002. 23(22): p. 4373-80.
- [13] Isayeva, I.S., et al., Characterization and performance of membranes designed for macroencapsulation/implantation of pancreatic islet cells. *Biomaterials*, 2003. 24(20): p. 3483-91.

OCENA WŁAŚCIWOŚCI FIZYKO-CHEMICZNYCH BŁON CHITOZANOWYCH

EDYTA WYLON, ZOFIA MODRZEJEWSKA, PIOTR OWCZARZ, ROMAN ZARZYCKI

WYDZIAŁ INŻYNIERII PROCESOWEJ I OCHRONY ŚRODOWISKA
POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ

ŁÓDŹ, UL. WÓLCZA SKA 175

[In *ynieria Biomateriałów* 38-43, (2004), 129-131]

Współczesne leczenie ran to nie tylko ochrona przed czynnikami fizycznymi czy chorobotwórczymi, ale przede wszystkim aktywne wspieranie procesu gojenia. Optymalny materiał opatrunkowy powinien pochłaniać powstający w ranie wysięk, brać udział w oczyszczaniu rany z tkanek martwiczych oraz pobudzać regenerację uszkodzonych tkanek. Istotne jest również, aby można było taki opatrunek łatwo i bezboleśnie zakładać i zdejmować.

W pracy proponuje się wykorzystanie chitozanu jako materiału opatrunkowego. Chitozan jest cząsteczkowo deacetylowanym pochodnym chityny (poli-β[1→4] N-acetylo-D-glukozaminy). Do korzystnych właściwości chitozanu należą: nietoksyczność, biogodność oraz biodegradowalność. Chitozan przyspiesza gojenie ran zwiększając napływ do miejsca zranienia komórek fagocytujących, tj. jak granulocyty segmentowane i makrofagi, oraz przez stymulację migracji i proliferacji komórek naczyń różnoblonek, fibroblastów i w niektórych badaniach także keratynocytów [1-3]. Hydrogelowe błony chitozanowe otrzymywane metodą inwersji faz mogą być potencjalnymi materiałami opatrunkowymi. Celem pracy było opracowanie błon chitozanowych o odpowiedniej wytrzymałości mechanicznej a jednocześnie nie zawierających w strukturze wody. Zakres badań obejmował:

- Opracowanie składu roztworów błonotwórczych na podstawie badań reologicznych.

Roztwory wytwarzano z chitozanów o różnej masie cząsteczkowej (140 - 500 kDa), przy użyciu różnych rozpusz-

ASSESSMENT OF PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF CHITOSAN MEMBRANES

EDYTA WYLON, ZOFIA MODRZEJEWSKA, PIOTR OWCZARZ, ROMAN ZARZYCKI

FACULTY OF PROCESS AND ENVIRONMENTAL ENGINEERING,
TECHNICAL UNIVERSITY OF ŁÓDŹ

UL. WÓLCZA SKA 175, 90-924 ŁÓDŹ

[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 129-131]

Modern wound treatment provides not only a protection against physical factors or pathogens, but first of all is an active support for the healing process. An optimal dressing material should absorb an exudate formed in the wound and participate in the removal of necrotic tissue from the wound and stimulate regeneration of damaged tissues. It is also important that such dressings could be easily and painlessly put on and taken off.

In this study, chitosan is proposed to be used as a dressing material. Chitosan is a partly deacetylated derivative of chitin (poly-β[1→4] N-acetyl-D-glucosamine). It is non-toxic, biocompatible and biodegradable. Chitosan enhances wound healing by increasing the flow of phagocytosis cells, such as polymorphonuclear cells and macrophages to the injured spot, and by stimulating the migration and proliferation of vascular endothelial cells and fibroblasts and according to some researchers, also keratinocytes [1-3]. Hydrogel chitosan membranes obtained by the phase inversion method can be potential dressing materials. The aim of this research was to develop chitosan membranes of appropriate mechanical strength and containing water in their structure. The research covered:

- Development of a composition of the membrane-forming solutions on the basis of rheological studies.
- The solutions were prepared from chitosan of different mo-

czalników (kwas octowy, solny, mlekowy, askorbinowy). Przykładowe krzywe reologiczne dla octanu przedstawiono na RYS. 1 i 2.

- Wytworzenie wysokoporowatych błon chitozanowych metodą inwersji faz z roztworów o optymalnych właściwościach reologicznych, przy użyciu różnych rodków koagulujących (NaOH, etanol, gazowy amoniak, tri- i heksafosforan).
- Określenie wytrzymałości mechanicznej otrzymanych błon chitozanowych poprzez wyznaczenie siły zrywającej i wydłużenia.
- Badanie charakteru wody obecnej w strukturze błon określano na podstawie widm uzyskanych z różnicowego kalorymetru skaningowego. Przykładowe analizy endotermicznych pików dla membran wytworzonych z różnych soli chitozanowych zawierających różnego stopnia polimeru przedstawiono w TABELI 1.

Otrzymano następujące wyniki:

Wytworzenie wytrzymałych błon wymaga formowania ich z roztworów o stosunkowo dużym stopniu polimeru przy zachowaniu odpowiednio niskiej lepkości. Opracowanie składu roztworów błonotwórczych dokonywano na podstawie badań reologicznych. Optymalne do wytwarzania błon są roztwory z octanu chitozanu. Są to stabilne płyny rozrzedzane ciniem. Lepkość pozorna badanych mediów rośnie wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej i stopnia polimeru. Szczególnie interesujące są roztwory zawierające 8% i 10% polimeru o masie cząsteczkowej 500 kDa. Dla tych roztworów obserwuje się przesunięcie krzywej płynięcia w dół (RYS. 1) - raptowny spadek lepkości po pozornej (RYS. 2). Takie zachowanie roztworów soli chitozanowych świadczy najprawdopodobniej o tym, że w wysokolepkich roztworach powstają trwałe wiązania dipol-dipol ulegające destrukcji pod wpływem sił ciniących. Jednocześnie krzywa płynięcia wykonana w kierunku wzrastających sił ciniących pokrywa się z krzywą wykonaną w odwrotnym kierunku i przebiegi nie wykazują histerezy, co świadczy, że badane roztwory nie wykazują zjawiska tiksotropii, a wiązania ich własności reologiczne nie zależą od czasu cinięcia, co jednocześnie sugeruje o braku degradacji polimeru na skutek działania sił ciniących.

Błony chitozanowe wytwarzane mogą być również z mrowczanu i mleczanu chitozanu. Podobnie jak octan chitozanu roztwory wykazują cechy płynu nienewtonowskiego rozrzedzanego ciniem, lecz nie obserwuje się charakterystycznego dla octanu przesunięcia krzywej płynięcia w dół. Nie udało się natomiast wytworzyć membran z roztworów askorbinianu chitozanu z uwagi na jego dużą lepkość, która dodatkowo narastała w czasie.

lecular weight (140-500 kDa), using a variety of solvents (acetic, hydrochloric, lactic and ascorbic acids). Examples of rheological curves for acetate are shown in FIGS. 1 and 2.

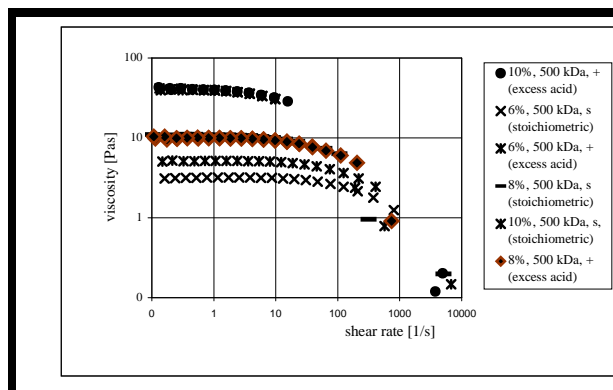
- Production of highly porous chitosan membranes by the phase inversion method from solutions with optimum rheological properties using different coagulants (NaOH, ethanol, gaseous ammonia, tri- and hexaphosphate).
- Determination of mechanical strength of the formed chitosan membranes by specifying tensile and elongation strength.
- Analysis of the character of water present in the membrane structure on the basis of spectra obtained from a differential scanning calorimeter. Table 1 gives an analysis of endothermal peaks for membranes formed from various chitosan salts containing the polymer at different concentrations.

The following results were obtained

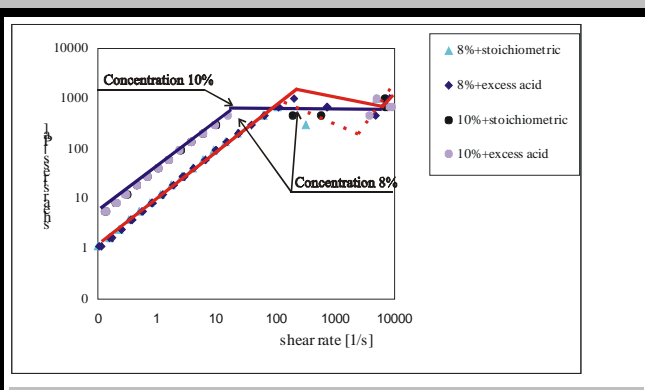
Formation of resistant membranes requires solutions of a relatively high polymer concentration at relatively low viscosity. The composition of membrane-forming solutions was determined on the basis of rheological investigations. The best for membrane production are the solutions of chitosan acetate. They are stable, shear-thinned liquids. Apparent viscosity of the tested media increases with an increase of molecular weight and polymer concentration. Particularly interesting are the solutions that contain 8% and 10% polymer of molecular weight 500 kDa. In these solutions shifting of the flow curve downwards is observed (FIG. 1) - a rapid decrease of apparent viscosity (FIG. 2). This behaviour of the solutions of chitosan salts is most probably an evidence that in highly viscous solutions stable dipole cohesion is observed which is destroyed under the influence of shearing forces. In parallel, the flow curve drawn in the direction of increasing shearing forces overlaps the curve drawn in the opposite direction and their runs do not reveal hysteresis, which confirms that the tested solutions are not thixotropic, so their rheological properties do not depend on shearing time, which may suggest that the polymer is not degraded due to shearing forces. Chitosan membranes can also be formed from chitosan formate and lactate. Like chitosan acetate, the solutions show the properties of a non-Newtonian shear-thinned liquid, but no downward shift of the flow curve characteristic of acetate is observed.

No membranes were formed from chitosan ascorbate solutions because of its high viscosity which additionally increased in time.

Hydrogel chitosan membranes are characterised by a rela-



RYS. 1. Krzywe lepkości roztworów soli chitozanowych.
FIG. 1. Viscosity curves of chitosan salt solutions.



Rys. 2. Krzywe płynięcia roztworów soli chitozanowych.
Fig. 2. Flow curves of chitosan salt solutions.

Rodzaj rozpuszczalnika Solvent	Stężenie Concentration	Entalpia topnienia lodu Ice melting enthalpy		Entalpia parowania wody Water evaporation enthalpy			
		Temperatura Temperature [°C]	Entalpia Enthalpy [J/g]	Temperatura Temperature [°C]	Entalpia Enthalpy [J/g]	Temperatura Temperature [°C]	Entalpia Enthalpy [J/g]
Kwas mrówkowy Formic acid	6 %	3.49	300.9	97.92	740.6	112.27	1330
	8 %	3.10	280.1	95.69	374.1	117.53	1550
	10 %	2.93	267.5	88.56	348.7	120.47	1602
HCl	6 %	3.63	307.7	93.6	791.2	110.18	1105
	8 %	2.07	241.7	90.39	504.5	114.80	1290
	10 %	2.60	284.6	86.07	277.7	110.44	1517
Kwas mlekowy Lactic acid	6 %	3.96	288.8	97.88	1009	112.36	1028
	8 %	3.18	268.9	96.37	507.1	110.58	1350
Kwas octowy Acetic acid	6 %	3.09	286.0	93.30	781.7	110.14	1176
	8	2.31	305.3	80.48	368.0	119.15	1788
	10	2.86	264.2	78.25	400	107.67	1483
	12	2.93	250.6	78.59	289.6	113.75	1367

TABELA 1. Analiza pików endotermicznych dla membran koagulowanych w NaOH.
Table 1. Analysis of endothermal peaks for membranes coagulated in NaOH

Hydroelowe błony chitozanowe charakteryzują się stosunkowo dużą wytrzymałością mechaniczną. Zależy ona od rodzaju użytego koagulantu i stężenia polimeru. Najwyższe wartości uzyskano dla membran koagulowanych w gazowym amoniaku i standardowym wodorotlenku sodu. Znaczący wzrost wytrzymałości obserwuje się wraz ze wzrostem zawartości polimeru w roztworze wyjściowym. Siła zrywająca wzrasta z około 0.2 N/mm² dla membran wytworzonych z 6% roztworów do 2 N/mm² dla membran wytworzonych z 12% roztworów octanu chitozanu koagulowanych do NaOH. Błony koagulowane gazowym amoniakiem wykazują największą plastyczność.

Obecność w strukturze hydroeli wody charakteryzowano na podstawie krzywych DSC. Z ich przebiegu wnioskować można zarówno o całkowitej ilości wody zawartej w strukturze, jak i o jej charakterze. Błony koagulowane roztworem NaOH zawierają w swej strukturze największą ilość wody. Analiz widm membran wytwarzanych z poszczególnych soli przedstawiono w TABELI 1. Etanol jest zbyt słabym rodnikiem koagulującym i wymaga niewielkiego dodatku roztworu NaOH. Otrzymane tym sposobem błony są wytrzymałe mechanicznie, ale zawierają bardzo niewielką ilość wody. Heksametrafosforan nie nadaje się jako rodnik do koagulacji, ma silne właściwości odwadniające i ściągające. Trifosforan ma słabsze działanie odwadniające, a błony otrzymane przy jego użyciu charakteryzują się dużą elastycznością i wytrzymałością mechaniczną, a zawartość wody jest mała, ale większą niż w przypadku błon koagulowanych mieszanin etanolu i NaOH.

Reasumując, do produkcji materiałów opatrunkowych nadają się błony otrzymywane z roztworów octanu, chlorku, mleczanu i mrówczanu chitozanu, zawierających powyżej 6% polimeru, koagulowanych roztworem NaOH lub gazowym amoniakiem.

tively high mechanical strength. It depends on the applied type of coagulant and polymer concentration. The highest values were obtained for the membranes coagulated in gaseous ammonia and standard sodium hydroxide. This means an increase of strength observed with an increase of polymer content in the initial solution. The tensile strength increased from about 0.2 N/mm² for membranes formed from 6% solutions to 2 N/mm² for membranes formed from 12% chitosan acetate solutions coagulated to NaOH. The membranes coagulated with gaseous ammonia are characterised by the highest elasticity.

Water present in the hydrogel structure is characterised on the basis of DSC curves. Conclusions can be drawn both on the total water contained in the structure and on its character. The membranes coagulated with NaOH solution contain the biggest amount of water. Spectral analysis of the membranes formed from particular salts are given in TABLE 1. Ethanol is a too weak coagulant and requires a small addition of the NaOH solution. Membranes obtained in this way have mechanical strength but they contain a very small amount of water. Hexametaphosphate is not suitable for coagulation, it has strong dewatering and contracting properties. Triphosphate reveals a weaker dewatering action and membranes obtained from it are characterised by high elasticity and mechanical strength; their water content is small, however bigger than in the case of membranes coagulated with the mixture of ethanol and NaOH.

In conclusion it can be stated that membranes formed from the solutions of chitosan acetate, chloride, formate and lactate, containing above 6% polymer, coagulated with NaOH solution or gaseous ammonia are suitable for the production of dressing materials.

Pi miennictwo

[1] Koide S.S., Chitin-chitosan: Properties, Benefits and Risks, Nutrition Research V. 18, 6, 1091-1101, Majeti N.V. Ravi Kumar, and review of chitin and chitosan applications, Reactive & Functional Polymers, 2000, 46, 1-27.

[2] Mi F., Shyu S., Wu Y., Lee S., Shyong J., Huang R., Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosan membrane as wound dressing, Biomaterials, 2001, 22, 165.

References

[3] Okamoto Y., Watanabe M. Miyatake K., Morimoto M. Shigemasa Y. Minami S., Effects of chitin/chitosan and their oligomers/monomers on migrations of fibroblasts and vascular endothelium, Biomaterials, 2002, 23, 1975-1979.

BADANIE PROCESU DEGRADACJI KOMPOZYTÓW Z POLIMERÓW RESORBOWALNYCH W WARUNKACH IN VITRO

JAN CHŁOPEK*, ANNA MORAWSKA*, LUDWIKA UMASKA*, CZESŁAWA PALUSZKIEWICZ**

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI

*KATEDRA BIOMATERIAŁÓW

**KATEDRA CHEMII KRZEMIANÓW I ZWIĄZKÓW WIELKOCZĄSTECZKOWYCH

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 132-136]

Wstęp

Polimerowe materiały resorbowalne cieszą się w medycynie dużym zainteresowaniem ze względu na ich biogodność i możliwość stopniowego zastępowania implantu tkanek kostnych. Jednak prawidłowe funkcjonowanie takiego implantu wymaga ścisłej kontroli procesu degradacji, jego kinetyki oraz uwalniania produktów rozkładu. Proces ten może ulegać zmianie w zależności od wprowadzanych dodatków modyfikujących [1, 2].

Ze względu na złożone uwarunkowania dotyczące zarówno właściwości mechanicznych jak i biologicznych, najlepszym rozwiązaniem wydaje się być zastosowanie materiałów kompozytowych. Zmieniając rodzaj fazy wzmacniającej oraz modelując jej rozkład i udział w kompozycji można uzyskać szeroki zakres właściwości mechanicznych i biologicznych [3, 4]. Przy zastosowaniu jako osnowy polimerów resorbowalnych istotne jest określenie relacji pomiędzy czasem jego resorpcji a czasem potrzebnym do regeneracji leczonej tkanki. Faza wzmacniająca oprócz podwyższenia wytrzymałości kompozytu w początkowym etapie implantacji, może pełnić rolę rusztowania dla nowotworzonej tkanki kostnej lub też stymulować jej wzrost. Taki materiał może być również nośnikiem leków [5]. W ten sposób możliwe jest otrzymanie kompozytowych materiałów wielofunkcyjnych [6, 7].

W pracy badano w warunkach in vitro zależność szybkości procesu degradacji materiałów: PGLA, PGLA + CF i PGLA + HAP od rodzaju wzmocnienia oraz od rodzaju środowiska. Po różnych czasach inkubacji próbek wykonano pomiary masy, analizy mikroskopowe powierzchni (SEM), badania składu fazowego (FTIR) oraz pH roztworów.

Materiały i metody

Badania przeprowadzono na próbkach w kształcie wałków, wykonanych z kompozytów o osnowie z kopolimeru laktydu z glikolidem (PGLA): 84% laktydu i 16% glikolidu, wyprodukowany w Centrum Chemii Polimerów PAN w Zabrzu, $M_n=85000$ Da, $M_w/M_n=2,1$. Jako fazy wzmacniającej użyto 15% wag. włókien w głowach (CF): FT 300B Torayka, $d=1,76$ g/cm³, $\sigma_s=3,2$ GPa, $E=235$ GPa oraz 15% wag. cz. stek hydroksyapatytu pochodzenia naturalnego

THE "IN VITRO" STUDY OF DEGRADATION PROCESS IN COMPOSITES MADE OF RESORBABLE POLYMERS

JAN CHŁOPEK*, ANNA MORAWSKA*, LUDWIKA UMASKA*, CZESŁAWA PALUSZKIEWICZ**

AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW, POLAND

FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS

*DEPARTMENT OF BIOMATERIALS

**DEPARTMENT OF SILICATE CHEMISTRY AND MACROMOLECULAR COMPOUNDS

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 132-136]

Introduction

Polymer resorbable materials enjoy considerable interest in medicine due to their bio-compatibility as well as possibility of implant replacement by the bone tissue. However, the appropriate functioning of such implant requires strict control of degradation process, its kinetics as well as release of degradation products. This process may vary depending on the introduced modifying additives [1, 2].

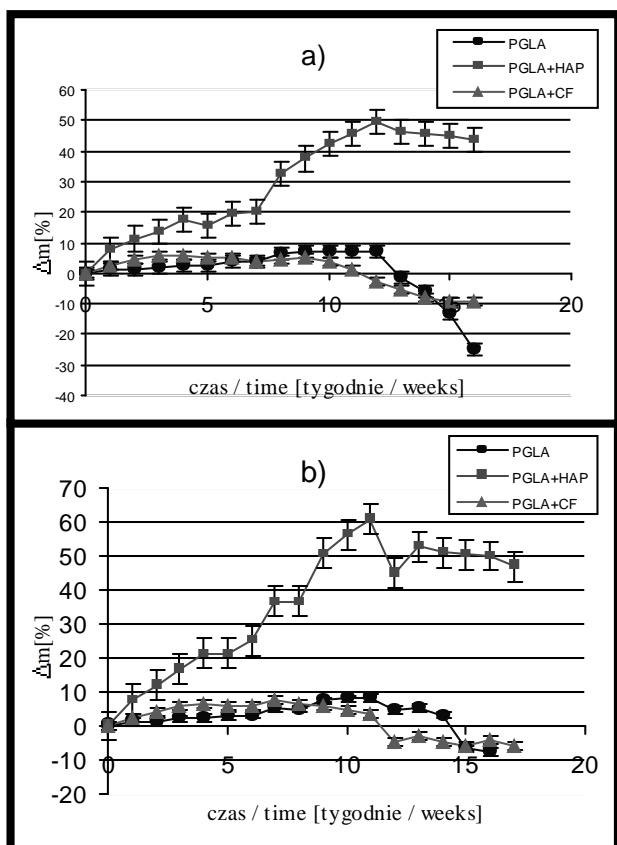
Considering complex implications relative to both mechanical and biological properties, the best solution seems to be the use of composite materials. Varying the type of reinforcing phase and designing its spatial distribution and content, broad range of mechanical and biological properties can be obtained [3, 4]. Using polymer resorbable matrices, it is important to define the relationship between the time of its resorption and the recovery time required for the cured tissue. Besides the function of increasing the composite's strength within the first stage of implantation, the reinforcing phase may fulfil the function of the scaffold for newly formed bone tissue, as well as stimulate its growth. Such material may serve also as medication carrier [5]. This way it is possible to obtain the multifunctional composite materials [6, 7].

In this work the relationships between the velocity of degradation, the type of reinforcement and the environment have been studied for the following materials: PGLA, PGLA+CF and PGLA+HAP.

After application of different incubation times, the samples were tested for mass and pH of solutions, also the microscopic surface analyses and phase analyses (FTIR) were performed.

Materials and methods

The tests were carried out on cylinder-shaped samples made of composites with 84% lactide/16% glycol co-polymer (PGLA), made by the Centre for Polymer Chemistry in Zabrze (Poland), with $M_n=85000$ Da, $M_w/M_n=2,1$. The reinforcing phase was made of 15 w/o of carbon fibres (CB): 300B Toraya, $d=1,76$ g/cm³, $\sigma_s=3,2$ GPa, $E=235$ GPa, and 15w/o of natural origin (beef bone) hydroxyapatite (HAP) $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, $d=3.16$ g/cm³, specific surface $S_w=79,7$ m²/g [8]. The experiments were also carried out on sam-



RYS. 1. Zmiana masy próbek PGLA, PGLA + HAP i PGLA + CF w funkcji czasu inkubacji a) w SBF, b) w płynie Ringera.

FIG. 1. The variation of mass of the samples PGLA, PGLA + HAP and PGLA + CF as a function of time of incubation a) in SBF, b) in Ringer fluid.

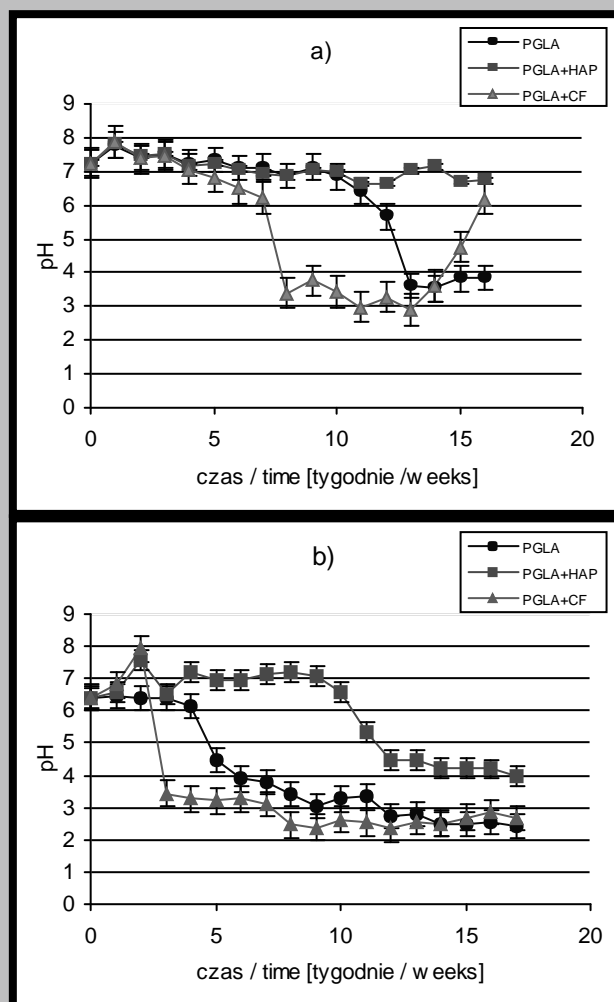
(ko wołowa) (HAP): $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, $d=3.16 \text{ g/cm}^3$, powierzchnia właściwa $S_w = 79,7 \text{ m}^2/\text{g}$ [8]. Badania przeprowadzono równie dla próbek z czystego PGLA. Walce wykonano metod wtrysku w temperaturze 340°C .

Do symulacji środowiska biologicznego u ytu płynu Ringera produkcji Baxter Terpol Sp. z o.o. o składzie $[\text{g/cm}^3]$: NaCl - 8.60, KCl - 0.30, CaCl - 0.48. Równolegle materiał inkubowano w płynie SBF (sztuczne osocze) o składzie jonowym $[\text{mmol/l}]$: Na^+ - 142.0, K^+ - 5.0, Ca^{2+} - 2.5, Mg^{2+} - 1.5, Cl^- - 148.8, HCO_3^- - 4.2, HPO_4^{2-} - 1.0, SO_4^{2-} - 0.5. Próbkę inkubowano w temperaturze 37°C przez okres 16 tygodni. Co tydzie przed zmian płynów wykonywano pomiary masy próbek oraz pH roztworów przy u yciu pH-metru CP-315 ELEMETRON.

Po 6 i 12 tygodniu przeprowadzono badania mikrostruktury przy pomocy mikroskopu scanningowego (SEM) Jeol JSM-5400 oraz badania składu fazowego metod spektroskopii w podczerwieni (FTIR) technik transmisyjn na spektrometrze fourierowskim firmy BIO-RAD FTS-60V.

Wyniki

RYSUNKI 1a i 1b przedstawiaj zmian masy próbek inkubowanych w płynie Ringera i w płynie SBF w funkcji czasu. Dla kompozytów PGLA+HAP masa próbek wzrasta w obu roztworach, co jest prawdopodobnie spowodowane podwyższoną adsorpcją płynów przez czstki HAP. Masa próbek PGLA+CF spada po 9 tygodniu inkubacji zarówno w płynie Ringera jak i SBF, co świadczy o rozpoczęciu degradacji polimeru. Dla PGLA w obu przypadkach obserwujemy spadek masy po 12 tygodniu. Między 14 a 15 tygo-



RYS. 2. Zmiany pH płynów a) SBF, b) Ringera, w funkcji czasu inkubacji próbek PGLA, PGLA + HAP i PGLA + CF.

FIG. 2. Variations of fluid pH: SBF, b) Ringer, as a function of time of incubation of samples PGLA, PGLA+HAP and PGLA+CF.

ples made of pure PGLA. The cylinders were made by injection molding at 340°C .

The Ringer Fluid made by Baxter Terpol Sp. z o.o. (of composition $[\text{g/cm}^3]$: NaCl - 8.60, KCl - 0.30, CaCl - 0.48 simulated the biological environment. The material was simultaneously incubated in the SBF fluid (artificial serum), with the following ionic composition $[\text{mmol/l}]$: Na^+ - 142.0, K^+ - 5.0, Ca^{2+} - 2.5, Mg^{2+} - 1.5, Cl^- - 148.8, HCO_3^- - 4.2, HPO_4^{2-} - 1.0, SO_4^{2-} - 0.5. Samples were incubated at the temperature 37°C during 16 weeks.

The pH of solutions and the mass measurements were performed on a weekly basis using the pH-meter CP-315 ELEMETRON.

After the sixth and 12th week the microstructure was examined using scanning microscope (SEM) Jeol JSM-5400, and the phase composition was examined by transmission infrared spectroscopy (FTIR) using the Fourier Spectrometer BIO-RAD FTS-60V.

Results and discussion

FIGURES 1a and 1b show the variation of mass of samples immersed in Ringer and SBF fluids as a function of time. For PGLA + HAP composites the mass of samples

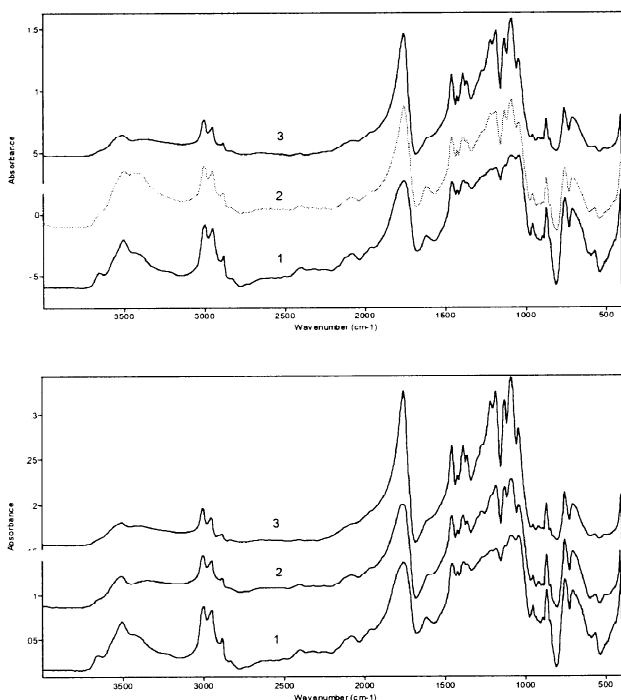
dniem spadek masy dla próbek PGLA i PGLA + CF wynosi ok. 8% w stosunku do masy wyj. ciowej, a w 16 tygodniu ubytek masy walców PGLA inkubowanych w płynie SBF wynosi ju ponad 20%.

We wszystkich próbkach poddanych inkubacji obserwuje si w pocz tkowym etapie adsorpcj płynu i p cznienie próbek, co objawia si widocznym wzrostem masy.

Zmiany pH płynów fizjologicznych przedstawiaj RYSUNKI 2a i 2b. PGLA inkubowany w SBF (RYS. 2a) zaczyna ulega degradacji po 10 tygodniu, o czym wiadczy spadek pH. Obecno włókien w glowych przyspiesza degradacj , (5 tydzie inkubacji), co mo e by spowodowane lepszą penetracj płynu w polimerze po granicy faz włókno-osnowa. Po 13 tygodniu widoczny jest wzrost pH zwi zany prawdopodobnie z odstawianiem powierzchni włókien w glowych zawieraj cych grupy funkcyjne o charakterze zasadowym lub osadzaniem a nast pnie rozpuszczaniem HAP na powierzchni włókien. W przypadku kompozytów PGLA + HAP nie zachodz znacz ce zmiany pH płynu SBF. Mo e by to zwi zane z równoczesnym zachodzeniem procesu degradacji oraz wytr cania i rozpuszczania HAP.

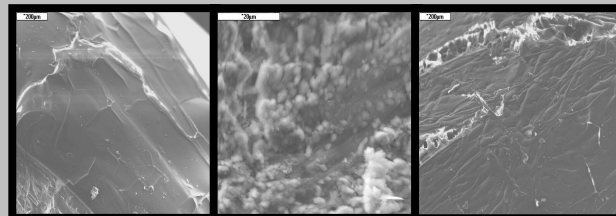
Pocz tek degradacji PGLA inkubowanego w płynie Ringera rozpoczyna si ju w 4 tygodniu (RYS.2b). Dla kompozytu PGLA+CF degradacja przebiega gwałtownie mi dzy 2 a 3 tygodniem, natomiast dla PGLA+HAP zmiana pH widoczna jest dopiero po 10 tygodniu inkubacji.

Morfologi powierzchni próbek PGLA, PGLA+HAP i PGLA+CF po 12 tygodniach inkubacji przedstawiaj RYSUNKI 3a, b, c. Na zdj ciu powierzchni PGLA+HAP (RYS. 3b) widoczne s nario la kryształów HAP na podło u kompozytowym, co potwierdza e materiał ten po spełnieniu swojej funkcji mechanicznej, po procesie resorpcji osnowy mo e stanowi podło e dla wzrostu tkanki kostnej. Brak wy-



RYS. 4. Widmo FTIR dla próbek PGLA inkubowanych a) w płynie Ringera b) w SBF, 1-PGLA, 2-PGLA po 6 tygodniach, 3- PGLA po 12 tygodniach.

FIG. 4. The FTIR spectra for samples PGLA incubated in a) Ringer fluid b) in SBF: 1-PGLA; 2-PGLA after 6 weeks; 3- PGLA after 12 weeks.



RYS. 3. Obrazy SEM powierzchni próbek po 12 tygodniach inkubacji w SBF: a) PGLA, b) PGLA+HAP, c) PGLA+CF.

FIG. 3. The SEM images of sample surfaces after 12 weeks of incubation in SBF: a) PGLA, b) PGLA+HAP, c) PGLA+CF.

increases in both solutions, which is probably due increased adsorption of liquids by the HAP particles. The mass of PGLA+CF samples decreases during week 9 of incubation in both, Ringer and SBF fluids, which indicates the commencement of polymer degradation. For PGLA in both cases the mass decrease can be observed after week 12 of incubation. The loss of mass for PGLA and PGLA+CF samples between weeks 14 and 15 amounts to 8% of initial mass, and the loss of mass of PGLA cylinders during week 16 of incubation in SBF fluid exceeds 20%.

In the case of all samples under incubation the adsorption of liquid and swelling of samples can be observed, which is indicated by a visible mass increase.

The pH changes of physiological fluids are shown on FIGURES 2a and 2b. The PGLA incubated in SBF (FIG. 2a) begins to undergo the degradation after the 10th week, what is confirmed by the decrease of fluid's pH value. The presence of carbon fibres accelerates the degradation process (week 5 of incubation), what may be caused by easier penetration of the fluid within fibre-matrix interface. After the week 13 the pH increase is visible, and this may be due to exposing of carbon fibre surfaces which contain functional groups of basic character. Another cause may be deposition and then dissolution of HAP on fibres surfaces. There are no significant pH changes of SBF fluid in the case of composites PGLA+HAP. This may be due to simultaneous occurrence of the processes of degradation and precipitation and dissolution of HAP.

The degradation of PGLA incubated in Ringer fluid begins already in week 4 (FIG. 2b). For PGLA+CF composite the degradation occurs intensively between the 2nd and 3rd week, while for PGLA+HAP the pH variation becomes visible only after the 10th week of incubation.

The surface morphologies of samples PGLA, PGLA+HAP and PGLA+CF after 12 weeks of incubation are seen in FIGURES 3a, b, c. The picture of PGLA+HAP (FIG.3b) shows the excrescence of HAP crystals on composite base, what confirms that this material, after fulfilling its mechanical function, and after resorption process of the matrix may become a good substrate for ingrowth of bone tissue. The lack of HAP releases on the surface of PGLA and PGLA+CF samples (FIG. 3a,c) confirms the lack of bioactive action of these substrates.

FIGURES 4,5 and 6 show spectral results obtained by infrared spectroscopy. The analysis of infrared spectra obtained for samples PGLA+HAP (FIG. 5) indicates the changes in intensity of bands within the range 2800-3000 cm^{-1} , corresponding to tensile oscillations of CH_3 and CH_2 as well as changes of bands 1050-1300 cm^{-1} corresponding to oscillations C-O. The decreasing intensity of bands related to oscillations CH_3 and CH_2 confirms polymer degradation, whereas increase of intensity of bands originating

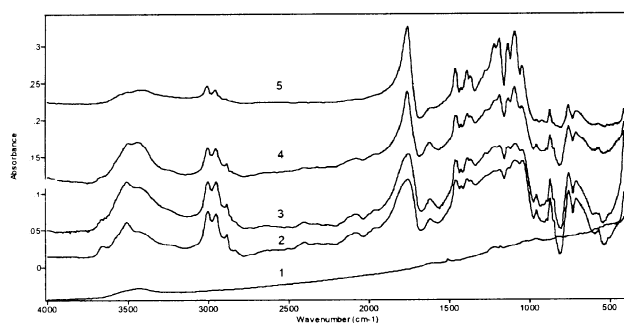
dziele HAP na powierzchni próbek PGLA oraz PGLA+CF (RYS.3a,c) wiadczy o braku bioaktywnego działania tych podło y.

RYSUNKI 4, 5, 6 przedstawiaj widma uzyskane metodą spektroskopii w podczerwieni. Analiza widm w podczerwieni uzyskana dla próbek PGLA+HAP (RYS. 5) wskazuje zmiany intensywności pasm w zakresie 2800-3000 cm^{-1} odpowiadaj cych drganiom rozci gaj cym CH_3 i CH_2 jak i pasm 1050-1300 cm^{-1} odpowiadaj cych drganiom C-O. Zmniejszaj ca si intensywno ci pasm zwi zanych z drganiami CH_3 i CH_2 wiadczy o degradacji polimeru, natomiast wzrost intensywno ci pasm pochodz cych od drga C-O sugeruje podwy szenie stopnia krystaliczno ci materiału. W rodowisku płynu SBF proces degradacji przebiega wolniej, co przedstawia utrzymuj ce si pasmo z max. w ok. 3470 cm^{-1} odpowiadaj ce drganiom O=H oraz mniejsze ró nice w intensywno ci pasm zwi zanych z grupami CH_3 i CH_2 . Podobne zmiany pasm s widoczne dla próbek PGLA i PGLA+CF (RYS. 4 i 6) co wiadczy o analogicznych procesach.

Wnioski

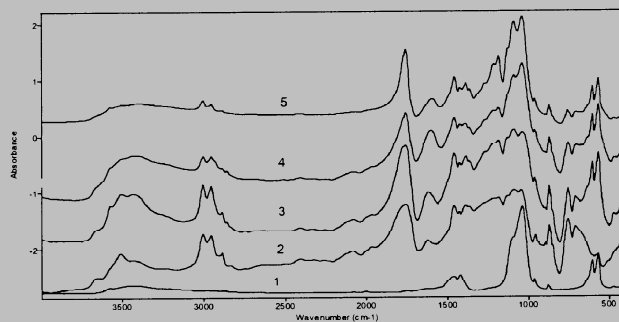
Płyn Ringera przyspiesza proces degradacji badanych materiałów, co wiadczy o wi kszej aktywno ci tego rodowiska w stosunku do SBF. Mo e to by wynikiem mniejszej lepko ci płynu Ringera i ułatwionej penetracji w struktur polimeru i po granicach faz.

Dodatek włókien w głowych przyspiesza proces degradacji polimeru. Dla PGLA+HAP widoczna jest równowagatrzech procesów: resorpcji polimeru oraz wytr cania i rozpuszczania HAP. Wytr caniu hydroksyapatytu sprzyja bioaktywne



RYS. 6. Widmo FTIR dla próbek PGLA+CF inkubowanych a) w płynie Ringera b) w SBF, 1-włókno w glowe, 2-PGLA, 3-PGLA+CF, 4-PGLA+CF po 6 tygodniach, 5-PGLA+CF po 12 tygodniach.

FIG. 6 . The FTIR spectra for samples PGLA+CF incubated in a) Ringer fluid b) SBF: 1-carbon fibre; 2-PGLA; 3-PGLA+CF; 4-PGLA+CF after 6 weeks; 5-PGLA+CF after 12 weeks.



RYS. 5. Widmo FTIR dla próbek PGLA+HAP inkubowanych a) w płynie Ringera b) w SBF, 1-proszek HAP, 2-PGLA, 3-PGLA+HAP, 4-PGLA+HAP po 6 tygodniach, 5- PGLA+HAP po 12 tygodniach.

FIG. 5. The FTIR spectra for samples PGLA+HAP incubated a) in Ringer fluid b) in SBF: 1- powder HAP; 2 - PGLA; 3 - PGLA+HAP; 4 - PGLA+HAP after 6 weeks; 5 - PGLA+HAP after 12 weeks.

in C-O oscillations suggests the increase of degree of crystallinity of the material. In SBF fluid environment the degradation process occurs with slower rate, what is illustrated by the band with max. around 3470 cm^{-1} corresponding to oscillations O=H, and smaller differences of intensity of bands related to groups CH_3 and CH_2 . Similarly, changes of bands can be observed for samples PGLA and PGLA+CF (FIGS. 4 and 6), which confirms the occurrence of similar processes.

Conclusions

The Ringer fluid accelerates the process of degradation of the examined materials, which confirms stronger activity of this environment as compared to SBF. This may be also due to lower viscosity of Ringer fluid facilitating penetration into polymer's structure and interphases.

Addition of carbon fibres accelerates the polymer degradation process. For PGLA+HAP the equilibrium of three processes can be noted: polymer resorption and HAP precipitation and dissolution. The presence of bioactive substrate and the Ca^{2+} i PO_4^{3-} ions in SBF are both conducive to HAP precipitation.

The results obtained in this work show the complex nature of the process of degradation of composites based on resorbable polymers. However, the factors indicated here and affecting the process may constitute the basis for elaboration of multifunctional implants, capable of carrying high

podłoże oraz obecność w SBF jonów Ca^{2+} i PO_4^{3-} . Uzyskane wyniki obrazują złożony charakter procesu degradacji kompozytów na bazie polimerów resorbowalnych. Jednak przedstawione w pracy czynniki wpływające na ten proces mogą stworzyć bazę dla opracowania wielofunkcyjnych implantów, zdolnych do przenoszenia podwyższonych naprężeń i do stymulacji wzrostu tkanki kostnej po resorpcji polimeru.

loads and at the same time capable of stimulation of bone tissue growth after the polymer resorption.

Pi miennictwo

- [1] R.K. Kulkarin, S.G. Moore, A.F. Higyeli, F. Leonard: Biodegradable Poly(lactic amid) Polymers, *J. Biomed. Mater. Res.* 5, (1971).
 [2] J. Chłopek, E. Pamuła, M. Błażewicz, K. Makinen: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktyd dla celów medycznych, *Inżynieria Biomateriałów*, rok 3 nr 12 (2000).
 [3] J. Chłopek: Kompozyty w medycynie, *Kompozyty* 1 (2001).
 [4] J. Chłopek, M. Błażewicz, B. Szaraniec: Kompozyty bioaktywne, *Acta of Bioengineering and Biomechanics*, vol. 3, sup.1 (2001).
 [5] Z. Jedliński, M. Juzwa: Kontrolowane uwalnianie leków. Nowa strategia w chemioterapii, *Inżynieria Biomateriałów*, rok V, nr 22

(2002).

- [6] W. Bonfield, M.D. Grynblas, A.E. Tully, J. Bowman, J. Abram: Hydroxyapatite reinforced polyethylene a mechanically compatible implant material for bone replacement, *Biomaterials* 2, (1981).
 [7] L. Lu, S. Peter, M. Lyman: In vitro and in vivo degradation of porous poly(DL-lactic-co-glycolic acid) foams, *Biomaterials* 21, (2000).
 [8] K. Haberko, M. Buko, M. Haberko, W. Mozgawa, A. Pyda, J. Zarbski: Hydroksyapatyt naturalny-preparatyka, właściwości, *Inżynieria Biomateriałów*, rok VI, nr 30-33 (2003).

References

PRZEMIESZCZENIA ODŁAMÓW KOSTNYCH JAKO CZYNNIK DETERMINUJĄCY ROZWÓJ REGENERATU KOSTNEGO

J. FILIPIAK, K. CIGAŁA

POLITECHNIKA WROCŁAWSKA,
UL ŁUKASIEWICZA 7/9, 50-371 WROCŁAW

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 136-138]

Wprowadzenie

Istotą leczenia złamań kości długich jest proces powstawania i różnicowania się tkanek w miejscu, gdzie kość utraciła ciągłość fizyczną. W przypadku stabilizacji odłamów kostnych za pomocą zewnętrznych stabilizatorów istotny wpływ na przebieg procesu leczenia mają właściwości mechaniczne samego stabilizatora. Właściwości mechaniczne konstrukcji stabilizatora determinują zakres przemieszczeń odłamów leczonej kości i wynikają one z kształtu odkształcenia regeneratu kostnego. Jest to swego rodzaju sygnał mechaniczny odbierany przez komórki tkanek, który jest zamieniany na odpowiedni sygnał chemiczny uruchamiający procesy różnicowania się tkanek.

Cel pracy

Celem prezentowanej pracy jest określenie rozkładu odkształceń i ciśnienia hydrostatycznego w regeneracie kostnym powstającym między odłamami wydołanej kości w funkcji przemieszczeń odłamów kostnych.

DISPLACEMENT OF BONE FRAGMENTS AS A FACTOR DETERMINING BONE REGENERATE FORMATION

J. FILIPIAK, K. CIGAŁA

POLITECHNIKA WROCŁAWSKA,
UL ŁUKASIEWICZA 7/9, 50-371 WROCŁAW

[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 136-138]

Introduction

The healing of a long bone fracture involves formation and differentiation of tissues in the area where there has been a break in bone continuity. If fragments of a broken bone are stabilised by means of external fixators, the healing process significantly depends on the mechanical properties of the fixator itself. The mechanical properties of the fixator construction determine the extent of displacement of the fragments of the treated bone and the resultant bone regenerate deformity. It is a kind of mechanical signal received by the tissue cells, which is changed into an appropriate chemical signal triggering processes of tissue differentiation.

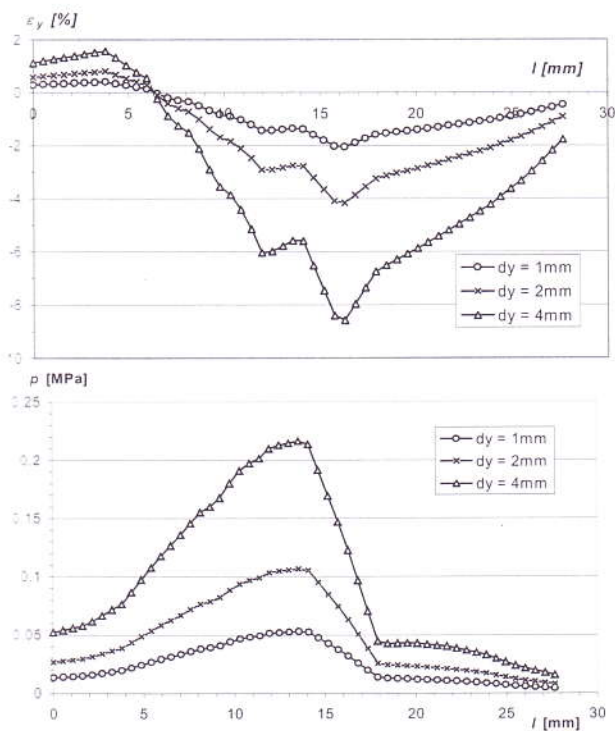
Purpose of study

The study presented in this paper aimed to assess the distribution of strain and the hydrostatic pressure inside the regenerate formed between fragments of the elongated bone in relation to displacements of bone fragments. On the basis of histological examination of sheep and numerical simulations, Claes and Heigele (1998) proposed a

Claes i Heigele (1998) na podstawie badań histologicznych prowadzonych na owcach i symulacji numerycznych zaproponowali model odtwarzania się struktur tkankowych w szczelinie złamania kości. W swoim modelu proces różnicowania tkanek w przestrzeni międzyodłamowej uzależnili od wartości odkształceń oraz ciśnienia hydrostatycznego w strukturach tkankowych. Claes i Heigele swój model zastosowali do symulacji procesów zachodzących między odłamami złamanej kości. W prezentowanej pracy ten sam model wykorzystaliśmy do analizy wpływu przemieszczeń odłamów kostnych na stan przebiegu procesu odtwarzania się struktury kostnej w regeneracie wydłużonej kości.

Metoda badań

Badania prowadzono na drodze symulacji MES. W tym celu zbudowano uproszczony model zespolenia odłamów kostnych (RYS. 1a). Odległość między odłamami kostnymi ustalono na 4 cm, co odpowiada wydłużeniu kości o taką wartość. Dla części modelującej odłamy kostne przyjęto materiał o charakterystyce liniowo sprężystej (Będziński i in., 1999), dla którego $E=1,8 \times 10^4 \text{ MPa}$, a $\nu=0,3$. W niniejszej pracy przeprowadzono symulacje oddziaływania przemieszczeń odłamów wydłużonej kości na etapie stabilizacji, czyli po zakończeniu procesu wydłużania. Przyjęto, że w tym momencie regenerat kostny zbudowany jest głównie z tkanki łącznej włóknistej (Kuryszko i in., 2000). W modelu numerycznym tkankę łączną włóknistą zamodelowano jako materiał o charakterystyce nieliniowej. W tym przypadku zastosowano dwuparametryczny model Mooneya-Rivlina, dla którego $E=3 \text{ MPa}$, $\nu=0,49$, a stałe $C_1=0,293$, $C_2=0,177$



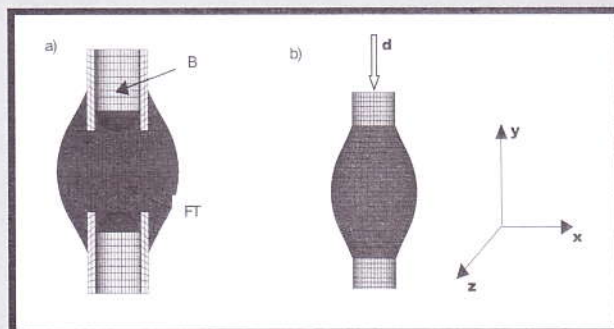
RYS. 2. Wartości odkształceń ε_y i ciśnienia p wyznaczone dla przypadku osiowego przemieszczenia odłamu o $d_y = 4 \text{ mm}$, 2 mm , 1 mm ; na wykresach punkt $l = 0 \text{ mm}$ znajduje się na osi symetrii modelu.

FIG. 2. Strain ε_y and pressure p values calculated for the case of bone fragment axial displacement: $d_y = 4 \text{ mm}$, 2 mm and 1 mm ; the point $l = 0 \text{ mm}$ agree with model symmetrical axis.

model of tissue regeneration in the bone fracture line. In their model the process of tissue differentiation in the intra-fragment area depended on the strain values and the hydrostatic pressure in tissue structures. Claes and Heigele applied their model to simulations of the processes taking place between fractured bone fragments. In the present work we have used the same model to analyse the effect of the displacement of bone fragments on the process of osteogenesis in the elongated bone regenerate.

Methodology

The research was based on simulation using the FEM. For this purpose the authors developed a simplified model of osteosynthesis of bone fragments (FIG. 1a). Distance between bone fragments was determined at 4 cm, corresponding to bone elongation by the same value. For the part modelling bone fragments (B), the authors chose a material with linearly elastic characteristics (Będziński et al., 1999), where $E = 1.8 \times 10^4 \text{ MPa}$, and $\nu=0.3$. Our research involved simulation of the effect of displacement of the elongated bone fragments during the process of stabilization, i.e. following the process of elongation. The authors assumed that at that time the bone regenerate is built mostly of fibrous tissue (Kuryszko et al., 2000). In the numerical model, fibrous tissue (FT) was modelled as a



RYS. 1. Badany model odłamy kostne - regenerat: a) podział na objętości odpowiadające poszczególnym tkankom, b) schemat obciążenia modelu; B-odłamy kostne, FT-tkanka łączna włóknista.

FIG. 1. Structure (a) and boundary conditions of the model (b); B-bone fragment, FT-fibrous tissue.

material with non-linear characteristics.

In this case the authors used a two-parameter Mooney-Rivlin model, where $E=3 \text{ MPa}$, $\nu=0.49$, and constant $C_1=0.293$, $C_2=0.177$ (Claes et al., 1998). The above mentioned materials were modelled as isotropic.

This model was subjected to loads simulating the state of axial displacement d of bone fragments in the direction y (FIG. 1b). The computations involved three different values of such displacement d_y , i.e. 4 mm, 2 mm, and 1 mm.

Results

Where bone fragments are displacement exclusively along the long bone axis, strain ε_y change symmetrically in relation to such axis. Irrespective of the displacement value of bone fragments, the biggest deformity values ε_y are present in the areas under bone fragments (FIG. 2). In the external areas of the regenerate and under the marrow cavity

dla którego $E=3\text{MPa}$, $\nu=0,49$, a stałe $C_1=0,293$, $C_2=0,177$ (Claes i in., 1998). Wymienione materiały zostały zamodelowane jako izotropowe.

Model poddano obciążeniom symulującym stan osiowego przemieszczenia odłamów w kierunku y (RYS.1b). Obliczenia przeprowadzono dla trzech wartości tego przemieszczenia d_y , tj. 4 mm, 2 mm i 1 mm.

Wyniki

W przypadku, gdy odłamy kostne przemieszczają się wzdłuż osi długiej kości, odkształcenia ϵ_y zmieniają się symetrycznie względem tej osi. Niezależnie od wartości przemieszczenia odłamów kostnych największe wartości odkształceń występują w strefach znajdujących się pod ciąnkami trzonu kości (RYS.2). W zewnętrznych strefach regeneratu oraz pod jamą szpikową wartości tych odkształceń maleją. W strefie zewnętrznej trznej regeneratu osi gąj średnio 43%, natomiast w strefie pod jamą szpikową średnio 18% wartości maksymalnej.

Osiowe przemieszczenie odłamów kostnych o $d_y=4$ mm generuje w regeneracie, w strefie pod ciąnkami trzonu kości, odkształcenia ϵ_y o wartości 8,4%. Mniejszy zakres przemieszczeń odłamów wywołuje mniejsze wartości odkształceń. I tak dla $d_y=2$ mm odkształcenia osi gąj wartości $\epsilon_y=4,2\%$, a dla $d_y=1$ mm wartości $\epsilon_y=2,1\%$. Podobny charakter zmian zaobserwowano w przypadku ciśnienia hydrostatycznego p . Najwyższe wartości p występują w strefie pod ciąnkami trzonu kości. W zależności od poziomu przemieszczeń odłamów kostnych wartości ciśnienia p wynoszą: dla $d_y=4$ mm $p=0,22$ MPa, dla $d_y=2$ mm $p=0,11$ MPa, dla $d_y=1$ mm $p=0,053$ MPa. W zewnętrznych strefach regeneratu oraz pod jamą szpikową wartości ciśnienia p są niższe. W strefie zewnętrznej trznej regeneratu osi gąj średnio 13%, natomiast w strefie pod jamą szpikową średnio 23% wartości maksymalnej.

Podsumowanie

Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że w początkowym okresie stabilizacji wytworzonego regeneratu kostnego najkorzystniejsze warunki biomechaniczne do tego, aby proces tworzenia nowej tkanki kostnej przebiegał na podłożu chrzęstnym występują w strefie bezpośrednio pod odłamami wydołanej kości. Należy podkreślić, że w miarę jak będzie postępował proces różnicowania się tkanek w regeneracie kostnym, to właśnie w tych rejonach będą pojawiały się nowe struktury kostne o innych właściwościach mechanicznych (Prendergast i in., 1997; Claes i in., 1998). Oznacza to, że rozkład pola odkształceń ciśnienia hydrostatycznego będzie, przy założeniu jednokowej stymulacji zewnętrznej w postaci przemieszczenia odłamów, zmieniał się w funkcji czasu.

Podziękowania

Praca zrealizowana w ramach Grantu KBN nr 5 T07A 03225.

row cavity the values of such strain diminish. In the external area of the regenerate they average 43% of the maximum value, and in the area under the marrow cavity they average 18% of the maximum value.

Axial displacement of bone fragments by $d_y=4$ mm generates in the regenerate, in the area under the bone fragments, strain ϵ_y amounting to 8.4%. Smaller displacement of bone fragments result in smaller deformities, namely for $d_y=2$ mm strain amount to $\epsilon_y=4.2\%$, and for $d_y=1$ mm strain amount to $\epsilon_y=2.1\%$. A similar pattern of change was observed in the case of hydrostatic pressure p . The highest values p are present in the areas under the bone fragments. Depending on the extent of displacement of bone fragments, the pressure values p are as follows: for $d_y=4$ mm $p=0.22$ MPa, for $d_y=2$ mm $p=0.11$ MPa, and for $d_y=1$ mm $p=0.053$ MPa. In the external areas of the regenerate and under the marrow cavity the pressure values p are lower. In the external area of the regenerate they average 13% of the maximum value, and in the area under the marrow cavity they average 23% of the maximum value.

Summary

On the basis of the obtained results we can conclude that in the initial period of stabilization of the generated bone regenerate the most favourable biochemical conditions for the process of osteogenesis on the cartilaginous base are present in the area directly under the elongated bone fragments. It must be stressed that in the course of differentiation of tissues in bone regenerate, the above areas will acquire new bone structures with different mechanical properties (Prendergast et al., 1997; Claes et al., 1998). Consequently, distribution of the deformity area and the hydrostatic pressure will change over time assuming uniform external stimulation by displacement of bone fragments.

Acknowledgements

The presented research funded with the grant from the State Committee for Scientific Research (KBN) No 5 T07A 03225.

Piśmiennictwo

References

- Bodzinski R., Filipiak J. (1999): Experimental analysis of external fixators for femoral bone elongation. Acta Bioeng. Biomech., Vol. 1, No 2, pp. 93-105
- Claes L.E., Heigele C.A. (1998): Magnitudes of local stress and strain along bony surfaces predict the course and type of fracture healing. J. Biomech., 32, pp. 255-266
- Ilizarov G.A.: Transosseus Osteosynthesis. Springer Verlag, 1992
- Kuryszko J., Kuropka P., J. drzejowska I. (2000): Distraction osteogenesis and fracture healing. Differences and similarities. Acta Bioeng. Biomech., Vol. 2, No. 2, pp. 83 - 88
- Prendergast P.J., Huiskes R., Soballe K. (1997): Biophysical stimuli on cells during tissue differentiation at implant interfaces. J. Biomech., Vol. 30, pp. 539-548

BIOZGODNO W WARUNKACH IN VITRO DYFUZYJNEJ WARSTWY TYPU Ti_3P WYTWORZO- NEJ NA STOPIE TYTANU

ZAJ CZKOWSKA A.*, SOWI SKA A.*, SIKORSKA E.**,
CUKROWSKA B.*, WIERZCHO T.***, CZARNOWSKA E.*

*ZAKŁAD PATOLOGII,
INSTYTUT - POMNIK CENTRUM ZDROWIA DZIECKA,
04- 730 WARSZAWA, AL. DZIECI POLSKICH 20

** WYDZIAŁ IN YNIERII MATERIAŁOWEJ,
POLITECHNIKA WARSZAWSKA,
02-507 WARSZAWA, WOŁOSKA 141,

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 139-141]

Wst p

D enie do optymalizacji wła ciwo ci stopów tytanu stosowanych na implanty kostne jest przyczyn poszukiwania nowych metod in ynierii powierzchni. Z naszych wst pnych bada wynika, e warstwa typu $Ti_3P+(Ti,Ni)$ wytworzona na stopach tytanu poprawia odporno materiału na zu ycie zachowuj c dobr odporno korozyjn stopu tytanu [1]. Badanie tego typu warstwy nie maj odniesienia w literaturze. Biomateriały kontaktuj ce si z komórkami i tkankami aktywuj procesy biologiczne, które s odpowiedzialne za biogodno implantu. Szczególnie wa ne dla oceny biogodno ci warstw powierzchniowych s badania pozwalaj ce oceni wpływ topografii i składu chemicznego powierzchni na wytworzenie białek adhezyjnych, adhezji i proliferacji komórek.

Celem bada była ocena wła ciwo ci biologicznych kompozytowej warstwy powierzchniowej typu $Ti_3P+(Ti,Ni)$ wytworzonej na stopie tytanu w aspekcie zastosowania jej na implanty kostne.

Materiały i metody

Przygotowanie próbek

Warstw typu $Ti_3P+(Ti,Ni)$ wytworzono na stopie tytanu Ti-6Al-4V poprzez autokatalityczne nanoszenie warstwy niklowo-fosforowej w roztworze zawieraj cym fosforan (I) sodu ($NaH_2PO_4 \cdot xH_2O$), chlorek niklu ($NiCl_2 \cdot x6H_2O$) oraz octan sodu ($CH_3COONa \cdot x2H_2O$) w temperaturze 95°C przez 1 godzin . Tak przygotowane próbki poddano nast pnie obróbce jarzeniowej w atmosferze argonu, w temperaturze 700°C przez 4 godziny. Próbki płukano etanolem i wod destylowan , a nast pnie sterylizowano plazmowo w aparacie Sterrad 100 w atmosferze H_2O_2 w temperaturze 54°C i ci nieniu 7 hPa przez 1 godzin .

Charakterystyka warstwy

Wytworzone warstwy były poddane badaniom: metalograficznym na mikroskopie Neophot 2, topografii powierzchni na mikroskopie skaningowym Hitachi S-3500N, chropowato ci powierzchni na profilometrze skanuj cym Form Talysurf Series 2 firmy Taylor Hobson, składu fazowego na dyfraktometrze rentgenowskim Philips PW 1830 stosuj c promieniowanie CoKa.

BIOCOMPATIBILITY OF DIFFUSION Ti_3P LAYER PRODUCED ON TITANIUM ALLOY SURFACE IN IN VITRO STUDY

139

ZAJ CZKOWSKA A.*, SOWI SKA A.*, SIKORSKA E.**,
CUKROWSKA B.*, WIERZCHO T.***, CZARNOWSKA E.*

*PATHOLOGY DEPT.,
THE CHILDREN'S MEMORIAL HEALTH INSTITUTE,
04- 730 WARSAW, AL. DZIECI POLSKICH 20,
**FACULTY OF MATERIALS SCIENCES AND ENGINEERING,
WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
02-507 WARSAW, WOŁOSKA 141

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 139-141]

Introduction

Looking for a new surface layer that improve titanium alloy properties for bone implants are still in progress. Composite layers $Ti_3P+(Ti,Ni)$ type produced on titanium alloys endow materials with new features. In our preliminary studies it was shown that this surface layer improves wear resistance simultaneously preserving high corrosion resistance of titanium alloy [1]. These surface layers have not been studied by other scientists, yet. Biomaterials activate different biological processes in the contact with cells and tissues, which are responsible for implant biocompatibility, therefore production of a new surface layer requires studies in this term. It is particularly important for biocompatibility to study the effect of surface topography and chemical composition on synthesis of adhesive proteins and cell behaviour. Our study was aimed to estimate the biological features of $Ti_3P+(Ti,Ni)$ surface layer produced on titanium alloy in term of application in bone surgery.

Materials and methods

Samples preparation

Specimens of the Ti-6Al-4V alloy were subjected to nickel electroless chemical deposition in a water solution containing $NiCl_2$, NaH_2PO_4 and CH_3COONa at temperature of 95°C for 1 hour, followed by thermal treatment under glow discharge conditions in an atmosphere of argon at temperature 700°C for 4 hours. Samples were cleaned with ethanol and sterilised in plasma - Sterrad 100 apparatus in an atmosphere of H_2O_2 at 54°C and 7 hPa for 1h.

Surface layer characteristics

The surface layers were examined as regards their:

- microstructure by etching of the metallographic microsection of the surface layers in a solution of chemical composition: $96 \text{ cm}^3 H_2O + 2 \text{ cm}^3 HNO_3 + 2 \text{ cm}^3 HF$, using a Neophot 2 microscope;
- phase composition using Philips PW 1830 x-ray diffractometer with CoKa radiaton source;
- surface topography in a Taylor Hobson scanning profilometer Form Talysurf Series 2, and scanning microscopy Hitachi S-3500N type.

Cell behaviour

Osteoblast-like human osteosarcoma cells Saos-2 (the

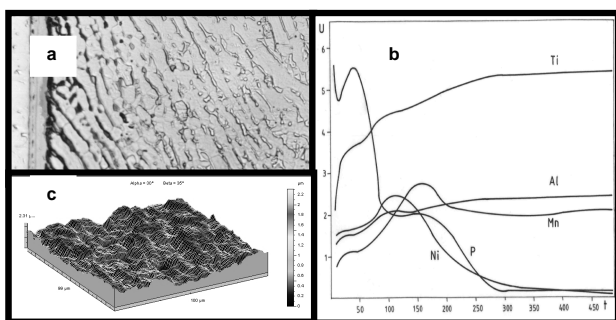
Aktywno biologiczna komórek

Osteoblasty (linia komórkowa Saos-2, American Type Culture Collection) hodowano przez 48 godzin na próbkach według opisanej metody [2]. Hodowl komórkow analizowano badaj c ywotno i apoptoz komórek, cykl komórkowy oraz produkcj fibronektyny i ekspresj receptora fibronektyny ($\alpha 5\beta 1$) za pomoc skaningowej cytometrii laserowej (LSC, CompuCyte, USA) i mikroskopu konfokalnego (Olympus, FV-500 System, Niemcy).

Wyniki

Charakterystyka powierzchni

Na stopie tytanu wytworzono kompozytowe warstwy powierzchniowe typu $Ti_3P+(Ti,Ni)$. Warstwa zewn trzna Ti_3P o grubo ci około 4 μm znacznie poprawiła odporno na zu ycie przez tarcie stopu tytanu oraz wyeliminowała zjawisko uwalniania składników stopu tytanu do rodowiska. Mikrostruktur i topografi oraz rozkład pierwiastków w warstwie kompozytywnej przedstawiono na RYS.1.

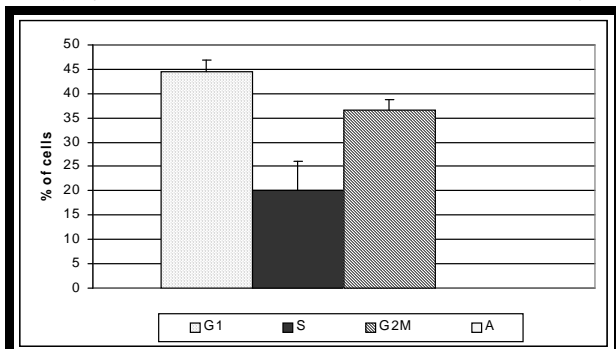


RYS. 1. Mikrostruktura (a), rozkład pierwiastków Ti, Al, Mn, Ni, i P (b) i topografia (c) warstwy powierzchniowej typu $Ti_3P+(Ti,Ni)$ na stopie tytanu Ti-6Al-4V.

FIG. 1. Microstructure (a), distribution of Ti, Al, Mn, Ni i P (b) and topography (c) of the $Ti_3P+(Ti,Ni)$ type surface layer produced on Ti-6Al-4V alloy.

Biozgodno

Osteoblasty hodowane na $Ti_3P+(Ti,Ni)$ analizowane w mikroskopie konfokalnym były równomiernie rozło one na całej powierzchni biomateriału. Najwi cej komórek w populacji było w fazie G1 (45%) oraz G2M (ponad 35%) cyklu



RYS. 2. Wzrost osteoblastów na warstwie Ti_3P wytworzonej na stopie tytanu Ti6Al4V analizowany w mikroskopie konfokalnym. G1,S,G2M-fazy cyklu komórkowego, A-apoptopza.

FIG. 2. Growth of osteoblast-like cells on samples with compositie Ti_3P surface layer analysed under confocal microscopy. G1,S,G2M-stages of cell growth, A-apoptosis.

American Type Culture Collection) were cultured for 48 hours on samples according to previously described methods [2]. Cell cultures were analysed in terms of cell viability, apoptosis, cell cycle, fibronectin production and expression of fibronectin receptor using laser scanning cytometry (LSC, CompuCyte, USA) and confocal microscopy (Olympus FV-500 System, Germany).

Results

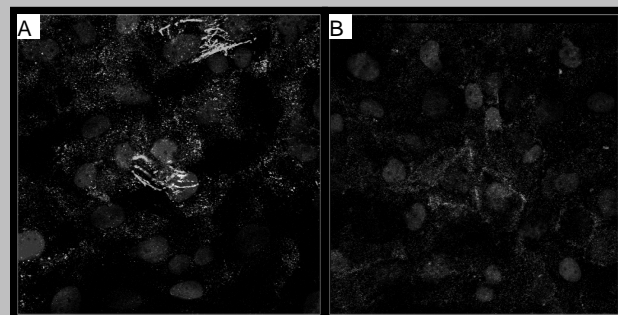
Surface characteristics

The composite surface layer of the Ti_3P+Ti,Ni type was produced on titanium alloy. The thickness of Ti_3P , the outer layer, was about 4 μm . The produced surface layer exhibited high wear resistance and good corrosion resistance compatible to Ti-6Al-4V alloy and protected against release of ions from the titanium alloy. The microstructure and topography of composite layer was shown at FIG. 1.

Biocompatibility

Cells cultured on Ti_3P surface and visualised under confocal microscopy were regularly distributed over the surface. The most of cells were in G1 (45%) and G2M (over 35%) stage of the cell cycle (FIG. 2).

There were no apoptotic cells in examined population. The matrix of intact cellular fibronectin was composed mostly of uniform non-fibrillar network, and only in some areas fibronectin formed fibrillar aggregates (Fig. 3A). Fibronectin receptors ($\alpha 5\beta 1$) expression presented diffuse pattern in most cells, only in aggregated cells this receptor was strongly distributed on the cell membrane (FIG. 3B).



RYS. 3. Rozmieszczenie fibronektyny (A) i jej receptora $\alpha 5\beta 1$ (B) w hodowli osteoblastów linii Saos-2 na warstwie Ti_3P wytworzonej na stopie tytanu Ti-6Al-4V analizowane w mikroskopie konfokalnym.

FIG. 3. Fibronectin (A) and its receptor $\alpha 5\beta 1$ (B) in population of osteoblast-like cells cultured on Ti_3P surface layer and analysed in confocal microscopy.

Discussion

Our results showed that osteoblasts (Saos-2 cells) adhered to the composite surface layer $Ti_3P+(Ti,Ni)$ type produced on titanium alloy and demonstrated high biological activity. Fibronectin, the element of biofilm produced on biomaterial aggregated in some areas of the surface. It can not be excluded that these areas have a specific topography and/or chemical composition which activate osteoblasts to produce fibronectin. High expression of fibronectin receptor in cell membrane mainly in some cells is followed by aggregated fibronectin in biofilm. Surface topography analyses revealed lower roughness of some areas, what

komórkowego. W badanej populacji nie znaleziono komórek martwych (RYS. 2).

Fibronektyna zlokalizowana zewn trzkomórkowo tworzyła jednolit sie . Skupiska włókienek obserwowano sporadycznie (RYS. 3A). Ekspresja receptorów dla fibronektyny w wi kszo ci komórek była rozproszona i tylko w komórkach twor zych agregaty była wyra nie zaznaczona na ich obwodzie (RYS. 3B).

Dyskusja

Z bada wynika, e osteoblasty linii komórkowej Saos-2 adheruj do warstwy kompozytowej typu $Ti_3P+(Ti,Ni)$ wytworzonej na stopie tytanu i charakteryzuje je wysoka aktywno biologiczna. Fibronektyna, składnik biofilmu wytworzonego na biomateriale tworzy skupiska w niektórych obszarach powierzchni biomateriału. Nie mo na wykluczy , e te miejsca wykazuj specyficzn topografi i/lub skład chemiczny powierzchni, który aktywuje osteoblasty do produkcji fibronektyny. Wysoka ekspresja w błonie komórkowej receptorów dla fibronektyny tylko w niektórych komórkach odpowiada skupieniom fibronektyny w biofilmie. Analiza topografii powierzchni biomateriału wykazała mniejsz chropowato niektórych obszarów powierzchni wytworzonej warstwy, co prawdopodobnie wpływa na wydzielanie i organizacj fibronektyny w biofilmie. Wpływ topografii i składu chemicznego powierzchni biomateriału na syntez białek twor zych biofilm jest znanym zjawiskiem, opisywanym w literaturze [3-5]. Uzyskane wyniki potwierdzaj biozgodno wytworzonej warstwy powierzchniowej typu $Ti_3P+(Ti,Ni)$, chocia topografia powierzchni wymaga dalszej modyfikacji dla zastosowa na implanty kostne.

Podzi kowania

Praca finansowana jest przez Komitet Bada Naukowych - projekt badawczy nr: 08/PBZ-KBN 082/T08/2002

POWŁOKI FOSFORANOWO- KRZEMIANOWE I KRZEMIANOWE MODYFIKOWANE CZ STKAMI HYDROKSYAPATYTU

M. ROKITA, A. BRO EK, M. HANDKE

AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLAND

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 141-142]

Powszechnie stosowane na implanty materiały metaliczne nie zapewniaj dobrego połączenia pomiędzy implantem a yw tkank . Pokrycie implantu cienk powłok krzemianow lub fosforanow mo e w wydatny sposób polepszy wła ciwo ci biologiczne powierzchni implantu i zapewni wytworzenie bezcementowego wi zania pomiędzy tkan-

probably effects synthesis and distribution of fibronectin in biofilm. The influence of surface topography on production of proteins that form biofilm is known fact from the literature [3-5]. Our results confirm biocompatibility of $Ti_3P+(Ti,Ni)$ surface layer produced on Ti-6Al-4V alloy although surface topography requires modification for bone implants application.

Acknowledgements

This study was supported by Polish Scientific Committee (KBN) within project 08/PBZ-KBN 082/T08/2002

Pi miennictwo

References

- [1] Czarnowska E., Wierzcho T., Sikorska E., Sowi ska A., Syczewska M., Euromat 2001, 7th European Conference on Advanced Materials and Processes, Rimini (2001), Abstr. 310-311
- [2] Czarnowska E., Sowi ska A., Cukrowska B., Godlewski M., Wierzcho T., Ann. Transplant., in press
- [3] Chou L., Firth J. D., Uitto V. J., Brunette D. M., J. Cell. Sci. (1995);108:1563-1673
- [4] Altankov G., Grnne F., Groth T., J. Biomed. Mater. Res. (1996);30:385-391
- [5] Derhami K., Wolfaardt J. F., Wennerberg A., Scott P. G., J. Biomed. Mater. Res. (2000); 52:315-322

PHOSPHO-SILICATE AND SILICATE LAYERS MODIFIED BY HYDROXYAPATITE PARTICLES

M. ROKITA, A. BRO EK, M. HANDKE

AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLAND

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 141-142]

Common used metal materials don't ensure good connection between an implant and biological neighbourhood. Covering implants by thin silicate or phosphate layers enable to improve biological properties of implants and create conditions for producing the non-concrete bonding between the implant and tissue.

The project object is development in the field of implant layers technology. Phospho-silicate layers were deposited onto different base materials such as metal (titanium or iron), ceramic or carbon, using sol-gel methods. Deposited sols

k a implantem.

Celem pracy jest opracowanie nowych składów i specyficznych warunków nanoszenia powłok na implanty. Warstwy fosforanowo krzemianowe o wysokiej zawartości SiO_2 były nanoszone na różne podłoża - ceramiczne, w gliny i metaliczne, przy czym skoncentrowano się głównie na tych ostatnich, jako najpowszechniej stosowanych materiałach do wyrobu implantów. Stosowanymi podłożami metalicznymi były: stal nierdzewna, tytan oraz stop tytanowy Ti90/Al6/V4. Głównym metodą nanoszenia była metoda zol- el. Przygotowano zole o różnych składach (fosforanowo-krzemianowe o zawartości SiO_2 75-85%, z dodatkiem wapnia lub sodu i wapnia) i stężeniu (3-15% w przeliczeniu na SiO_2). Stosowano jedno lub wielokrotne nanoszenie oraz wielostopniową obróbkę termiczną naniesionych na podłoża metaliczne powłok. Praca obejmowała również przygotowanie zoli krzemianowych modyfikowanych dodatkiem hydroksyapatytu syntetycznego bądź naturalnego (z koci wołowych). Opracowano warunki nanoszenia i obróbki termicznej takich powłok.

Powłoki były poddawane badaniom rentgenowskim (XRD) w celu ustalenia ich składu fazowego. Metoda ta nie zawsze okazała się odpowiednia, ze względu na drobnokrystaliczność, bądź wręcz amorficzność powłok. Głównymi fazami identyfikowanymi w powłokach były fosforany wapnia o różnym stopniu uwodnienia oraz krystalobalite. Badania spektroskopowe uzupełniały wyniki uzyskane metodą XRD, potwierdzając występowanie poszczególnych ugrupowań (np. grup PO_4) w materiale powłoki. Przeprowadzono również badania mikroskopowe (mikroskopia skaningowa z EDX) w celu określenia składu chemicznego, homogeniczności i zawartości powłok. Próbkę z naniesionymi powłokami poddawano termostatowaniu w SBF (metoda *in vitro*). Po termostatowaniu próbki były ponownie poddawane opisany powyżej badaniom. W przypadku niektórych składów stwierdzono narastanie hydroksyapatytu w trakcie termostatowania. Sprawdzano również oddziaływanie żywych komórek z wybranymi materiałami powłokowymi, w szczególności żywotność fibroblastów i osteoblastów na powierzchni próbek.

Pokrycie implantów powłokami krzemianowo - fosforanowymi lub krzemianowymi zawierającymi hydroksyapatyt powinno w wydajny sposób zmniejszyć niekorzystny, korozyjny wpływ implantu na żywe tkanki oraz poprawi połączenie implant - tkanka.

Podziękowania

Praca jest finansowana z grantu KBN nr PBZ/KBN-082/T08/2002.

were prepared regarding composition, concentration and layer heat treatment conditions. Our work includes also preparing silicate sols of different concentration and proper (powder) fraction of synthetic as well as natural hydroxyapatite, depositing the sol mixed with hydroxyapatite onto the base material (metal, ceramic, carbon) and heat treatment.

The prepared layers are examined to determine their phase composition (XRD, IR spectroscopy methods), density and continuity (scanning microscopy with EDX methods).

The XRD method is not always sufficient one because of low crystallinity of deposited layers. IR spectroscopy enabled to estimate phase composition of pre-heated layers. Biological activity of layers was evaluated by means of estimation of their corrosive resistance in synthetic body fluids ("in vitro" method) and of bone cells growth on the layers surface.

Introducing hydroxyapatite to the layer sol should improve connection tissue - implant and limit the disadvantageous, corrosive influence of implant material (metal) on the tissue.

Acknowledgements

This work is supported by Polish Committee for Scientific Research under grant no. PBZ/KBN-082/T08/2002.

WPŁYW POLIMERÓW ZASTOSOWANYCH JAKO NOŚNIKI LEKÓW W POROWATYCH IMPLANTACH KORUNDOWYCH NA LEUKOCYTY LUDZKIEJ KRWI OBWODOWEJ- BADANIA IN VITRO

STANISŁAW PIELKA*, ANNA CZARNY**, EWA ZACZYŃSKA**,
BOGUSŁAWA YWICKA*, JOANNA KARA***
ZBIGNIEW JAEGERMANN*** SŁAWOMIR MICHAŁOWSKI***

*ZAKŁAD CHIRURGII EKSPERYMENTALNEJ I BADANIA BIOMATERIAŁÓW AKADEMII MEDYCZNEJ

WE WROCŁAWIU UL PONIATOWSKIEGO 2

** INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DO WIADCZALNEJ PAN

WE WROCŁAWIU UL WEIGLA 12

***INSTYTUT SZKŁA I CERAMIKI W WARSZAWIE

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 143-145]

Zalety porowatej ceramiki korundowej, jako materiału implantacyjnego, zachęciły do badań nad zastosowaniem jej jako nośnika leków czy żywych komórek w inżynierii tkankowej. Ważnym jest przy tym dobór ceramiki o odpowiedniej porowatości ułatwiającej odżywianie, proliferację i różnicowanie komórek. Używanie nośnika o dużej porowatości, to znaczy wysokim stosunku pola powierzchni do objętości, ma szczególne znaczenie w przypadku implantacji przewidzianych do bogato unaczynionych organów. Najefektywniejsze rozwinięcie pola powierzchni materiału uzyskuje się przy wytworzeniu ceramiki o małych porach, lecz wielkość ich winna być jednak optymalna dla rozmiarów i metabolizmu otaczających je komórek [1]. Zapewnia to odpowiednie przestrzenie do przenikania mnożących się komórek, wytwarzania substancji międzykomórkowej i unaczynienia [2]. Tak przygotowane materiały korundowe mogą być również nośnikami polimerów przeznaczonych do kumulacji i uwolnienia leków. Badanie oddziaływania porowatej ceramiki z nośnikami polimerowymi na leukocyty ludzkiej krwi obwodowej może udzielić odpowiedzi o ich cytotoksycznym lub proliferacyjnym oddziaływaniu, a także o potencjalnej wczesnej i późnej reakcji tkankowej i być może okazać się cennym testem do praktycznej selekcji materiałów [3, 4]. Celem badań była ocena toksycznego działania biomateriałów na leukocyty ludzkiej krwi obwodowej w teście MTT.

Materiał i metody

Badano dwa nośniki polimerowe: hydroksypropylometylocelulozę i poli(alkohol winylu), którymi nasączono tworzywa korundowe o tym samym składzie chemicznym, lecz różniące się technologią wytwarzania i porowatością. Do tego celu zastosowano dwa tworzywa korundowe:

- o porowatości 80-90%, wytwarzane metodą wypalania gęstej ceramicznej naniesionej na matrycę organiczną. Tworzywo to zostało nasączone próbnymi nośnikami w postaci hydroksypropylometylocelulozy, HPMC firmy Fluka.

INFLUENCE OF POLYMERS USED AS CARRIERS IN POROUS CORUNDUM GRAFTS ON LEUKOCYTES OF HUMAN PERIPHERAL BLOOD- IN VITRO STUDIES

STANISŁAW PIELKA*, ANNA CZARNY**, EWA ZACZYŃSKA**,
BOGUSŁAWA YWICKA*, JOANNA KARA***
ZBIGNIEW JAEGERMANN*** SŁAWOMIR MICHAŁOWSKI***

*MEDICAL UNIVERSITY, INSTITUTE OF EXPERIMENTAL SURGERY AND BIOMATERIALS RESEARCH,

PONIATOWSKIEGO 2, 50-326 WROCŁAW, POLAND,

**INSTITUTE OF IMMUNOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPY,

POLISH ACADEMY OF SCIENCES,

R.WEIGLA 12, 53-114 WROCŁAW, POLAND

***INSITUTE OF GLASS AND CERAMICS IN WARSAW

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 143-145]

Successes of porous corundum ceramics as graft material encouraged studies of its usage as medicaments or living cells carrier in tissue engineering. Selection of ceramics with proper porosity making nourishment, proliferation and differentiating of cells easier is important. Usage of carrier with large porosity, high relation of surface field to volume is particularly essential in case of imlantations to high vascularized organs. The most effective development of surface field of material is achieved in producing ceramics with small pores but their size should be best for the sizes and metabolism of the surrounding cells [1]. It ensures proper space for permeation of cells cultures, producing intercellular substance and vascularisation [2]. Such prepared corundum materials can be carriers of polymers for medicaments revelling. Influence of porous ceramics with polymers carriers on leukocytes of human peripheral blood can explain its cytotoxic or potential proliferating influence and potential early and late tissue reaction and it can turn out a sensitive test for practical biomaterial selection [3, 4]. The objective of this study was to examine the in vitro cytotoxicity activities of a biomaterials on a human pripheral blood leukocytes using MTT cytotoxicity assay.

Material and methods

Two polymer carriers were tested: hydroxypropylmethylcellulose and vinyl polyalcohol with corundum materials with which corundum materials with the same chemical composition but different producing technology were dripped. For that aim corundum materials were used:

- with porosity 80-90% produced with cauterization of ceramic density brought on organic matrix. That material was vacuum dripped carrier as hydroxypropylmethylcellulose, HPMC produced by Fluka.
- with porosity 60-70% produced with cauterisation of ceramic density chemically foamed. That material was vacuum

2. o porowatości 60-70%, wytwarzane metodą wypalania gąstwy ceramicznej spienianej chemicznie. Tworzywo to zostało nasączone polinowem w postaci poli(alkoholu winylu), PAW o nazwie handlowej Poval-05 firmy Shin-Etsu.

Tak przygotowane materiały zostały wysuszone metodą liofilizacji, a następnie poddane sterylizacji radiacyjnej w warunkach standardowych dla materiałów medycznych.

Krew

Krew pochodziła z Wrocławskiego Centrum Krwiodawstwa i pobierana była od grupy zdrowych wolontariuszy w wieku od 18 do 45 lat.

Metoda izolacji leukocytów ludzkiej krwi obwodowej

Krew pobierano na heparyn w stosunku 1:10, leukocyty izolowano przez wirowanie w gradiencie gęstości 1,115 g/ml w użyciu Gradisolu (Aqua-Medica Poznań). 5 ml krwi nawarstwiano na 3 ml gradisolu i wirowano przez 30 min./400xg. Zebrane leukocyty płukano dwukrotnie w medium hodowlanym RPMI1640 z dodatkami i zawieszano w medium do do gęstości 2×10^6 komórek/ml.

Test cytotoksyczny

Test cytotoksyczny wykonano na leukocytach ludzkiej krwi obwodowej. Na płytki 24 dołków firmy Costar nanoszono po 1 ml zawiesiny leukocytów o gęstości 1×10^6 / ml zawieszonych w medium hodowlanym RPMI1640 z dodatkiem 2% surowicy cielęcej, penicyliny, i streptomycyny. Do tak przygotowanych komórek dodawano jałowe próbki badanych biomateriałów o wadze 10 mg, następnie inkubowano w temp. 37°C w wilgotnej atmosferze z 5% CO₂. Cytotoksyczność biomateriałów badano po 24 i po 72 godzinnej inkubacji.

Cytotoksyczność ceramiki korundowej HPMC i PAW w teście MTT

Do oceny cytotoksyczności biomateriałów zastosowano analizę kolorymetryczną z wykorzystaniem testu MTT [3-(4,5-dimetyltiazolyl-2-yl) 2,5-diphenyltetrazoliumbromide]. Wskaźnikiem żywności komórek w teście jest aktywność mitochondrialnej dehydrogenazy. Użyto MTT (Sigma, St. Louis, MO) o stężeniu 5 mg/ml rozpuszczonego w PBS. Dla pomiaru przeżywalności komórek, do kałdego dołka płytki zawierającej cego biomateriały z hodowli leukocytów dodawano 25 µl roztworu MTT i inkubowano w temp. 37°C w wilgotnej atmosferze z 5% CO₂. Następnie do kałdego dołka dodawano 100 µl mieszniny lizującej (45 ml dimetylfornamide, 13,5 g sodium dodecyl sulfatu i 55 ml wody destyl.) i po 3 h inkubacji w 37°C odczytano wartość absorbancji przy długości fali $\lambda = 570$ nm na czytniku (Start Fax Awareness Technology, Inc. 2100).

Wyniki

Cytotoksyczność ceramiki korundowej z nonikami polimerowymi PAW i HPMC określona była na podstawie oddziaływania na leukocyty ludzkiej krwi obwodowej. Wyniki badań cytotoksyczności in vitro ilustrują ryciny: RYS.1. A i B. Wskazują one, że ceramika korundowa z HPMC nieznacznie obniża żywność komórek po 24 godz., natomiast po 72 godz. toksyczne działanie tego biomateriału jest statystycznie istotne. Przeżywalność komórek po inkubacji z ceramikami korundowymi z PAW, zarówno po 24 h jak i po 72 h, była podwyższona i statystycznie istotna.

Wnioski

Wyniki badań wskazują, że ceramika korundowa z PAW wpływała na zwiększoną proliferację komórek ludzkiej krwi, natomiast ceramika korundowa z HPMC działała toksycznie

drippied with carrier as vinyl poly(alcohol), PAW with the brand name Poval-05 produced by Shin-Etsu. Such prepared materials were dried with lyophilization and next radioactive sterilised in standard conditions of medical materials.

Blood donors

Peripheral vein blood was taken from a group of healthy volunteers and obtained from Wrocław Regional Transfusion Center. The persons were 18-45 years old.

Leukocytes

Leukocytes were isolated from heparinized peripheral blood (10 U/ml) by gradient centrifugation in Gradisol G with a density of 1,115 g/ml (Aqua Medica, Poznań, Poland). Five ml of blood were layered on three ml of Gradisol and centrifuged for 30 min. at 400x g. The leukocytes from the interphase were collected, washed two times with RPMI supplemented with 2% c. s. and suspended in this medium at a density of 2×10^6 cells/ml

Cytotoxicity assay

Cytotoxicity of the compounds was determined in the human leukocytes. For cytotoxicity test, the human leukocytes were seeded in 24-well (Costar) 1 ml of 1×10^6 cells/ml in the culture medium RPMI with 2% calf serum, penicillin and streptomycin was deposited into each well. Samples of the tested biomaterials in amount 10mg of each were added to prepared cells, which were then incubated for 24h and 72h at 37°C in the atmosphere of 5% CO₂ in air.

The cytotoxicity of HPMC and PAW were detected by MTT assay

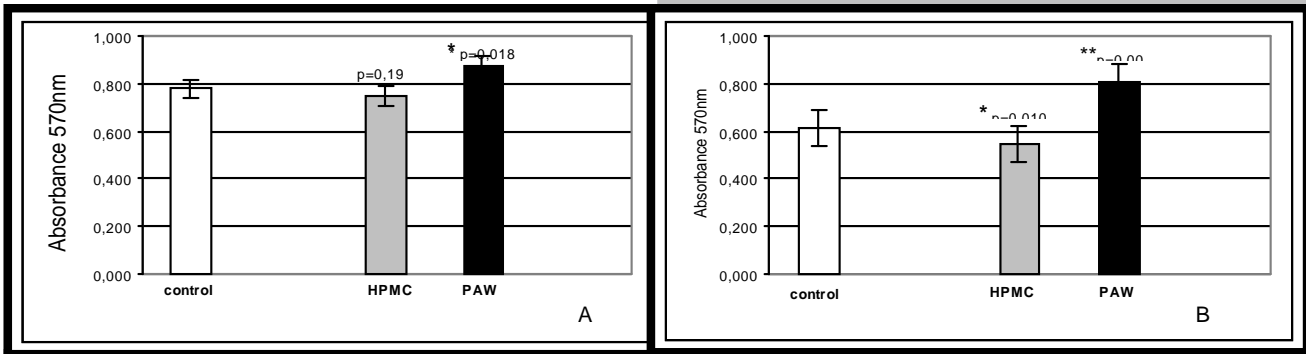
MTT[3-(4,5-dimethylthiazolyl-2-yl) 2,5-diphenyltetrazoliumbromide] colorimetric analysis was used to measure the cytotoxicity of biomaterials. The test is based on mitochondrial dehydrogenase cell activity as an indicator of cell viability. MTT (Sigma, St. Louis, MO) was dissolved in PBS at concentration of 5 mg/ml. To measure cell killing, 25 µl solution was added to every well of the culture plates with biomaterials, and these were incubated for 2h at 37°C in the atmosphere of 5% CO₂ in air. A solvent solution (100 µl of 45 ml dimethylformamide, 13,5 g sodium dodecyl sulfate, and 55 ml distilled water) was added to every well and after 3h incubation at 37°C, the optical density at 570 nm was measured in a microplate reader (Start Fax Awareness Technology, Inc. 2100).

Results

Cytotoxicity of ceramics with PAW and HPMC were determined in human leukocytes. The results of our in vitro cytotoxicity assessment are shown in FIGURE 1 A and B. They show that HPMC not statistically significant reduced the cells viability after 24h of incubation (FIG. 1A). The cytotoxicity effect of HPMC ceramic was dependent on time of interaction with human blood leukocytes and after 72h incubation was statistically significant (Fig. B). The cells viability after 24h and 72h of incubation with PAW ceramic was enhanced and statistically significant (FIG. 1A, B).

Conclusions

The cytotoxicity effect HPMC was dependent on time of interaction with human blood leukocytes and after 72h incubation was statistically significant. The obtained results indicate that direct contact of the human peripheral blood leukocytes culture with ceramics with PAW did not show any cytotoxicity effect and enhance proliferation of cells. Test MTT is useful for preliminary selection of biomaterial.



RYS. 1. Oznaczenie cytotoksyczności biomateriałów PAW i HPMC na ludzkich komórkach krwi obwodowej: A) po 24 godzinach, B) po 72 godzinach.

RYS. 1A. Wyniki badania przedstawiono jako \pm SD z 5 do wiadczeń; * wskazuje statystycznie istotną różnicę pomiędzy ceramiką z PAW i kontrolą ($p=0,018$).

RYS. 1B. Wyniki badania przedstawiono jako \pm SD z 5 do wiadczeń; * wskazuje statystycznie istotną różnicę pomiędzy ceramiką z HPMC i kontrolą ($p=0,010$); ** wskazuje statystycznie istotną różnicę pomiędzy ceramiką z PAW i kontrolą ($p=0,006$).

FIG. 1. Cytotoxicity determined by MTT assay on human peripheral blood leukocytes after indicated of the biomaterials. A) after 24h, B) after 72 h.

FIG. 1A. The results present mean \pm SD of five separate experiments. * indicates statistically significant difference as compared to control with PAW ($p=0,018$).

FIG.1B. The results present mean \pm SD of five separate experiments:

* indicates statistically significant difference as compared to control with HPMC ($p=0,010$)

** indicates statistically significant difference as compared to control with PAW ($p=0,006$)

na komórki krwi. Efekt toksyczny pogłębiał się wraz z wydłużeniem czasu oddziaływania tego biomateriału z leukocytami krwi obwodowej. Badanie cytotoksyczności na leukocytach ludzkich, z wykorzystaniem testu MTT, pozwala na wstępny selekcję nowych biomateriałów.

Podziękowanie

Praca wykonana została w projekcie badawczym nr 1064 w ramach badań własnych uczelni.

Pi miennictwo References

- [1] Jaegermann Z., Kara J., Michałowski S.: Struktury porowate materiałów ceramicznych na potrzeby żywych komórek do stosowania w inżynierii tkankowej. Inżynieria Biomateriałów, (2003), 30-33, 12-14.
- [2] Pielka S., Szymonowicz M., Paluch D., Librant Z., Kara J., Buczyńska H. K., Jegerman Z.: Ocena chropowatości powierzchni ceramiki korundowej na wybrane parametry krwi. (2004), 30-33, 59-62.
- [3] Pielka S., Czarny A., Głowicka B., Zaczynska E., Solski L., Paluch D., Staniszevska-Kujawa J.: Wpływ biomateriałów na syntezę cytokin prozapalnych w leukocytach ludzkiej krwi obwodowej. (2003), 30-33, 66-69.
- [4] Berg K., Hansen M.B., Nelsen S.E.: A new sensitive bioassay for precise quantification of interferon activity as measured via the mitochondrial dehydrogenase function in cells (MTT-method). (1990), APMIS 98, 156-162.

POPRAWA WŁAŚCIWOŚCI IMPLANTACYJNEGO STOPU Co-Cr-Mo ZA POMOCĄ POWŁOKI TiO_2 NAKŁADANEJ METODĄ ZOL-EL

BOENA PIETRZYK, LESZEK KLIMEK, SEBASTIAN MISZCZAK

INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ,
POLITECHNIKA ŁÓDZKA,
UL. STEFANOWSKIEGO 1, 90-924 ŁÓDŹ

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 146-147]

Stopy Co-Cr-Mo stosowane są na implanty w ortopedii i chirurgii szczękowej od ponad dwudziestu lat. Są one powszechnie używane ze względu na bardzo dobre właściwości mechaniczne, mimo, że ich biokompatybilność nie jest w pełni satysfakcjonująca. Szczególnie ważnym problemem jest odporność korozyjna tych stopów ze względu na prawdopodobieństwo wywoływania procesów nowotworczych przez jony metali.

W ostatnich latach prowadzone są intensywne badania nad poprawą właściwości biomateriałów metalowych poprzez nakładanie powłok [1-3]. Za jeden z najbardziej obiecujących materiałów na powłoki uważa się dwutlenek tytanu. TiO_2 wytwarzany metodą zol-elu może być stosowany jako ochronna powłoka antykorozyjna [4, 5]. Powłoki te wykazują także dobrą kompatybilność z krwią, oraz bioaktywność, która polega na procesach osteosyntezy zachodzących na ich powierzchni [5].

W niniejszej pracy, powłoki TiO_2 nakładane były metodą zol-elu na implantacyjny stop Co-Cr-Mo, w różnych warunkach. Badano wpływ warunków nakładania na odporność korozyjną pokrytego stopu, oraz na zdolność wzrostu struktur apatytowych na powierzchni powłoki TiO_2 .

Zol TiO_2 przygotowywano z $Ti[(CH_2)_3CH_3]_4$ przez zmieszanie z bezwodnym etanolem, kwasem octowym i wodą destylowaną w stosunku molowym $[Ti]:[H_2O]:[CH_3COOH] = 1:10:1$. Powłoki TiO_2 наносили на сплав Co-Cr-Mo (Vitalium) методом погружения. По нанесению слоев сушили в комнатной температуре в течение 20 минут и выдерживали в 400-800°C в течение 15 минут. Процедуру нанесения слоев проводили одно-, или трехкратно, соответственно в тех же условиях.

Одпору корозии так приготовленных пробки исследовали с помощью измерений электрохимических в растворе Рингера. Утверждено, что даже однослойная пленка TiO_2 улучшает коррозионную стойкость в сравнении со сплавом без пленки, но решение лучше исправить оседали то накладывая пленки трехслойные выдерживали в температурной 500°C, как 800°C.

Badano także wpływ temperatury obróbki cieplnej powłok TiO_2 wytwarzanych metodą zol-elu na ich bioaktywność. Bioaktywność określano jako zdolność do wzrostu hydroksyapatytu na powierzchni powłoki podczas wytrzymywania w sztucznej płazmie krwi (SBF) [6]. Próbkami z trzysłojowymi powłokami wygrzewanymi w temperaturach 400-700°C termostatowano w SBF w temperaturze 37°C przez 20 dni. Po dwóch dniach wytrzymania w SBF, na powierzchni wszystkich próbek pojawiły się wydzielenia Ca-P. Skład

IMPROVEMENT IN PROPERTIES OF THE Co-Cr-Mo IMPLANT ALLOY BY MEANS OF TiO_2 SOL-GEL COATING

BOENA PIETRZYK, LESZEK KLIMEK, SEBASTIAN MISZCZAK

INSTITUTE OF MATERIALS ENGINEERING,
TECHNICAL UNIVERSITY OF ŁÓDŹ,
STEFANOWSKIEGO 1, 90-924 ŁÓDŹ, POLAND

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 146-147]

Co-Cr-Mo alloys have been used for implants in orthopedic and dental surgery for over twenty years. They are commonly used because of their excellent mechanical properties, although their biocompatibility is not completely satisfactory. An especially important problem is their corrosion resistance because of the probability of carcinogenic processes induced by metal ions.

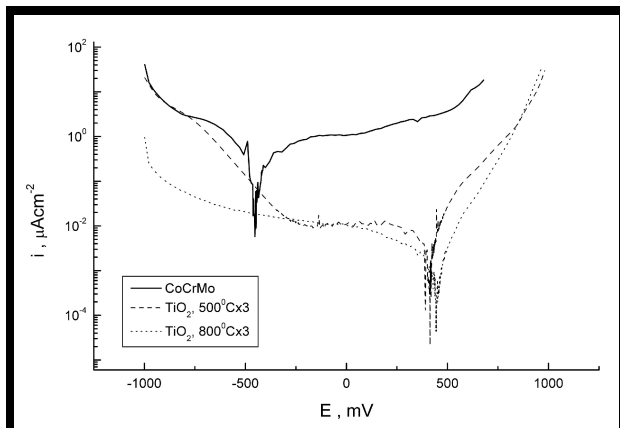
In the last years the intensive study on an improvement of metal biomaterials properties by coatings deposition has been made [1-3]. One of the perspective coatings seems to be titanium dioxide. TiO_2 prepared by the sol-gel method can be used as corrosion protection coating [4, 5]. It reveals good blood compatibility [3] and a bioactivity which consist in osteosynthesis on its surface [5].

In this work TiO_2 sol-gel coatings were deposited on Co-Cr-Mo implant alloy at different conditions. The influence of deposition conditions on the corrosion resistance of the coated alloy and the ability to grow bone-like apatite structures on the surface of TiO_2 coating was investigated.

The TiO_2 sol was prepared from titanium(IV)butoxide by mixing it with absolute ethanol, acetic acid and distilled water in the molar ratio $[Ti]:[H_2O]:[CH_3COOH] = 1:10:1$. The TiO_2 coatings were deposited on Co-Cr-Mo alloy (Vitalium) by dip-coating. The dip-coated film was dried in the room temperature for about 20 minutes and annealed at 400-800°C for 15 minutes. The deposition procedure of the film was repeated one or three times, respectively in the same conditions.

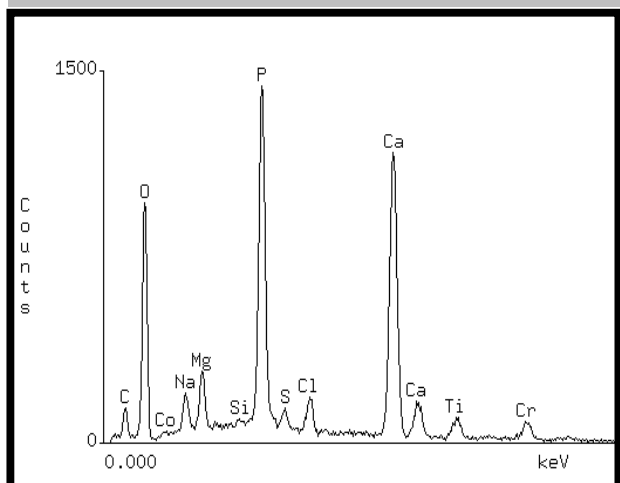
The corrosion resistance of investigated samples were tested by means of electrochemical measurements in Ringer solution. It was found that even the one-layer TiO_2 coating improved the corrosion resistance of the sample in comparison with uncoated alloy, but much better improvement was achieved for three-layer coatings annealed both at 500°C and at 800°C.

The influence of heat treatment temperature of sol-gel TiO_2 coatings on their bioactivity was investigated. The bioactivity of TiO_2 coatings was determined as ability to form a hydroxyapatite (HAP) on their surfaces by soaking in simulated body fluid (SBF) [6]. Three-layer coatings annealed at temperature of 400-700°C were soaking in SBF at temperature of 37°C for 20 days. After two-days soaking in SBF, Ca-P precipitation appeared on the surface of all samples. The chemical composition of the precipitation was typical



RYS. 1. Krzywe polaryzacji dla stopu Co-Cr-Mo: bez powłoki i z powłok TiO₂ wytwarzan metod zol- el, w roztworze Ringera.

FIG. 1. Polarization curves for Co-Cr-Mo alloy: uncoated and with TiO₂ sol-gel coating, in Ringer solution.

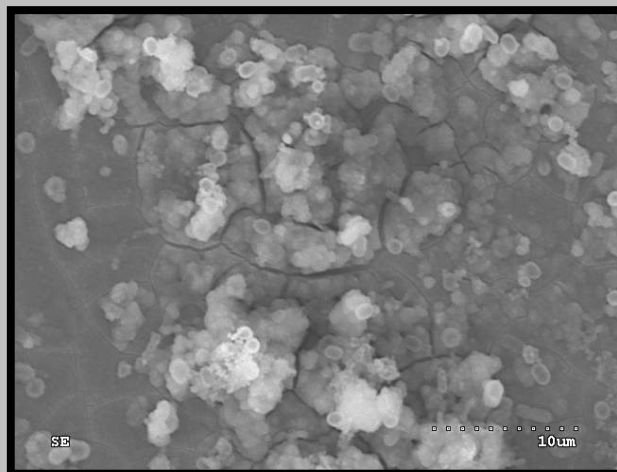


RYS. 3. Widmo EDS powierzchni próbki po 12 dniach wytrzymania w płynie SBF, w temperaturze 37°C.

FIG. 3. EDS spectrum of the sample surface after 12-days soaking in SBF.

chemiczny tych wydziele był typowy dla hydroksyapatytu. Badanie przeprowadzone po 12 dniach pokazało, e w wyniku wytrzymania w SBF powierzchnia próbek została pokryta ci gł warstw hydroksyapatytu o grubo ci jednokowej na wszystkich próbkach. Po 20 dniach termostowania w SBF stwierdzono, e morfologia próbek i przyrost grubo ci warstwy HAP s podobne dla wszystkich badanych próbek. Morfologia i wyniki analizy EDS powierzchni typowej próbki przedstawiono, odpowiednio, na RYS. 2 i RYS. 3.

W wyniku przeprowadzonych bada stwierdzono, e powłoki TiO₂ wytwarzane metod zol- el poprawiaj właściwo ci implantacyjnego stopu Co-Cr-Mo. Powłoki TiO₂ znacząco podnoszą odporność na korozję i zwiększają zdolność do wzrostu hydroksyapatytu na powierzchni próbek. Szybko wzrostu HAP w środowisku SBF jest podobna w całym, badanym zakresie temperatur wygrzewania powłok.



RYS. 2. Obraz SEM powierzchni próbki z powłok TiO₂, wygrzewanej w 400°C, po 12 dniach wytrzymania w SBF.

FIG. 2. SEM image of sample surface with TiO₂ coating annealed at 400°C, after 12 days soaking in SBF.

for HAP. The examination following 12 days of soaking showed that the surface of all samples were covered by a continuous layer of HAP, as a result of soaking in SBF, and that the thickness of the HAP layer on all samples were equal. The morphology of samples and an increase of the thickness of HAP layers after 20 days of soaking were similar for all samples, as well. The typical morphology and result of EDS analysis of the sample surfaces are presented in FIG. 2 and FIG. 3, respectively.

It was found that TiO₂ sol-gel coating improved properties of Co-Cr-Mo implant alloy. TiO₂ coatings prepared by sol-gel method considerably increased the corrosion resistance of the coated alloy and gave ability to growth HAP on its surface for whole range investigated temperatures of annealing.

Pi miennictwo

References

- [1] Paszenda Z., Marciniak J.: The influence of base structure and carbon coating on the corrosion resistance of Co-Cr-Mo alloy. *J. Mater. Proces. Tech.* 78 (1998) 143-149.
- [2] Masalski J., Głuszek J., Zabrzeński J., Nitsch K., Głuszek P.: Improvement in corrosion resistance of the 316L stainless steel by means of Al₂O₃ coatings deposited by the sol-gel method. *Thin Solid Films* 349 (1999) 186-190.
- [3] Liu J.X., Yang D.Z., Shi F., Cai Y.J.: Sol-gel deposited TiO₂ film on NiTi surgical alloy for biocompatibility improvement. *Thin Solid Films* 429 (2003) 225-230.
- [4] Fallet M., Mahdjoub H., Gautier B., Bauer J.P.: Electrochemical behaviour of ceramic sol-gel coatings on mild steel. *J. Non-Cryst. Solids* 293-295 (2001) 527-533.
- [5] Nonami T., Taoda H., Hue N.T., Watanabe E., Iseda K., Tazawa M., Fukaya M.: Apatite formation on TiO₂ photocatalyst film in a pseudo body solution. *Mater. Res. Bull.* 33(1) (1998) 125-131
- [6] Kim H.M., Miyazaki T., Kokubo T., Nakamura T.: Revised simulated body fluid. *Bioceramics* 2001,13: 47.

WARSTWA WIERZCHNIA TYTANU TECHNICZNEGO PRZEZNACZONEGO NA IMPLANTY

J. JASI SKI*, B. STODOLNIK**, R. TORBUS*, L. JEZIORSKI[^]

POLITECHNIKA CZ STOCZOWSKA,

*INSTYTUT IN YNIERII MATERIAŁOWEJ,

**INSTYTUT TECHNOLOGII MASZYN I AP

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 148-150]

Wstep

Wtórna alloplastyka biodra wymaga zastosowania mro-onych i masywnych przeszczepów kostnych oraz metalo-nych stabilizatorów w postaci siatek i koszyków wzmacnia- j cych oraz mostkuj cych ubytki kostne [1]. Chroni one wszczep przed nadmiernymi przeci eniami wyst puj cy- mi w tych obszarach głównie w czasie wgajania si prze- szczepu [2].

Przy wst pnej obróbce mechanicznej metalowych stabili- zatorów istnieje konieczno wycinania z blachy zarysu kra- w dzi przed ich dalsz obróbk kształtuj c przez tłocze- nie lub zginanie. Nale y dobra taki sposób wycinania, aby nie wprowadzi do warstwy wierzchniej zbyt du ych zmian strukturalnych, które mogłyby wpłyn na trwało impaln- tów w rodowisku tkanek i płynów ustrojowych.

Badania własne

Materiałem do bada była blacha z tytanu technicznego w stanie wy arzonym o grubo ci 2 mm wykonanego zgod- nie z norm ISO 5832-2, ASTM B 265-99 Grade 1 produk- cji KOBE STEEL LTD, Japan o składzie chemicznym przed- stawionym w TABELI 1

Tytan techniczny	Skład chemiczny %					
	Fe	C	N	O	H	Ti
	0,035	0,009	0,002	0,063	0,028	reszta

TABELA 1. Skład chemiczny tytanu technicznego
TABLE 1. Chemical constitution of commercial titanium

oraz nast puj cych parametrach wytrzymało ciowych: $R_m=361\text{MPa}$, $R_e=249\text{MPa}$, $A_s=37\%$.

Próbki przecinano trzema metodami:

- gilotyń z maksymaln grubo ci ci cia 2 mm,
- strumieniem wody z dodatkiem proszku ciernego; red- nica dyszy - 1 mm, ci nienie wody - 300 MPa, ziarnisto proszku - 240 μm .

Obserwacje struktur dokonano na mikroskopie optycznym Axiovert 25 poł czonym z aparatem cyfrowym Sony Fd Mavica. Uzyskane mikrostruktury warstwy wierzchniej po ró nych rodzajach ci cia w ró nych strefach przedsta- wiono na RYS. 1 i 2.

Warto i gradient umocnienia warstwy wierzchniej okre- lono przez pomiar mikrotwardo ci na zgładach sko nych, przy u yciu mikrotwardo ciomierza Hanemanna. Wyniki

SURFACE LAYER OF TECHNICAL TITANIUM USING FOR PRODUCING IMPLANTS

J. JASI SKI*, B. STODOLNIK**, R. TORBUS*, L. JEZIORSKI[^]

CZESTOCZOWA UNIVERISTY OF TECHNOLOGY

*INSTITUTE OF MATERIAL SCIENCE,

**INSTITUTE OF TECHNOLOGY OF MACHINES AND AP

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 148-150]

Introduction

Secondary hip arthroplasty needs the massive and fro-zen bone grafts and metal stabilizers in the form of nets and baskets, which strengthen and fasten the bone defects [1]. Stabilizers protect the graft against excessive overload occurring in its surrounding, especially during heal process [2].

During preliminary mechanical working of the stabilizers it is necessary to cut out a surface profile from the sheet and then the obtained blank is shaped by stamping. Cutting out operation should be chosen in such way that structural changes in the surface layer were minimal, because they affected the implant durability in the tissue environment and tissue fluid.

Tests

In the tests the following material was used:

- technical annealed titanium sheet with the thickness of 2 mm, which is used for producing implants (according to ISO 5832-2, ASTM B265-99 Grade 1), made in KOBE STEEL LTD, Japan. Titanium chemical constitution is presented in TABLE 1.

Titanium mechanical properties were as following:

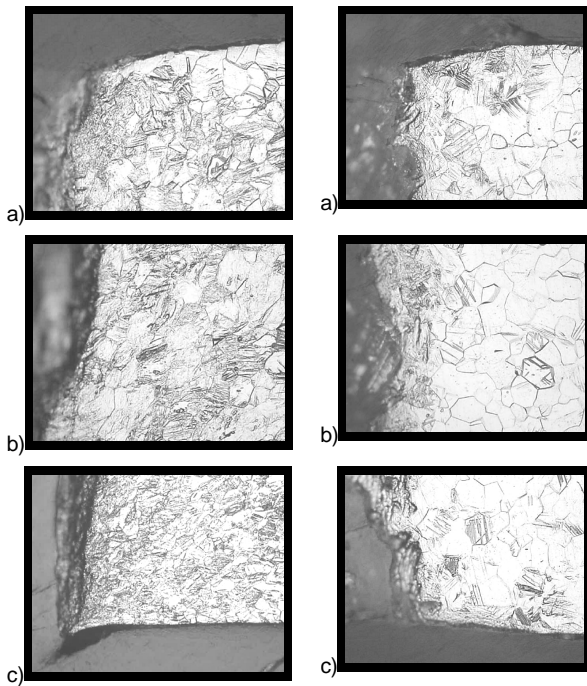
- tensile strength $R_m=361\text{MPa}$,
- yield point $R_e=249\text{MPa}$,
- unit elongation $A=37\%$.

The samples were cut out by 2 methods:

- by a guillotine shear for sheets with maximal thickness of 2 mm,
- by a water jet with an additive of abrasive dust; a nozzle diameter - 1 mm, water pressure - 300MPa, granularity of silica powder - 240 μm .

The structures of the top layer were examined under Axiovert 25 microscope equipped with Sony Fd Mavica digital camera. FIGURES 1 and 2 show the microstructures of the surface layer, which were obtained in different kinds of cutting and in the different cutting zones.

The top layer strengthening was assessed by microhardness measurements of the skew microsections 1:3 with Hanemann's microhardness tester. Microhardness distribu- tion is presented in FIGURE 3. According to the tests high strengthening of the surface layer in the upper zone of cut- ting was when the process had been carried out with the guillotine shear. The upper zone of cutting consisted of two phases: elastic and plastic material flow and plastic mate- rial flow affecting an increase in HV0,02 microhardness



RYS. 1. Mikrostruktura warstwy wierzchniej tytanu technicznego po ci ciu gilotyn , zgląd sko ny 1:3, trawiono 2ml HF+2ml HNO₃+96 ml H₂O, pow. 200x: a) górna, b) rodkowa, c) dolna strefa ci cia.
FIG.1. Microstructure of the commercial titanium surface layer after cutting with the guillotine shear. A skew microsection 1:3; etching - 2ml HF+2ml HNO₃+96 ml H₂O; magnification 200x; a) top, b) central, c) bottom cutting zone.

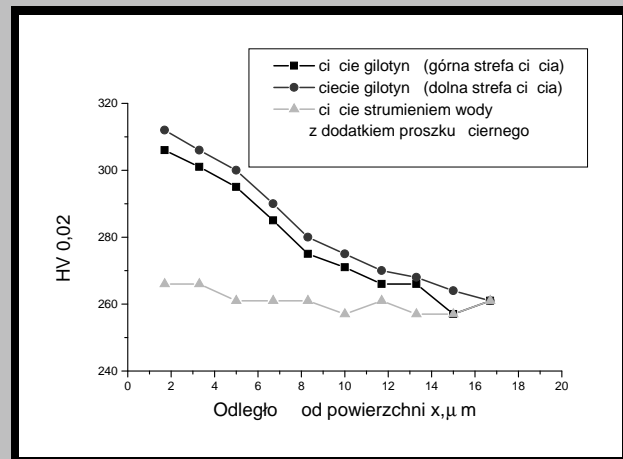
RYS. 2. Mikrostruktura warstwy wierzchniej tytanu technicznego po ci ciu strumieniem wody z dodatkiem proszku ciernego, zgląd sko ny 1:3, trawiono 2ml HF+2ml HNO₃+96 ml H₂O, pow. 200x: a) górna, b) rodkowa, c) dolna strefa ci cia.
FIG. 2. Microstructure of the commercial titanium surface layer after cutting with the water jet. A skew microsection 1:3; etching - 2ml HF+2ml HNO₃+96 ml H₂O; magnification 200x; a) top, b) central, c) bottom cutting zone.

tych pomiarów przedstwiono na RYS. 3.

Z pomiarów mikrotwardo ci wynika, e po ci ciu gilotyn wyst puje silne umocnienie warstwy wierzchniej w górnej strefie ci cia tj. w fazie spre ysto-plastycznego i plastycznego płyni cia, które na gł boko ci 1,7 mm od powierzchni powoduje wzrost mikrotwardo ci HV 0,02 o 18%. Gł boko umocnienia wyniosła około 18 mm (RYS. 3). Podobne umocnienie (19,6%) wyst puje w dolnej strefie ci cia w fazie p kania. Ci cie strumieniem wody powoduje bardzo małe umocnienie w granicach 0,2-0,3 %, a gł boko umocnienia nie przekracza 4 mm.

Pomiar chropowato ci powierzchni przecinanych blach dokonano profilografometrem Perthometer M2 firmy Mahr z głowic NHTG-100 o rozdzielczo ci profilu 0,012 mm i filtrze Gaussa dla odcinka elementarnego $L_c = 2,5$ mm i odcinka odwzorowania $L_f = 17,5$ mm.

Z pomiarów wynika, e chropowato ci powierzchni po ci ciu gilotyn w fazie plastycznego płyni cia wyniosła 1,59 mm, a



RYS. 3. Rozkład mikrotwardo ci w warstwie wierzchniej tytanu po ró nych rodzajach ci cia.
FIG. 3. Microhardness distribution in the surface layer of commercial titanium after different cutting kinds.

about 18% at a depth of 1,7 mm. Depth of strengthening was about 18mm (FIG. 3). Similar strengthening (~19%) was in the bottom zone of cutting, i.e. the cracking phase. Cutting with the water jet affected only a very small hardening of the top layer - about 0,2%. Hardening depth did not exceed 4 mm.

Roughness measurements of the cutting surfaces were made with the surface analyzer -Perthometer M2 by Mahr company, NHTG-100 measuring head with profile resolving power of 0,012 mm and Gauss's filter for an elementary measuring length $L_c = 2,5$ mm and reference length $L_f = 17,5$ mm were used.

According to the measurements it is seen that surface roughness is $R_a = 1,59$ mm for the plastic flow phase and $R_a = 7,18$ mm for the cracking phase when cutting process was carried out with the guillotine shear. Surface roughness for the cutting process by the water jet is $R_a = 5,79$ mm.

Final comments

From the analysis of the structural changes and strengthening of the surface layer after different cutting processes it results that cutting by the guillotine shear gives high cold work both in the elastic and plastic material flow phase and in the cracking phase. The cold work comes up to 18mm in depth. At a depth of 1,7 mm the increase in microhardness is 19%.

Cutting by the water jet with the additive of abrasive dust causes very small structural changes in the cutting zone manifesting in little hardening of the surface layer, the increase in microhardness of 0,2% and strengthening depth coming up to 4 mm.

Mechanical strengthening of the surface layer of the cutting implants affects the essential changes in internal material energy and creation a potential difference between the special zones. In tissue fluid's presence microcurrents can appear. Such a situation may affects the beginning of the local inflammatory states.

Therefore it is advisable to cut out the implants with the water jet causing only a very small structural changes and material strengthening of the surface layer. The changes, which reach to 4 mm in depth, can be removed easily by electrochemical polishing before passivation.

Roughness of the cutting surfaces is insufficient both in the

Uwagi ko cowe

Z analizy zmian strukturalnych i umocnienia warstwy wierzchniej po ró nych rodzajach ci cia wynika, e ci cie gilotyn powoduje wyst powanie silnego zgniotu zarówno w fazie spr ysto-plastycznego płyni cia jak i w fazie p kania zalegaj cego na gł boko ci 18 mm. Na gł boko ci 1,7 mm wzrost mikrotwardo ci wyniósł 19%. Ci cie strumieniem wody z dodatkiem proszku ciernego powoduje bardzo małe zmiany strukturalne w obszarze ci cia, małe umocnienie warstwy wierzchniej ze wzrostem mikrotwardo ci o 0,2-0,3% i gł boko ci umocnienia około 4 mm. Umocnienie warstwy wierzchniej implantów powoduje istotne zmiany energii wewn trznej materiału i tworzenie si ró nicy potencjałów mi dzy ró nymi strefami, co mo e powodowa w obecno ci płynów ustrojowych wyst pienie mikropr dów, zarodkuj cych miejscowe stany zapalne. Wskazane jest stosowanie wycinania implantów metod ci cia strumieniem wody wywołuj cej w warstwie wierzchniej niewielkie zmiany strukturalne i umocnienie materiału. Zmiany te zalegaj ce na gł boko do 4 mm mog by łatwo usuni te przez polerowanie elektrolityczne przed procesem pasywowania. Chropowato przecinanych powierzchni jest niezadowalaj ca zarówno metod ci cia gilotyn i wod . Dalsze próby b d zmierza do zoptymalizowania parametrów ci cia wod , stosuj c mniejsze rednice dysz oraz proszek o mniejszej wielko ci ziarna.

Podzi kowania

Praca finansowana przez KBN, grant No 23/PBZ-KBN-082/T08/2002

case of cutting with the guillotine shear and water jet. The further tests will head towards to optimization of the cutting parameters for the water jet. Both the smaller nozzle diameters and smaller size of the abrasive dust grains will be tested.

Acknowledgements

Financial support by KBN, grant No 23/PBZ-KBN-082/T08/2002

Pi miennictwo

References

- [1] Wójcik B., Jasi ski J., Stodolnik B., Jeziorski L., Lubas M., Ga dzik T.Sz.: System stabilizacji przeszczepu kostnego allogenicznego w protezoplastyce rekonstrukcyjnej i rewizyjnej panewek endoprotez stawu biodrowego, In ynieria Biomateriałów, nr 28, 2003 r.
- [2] Ga dzik T.Sz., Wójcik B., Niedzwidzki Ł., Dec J., Wymiana aseptycznie obluzowanych panewek cementowych stawu biodrowego, Chir. Narz. Ruchu i Ortop. Pol., 2002 r. 67 (2).

KOMPOZYTY CERAMICZNO-POLIMERO- WE NA BAZIE POROWA- TEGO HYDROKSYAPATYTU I MAKROMONOMERÓW LAKTYDOWO- W GLANOWYCH

Mikołaj Szafran, Ewa Bobryk, Marcin Bereza, Paweł Parzuchowski

POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WYDZIAŁ CHEMICZNY,
UL. NOAKOWSKIEGO 3, 00-664 WARSZAWA

Streszczenie

W artykule przedstawiono wst pne wyniki bada nad otrzymaniem biozgodnego, porowatego materiału syntetycznego, o okre lonej orientacji porów w przestrzeni, umo liwiaj cej komórkom kostnym "zagnie d enie si " oraz tworzenie ko ci. Opracowano

CERAMIC-POLYMER COMPOSITES BASED ON POROUS HYROXYAPATITE AND LACTIDE-CARBONATE MACROMONOMERS

Mikołaj Szafran, Ewa Bobryk, Marcin Bereza, Paweł Parzuchowski

WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, FACULTY OF CHEMISTRY,
UL. NOAKOWSKIEGO 3, 00-664 WARSAW, POLAND

Summary

The introductory results of studies on the obtaining of a biocompatible, porous synthetic material of defined orientation of pores in space, permitting the bone cells to infest and form bones, are presented. A ce-

kompozyt ceramiczno-polimerowy, w którym faz ceramiczna stanowi porowaty spiek z hydroksyapatytu a faz polimerow (biodegradowalną) wypełnia je w różnym stopniu pory makromonomer laktydowo-w glanowy. Taki skład kompozytu pozwolił pogodzić porowatość materiału z wymaganą wytrzymałość mechaniczną oraz spełnić warunek biogodności.

Słowa kluczowe: bioceramika, kompozyty ceramiczno-polimerowe, ceramika hydroksyapatytowa, polimery laktydowo-w glanowe,
[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 150-154]

Wprowadzenie

Uzyskanie odpowiedniego biomateriału, który pełniłby rolę implantu kostnego, a jednocześnie nie spełniałby wymogów medycznych oraz zapewniał sukces kliniczny, jest tematem wielu prac badawczych [1]. Materiałem najbardziej zbliżonym pod względem chemicznym do części nieorganicznej tkanki kostnej jest hydroksyapatyt, który otrzymywany drogą syntezy chemicznej, stanowi surowiec wyjściowy w procesie otrzymywania ceramiki porowatej. Odpowiednio zaprojektowane ceramiczne tworzywa porowate są jednocześnie materiałem morfologicznie zbliżonym do struktury gąbki kostnej, a dzięki optymalnie dobranej porowatości i wielkości porów umożliwiają wrostanie tkanki kostnej oraz trwałe jej połączenie z kością. Ceramika porowata, w szczególności z hydroksyapatytu, charakteryzuje się jednak niską odpornością na kruche pęknięcie, co w przypadku materiałów przeznaczonych do pełnienia funkcji mechanicznych staje się istotnym problemem. Wytwarzanie materiałów ceramicznych w postaci kompozytów, czyli kombinacji dwu i więcej dobranych faz, pozwala poprawić te niekorzystne właściwości [2, 3, 4]. Wprowadzenie w pory ceramicznego tworzywa porowatego odpowiednio dobranego polimeru organicznego prowadzi do uzyskania nowych charakterystyk wytrzymałościowych kompozytu. Zastosowanie biodegradowalnego polimeru umożliwia natomiast stopniowe wrostanie tkanki kostnej w pory kompozytu poprzez jednoczesną degradację polimeru, co prowadzi do jego całkowitego zastąpienia przez żywą tkankę.

Powyżej wymienione założenia zrealizowano przez wytworzenie ceramiki z hydroksyapatytu o żądanej porowatości i wielkości porów metodą osadzania ceramicznej masy lejnej na podłożu polimerowym (polimeric sponge method) i spiekaniu w optymalnych warunkach, a następnie polimeryzacji in situ w porach takiego tworzywa makromonomerów laktydowo-w glanowych [5, 6].

Materiały i metody badań

Do badań nad otrzymaniem ceramiki porowatej zastosowano dwa rodzaje proszków: hydroksyapatyt $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ (Aldrich) o powierzchni właściwej $62,95 \text{ m}^2/\text{g}$ (BET) i fosforan trójwapniowy $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_3$ (Aldrich) o powierzchni właściwej $63,75 \text{ m}^2/\text{g}$ (BET). Proszki te zestawiono w stosunku wagowym 1:3. Jako podłoże polimerowe wybrano gąbki poliuretanowe (Eurofoam Polska Sp. z o.o. o wielkości porów: 440-520 μm (S 31048) i 520-720 μm (S 31062), z których wycinano kształtki, a następnie pokrywano je tworzywem fosforanowym metodą osadzania z odpowiednio zestawionej ceramicznej masy lejnej. Próbkę były suszone i wypalane w temperaturze 1300°C przez 1h w piecu oporowym typu Carbolite z programowaną szybkością wzrostu temperatury: do $700^\circ\text{C} - 1^\circ\text{C}/\text{min}$, do $1300^\circ\text{C} - 5^\circ\text{C}/\text{min}$. Po oznaczeniu skurczliwości liniowej i

ramic-polymer composite has been developed, in which a porous ceramics of hydroxyapatite is the ceramic phase and a lactide-carbonate macromonomer is the polymer (biodegradable) phase filling to a various degree the pores. Such a composite composition permitted to reconcile the high porosity of the material with the required mechanical strength and fulfill the biocompatibility condition.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 150-154]

Introduction

The obtaining of a suitable material which would act as a bone implant and at the same time would fulfill the medical requirements and assure clinical success, is the subject of many research works [1]. Hydroxyapatite is a material most resembling, from the chemical point of view, the inorganic part of bone tissue. It is obtained by chemical synthesis and it is a starting material in the process of obtaining porous ceramics. The appropriately designed ceramic porous materials are simultaneously a material resembling the spongy structure of bones, and due to the optimal selection of porosity and pore size, they permit the ingrowing of the bone tissue and more permanent connection with the bone. However, porous ceramics, and especially of hydroxyapatite, is characterized by low resistance to brittle fracture, which in the case of materials intended to fulfill mechanical functions, becomes an important problem. The production of porous ceramics in the form of composites, i.e. combination of two or more selected phases, permits to improve these unfavorable properties [2, 3, 4]. The introduction of an appropriately selected organic polymer into the pores of the porous ceramic material leads to the obtaining of new strength characteristics of the composite. The use of a biodegradable polymer permits, however, gradual ingrowing of the bone tissue into the composite pores by simultaneous degradation of the polymer, which may lead to its complete replacement by a live tissue.

The above mentioned assumptions were realized by the formation of a hydroxyapatite ceramics of defined porosity and pore size by depositing ceramic casting slips on a polymer support (polymeric sponge method) and sintering under optimal conditions, and then polymerization in situ of lactide-carbonate macromonomers in the pores of such a material [5,6].

Materials and methods of studies

Two types of powders were applied for the studies on the obtaining of porous ceramics: hydroxyapatite $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ (Aldrich) of specific surface $62.95 \text{ m}^2/\text{g}$ (BET) and tricalcium phosphate (Aldrich) of specific surface $63.75 \text{ m}^2/\text{g}$ (BET). These powders were applied at a 1:3 ratio. Polyurethane sponges (Eurofoam Poland Ltd) of pore size 440-520 μm (S 31048) and 520-720 μm (S 31062) were used as the polymer base, of which profiles were cut out and then covered with the phosphate material by deposition of the appropriately prepared casting slip. The samples were dried and sintered at 1300°C for 1h in a Carbolite resistance furnace with a controlled temperature increase: up to $700^\circ\text{C} - 1^\circ\text{C}/\text{min}$, to $1300^\circ\text{C} - 5^\circ\text{C}/\text{min}$. After determination of the linear shrinkage and total porosity, a lactide-carbonate macromonomer of 15% concentration (first pore filling) and 35% (second pore filling) was introduced while maintaining 65°C and in a nitrogen atmosphere. After polymerization of the macromonomer in the ceramic material pores, the degree of pore filling and total porosity of the

porowato ci całkowitej do próbek wprowadzony został makromonomer laktydowo-w glanowy o st eniu 15% (pierwsze zapełnienie porów) i 35% (drugie zapełnienie porów), przy zachowaniu temperatury 65oC i w rodowiska azotu. Po polimeryzacji makromonomeru w porach tworzywa ceramicznego oznaczono stopie zapełnienia porów oraz porowato ci całkowit uzyskanego kompozytu. Dla wybranych próbek kompozytowych zbadano charakterystyk obci enie - odkształcenie w próbie ciskania przeprowadzonej w maszynie wytrzymało ciowej INSTRON. Badania mikrostrukturalne przeprowadzono w mikroskopie skanninowym typu Leo 1530.

Wyniki

W TABLICY 1 zestawiono rednie warto ci wła ciwo ci porowatych kształtek z tworzywa fosforanowego oraz kompozytów fosforanowo-polimerowych. Z danych tych wynika, e mo na uzyska kompozyt o du ej porowato ci powy ej 50%, niezbd nej ze wzgl du na przyszłe zastosowania, która mo e by regulowana ilo ci polimeru zapełniaj cego pory. RYSUNEK 1 ilustruje zmian charakterystyki wytrzymało ciowej opracowanego kompozytu w porównaniu do typowego przebiegu zniszczenia tworzywa porowatego nie wypełnionego cz ciowo polimerem. Przy ok. 30% stopniu zapełnienia porów (krzywa C) obserwowany jest nieznaczny wzrost wytrzymało ci w porównaniu do próbki bez polimeru, ale próbka nie ulega zniszczeniu nawet przy 15% jej odkształceniu, podczas gdy ok. 3-4% odkształcenie próbki z porowatego tworzywa fosforanowego zako czyło si jej katastroficznym zniszczeniem (krzywa A). Natomiast dwukrotny wzrost wytrzymało ci widoczny jest dla próbek kompozytowych, w których polimer zapełnia 50% obj to ci porów (krzywa B). Takie zachowanie pod obci eniem otrzymanych próbek kompozytowych rozszerza mo liwo ci aplikacyjne kruchych tworzyw ceramicznych o znacznej porowato ci.

Wielko porów g bki poliuretanowej Pore size of polyurethane sponge	Ceramiczne tworzywo porowate Ceramic porous material			Kompozyt Composite	
	Skurczliwość liniowa Linear shrinkage	G sto pozorna, Apparent density	Porowato całkowita Total porosity	Porowato całkowita Total porosity	Stopie zapełnienia porów Degree of pore filling
μm	%	g/cm^3	%	%	%
440-520	25,0	1,06	75,9	52,1 38,6	31,3 49,4
520-720	24,5	1,11	77,6	50,1	35,5

TABELA 1. Wła ciwo ci fizyczne próbek z tworzywa fosforanowego i kompozytów ceramiczno-polimerowych.

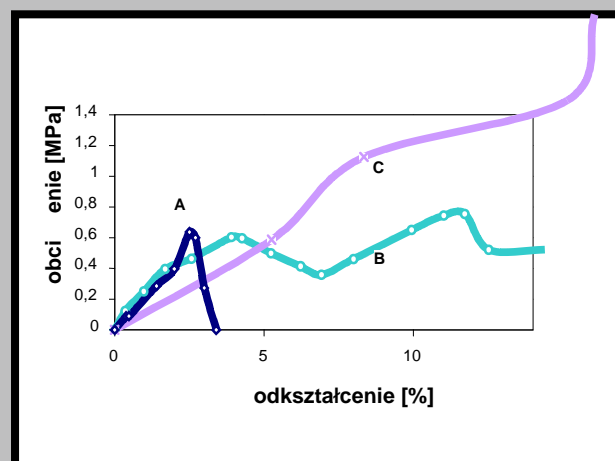
TABLE 1. Physical properties of samples from the phosphate material and ceramic-polymer composites.

RYSUNEK 2 przedstawia mikrostruktur próbek z tworzywa fosforanowego przed i po wypełnieniu porów polimerem laktydowo-w glanowym. Na RYS. 2A widoczny jest szkielet z ceramiki fosforanowej z licznymi sp kaniemiami, które zostaj 'zaleczone' faz polimerow jak wida na RYS.2B i C, co tłumaczy wzrost wytrzymało ci próbek. Na RYS.2B i C wida , e zgodnie z zało eniem pory w tworzywie porowatym zostały tylko cz ciowo zapełnione polimerem.

obtained composite were determined. For selected composite samples the loading - strain characteristics was determined in compression tests on an INSTRON strength apparatus. Microstructure studies were performed with a Leo 1530 scanning microscope.

Results

In TABLE 1 are presented the average values of the properties of porous samples made of the phosphate material and phosphate-polymer composites. From these data it appears that it is possible to obtain a composite of high porosity, over 50%, necessary due to future applications, which can be controlled by the amount of the polymer filling the pores. FIGURE 1 shows the changes in the strength characteristics of the developed composite in comparison to a typical destruction course of a porous ceramic material without the polymer in the pores. At about 30% of pore filling (curve C) a slight increase in strength is observed in comparison with the sample without the polymer, but the sample does not undergo destruction even at 15% of its strain, while at 3-4% strain of the sample from porous phosphate material ended in catastrophic destruction (curve A). However, a two fold increase in strength is visible for composite samples in which the polymer fills 50% of the pore

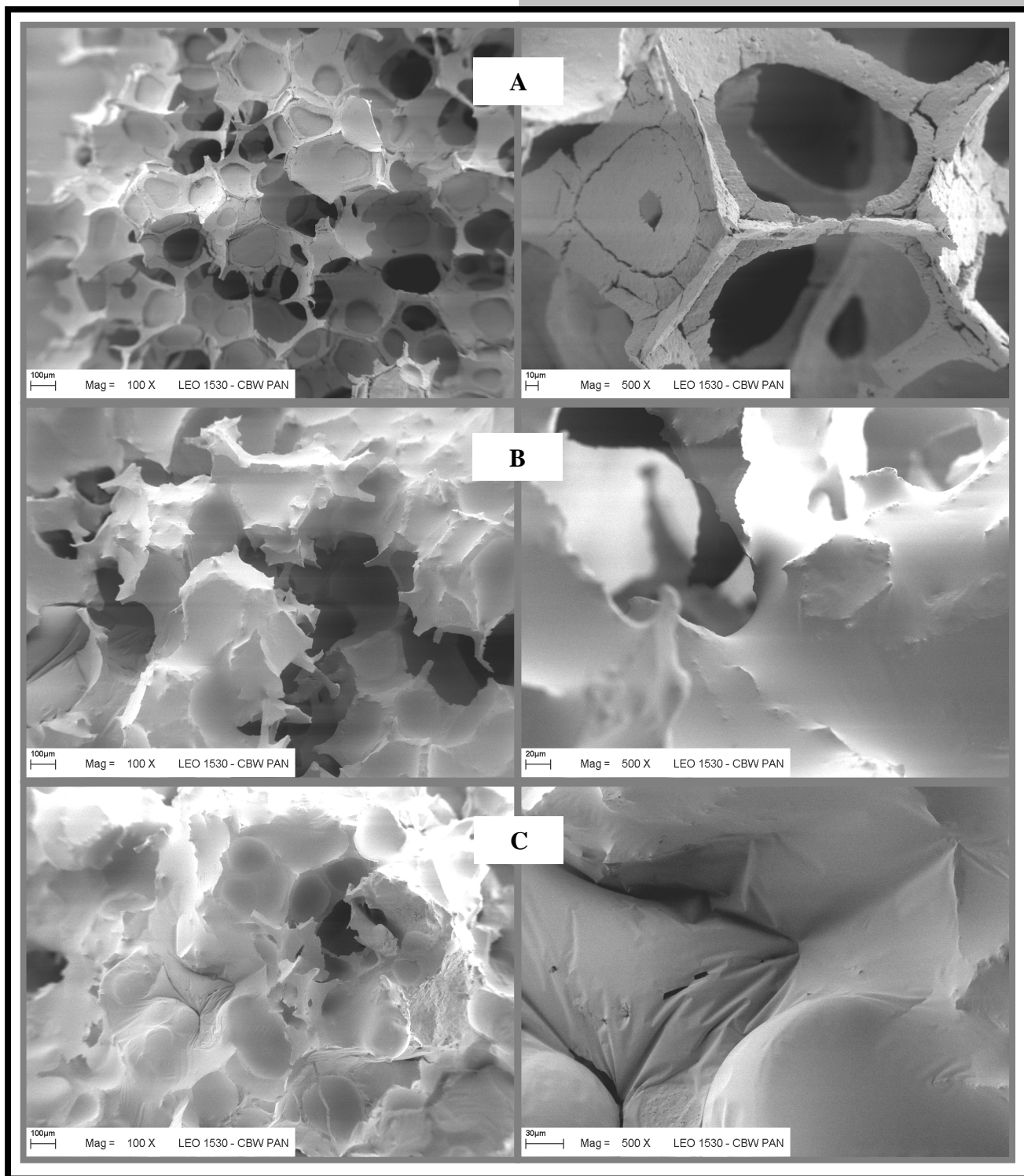


RYS. 1. Charakterystyki obci enie-odkształcenie w próbie ciskania kształtek: A-porowate tworzywo fosforanowe (P=70%); B-kompozyt ceramika-polimer (stopie zapełnienia porów - 30%); C-kompozyt ceramika-polimer (stopie zapełnienia porów - 50%).

FIG. 1. Load-strain characteristics in sample compression test: A-Porous phosphate material (P=70%); B-Ceramics-polymer composite (pore filling with polymer - 30%); C- Ceramics-polymer composite (pore filling with polymer - 50%).

volume (curve B). Such a behavior under load of the composite samples obtained broadens the application possibilities of brittle ceramic materials of considerable porosity. FIGURE 2 shows the microstructure of samples from the phosphate material before and after filling the pores with a lactide-carbonate polymer. In FIGURE 2A a skeleton from a phosphate ceramics can be observed, with numerous cracks which become "healed" with the polymer phase, as is seen in FIGURES 2B and 2C, which explains the increase in the strength of samples. FIGURES 2B and 2C show that in agreement with the assumption the pores in the porous material were only partially filled with the polymer.

Conclusions



RYS. 2. Mikrostruktura próbek ceramiki fosforanowej: A-tworzywo porowate ; B-kompozyt ceramika-polimer (30% wypełnienie porów polimerem); C-kompozyt ceramika-polimer (50% wypełnienie porów polimerem).
FIG. 2. Microstructure of phosphate ceramics samples: A-porous material; B-ceramics-polymer composite (30% filling of pores with polymer); C-ceramics-polymer composite (50% filling of pores with polymer).

Podsumowanie

W wyniku przeprowadzonych badań uzyskano kompozyt ceramiczno-polimerowy o osnowie z fosforanowego tworzywa porowatego, w którym pory częściowo są wypełnione

As a result of the studies carried out, a ceramic-polymer composite with a phosphate porous material matrix in which the pores are partially filled with a lactide-carbonate polymer, was obtained. The applied method of depositing the phosphate material on a selected polyurethane support permits to realize the predicted (assumed) size in the composite form. The amount of the polymer phase introduced to the porous material pores may be controlled by the polymerization parameters, whereas by modification of

ne polimerem laktydowo-w glanowym. Zastosowana metoda osadzania tworzywa fosforanowego na wybranym podłożu u poliuretanowym pozwala realizować założeń o wielkościach porów w strukturze kompozytowej. Ilość wprowadzonej do porów tworzywa porowatego fazy polimerowej może być kontrolowana parametrami procesu polimeryzacji, natomiast poprzez modyfikację składu chemicznego kopolimeru istnieje możliwość optymalizacji szybkości biodegradacji fazy polimerowej w kompozycie.

Podziękowania

Praca finansowana z grantu KBN No05/PBZ-KBN-082/T08/2002/06

Piśmiennictwo

- [1] L.L. Hench, "Bioceramics", J. Am. Ceram. Soc., 81(7), (1998), 1705-1728.
- [2] Chłopek J., "Kompozyty w medycynie", Kompozyty, 1(1), (2001), 50-54.
- [3] S. Ramakrishna, J. Mayer, E. Wintermantel, Kam W. Leong, "Biomedical applications of polymer-composite materials: a review", Composites Science and Technology, 61, (2001), 1189-1224.
- [4] M. Szafran, G. Rokicki, W. Lipiec, K. Konopna, K. Kurzydłowski,

the copolymer chemical composition it is possible to optimize the biodegradation rate of the polymer phase in the composition.

Acknowledgements

This work was financially supported by research grant PBZ-KBN-082/T08/2002/06

References

- "Porowata ceramika infiltrowana metalami i polimerami", Kompozyty, 2(5), (2002), 313-317.
- [5] M. Szafran, W. Lipiec, "Kompozyty ceramika-poli(metakrylan metylu) o osnowie z ceramicznego tworzywa porowatego z tlenku glinu otrzymanego metodą osadzania ceramicznej masy lejącej na podłożu polimerowym", Kompozyty, 4(10), (2004), 216-220.
 - [6] M. Szafran, G. Rokicki, E. Bobryk, A. Lamenta, "Kompozyty ceramika-polimer o osnowie z ceramicznego tworzywa porowatego z gradientem porowatości", Kompozyty, 4(11), (2004), 231-236.

WPŁYW NA WIETLANIA PROMIENIOWANIEM UV I DZIAŁANIA PLAZMY H₂O₂ NA WŁAŚCIWOŚCI POLISULFONU I POLIPROPYLENU

JOANNA KOWAL*, BARBARA CZAJKOWSKA**, EWA BULWAN*

*WYDZIAŁ CHEMII UJ, KRAKÓW,

**COLLEGIUM MEDICUM UJ KRAKÓW

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43,(2004),154-157]

Wprowadzenie

Polisulfon jest materiałem często stosowanym do otrzymywania membran filtracyjnych (np. do hemodializy) oraz do produkcji różnego typu implantów [1, 2]. Hydrofobowy charakter powierzchni polisulfonu, wynikający z budowy chemicznej tego polimeru, jest przyczyną zanieczyszczenia membran substancjami białkowymi [3]. Zmniejszenie hydrofobiczności powierzchni poprzez wprowadzenie ugrupowań polarnych powoduje, że proces adsorpcji białek ulega zahamowaniu. Izotaktyczny polipropylen jest wykorzystywany między innymi do produkcji siatek chirurgicznych. W pracy badano wpływ na wietlanie polisulfonu i polipropylenu promieniowaniem UV (254 i 265 nm) oraz efekt działania plazmy H₂O₂. Obserwowano zmiany zachodzące na powierzchniach polimerów.

Materiały i metodyka

Materiały: polisulfon (Aldrich, Mn = 16000), monofilamen-

THE EFFECT OF UV IRRADIATION AND H₂O₂ PLASMA TREATMENT ON THE PROPERTIES OF POLYSULFONE AND POLYPROPYLENE

JOANNA KOWAL*, BARBARA CZAJKOWSKA**, EWA BULWAN*

*FACULTY OF CHEMISTRY UJ, KRAKÓW,

**COLLEGIUM MEDICUM UJ KRAKÓW,

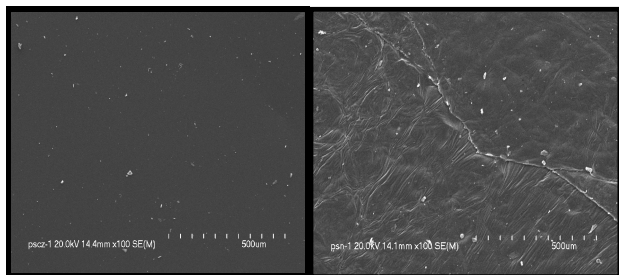
[Engineering of Biomaterials, 38-43,(2004),154-157]

Introduction

Polysulfone is frequently used as a material for filtration membranes (eg., for haemo dialysis) and medical implants of various types [1, 2]. The hydrophobic character of polysulfone surface, resulting from its chemical structure, is the reason of membrane fouling with proteins [3]. This effect can be diminished by making the surface more hydrophilic by the introduction of polar groups. Isotactic polypropylene is applied to the production of surgical mesh. In this paper the effect of the irradiation of polysulfone with the UV light absorbed by polysulfone and the effect of plasma H₂O₂ treatment was studied. The changes of the polymer surface were monitored.

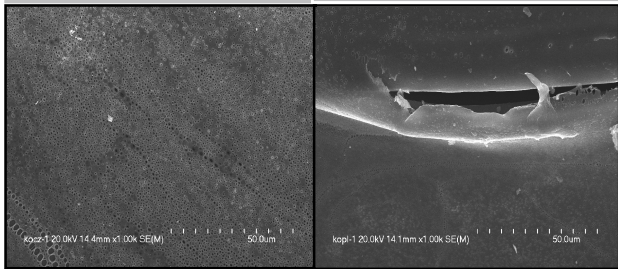
Materials and methods

Materials: polysulfone (Aldrich, Mn = 16000), isotactic



RYS.1. Obraz SEM niemodyfikowanego filmu polisulfonowego.
FIG.1. SEM micrograph of PSU unmodified film.

RYS. 2. Obraz SEM filmu polisulfonowego po 12h na wietlania.
FIG. 2. SEM micrograph of PSU film irradiated for 12 h.



RYS. 3. Obraz SEM ompozytu (PP+PSU) poddanego działaniu plazmy H_2O_2 .
FIG.3. (PP+PSU) composite after plasma treatment.

RYS.4. Obraz SEM siatki polipropylenowej poddanej działaniu plazmy H_2O_2 .
FIG.4. Polypropylene mesh after H_2O_2 plasma treatment.

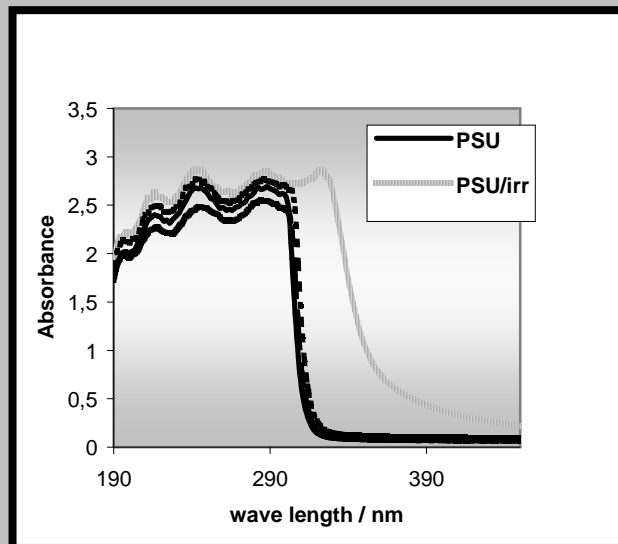
55, Bruker (FTIR), FTIR Excalibur (ATR) oraz Renishow 2000 (RS). Obserwacje SEM prowadzono przy użyciu mikroskopu JSM-5410 Jeol. Materiały naświetlano promieniowaniem UV ($\lambda=254$ and 265 nm) emitowanym przez rdnioeci nieniow lamp ASH 400 (otrzymane próbki oznaczono jako PSU/irr, (PP+PSU)/irr and PP/irr), a tak e poddawano działaniu plazmy H_2O_2 (tak uzyskane próbki oznaczono jako PSU/pl, (PP+PSU)/pl and PP/pl).

Wyjciowe i zmodyfikowane próbki umieszczano następnie w roztworze albuminy wołowej (6%) na okres 48 godzin, słuikiwano dwukrotnie buforem fosforanowym i suszono w temperaturze pokojowej. Materiały z zaadsorbowan albumin zanurzano w wodnym roztworze (2cm^3), zawieraj cym poliheksametylenobiguanid (0,0001%), poloksamer (0,05%), hydroksypropylometylceluloz (0,15%) i Na_2EDTA (0,02%), na 3 godziny (roztwór GOC). Ilo albuminy oznaczano metod spektrofotometrycznej rejestrując widmo UV wzgl dem GOC (absorbancja GOC jest zaniebdywana dla $\lambda>250$).

Wyniki i dyskusja

Obserwacje SEM wykazały, e zmodyfikowane powierzchnie polisulfonu (homogeniczne filmy i kompozyty) charakteryzuj si znacznie wi ksze szorstko ci ni próbki oryginalne (porównaj RYS.1-3). Nie stwierdzono natomiast zmian szorstko ci siatki PP (RYS.4).

Na RYSUNKU 5 przedstawiono widma UV niemodyfikowanego filmu PSU i filmów zmodyfikowanych. Absorbancja rozci gaj ca si w kierunku fal dłu szych (300 - 400 nm), odpowiedzialna za ótkni cie próbek, jest zwi zana z tworzeniem koniugowanych struktur polifenolowych [4].



RYS. 5. Widma UV próbek PSU przed modyfikacją, po naświetlaniu promieniowaniem UV w ciągu 12 godzin i trawieniu plazmą H_2O_2 (1 i 2 cykle).
FIG. 5. The UV absorption spectra of PSU samples before modification, after UV irradiation for 12 h and plasma treatment (1 and 2 cycles).

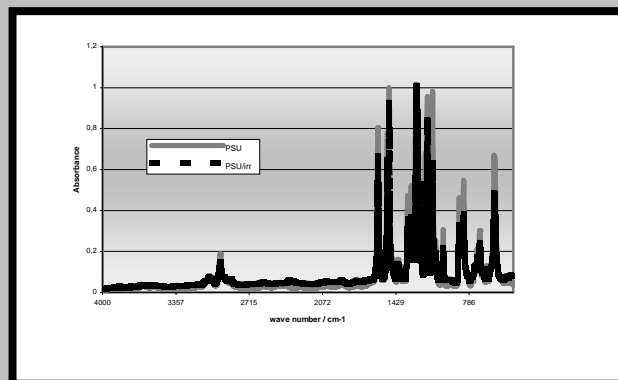


FIG. 6. The IR spectra of PSU films: unmodified and irradiated for 12 h.

polypropylene surgical mesh (PP) (Bard). The samples were prepared in the form of homogeneous films (PSU) or composites consisting of monofilament polypropylene mesh covered with polysulfone thin layer (PP+PSU). The spectra of polymer samples were recorded with 8452A Hewlett Packard (UV-VIS), EQUINOX 55, Bruker (FTIR), FTIR Excalibur (ATR) and Renishow 2000 (RS) spectrophotometers. SEM observations were performed with JSM-5410 Jeol instrument. The samples were irradiated with the UV light ($\lambda=254$ and 265 nm) with the aid of ASH 400 medium pressure mercury lamp (resulting samples denoted as PSU/irr, (PP+PSU)/irr and PP/irr) as well as subjected to plasma H_2O_2 etching in a Sterrad 100 system (resulting samples denoted as PSU/pl, (PP+PSU)/pl and PP/pl). The original and modified samples were then put into a bovine serum albumin solution (6%) for 48 h, rinsed with phosphate buffer two times and dried at room temperature. Materials with adsorbed albumin were then immersed for 3 h in the GOC solution (2cm^3), containing poliheksametylenobiguanide (0,0001%), poloxamer (0,05%), hydroxypropylmethylcellulose (0,15%) and Na_2EDTA (0,02%). The amount of albumin was determined by recording the UV spectrum with GOC as a reference and the evaluation of

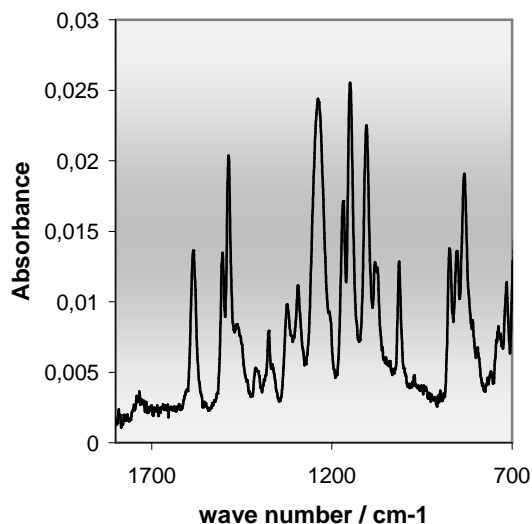
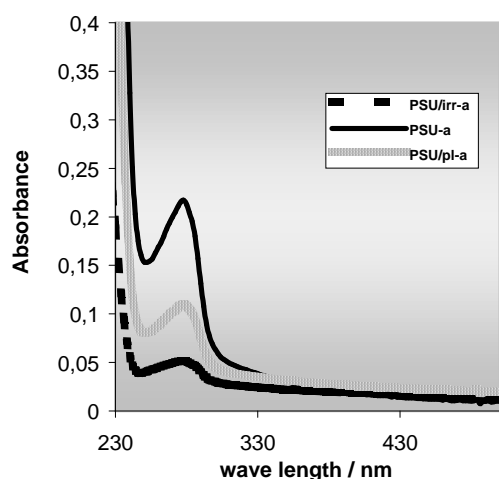


FIG. 7. IR ATR spectrum of (PP+PSU) composite after H_2O_2 plasma treatment.



RYS. 8. Widmo UV albuminy usuniętej z powierzchni PSU, PSU/pl i PSU/irr.
FIG. 8. UV absorption spectra of albumin removed from PSU, PSU/pl and PSU/irr.

towa siatka chirurgiczna z izotaktycznego polipropylenu (PP) (Bard). Próbkę otrzymano w postaci homogenicznych filmów lub kompozytów złożonych z siatki PP pokrytej cienką warstwą polisulfonów (PP+PSU).

Widma próbek polimerowych rejestrowano za pomocą spektrofotometrów 8452A Hewlett Packard (UV-VIS), EQUNOX. Analiza widm IR wykazała obniżenie absorbancji w zakresie czystości drgań grupy sulfonowej (1152 cm^{-1}) oraz grupy eterowej (1245 cm^{-1} and 791 cm^{-1}) [5], co świadczy o degradacji polisulfonów w wyniku modyfikacji. Stwierdzono również utworzenie ugrupowań karbonylowych ($\sim 1730\text{ cm}^{-1}$) i hydroksylowych ($\sim 3500\text{ cm}^{-1}$) [5] (przykładowe widma przedstawiono na RYS. 6 i 7). Widma polipropylenu w zakresie IR nie uległy zmianie po przeprowadzeniu modyfikacji.

Ilość albuminy wołowej zaadsorbowanej na zmodyfikowanych przez nas wietlanych filmach PSU/irr i kompozytach (PP+PSU)/irr jest znacznie niższa od ilości albuminy zdję-

protein adsorption was done with a spectrophotometric method at 280 nm (absorbance of the GOC solution at $\lambda > 250\text{ nm}$ is negligible).

Results and discussion

The modified surfaces of PSU (homogeneous films and composites) present a much rougher morphology than the cast PSU, which was observed in SEM micrographs (see FIG. 1-3). No changes in roughness were observed in the case of polypropylene mesh (FIG. 4).

The UV spectra of unmodified and modified polysulfone films are presented in FIG. 5. The absorption extending into the long wave range of the spectrum (300 - 400 nm), responsible for the yellowing of the samples, was attributed to the formation of conjugated polyphenyl structures [4].

The decrease of sulfone (1152 cm^{-1}) and ether (1245 cm^{-1} and 791 cm^{-1}) bands [5] connected with the degradation of polysulfone as well as the formation of carbonyl ($\sim 1730\text{ cm}^{-1}$) and hydroxyl ($\sim 3500\text{ cm}^{-1}$) groups [5] were confirmed by spectroscopic measurements in the IR region carried out for modified samples (see for example FIG. 6 and 7).

The spectra of modified polypropylene were almost identical with the spectra of original samples.

The amount of bovine serum albumin adsorbed on the modified polysulfone surfaces, PSU/irr and (PP+PSU)/irr is considerably lower than that taken from the original films and composites. Plasma treatment of PSU and (PP+PSU) leads also to the decrease in albumin adsorption, but the effect is smaller than in the case of photochemical modification. The small decrease in albumin adsorption was observed for PP mesh modified with plasma. The UV spectra of albumin removed from the PSU samples (PSU unmodified, PSU irradiated for 12 h and PSU after plasma treatment, solutions in GOC) are presented in FIG. 8; the values of absorbance at the maximum of albumin band (280 nm) for investigated materials are collected in TABLE 1.

It was previously established [6] that the contact angle of water to the investigated PSU films and composites (PP+PSU) visibly decreased after UV irradiation and plasma treatment (e.g., PSU: 82° , PSU/irr: 44° , PSU/pl: 63°), which

Próbka Sample	Absorbancja przy 280 nm Absorbance at 280 nm
PSU	0,216
PSU/irr	0,05
PSU/pl	0,108
PP	0,091
PP/irr	0,091
PP/pl	0,082
(PP+PSU)	0,267
(PP+PSU)/irr	0,091
(PP+PSU)/pl	0,108

TABELA 1. Absorbancja albuminy (280 nm) usuniętej z powierzchni badanych materiałów.

TABLE 1. Absorbance of albumin removed from the surface of investigated materials.

confirms the decrease in hydrophobicity of modified polysulfone surfaces and is in agreement with the observed diminished albumin adsorption.

Conclusions

Taking into account the presented results, one can con-

też z niemodyfikowanych filmów PSU i kompozytów. Działanie plazmy również prowadzi do zahamowania adsorpcji, lecz efekt ten jest mniejszy niż w przypadku modyfikacji fotochemicznej. Stwierdzono nieznaczne obniżenie ilości albuminy zaadsorbowanej na siatkach PP modyfikowanych plazmowo. Widma UV albuminy usuniętej z próbek PSU (PSU niemodyfikowany, PSU naświetlony przez 12 godzin i PSU poddane działaniu H_2O_2) przedstawiono na RYS. 8; wartości absorbancji przy maksimum pasma albuminy (280 nm) dla badanych materiałów zebrano w TABELI 1. Na podstawie wcześniejszych badań [6] stwierdzono, że kiedykolwiek zwilżalność folii PSU i kompozytów (PP+PSU) przez wodę znacząco malała po naświetlaniu promieniowaniem UV i poddaniu działaniu H_2O_2 , PSU/irr: 44°, PSU/pl: 63°, co świadczy o zmniejszeniu hydrofobowości modyfikowanego polisulfonu i jest zgodne z wykazanim w tej pracy zahamowaniem adsorpcji albuminy na modyfikowanych powierzchniach.

Wnioski

Na podstawie otrzymanych wyników można wnioskować, że naświetlanie polisulfonu promieniowaniem UV absorbowanym przez ten polimer (254 i 265 nm) w obecności tlenu molekularnego jak również poddanie polisulfonu działaniu plazmy H_2O_2 zmienia powierzchnię polimeru czyniąc ją bardziej hydrofilową dzięki utworzeniu polarnych grup zawierających tlen (karbonylowe, hydroksylowe). Modyfikacja fotochemiczna i plazmowa powodują obniżenie zdolności polisulfonu do adsorpcji albuminy. Reasumując można stwierdzić, że modyfikacja pod wpływem promieniowania UV i plazmy H_2O_2 może stanowić metodę zmian właściwości badanego materiału w zależności od potrzeb aplikacyjnych.

WPŁYW CHEMICZNEJ I FIZYCZNEJ MODYFIKACJI POWIERZCHNI POLISULFONU NA REAKCJE KOMÓRKOWE IN VITRO

B. CZAJKOWSKA*, J. KOWAL**, M. BŁAŚCZYK*** M. PTAK*, M. BOBEK*, J. CIELIK*

*KATEDRA IMMUNOLOGII COL.MED. U.J

**WYDZIAŁ CHEMII U.J

*** WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI AGH

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 157-160]

Polisulfon od wielu lat stosowany jest w różnych dziedzinach medycyny, zarówno do produkcji sprzętu medycznego, membran do dializy, jak i różnego rodzaju implantów. Tradycyjnie stosowana PSU zawdzięcza swoim właściwościom fizykochemicznym i ogólnie uznanej biouzgodności. Nowoczesne podejście do zastosowania biomateriałów nie uznaje uniwersalnego pojęcia biouzgodności, a odnosi je raczej do miejsca anatomicznego zastosowania lub tej (w przypadku sprzętu medycznego) zaproponowanego przeznaczenia. Istnieje więc możliwość doboru materiału o

clude that the irradiation of polysulfone with the light absorbed by the polymer (254 and 265 nm) in the presence of molecular oxygen as well as the treatment with H_2O_2 plasma change polysulfone surface making it more hydrophilic due to the introduction of polar groups containing oxygen (carbonyl, hydroxyl). These modifications resulted in the diminished ability of polysulfone to adsorb albumin. Polypropylene surgical mesh is resistant to the UV irradiation and plasma H_2O_2 . Thus the photochemical modification and H_2O_2 plasma treatment can be considered as methods changing the properties of an investigated biomaterial accordingly to a particular application.

References

- [1] S. Savariar, G. S. Underwood, E. M. Dickinson, P. J. Schielke, A. S. Hay, Desalination 144 (2002) 15.
- [2] J. J. W. A van Loon, J. Bierkens, J. Maes, G. E. R. Schoesters, D. Ooms, B. Z. Doulabi, J. P. Veldhuijzen, J. Biomed. Mat. Res. 29 (1995) 1155.
- [3] M. Ulbricht, M. Riedel, U. Marx, J. Membr. Sci. 120 (1996) 239
- [4] C. N. R. Rao, in: Ultra - Violet and Visible spectroscopy. Chemical applications, Butterworths, London 1967.
- [5] L. J. Bellany, in: Infra-red spectra of complex molecules, John Wiley and Sons, New York 1975.
- [6] J. Kowal, B. Czajkowska, E. Bulwan, M. BłaścZYK, E. Pamuła, "Modification of polysulfone by means of UV irradiation and H_2O_2 plasma treatment", poster, European Cells&Materials Conference ECM V, Davos, June 2004.

THE IMPACT OF CHEMICAL AND PHYSICAL MODIFICATION OF POLYSULFONE SURFACE ON CELLULAR REACTIONS IN VITRO

B. CZAJKOWSKA*, J. KOWAL**, M. BŁAŚCZYK***, M. PTAK*, M. BOBEK*, J. CIELIK*

*DEPT. OF IMMUNOLOGY, COLL. MED., JAGIELLONIAN UNIVERSITY

**FACULTY OF CHEMISTRY JAGIELLONIAN UNIVERSITY

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

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 157-160]

Polysulfone has for years been used in various medical applications in both manufacture of medical equipment, dialysis films and implants of various types. This wide variety of PSU applications is due to its physico-chemical properties and generally recognised biocompatibility. In the present

optymalnym oddziaływaniu na żywy organizm, przy założeniu, że znane jest miejsce jego zastosowania. Pierwszy kontakt płynów ustrojowych i komórek ma miejsce na powierzchni materiału i oddziaływania te zależą zarówno od chemicznych jak i fizycznych właściwości powierzchni. Ogólnie panuje pogląd, że powierzchnie hydrofobowe silnie wiążą białka na powierzchniach hydrofilowych, które z kolei sprzyjają adhezji komórek. W warunkach in vivo adhezja komórek zachodzi równocześnie nie z adsorpcji białek z płynów ustrojowych i ustala się pewna dynamiczna równowaga, uzależniona od czynników zarówno materiałowych jak i ustrojowych. Pewnym przybliżeniem reakcji organizmu na różnego typu modyfikacje powierzchni PSU są podjęte przez nas badania in vitro. W badaniach tych sprawdzaliśmy reakcje wybranych komórek na różnego typu modyfikacje powierzchni PSU. Zastosowane modyfikacje miały na celu zasymulowanie zmian powierzchni, jakie mogą zachodzić na PSU podczas sterylizacji (oddziaływanie promieniowania UV i plazmy H_2O_2) lub, gdy PSU występuje w kompozycie z innym materiałem (połączenie z siatką polipropylenową i włóknami włóknistymi). Reakcje komórkowe oceniano poprzez oznaczenie żywotności makrofagów, fibroblastów i osteoblastów i ilości zsyntetyzowanego kolagenu i IL-1 pod wpływem zmodyfikowanej lub nie powierzchni PSU w porównaniu do kontrolnych hodowli.

Materiał i metody

Folie z PSU (0,2 g PSU, Aldrich Chemical Comp. Inc. rozpuszczano w 10 cm³ dichlorometanu, wlewano na płytkę szklaną o wymiarach 10x10 cm i suszono folie z PSU na wietlane U.V (na wietlanie prowadzono lampę rtęciową przy ciśnieniu przez 12 godz. $\lambda = 254$ nm) folie z PSU poddane działaniu plazmy H_2O_2 przez 40 min kompozyt PSU z siatką PP kompozyt PSU z włóknami C ludzka linia makrofagowa KMA ludzka linia fibroblastyczna HS-5 ludzka linia osteoblastyczna hFOB 1,19

Hodowle komórkowe prowadzono w 12-dółkowych płytkach, w których na dnie umieszczano krążki z badanych materiałów o średnicy 20mm i dodawano 2ml zawiesiny komórek

Stosowano następujące stężenia komórek i media hodowlane:

Mf 2×10^5 komórek /ml medium (RPMI, 0,1mM hipoksantyna, 0,016mM tymidyna, 0,05mM merkaptioetanol, 10% FCS)
Fb 2×10^4 komórek/ml medium (RPMI + 10% FCS)

osteo 2×10^4 komórek / ml medium (Dulbecco's modified Eagle's medium nutrient mixture F-12 HAM, 0,3 mg/ml G-418, 10% FCS)

Żywotność komórek po 7 dniach hodowli oznaczano zaadoptowując do potrzeb eksperymentu metodę przy użyciu MTT.

Stężenie kolagenu typu I i IL-1 wykonano metodą ELISA.

Wyniki i dyskusja

Wpływ promieniowania UV i plazmy H_2O_2 na żywotność komórek przedstawiono na RYS. 1 i 2.

Zarówno promieniowanie UV, jak i działanie plazmy H_2O_2 powoduje zmianę charakteru powierzchni PSU z hydrofobowej w kierunku hydrofilowej, co zostało wykazane przez pomiary widm i kąta zwilżenia. Jak widać z RYS. 1 i 2 tego typu modyfikacja powierzchni powoduje obniżenie żywotności fibroblastów i osteoblastów, natomiast makrofagi nie reagują na nią.

In approach to biomaterials there is no universal notion of biocompatibility; instead, it is referred to the place of anatomic application, or (in case of equipment) its proposed use. It is possible then to select a material of optimal effect on a living organism, assuming the place of its application is known. Body fluids and cells first get in contact on the material surface and these interactions depend on both chemical and physical properties of the surface. Hydrophobic surfaces are generally thought to bind proteins stronger than hydrophilic surfaces which facilitate cellular adhesion. In in vivo environment cellular adhesion takes place simultaneously with protein adsorption from body fluids, and a certain dynamic equilibrium occurs, dependent on both material and organism factors. The aim of our in vitro experiments was an attempt to explain the organism's reactions to different types of PSU surface modifications. The purpose of our modifications was to simulate surface changes that can take place on the PSU during sterilization (impact of UV irradiation and plasma H_2O_2), when PSU is used in a composite material (with polypropylene mesh and carbon fibres). The cells' reactions were evaluated by determination of the vitality of macrophages, fibroblasts and osteoblasts, and the amount of synthesized collagen and IL-1 under the influence of modified or non-modified PSU surface against the control cultures.

Material and methods

PSU foils (0,2 g PSU, Aldrich Chemical Comp. Inc., were dissolved in 10 cm³ of dichloromethane, poured on a glass plate of 10x10 cm in size and dried.

PSU foils UV irradiated (by a mean pressure mercury discharge lamp over 12 hours. $\lambda = 254$ nm)

PSU foils treated with plasma H_2O_2 over 40 min

PSU composite with PP mesh

PSU composite with C fibres

human macrophagous line KMA

human fibroblastic line HS-5

human osteoblastic line hFOB 1, 19

Cell cultures were run in 12-well plates at the bottom of which disks of the tested materials 20 mm in diameter were placed and 2 ml suspension of cells was added.

The following concentrations of cells and culture media were used:

Mf 2×10^5 of cells/ml medium (RPMI, 0,1 mM hypoxanthine, 0,016mM thymidine, 0,05mM mercaptoethanol, 10% FCS)
Fb 2×10^4 of cells/ml medium (RPMI+10% FCS)

Osteo 2×10^4 of cells/ml medium (Dulbecco's modified Eagle's medium nutrient mixture F-12 HAM, 0,3 mg/ml G-418, 10% FCS)

Cell viability after seven-day culture was determined by a method, adapted for the present research, using MTT.

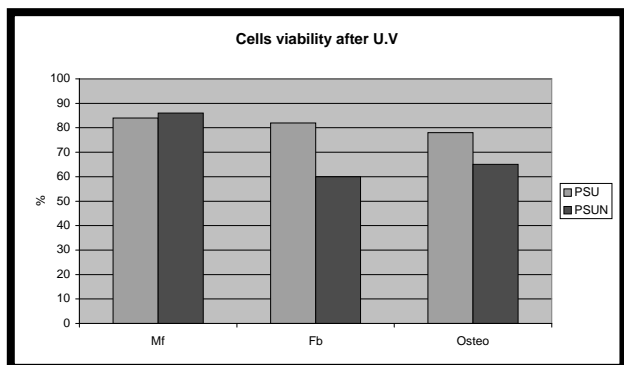
Collagen I and IL-1 concentration was performed by ELISA tests.

Results and discussion

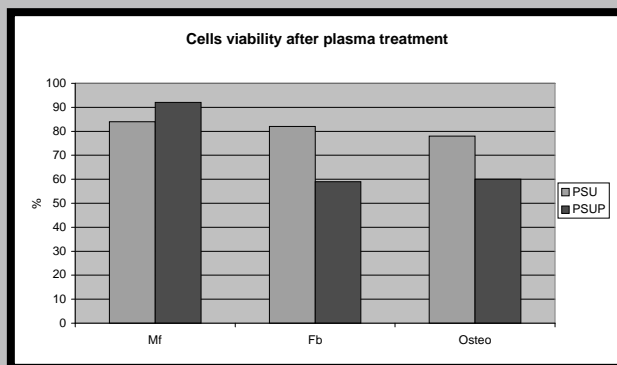
The impact of UV irradiation and plasma H_2O_2 on cell viability has been shown in FIGS. 1 and 2.

Both UV irradiation and reaction of plasma H_2O_2 change the PSU surface character from hydrophobic toward hydrophilic, which has been proved by measurement of spectra and wetting angle. As seen in FIGS. 1 and 2, this type of surface modification lowers the viability of fibroblasts and osteoblasts, while macrophages remain unaffected.

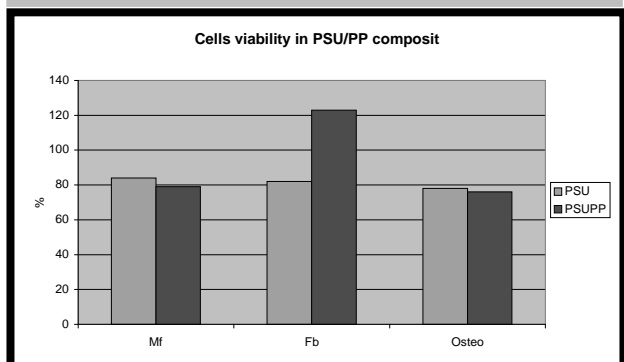
The effect of polypropylene mesh or carbon fibres placed



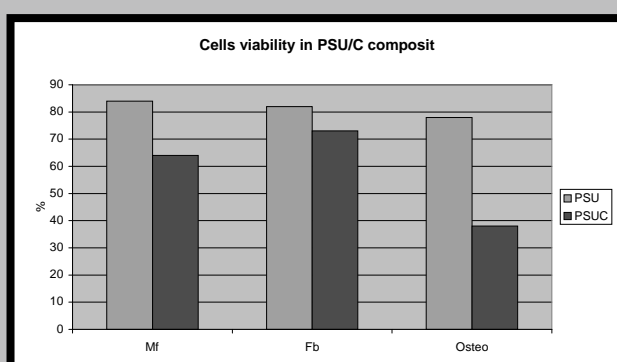
RYS. 1.
FIG. 1.



RYS. 2.
FIG. 2.



RYS. 3.
FIG. 3.



RYS. 4.
FIG. 4.

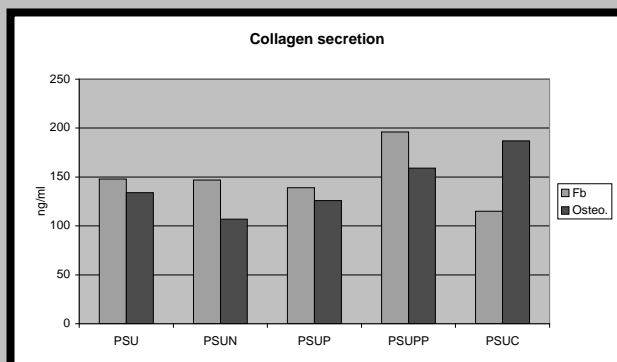
Wpływ siatki polipropylenowej lub włókien w głowicy umieszczonych pod powierzchni PSU na wytworno przedstawiono na RYS. 3 i 4.

Różne rodzaje komórek rozpoznają w sposób odmienny substancję umieszczoną pod powierzchni PSU; osteoblasty wyraźnie nie reagują na wytworność ani na zmiany powierzchni PSU spowodowane zarówno włóknami w głowicy jak i siatką PP.

W celu zbadania wpływu zastosowanych modyfikacji na zdolność metaboliczną komórek oznaczono ilość wydzielonego przez fibroblasty i osteoblasty kolagenu typu I.

Całkowitą ilość kolagenu oznaczono w supernatantach po 7-dniowej hodowli przedstawiono na RYS. 5. Jak widać z RYS. 5 modyfikacja PSU poprzez działanie promieniowania UV i plazmy H_2O_2 nie wpływa istotnie na ilość wyprodukowanego kolagenu przez oba rodzaje komórek, natomiast siatka PP i włókna w głowicy zmieniają ilość wyprodukowanego i wydzielonego na zewnątrz komórki kolagenu.

Oznaczenie całkowitej ilości kolagenu wyprodukowanego przez komórki na badanych powierzchniach wnosi istotne informacje praktyczne dotyczące np. doboru metod sterylizacji czy też dogodnego miejsca anatomicznego zastosowania. Jednak całkowita ilość wydzielonego kolagenu nie obrazuje wpływu modyfikacji na zdolność do jego syntezy, ponieważ nie uwzględnia wytworności komórek, która na ogół jest odmienna na zmodyfikowanym materiale. Uwzględniając



RYS. 5.
FIG. 5.

under the PSU surface on the viability has been shown in FIGS. 3 and 4.

Different types of cells recognise the substance placed under the PSU surface in different ways; osteoblasts clearly react to the PSU change caused by both carbon fibres and PP mesh with lowered viability.

In order to check the effect of applied modifications on cells' metabolic abilities the amount of collagen I secreted by fibroblasts and osteoblasts was determined.

The total amount of collagen determined in supernatant (liquids) after a seven-day culture has been shown in FIG. 5. As can be observed, PSU modification by UV irradiation and plasma H_2O_2 treatment does not significantly affect the

	Fb viability [%]	Collagen [ng/ml]	Collagen* [ng/ml]	Osteo. viability [%]	Collagen [ng/ml]	Collagen* [ng/ml]
PSU	82	148	-----	78	134	---
PSUN	60	147	108	65	107	111
PSUP	59	139	106	60	126	103
PSUPP	123	196	222	76	159	130
PSUC	73	115	130	38	187	65

TABELA I.
TABLE I.

TABELA II.
TABLE II.

control [Fb]	126
PSU	109
PSUN	100
PSUP	159
PSUPP	141

TABELA III.
TABLE III.

niaj c ywotno komórek wyliczono warto ci teoretyczne (collagen*), które zestawiono w TABELACH 1 i 2 w porównaniu do warto ci oznaczonych.

Jak wida z RYS. 5 i TABEL fibroblasty i osteoblasty odmiennie reaguj na zastosowane modyfikacje PSU. Fibroblasty rozpoznaj modyfikacj samej powierzchni spowodowan promieniowaniem UV i działaniem plazmy H_2O_2 , osteoblasty reaguj przede wszystkim na substancj umieszczon pod powierzchni , t.j w tym przypadku na siatk PP i włókno w glowe.

Poziom wydzielanej IL-1 oznaczono w celu sprawdzenia czy badane modyfikacje indukuj wzrost syntezy tej interleukiny w fibroblastach. Wyniki w pg/ml przedstawiono w TABELI 3.

Z uzyskanych wyników wida , e adna z zastosowanych modyfikacji nie powoduje wzrostu syntezy IL-1, co po rednio mo na interpretowa jako brak własno ci prozapalnych tych materiałów.

Wnioski

Stwierdzono odmienn reakcje fibroblastów i osteoblastów na ró ne modyfikacje powierzchni PSU. Fibroblasty wzmagaj syntez kolagenu pod wpływem promieniowania UV i działania plazmy H_2O_2 na powierzchni PSU. Osteoblasty nie reaguj na tego typu modyfikacj , natomiast wzmagaj syntez kolagenu pod wpływem umieszczonych pod powierzchni włókien w glowych lub siatki polipropylenowej. Uzyskane dane mog by zastosowane przy doborze metod sterylizacji a tak e przy planowaniu materiałów kompozytowych do ró nych zastosowa .

amount of collagen produced by both types of cells, while PP mesh and carbofibres do change the amount of collage produced and secreted by the cells. Determination of the total amount of collagen produced by cells on the tested surface gives important practical information as to e.g. choice of sterilization method, or a convenient place for anatomic application. However, the total amount of secreted collagen does not represent the effect of modification on the capability for its synthesis, because it does not consider the cell vitality, which is generally lowered on the modified material. Considering the cell viability theoretical values have been calculated (collagen*) and tabulated in TABLES 1 and II, in comparison with the determined values.

As can be seen in FIG. 5 and the TABLES, fibroblasts and osteoblasts react differently to the PSU modifications. Fibroblasts recognise the modification of the surface itself, caused by UV irradiation and plasma H_2O_2 action, while osteoblasts react first of all to the substance placed under the surface, i.e. PP mesh and carbofibre in this case.

The level of secreted IL-1 was determined in order to check whether the tested modifications induce the increase of interleucine synthesis in fibroblasts. The results in pg/ml have been shown in TABLE 3.

From the results it follows that none of the modifications used causes an increase of IL-1 synthesis, which indirectly can be interpreted as lack of inflammatory properties of these materials.

Conclusions

Different reactions of fibroblasts and osteoblasts to different PSU surface modifications have been observed. Fibroblasts induce collagen synthesis under the influence of UV irradiation and plasma H_2O_2 action on PSU surface. Osteoblasts remain unaffected by this type of modification, however they induce collagen synthesis under the influence of carbofibres or polypropylene mesh placed under the surface. The obtained data can be used in the selection of sterilization methods and design of composite materials for various applications.

KOROZJA ELEKTROCHEMICZNA STOPU Ti6Al4V Z WARSTWAMI NANOKRYSTALICZNEGO DIAMENTU

GRZEGORZ BOGUSŁAWSKI*, TADEUSZ BŁASZCZYK**, HENRYK SCHOLL**

* POLITECHNIKA ŁÓDZKA, WYDZIAŁ MECHANICZNY, INSTYTUT IN YNIERII MATERIAŁOWEJ, ZAKŁAD IN YNIERII BIOMEDYCZNEJ, 90-924 ŁÓD , STEFANOWSKIEGO 1/15;

** UNIWERSYTET ŁÓDZKI, WYDZIAŁ FIZYKI I CHEMII, KATEDRA CHEMII OGÓLNEJ I NIEORGANICZNEJ, 90-136 ŁÓD , NARUTOWICZA 68;

Streszczenie

Prezentowano wyniki bada korozyjnych w roztworze Tyrode'a powierzchni próbek wykonanych z Ti6Al4V i pokrytych warstw nanokrystalicznego diamentu (NCD). Cech szczególnie próbek był ich kształt - próbki posiadały w rodku otwory nieprzelotowe o trzech ró nych rednicach. Stwierdzono, e na wszystkich próbkach wyst puje korozja w erowa, jednak miejsce powstawania w erów jest ró ne - dla próbek

ELECTROCHEMICAL CORROSION OF Ti6Al4V ALLOY WITH NANOCRYSTALLINE DIAMOND COATINGS

GRZEGORZ BOGUSŁAWSKI*, TADEUSZ BŁASZCZYK**, HENRYK SCHOLL**

*TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING, DIVISION OF BIOMEDICAL ENGINEERING, 90-924 ŁÓD , STEFANOWSKIEGO 1/15

**UNIVERSITY OF LODZ, FACULTY OF PHYSICS AND CHEMISTRY, DEPARTMENT OF GENERAL AND INORGANIC CHEMISTRY, 90-136 ŁÓD , NARUTOWICZA 68

Abstract

Experimental results of corrosive tests in Tyrode's

o małej rednicy otworu atak korozyjny wyst powa na brzegu otworu, dla próbek o du ej rednicy otworu korozyji ulegała powierzchnia oddalona od kraw dzi. Efekt ten powi zano ze zmianami odporno ci korozyjnej materiału wywołanymi procesami nanoszenia NCD. Stwierdzono te ró ne warto ci potencjałów korozyjnych oraz potencjałów przebicia dla poszczegól nych próbek. Charakterystyki impedancyjne nie potwierdziły istotnego zró nicowania wła ciwo ci badanych próbek.

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 160-163]

Wprowadzenie

Stop tytanowy Ti6Al4V jest tym biomateriałem, który stopuje si do wytwarzania implantów medycznych [1]. Kształty implantów na ogół s zró nicowane - cz sto wyst puj na nich ostre kraw dzie, szczególnie silnie nara one na atak korozyjny. Wi kszo klasycznych bada korozyjnych przeprowadza si na płaskich powierzchniach materiałów [2-4], które charakteryzowa si mog innymi cechami ni strefy graniczne. Tym samym uznano, e wa nym jest przeprowadzenie bada próbek ze stopu Ti6Al4V, których powierzchnia nie jest płaska. Wyst puj ce zmiany tej powierzchni s zdefiniowane - próbki na płaskiej powierzchni posiadaj otwory nieprzelotowe o ró nych rednicach, b d cych prostym odwzorowaniem ró norodnych kraw dzi rzeczywistych implantów. Istnienie takich otworów wpływa mo e na wła ciwo ci materiałów, szczególnie wtedy, kiedy nanoszone s warstwy nanokrystalicznego diamentu (NCD). Otwory takie mog powodowa zró nicowanie lokalnych parametrów tworzenia si warstw NCD i dodatkowo wpływa na wła ciwo ci korozyjne próbki. Do bada korozyjnych wybrano roztwór Tyrode'a, który jest jednym ze sztucznych odpowiedników rzeczywistego roztworu fizjologicznego.

Materiały i metodyka bada

Badane próbki Ti6Al4V miały kształt walca o rednicy 14 mm i wysoko ci 4 mm. Na górnej powierzchni próbek zostały wykonane otwory nieprzelotowe na gł boko 2 mm o rednicach 2.5 mm, 3.5 mm i 5.5 mm (RYS. 1a). Powierzchnie próbek były przygotowywane przez mechaniczne szlifowanie i polerowanie na papierach ciernych oraz elektropolerowanie. Na tak przygotowane powierzchnie zostały naniesione w Zakładzie In ynierii Biomedycznej Instytutu In ynierii Materiałowej Politechniki Łódzkiej warstwy nanokrystalicznego diamentu (NCD) metod g stej plazmy wysokiej cz stotliwi ci [5]. Badania korozyjne przeprowadzono w Katedrze Chemii Ogólnej i Nieorganicznej Uniwersytetu Łódzkiego z zastosowaniem potencjostatu PGSTAT30 (AUTOLAB EcoChemie) z modułem FRA2. Naczy ko elektrolityczne (RYS. 1b) było wykonane w postaci walca szklanego o rednicy 14 mm i wysoko ci 12 mm (obj to roztworu ok. 1.8 cm³) z powierzchni aktyw n badanej próbki, która kontaktowała si z roztworem, równ 1cm². W naczy ku umieszczone były trzy elektrody: próbka - elektroda badana (E_w), elektroda pomocnicza z folii Pt w kształcie walca (E_c) i elektroda odniesienia (E_{ref}). Elektroda odniesienia była specjalna miniaturowa elektroda kalomelowa w nasyconym roztworze KCl, z g stym spiekim szklanym. Elektroda ta do naczy ka dołączana była przez kapilar Ługina, napełnian roztworem Tyrode'a.

Przed pomiarami korozyjnymi próbki były płukane alkoholem etylowym i osuszane argonem. Pomiarowy roztwór Tyrode'a był odtleniany argonem. Pomiary prowadzono w temperaturze 20°C±1°C. Badania korozyjne dla ka dej prób-

solution of surface of Ti6Al4V samples coated by nanocrystalline diamond (NCD) have been presented. The samples had distinctive shape. There were made non-passing holes in three different diameters in the middle. As it was stated, pitting corrosion on the surface of all specimens was found, while, places where pits arise are different. In the case of samples with small diameter of holes, corrosive attack appears around the edge of holes, while for samples with big holes it was observed on the surface located farther from the edge. This effect has been joined to changes of corrosion resistance of materials caused by deposition processes of NCD. Moreover, different values of corrosion potential and breakdown potentials for individual specimen have been found. Impedance characteristics have not confirmed significant differences of properties for investigated samples.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 160-163]

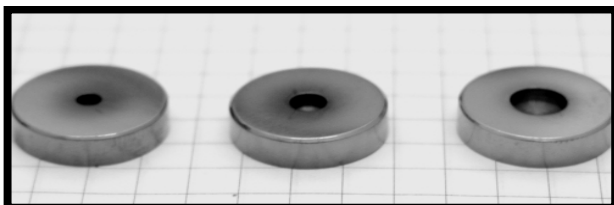
Introduction

Titanium alloy Ti6Al4V is such a biomaterial that is applied for fabrication of medical implants [1]. Shape of implants is usually much differential. They have very often sharp edges that are strongly put in jeopardy of corrosive attack. Most of classic corrosion examinations are carried out using flat surfaces of materials [2-4] that may possess different features than boundary zones. Therefore, performance of tests using Ti6Al4V samples with out-of-flat surface was found as essential. Occurring changes of this surface are defined; samples have non-passing holes in different diameters being a simple imaging of actual edges of implants. Presence of such holes can have an impact on materials properties, particularly when NCD films are deposited. They can cause differentiation of local parameters of NCD films formation and can additionally put influence on corrosive properties of a specimen. The Tyrode's solution, one of artificial equivalents of natural physiological salt solution, was chosen for further investigations.

Materials and methods

Examined Ti6Al4V samples in shape of a cylinder had 14 mm in diameter and 4 mm in height. On the upper surface, non-passing 2 mm deep holes (diameters: 2.5 mm, 3.5 mm and 5.5 mm) were made (FIG. 1a). The surfaces of samples were mechanically grinded and polished using abrasive papers and electropolished before process. Such prepared surfaces were deposited thin films of nanocrystalline diamond (Division of Biomedical Engineering, Institute of Materials Science and Engineering, Technical University of Lodz) using a dense high frequency plasma method [5]. Whereas corrosive tests carried out by means of a potentiostat PGSTAT30 (AUTOLAB EcoChemie) with a module FRA2 were done in Department of General and Inorganic Chemistry, University of Lodz. An electrolytic cell (FIG. 1b) were made as a glass cylinder in 14 mm diameter and 12 mm in height (volume of solution c.a. 1.8 cm³) with an active surface of examined sample equals 1 cm² being in contact with the solution. Three electrodes were put into the cell: a sample - examined electrode (E_w), a Pt-foiled auxiliary electrode in shape of a cylinder (E_c) and a reference electrode (E_{ref}). A special miniature calomel electrode put into saturated solution of KCl with dense glass sint were used as the reference electrode. Such an electrode was connected to the cell by a Lugin's capillary tube filled by Tyrode's solution.

All specimens had been washed in ethanol and dried



RYS. 1. Kształt otworów badanych próbek.
FIG. 1. Shape of holes of investigated samples.

ki wykonywano w cyklach składających się z następujących sekwencji:

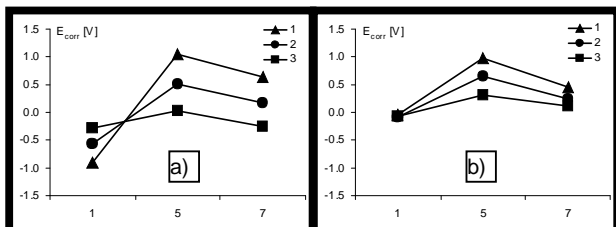
1. pomiar potencjału korozyjnego E_{corr} w otwartej p tli (OCP);
2. pomiar charakterystyki polaryzacyjnej metod Stern - Geary w zakresie potencjałów polaryzacji od $E_{corr} - 20$ mV do $E_{corr} + 20$ mV z szybkością zmian potencjału 0.5 mV/s;
3. pomiar charakterystyki impedancyjnej w potencjale E_{corr} z użyciem sygnału harmonicznego $E_{AC}=5$ mV w zakresie częstotliwości od 0.04 Hz do 10000 Hz;
4. pomiar charakterystyki polaryzacyjnej w zakresie potencjałów od E_{corr} do potencjału przebicia E_b z szybkością zmian potencjału 1.0 mV/s. Dla wybranych próbek po uzyskaniu przebicia powtarzano pomiar tej charakterystyki;
5. powtórny pomiar potencjału korozyjnego E_{corr} w otwartej p tli (OCP);
6. pomiar charakterystyki impedancyjnej jak w p. 3.
7. wymiana roztworu i kolejny pomiar potencjału korozyjnego E_{corr} w otwartej p tli (OCP).

Po zakończeniu badań korozyjnych powierzchnie próbek były analizowane z użyciem mikroskopów optycznego i elektronowego (HITACHI S-3000N z mikroanalizatorem rentgenowskim EDX THERMO NORAN).

Wyniki i podsumowanie

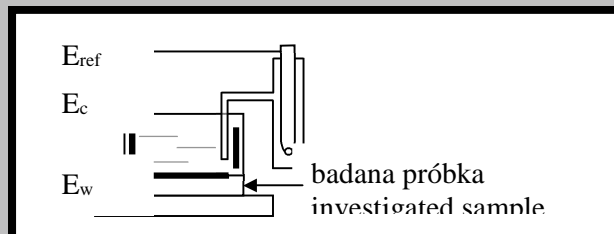
Wartości potencjałów korozyjnych E_{corr} określono na podstawie ustalonych potencjałów OCP, zwykle po czasie pomiaru wynoszącym około 2000 s. Potencjały E_{corr} otrzymane w wymienionych cyklach pomiarowych przedstawione są na RYS. 3a dla próbek bez warstw NCD i na RYS. 3b dla próbek z warstwami NCD. Jak widać, po cyklu polaryzacji anodowej potencjały E_{corr} próbek bez warstw NCD, mierzone w roztworze pomiarowym zawierającym produkty korozji, przesuwały się od ok. 0.2 V do ok. 2 V w stronę anodową. Również po wymianie roztworu widoczne jest przesunięcie E_{corr} w tę samą stronę. Wartości przesunięcia E_{corr} próbek z warstwami NCD po analogicznych cyklach anodowych są ponad dwa razy mniejsze.

Charakterystyki polaryzacyjne, inaczej potencjodynamiczne, wykonywane były od potencjału E_{corr} a do zde-



RYS. 3. Potencjały E_{corr} : a) próbek bez warstw NCD i b) próbek z warstwami NCD względem cyklu pomiarów; 1 - duży, 2 - średni, 3 - mały otwór.

FIG. 3. E_{corr} potentials of: a) samples without NCD and b) samples with NCD vs. measurement cycle; 1 - large, 2 - middle, 3 small hole diameter.



RYS. 2. Konstrukcja naczynia ka elektrolitycznego.
FIG. 2. Construction of electrolytic cell.

with Argon before corrosive measurements. The Tyrode's solution was deoxidized by Argon as well. Measurement temperature was equalled $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Corrosive examinations for each sample were performed in cycles contained following sequences:

1. measurement of corrosive potential E_{corr} as open circuit potential (OCP);
2. measurement of polarization characteristic by Stern-Geary' method in the range of polarization potentials from $E_{corr} - 20$ mV to $E_{corr} + 20$ mV with a rate of potential changes 0.5 mV/s;
3. measurement of impedance characteristic at potential E_{corr} with usage of harmonic signal $E_{AC}=5$ mV in the range of frequency from 0.04 Hz to 10000 Hz;
4. measurement of polarization characteristic in the range of potentials from E_{corr} to breakdown potential E_b with a rate of potential changes 1.0 mV/s. The procedure was repeated for selected samples when breakdown was obtained;
5. repeated measurement of corrosive potential E_{corr} as open circuit potential (OCP);
6. measurement of impedance characteristic (see point 3);
7. exchange of solution and next measurement of corrosive potential E_{corr} as open circuit potential (OCP).

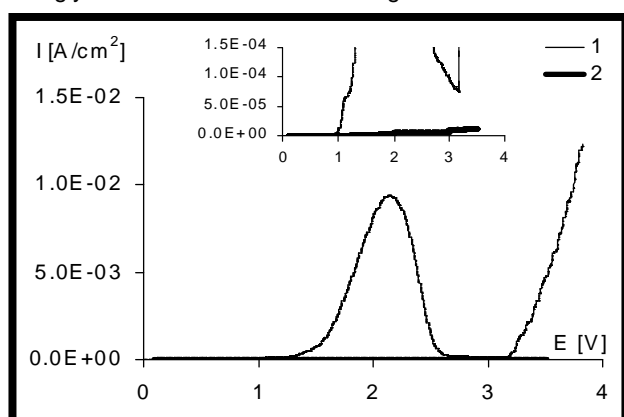
Afterwards, surfaces of samples were analyzed using both an optical and electron microscope (HITACHI S-3000N with an X-Ray microprobe analyzer EDX THERMO NORAN).

Results and conclusions

Values of corrosive potentials E_{corr} were determined on the basis of estimated potentials OCP. Duration of measurement usually stayed at around 2000 s. Potentials E_{corr} received during above-mentioned measurement cycles for samples without NCD films are shown in FIG. 3a and for samples with these films are presented in FIG. 3b. After anodic polarization, potentials E_{corr} of samples without NCD films, measured in solution containing corrosion products, are displaced from around 0.2 V to around 2 V in anodic side. Such a displacement can be observed after exchange of solution as well. After analogical anodic cycles, values of displacements E_{corr} of samples coated by NCD films are estimated as more than twice smaller.

Polarization characteristics, so called potentiodynamic, were carried out from potential E_{corr} up to detected breakdown potential E_b . For instance, a potentiodynamic characteristic of a sample covered by NCD film with the smallest hole is presented in FIG. 4. The same figure shows a fragment of a characteristic with significant breakdown (curve 1) and another characteristic (curve 2) done accordingly to the cycle 4 of the examination methodology. Worth to notice is that the second characteristic has a lack of a high peak of anodic reactions. These reactions, together with intensive emission of gaseous products, can be linked with oxidization of an active surface of carbon forming during deposition of NCD films [6]. Obtained values of breakdown potentials E_b are presented in FIG. 5. The potentials E_b of samples without NCD films are significantly higher than

tektowanego potencjału przebicia E_b . Przykładowa charakterystyka potencjodynamiczna dla próbki pokrytej warstwą NCD z najmniejszym otworem, pokazana jest na RYS. 4. Na tym samym rysunku przedstawiony jest fragment charakterystyki z wyraźnym widocznym przebiegiem (krzywa 1) oraz druga charakterystyka (krzywa 2), wykonywana zgodnie z cyklem 4. metodyki badania. W tym samym efektem jest brak na drugiej charakterystyce wysokiego pików reakcji anodowych. Reakcje te, połączone z intensywnym wydzielaniem się produktów gazowych, prowadzi do utleniania się aktywnej powierzchni węgla powstającego w procesach nanoszenia warstw NCD [6]. Uzyskane wartości potencjałów przebicia E_b przedstawione są na RYS. 5. Zwraca uwagę fakt, że potencjały E_b próbek bez warstw NCD są znacznie wyższe niż potencjały E_b próbek z tymi warstwami. Wartości E_b w bardzo małym stopniu zależą od parametrów nanoszenia warstw NCD. Natomiast miejsca powstawania w otworach silnie zależą od średnicy otworów - dla małych średnic w otworach powstają głównie na krawędzi otworu, dla średnich i dużych średnic - w otworach powstają w obszarze odległym o kilka milimetrów od brzości otworu.



RYS. 4. Charakterystyki potencjodynamiczne próbki (mały otwór) z warstwami NCD; 1 - pierwszy cykl, 2 - drugi cykl.

FIG. 4. Potentiodynamic characteristics of sample (small hole) with NCD layers; 1 - first cycle, 2 - second cycle.

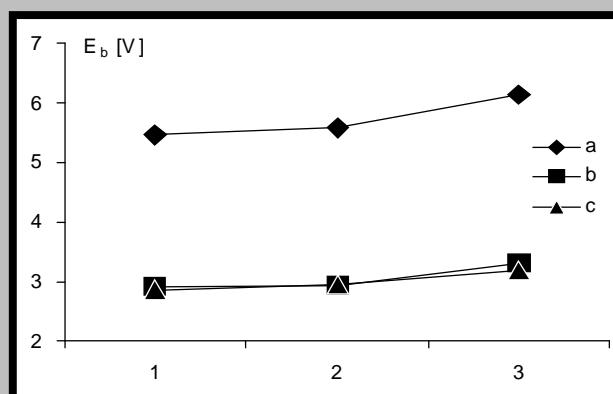
Stern - Geary pokazały, że przed ten jest dla próbek z naniesionymi warstwami NCD ponad dwukrotnie większy od prądów wymiany dla próbek bez warstw NCD. Nie można wykluczyć, że efekt ten jest związany z dużą aktywnością powierzchni węgla po naniesieniu NCD. Charakterystyki impedancyjne wyznaczone przed polaryzacją anodową i po tej polaryzacji nie pokazały istotnego wpływu nanoszonych warstw NCD oraz średnic otworów na impedancję granicy faz roztwór Tyrode'a - próbki.

Reasumując otrzymane wyniki można stwierdzić, że warstwy NCD nanoszone na powierzchnie próbek posiadających otwory nieprzelotowe, wywołują różne zmiany ich właściwości korozyjnych, powodując z jednej strony przesunięcie potencjału E_{corr} w stronę anodów, ale z drugiej strony obniżenie napięcia przebicia E_b . Aby wytłumaczyć te przeciwstawne efekty należy przede wszystkim opracować metody redukcji aktywnego węgla i określić parametry utworzonej w ten sposób powierzchni - zarówno korozyjne jak i mechaniczne oraz biologiczne.

potencjałów E_b of samples coated by these. Values of E_b minimally depend on deposition parameters of NCD films. Whereas places, where pits forming, are strongly dependent on diameters of the holes. In the case of samples with small diameter of the holes, corrosive attack appears around the edge of holes, while for samples with medium and big holes it was observed on the surface located farther from the edge (a few millimeters).

The exchange currents determined by Stern - Geary method showed that such a current is more than twice bigger for samples with NCD films than currents for samples without NCD film. It seems to be possible that this effect is connected with high activity of carbon surface after NCD deposition. Impedance characteristics determined both before anodic polarization and after that did not indicate any significant influence of deposited coatings and holes diameters on impedance of phase boundary between Tyrode's solution and sample.

Summarizing obtained results can be stated that nanocrystalline diamond films fabricated on the surface of



RYS. 5. Potencjały przebicia E_b próbek od wielkości otworu (1-duży, 2-średni, 3-mały otwór); a) bez NCD, b), c) z NCD po różnym nanoszeniu warstw.

FIG. 5. Breakdown potentials E_b of samples vs. hole diameter (1-large, 2-middle, 3-small hole); a) without NCD layers, b), c) - with NCD layers after different preparation of NCD.

samples with non-passing holes produce various changes of their corrosive properties. On the one hand, they cause a displacement of potential E_{corr} in anodic direction and on the other hand decreasing of breakdown voltage E_b . An explanation of these inverse effects demands to evolve a method of active carbon reduction and to estimate corrosive, mechanical and biological parameters of surface formed in such a way.

Pi miennictwo References:

- [1] J. Marciniak; "Biomateriały w chirurgii kostnej", Wydawnictwo Politechniki Śląskiej; Gliwice 1992.
- [2] M.C. Abrini, A. Cigada, G. Rondeli and B. Vicentini; Biomaterials 18, (1997), 783-787.
- [3] D.J. Wever, A.G. Veldhuizen, J. de Vries, B.J. Busscher, D.R.A. Uges, J.R. van Horn; Biomaterials, 19, (1998), 761-769.
- [4] E. Krasicka-Cydzik; Inżynieria Biomateriałów, 14, 2001, 27-31
- [5] S. Mitura; "Nanotechnology in Materials Science", Pergamon - Elsevier Science Ltd, 2000, S. Mitura, A. Mitura, P. Niedzielski and P. Couvrat, "Nanocrystalline Diamond Coatings".
- [6] L.C. Hian, K.J. Grehan, R.G. Compton, J.S. Foord, F. Marken; J. Electrochem. Soc., 150, (2003), E59.

POWŁOKI HYDROKSY- APATYTU NA AZOTOWA- NYM STOPIE TYTANU Ti6Al4V

A. STOCH*, E. DŁUGO *, W. JASTRZBSKI*,
B. TRYBALSKA*, T. WIERZCHO **

*AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI, KRAKÓW
** POLITECHNIKA WARSZAWSKA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ WARSZAWA

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 164-167]

Wstęp

Tytan i jego stopy należą do najbardziej obiecujących biomateriałów stosowanych jako implanty kości. Do ich wyróżniających właściwości należą: wysoka odporność na korozję biologiczną i względnie dobre własności mechaniczne oraz lekkość. Jednakże ze względu na niską odporność na ścieranie i możliwość uwalniania składników do środowiska biologicznego, ich zastosowanie jest nieco ograniczone [1, 2]. Istotną rolę w rozwiązywaniu tych problemów odgrywa obróbka powierzchniowa stopów tytanu. Obróbka cieplna przez wyładowanie jarzeniowe, zwłaszcza przez azotowanie jarzeniowe i elektroforetyczne nanoszenie warstw hydroksyapatytu (HAP), wydają się w tym względzie najbardziej obiecujące. Azotowane warstwy powierzchniowe zawierające $TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$ wykazują wysoką odporność korozyjną i na ścieranie oraz wykazują wysoką biogodność [3-5]. Warstwy hydroksyapatytu, materiału bioaktywnego, przyjaznego dla tkanek, zapewniają powstawanie bezpośredniego wiązania z kością i w ten sposób skracają czas osseointegracji, przyspieszając powrót do zdrowia.

Elektroforetyczne nanoszenie hydroksyapatytu [6, 7] jest sposobem tanim, wygodnym i może być stosowane w tworzeniu warstw na podłożach przewodzących, również o nieregularnych kształtach i morfologiach.

Celem niniejszej pracy było elektroforetyczne wytworzenie powłok hydroksyapatytowych na azotowanej powierzchni stopu tytanu Ti6Al4V. Aby wzmocnić przyczepność warstwy HAP do podłoża, powierzchnia azotowanego stopu tytanowego była wstępnie pokrywana warstwą tytanowo-krzemionową metodą zol-żel [8]. Próbkę pokrytą elektroforetycznie była następnie wygrzewana w piecu rurowym w atmosferze argonu. Morfologia i skład chemiczny uzyskanych warstw HAP badano za pomocą mikroskopii skaningowej (SEM/EDS). Analizę fazową warstw oparto na spektroskopii w podczerwieni (FTIR). Aktywność biologiczną leżono metodą in vitro podczas termostataowania w syntetycznym osoczu (SBF).

Człowiek do wiadomości

Materiały

Hydroksyapatyt - proszek produkcji Chema- Elektromet Co., Rzeszów.

Tytanowo-krzemionkowy zol otrzymany z czteroetoksylanu Si(OC_2H_5)₄ i propoksylowej pochodnej tytanu Ti(OC_3H_7)₄.

HYDROXYAPATITE COATINGS ON NITRIDED TITANIUM ALLOY SURFACE

A. STOCH*, E. DŁUGO *, W. JASTRZBSKI*,
B.T. RYBALSKA*, T. WIERZCHO **

*AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, CRACOW
**WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE, WARSAW

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 164-167]

Introduction

Titanium and its alloys belong to the most promising metallic biomaterials used for bone implants. Their distinguishing properties include: high resistance to biological corrosion and relatively good mechanical properties accompanied by low density. However, for their low frictional wear resistance and the possibility to release constituents into surrounding biological environment their use is somehow limited [1, 2]. An important role in solving these problems is played by surface treatment of titanium alloys. Glow discharge heat treatments, especially glow discharge nitriding and electrophoretic deposition of hydroxyapatite (HAP) layers, appear to be considerable promising in this respect. The nitrided surface layers $TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$ show high resistance to friction wear or corrosion and have high biocompatibility [3-5]. Layers of hydroxyapatite, the more tissue friendly material, ensures the formation of direct bond with the living bone and thereby may shorten the time of osseointegration, reducing the surgical restrictions. Electrophoretic deposition of hydroxyapatite [6, 7] is a low-cost flexible technique and it can be applied in the deposit formation on conductive substrates also that of complex shape or morphology.

The aim of presented work was to produce hydroxyapatite coatings on nitrided titanium alloy Ti6Al4V by electrophoresis. To improve the adhesion of HAP-layer to the support, the nitrided titanium alloy surface was precovered with titania-silica sol-gel film. The electrophoretically coated samples were then sintered in a tube furnace in an argon atmosphere. Morphology and chemical composition of final HAP layers was observed using Scanning Electron Microscopy (SEM/EDS). The phase analysis of the layer was performed with Infrared Spectroscopy (FTIR). The biological activity of the surface was observed during thermostatic held in simulated body fluid (SBF).

Experimental

Materials

Hydroxyapatite - powder produced by Chema- Elektromet Co., Rzeszów.

Titania - silica sol was prepared from tetraethoxysilane Si(OC_2H_5)₄ and titanium propoxide Ti(OC_3H_7)₄.

Ethanol - (absolute).

Simulated Body Fluid (SBF) - water solution with composition almost equal to that of human blood plasma.

Nitrided titanium alloy - rings of Ti6Al4V with surface nitrided

Etanol - (absolutny).

Syntetyczne osocze (SBF) - roztwór wodny o składzie odpowiadającym cym osoczu krwi ludzkiej.

Stop tytanowy azotowany - kraki Ti6Al4V powierzchniowo azotowane, zawierające TiN+Ti₂N + alfa Ti(N) wytworzony w wyładowaniu jarzeniowym. Azotowanie przeprowadzono w temperaturze 850°C; czas obróbki był 4 h, a ciśnienie w komorze wynosiło 3 hPa. Topografię powierzchni określono za pomocą profilometru skanującego Form Talysurf series 2 firmy Taylor Hobson oraz mikroskopu sił atomowych Digital Instruments Company.

Suspensja i elektro-osadzanie

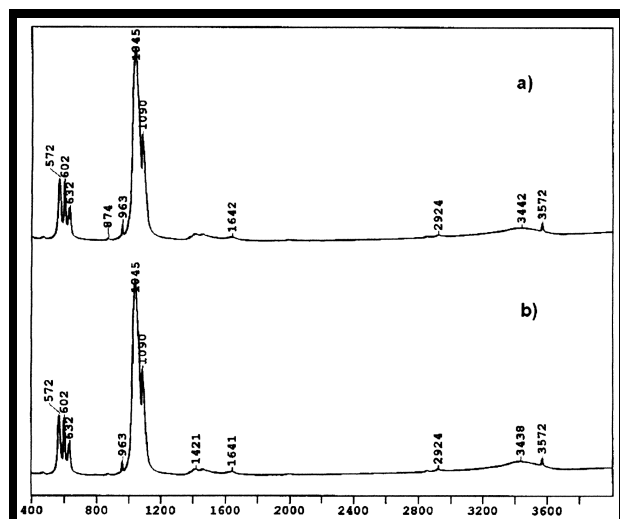
Suspensja do pokrywania elektroforetycznego wytwarzano rozpraszając ultradźwiękami proszek HAP w etanolu. Rednica ziaren w suspensji była poniżej 0.5µm. Częstki HAP przyjmowały ładunek dodatni i osadzały się na katodzie.

Po obróbce wewnętrznej azotowane kraki stopu tytanowego pokrywano wstępnie zolem tytanowo-krzemionkowym techniką wywrzawiania. Następnie kraki suszono, wywrzawiano i podwieszano jako katodę w wannie elektroforetycznej zawierającej suspensję HAP. Osadzanie przebiegało w temperaturze pokojowej. Grubość narastającej warstwy HAP regulowano przez odpowiedni dobór parametrów elektrycznych elektroforezy i czasu osadzania. Kraki tytanowe "wieńce" pokryte warstwą hydroksyapatytu ostro nie wyjmowano z wanny elektroforetycznej, suszono w ciepłym powietrzu a następnie wywrzawiano w atmosferze argonu.

Wyniki i dyskusja

Głównym atutem pokrywania elektroforetycznego jest niezmienny skład chemiczny i struktura cząstek HAP w wyjściowej suspensji i w osadzonej warstwie. Charakterystyczne właściwości elektroforezy potwierdzają widma FTIR (RYS.1a, b).

Widma FTIR (RYS.1a,b) są jednakowe i mają kształt charakterystyczny dla krystalicznego hydroksyapatytu; maksymalne absorpcje IR występują przy 572, 602, 963, 1045 i 1090 cm⁻¹ są związane z wibracjami wibracji wiązania P-O w grupie



RYS. 1. Widmo absorpcyjne FTIR HAP ujętego do sporządzenia suspensji (a) oraz warstwy HAP (b) po osadzeniu elektroforetycznym.

FIG. 1. FTIR absorption spectrum of HAP used for the suspension preparation (a) and the HAP layer after electrodeposition (b).

layers of TiN + Ti₂N + alfa Ti(N) obtained in glow discharge. Nitriding was carried out at temperature 850°C; time of the treatment was 4 h, while the pressure of nitrogen in chamber equalled to 3 hPa. Surface topography was determined by means of a Taylor Hobson scanning profilometer Form Taly-surf series 2 and by atomic force microscope of Digital Instruments Company.

Suspension and electrodeposition

Suspension for electrophoretic deposition was prepared by ultrasonic agitation of HAP powder in ethanol. The grain size of HAP in the suspension was below 0.5µm. HAP particles acquired positive charge and their deposition occurred at the cathode.

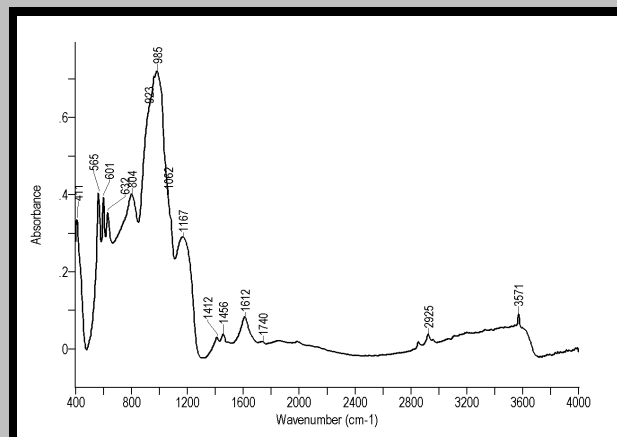
After preliminary treatments, nitrided titanium alloy rings were precoated with titania-silica sol by dip-withdrawing technique. Titanium rings were then dried and annealed. Then, they as cathodes were immersed in the electrophoretic tank with HAP suspension. The deposition process was carried at room temperature. Thickness of the growing HAP layer was controlled by parameters of current and time of deposition. Titanium rings covered with hydroxyapatite layer "as deposited" were carefully removed from the bath, dried in the warm air and then annealed in an argon atmosphere.

Results and discussion

The main advantage of the electrophoretic deposition is the same chemical composition and structure of HAP particles in the starting suspension and in the precipitated surface deposits. This characteristic feature of the electrophoretic deposition is shown in FIG. 1a, b).

The FTIR spectra (FIG. 1a, b) have characteristic shape of crystalline hydroxyapatite; the IR bands with maximum at 572, 602, 963, 1045 and 1090 cm⁻¹ represent the P-O vibrations of PO₄ groups in a phosphate and two absorption bands at 632 cm⁻¹ and at 3572 cm⁻¹ resulted from structural OH groups in hydroxyapatite Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂. The FTIR spectrum of the final HAP layer applied on titania-silica sublayer is shown in FIG. 2.

The FTIR spectrum shown in FIG. 2 reflects the phase analysis of the final HAP layer at the titania - silica sublayer. This final HAP over layer contains hydroxyapatite and also small amounts of silicates (bands at 411, 804 and 1167 cm⁻¹) car-



RYS. 2. Widmo refleksyjne FTIR końcowej warstwy HAP na azotowanym stopie tytanowym (z podwarstwą tytanowo-krzemionkową) po wypraniu.

FIG. 2. FTIR reflection spectrum of the final HAP layer on nitrided titanium alloy (with titania-silica sublayer) after annealing.

pach PO_4 natomiast dwa pasma absorpcyjne z maksimum przy 632 cm^{-1} i 3572 cm^{-1} pochodzą od strukturalnych grup OH w hydroksyapatycie $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Widmo FTIR ko cowej warstwy HAP naniesionej na podkład tytanowo-krzemionkowy jest pokazane na RYS. 2. Widmo FTIR na RYS. 2 przedstawia analiz fazow warstwy ko cowej HAP na podkładzie tytanowo-krzemionkowym. Ta warstwa ko cowa HAP zawiera hydroksyapatyt oraz ma ło krzemianów (pasma $411, 804$ i 1167 cm^{-1}), w glanów (pasma 1412 i 1456 cm^{-1}) oraz zaadsorbowan wod (pasma 1612 i $3000\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$).

Morfologi i mikroanaliz ko cowej warstwy HAP pokazuje RYS. 3.

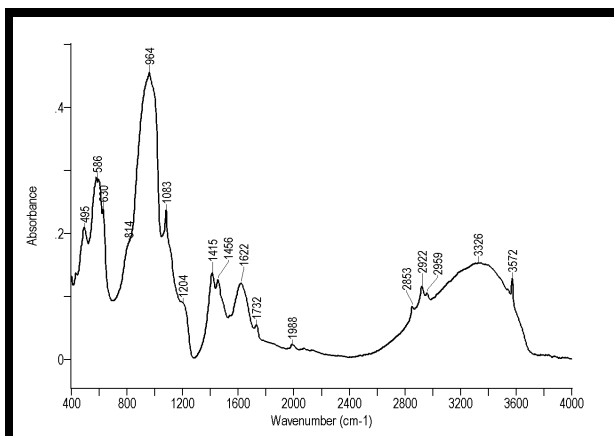
Jak mo na wnioskowa z analizy EDS obszarów powierzchniowych, ko cowa warstwa HAP zawiera krzem, tytan, wap i fosfor (HAP).

Aktywno biologiczn wytworzonych warstw kontrolowano in vitro przez termostatowanie w syntetycznym osoczu (SBF). Próbki z ko cowa warstw HAP termostatowano przez 10 dni w temperaturze $37,2^\circ\text{C}$ przy $\text{pH}=7,4$. Zauważono wcz niej, e reakcje które in vivo zachodzą w pobliżu powierzchni implantu, in vitro w SBF te mają miejsce. W tych warunkach osadza się podobny jak w ko ci rodzaj apatytu, apatyty w glanowy, przypominający ten, który powstaje in vivo w materiale biologicznie aktywnym. Morfologi i analiz EDS powierzchni ko cowej warstwy po 10 dniach termostatowania przedstawia RYS. 4.

Jest widoczne, e po termostatowaniu w SBF powierzchnia jest całkowicie pokryta osadem zawierającym wi esz ni pocz tkowo ło wapnia i fosforu (rys. 3). Osady powierzchniowe składają się z małych, nanometrycznych ziarn fosforanowych.

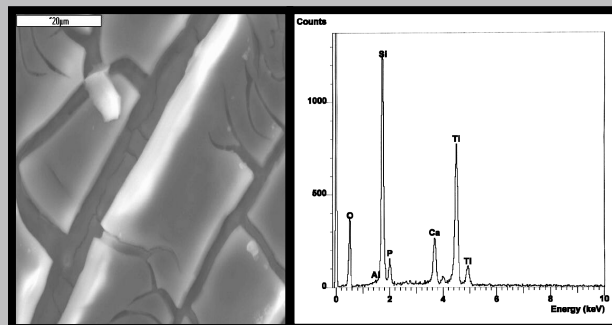
RYS. 5 pokazuje widmo FTIR osadów fosforanowych po 10 dniach termostatowania w SBF.

Porównując widmo FTIR ko cowej warstwy HAP przed (rys. 2) i po termostatowaniu (RYS. 5) mo emy wnioskowa, e podczas termostatowania powstała nowa warstwa w glanowo - apatytowa, taka sama jak w naturalnej ko ci; pasma IR z maksimum przy 1415 i 1456 cm^{-1} nale do wi esz ni C-O w w glanach. Osady HAP po termostatowaniu są bardziej bezpostaciowe (szeroko półkrowa pasm), zawierają wod (pasma 1662 cm^{-1} i $2800\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$) i w glany. Oznacza to, e elektroforetycznie nałona warstwa HAP na azotowany stop tytanu tworzy warunki dla wzrostu hydroksyapatytu bardzo podobne jak w naturalnej ko ci.



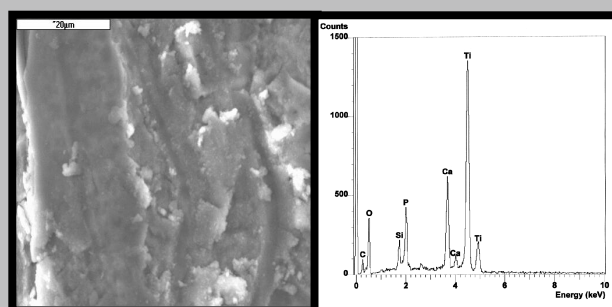
RYS. 5. Widmo refleksyjne FTIR osadów fosforanowych po 10 dniach termostatowania w SBF

FIG. 5. FTIR reflection spectrum of phosphate deposits after 10 days of soaking in SBF.



RYS. 3. Morfologia (2000x) i mikroanaliza EDS ko cowej warstwy HAP (przed termostatowaniem).

FIG. 3. Morphology (2000x) and EDS microanalysis of the final HAP layer (before soaking).



RYS. 4. Morfologia (2000x) i mikroanaliza EDS warstwy ko cowej po 10 dniach termostatowania w SBF.

FIG. 4. Morphology (2000x) and EDS microanalysis of final layer after 10 days of soaking in SBF.

bonates (bands at 1412 and at 1456 cm^{-1}) and adsorbed water (bands at 1612 and $3000\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$).

Morphology and microanalysis of final HAP layer is shown in FIG. 3.

As we may conclude from EDS analysis of surface regions, the final HAP layer contains silicon, titanium, calcium and phosphorous (HAP).

Bioactivity of the obtained layers was monitored in vitro by soaking in synthetic body fluid (SBF). Samples with the final HAP layer were soaked for 10 days at the temperature $37,2^\circ\text{C}$ and $\text{pH}=7,4$. It has already been observed [8], that in SBF the reactions that in vivo would take place near the implant surface, in vitro are well reproduced. In such conditions a bone like-carbonated apatite is deposited, similar to that which forms in vivo on bioactive materials.

Morphology and EDS analysis of the final layer surface after 10 days of soaking procedure is shown on FIG. 4.

It is seen that after soaking in SBF, the surface is fully covered by deposits containing higher concentration of calcium and phosphorous than that before the soaking (FIG. 3). The surface deposits are composed of small, nanometric grains of phosphate. Fig. 5 shows the FTIR spectrum of phosphate precipitates after 10 days of soaking in SBF.

Comparing the FTIR spectrum of the final HAP layer before (FIG. 2) and after soaking (FIG. 5) we may conclude that during the soaking procedure a new carbonate - apatite layer was formed, the same as in natural bone; IR bands with maximum at 1415 and at 1456 cm^{-1} are connected with C-O bonds in carbonates. HAP deposits after soaking are more amorphous in character (half width of the band), they con-

Wnioski

Warstwy hydroksyapatytu naniesione elektroforetycznie na powierzchni azotowanego stopu tytanowego działają jak aktywne źródła z wysoką zdolnością do nukleacji i wzrostu hydroksyapatytu w glanowego, biologicznie równoważnego. Powstawanie hydroksyapatytu biologicznie równoważnego na powierzchni warstwy kościowej, już po 10 dniach termostatowania w SBF może być istotnym krokiem prowadzącym do bezpośredniego wiązania kości, co otwiera obiecujące perspektywy na uzyskiwanie dobrych efektów implantów ortopedycznych z tkanek biologicznych. Uzyskane wyniki pokazują, że połączenie azotowania w wyładowaniu jarzeniowym z elektroforetycznym osadzaniem hydroksyapatytu pozwala osiągnąć pożądaną właściwość implantów ze stopów tytanowych: łącząc dobre właściwości mechaniczne, wysoką odporność na ścieranie i korozję w powiązaniu z dyfuzyjnym charakterem warstw azotkowych i wysoką aktywność biologiczną.

Podziękowania

Autorzy dziękują Komitetowi Badań Naukowych (KBN) za finansowanie badań z projektu badawczego PBZ-KBN-082-T08/2002

Piśmiennictwo

- [1] D.M. Bunette, P. Tengvall et al.: Titanium in medicine, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 2001.
- [2] J. Marciniak, Biomateriały, Wyd. Politechniki Łódzkiej, Gliwice 2002.
- [3] E. Czarnowska, T. Wierzchoń, A. Maranda et al. "Improvement of titanium alloy for biomedical applications by nitriding and carbonitriding processes under glow discharge conditions", J. Mater. Sci; Mat. in Medicine, 11 (2000) 73.
- [4] S. Pisanec, L. Colombi Ciacchi et al., Acta Materialia 52 (2004) 1237.

titanium water (bands at 1662 cm^{-1} and at 2800-3500 cm^{-1}) and carbonates. It means that the nitrided titanium surface with electrophoretically applied HAP layer creates very similar conditions for growing the biological hydroxyapatite as it is in natural bone.

167

Conclusions

Hydroxyapatite layers deposited by electrophoresis on the nitrided titanium alloy surface act as active interfaces with a high ability for nucleation and growth of carbonate hydroxyapatite biologically equivalent. The formation of biologically equivalent hydroxyapatite on the surface of final layer, even after 10 days of soaking in SBF, may be an important step leading to direct bonding with bone and it creates promising prospects for obtaining good joints between orthopaedic implants and surrounding bone tissue. The results obtained have shown that the combination of glow discharge nitriding with the electrophoretic deposition of hydroxyapatite allows to receive desired properties of titanium alloy implants; joining good mechanical properties, high wear and corrosion resistance connected with diffusive character of nitriding layers and high bioactivity.

Acknowledgements

Authors are grateful to the Committee for Scientific Research (KBN) for a financial support through grant PBZ-KBN-082-T08/2002

References

- [5] B. Cukrowska, A. Sowinska et al., Annals of Transplantations in press.
- [6] A. Stoch, S. Błażewicz, Pol. J. Med. Phys. Engng. 1 (1995) 1.
- [7] A. Stoch, A. Brojek, G. Kmita, J. Stoch, W. Jastrzębski, A. Rakowska, J. Mol. Struct., 596 (2001) 191.
- [8] A. Stoch, W. Jastrzębski, A. Brojek, J. Stoch, J. Szaraniec, B. Trybalska, G. Kmita, J. Mol. Struct. 555 (2000) 375.

WPŁYW OBRÓBK TERMICZNEJ POWŁOK NA PODŁO U TYTANU NA AKTYWNO KOMÓREK IN VITRO

ANNA STOCH*, BARBARA CZAJKOWSKA**, EL BIETA DŁUGO *,
MAŁGORZATA BOBEK**, ANNA MORAWSKA*

*AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA

WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI, KRAKÓW

**COLLEGIUM MEDICUM UNIWERSYTETU JAGIELLO SKIEGO,

KATEDRA IMMUNOLOGII, KRAKÓW

[In *ynieria Biomateriałów*, 38-43, (2004), 168-171]

Wprowadzenie

In ynieria tkankowa in vitro i in vivo obejmuje oddziaływanie komórek z powierzchni materiału. Natura powierzchni mo e bezpo rednio wpływa na odpowied komórkow , ostatecznie wpływaj c na szybko i jako tworzenia si nowej tkanki.

Czysty tytan i jego stopy s powszechnie stosowanymi materiałami w chirurgii i stomatologii.

Jednak e wi zanie tytanu z yw ko ci mo e trwa kilka miesi cy. St d obserwuje si rosn ce zainteresowanie w skróceniu procesu osseointegracji a wi c i skróceniu pooperacyjnych ogranicze . Rozwi zania naukowe w tej dziedzinie s ukierunkowane na pokrywanie implantów tytanowych materiałami bardziej przyjaznymi dla otoczenia biologicznego jak hydroksyapatyt, powłoki krzemionkowe, krzemionkowo-tytanowe, wapniowo-krzemionkowo-tytanowe. Do chwili obecnej proponowano wiele sposobów nanoszenia powłok na implanty metaliczne, lecz wszystkie one zawieraj pewne ograniczenia. Metoda zol-gel, proponowana przez nas, jest tani ,łatwo daj c si zastosowa technik nanoszenia powłok na ró ne rodzaje podłoy [4-6].

Celem prezentowanej pracy jest otrzymanie metod zol-el powłok na podłoy tytanowym, wygrzanie ich w temperaturach 500°C i 750°C i okre lenie w warunkach in vitro reakcji fibroblastów i osteoblastów ze zmodyfikowan powierzchni tytanu. Reakcje komórkowe badano przez pomiar ich witalno ci (po 7 dniach) oraz przez oznaczenie sekrecji kolagenu.

Metod mikroskopii skaningowej (SEM) badano morfologi powierzchni powłok po obróbce termicznej.

Cz do wiadczalna

Materiały

Kr ki z tytanu (cpTi) o rednicy 20mm

Zol wapniowo-fosforanowy (Ca-P) przygotowany z $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ i elatyny (pH 6,5-7,9).

Zol krzemionkowy przygotowany z czteroetoksylanu $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ (TEOS)

Zol tytanowo-krzemionkowy (Ti-Si) przygotowany z propoksylowej pochodnej tytanu $\text{Ti}(\text{OC}_3\text{H}_7)_4$ i z TEOS

Zol tytanowo-wapniowo-krzemionkowy (TiCS) przygotowany z $\text{Ti}(\text{OC}_3\text{H}_7)_4$, TEOS i $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

Komórki: ludzka linia fibroblastyczna K

ludzka linia osteoblastyczna hFOB 1,19

THE INFLUENCE OF THERMAL TREATMENT OF COATINGS ON TITANIUM SUPPORT ON CELLULAR REACTIONS IN VITRO

ANNA STOCH*, BARBARA CZAJKOWSKA**, EL BIETA DŁUGO *,
MAŁGORZATA BOBEK**, ANNA MORAWSKA*

*AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,

FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, CRACOW

**COLLEGIUM MEDICUM OF JAGIELLONIAN UNIVERSITY, DEPARTMENT OF IMMUNOLOGY, CRACOW

[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 168-171]

Introduction

Tissue engineering in vitro and in vivo involves the interaction of cells with a material surface. The nature of the surface can directly influence cellular response, ultimately affecting the rate and quality of new tissue formation.

Pure titanium and its alloys are the materials commonly used in medical and dental applications. However, their bonding to living bone tissue can take several months. Hence there is growing interest in shortening of the process towards osseointegration, and thereby, reducing the surgical restrictions. A research in this field has been oriented towards coating of the titanium implants with the more tissue friendly material, like hydroxyapatite, silica, silica-titania, calcium-silica-titania coatings [1-3]. Till now many coating procedures of metallic implants have already been suggested, but all of them have shortcomings. More promising between other, the sol-gel method is low cost, flexible technique of coating and it can be applied on a variety of substrates [4-6].

The aim of presented work was to produce sol-gel coatings on titanium, to anneal them at temperatures 500°C and 750°C and in vitro experiments to observe the reactions of fibroblasts and osteoblasts with modified titanium surfaces. The cell's reactions were evaluated by determination of the vitality of fibroblasts and osteoblasts and by the determination of the amount of synthesized collagen. Surface morphology of sol-gel coatings after thermal treatment was observed by scanning electron microscopy (SEM).

Experimental procedure

Materials

Titanium (cpTi) discs 20 mm

Calcium-Phosphate (Ca-P) sol prepared from $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, and $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

Silica sol (Si-Si) prepared from Tetraethoxysilane $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ (TEOS)

Titania-silica sol (Ti-Si) prepared from titanium propoxide $\text{Ti}(\text{OC}_3\text{H}_7)_4$ and from TEOS

Titania-calcium-silica sol (TiCS) prepared from titanium propoxide, TEOS and from $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

Human fibroblastic line KMA

Human osteoblastic line hFOB 1,19

Linie komórkowe pochodzą z renomowanego banku komórek ATCC.

Powierzchniowa modyfikacja krków tytanu metodą zol- el

Krki tytanowe o średnicy 20mm czyszczono mechanicznie i chemicznie. Następnie, stosując metodę zol- el, nanoszono cztery rodzaje powłok: hydroksyapatytów (HAP), krzemionki, tytanowo-krzemionki (Ti-Si) lub tytanowo-wapniowo-krzemionki (TiCS). Nanoszenie powłok wykonano metodą wynurzania krka tytanowego z odpowiedniego zolu: zol Ca-P z elatyn dla powłoki HAP, zol TEOS dla powłoki krzemionkowej, zol Ti-Si dla powłoki Ti-Si i zol TiCS dla powłoki TiCS. Krki tytanu zanurzano do odpowiedniego zolu a następnie wynurzano ze stałą szybkością 20 cm/min. Stała szybkość wynurzania zapewnia jednolitą grubość warstwy. Grubość warstwy regulowano krotnością wynurzenia.

Krki tytanowe pokryte różnymi rodzajami powłok suszono w temperaturze 500°C i 750°C. Wyrzanie usuwa wodę i substancje organiczne, zagęszczając powłokę i powoduje podwyższenie adhezji powłoki do podłoża.

Testy komórkowe

Jałowienie krków tytanowych z naniesionymi powłokami prowadzono poddając je naświetlaniu UV po 3 minuty z każdej strony. Krki umieszczano w 12 dołkowej płytce hodowlanej, zadawano 2 ml zawiesiny komórek i ustawia-

no wilgotność powietrza w temperaturze 37°C (fibroblasty) lub 34°C (osteoblasty).

Stosowano następujące stężenie komórek i media hodowlane:

Fibroblasty 2×10^4 komórek/ml, medium: RPMI z 10% FCS
Osteoblasty 2×10^4 komórek/ml, medium: Dulbecco zmodyfikowane podłoże Eagle zmieszane z F-12 Ham DME z 10% FCS.

Wzrostowość komórek badano po 7 dniach inkubacji, stosując metodę kolorymetryczną przy użyciu testu CellTiter Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay Promega. Wyniki przedstawiono w %, biorąc stosunek liczby komórek, które przeżyły na badanych próbkach do liczby komórek, które przeżyły na kontrolnych próbkach (przyjmując jako 100%).

Poziom kolagenu typu I oznaczano w supernatantach fibroblastów i osteoblastów po 7-dniowej hodowli. Pomiar wykonano z użyciem metody ELISA przy zastosowaniu przeciwciał i standardu f-my Bioproducts. Wyniki przedstawiono w ng kolagenu na 1ml supernatantu uzyskanego po 7 dniach hodowli.

Wyniki i dyskusja

Początkowe reakcje przy powierzchni implantu obejmują zorientowaną adsorpcję molekuł z otaczających płynów, wytwarzając w ten sposób granicę między fazami, w której komórki udzielają stosownej odpowiedzi [7].

Morfologia i chemizm powierzchni określa, które molekuly mogą się adsorbować i jaką będzie odpowiedź komórek. Morfologia powłok na krkach tytanowych użytych w badaniach zależy od obróbki termicznej tych powłok.

Na RYS. 1(a,b), 2(a,b), 3(a,b) przedstawiono morfologię SEM powłok na krkach tytanowych użytych do badań komórkowych. Badania SEM wykonano na Mikroskopie Elektronowym Phillips XL 30.

Wzrostowość komórek po 7 dniach wzrostu na powierzchni krków tytanu pokrytych powłokami oraz całkowite ilości kolagenu typ I wyprodukowanego przez fibroblasty i osteoblasty przedstawiono w TABELI 2.

Human cell cultures line used in experiments were from bank of American Type Culture Collection (ATCC).

Sol-gel modification of titanium discs

Titanium discs of 20 mm diameter were mechanically and chemically cleaned. Then four types of layers were applied on titanium surface using sol-gel technique: hydroxyapatite layers (HAP), silica, titania-silica (Ti-Si) or titania-calcium-silica (TiCS) layers. Apatite layers on titanium discs were obtained by withdrawing the sample from Ca-P sol, silica layers by withdrawing from TEOS sol. Ti-Si and TiCS sols were used in the forming of Ti-Si or TiCS layers. The discs were placed in the sol solution and then withdrawn at a constant speed 20 cm/min. A constant withdrawal speed ensures a uniform thickness of the layer. Thickness of the sol-gel layers was controlled by multiple dipping and withdrawing of the disc from the sol. Titanium discs covered with the layers were dried and heated. The annealing removes water and residual organic substances, densifies the film and increases the extent of bonding between the film and the substrate.

The type of coatings are collected in TABLE 1.

Powłoka Layer	Symbol Cod	T°C	T°C
Hydroksyapatytowa Hydroxyapatite	Ca-P sol	500°C	750°C
Krzemionkowa Silica	TEOS	500°C	750°C
Krzemionkowo-tytanowa Silica-titania	Si-Ti sol	500°C	750°C
Tytanowo-wapniowo-krzemionkowa Titania-calcium-silica	Ti-Ca-Si sol	600°C	

TABELA 1. Powłoki zol- el nanoszone na krki tytanowe.

TABLE 1. Sol-gel coatings on titanium discs.

Cellular tests

The coated titanium discs were sterilized by UV irradiation during 3 minutes for each side of the disc.

Cell cultures were run in 12 well plates at the bottom of which the tested disks of 20 mm in diameter were immersed in 2 ml of the cell suspension. Then the cultures were run in an incubator in the atmosphere of 5% CO₂ in air at 37°C (fibroblasts) or 34°C (osteoblasts) over seven days.

The following concentrations of cells and culture media were used:

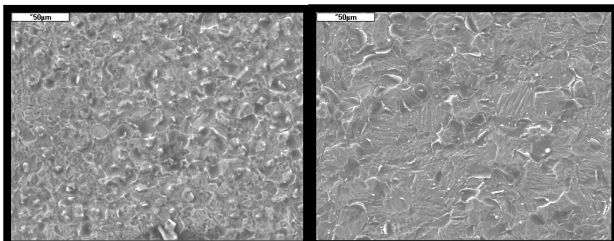
Fibroblasts 2×10^4 of cells/ml medium (RPMI + 10% FCS).
Osteoblasts 2×10^4 of cells/ml (Dulbecco's modified Eagle's medium nutrient mixture F-12 HAM/DME, 0,3 mg/ml G-418, 10% FCS).

Cells viability (vitality) was examined using a colorimetric method and test Cell/Titer Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay Promega. The results are presented in % relating the number of cells which survived on the test samples to the number of cells which survived on the control samples (taken as 100%).

The level of collagen (type I) after seven days of culture growth has been determined in the supernatants over the fibroblasts and osteoblasts. The measurements were performed by means of ELISA tests using standards from Bioproducts firm. The results were shown in ng of collagen per 1ml of supernatant after 7 days of culture growth.

Results and discussion

Initial events at the surface include the orientated adsorption of molecules from the surrounding fluid, creating a conditioned interface to which the cell responds [7].



RYS. 1. Morfologia SEM warstwy krzemionkowej wygrzanej w 500°C (a) i w 750°C (b).

FIG. 1. SEM morphology of silica layer annealed at 500°C (a) and at 750°C (b).

Jak można zauważyć, obydwa typy komórek, fibroblasty i osteoblasty, reagują odmiennie na różnych powłokach i przy różnych temperaturach wygrzewania powłok. Obniżenie temperatury z 750°C do 500°C powoduje obniżenie przeżywalności fibroblastów. Dla przeżywalności osteoblastów najlepsze są powłoki krzemionkowe i Ti-Si; niższa temperatura (500°C) wygrzewania stwarza warunki wyżej przeżywalności osteoblastów na obydwu powłokach. Podobne obserwacje można poczynić dla powłoki HAP. Dobre wyniki uzyskano dla powłoki TiCS. Jej morfologia (RYS. 3a,b) pokazuje gładką, niskoporowatą powierzchnię, na której przeżywalność osteoblastów jest stosunkowo wysoka. Ilość kolagenu I wyprodukowanego przez komórki na badanych powłokach stanowi ważną, praktyczną informację np. co do doboru rodzaju obróbki termicznej powłoki, doboru jej składu chemicznego czy doboru odpowiedniego miejsca jej zastosowania. Całkowita ilość kolagenu I wyprodukowanego w supernatantach na badanych powłokach przez fibroblasty i osteoblasty po 7 dniach inkubacji jest umieszczona w TABELI 2.

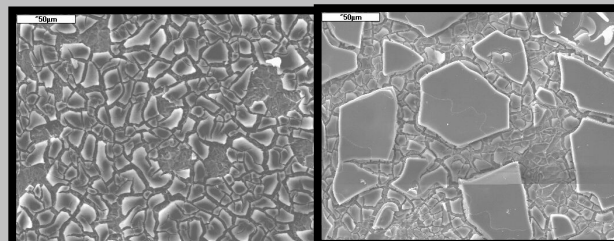
Powłoki: krzemionkowa, Ti-Si i TiCS wygrzane w 750°C stwarzają lepsze warunki dla produkcji kolagenu przez fibroblasty. Ilość kolagenu produkowanego przez osteoblasty na powierzchni TiCS jest wysoka. Można to sugerować, że tytan z warstwą TiCS może być z powodzeniem stosowany w chirurgii kostnej. Podobne sugestie można wysunąć w kierunku powłoki krzemionkowej i krzemionkowo-tytanowej. Niższa temperatura wygrzewania tych powłok prowadzi do tworzenia się amorficznych, gładkich warstw stwarzających lepsze warunki przeżywalności dla osteoblastów. Takie powłoki zawierają więcej grup silanolowych -Si-OH na powierzchni i wydają się być bardziej biologicznie aktywne niż powłoki wygrzane w wyższej temperaturze.

Wnioski

Zaobserwowano różną reakcję fibroblastów i osteoblastów na różną modyfikację powierzchni tytanu. Warstwy:

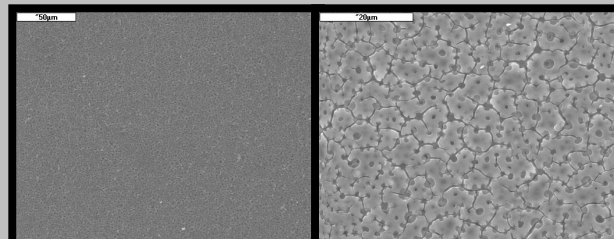
Powłoka Coating	Wygrzewanie Temperature	Wydajność Fibro., Vitality Fibr [%]	Coll.Fibr. [ng/ml]	Wydajność Ostob., Vitality Ostob. [%]	Coll.Osteob. [ng/ml]
Silica	500°C	37	4,5	59	68,3
Silica	750°C	72	106,1	39	104,1
Ti-Si	500°C	32	4,6	73	72,7
Ti-Si	750°C	53	122,8	50	62,5
HAPsg	500°C	-	-	41	42,9
HAPsg	750°C	13	14	1	6
TiCS	600°C	62	71,7	75	164,9

TABELA 2. wydajność fibroblastów i osteoblastów i całkowita ilość kolagenu typu I.
TABLE 2. Vitality of fibroblasts and osteoblasts and total amount of collagen type I.



RYS. 2. Morfologia SEM warstwy tytanowo-krzemionkowej wygrzanej w 500°C (a) i w 750°C (b).

FIG. 2. SEM morphology of titania-silica layer annealed at 500°C (a) and at 750°C (b).



RYS. 3. Morfologia SEM warstwy TiCS wygrzanej w 600°C (500x) (a) i (2000x) (b).

FIG. 3. SEM morphology of TiCS layer annealed at 600°C (500x) (a) and (2000x) (b).

Morphology and chemistry of the surface determine molecules that can adsorb and how will be cellular response. Surface morphology of titanium discs used in our study depends on thermal treatment of the layer.

FIGURES 1(a,b), 2(a,b), 3(a,b) show the SEM morphology of layers before cellular tests.

Cell viability after 7-day culture on titanium surfaces and total amount of collagen type I produced by fibroblasts and osteoblasts are presented in TABLE 2.

As it may be noticed, both types of cells: fibroblasts and osteoblasts react differently to different surface layers and temperatures of annealing. Generally, lowering the temperature of annealing from 750°C to 500°C gives the lowering of fibroblasts vitality. For viability of osteoblasts the best coatings are silica and titania-silica coatings; lower temperature annealing (500°C) gives a higher vitality of osteoblasts for both coatings. The same observations are for hydroxyapatite sol-gel layer. Good results were obtained for TiCS coatings annealed at 600°C. Morphology of this coating (FIG. 3) shows very smooth, low porous surface on which vitality of osteoblasts is relatively high.

The secretion of collagen produced by cells on the tested surfaces gives important practical information to e.g. choice of thermal treatment of the layer, choice of chemical composition of the layer or a convenient place for anatomic application. The total amount of collagen I produced by both types of cells on the tested surface was determined in supernatant (liquids) after a seven-day culture. The results are shown in TABLE 2.

Silica, Ti-Si and TiCS surfaces annealed at 750°C create better conditions for the secretion of collagen produced by fibroblasts.

Amount of collagen produced by osteoblasts on TiCS surface is high. It suggests that titanium with TiCS layer can be successfully used in bone tissue region. Similar suggestions can be directed to silica and silica - titania coatings.

Lower annealing temperature leads to formation of more amorphous, smooth sol-gel layers that create better condi-

krzemionkowa, Ti-Si i TiCS wygrzane w 750°C stwarzają do dobre warunki dla prze ywalno ci fibroblastów i dla ilo ci produkowanego przez nie kolagenu I. Obni enie temperatury wygrzewania powłok do 500°C obni a prze ywalno fibroblastów, podczas gdy prze ywalno osteoblastów na powłokach: krzemionkowej, Ti-Si i TiCS jest wy-sza. Obróbka termiczna powłok wpływa na ich morfologi jak równie na aktywno chemiczn grup powierzchniowych np. grup silanolowych.

Podzi kowania

Praca realizowana w ramach projektu badawczego Komitetu Bada Naukowych PBZ-KBN-082-T08/2002

Pi miennictwo

- [1] A. Stoch, A. Bro ek, G. Kmita, J. Stoch, W. Jastrz bski, A. Rakowska, J. Mol. Struct. 596 (2001) 191-200.
- [2] A. Stoch, C. Paluszkiwicz, T. Gibała, A. Bolek, J. Mol. Struct. 293 (1993) 287-290.
- [3] A. Stoch, A. Bro ek, J. Stoch, W. Jastrz bski, E. Długo , M. Sitko, Engineering of Biomaterials, No10 (2000) 23-29.
- [4] Ph. Colomban, Ceramics International 15 (1989) 23-50.

WPŁYW WYBRANYCH NAPEŁNIACZY PROSZKOWYCH NA WŁA CIWO CI KOMPOZYTÓW NA BAZIE YWICY BIS-GMA

JOANNA ROMANIUK* , MAŁGORZATA LEWANDOWSKA** ,
JAN RYSZARD D BROWSKI* , KRZYSZTOF J. KURZYDŁOWSKI*

*POLITECHNIKA BIAŁOSTOCKA, WYDZIAŁ MECHANICZNY,
UL. WIEJSKA 45C, 15-351 BIAŁYSTOK

**POLITECHNIKA WARSZAWSKA,
WYDZIAŁ IN YNIERII MATERIAŁOWEJ,
UL. WOŁOSKA 141, 02-507 WARSZAWA

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki bada wpływu proszkowych napełniaczy w postaci ceramiki, nano-krzemionki oraz modyfikatorów tarcia (Si_3N_4 , BN, teflon, polietylen) na wła ciwo ci kompozytów polimerowych na bazie ywicy Bis-GMA. Oceniano wpływ czasu homogenizacji i czasu polimeryzacji kompozytów na ich na struktur i parametry wytrzymało cio-

tions for osteoblasts viability. Such coatings contain more silanol groups on the surface and seem to be biologically active more than coatings annealed at higher temperatures.

Conclusions

Different reactions of fibroblasts and osteoblasts to different modifications of titanium surface have been observed. Silica, silica titania and TiCS layers (750°C) create relatively good conditions for fibroblasts viability and for the secretion of collagen type I. Decreasing the temperature of annealing from 750°C to 500°C lowers the fibroblasts viability while osteoblasts viability for silica, Si-Ti and TiCS coatings becomes higher. Thermal treatment influences morphology of the layers and also chemical activity of the surface groups, i.e. silanol groups.

Acknowledgements

The Polish State Committee for Scientific Research project PBZ-KBN-082-T08/2002 supported this work.

References

- [5] A. Stoch, W. Lejda, A. Rakowska, Metall. Foundry Eng., 18 (1992) 233-239.
- [6] H. Matraszek, A. Stoch, C. Paluszkiwicz, A. Bro ek, E. Długo , Engineering of Biomaterials, No 23-25 (2002) 72-74.
- [7] B. D. Boyan, T.W. Hummert, D.D. Dean, Z. Schwartz, Biomaterials 17 (1996) 137-146.

THE EFFECT OF SELECTED POWDER FILLERS ON PROPERTIES OF THE BIS-GMA RESIN BASED COMPOSITES

JOANNA ROMANIUK* , MAŁGORZATA LEWANDOWSKA** ,
JAN RYSZARD D BROWSKI* , KRZYSZTOF J. KURZYDŁOWSKI*

*BIAŁYSTOK UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
MECHANICAL ENGINEERING,
WIEJSKA 45C STREET, 15-351 BIAŁYSTOK,

**WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING FACULTY,
WOŁOSKA 141 STRRET, 02-507 WARSAW

Abstract

This work presents results of the investigations on the influence of powder fillers including ceramic, nanosilica and friction modifiers (Si_3N_4 , BN, teflon, polyethylene) on properties of the Bis-GMA resin based polymer composites. The influence of the homogenization time and the polymerization time of composites on their structure and strength parameteres was observed. The effect of those additives on

we. Badano wpływ tych dodatków na wytrzymałość na ciskanie oraz mikrotwardość.

Słowa kluczowe: Kompozyty, nanoproszki, parametry wytrzymałościowe
[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 171-175]

Wprowadzenie

Włóczka metakrylowa typu Bis-GMA i jej modyfikacje stanowią podstawę baz polimerów materiałów kompozytowych na stałe wypełnienia stomatologiczne [1-5]. Kompozyty takie zawierają proszkowe napełniacze w postaci krzemionki (SiO_2), szkła i materiałów ceramicznych [6-7]. W zależności od wielkości cząstek napełniaczy proszkowych dzieli się te materiały stomatologiczne na mikro-, makro- i kompozyty hybrydowe [8-10]. Materiały te różnią się strukturą i właściwościami mechanicznymi. Obecnie intensywnie bada się wpływ napełniaczy o wymiarach nanocząstek na strukturę i właściwości tego typu kompozytów. Liczba publikacji na ten temat jest jednak niewielka, pewnie z uwagi na nowatorski charakter tej tematyki oraz na jej znaczenie użytkowe [11-12]. Podobnie jest w przypadku charakterystyk tribologicznych tego typu materiałów stomatologicznych - wciąż brak wystarczających danych. Zagadnienie jest tym bardziej aktualne, i występuje coraz więcej wymagań stawianych materiałom na stałe wypełnienia stomatologiczne. Chodzi tu szczególnie o ich odporność na zużycie tribologiczne i ścieralność zębów przeciwnych [13-15]. Duży wpływ na charakterystyki tribologiczne kompozytowych materiałów stomatologicznych ma rodzaj oraz ilość napełniaczy proszkowych - modyfikatorów tarcia.

Celem niniejszej pracy była optymalizacja parametrów przygotowania kompozytów na bazie włóczki Bis-GMA z napełniaczami proszkowymi w postaci krzemionki, ceramiki i dodatków tribologicznych.

Materiał i metody badań

W niniejszej pracy badano kompozyty ceramiczno-polymerowe, w których fazą organiczną była włóczka Bis-GMA. W skład kompozytów wchodziły napełniacze proszkowe w postaci szkła, o składzie chemicznym: SiO_2 -BaO- Al_2O_3 - B_2O_3 , nanokrzemionka (rozmiar ziaren <40 nm) oraz dodatki tribologiczne: azotek krzemu (Si_3N_4), azotek boru (BN), teflon, polietylen. Sumaryczna zawartość napełniaczy wynosiła 60% obj. Wszystkie napełniacze nieorganiczne poddane były zabiegom preparacji w roztworze roduka silanizujący cego (3-(trimetoksyl)propyl metahacrylate) w roztworu toluenu. Proces preparacji polegał na nanoszeniu aktywnych grup silanowych na powierzchni proszków w wyparce próżniowej. W dalszych badaniach oceniano wpływ powyższych dodatków na strukturę oraz wytrzymałość na ciskanie i mikrotwardość HV0,1 wykonanych kompozytów. Badania wytrzymałościowe wykonano za pomocą maszyny Instron TM-SM seria AO-706. Mikrotwardość kompozytów oceniano za pomocą mikroskopu metalograficznego z przystawką Hanemann'a. Obserwacje struktury otrzymanych materiałów realizowane były za pomocą mikroskopu skaningowego Hitachi S 3000N z przystawką do mikroanalizy rentgenowskiej.

Wyniki badań

Pierwszy etap prac polegał na zbadaniu wpływu czasu homogenizacji sporządzanych mieszanek kompozytowych na ich właściwości mechaniczne. Oceniano wytrzymałość

compressive strength and microhardness was tested.

Keywords: Composites, nanopowders, strength parameters
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 171-175]

Introduction

The methacrylate resin type Bis-GMA and its modifications are standard polymeric base of composite materials for dental resin composites. Such composites contain powder fillers like silica, glass and ceramic materials. Depending on the size of powder fillers' particles, there is a division into micro-, macro- and hybrid composites. Those materials have different structure and mechanical properties. Nowadays, intensive researches on the influence of nanofillers on structure properties of such composites are carried out. The list of publications concerning this problem is inappreciable, presumably, due to the innovative character of the subject matter and its utility meaning. Similar situation applies to tribological characteristics of dental resin composites - there is a continuous lack of sufficient information about operational data. The issue is very important and up-to-date because of ascending requirements for the materials for dental resin composites, especially their tribological wear resistance and inverse teeth grindability. The type and amount of powder fillers - friction modifiers have a considerable influence on the tribological properties of the dental composites. The main aim of this work was an optimization of the parameters of the Bis-GMA resin composite preparation, such as the time and the method.

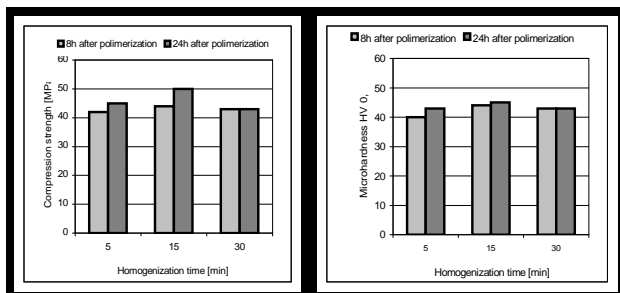
Materials and methods

This work presents investigations on polymeric-ceramic composites, where Bis-GMA resin was an organic phase. The resin used in those tests was prepared from the powder fillers in form of glass with chemical composition: SiO_2 -BaO- Al_2O_3 - B_2O_3 , nanosilica and tribological additives: silicon nitride (Si_3N_4), boron nitride (BN), teflon and polyethylene. Total content of fillers was 60%vol. All inorganic fillers were prepared at silane solution (3-(trimethoxysilyl) propyl methacrylate) at toluene medium. The preparation process consisted in deposition of active silane groups on powders surface at a vacuum evaporator. Further tests were carried out to estimate the influence of the additives on structure, compressive strength, and microhardness HV0,1 of the prepared composites. Strength investigations were performed with INSTRON TM-SM machine. Microhardness of the composites was evaluated using metallography microscope with Haneman's attachment. The observations of the structure of the obtained materials were realised with scanning microscope Hitachi S 3000N.

Results

The first stage of the work consisted in testing the influence of the homogenization time of the prepared composites on their mechanical properties. Compressive strength and microhardness of the obtained samples were estimated. The prepared materials were homogenized for 5, 15 and 30 minutes in a porcelain mortar. Next, all composites were hardened using a halogen lamp. Mechanical investigations were carried out after 8 and 24 hours from hardening time. FIGURES 1 and 2 show the results of tests.

Microhardness and compressive strength tests' results show that optimal homogenization time is 15 minutes. This homogenization time was used in obtaining all polymer com-



RYS. 1. Zmiana wytrzymałości na ciskanie w zależności od czasu homogenizacji.

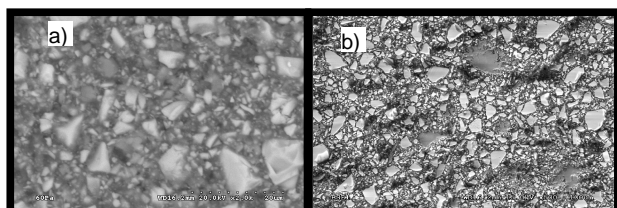
FIG. 1. Dependence of compressive strength on homogenization time.

RYS. 2. Zmiana mikro-twardości w zależności od czasu homogenizacji.

FIG. 2. Dependence of microhardness on homogenization time.

na ciskanie oraz mikro-twardość otrzymanych próbek. Przygotowane mieszanki kompozytowe homogenizowano przez 5, 15 oraz 30 minut w moździerzu porcelanowym. Następnie kompozyty utwardzono za pomocą lampy halogenowej. Badania mechaniczne przeprowadzono po 8h i 24h od momentu utwardzenia. Wyniki przedstawiono na RYSUNKACH 1 i 2.

W wyniku analizy uzyskanych wyników badań przyjęto optymalny czas homogenizacji w wymiarze 15 minut. Właściwości mechaniczne kompozytów podlegały zmianom nieznacznie przez 24 godziny od momentu utwardzenia, po czym pozostawały na stałym poziomie.



RYS. 3. Struktura kompozytu po 15 minutach homogenizacji z zawartością a) ceramiki - 60%obj. b) azotku krzemu - 5% obj.

FIG. 3. Scanning electron micrographs of the composite structure after 15 minutes of homogenization process: a) ceramic (60%vol), b) silicon nitride (5%vol).

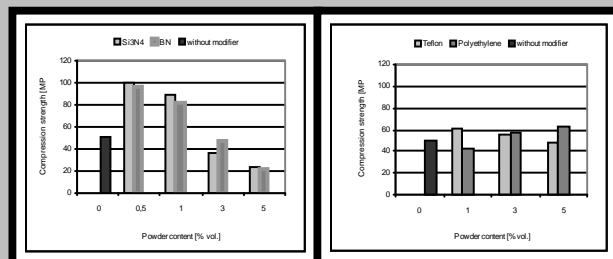
Obserwacje mikroskopowe powierzchni zgładów i przełomów otrzymanych próbek wskazują na dobrą homogenizację mieszanin po 15 minutach obróbki w moździerzu. Przykładowe zdjęcia struktury kompozytu po 15 minutach homogenizacji, przedstawione jest na RYSUNKU 3. Zdjęcia na RYSUNKU 3 pokazują, że wielkość ziaren kompozytu przedstawionego na RYSUNKU 3b jest mniejsza niż w przypadku przedstawionego na RYSUNKU 3a.

W kolejnym etapie modyfikowano skład kompozytów, wprowadzając dodatki poprawiające charakterystyki tribologiczne - współczynnik tarcia i odporność na zużycie. W tym celu wykonano serię kompozytów z dodatkiem Si_3N_4 , BN, polietylenu i teflonu. Na tym poziomie badań chodziło głównie o ocenę wpływu tych dodatków na strukturę i parametry wytrzymałościowe kompozytów. Ilość wprowadzonego wypełniacza była taka, aby sumaryczna ilość fazy nieorganicznej wynosiła 60%obj. Przygotowano kompozyty z do-

posites. Composites mechanical properties increased insignificantly for the next 24 hours after the hardening period and stayed on a stable level afterwards.

Structural investigations of the surface of the fractures and metallographic specimens of the polymer composites show that optimal homogenization is achieved after 15 minutes of treatment in porcelain mortar. An exemplary picture of the composite's structure after 15 minutes homogenization process is shown in FIGURE 3.

In the next stage, the composition of dental filling was modified by bringing in additives improving tribological characteristics, especially the friction coefficient and wear resistance. To this end, a series of composites with Si_3N_4 , BN, teflon and polyethylene were prepared. Main aim of the investigations at this level was to estimate the influence of additives on the structure and composite strength parameters. The filler was inserted in such an amount, that the total content of the inorganic phase would amount to 60%vol. Composites with addition of 0,5; 1; 3; 5; 10; 20% vol of the mentioned filler were prepared. Investigations show that composites with the amount of filler higher than 5%vol do not exhibit desirable strength properties. This kind of specimens is very fragile. Moreover, microscope tests confirm their weak cohesion with polymeric base. Therefore, only the composites with the amount of tribological additives lower than 5%vol were classified to further tests. The results of the composites' strength parameters are shown in FIGURES 4 and 5.



RYS. 4. Wytrzymałość na ciskanie kompozytów z dodatkiem Si_3N_4 oraz BN.

FIG. 4. Compressive strength of composites with Si_3N_4 and BN.

RYS. 5. Wytrzymałość na ciskanie kompozytów z dodatkiem teflonu oraz polietylenu.

FIG. 5. Compressive strength of composites with teflon and polyethylene.

The highest increase of the compressive strength is caused by addition of Si_3N_4 or BN in amount lower than 1%vol. An increase of the content of these fillers results in a fragile structure and decrease of strength of the composites. Teflon and polyethylene additives change compressive strength insignificantly: polyethylene increases and teflon decreases the value of this parameter. The last tested filler was nanosilica (n-SiO_2), with the size of the particles of about 40nm. Using a similar method as for the tribological additives, composites with 1 to 10%vol of nanosilica were prepared. The results of the compressive strength investigations are shown in FIGURE 6. Tests show that with the increase of the n-SiO_2 content up to 5%vol the compressive strength increases and then stabilizes. It was also observed that the increase of the n-SiO_2 content results in the increase of the hardening time of the composites. These composites achieve the best properties after 96 hours from hardening period.

datkiem 0,5; 1; 3; 5; 10; 20% obj. wymienionych napełniaczy. Okazało się, że kompozyty z udziałem napełniaczy tribologicznych powyżej 5% nie wykazują po danych właściwości wytrzymałościowych. Próbkę taką były bardzo kruche. W badaniach mikroskopowych potwierdzono ich słabą spójność z bazą polimerową. W związku z tym, do dalszych badań zakwalifikowano kompozyty z zawartością do 5% obj. dodatków tribologicznych. Wyniki badań parametrów wytrzymałościowych takich kompozytów przedstawione zostały na RYSUNKACH 4 i 5.

Największy wzrost wytrzymałości na ściskanie powoduje niewielki (poniżej 1%) dodatek Si_3N_4 lub BN. Dalszy wzrost zawartości tych wypełniaczy sprawia, że stają się one kruche, a ich wytrzymałość obniża się. Dodatki teflonu i polietyleny zmieniają w niewielkim stopniu wytrzymałość na ściskanie: polietylen powoduje jej wzrost, a teflon niewielki spadek.

Ostatnim testowanym wypełniaczem była nanokrzemionka (n-SiO_2) o wielkości cząstek, rzędu 40 nm. W podobny sposób jak dla dodatków tribologicznych, przygotowano kompozyty zawierające od 1 do 10% obj. nanokrzemionki. Wyniki badań wytrzymałości na ściskanie przedstawiono na RYSUNKU 6. Przeprowadzone badania pokazują, że wytrzymałość na ściskanie silnie wzrasta do zawartości 5% n-SiO_2 , a następnie stabilizuje się. Zauważono także, że wzrost zawartości n-SiO_2 powoduje wzrost czasu utwardzania kompozytów. Osiągają one maksymalne właściwości po upływie 96 godzin od momentu utwardzenia lamp halogenową.

Podsumowanie

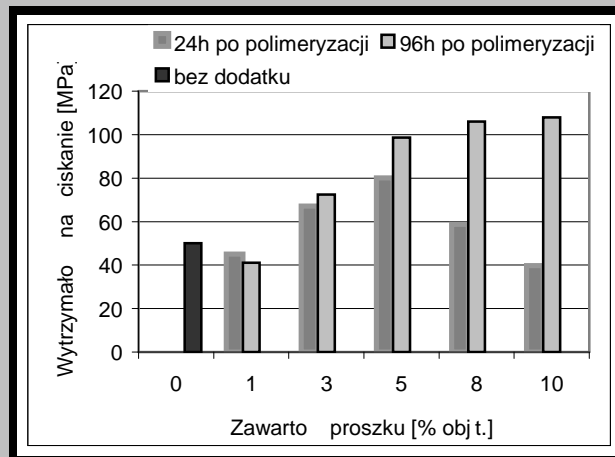
W pracy badano materiały kompozytowe na bazie żywicy Bis-GMA z szeroką gamą napełniaczy proszkowych: nanokrzemionki, napełniaczami szklanymi, dodatkami tribologicznymi (Si_3N_4 , BN, polietylenem i teflonem). Określono optymalny czas homogenizacji mieszanek w młynku porcelanowym. Oceniano wpływ napełniaczy na strukturę i właściwości wytrzymałościowe otrzymanych kompozytów. Na podstawie wykonanych badań można sformułować następujące wnioski:

- za optymalny czas homogenizacji mieszaniny żywicy Bis-GMA z napełniaczami proszkowymi przyjęto 15 minut. Sieciowanie kompozytu stabilizuje się po czasie około 24 h od momentu utwardzenia,
- niewielki udział (do 1% obj.) dodatków: Si_3N_4 lub BN zwiększa wytrzymałość na ściskanie takich kompozytów. Powyżej tej zawartości wytrzymałość na ściskanie gwałtownie spada,
- dodatki polimerowe (polietylen i teflon) w niewielkim stopniu wpływają na parametry wytrzymałościowe wykonanych kompozytów.

Otrzymane kompozyty mogą stanowić potencjalne materiały na stałe wypełnienia stomatologiczne. Jednak ich aplikacja dla tych celów wymaga dalszych badań fizykochemicznych (m.in. utwardzanie, kurczliwość, adhezja do tkanek zębnych), mechanicznych, tribologicznych oraz testów klinicznych.

Podziękowania

Praca badawcza sfinansowana przez KBN jako zadanie badawcze zamawiane 21/PBZ-KBN-082/T08/2002.



RYS. 6. Wytrzymałość na ściskanie kompozytów z dodatkiem n-SiO_2 .

FIG. 6. The compressive strength of composites with n-SiO_2 .

Results and discussion

This work shows results of the investigations on the composites based on Bis-GMA resin with wide range of powder fillers: nanosilica, glass fillers, tribological additives (Si_3N_4 , BN, teflon, polyethylene). The optimal homogenization time of mixtures was estimated. The influence of selected fillers on the structure and strength parameters was observed. Based on all of the investigations, the following inferences should be formulated:

- the optimal homogenization time of the Bis-GMA resin mixture with powder fillers is 15 minutes. Composite crosslinking stabilizes about 24 hours after hardening period,
 - 1% volume fraction of ceramic additives: Si_3N_4 or BN in composites increases their compressive strength. Above that amount the compressive strength decreased rapidly,
 - polymer modifiers (polyethylene and teflon) do not have significant effect on composite strength parameters.
- Polymerized composites can be potential materials for dental resin composites. Their application in this sector requires more physicochemical (hardening, shrinkage, teeth tissue adhesion), mechanical, and tribological investigations and clinical tests.

Acknowledgements

Scientific research was financed through the KBN committee.

- [1] Moszner N., Salz U.: New developments of polymeric dental composites. *Prog. Polym. Sci.*, 26, 2001, 535-576.
- [2] Atai M., Nekoomanesh M., Hashemi S. A., Amani S.: Physical and mechanical properties of an experimental dental composite based on a new polymer. *Dental Materials*, 20, 2004, 663-668.
- [3] Asmussen E., Peutzfeldt A.: Influence of UEDMA, Bis-GMA and TEGDMA on selected mechanical properties of experimental resin composites. *Dent Mater*, 14, 1998, 51-56.
- [4] Halvorson R., H., Erickson R.L., Davidson C.L.: The effect of filler and silane content on conversion of resin-based composite. *Dental Materials*, 19, 2003, 327-333.
- [5] Hajii L., Santerre P.: Effect of filler content on the profile of released biodegradation products in micro-filled Bis-GMA/TEGDMA dental composite resins. *Biomaterials*, 20, 1999, 1897-1908.
- [6] Debnath S., Ranade R., Wunder S.L., McCool J., Boberick K., Baran G.: Interface effects on mechanical properties of particle-reinforced composites. *Dental Materials*, 20, 2004, 677-686.
- [7] Park C., Robertson R.E.: Mechanical properties of resin composites with filler particles aligned by an electric field. *Dent Mater*, 14, 1998, 385-393.
- [8] St-Georges A.J., Swift J.E., Thompson J.Y., Heymann H.O.: Irradiance effects on the mechanical properties of universal hybrid and flowable hybrid resin composites. *Dental Materials*, 19, 2003, 406-413.

- [9] Skrtic D., Antonucci J.M., Eanes E.D., Eidelman N.: Dental composites based on hybrid and surface-modified amorphous calcium phosphates. *Biomaterials*, 25, 2004, 1141-1150.
- [10] Tagtekin D.A., Yarikoglu F.C., Bozkurt F.O., Kologlu B., Sur H.: Selected characteristics of an Ormocer and a conventional Hybrid resin composite. *Dental Materials*, 20, 2004, 487-497.
- [11] Skrtic D., Antonucci J.M.: Effect of bifunctional comonomers on mechanical strength and water sorption of amorphous calcium phosphate and silanized glass-filled Bis-GMA-based composites. *Biomaterials*, 24, 2003, 2881-2888.
- [12] Musanje L., Ferracane J.L.: Effects of resin formulation and nanofiller surface treatment on the properties of experimental hybrid resin composite. *Biomaterials*, 25, 2002, 4065-4071.
- [13] Luo J., Seghi R., Lannutti J.: Effect of silane coupling agents on the wear resistance of polymer-nanoporous silice gel dental composites. *Materials Science & Engineering C5*, 1997, 15-22.
- [14] Wang W., DiBenedetto A.T., Goldberg A.J.: Abrasive wear testing of dental restorative materials. *Wear*, 219, 1998, 213-219.
- [15] Condon J.R., Ferracane J.L.: Evaluation of composite wear with a new multi-mode oral wear simulator. *Dent Mater*, 12, 1996, 218-226.

WPŁYW PROCESU PEŁ- ZANIA W WARUNKACH IN VITRO NA CZAS ŻYCIA POLI(LAKTYDO-KO- GLIKOLIDU) I JEGO KOMPOZYTÓW

JAN CHŁOPEK*, PATRYCJA ROSÓŁ*, WACŁAW KRZANOWSKI**,
KATARZYNA MIGACZ*

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

**KATEDRA APARATURY PRZEMYSŁOWEJ, INSTYTUT APARATURY
PRZEMYSŁOWEJ I ENERGETYKI, WYDZIAŁ MECHANICZNY, POLITECH-
NIKA KRAKOWSKA,

AL. JANA PAWŁA II 37, 31 - 864 KRAKÓW

[*Inżynieria Biomateriałów*, 38-43, (2004), 175-178]

Wstęp

Postęp cywilizacyjny i związane z nim wydłużenie średniego czasu życia człowieka powoduje, że implanty muszą charakteryzować się podwyższoną trwałością w środowisku biologicznym. Dodatkowo powinny spełniać funkcję regenerującą dla otaczających tkanek, do których konieczne jest dopasowanie ich budowy i właściwości. Odtworzenie tych struktur możliwe jest przez materiały kompozytowe. Szczególnie atrakcyjne ze względu na możliwość konstrukcji materiałów o zróżnicowanej budowie i właściwościach są kompozyty o osnowach polimerowych. Ich zastosowanie wynika zarówno z rodzaju osnowy, gdzie można stosować polimery biostabilne i resorbowalne, jak i rodzaju oraz sposobu rozmieszczenia faz modyfikujących. Dodatki w postaci włókien lub cząstek mogą wpływać na właściwości

THE EFFECT OF 'IN VITRO' CREEP ON LIFETIME OF POLY(LACTIDO-CO- GLYCOLIDE) AND ITS COMPOSITES

JAN CHŁOPEK*, PATRYCJA ROSÓŁ*, WACŁAW KRZANOWSKI**,
KATARZYNA MIGACZ*

*DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
AL. MICKIEWICZA 30, 30 - 059 KRAKÓW

**INSTITUTE OF INDUSTRIAL APPARATUS AND POWER ENGINEERING,
FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING,
CRACOW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
AL. JANA PAWŁA II 37, 31 - 864 KRAKÓW

[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 175-178]

Introduction

The progress of civilization and related to it extension of average human lifetime requires that medical implants have to show increased durability in biological environment. Additionally, they should fulfill regenerating function for surrounding tissues, with which they have to be compatible in terms of structures and properties. Reconstruction of such structures is feasible using composite materials. Seen the possibility of formation of materials with variable structures and properties, composites with polymer matrices are particularly attractive in these applications. Their variety results not only from the nature of matrices, where both biostable and biosorbable polymers can be applied, but also from the types and ways of spatial distribution of modifying phases. The additives in form of fibres or particles can affect both mechanical properties of implants and their biological be-

ci mechaniczne implantów, a także ich zachowanie biologiczne. Ponadto istnieje możliwość otrzymania implantów o właściwościach mechanicznych zmieniających się w sposób kontrolowany w czasie [1, 2, 3].

W większości danych cytowanych w literaturze dotyczy głównie właściwości mechanicznych określonych w próbach statycznych [4, 5]. Nie daje to pełnego obrazu zachowania implantu w warunkach rzeczywistych, gdzie poddane są one jednoczesnemu działaniu naprężeń mechanicznych i agresywnego środowiska płynów ustrojowych. Jest to szczególnie istotne w przypadku kompozytów polimerowych, które doznacznie zmieniają swoje właściwości na skutek występowania m.in. zjawiska pęcznienia. Ponadto płyny ustrojowe mogą ingerować w głąb materiałów kompozytowych zmieniając stan granic międzyfazowych, co ma swoje odzwierciedlenie w pogorszeniu ich właściwości mechanicznych [6, 7].

Celem pracy była analiza właściwości mechanicznych bioresorbowalnego kopolimeru poli(laktydo-ko-glikolidu) (PLGA) oraz jego kompozytów z włóknami w glowymi (PLGA/CF) oraz czstkami nano-hydroksyapatytu (PLGA/HA). Materiały poddano stałemu obciążeniu mechanicznemu (pęcznieniu) w sztucznym środowisku biologicznym, a na podstawie uzyskanych wyników obliczono ich czasy życia.

Materiały i metody

Badania przeprowadzono na kształtkach w formie wiosełek otrzymanych metodą wtrysku w temperaturze 345°C wykonanych z PLGA (PLA:PGA - 84:16, Mn=92 000), wytworzonego w Centrum Chemii Polimerów PAN w Zabrzu [8]. Do wytworzenia kompozytów o 15% zawartości napełniaczy użyto: włókien w glowych krótkich FT 300 Torayca ($d=1.76 \text{ g/cm}^3$, $\sigma_r=3530 \text{ MPa}$, $E=230 \text{ GPa}$) oraz czstek hydroksyapatytu $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ pochodzenia naturalnego (z kocięprzowej) o nanocząstkach ($d=3.16 \text{ g/cm}^3$, $S_w=71.4 \text{ m}^3/\text{g}$) [9]. Do symulacji środowiska biologicznego użyto płynu Ringera produkcji Baxter Terpol Sp. z o.o. o następującym składzie: NaCl - 8.60 g/dm^3 ; KCl - 0.30 g/dm^3 ; CaCl_2 - 0.48 g/dm^3 .

Pomiary właściwości mechanicznych przeprowadzono za pomocą uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej Zwick 1435. Pęcznienie w warunkach *in vitro* badano wg normy PN-83/C-89041.

Omówienie wyników

TABELA 1 zawiera wyniki badań wytrzymałości na rozciąganie oraz wartości modułów Younga dla czystego PLGA i jego kompozytów. Z porównania tych wartości wynika, że wprowadzenie włókien w glowych powoduje około 30% wzrost wytrzymałości na rozciąganie w stosunku do czystego poli(laktydo-ko-glikolidu). Obecność czstek hydroksyapatytu obniża wartość o około 50%, co wynika z kruchej natury takich kompozytów. Natomiast w przypadku modułów Younga oba dodatki powodują wzrost sztywności.

Próby pęcznienia przeprowadzono w warunkach *in vitro* przy różnym poziomie stałych naprężeń działających na badane materiały. Dla poziomu stanowiącego 60% wytrzymałości wyznaczonej w próbie rozciągania (sr60%) zanotowano czasy zniszczenia materiałów. Jak wynika z tabeli 2 najbardziej odpornym na pęcznienie materiałem jest kompozyt wzmocniony włóknem w glowym krótkim, ulegający zniszczeniu po upływie najdłuższego czasu pęcznienia.

Próby dla innych wybranych poziomów obciążenia (2.5 MPa, 5 MPa i 7.5 MPa) wykonano bez doprowadzenia do zniszczenia.

Additionally, there are possibilities of manufacturing of implants with mechanical properties varying in a controlled way with time [1, 2, 3].

The majority of data cited in the literature relates mostly to mechanical properties defined in static tests [4, 5]. This does not give the full picture of implant's behaviour in real conditions, where they are subjected to simultaneous action of mechanical stresses and aggressive environment of body fluids. This is particularly important in the case of polymer composites, which can change their properties substantially due to, among others, creep phenomena. Additionally, physiological fluids may penetrate inside the composite materials affecting the state of interphases, which results in deterioration of mechanical properties [6, 7].

The aim of the present work is the analysis of mechanical properties of biosorbable co-polymer of poly(lactido-co-glycolide) - PLGA, and its composites with carbon fibres (PLGA/CF) and nano-particles of hydroxyapatite (PLGA/HA). Materials were subjected to constant mechanical stresses (creep) in an artificial biological environment. Their lifetimes were calculated on the basis of obtained results.

Materials and methods

The experiments were carried out on paddle-shaped samples received by injection at the temperature of 345°C, and made of PLGA (PLA:PGA - 84:16, Mn=92 000), manufactured at the Centre for Polymer Chemistry PAN in Zabrze, Poland [8]. Composites with 15% content of the following dispersed phases have been used: short carbon fibres FT 300 Torayca ($d=1.76 \text{ g/cm}^3$, $\sigma_r=3530 \text{ MPa}$, $E=230 \text{ GPa}$), and hydroxyapatite particles $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ of natural origin (pig's bone) with nanoparticles ($d=3.16 \text{ g/cm}^3$, $S_w=71.4 \text{ m}^3/\text{g}$) [9]. The Ringer fluid made by Baxter Terpol Sp. z o.o. with following composition: NaCl - 8.60 g/dm^3 ; KCl - 0.30 g/dm^3 ; CaCl_2 - 0.48 g/dm^3 was used for simulation of biological environment.

Mechanical properties were measured using universal testing machine Zwick 1435. The "in vitro" creep behaviour was examined according to standard PN-83/C-89041.

Results and discussion

Materiał Material	σ_r [MPa]	E [GPa]
PLGA	51.4±3.6	3.4±0.2
PLGA/CF	88.7±6.2	4.2±0.3
PLGA/HA	24.9±1.7	6.5±0.3

TABELA 1. Wytrzymałość na rozciąganie oraz moduły Younga badanych materiałów.
TABLE 1. Tensile strengths and Young's module of the examined materials.

TABLE 1 shows the results of examination of tensile strengths and Young module for pure PLGA and its composites. The comparison of these values indicates that introduction of carbon fibres increases the tensile strength about 30% as compared to pure poly(lactido-co-glycolide). The presence of hydroxyapatite decreases this value about 50%, which results from brittle nature of such composites. Both additives cause the increase of stiffness, thus Young module of the materials.

The creep tests were performed "in vitro" at different values of constant stresses. For the stress level correspond-

czenia materiałów, a na podstawie otrzymanych wyników określono ich czasy życia. W tym celu wykorzystano do szeroko stosowaną w praktyce funkcję pełzania MacLeoda, która dobrze oddaje zachowanie kompozytów polimerowych pod działaniem stałego naprężenia. Jest ona opisana równaniem:

$$\epsilon_t = \epsilon_0 (t/b)^m$$

gdzie: ϵ_t oznacza odkształcenie po czasie t , [%];
 ϵ_0 - odkształcenie natychmiastowe, krótkotrwałe, [%];
 t - czas, [s];
 b, m - stałe, charakteryzujące tworzywo [10].

Próbka Sample	ϵ_0 [%]	m, b [s]	Współczynnik korelacji correlation factor
$\sigma = 2.5$ MPa			
PLGA	2.41	0.0702; 75.1932	0.9610
PLGA /CF	2.23	0.0551; 31.5414	0.9987
PLGA /HA	1.72	0.0992; 23.8942	0.9490
$\sigma = 5.0$ MPa			
PLGA	2.61	0.0662; 37.0878	0.9544
PLGA /CF	2.50	0.0535; 48.9974	0.9825
PLGA /HA	2.01	0.1509; 162.5399	0.9313
$\sigma = 7.5$ MPa			
PLGA	3.16	0.0675; 99.0690	0.9550
PLGA /CF	2.94	0.0458; 41.1857	0.9920
PLGA /HA	2.76	0.0902; 137.5949	0.8281

TABELA 3. Wielkość odkształceń początkowych oraz wyznaczone współczynniki m i b równania MacLeoda dla krzywych pełzania przy naprężeniach 2.5 MPa, 5 MPa i 7.5 MPa.
TABLE 3. Values of initial strains and calculated coefficients m and b of MacLeod equation for creep curves at stress levels 2.5 MPa, 5 MPa and 7.5 MPa.

Obliczone współczynniki m i b zawarto w TABELI 3. Korzystając z równania MacLeoda przeprowadzono analizę czasu życia dla badanych materiałów. W przypadku rozciągania kości korowej odkształcenie niszczenia zawiera się w przedziale 0.7 - 5 % [11]. Z przedziału wybrano odkształcenie maksymalne 5% i dla tej wielkości obliczono czas, po którym materiały je osiągną. Otrzymane wyniki przedstawiono w TABELI 4.

Wnioski

Przeprowadzenie prób pełzania w warunkach *in vitro* umożliwia określenie czasu życia badanych materiałów, a porównując otrzymane wielkości można na ocenić ich przydatność do zastosowań medycznych. Najdłuższe wartości czasów życia otrzymano dla kompozytów wzmocnionych włóknem w głównym krótkim i wydają się one najlepszym materiałem z punktu widzenia przenoszenia obciążenia w długim okresie czasu. Obserwuje się też wpływ poziomu obciążenia na długość czasów życia - dla wyższych obciążeni są one krótsze.

Ponieważ poli(laktydo-ko-glikolid) jest materiałem bioresorbowalnym i trudno przewidzieć na podstawie krótkich testów jego zachowanie w dłuższym okresie czasu konieczne jest przeprowadzenie długotrwałych prób pełzania.

Materiał Material	$\sigma_{r60\%}$ [MPa]	t [min]
PLGA	30	9.8±2.2
PLGA/CF	50	23.1±6.3
PLGA/HA	15	3.8±1.3

TABELA 2 Czas zerwania materiałów poddanych próbie pełzania w warunkach *in vitro*.

TABLE 2. Time to failure of the materials subjected to "in vitro" creep tests.

ing to 60% of tensile strength ($\sigma_{r60\%}$) the times to failure were noted. As it can be seen from Table 2, the most creep resistant material is the composite reinforced with short carbon fibre, which fails after the longest creep time measured.

The tests at other chosen stress levels (2.5 MPa, 5 MPa i 7.5 MPa) were carried out without leading to failure of materials, and on the basis of obtained results their life-times have been predicted. The widely used MacLeod creep function was applied to this end. It reports well the behaviour of polymer composites under constant stress. It is described by the equation

$$\epsilon_t = \epsilon_0 (t/b)^m$$

where: ϵ_t is the strain after time [%];

ϵ_0 - instantaneous strain [%];

t - time, [s];

b, m - coefficients characteristic of the material [10].

Calculated coefficients m and b are collected in TABLE 3. The lifetime prediction analysis of the examined materials was carried out using MacLeod function. In the case of tensile test of core-bone the fracture strain is contained within the range of 0.7 - 5 % [11]. The maximum strain of 5% was taken from this range and for this value the time was calculated after which the materials will reach such strain. Obtained results are shown in TABLE 4.

Próbka Sample	t dla $\epsilon = 5\%$ $\sigma = 2.5$ MPa	t dla $\epsilon = 5\%$ $\sigma = 5.0$ MPa	t dla $\epsilon = 5\%$ $\sigma = 7.5$ MPa
PLGA	28 dni	189 godzin	24 godziny
PLGA /CF	844 dni	186 dni	51 dni
PLGA /HA	13 dni	35 godzin	14 godzin

TABELA 4. Czasy życia obliczone z równania MacLeoda dla odkształcenia $\epsilon = 5\%$.

TABLE 4. Lifetimes calculated using MacLeod equation for strain $\epsilon = 5\%$.

Results

Performing "in vitro" creep tests allows for determination of the lifetime of examined materials. Comparing of obtained results allows for determination of their suitability for medical applications. The longest lifetime values were obtained for composites reinforced with short carbon fibre, which seem to be the most suitable material from the point of load bearing capacity within the long period of time. The effects of stress levels on lifetimes also can be observed -these times are shorter for higher stresses.

Since poly(lactido-co-glycolide) is a biosorbable material, and it is difficult to predict its long term behaviour on the basis of short-term tests, the long-term creep tests seem to be necessary.

Praca została zrealizowana w ramach projektu badawczego: PBZ-KBN-082/T08/2002, finansowanego przez Komitet Bada Naukowych.

Pi miennictwo

- [1] J. Chłopek, G. Kmita: Non-metallic composite materials for bone surgery, *Engineering Transaction*, vol. 2, 3 (2003), 307-323.
 [2] Ramakrishna S., Mayer J., Wintermantel E., Kam W. Leong: Biomedical applications of polymer - composite materials: a review, *Comp. Scien. And Techn.* 61(2001), s. 1189-1224.
 [3] P. Rosół, J. Chłopek: Trwałość implantów polimerowo - ceramicznych, *Ceramika/Ceramics*, vol. 80, 2003, s. 211-216.
 [4] M.S. Abu Bakar, P. Cheang, K.A. Khor: Mechanical properties of injection molded hydroxyapatite - polyetheretherketone biocomposites, *Comp. Scien. And Techn.*, 63 (2003), s. 421-425.
 [5] Deng M., Shalaby S.W., Properties of self-reinforced ultra-high-molecular-weight polyethylene composites, *Biomaterials*, 18 (1997), s. 645-655.
 [6] P. Rosół, J. Chłopek: Wpływ warunków in vitro na stan granic mi dzyfazowych kompozytów włóknistych stosowanych na implantry, *In ynieria Biomateriałów*, nr 28, Rok VI, 2003, s. 26-30.

BADANIA ZM CZENIOWE KOMPOZYTÓW W GIEL-W GIEL MODYFIKOWANYCH HYDROKSYAPATYTEM

SZARANIEC BARBARA, CHŁOPEK JAN, PIEKARCZYK JAN

AGH, WYDZIAŁ IN YNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI
 KATEDRA BIOMATERIAŁÓW
 AL. MICKIEWICZA 30; 30-059 KRAKÓW, POLSKA

[*In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 178-180*]

Wst p

Kompozyty w giel-w giel modyfikowane powierzchniowo hydroksyapatytem stanowi obiecuj cy materiał do zastosowa w chirurgii kostnej. Mog by one przykładem materiałów biomimetycznych, które swój struktur i składem chemicznym próbuj na ladowa natur . I tak w rezultacie wła ciwo ci mechaniczne i biologiczne kompozytów o dwukierunkowym uło eniu włókien s zbli one do tych, jakie posiada tkanka kostna. Odznaczaj si one stosunkowo wysok wytrzymało ci , nisk spr ysto ci i wysok odporno ci na p kanie. Dzi ki obecno ci fazy bioaktywnej, jak jest hydroksyapatyt tworz z ko ci mocne, bezpo rednie wi zanie za włóknista budowa stwarza mo liwo przerastania materiału tkank i tworzenia dodatkowo zł cza biologicznego [1,2]. Ze wzgl du na to, e umieszczony w tkance kostnej implant mo e by poddawany cyklicznym napr eniom, istotne jest okre lenie równie jego wytrzymało ci zm czeniowej.

Materiały i metody

Kompozyty w giel-w giel o dwukierunkowym uło eniu włó-

Acknowledgements

This work was carried out as part of research project: PBZ-KBN-082/T08/2002, financed by the Committee for Scientific Research (KBN).

References

- [7] Suwanprateeb J., Tanner K.E., Turner S., Bonfield W.: Influence of Ringer's solution on creep resistance of hydroxyapatite reinforced polyethylene composites, *J. Mater. Sci., Mater. in Med.* 8, (1997), 469-472.
 [8] Dobrzy ski P., Kasperczyk J., Bero M., Nowe mo liwo ci syntezy i zastosowania w medycynie biodegradowalnych kopolimerów glikolidu nie zawieraj cych cyny, , *In . Biomateriałów*, (2002) Rok V, nr 23-25, 2 -29.
 [9] Haberko K., Bu ko M., Haberko M., Mozgawa W., Pyda A., Zar bski J., Hydroksyapatyt naturalny - preparatyka, wła ciwo ci, *In . Biomateriałów*, (2003) Rok VI, nr 30-33, 32-38.
 [10] MacLeod A.A., Design of plastic Structures for Complex Static Stress Systems, *Industrial and Engineering Chemistry*, (1955), 47, s.1319-1323.
 [11] Nahum A.M., Melvin J. Ed., The Biomechanics of Trauma, Norwalk 1985.

FATIGUE TESTS OF CARBON-CARBON COMPOSITES MODIFIED WITH HYDROXYAPATITE

SZARANIEC BARBARA, CHŁOPEK JAN, PIEKARCZYK JAN

AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS
 DEPARTMENT OF BIOMATERIALS
 AL.MICKIEWICZA 30; 30-050 CRACOW, POLAND

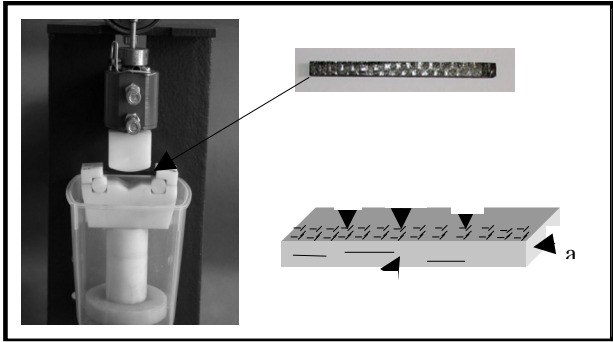
[*Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 178-180*]

Introduction

Carbon-carbon composites with surfaces modified with hydroxyapatite are the promising material for applications in bone surgery. They belong to biomimetic group of materials, the structure and chemical composition of which attempt to copy the nature. As a result, the mechanical and biological properties of composites with bi-directional fibre array are close to those contained in bone tissue. They are characterized by relatively high mechanical strength, low elasticity and high fracture toughness. Due to the presence of such bioactive phase as hydroxyapatite, they form direct and strong bond with the bone, while their fibrous structure allows for interbedding of the material with the tissue, and thus formation of additional biological bonding [1,2]. Seen the fact that the implant placed in the bone tissue can be subjected to cyclic stresses, it is also important to define its fatigue properties.

Materials and methods

Carbon-carbon composites with two-directional fiber array (2D) were obtained with use of pre-preg method. Carbon fiber woven fabric T-300 by Torayca was the reinforcing phase, and phenol-formaldehyde resin was the matrix



RYS. 1. Fotografia maszyny wytrzymałościowej z próbką kompozytu poddawaną trójpunktowemu zginaniu oraz schemat próbki z naniesionymi kierunkami pomiaru prędkości fali ultradźwiękowej.

FIG. 1. The picture of strength testing machine with composite sample under 3-point bending, and the scheme of the sample with direction of measurement of velocity of ultrasound wave.

kien (2D) otrzymywano metodą prepregów. Fazę wzmacniającą stanowiła tkanina z włókna węgla T-300 firmy Torayca, a prekursorem osnowy była żywica fenolowo-formaldehydowa. Kompozyty zwinęto w temp. 1000°C (z postępną temp. 5°C/min) w atmosferze ochronnej, a następnie dosycano mieszaniną żywicy fenolowo-formaldehydowej z proszkiem hydroksyapatytowym (AGH) [3] w próbniku, pod ciśnieniem i powtórnie zwinęto w takich samych warunkach jak poprzednio.

Beleczki o wymiarach ok. 3x4x70 mm wykonane z kompozytów węgla-fosforanowych poddawano obciążeniom cyklicznym na maszynie zmierzniowej przedstawionej na RYS. 1. Stałym, zadaniem parametrem było odkształcenie próbki ϵ na poziomie 90% odkształcenia zniszczenia $\epsilon(F_{max})$ (wielkość odkształcenia jakiego uległa próbka w momencie zniszczenia tj. przy maksymalnej sile). Przykładowy wykres naprężenie - odkształcenie dla kompozytu CC-HAP 2D przedstawia RYS. 2.

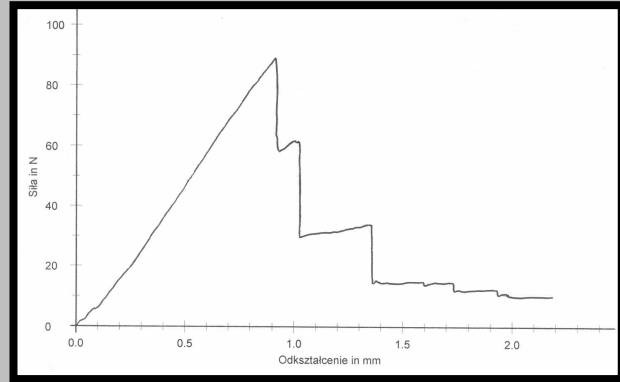
Pod określonych liczbach cykli (30 tys., 60 tys., 90 tys., 1 mln, 2 mln, 2,5 mln) wyznaczano resztkową wytrzymałość kompozytów na zginanie. W celu zaobserwowania pierwszych zmian w mikrostrukturze okresowo mierzono również prędkość propagacji fali ultradźwiękowej podłużnej w kompozytach [4]. Do pomiarów zastosowano próbnik materiałów MT-541 z przetwornikami o częstotliwości $f=1$ MHz. Próbkę badano w trzech wzajemnie prostopadłych kierunkach. Kierunki a i b są równoległe do płaszczyzny prepregów, a w kierunku prasowania pomiary prowadzono w trzech punktach c, d, e znajdujących się na środku i na obu końcach próbki (RYS.1).

Wyniki

Przeprowadzone badania ultradźwiękowe (RYS. 3) oraz wytrzymałościowe (RYS. 4) wykazały stabilność zmierzniową kompozytów w zakresie do 2×10^6 cykli.

Pierwszym objawem zmierzniowania materiału było obniżenie prędkości fali ultradźwiękowej w kierunku e , które odnotowano po 2,5 mln cykli. Wyznaczona po tym czasie wytrzymałość na zginanie kompozytu wynosiła ok. 40% wartości wyjściowej. Spadek wytrzymałości był związany z powstaniem dzywarstwowych, które jak wykazały badania ultradźwiękowe, pojawiły się po jednej stronie próbki w okolicach punktu e .

Biorąc pod uwagę, że w ciągu roku staw palca czy staw



RYS. 2. Zależność naprężenie-odkształcenie dla kompozytu CC-HAP 2D.

FIG. 2. Stress-strain relationship for composite CC-HAP 2D.

precursor. Composites were carbonized at the temp. of 1000°C (with temperature increase 5°C/min) in a protective atmosphere, followed by impregnation with the mixture of phenol-formaldehyde resin with hydroxyapatite (AGH) powder [3] under vacuum as well as under pressure, and then they were re-carbonized at the same conditions as before. Rectangular bars of the sizes of 3x4x70 mm made of carbon-phosphate were subjected to cyclic loading using the device shown in FIG.1. The sample's strain ϵ was a constant parameter at the level of 90% of fracture strain $\epsilon(F_{max})$. Typical stress-strain plot for CC-HAP 2D composite is shown in FIG. 2.

After defined number of cycles (30 thousands, 60 thousands, 90 thousands, 1 mln, 2 mln, 2.5 mln), the residual bending strength has been defined. In order to note first microstructural changes, the velocity of propagation of longitudinal ultrasound wave has been measured periodically in examined composites [4]. The materials tester MT-41 with transducers of frequency $f = 1$ MHz was used for these measurements.

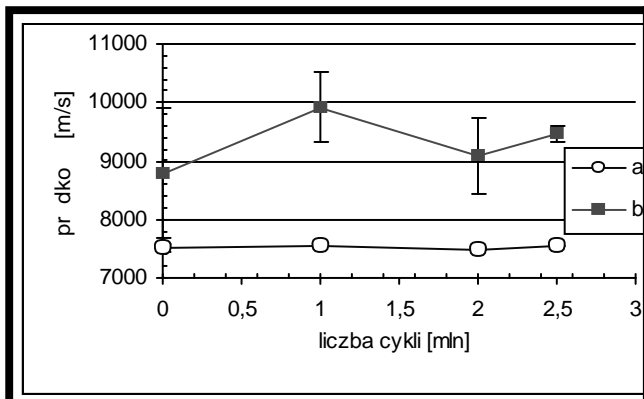
Samples were tested in three vertical directions. Directions a i b are parallel to prepreg directions, and in the direction of pressing the measurements were carried out in three points c, d, e , located in the middle and on both ends of the sample (FIG.1).

Results

Performed ultrasonic tests (FIG. 3) and strength measurements (FIG. 4), showed stability against fatigue of the examined composites within the range up to 2×10^6 cycles. First indication of fatigue was the decrease of ultrasound wave velocity in the direction e , which has been noted after 2,5 mln of cycles. Bending strength determined at the same time amounted to 40% of initial strength. The strength decrease was related to interlayer cracking, which appeared on one side of the sample near the point e .

Considering that finger or hip joints make approximately 1 mln cycles per annum [5], the result obtained for CC-HAP composite is very satisfying, bearing in mind very rigorous assumed strain level of 90%.

Compared to polymers and polymer matrix composites, which show systematic and rapid strength decrease in fatigue tests [6], the carbon-carbon composites modified with hydroxyapatite, also appear to be a material with low fatigue susceptibility.



RYS. 3. Zależność prędkości propagacji fali ultradźwiękowej w kompozycie CC-HAP od liczby cykli zmężeń.

FIG. 3. The relationship between velocity of ultrasound propagation and number of fatigue cycles for CC-HAP composite.

biodrowy wykonuje około miliona cykli [5] otrzymany wynik dla kompozytu CC-HAP przy założonym do rygorystycznym odkształceniu na poziomie 90% wydaje się być zadowalający. Również w porównaniu z polimerami i kompozytami o osnowie polimerowej, dla których obserwuje się systematyczny i dość szybki spadek wytrzymałości w próbach zmężeń [6], kompozyty w giel-w giel modyfikowane hydroksyapatytem można uznać za materiał o małej podatności na zmęczenie.

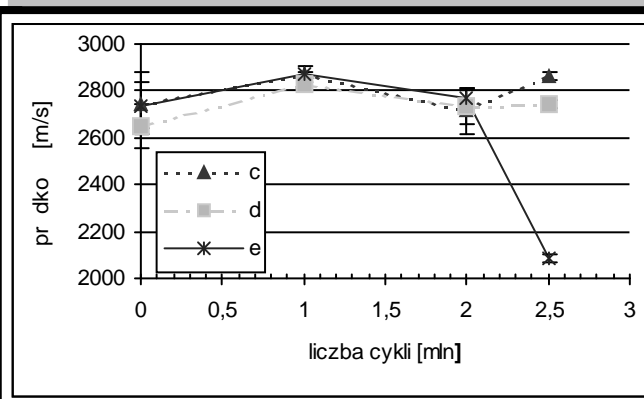
Wnioski

o Pomiar prędkości propagacji fali ultradźwiękowej w materiale poddanym cyklicznym obciążeniom pozwala na "wychwycenie" i zlokalizowanie powstających w jego mikrostrukturze defektów i może być cennym uzupełnieniem badań mechanicznych

o Kompozyty w giel-w giel modyfikowane powierzchniowo hydroksyapatytem wykazują wysoką odporność na zmęczenie i zachowują wyjściową wytrzymałość przez 2 mln cykli

Piśmiennictwo

- [1] Chłopek J., Szaraniec B.: Carbon Phosphate Bioactive Composites. 7th World Biomaterials Congress, May 2004, Sydney, Australia.
- [2] Chłopek J., Błażewicz M., Szaraniec B.: Kompozyty bioaktywne. Acta of Bioengineering and Biomechanics, vol. 3, suppl. 1 (2001).
- [3] Iósarczyk A.: Bioceramika hydroksyapatytowa. Prace Komisji Nauk Ceramicznych PAN, Ceramika 51, Polski Biuletyn Ceramiczny nr 13, Kraków 1997.



RYS. 4. Zależność resztkowej wytrzymałości na zginanie kompozytów CC-HAP od liczby cykli zmężeń.

FIG. 4. Relationship between residual bending strength and number of fatigue cycles in the composites CC-HAP.

Conclusions

o The measurement of velocity of propagation of ultrasound wave within the material subjected to fatigue tests allows to determine and localize defects in its microstructure, and can be considered a useful complementation of mechanical tests.

o Carbon-carbon composites with their surface modified using hydroxyapatite show high fatigue resistance and maintain high initial strength during 2 mln cycles.

References

- [4] Iósarczyk A., Piekarczyk J.: Zastosowanie metody ultradźwiękowej do badań ceramicznych tworzyw implantacyjnych.. Acoustical and mechanical method in biomedical engineering, Zakopane, 1998.
- [5] Ramakrishna S., Mayer J., Wintermantel E., Leong K. W.: Biomedical applications of polymer-composite materials: a review. Comp. Sci. Techn. 61 (2001), 1189 - 1224.
- [6] Chłopek J., Kmita G., Dobrzyński P., Bero M.: Właściwości zmężeńowe rur z kopolimeru P(LLA/GLA) oraz kopolimeru wzmacnianego włóknem w gówym. Inżynieria Biomateriałów 23, 24, 25 (2002), 88-90.

MAGNETYZM W SŁU BIE ORGANIZMÓW ŻYwych

WÓJCIK MARIUSZ

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

Streszczenie

W artykule przedstawiono wybrane zagadnienia dotyczące wykorzystania zjawiska magnetyzmu w medycynie pokazując krótko rys historyczny i aktualne możliwości diagnostyczne nowoczesnej aparatury badawczej. Przybliżono czytelnikowi jedno z najbardziej fascynujących zastosowań magnetyzmu jakim jest stymulacja magnetyczna ludzkiego mózgu. Do przyszłych celów tych eksperymentów należą niewątpliwie lepsze poznanie zarówno funkcjonowania ludzkiego mózgu jak i odkrycie możliwości niesienia pomocy pacjentom chorym na chorobę Alzheimera, Parkinsona czy raka mózgu.

Słowa kluczowe: magnetyzm, magnetyt
[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 181-187]

Magnetyzm i magnetyt odgrywają znaczące role zarówno w medycynie jak i w różnych dziedzinach badań naukowych i dlatego celem niniejszego artykułu jest przedstawienie wybranych informacji, które mogą zainteresować specjalistów poszukujących piśmiennictwa dotyczących zastosowań magnetyzmu i magnetytu w medycynie.

Efekt magnetytowy obserwowany od tysiącleci jako "zorza polarna" na północnej półkuli i olbrzymi potencjał magnetyzmu w jego możliwościach w zastosowaniach medycznych był przedmiotem nadziei, badań, spekulacji a nawet szarlatanizmu.

W różnych odkryciach naukowych w minionych latach znajdowano minerał magnetyt wytworzony przez organizmy żywe. Stwierdzono jego obecność w prymitywnych morskich mieliznach, w chitynowcach, w pszczołach, w magneto-taktycznych bakteriach, domowych gołobiaszach i delfinach [1]. Znaczenie biologiczne magnetytu związane jest głównie z jego właściwościami fizycznymi, ponieważ jest to najcięższy, najtrwalszy, najbardziej przewodzący elektrycznie i zarazem jedyny ferromagnetyczny minerał jaki kiedykolwiek odkryto, który bezpośrednio może wytwarzać organizmy żywe. Jednakże, pomimo tych wyrafinowanych właściwości, biologiczną funkcję magnetytu wyjaśniono tylko w przypadku chitynowców i bakterii, ponieważ chitynowce używają magnetytu do budowy żabek, natomiast bakteriom służy on do orientacji w ziemskim polu magnetycznym. Poza tym, zdolność domowych gołobiaszy i pszczoł w wykrywaniu bardzo słabych zmian ziemskiego pola magnetycznego może tłumaczyć występowanie w żywych organizmach specjalnych czujników opartych na magnetycie. Naukowcy często wykrywali słabe ale powtarzalne pozostałości magnetyzmu jednorodnie rozłożone wewnątrz tkanek kręgowców. Przykładem są mięśnie szyjne gołobiaszy, boczna linia narządów rekinów, mózdek, czarna substancja mózgu i stwardniała skóra rebusów. Nie spotkano ich natomiast w ludzkim rdzeniu mózgowym i gruczołach wytwarzających adrenalinę. Pomimo tego, do tej pory jeszcze nie znaleziono źródła pozostałości magnetycznej w tych tkankach, to właściwości magnetyczne związane z obecnością od 1 do 10 milionów pojedynczych domen krystalicznego magnetytu na jeden gram tkanki [2].

MAGNETISM IN SERVICE WITH LIVING ORGANISMS

181

WÓJCIK MARIUSZ

AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
AL. MICKIEWICZA 30: 30-059 CRACOW, POLAND

Abstract

Some problems of an application of magnetism in medicine with brief historical aspect and modern diagnosis possibilities on clinical instruments were shown. Approaches have been done for one most fascinating possible application of magnetism in magnetic stimulation of the human brain. It has been ascertained that future purposes of these experiments with the recognition of the differences of the neural excitation level in brain could be helpful in medicine diagnosis in the case of often-met civilised Alzheimer as well as brain tumour disease.

Key words: Magnetism, Magnetite
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 181-187]

Magnetism and magnetite plays an eminent role in a medicine and in a number of research fields, and the aim of this paper is to deliver some informations to an interested specialist seeking material concerning the application of magnetism and magnetite in medicine.

Magnetite effects such as the "northern lights" in the Northern Hemisphere have been observed for thousands of years and the potential of magnetism for medical application has been the object of hope, investigations, speculation, and even charlatanism. During many years in the past, a variety of living organisms have been found to precipitate biologically the ferromagnetic mineral magnetite. Magnetite has been identified in a primitive marine mollusc, the chiton, in honeybees, magnetotactic bacteria, homing pigeons and dolphins [1]. Magnetite is of biological interest because it is the densest, hardest, most electrically conductive and only ferromagnetic mineral that has yet been found as a direct precipitate in living organisms. Despite these sophisticated properties, however, the biological function of magnetite has only been clearly established in chiton and bacteria because chiton use it in their teeth and bacteria use it to provide orientation in the geomagnetic field. Beyond this, the ability of homing pigeons and honeybees to detect minute geomagnetic fluctuations can explain the magnetite-based sensory existing in living organisms. Scientists have often found a weak but reproducible ferromagnetic remanence present in and uniformly distributed through many vertebrate tissues. Example of this are pigeon neck muscles, the lateral line organs of sharks, the cerebellum, midbrain and corpus callosum of rhesus monkeys but not in the cerebral cortex and human adrenal glands. While there is not yet identified the source of the remanence in these tissue, but the magnetic properties are consistent with the presence of 1-10 million single-domain magnetite crystals per gram [2].

Historically, Petrus Peregrinus did the first treatise on magnetised needles and their properties in 1269 [3]. This treatise clearly documented a number of magnetic properties including that magnetic forces act at a distance, magnetic forces attracts only magnetic materials, like poles repel and unlike poles attract and north poles point north and south poles south. Equipped with this knowledge, the medieval

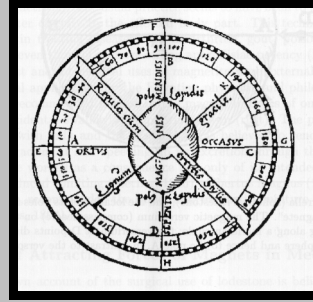
Historycznie rzecz biorąc, pierwszą rozprawą naukową poświęconą magnetycznym igłom i ich właściwościom napisał Petrus Peregrinus w 1269 roku [3]. W swojej rozprawie jasno udokumentował liczne właściwości magnetyczne takie jak siła oddziaływania magnetytu w funkcji odległości, zdolność przyciągania tylko materiałów magnetycznych, udowodnienia, że podobne pola wzajemnie się odpychają, a przeciwne przyciągają oraz, że biegun północny wskazuje północ, a południowy południe. Należy przypuszczać, że średniowieczni Europejczycy posiadający tak właściwie nie wiedzieli mogli podróżować po świecie i odkrywali nowe kraje (RYS. 1).

William Gilbert, osobisty lekarz królowej Anglii Elżbiety I, po przeprowadzeniu bardzo wielu eksperymentów w roku 1600 udokumentowanych w książce zatytułowanej "Magnetica", w której dokonał także podsumowania stanu wiedzy na temat magnetyzmu i elektrycyzacji, stwierdził, że Ziemia sama w sobie jest magnesem [4].

Pierwsze znane medyczne zastosowanie magnezu należy przypisać Talesowi z Miletu (ok. 624-547 BC), który jako pierwszy skojarzył człowieka z tym minerałem. Wierzył, że dusza w jakiś sposób wytwarza ruch, a skoro magnez porusza się, to także wytwarza ruch, a zatem musi posiadać duszę. Wiara ta spowodowała, że wiele cudownych uzdrowień zostało przypisanych magnetytowi. W piśmiennictwie medycznym tamtych czasów można znaleźć zapisy o tym, że Hipokrates z Kos (ok. 460-360 BC) stosował żółte tlenki żelaza w postaci magnetytu czy hematytu do tamowania spuszczanej w celach leczniczych krwi oraz do kontroli krwotoku.

W pierwszym wieku naszej ery, rzymski nauczyciel, Pliny z Elderu (23-79 AD) zgromadził i opisał całą wiedzę swoich czasów w formie encyklopedii, z której korzystano przez następne 1700 lat. Napisał wiele o tym, że chociaż w większości starożytni uważali magnetyt za zewnętrzny środek medycznych, to Egipski lekarz Avicenna promował użycie magnetytu wewnątrz trznie jako antidotum dla przypadkowego połknięcia trucizny z owoce. W przypadkach obrzęku zalecano picie mieszaniny magnetytu z mlekiem [5]. Z innych medycznych zastosowań magnezu można wymienić usuwanie opłuków żelaza z oka dzięki istnieniu siły przyciągającej magnezu. Magnetyt był także zalecany w chorobach układu nerwowego i hipnozie. Mesmer, hipnotyzując wykazujący symptomy hysterii pacjentów za pomocą magnetytu osiągnął wiele wyjątkowych uzdrowień [6].

W ostatnich 20 latach, medyczne zastosowanie magnetyzmu i magnezu znacznie się poszerzyło i objęło nowe obszary, do których należą między innymi kardiologia, neurochirurgia, onkologia, radiologia czy dentystryka. Nowe zastosowania były możliwe dzięki rozwojowi miniaturyzacji elektromagnesów, rozwojowi nadprzewodzących elektromagnesów i wprowadzeniem silnych stałych magnesów wytwarzanych ze stopów Sm-Co i Nd-Fe-B [7]. Materiały te umożliwiły skonstruowanie miniatury magnesów i cewek elektromagnetycznych, które były tak małe, że można je było wprowadzać do naczynek naczyń krwionośnych. Tak małe cewniki pozwalały na kontrolowanie wnętrza naczyń krwionośnych z zewnątrz ciała pacjenta stosując silne pola magnetyczne i były stosowane klinicznie zarówno w celu monitorowania wewnątrzczaszkowych prądów w postaci elektroencefalografów jak i wytwarzania elektrycznych zakrzepów w przypadkach nieoperowalnych tętniaków tętnic. Tak wyrefinowana technika mogła być także z powodzeniem stosowana w diagnostyce chorób serca u małych dzieci gdy odpowiednio umiejscowiony magnes umożliwił bezbolesne wprowadzenie końcówki cewnika do prawej komory serca w celu podania czynnika kontra-



RYS. 1. Owalny magnetyt odkryty przez Petrusa Peregrinusa umieszczony wewnątrz drewnianego pudełka. Umieszczony w pojemniku z wodą wskazywał azymut słońca.

FIG. 1. Petrus Peregrinus's an oval lodestone mounted inside a wooden box. This instrument was placed in a bowl of water for the determination of the azimuth of the sun.

Europeans navigated the globe and discovering countries (FIG. 1).

William Gilbert, a physician of Queen Elisabeth I, have arrived at the conclusion that the earth itself is a magnet, after numerous experiments made in 1600 and documented in his book "De

Magnete" where he have made a summary of the knowledge of the time about magnetism and electricity [4].

First medical uses of magnets can be attributed with Thales of Miletus (c. 624-547 BC) who was the first to make a connection between man and magnet. He believed the soul somehow produced motions and since a magnet moves iron it also produces motions, it must possess a soul. This belief led to the many miraculous healing properties of the lodestone. Medical references to magnetism were made by Hippocrates of Cos (c. 460-360 BC), who used the stiptic iron oxides magnetite and hematite to stop bleeding and to control haemorrhage. In the first century, Pliny the Elder (23-79 AD), a Roman scholar, collected and condensed the entire knowledge of the time into an encyclopaedia, which was used for the next 1700 years. Although most ancient medical uses of magnetite were applied externally, Egyptian physician Avicenna also promoted it for internal usage as an antidote for the accidental swallowing of poisonous iron (rust). The pulverised magnetite/milk mixture was recommended also for the treatment of oedema [5]. Other medical application of magnets came to include the removal of iron particles embedded in the eye due to attracting forces of magnets. Magnetite was also recommended in nervous diseases and mesmerism. By applying it to patients, who mainly had symptoms of hysterical or psychosomatic origin, Mesmer achieved many seemingly miraculous cures [6].

In the last 20 years, the medical use of magnetism and magnets have been spread to many different fields as cardiology, neurosurgery, oncology, radiology, dentistry, to mention only a few. New applications were possible by evolution and miniaturisation of electromagnets, the development of superconducting electromagnets and the introduction of strong permanent magnets made of Sm-Co and Nd-Fe-B alloys [7]. Such materials allowed the construction of miniaturised magnets and electromagnetic coils which was so tiny that it could fit into the tip of a vascular catheter. These small catheters permitted intravascular guidance from outside of the body with a strong magnetic field and have been used clinically both for monitoring intracranial electroencephalograms and for producing electrothrombosis of inoperable arterial aneurysms. Such sophisticated technique can be also successfully used in small children heart disease diagnosis when an appropriately placed magnet was able to direct the magnetic catheter tip into the right ventricle, thus allowing for the injection of a contrast agent [8]. In other diagnostics, a patient's own blood flow can help in

stuj czego [8]. W innych przypadkach diagnozy, wykorzystywano własny przepływ krwi, który pomagał w przemieszczeniu substancji magnetycznej w po dane miejsce, natomiast zewnętrzny magnes wytwarzający silne, lokalne pole magnetyczne służył do zatrzymania substancji magnetycznej w organie docelowym np. w miejscu, gdzie rozwinął się rak. Substancje magnetyczne zazwyczaj w formie nanosfer lub mikrosfer ulegają koncentracji w takim miejscu. Sferę tę, zazwyczaj wypełnioną chemicznymi lub radioterapeutycznymi lekami skutecznie uwalniają leki lub blokują naczynia krwionośne i kapilarne [9].

Do nowych zastosowań magnetyzmu w medycynie externaly bez wątpienia należy oczyszczanie szpiku kostnego w komórek rakowych za pomocą magnetycznych mikrosfer. Według standardowej procedury, szpik kostny jest pobrany od pacjenta przed zastosowaniem konwencjonalnej terapii rakowej i jest oczyszczany za pomocą jednoklonowych ciał anty-rakowych, umiejscowionych w polistyrenowych magnetycznych mikrosferach. Po takiej obróbce, oczyszczony szpik kostny jest ponownie wprowadzany do kości dostarczając pacjentowi nowe i zdrowe komórki [10]. Medyczne zastosowanie magnesów nie ogranicza się tylko do wspomnianych wyżej procedur medycznych, ale swoim zasięgiem obejmuje najnowocześniejsze techniki diagnostyczne w postaci pozytonowej tomografii emisyjnej (PET) i obrazowego rezonansu magnetycznego (MRI). W pierwszej metodzie magnesy są wykorzystane w cyklotronach, gdzie wytwarza się radioizotopy tlenu (^{15}O) o krótkim czasie połowicznego rozpadu, a po ich wstrzyknięciu pacjentowi, stosując PET można określić bio-rozkład i funkcje biochemiczne różnych organów i tkanek. Drugą metodą diagnostyczną wykorzystuje korzystne właściwości magnetyczne pierwiastków. MRI jest szeroko wykorzystywana do trójwymiarowego, nieinwazyjnego przebadania ciała pacjenta i obecnie należy do najważniejszych, dostępnych metod diagnostycznych.

Człowiek jest zbudowany z atomów różnych pierwiastków otoczonych cząsteczkami wody. Atomy te reagują na siły pola magnetyczne i elektryczne. Łatwo jest więc zrozumieć, że siły pola magnetycznego lub elektromagnetycznego mogą zmieniać funkcje fizjologiczne, wywoływać różne efekty lub wpływać na organizm w sposób pozytywny lub negatywny. Zasięg i znaczenie tego zjawiska były przedmiotem badań od przeszło stu lat, ale obserwowane wyniki, ogólnie rzecz biorąc, miały małe znaczenie i statystycznie były niepewne. Badając wpływ magnetyzmu na człowieka, można wyróżnić dwa różne typy pól magnetycznych: statyczne pole magnetyczne, które występuje wokół dużych magnesów i pole elektromagnetyczne pulsujące z częstotliwością powyżej 10 Hz. Wiąkszość naukowców zgadza się z poglądem, że pole magnetyczne do wartości 10 Tesla nie wpływa w sposób oczywisty na wzrost roślin, rozwój myszy, ciepłotę ciała czy aktywność mózgu [11]. Brak widocznych efektów oddziaływania pola magnetycznego na człowieka znajdującego się w pobliżu mocnych magnesów nie oznacza, że takiego efektu w kości nie ma. Jest wiele ewidentnych przykładów na to, że nie tylko gołębie, pszczoły czy wieloryby ale i człowiek posiada magnetyczne receptory reagujące na pola magnetyczne [12]. Badania pokazały, że ludzie są czuli na małe zmiany w gradiencie pola magnetycznego, ale nie całego pola magnetycznego. Dowodem tego są badania odruchów ród karza [13]. Ród karz, trzymający w rękach silnie ród k, w pewnych warunkach fizycznych będzie czuł siłę, która mimowolnie będzie oddziaływała na ród k kierując ją w górę i w dół (RYS. 2). Pomiar pola magnetycznego pokazały, że odruch ród karza występuje wtedy, gdy on przechodzi przez obszar, gdzie znajduje się niejednorodne ziemskie pole ma-

move of magnetite substances to a target location but an externally applied magnet which produces a strong local magnetic field can be employed to stop these magnetic substances in the target organ, e.g., a tumour. The magnetic substances preferentially in the form of nanospheres or microspheres thus become concentrated in the target area. These spheres, which can be filled with chemo- or radiotherapeutic drugs, then produce their effect by releasing the drug or by blocking the vessels and capillaries [9]. A recent ex vivo application of magnetism in medicine is the purification of bone marrow from tumour cells with magnetic microspheres. In this standard procedure, the bone marrow is extracted from the patient previous to conventional cancer therapy and is purified by usage of a monoclonal anti-tumour antibodies conjugated to magnetic polystyrene microspheres. After cancer treatment, the cleaned bone marrow is re-infused and provides a patient with new and healthy bone marrow cells [10].

The medical use of magnets is not confined to treatment approaches, but extend to the most powerful modern diagnostics methods such as positron emission tomography (PET) and magnetic resonance imaging (MRI). In the first method, magnets are used in a cyclotron to produce short-lived radioisotopes such as ^{15}O . Once the radioisotopes are injected into a patient and imaged with the PET system, the biodistribution and biochemical functioning of different organs and tissues can be determined. The second diagnostic methods, takes advantage of the magnetic properties of elements. MRI is used extensively for three-dimensional, non-invasive scans of a patient's body and is currently the most important diagnostic method available.

Humans are made up of the atoms of different elements surrounded by water molecules. These atoms react to magnetic and electric forces and fields. It is therefore easy to imagine that magnetic and electromagnetic forces could alter physiologic functions, induce effect or influence the organism in a positive or negative way. The extent and importance of these phenomena has been under investigation for the last 100 years, but the effects observed have generally been minimal and seldom statistically significant. When investigating magnetic effect on humans, two different magnetic field types are generally distinguished: the static magnetic field which exists around a large magnet and electromagnetic field that pulsed at frequencies higher than 10Hz. Most scientists agree that static magnetic field of up to 10 Tesla have no obvious effects on long-term plant growth, mouse development, body temperature or brain activity [11]. The lack of apparent effects of strong magnetic fields on humans near powerful magnets does not imply that there are no effects at all. There are many evidences that not only do pigeons, bees and fin whales possess magnetic receptors, but humans do too [12]. Research indicates that humans are sensitive to small changes in magnetic fields gradients, but not to the overall magnetic field. Evidence supporting this has come from studies of the dowser reflex [13]. A dowser, a person holding firmly a divining rod, will have a force under certain physical conditions experience that results in an involuntary upward and downward movement of their rod (FIG. 2). Magnetic field measurements have shown that the dowser reflex occurs when the dowser passes through a region where the earth's magnetic field is not entirely uniform. This field anomaly produces a magnetic field gradient, which must exceed 8 mA/m^2 (0.1 mOe/m) to be detected. The speed with which the dowser passes through this field gradient also influences his magnetic reception. The dowser must pass through such a field gradient within at least one second to detect it. Furthermore, adding up small differences in field gradients can increase

gnetyczne. Nieprawidłowo pola wytwarza gradient pola magnetycznego, które aby zostało wykryte musi przewyższa poziom 8 mA/m^2 (0.1 mOe/m). Szybko z jak ród karz przemieszcza się przez gradient pola tak e ma wpływ na jego magnetyczny odbiór. Ród karz musi przejść przez taki gradient pola w ciągu jednej sekundy aby go wykrył. Dlatego tego uwzględniając niewielkie różnice w gradientach pole e wzrasta poziom wykrycia takiego pola. Jednak e wi ejsze gradienty pole magnetycznych, prowadzą do pewnego nasycenia i mogą one by wykryte tylko podczas szybszego przemieszczania się. Fizjologiczne wytłumaczenie zjawiska odruchu ród karza opiera się na fizjologicznej indukcji momentów magnetycznych, prądów elektromagnetycznych i nuklearnego rezonansu magnetycznego. Dostępne dane wskazują, e człowiek jest wrażliwy na zmienne pola elektromagnetyczne. Badania epidemiologiczne nawet sugerują zdrowotny wpływ przypisywany odpowiednio małym polom magnetycznym jakich obecnie stwierdzono pod liniami wysokiego napięcia. Zanim jednak pojawi się teorie oparte na mechanizmach oddziaływania molekularnych, jest bardzo trudno sprawdzić lub obalić jakkolwiek związek pomiędzy chorobami, a małymi polami magnetycznymi wytwarzanymi w pobliżu urządzeń elektrycznych, maszyn, przewodów mocy a nawet komputerów. W aktualnych badaniach laboratoryjnych stosowane są coraz to bardziej wyrafinowane techniki badawcze, bardziej czułe aparaty oraz stosowane są bardziej udoskonalone metody statystyczne jakie nie były przedtem używane. Więc to z naszym głębszym zrozumieniem przykładów rezonansu magnetycznego w tkance te niezmiernie udoskonalone metody instrumentalne powinny także przyczynić się do jeszcze lepszego zrozumienia wpływu pola elektromagnetycznego na poziomie komórki i molekularnym. Prowadzi to wszystko do nowych technik medycznych opartych na zjawisku magnetyzmu, służących celom diagnozy i terapii.

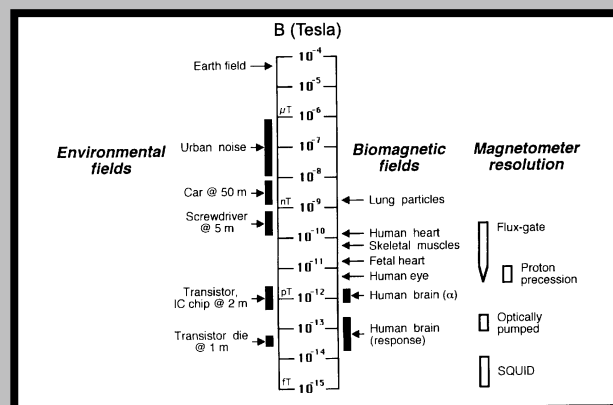
W 1820 roku Hans Oerstedt odkrył i zanotował, e prąd płynący przez objętość masy wytwarza pole magnetyczne. Takie prądy także występują w ciele ludzkim wytwarzając biopole magnetyczne wykrywalne na zewnątrz ciała. Jednym z rodzajów tych słabych, zmiennych pól są małe prądy jonów w materii organicznej. Prądy te wytwarzane są z kolei przez duże masy wzbudzonych, synchronicznie kurczących się tkanek takich jak na przykład mięsie sercowe. Sygnały biomagnetyczne są niezwykle słabe w porównaniu z ziemskim polem magnetycznym lub zakłóceniami powodowanymi hałasem miejskim. Te biomagnetyczne pola są rzędu od pikotesli do femtotesli, natomiast częstotliwość wynosi od około 1 Hz do kHz (RYS. 3). Silniejsze pola są wytwarzane przez ludzkie serce (magnetokardiogram) i przez mięśnie szkieletowe (magnetomyogram). Neuromagnetyczne sygnały (magnetoencefalogram) są znacznie słabsze. Inne elektrycznie czułe narządy także wytwarzają swoje własne biopole magnetyczne nazwane w przypadku oka magnetookulogramem (MOG) i magnetoretinogramem (MRG), w przypadku oka dka magnetogastrogramem (MGG), w przypadku serca i mózgu noworodka odpowiednio fetal-magnetocardiogramem (FMCG) lub fetal-magnetoencefalogramem (FMEG), w przypadku nerwów obwodowych magnetoneurogramem (MNG). Przeprowadzając badania biomagnetyczne stykamy się z podwójnym problemem, ponieważ musimy przeprowadzić pomiar bardzo słabych sygnałów biomagnetycznych w obecności hałasu magnetycznego otoczenia, które jest o kilka rzędów wielkości silniejsze niż wykrywane pola. Dlatego też, potrzebny jest bardzo czuły sensor jakim jest tzw. SQUID, pozwalający zredukować hałas otoczenia poniżej mierzonego sygnału. Istnieje kilka firm, które oferują handlowe urządzenia bio-



RYS. 2. Ród karz trzymający ród k podczas poszukiwania podziemnego ródka wody (z Abbe de Vallemont's "Rozprawa na temat ródki", Pary, 1693). FIG. 2. Dowser holding a divining rod while searching for underground water (from Abbe de Vallemont's "Treatise on the divining rod", Paris, 1693).

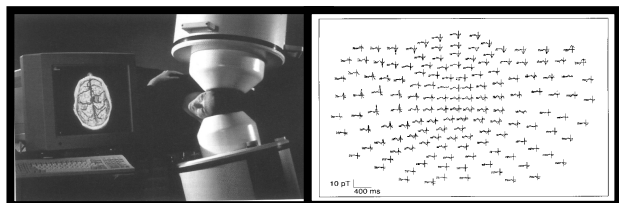
the detection level. Higher magnetic field gradients, however, lead to saturation and can only be detected by going faster. Physiological explanations of the dowser reflex have included the physiological induction of magnetic moments, electromagnetic currents and nuclear magnetic resonance. Available data indicate that humans are susceptible to alternating electromagnetic fields. Epidemiological studies even suggest health effects attributed to relatively small magnetic fields such as the ones found underneath a high-voltage line. Unless new theories for these effects are proposed on the grounds of molecular mechanisms, it is very difficult to prove or disprove any association between disease and the small magnetic fields produced near electric devices, machines, power lines and even computers. Current laboratory investigations employ more sophisticated techniques, more sensitive instruments and more refined statistical methods than ever before. Combining with our deeper understanding of magnetic resonance patterns in tissue this vastly improved instrumentation should provide our understanding of the electromagnetic field effects at the cellular and molecular level. This will lead to the introduction of new, magnetism-based medical techniques for diagnosis and therapy.

In 1820 Hans Oerstedt found and wrote down that a current flowing through a volume produces a magnetic field. Such currents also occur in the human body producing biomagnetic fields detectable outside the body. One source



RYS. 3. Indukcja magnetyczna biopola magnetycznego, zakłócenia środowiskowe pola magnetycznego i rozkład magnetometru.

FIG. 3. Magnetic induction of biomagnetic fields and of environmental magnetic field disturbances as well as magnetometer resolution (J. Vrba).



RYS. 4. Urządzenie diagnostyczne Magnes II firmy Technologis Inc. San Diego, USA i zapis refleksów chorego na epilepsję pacjenta (z lewej).

FIG. 4. Diagnostic device Magnes II from Biomagnetic Technologis Inc. San Diego, USA, and recorded epileptic pikes of the ill patient (left).

magnetyczne i/albo do badań serca albo mózgu. Wszystkie te układy pomiarowe zaprojektowano w zamierzeniu do badawczych celów klinicznych, obsługiwanych rutynowo przez szpitalne wykwalifikowane służyby (RYS. 4).

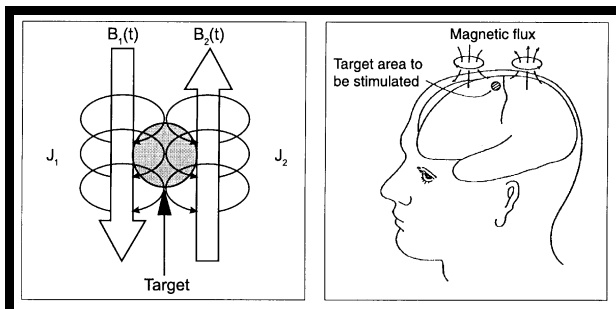
Jak już wspomniano urządzenie biomagnetyczne można z powodzeniem stosować w celach szeroko pojętej diagnostyki medycznej takiej jak kardiomagnetyzm, neuromagnetyzm itp., ale jednym z najbardziej fascynujących zastosowań magnetyzmu jest stymulacja magnetyczna ludzkiego mózgu. Do przyszłych celów tych eksperymentów należy niewątpliwie lepsze poznanie zarówno funkcjonowania ludzkiego mózgu jak i odkrycie możliwości niesienia pomocy pacjentom chorym na choroby Alzheimera, Parkinsona czy raka mózgu.

Stymulacja magnetyczna nerwu szeroko stosowana w badaniach neurofizjologicznych i diagnostyce klinicznej. Rozwinięto metodę skupionej (ogniskowej) i kierunkowej stymulacji ludzkiego mózgu. Maass i Asa [14] zaproponowali stymulację podobną do działania transformatora, w której wiązka nerwowa została potraktowana jako wtórne uzwojenie. Pokazali, że zmiana przepływu prądu w rdzeniu może być zastosowana do wzbudzenia nerwów. Oberg [15] zaproponował stymulację typu szczeliny powietrznej, w której wiązka nerwowa została wystawiona na działanie zmiennego pola magnetycznego. Badania te pokazały w sposób eksperymentalny, że wzbudzone prądami wirowymi w błonie tkankowej mogłyby stymulować nerwy. Eksperyment przeprowadzono na wielkim aksonie homara mierząc wielkość potencjału czynnościowego przy zmiennych w czasie polach magnetycznych. Błona aksonu była wzbudzana za pomocą stymulacji galwanicznej, a potencjał czynnościowy rejestrowano mikroskopowo za pomocą mikroelektrod. Podczas propagacji potencjału czynnościowego wzdłuż aksonu, stosowano zmienne lub impulsowe pola magnetyczne w celu zbadania czy pola magnetyczne mają jakikolwiek wpływ na takie parametry jak prędkość przewodzenia, oporność włókna nerwowego i amplitudy, okres trwania i rodzaj potencjału czynnościowego. Wyniki pokazały, że wzbudzenie nerwu za pomocą pola magnetycznego odbywało się w sposób podobny do wzbudzenia prądami wirowymi w otaczającej nerw tkance. Głównym wzbudzonego prądu zależy zarówno od czynnika geometrycznego jak i od oporności tkanki przez którą przepływa prąd. Dla wzbudzenia nerwu, ważniejsze są makroskopowe prądami wirowymi mikroskopowe, które płyną wzdłuż aksonu nerwowego i w otaczającej nerw tkance, które uczestniczą w depolaryzacji błony [16]. W następujących eksperymentach wprowadzono do ciała zaizolowany rdzeń magnetyczny, na którym umieszczono wiązki nerwów. Teraz prądami wirowymi płynące w płynach fizjologicznych ciała opływały rdzeń i kiedy zmieniano strumień magnetyczny w rdzeniu mogły one stymulować nerw. Pomi-

of weak fluctuating fields are the small ion currents in living materials. These currents are produced by large masses of excitable, synchronously firing tissue such as heart tissue. Biomagnetic signals are extremely weak in comparison with the earth's magnetic field or disturbances caused by urban noise. These weak biomagnetic fields are in the order of picotesla and femtoTesla, at frequencies from a fraction of Hertz to kiloHertz (FIG. 3). The strongest field is generated by the human heart (magnetocardiogram) and by skeletal muscles (magnetomyogram). Neuromagnetic signals (magnetoencephalogram) are much weaker. Biomagnetic fields are also known from other electrically active organs; the eye as the magnetooculogram (MOG) and magneto-retinogram (MRG), the stomach as magnetogastrogram (MGG), the fetal heart and brain (fetal-magnetocardiogram: FMCG or fetal-magnetoencephalogram: FMEG, respectively) and the peripheral nerve as the magnetoneurogram (MNG). When performing biomagnetic investigations we are faced with twofold problems: very weak biomagnetic signals have to be measured in the presence of environmental magnetic noise which is many orders of magnitude stronger than the fields to be detected. Therefore, a very sensitive sensor (SQUID) is needed for reducing the ambient noise below the signal to be measured. There are several companies, which offer commercial biomagnetic instrumentation either for heart and/or for brain biomagnetic investigations. All these systems have been designed with the clinical user in mind and hospital technician staff routinely operates most of them (FIG. 4).

As mentioned above the biomagnetism instrumentation can be successfully applied in a broad medical diagnostics purposes such as in cardiomagnetism, neuromagnetism, and etc., but there is one most fascinating possible application of magnetism in magnetic stimulation of the human brain. The future aim of these experiments will be better understand the functionality action of the human brain as well as the discovery of the possibilities for helping patients in Alzheimer and Parkinson diseases and brain tumors.

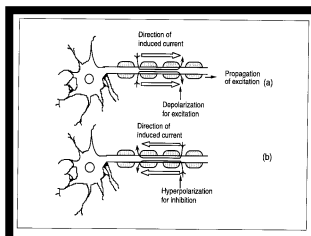
Magnetic nerve stimulation has been widely used in neurophysiological studies and clinical diagnosis. A method of focal and vectorial stimulation of the human brain has been developed. Maass & Asa [14] proposed a transformer type stimulation, in which a nerve bundle was threaded through a core as the secondary winding. They demonstrated that the flux change in the core could be used to excite nerves. Oberg [15] proposed an airgap type stimulation, in which a bundle of nerve was exposed to alternating magnetic fields. These studies demonstrated experimentally that induced eddy currents in the membrane tissues could be expected to stimulate nerves. An experiment was carried out to measure action potentials of lobster giant axons under time-varying magnetic fields. The axon membrane was excited by galvanic stimulation, and the action potential was recorded intercellularly with microelectrodes. During the propagation of the action potential along the axon, alternating or pulsed magnetic fields were applied across the middle of the axon to study whether magnetic fields have any effect on parameters such as the conduction velocity and refractory period of the nerve fibre and the amplitude, duration and shape of action potentials. Results revealed that nerve excitation by magnetic field influence are mediated via the induction eddy current in the tissue surrounding the nerve. The current density induced depends on geometrical factors as well as the resistivity of the tissue in which the current flows. For nerve excitation, the macroscopic eddy currents are more important than the microscopic ones that flow along the nerve axon and in the tissues surrounding the nerve, as they contribute to the depolarisation of the membrane [16].



RYS. 5. Zasada działania lokalnej stymulacji (z lewej) i para cewek umiejscowiona na zewn trz głowy (z prawej).
FIG. 5. Principle of localised stimulation (left) and a pair of coils placed outside the head (right).

dzy rdzeniem a nerwem nie było wzajemnego połączenia. Ta metoda utwierdziła w przekonaniu, że system nerwowy odpowiada na zmienne w czasie pole magnetyczne poprzez prądy wirowe wzbudzone w ciele.

Powyższe badania przyczyniły się do powstania głównego pomysłu na miejscową stymulację mózgu poprzez skoncentrowanie wzbudzonych prądów wirowych we wskazanym miejscu za pomocą pary zmiennych w czasie pól magnetycznych (RYS. 5). Para cewek ustawiono na zewnątrz głowy tak, że zmienne w czasie pola magnetyczne, $B_1(t)$ i $B_2(t)$, przechodziły przez głowę w przeciwnych kierunkach wokół miejsca przeznaczenia (celu). Wzbudzone prądy wirowe J_1 i J_2 , jak należało się spodziewać, płynęły razem. Zbiegnięcie prądów wirowych przyczyniła się do wzrostu gęstości prądu w celu, gdzie nastąpiła depolaryzacja tkanki nerwowej. Ta metoda zaproponowana do nagrzewania raka mózgu [17].



RYS. 6. Kierunek stymulującego prądu i wzbudzenie nerwu.
FIG. 6. Direction of stimulating current and neural excitation.

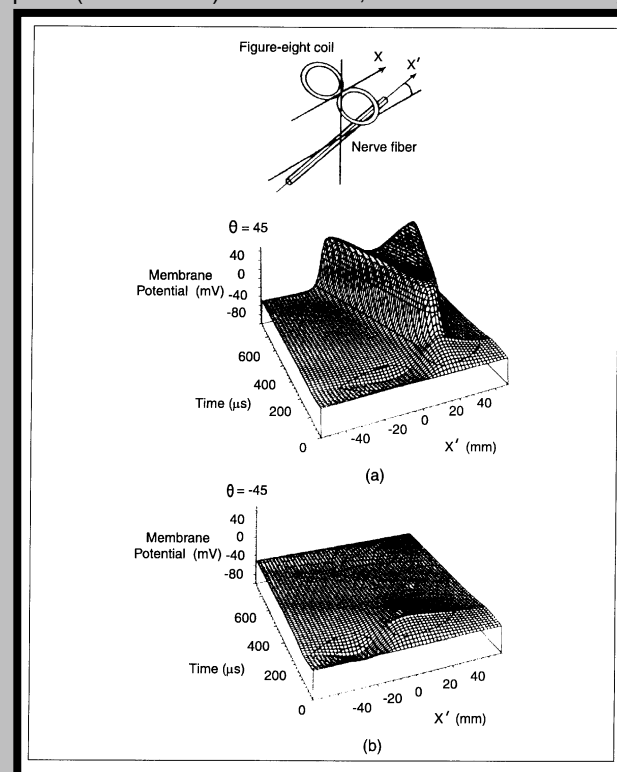
Dzięki przeprowadzonym wielu eksperymentom stymulacji tkanki nerwowej za pomocą pola magnetycznego było możliwe opracowanie modelu wzbudzenia nerwu. Istnienie orientacji w mózgu może być częściowo zrozumiane za pomocą anatomicznej struktury tkanki nerwowej w korze mózgowej. Modelki tego wzbudzenia oparto na przypuszczeniu, że nerw jest łatwo wzbudzany gdy indukowane prądy wirowe płyną w kierunku równoległym do włókna nerwowego przy czym prostopadły do włókna nerwowego składnik prądu wzbudzenia ma małe znaczenie [18].

RYS. 6 pokazuje schematyczny diagram opisujący wzbudzenie nerwu za pomocą prądów wirowych. Kiedy prądy wirowe są wzbudzone za pomocą zmiennych w czasie pól magnetycznych w kierunku od ciała do jego końców, cz. ci, to depolaryzowane cz. ci są wzbudzone, a wzbudzona błona propaguje wzbudzenie wzdłuż włókna nerwowego od cz. ci wzbudzonej do jego końca (sytuacja "a"). W przeciwnym przypadku, gdy indukowane prądy wirowe płyną w kierunku od końców cz. ci do ciała, nadmierne spolaryzowane cz. ci hamują stymulację nerwów nawet, gdy depolaryzowane cz. ci bliskie ciała mogłyby być wzbudzone. To założenie zostało częściowo zweryfikowane eksperymentalnie po przez elektryczną stymulację ludz-

In next experiments an insulated magnetic core was implanted in the body with a nerve bundle positioned on the core aperture. The eddy currents that flowed in the body fluids around the core when the magnetic flux in the core was changed could stimulate the nerve. No interlinkage existed between the core and the nerves. It was a good method for verifying that the nervous system responds to time-varying magnetic fields via eddy currents induced in the body. The basic idea of localised stimulation of the brain is to concentrate induced eddy currents in the target area by a pair of time-varying magnetic fields (FIG. 5). A pair of coils is positioned outside the head so that the time-varying magnetic fields, $B_1(t)$ and $B_2(t)$, pass through the head in opposite directions around the target. The induced eddy currents, J_1 and J_2 , are expected to flow together. This convergence of eddy currents acts to raise the current densities in the target area, where depolarisation of neural tissues can be caused. This method was proposed to heat brain tumours [17].

Due to many experiments with magnetic neural tissue stimulation it could be possible to elicit nerve excitation model. The existence of the orientation in the brain may be partially understood by the anatomical structure of the neural tissues in the cortex. The excitation angle model was based on the assumption that a nerve is excited easily when induced eddy currents flow in the direction parallel to the nerve fiber but the component of stimulation currents perpendicular to the nerve fiber has a little meaning [18].

FIG.6 shows schematic diagrams which describe the neural excitation by induced eddy currents. When the eddy currents that are induced by time varying magnetic fields flow in the direction from soma to distal parts, the depolarised parts are excited, and the membrane excitation propagates along the nerve fiber from the excited parts to the distal parts (situation "a"). In contrast, when the induced eddy



RYS. 7. Zmiany w potencjale błony neuronowej w zależności od różnego kąta pomiędzy nerwem a cewką.
FIG. 7. Change in neural membrane potential at various angles between nerve and figure-eight coil.

kiej r ki. Gdy ródkowy nerw stymulowano w kierunku od miejsca bli szego ciału do cz ci dalszych otrzymano czysty sygnał w postaci elektromyogramu (EMG) od mi nia dłoni. W przeciwnym przypadku, gdy ródkowy nerw stymulowano w kierunku przeciwnym, otrzymano bardzo słaby sygnał EMG (sytuacja "b").

Wzbudzenie włókien nerwowych w funkcji kierunku k ta pomi dzy cewk a aksonem nerwowym było przedmiotem symulacji komputerowej, opracowanej przez Roth'a i Basser'a [19], w której zastosowali parametry modelu opracowanego wcze niej przez Frankenhauser'a-Huxley'a. Symulacja polegała na zastosowaniu miejscowej i kierunkowej stymulacji nerwu z u yciem cewki w kształcie ósemki (RYS.7), gdzie o X przebiega równolegle do stycznej obu cewek. Poni ej punktu przecięcia, wzbudzone pr dy płyn równolegle do osi X. O X" przebiega równolegle do włókna nerwowego. Gdy k t pomi dzy cewk a nerwem wynosi 45° (sytuacja "a"), nerw jest wzbudzony w punkcie $X=20\text{mm}$, a wzbudzenie propaguje do obu stron włókna nerwowego. W przeciwny przypadku, gdy k t pomi dzy cewk a nerwem wynosi -45° , (sytuacja "b"), to nerw nie jest wzbudzany. Wirygodno modelu cz ciowo zweryfikowano za pomoc do wiadcze z wyizolowan wi zk nerwow pochodz c od aby, któr stymulowano za pomoc indukowanych magnetycznie pr dów elektrycznych. Istnienie kierunkowej charakterystyki stymuluj cych pr dów stosowanych do wzbudzania nerwów zastanawia zarówno nad funkcjonowaniem jak i nad anatomiczn organizacją włókien nerwowych w mózgu. Równie wyniki bada stymulacji zako cze struktur nerwowych mog by pomocne w zrozumieniu mechanizmu wzbudzenia nerwu za pomoc stymulacji magnetycznej zewn trznych i centralnych systemów nerwowych. Rozpoznanie ró nic w poziomie wzbudzenia neuronowego w mózgu mogłoby by równie pomocne w diagnostyce medycznej w przypadkach tak cz -sto spotykanych obecnie chorób cywilizacyjnych jakim jest zarówno choroba Alzheimera jak i nowotwory mózgu.

currents flow in the direction from the distal parts to the soma, hiperpolarised parts inhibit neural excitation even if the depolarised parts near the soma can be excited. This assumption was partially verified by an experiment of electrical stimulation of the human arm. When the median nerve was stimulated in the direction from the proximal to the distal part, a clear electromyograms (EMG) signal was recorded from the thenar muscle. In contrast, when medial nerve was stimulated in the opposite direction, very weak EMG signals were obtained (situation "b").

The excitation of neural fibers as a function of direction of angle between the figure-eight coil and nerve axon was simulated using the parameters of the Frankenhauser-Huxley model by Roth and Basser [19] who modified it by application the focal and vectorial stimulation with a figure-eight coil for neural excitation (FIG.7). The X-axis runs parallel to the tangent of both circular coils. Below the intersection, induced currents flow parallel to the X-axis. The X"-axis runs parallel to the nerv fiber. When the angle between the figure-eight coil and the nerve is 45° (situation "a"), the nerve is excited at the point $X=20\text{mm}$, and the excitation propagates to both sides of the nerve fiber. In contrast, when the angle between the figure-eight coil and the nerve is -45° , (situation "b"), the nerve fiber is not excited. The validity of the model was partially verified by experiments using a frog's isolated nerve bundle stimulated by magnetically induced electric fields.

The existence of the vectorial characteristics of stimulating currents for neural excitation reflects both the functional and anatomical organisation of the neural fibers in the brain. Also, the results of the stimulation of finite neuronal structures may help in understanding nerve excitation through magnetic stimulation of both peripheral and central nervous systems. The recognition of the differences of the neural excitation level in brain could be helpful in medicine diagnosis in the case of often-met civilised Alzheimer as well as brain tumour disease.

Pi miennictwo

- [1] Walcott, C., Gould, J.L. & Kirschvink J.L., (1979). *Science* 205, 1027.
- [2] Oresti, D., Petigrew, J.D., (1980). *Nature* 285, 999.
- [3] Peregrinus, P. (1269). *Epistola Petri Peregrini de Micourt ad Sygerum de Foucacourt, Militem, De Magnete*. privately published, Italy.
- [4] Gilbert, W. (1600). *De Magnete, Magneticisque, Corporibus, et de Magno Magnete Tellure*. *Physiologica Nova*, Dover. Paperback re-publication, 1991.
- [5] Stecher, G.t. (1995). *Magnetismus in Mittelalter: Von den Fähigkeiten und der Verwendung des Magneten im Mittelalter in Dichtung. Alltag und Wissenschaft*. Ph.D. thesis, Goppingen.
- [6] Mourino, m.R. (1991) *From the Thales to Lauterbur, or from the lodestone to MRI: Magnetism and Medicine*. *Radiology*, 180, 593-612.
- [7] Livingston, J.D. (1996). *Driving force: The natural magic of magnets*. Harvard University Press, Cambridge, USA.
- [8] Ram, W & Meyer, H. (1991) *Heart catheterization in a neonate by interacting magnetic fields: A new and simple methods of catheter guidance*. *Catheterization and Cardiovascular Diagnosis*, 22, 317-319.
- [9] Poznansky, M.J. & Juliano, R.L. (1984). *Biological approaches to the controlled delivery of drugs: A critical review*. *Pharmacological Reviews*, 36, 277-336.
- [10] Treleaven, J.G., et.all., (1984). *Removal of neuroblastoma cells from bone marrow with monoclonal antibodies conjugated to magnetic microspheres*. *The Lancet*, pp. 70-73.

References

- [11] Maret, G. Kiepenheuer, J., & Boccara, N. (1986) *Biophysical effects of steady magnetic fields*. Springer Verlag, Berlin.
- [12] Kirschvink, J.L., et.all., (1992b). *Magnetite biomineralisation in the human brain*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 7683-7687.
- [13] Rocard, Y. (1964). In M.F. Barnothy, (Ed.), *Biological effects of magnetic fields, Actions of a very weak magnetic gradient: The reflex of the dowser*, pp. 279-286. Plenum Press, New York.
- [14] Maass, J. A. & Asa, M.M. (1970). *Contactless nerve stimulation and signal detection by inductive transfer*. *IEEE Trans. Magn.* MAG-6, 322-326.
- [15] Oberg, P.A. (1973). *Magnetic stimulation off nerve tissue*. *Med. Biol. Eng.*, 11, 55-64.
- [16] Ueno, S., Lovsund, P., & Obereg, P.A. (1986). *Effects of time-varying magnetic fields on action potential in lobster giant axon*. *Med. & Biol. Eng. & Cmput.*, 24, 521-526.
- [17] Ueno, S., Tashiro, T., Kamise, S., & Harada, K. (1987). *Localized hyperthermia by means of a pair-coil configuration: calculation of current distributions in cubical model*. *IEEE Trans. Magn.* MAG-23, 2437-2439.
- [18] Ueno, S., Matsuda, T., & Fujiki, M. (1990). *Functional mapping of the human motor cortex obtained by focal and vectorial magnetic stimulation of the brain*. *IEEE Trans. Magn.*, 26 (5), 1539-1544.
- [19] Roth, B.J. & Basser, P.J. (1990). *A model of stimulation of a nerve fiber by electromagnet induction*. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 37(6), 588-597.

BIOMINERALIZACJA W WIECIE ORGANIZMÓW YWYCH. BIOMIMETYZM

ANNA STOCH

AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI
AL. MICKIEWICZ 30; 30-059 KRAKÓW, POLSKA

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 188-192]

Wprowadzenie

Liczne organizmy żywe: rośliny, zwierzęta i ludzie, wytwarzają swoje biomineralne szkielety kostne bądź ceramicznymi kompozytami zbudowanymi w warunkach naturalnych. Do ich budowy wykorzystywane są materiały dostępne w najbliższym otoczeniu, środowisko wodne i temperatura otoczenia. Prosty przykład może być muszla perłowa małży, skorupki jajożyłki czy też nasze kości zębiny (zębina i emalia zębowa). Biominerały składają się z elastycznej matrycy organicznej, głównie z włóknistych białek i/lub polisacharydów, wewnątrz których indukowany jest wzrost fazy mineralnej. Biomineralizacja nie jest procesem jednostkowym. Każdy organizm żywy był zmuszony przyjąć określone prawa i reguły przyrodnicze dla optymalizacji specyficznych funkcji, jakie musi wypełniać szkielet, muszla, czy zębin w szczególnym środowisku, w którym dany organizm przebywa. Organizmy żywe budują swoje ceramiczno-organiczne struktury kompozytowe poprzez powolne, starannie realizowane, powtarzające się procedury. W układach biologicznych, największy wpływ na właściwości kompozytu bioceramicznego, silniejszy anieli chemizm użytych materiałów wyjściowych, zdaje się posiadać monitorowanie mikrostruktury kompozytu, wynikające ze złożonych procedur, kontrolowanych genetycznie, odbywających się za pośrednictwem komórek na poziomie molekularnym. Organizmy żywe są zdolne wytwarzać ponad 60 różnych minerałów, jednak nie wszystkie służą do budowy szkieletów; np. pojedyncze domeny krystaliczne magnetytu, magnetyczne nanocząstki, kreujące nawigacyjne właściwości bakterii. Najbardziej rozpowszechnionymi i najlepiej zbadanymi biominerałami są wapieniowe, fosforany wapieniowe i biokrzemiany [1-3].

Twarde biominerały wykazują lepsze właściwości mechaniczne i inspirują do tworzenia nowych materiałów. W nauce ma miejsce stała dążność do udoskonalania, a w inżynierii materiałowej niewielka grupa badaczy, analizując biominerały produkowane przez żywe organizmy dąży do otrzymania nowych materiałów metodami obserwowanymi w przyrodzie. Procedury znane z systemów biologicznych bywają naśladowane i użyte przy wytwarzaniu nowych materiałów kompozytowych, które wówczas uzyskują oczekiwane właściwości fizyczne, elektryczne lub mechaniczne, niesosiągane przez technologie konwencjonalne. Takie wytwarzanie materiałów syntetycznych nazywa się mimetycznym, ponieważ naśladuje ono podstawowe schematy procedur biologicznych, mimo, że odbywa się poza naturalnym środowiskiem biologicznym.

Obecnie obserwuje się wzrost zainteresowania biomimetycznym sposobem wytwarzania powłok fosforanowych na implantach. Takie powłoki można otrzymać przez zanurzenie implantu w syntetycznym osoczu (SBF) w temperaturze 37°C w celu naśladowania naturalnego procesu wzrostu apatytu.

BIOMINERALIZATION IN LIVING ORGANISMS. BIOMIMETISM

ANNA STOCH

AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS
AL. MICKIEWICZA 30; 30-050 CRACOW, POLAND

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 188-192]

Introduction

Many organisms, including plants, animals and human beings, construct skeletons, which are biomineral ceramic composites from readily available materials, usually in aqueous media and at ambient conditions. The plainest examples are nacreous shell formation, egg-shells or our bones, dentine and enamel. They consist of a pliant matrix of biological macromolecules, mainly fibrous proteins and/or polysaccharides, inside which mineral particles are induced to grow [1-3].

Biomineralization is not a single process. Every organism adapted certain strategic principles to optimize the specific functions of its hard tissue to the specific environment in which it lives. Living systems construct functional ceramic-polymer composite structures by slow, carefully engineered, repetitive processing. In these biological systems, the control of composite microstructure, arising from complex, genetically controlled, cell mediated procedures operating at molecular level, appear to have greater influence on ceramic functional properties than chemistry of the starting materials involved. Organisms control the deposition of more than sixty different minerals, not all of which are used for skeletal support; the single domain crystals of magnetite that impart to magnetotactic bacteria their navigational ability are accurately programmed and assembled magnetic nanoparticles. The most common and best studied biominerals are calcium carbonates, calcium phosphates and biosilicates.

Biological and hard materials have been thus regarded as an inspiration for novel materials with superior mechanical properties. It is a constant refinement in materials science and engineering and a small group of scientists have been analysing natural materials produced by living organisms attempting to obtain novel materials by adapting biological principles. The processing strategies used by biological systems should be mimicked to fabricate the composite materials that could provide desired physical, electrical and mechanical properties, not currently available by conventional technologies. Such fabrication of synthetic materials is referred to as mimetic because they mimic the basic biological processing schemes, though they are practised outside of the natural biological context [4-6]. There is an increasing interest in biomimetic preparation of phosphate coatings on implanted materials. Such coatings can be produced on implants by their immersion in simulated body fluid (SBF) at low temperatures 37°C, pH=7,2 to mimic the natural processes of apatite formation.

In our Laboratory of Coatings we investigate the biomimetic coating of apatite on metallic and carbon biomaterials. These materials used as implant devices have excellent mechanical properties and not satisfying biological activity. It means that after implantation these materials are not able to form a strong chemical bond with natural bone. Biomimetic strat-

W naszym Laboratorium Powłok pracujemy nad biomimetycznym wytwarzaniem powłok apatytowych na biomateriałach metalicznych i w głowach. Materiały te stosowane jako implanty mają dobre właściwości mechaniczne i niską aktywność biologiczną. Oznacza to, że po implantacji materiały te nie są zdolne wytworzyć mocnego związku chemicznego z żywotkami. Metoda biomimetyczna pozwala na otrzymanie biologicznie równoważnego apatytu (w glonowego) na biomateriałach metalicznych i w głowach podobny sposób ich aktywność biologiczną [7-9].

Biokrzemiany

Powstawanie w przyrodzie biokrzemianów i ich synteza metodami w laboratorium chemicznym są podobne; obydwa procesy przebiegają w temperaturze otoczenia i opierają się na polikondensacji kwasu krzemowego z wytworzeniem cząstek koloidalnych. Uwodniona, amorficzna krzemionka jest obecna jako materiał strukturalny nadający właściwości blaszki, łuski, strąki, łodygi i korzeniach wielu roślin, np. w ryżu, pszenicy, owsie, skrzypie, jęczmieniu i trawach. Taka krzemionka występuje również w organizmach wodnych jak np. w pnie ukształtowanych skorupkach okrzemek i radiolari, w igłowych wypustkach niektórych glonów oraz w zębach niektórych małży. Wymienione biokrzemiany składają się przede wszystkim z krzemionki amorficznej, o specyficznym rozmiarze i kształcie cząstek połączonych w agregaty z przyłączonymi aminokwasami w formie anionowej i z grupami hydroksylowymi. Przypuszcza się, że w obszarach wzrostu biokrzemianów organiczne polimery wpływają na kinetykę polikondensacji krzemionki, na rozmiar i kształt cząstek, na ich agregację i makroskopową architekturę. Biokrzemiany rosną w przestrzeniach zamkniętych w postaci aglomeratów w obszarach wewnątrz-komórkowych jak i zewnętrznych-komórkowych.

Chociaż człowiek nie ma wydzielenia się krzemianów, to rola krzemionki i krzemu obecnego w organizmie ludzkim przyciąga uwagę naukowców. Np. kwas krzemowy jest niezbędnym czynnikiem zapewniającym zdrowy wzrost kości i tkanki łącznej. Słabe teorie uzasadniają cel hamujący wpływ kwasu krzemowego względem fizjologicznej absorpcji toksycznego glinu dzięki powierzchniowej adsorpcji cząstek kwasu krzemowego na cząstkach tlenku glinu, uniemożliwiającej jego wchłonięcie przez komórki [10, 11]. Biokrzemiany w coraz większym stopniu są wykorzystywane jako niedrogie prekursorzy krzemu. Np. ziemia okrzemkowa (diatomit) jest stosowana do syntezy zeolitów jak również azotku krzemu. Łuski ryżowe, tani odpad rolniczy, stanowią wysoko jednorodny kompozyt krzemu i węgla o wysokiej powierzchni. Poddając pirolizie łuski ryżowe otrzymuje się w glik krzemu w temperaturze niskiej (1500°C) niż w tradycyjnej syntezie (1800-2400°C), co daje czystszy produkt z mniejszym rozmiarem cząstek. Sukcesem metody pirolizy cząstek ryżowych jest uzyskanie w gliku krzemu o rozwiniętej powierzchni nadającego się jako dobry katalizator. Metoda inspirowana do zastosowania innych kompozytów metalo-organicznych jako prekursorów dla otrzymywania materiałów ceramicznych.

Biogliny

Znane są trzy krystaliczne formy węgla wapniowego: kalcyt, aragonit i wateryt i wszystkie występują w zmineralizowanych tkankach. Badanie mineralizacji węgla wapniowego jest bardzo ułatwione przez występowanie dużych kryształów z dobrze zdefiniowanymi płaszczyznami. Dlatego ten sposób wzrostu kryształu i jego orientacji można łatwo określić metodą mikroskopii skaningowej. Biomineralizacja węgla badano w takich organicznych systemach jak: masa perłowa, dentyne, emalia, kości, skorupki jaja ptasich.

egy allowed us to produce the biological type of apatite (carbonate apatite) on metallic or carbon biomaterials and thus to enhance their biological activity [7-9].

Biosilicates

Biosilicate formation resembles the laboratory sol-gel process; both occur at ambient temperatures and both involve the polymerization of silicic acid [$\text{Si}(\text{OH})_4$] to form colloidal particles. Hydrated amorphous silica is present as a compression resistant structural material in the leaves, blades, husks, hulls, stems and roots of many terrestrial plants including rice, wheat, oats, horsetails, barley and grasses. Such a silica also occurs in aquatic organisms as the intricately sculpted shells of unicellular diatoms and radiolarians, the basket-shaped skeletons of unicellular choanoflagellates, the protruding spicules of certain sponges, and the teeth of certain molluscs. These biosilicates are made up of particulate of solid-gel silica with species-specific sizes, shapes and aggregate arrangements which are associated with anionic and hydroxylated amino acids.

Within biosilicate growth spaces, it is suspected that biopolymers affect the kinetics of silica polymerization, the size and shape of silica particles, particle aggregation and macroscopic architecture. Biosilicates grow in spaces enclosed by either intracellular membrane-bound vesicles or extracellular macromolecular assemblies.

Although humans are not known to deposit silicates, silica and silicon in humans are attracting increasing interest. For example, the silicic acid is essential for the healthy growth of bone and connective tissue. It exists a theory on the mechanism that silicic acid inhibits the physiological absorption of toxic aluminum through the overgrowth of silica on alumina particles which restricts their size [10, 11].

Biosilicates are increasingly being explored as inexpensive precursors for silicon-containing materials. For example, ancient diatom shells in the form of diatomaceous earth are used as silicon sources for the synthesis of zeolites as well as silicon nitride. Rice husk, an abundant agricultural waste, is a high surface area, intimately mixed composite of silica and carbon. Having these properties, the synthesis of silicon carbide by pyrolyzing rice husks requires lower reaction temperatures (about 1500°C) than traditional synthesis (1800-2400°C) and results in greater product purity and smaller particle sizes. Advances in the rice husk method have resulted in highly abrasive and high surface area silicon carbide for catalytic supports. The success of the rice husk method is inspiring the use of synthetic, intimately mixed metal-organic composites as precursors for other ceramic materials.

Biocarbonates

The three crystalline forms of calcium carbonate that have been described: calcite, aragonite and vaterite - all occur in mineralized tissues. The study of calcium carbonate mineralization is greatly facilitated by the presence of large crystals with well defined faces. Therefore crystal growth habit and orientation can easily be determined by scanning electron microscopy.

Biomineralization of biocarbonates was investigated in such systems as: nacre, dentin, enamel, bone, avian eggshells. The basic principles of the biomineralization can be illustrated for two extreme cases: nacre from mollusk shells and avian eggshells. Nacre (mother-of-pearl) from mollusk shells have an aesthetic decoration, smooth surface finish, high strength and remarkable fracture toughness. The rates at which the calcium carbonate structures in nacre and in egg shell are deposited differ drastically: nacre production is very slow (a few grams per year) whereas the egg shell deposition is 100-1000 times faster (5 grams per day). These

Podstawowe zasady biomineralizacji w głąnow mo na zilustrowa na dwóch skrajnych przykładach: masy perłowej z muszli mał a i skorupki jaja ptasiego. Masa perłowa z muszli mał a posiada estetyczn dekoracj , jest gładka, połyskuj ca, ma wysok mechaniczn odporno i jest g - sta. Skorupka jaja ptasiego jest krucha i delikatna. Szybko , z jak nast puje budowa w glanu wapniowego w masie perłowej i w skorupce jaja ptasiego jest drastycznie ró na; produkcja masy perłowej jest bardzo wolna (par gramów na rok), podczas gdy budowa skorupki jaja ptasiego jest 100-1000 krotnie szybsza (5 gramów na dob). Podczas bardzo wolnej syntezy biow głąnu w masie perłowej (bardzo powszechny w przyrodzie przypadek), powstaje warstwowy biokompozyt w którym cegiełki ceramiczne aragonitu, osadzone w organicznej matrycy, układaj si równolegle do powierzchni, tworzc warstwow , trójwymiarow struktur o wysokiej g sto ci. Grubo cegiełek aragonitowych wynosi 0,4-0,5 mm, a długo 5-10 mm. Płaszczyzny aragonitowe rozdzielone s przez matryc organiczn (lepiszcze).

Kryształy kalcytu w skorupkach jaj ptasich to du e pryzmy o długo ci ok. 200 mm tworzc struktury kolumnowe, zbudowane z minerału i matrycy organicznej, rosn ce prostopadle do powierzchni. Zarodkowanie kalcytu z płaszczyzn (001) wpływa na obserwowan orientacj kryształu. Matryca organiczna decyduje o architekturze i tempie zabudowy przestrzeni przez dan form mineraln .W przypadku macicy perłowej mał a, matryca organiczna zakre la granice du ych komór, wewn trz których faza mineralna jest ci - gła, tworzc wydłu one krystaliczne agregaty [12, 13].

Masa perłowa jest biokompatybilna, posiada wła ciwo ci osteoindukcyjne i mo e inicjowa wzrost ko ci przez ludzkie osteoblasty in vitro. Stosowano j jako naturalny materiał uzupełniaj cy ko i jako kostny substytut u owiec. Z literatury wiadomo, e Indianie Maya w Hondurasie stosowali ju 2000 lat temu mas perłow jako implant dentystryczny. Badania wykazały równie , e dodatek wypra onych muszelek ostryg i wodorostów do diety ludzi starszych (65-96 lat) zwi ksza g sto mineraln ko ci l d wiowego odcinka kr gosłupa.

Naturalny koral, maj cy głównie struktur aragonitu, jest równie stosowany jako substytut ko ci w chirurgii kostnej. Zawarto ci wapnia w koralu: 38% i w hydroksyapatycie: 40% s bardzo zbli one, koral posiada ponadto naturaln porowato otwart , co skutkuje w jego dobrej resorpcji i we wzro cie ko ci po implantacji.

Biofosforany i biomimetyczne wytwarzanie w głąnowego hydroksyapatytu.

Sposób biomineralizacji fosforanu wapniowego znajduje si w interesuj cym kontra cie ze sposobem mineralizacji w glanu wapniowego; jedynie hydroksyapatyt, najbardziej trwała faza fosforanu wapniowego, wyst puje w zmineralizowanej materii ywej. Chocia krystalograficzne aspekty mineralizacji fosforanu wapniowego s gorzej zbadane ni w glanu wapniowego (z powodu małych rozmiarów i nieregularnego kształtu kryształów hydroksyapatytu) to matryca organiczna jest do dobrze poznana. Zostały uszeregowane wszystkie główne proteiny ko ci, dentyny i emalii. O c kryształu hydroksyapatytu w ko ci i dentynie jest równoległa do długiej osi włókien kolagenu I. Jest to ogólna cecha biomineralizacji fosforanu wapniowego. Kolagen jest głównym składnikiem skóry i jednym z głównych składników ko ci kr gosłupa, ko ci długich i ci gien. Molekuły kolagenu ł cz si we włókienka, które nast pnie ulegaj agregacji do włókien. Włókna s zorganizowane w układ zło ony, ultrastrukturalny, który prawdopodobnie zarz dza specyficznymi wła ciwo ciami materii tkankowej. Sugerowano udział licznych składników matrycy organicz-

materials processing rates are achieved through contrasting assembly strategies. When biocarbonate like nacre is slowly synthesized (the most common case), lamellar composites are produced in which thin ceramic bricks (aragonite) embedded in an organic matrix are stacked parallel to the surface of the structure, giving a lamellar, 3 dimensional structure with high density. The thickness of aragonite bricks is 0,4-0,5 mm and the length 5-10 mm. Aragonite sheets are separated by organic matrix.

The calcite crystals of avian egg shell are large prisms of about 200 mm in length forming the columnar structures composed of mineral and organic matrix, which grow perpendicular to the surface. Nucleation of calcite from the (001) basal plane is responsible for the observed orientation.

The organic matrix is the structural component that either spatially or temporally defines the space that is to be mineralized and the space available to mineral grains. In nacre, the organic matrix forms the boundaries of large compartments within which the mineral phase is continuous, forming the accretions of elongated crystal aggregates [12, 13]. Nacre is biocompatible, has osteoinductive properties and can initiate the bone formation by human osteoblasts in vitro. It has been used as a natural material for bone replacement and as a bone substitute in sheep. It was reported also, that the Maya Indians of Honduras used nacre as a dental implant 2000 years ago. Recent studies show that adding heated oyster shell and seaweed to the diet of elderly patients (65-96 years) appears to increase the bone mineral density of the lumbar spine.

Natural coral, mainly with aragonite structure, is also used as a bone substitute in bone grafts. The calcium concentrations in coral - 38% and in hydroxyapatite - 40% are very similar and coral yields the natural, interconnected porosity, which results in its good resorption and ossification after implantation.

Biophosphates and biomimetic formation of carbonated apatite.

Forms of biomineralization involving calcium phosphate phases present some interesting contrasts with those involving biocarbonates: only the most stable calcium phosphate phase, hydroxyapatite, occurs in mineralized tissues. Although the crystallographic aspects of calcium phosphate mineralization are much less well understood than those involving calcium carbobnate (because of the small size and irregular shape of hydroxyapatite crystals) the organic matrix is relatively well characterized. All of the major proteins of bone, dentin and enamel have been sequenced. The crystal c-axis of hydroxyapatite in bone and dentin is parallel to the long axis of the type I collagen fibrils. This appears to be a general feature of calcium phosphate mineralization. Collagen is the main component in skin and one of the main components in vertebrate bone, tendon and dentin. The collagen molecules assemble into fibrils that aggregate into fibres. The fibres are organized in complex, ultrastructural designs that eventually govern specific tissue properties [14-16].

Numerous components of the organic matrix of bone have been suggested to function in the initiation of hydroxyapatite formation: macromolecules of bone sialoprotein in bone and phosphophoryn in dentin. Phosphophoryn is known to have a high capacity for binding calcium ions and a strong affinity for collagen monomers. Other interactive proteins in bone, such as osteopontin and osteocalcin have cell attachment properties or chemically mediated cell attraction properties. The final part of mineralizing system delivers the mineral-phase ions to sustain crystal growth. These ion transport systems are only poorly understood. In less complex systems it may be that the ions accumulate in the re-

nej kości w inicjowaniu tworzenia się hydroksyapatytu; są to np. makromolekuły sialoprotein znajdujących się w kości jak również fosforyny w dentyne. Fosforyny znane są ze zdolności wiązania jonów wapnia jak również z dużego powinowactwa do monomerów kolagenu. Inne interaktywne białka kości takie jak osteopontin i osteocalcin cechuje właściwość przyciągania (wiązania) komórek. Ostatni element systemu prowadzi do biomineralizacji w ciekłej fazie zawierającej jony, zapewniając wzrost kryształów. System transportu jonów jest znany bardzo słabo. W mniejszym stopniu układają się one, a jony gromadzą się w obszarze frontu mineralizacji na drodze prostej dyfuzji. Jednakże w tworzeniu zmineralizowanej tkanki takiej, jak jest kość, może być tak, że w przemieszczaniu się jonów biorą również udział procesy wymagające pewnego nakładu energii [14-16].

W glany i fosforany to materiały najczęściej stosowane przez żywe organizmy do budowy szkieletu. Ludzkość, która chce chronić swoje zdrowie, jako główny problem do rozwiązania podjęła badania nad mechanizmem mineralizacji kości jak również badania nad nowymi biomateriałami dla chirurgii kostnej. Kondycja układu mięśniowo-szkieletowego to najczęściej występujący problem medyczny, mający istotny wpływ na zdrowie i jakością życia ludzkości. W chirurgii rekonstrukcyjnej, naprawa dużych defektów kostnych stanowi główny problem naprawczy. Dlatego znaczną uwagę kieruje się na zastosowanie implantów z metali, szkła, ceramiki i węgla. Reakcje, prowadzące do związania się implantu z kością, mają miejsce głównie na granicy implant-kość. Przyjmuje się, że podstawowym warunkiem wytworzenia się wiązania pomiędzy kością a implantem jest wytworzenie biologicznie aktywnego apatytu, który jest hydroksyapatytem w glanowym podobnym do tego, który znajduje się w kości. Tworzą one natomiast posiadają: hydroksyapatyt syntetyczny, ceramika fosforanowa, bio szkła i szkło-ceramika, a nie posiadają jej metaliczne implanty. Jednakże duża kruchość i niska odporność na zginanie wymienionej ceramiki bioaktywnej uniemożliwiają jej bezpośrednie zastosowanie w rekonstrukcji np. stawu biodrowego lub kolanowego.

Aby ominąć trudności, implanty metaliczne po modyfikacji powierzchni i pokryciu jej metodami sol-gel, zanurzano w syntetycznym osoczu (SBF). Następnie wtedy biomimetyczne wytworzenie się na powierzchni metalu biologicznie równoważnego hydroksyapatytu w warunkach in vitro przy zastosowaniu syntetycznego płynu fizjologicznego o składzie jonowym typowym dla naturalnego osocza. Stwierdzono, że w syntetycznym osoczu, na wszystkich badanych powierzchniach metalicznych, pokrytych powłokami podkładowymi sol-gel (tytan i jego stopy, stal nierdzewna, stopy kobaltowe, biowęgiel) następuje biomimetyczna (czyli podobna jak w kości) nukleacja i wzrost apatytu w glanowego. Hydroksyapatyt w glanowy ułatwia wzrost kości jak również przyśpiesza tworzenie się naturalnego wiązania chemicznego pomiędzy implantem i kością. Biomimetyczne formowanie w glanowego apatytu na metalach może być istotnym etapem w dobrym przygotowaniu implantu do zabiegów chirurgicznych.

Podziękowania

Praca finansowana przez Komitet Badań Naukowych w ramach Projektu PKZ-KBN-082-T082-T08/2002

gion of the mineralization front by simple diffusion. But in the formation of mineralized tissue such as bone, it is likely that the movement of mineral ions also is regulated by energy requiring processes.

Carbonates and phosphates are the biomaterials more often adapted by living organisms for the construction their skeletons. Humanity who wanted to protect his health, as a main scientific problem to solve have taken the studies on the mechanisms of bone mineralization and the studies on the development of new biomaterials for bone surgery. Musculoskeletal conditions are among the most frequently occurring medical conditions and they have a substantial impact on the health and quality of life of the population. In reconstructive surgery, repair of large bone defects is a major reparative problem. Therefore, considerable attention has been directed towards the use of implants from metals, glass, ceramics or carbon. Events leading to integration of an implant into bone, take place largely at the bone-implant interface. It is believed that essential requirement of artificial material to bond to living bone is the formation of a layer of a biologically active apatite, which is a carbonate containing hydroxyapatite similar to bone apatite. Such important property possesses hydroxyapatite, phosphate ceramics, bioglass and glass ceramics but not the metallic implants. However, high brittleness and low tensile strength of all these bioactive ceramic materials inhibit their direct use in the reconstruction of the hip and knee joints.

To overcome the difficulties, metallic implants, after simple modification of the surface by sol-gel method, are immersed in simulated body fluid (SBF). Formation of a biologically equivalent apatitic surface, a common characteristic of bioactive materials can be reproduced in vitro by immersion experiments using a simulated physiologic solution that mimics the typical ion concentrations in natural body fluids. It was found that in SBF solution, at the all precoated metallic surfaces (titanium and its alloy, stainless steel, carbon, cobalt alloys) biomimetic nucleation and growth of the apatite containing carbonate easily took place. Beside enhancing the bone formation it accelerates the bonding between the implant surface and the surrounding tissues when implanted. Biomimetic formation of carbonated apatite on biologically inactive materials can be the important step towards good implant preparation.

Acknowledgements

This work was supported by the Polish State Committee for Scientific Research. Project PKZ-KBN-082-T082-T08/2002.

- [1] G.K. Hunter, Curr. Opinion Solid. State Mater. Sci. 1 (1996) 430-435.
 [2] S. Mann, J. Mater. Chem. 5 (1995) 935-946.
 [3] K.E. Healy, Curr. Opinion Solid State Mater. Sci. 4(1999) 381-387.
 [4] R. Pampuch, Engineering of Biomaterials, No 9 (2000) 3-8.
 [5] A.H.Heuer, D. J. Fink, V. J. Laria et coop., Science, 225 (1992) 1098-1105.
 [6] G. M. Whitesides, J. P. Mathias, C. T. Seto, Science, 254 (1991) 1312-1319.
 [7] A. Stoch, A. Bro ek, J. Stoch, W. Jastrzbski, E. Długo , M. Sitko, Engineering of Biomaterials Nr 10 (2000) 23-29.
 [8] A. Stoch, W. Jastrzbski, A. Bro ek, J. Stoch, J. Szaraniec, B. Trybalska, G. Kmita, J. Molecular Structure 555 (2000) 375-382.

- [9] A. Stoch, Polish Ceram. Bull. Polish Acad.Sci.(Kraków), Ceramics No 61 (2000) 121-129.
 [10] Ch. M. Zaremba, Current Opinion in Solid State Mater. Sci., Vol.1, No 3 (1996) 425-428.
 [11] R.V. Krishnarao, M.M. Godkhindi, Ceramics International 18 (1992) 243-249.
 [12] A. Lucas-Girot, P. Langlois, J.C. Sangleboeuf, A. Oummaou, T. Rouxel, J. Gaude, Biomaterials Vol. 23 (2002) 503-510.
 [13] G. Guillemin, JL Patat, J. Biomed. Mater. Res. Vol. 21 (1987) 557-567.
 [14] F. JG Cuisinier, Current Opinion in Solid State and Mat. Sci., Vol.1, No3 (1996) 436-439.
 [15] P. Ducheyne, Q. Qiu, Biomaterials, 20 (1999) 2287-2303.
 [16] F.J.G. Cuisinier, P. Steuer, J.C. Voegel, F. Apfelbaum, I. Mayer, J. Mater. Sci.; Mater.Medic. 6 (1995) 85-89.

PROSZEK DIAMENTOWY JAKO INHIBITOR STRESU OKSYDACYJNEGO INDUKOWANEGO PRZEZ AAPH

K. B KOWICZ*, G.BARTOSZ**

*ZAKŁAD INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ,
INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ
**INSTYTUT BIOFIZYKI MOLEKULARNEJ
UNIwersytetu ŁÓDZKIEGO

Słowa kluczowe: proszek diamentowy, wolnorod-
nikowa reakcja łańcuchowa, AAPH, ABTS.
[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 192-193]

Proszek diamentowy ma bardzo wysoką bioaktywność w organizmie żywym. Proszek diamentowy hamuje peroksydację lipidów w surowicy krwi [1]. Peroksydacja lipidów jest jedną z wolnorodnikowych reakcji łańcuchowych [3]. Produkty peroksydacji lipidów zmieniają właściwość błony komórkowej i wpływają na transport jonów i wody z wnętrza komórki do przestrzeni zewnętrznej komórki. Jest to przyczyną uszkodzenia jądra komórkowego, a w następstwie rozwoju wielu chorób: np.: choroby Alzheimera, nowotworów.

Wykonane doświadczenia potwierdzają, że diament wykazuje specyficzną, biologiczną aktywność w organizmie żywym [2, 4]. Przeprowadzono reakcję nanokrystalicznego diamentu z AAPH [5] jako induktorem stresu oksydacyjnego. Mieszanina reakcyjna zawierała: 20mM AAPH w buforze fosforanowym, zawiesiny proszków diamentowych (D1,D2,D3) w ilości 1 mg/1 ml oraz 5mM ABTS [6]. Mieszaninę inkubowano w 37 stopniach Celsjusza a pomiaru absorbancji dokonano przy długości fali 414 nm po 0, 60, i 120 minutach.

Wyniki wskazują na udział nanokrystalicznego diamentu w reakcji z wolnymi rodnikami.

DIAMOND POWDER PARTICLES AS AN INHIBITOR OF OXIDATIVE STRESS INDUCED BY FREE RADICAL INITIATOR AAPH

K. B KOWICZ*, G.BARTOSZ**

*BIOMEDICAL ENGINEERING DIVISION,
INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING,
TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND
**DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOPHYSICS,
UNIVERSITY OF LODZ, POLAND

Key words: Diamond Powder Particles, free radical chain reaction, AAPH, ABTS
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 192-193]

Diamond Powder Particles has very high bioactivity in living organism. Diamond Powder Particles inhibits lipid peroxidation in blood plasma [1]. Lipid peroxidation is one of the free radical chain reaction [3]. The products of lipid peroxidation change the properties of cell membrane and influence on transport ions and water from cell to external environment. It is a cause to damage a nucleus and next to developing the many human diseases, for ex.: Alzheimer Disease, Cancers.

This research proved the thesis that diamond has specific biological activity in the living organism [2, 4]. The effect of nanocrystalline diamond induced by 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) [5] was studied. The mixture contains: 20 mM AAPH in phosphate-buffered saline, the suspension of Diamond Powder Particles (D1, D2,D3) in amount 1mg/1ml and 5 mM ABTS [6]. The mixture was incubated at 37°C and the measuring of absorbance was at $\lambda = 414$ nm after 0 min., 60 min., 120 min.

The effect seems to be due to the reaction of nanocrystalline diamond with peroxy radicals.

- [1] K. B. Kowicz: "Bioactivity of Diamond", Doctor Thesis, Technical University of Lodz, 2003, Poland.
- [2] J. Ristein, M. Riedel, F. Maier, B.F. Mantel, M. Stammer, L. Ley: "Surface doping: a special feature of diamond", Journal of Physics: Condensed Matter, 13, (2001), 8979-8987.
- [3] Sh. Ida, T. Tsubota, O. Hirabayashi, M. Nagata, Y. Matsumoto, A. Fujishima: "Chemical reaction of hydrogenated diamond surface with peroxide radical initiators", Diamond and Related Materials 12, (2003), 601-605.

- [4] Bartosz M, Kedziora J, Bartosz G. "Antioxidant and prooxidant properties of captopril and enalapril". Free Radic Biol Med. 1997;23(5):729-35.
- [5] Zou CG, Agar NS, Jones GL. "Oxidative insult to human red blood cells induced by free radical initiator AAPH and its inhibition by a commercial antioxidant mixture". Life Sci. 2001 May 25; 69(1): 75-86.
- [6] A. Janiszewska, G. Bartosz: "Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma", Scand J Clin Lab.

OCENA MODYFIKOWANEJ POWIERZCHNI NiTi ZA POMOC WARSTWY NANOKRYSTALICZNEGO DIAMENTU

MAŁGORZATA CZERNAK-RECZULSKA*, AGNIESZKA PEŁKA**,
ANDRZEJ SYSA***, JACEK GRABARCZYK**

*ZAKŁAD INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ,
INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ, POLITECHNIKA ŁÓDZKA
**SZPITAL KLINICZNY NR 1 IM. N. BARLICKIEGO W ŁODZI
***KLINIKA KARDIOLOGII,
CENTRUM ZDROWIA MATKI POLKI W ŁODZI

Streszczenie

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie nitinolem stopem niklowo-tytanowym (NiTi), który jest materiałem coraz częściej wykorzystywanym w kardiologii interwencyjnej, m.in. do stentowania naczyń. [1] Unikalne właściwości niotinu wynikają z jego pseudoelastycznością i zjawiskami pamięci kształtu. [2] Są to bardzo korzystne cechy biorąc pod uwagę różnicę wielkości naczyń krwionośnych, przez które wprowadzany jest implant. Stenty naczyniowe z jednej strony wykazują odpowiednie właściwości podporowe dla ścian naczyń, z drugiej natomiast wpływają niekorzystnie na jego strukturę. W celu zapewnienia biogodności stentów naczyniowych stosuje się wytworzenie odpowiedniej warstwy powierzchni izolującej biomateriał metaliczny od otaczających tkanek. Bardzo ważne jest, aby taka powierzchnia nie pogarszała jego właściwości fizycznych i nie wywoływała odczynów alergicznych, reakcji zapalnej oraz nie działała prozakrzepowo.

Celem naszych badań była modyfikacja powierzchni niotinu przez naniesienie warstwy nanokryształicznego diamentu (NCD) w plazmie wysokiej ciśnieniu metodą RF PA CVD (Radio Frequency Plasma Activated Chemical Vapour Deposition) [3]. Po naniesieniu warstwy zostały przeprowadzone badania właściwości fizykochemicznych NiTi. Została również poddana ocenie biogodności zmodyfikowanej powierzchni. Oceniono in vitro, w jaki sposób naniesienie warstwy diamentowej wpływa na aktywację neutrofilów i płytek krwi. Zbadano zdolność neutrofilów do generowania wybuchu tlenowego oraz

ESTIMATION NiTi SURFACE MODIFICATION FOR NANOCRYSTALLINE DIAMOND LAYER

MALGORZATA CZERNAK-RECZULSKA*, AGNIESZKA PEŁKA**,
ANDRZEJ SYSA***, JACEK GRABARCZYK**

*BIOMEDICAL ENGINEERING DIVISION,
INSTITUTE OF MATERIAL SCIENCES AND ENGINEERING,
TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND
**BARLICKI CLINICAL HOSPITAL, LODZ, POLAND
***CLINICAL CARDIOLOGY, POLISH MOTHER'S MEMORIAL HOSPITAL-RESEARCH INSTITUTE, LODZ, POLAND

Abstract

Last years caused increasing interest in nitinol or nearly equiatomic NiTi alloy which is more often used in interventional cardiology e.g. for vascular stenting. [1] Unique properties of nitinol are owing to its superelasticity and shape memory effect. [2] These features are very profitable due to different dimension of blood vessels which are catheterized in order to place implant. On the one hand vascular stents demonstrate suitable properties in order to support vessel wall, on the other hand they affect its structures. Due to assure biocompatibility of vascular stents it is used manufacturing of suitable film isolated metallic biomaterial from surrounding tissues. It is very important this surface does not influence physical properties and does not cause allergic response, inflammatory reaction and is not thrombogenic.

The aim of investigation was surface modification of nitinol by coating the material with nanocrystalline diamond (NCD). The diamond layer was making by radio frequency plasma activated chemical vapour deposition (RF PA CVD) process [3]. After the layer manufacturing examinations of mechanical and surface properties were carried out and biocompatibility of modified layer was examined. It was investigated in vitro whether diamond film making on nitinol influences neutrophils and platelets activity. The ability of neutrophils to respiratory burst and the expression of soluble form selections were examined.

Keywords: NiTi, modification surface, biocompatibility.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 193-194]

Pi miennictwo

[1] Duerig, T.; Pelton, A.; Stöckel, D. "An overview of nitinol medical applications"; *Materials Science and Engineering*: Volume: 273-275, December 15, 1999, pp. 149-160.

[2] Donald L. Wise: "Biomaterials and Bioengineering Handbook": 855-867.

References

[3] S. Mitura, A. Mitura, P. Niedzielski, P. Couvrat: "Nanocrystalline diamond coatings" *Biomaterials*: Volume: 17, Issue: 6, March, 1996, pp. 587-595.

[4] P. Rocher at all.: "Biocorrosion and cytocompatibility assessment of NiTi shape memory alloys" :*Scripta Materialia*: 50 (2004) 255-260.

WPŁYW WYBRANYCH METOD OBRÓBKI CHEMICZNEJ NA WŁAŚCIWOŚCI STRUKTUR KOSTNYCH

OSTROWSKA A.*, KUROPKA P.** , B DZI SKI R.* , KURYSZKO J.**

*POLITECHNIKA WROCŁAWSKA,
 UL ŁUKASIEWICZA 7/9, 50-371 WROCŁAW

**AKADEMIA ROLNICZA, UL.KO UCHOWSKA 5, 51-631 WROCŁAW
 [In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 194-196]

Wprowadzenie i cel pracy

Określenie mechanicznych parametrów tkanki kostnej nale y do bada podstawowych, maj cych du e znaczenie w oszacowaniu prawidłowych relacji sztywno ci ko - implant. W literaturze dotycz cej tematu, du o miejsca powi ca si oszacowaniu takich parametrów jak moduł Young'a, wytrzymało oraz poszukiwaniu korelacji mi dzy parametrami mechanicznymi i strukturalnymi. Jednak znaczne ró nice, nawet do 400% w warto ciach tych parametrów, wymagaj coraz to szerszej liczby pomiarów. Ró nice te spowodowane s mi dzy innymi ró nymi technikami pomiarowymi jak i w sposobie przechowywania i przygotowania próbek do bada . Z drugiej strony, tkanka kostna oprócz masy kostnej zło onej z kolagenu i cz ci mineralnej do swojego prawidłowego, fizjologicznego funkcjonowania wymaga dodatkowych struktur takich jak: szpik kostny i naczynia krwiono ne. Aby oszacowa dokładny udział poszczególnych struktur tworzcych tkanki kostn (w szczególno ci macierzy kostnej) niezbędnym zabiegiem wydaje si by zastosowanie jednej z technik maceracji. Maceracj nazywamy chemiczne usuwanie dodatkowych struktur z tkanki kostnej. W literaturze dotycz cej tematu [1, 2, 3], mo emy znale wiele technik maceracji wprowadzonych przez liczne o rodki w kraju i za granic . Jednak stosowanie ró nych zwi zków chemicznych, w badaniach słu cych okre leniu parametrów mechanicznych, mo e w istotny sposób zmieni warto ci danych parametrów. Dlatego te , głównym celem niniejszych bada opisanych w artykule było oszacowanie wpływu wybranych metod maceracji na badane parametry mechaniczne tkanki kostnej.

THE INFLUENCE OF CHOISING CHEMICAL METHODS TO BONE STRUCTURES PROPERTIES

OSTROWSKA A.* , KUROPKA P.** , B DZI SKI R.* , KURYSZKO J.**

*POLITECHNIKA WROCŁAWSKA,
 UL ŁUKASIEWICZA 7/9, 50-371 WROCŁAW

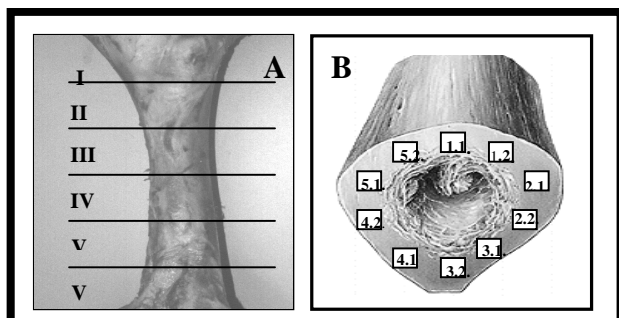
**AKADEMIA ROLNICZA, UL.KO UCHOWSKA 5, 51-631 WROCŁAW
 [Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 194-196]

Introduction and purpose of study

The determination of bone tissue mechanical properties is one of the basic research topic, which has a significant meaning to provide proper relations of bone-implant stiffness. Many papers has been published in which such values like Young's modulus, ultimate strength and also the correlation between mechanical and structural bone properties are quested. However, huge differences in those results, even up to 400%, turns scientists to perform large amounts of tests.. Those differences are caused by different system loading or storage and maceration method using. On the other hand, extra structures such as: bone marrow, blood vessels are required along with bone matrix, composite by collagen and minerals, to fulfil properly all physiological functions. For this reason maceration methods seems to be advisable to determine a real density of bone (especially bone matrix). Maceration we call the resection of all the extra structures, using special chemical solutions. The maceration methods used by many researchers [1, 2, 3] consist of many of techniques. However, each of this methods may induct changes in bone structure and thus affect values of mechanical properties. That is why the main aim of this investigation is to define a influence of maceration methods to mechanical properties values.

Material and methods

Research, was carried out on three bovine femur bone. The investigations were divided into few parts. First, was the tissue sample preparation of dimension 4x4x20 mm (10



RYS. 1. Identyfikacja próbek przygotowanych z kości udowej buki do testów maceracji. (numer I.5.1 (2) oznacza region, test, numer próbki: 2- próbka poddawana maceracji, 1- próbka referencyjna).

FIG. 1. Identification of bovine femur samples' for maceration tests (number I.5.1 (2) means region, test, number of sample, 2-test sample, 1 is reference sample).

Material i metoda

Materiałem do badań były 3 kości udowe buki. Badania podzielono na kilka etapów, pierwszym z nich było przygotowanie próbek o wymiarach 4x4x20 mm (obwódowo po 10 próbek - 5 par) z tkanki zbitnej pochodzącej z 6 regionów trzonu kości udowej. Pierwszą próbkę z pary poddawano odpowiedniemu testowi, natomiast druga stanowiła próbkę referencyjną (odniesienia), przy założeniu wartości parametrów mechanicznych próbek leżących obok siebie, różniły się nieznacznie (maksymalnie do 2%).

Wybrane próbki poddano odpowiednio pięciu metodom maceracji:

1. Kłucie w wodzie w temperaturze 37°C, czas trwania 24 h
2. Gotowanie w wodzie o temperaturze 100°C, czas trwania 6 h
3. Kłucie w acetonie, czas trwania 24 h
4. Kłucie w acetonie w temperaturze 37°C, czas trwania 24 h
5. Kłucie w etyleno-di-aminie, czas trwania 24 h

W celu obserwacji powierzchni, przed i po użyciu każdej z metod maceracji, przeprowadzono badania z użyciem mikroskopu elektronowego typu LEO - Zeiss 435. Do określenia parametrów mechanicznych takich jak: moduł Young'a, wytrzymałość graniczna, granica plastyczności w próbie ciskania osiowego, przy prędkości obrotowej 1mm/min, użyto maszyny wytrzymałościowej MTS 858 Mini Bionix.

vertical samples, coupled into pairs) from 6 region compact disphysis femur. The each part, were prepared and marked according to (FIG. 1). The first was a maceration sample and the second was reference sample, under an assumption that mechanical properties of neighbouring samples is similar (we accept maximal difference about 2%).

The samples were subjected to five following maceration tests:

1. The bath in 37°C water, for 24 hour.
2. The boiling in 100°C water, for 6 hour.
3. The bath in acetone (CH₃-CO-CH₃) solution, for 24 hour.
4. The bath in 37°C acetone (CH₃-CO-CH₃) solution, for 24 hour.
5. The bath in etyleno-di-amine solution, for 10 minute.

To observe sample surface before and after each of maceration methods the microscopic evaluation using scanning electron microscope (SEM) LEO - Zeiss 435 was carry out. To determinate mechanical properties such as: Young's modulus, yield stress and strain, ultimate strength in uniaxial compression test, Material Test System 858 Mini Bionix were used.

Results and discussion

The ultimate strength and Young's modulus results, received from uniaxial compression test, in the TABLE 1 was presented.

As it can be seen from this data, each maceration method has a significant influence on mechanical properties. However, the biggest 19% difference for boiling method was observed. The performed microscopic evaluation shown that the application of boiling in 100°C water cause calcium carbonate accumulation on the outer bone layer (FIG. 2B). The appearance of calcium carbonate crystals may be a reason of calcium outputs from bone matrix and consequently compressive strength reduction.

Acetone solution, which the main role was to resected lipid structures from samples, has additionally dried a bone structure leading to microdamage appeared (FIG. 2C). These microdamages in bone can be responsible for a worsen of mechanical properties.

Application of etyleno-di-amine maceration also affected the bone structure and cause separation of bone layers and thus decreasing results of compressive strength values. The results of this maceration technique shows that higher temperature has a positive changes of mechanical strength.

The results shown that the mechanical properties such Young's modulus and compressive strength significantly depend on direction of preparation sample.

metoda method	E [GPa]		Δ [%]	σ _{max} [MPa]		Δ [%]
	referencyjna reference	test test sample		referencyjna reference	test test sample	
1	11,38 ± 0,71	11,78 ± 0,5	↑ ~ 3,43	205,39 ± 15,26	218,49 ± 11,93	↑ ~ 6,37
2	11,634 ± 0,94	9,81 ± 0,74	↓ ~ 15,67	214,79 ± 10,17	176,13 ± 15,90	↓ ~ 18
3	11,78 ± 1,1	9,68 ± 0,61	↓ ~ 17,83	205,55 ± 13,24	166,50 ± 18,42	↓ ~ 18,9
4	10,71 ± 0,86	9,98 ± 0,52	↓ ~ 6,78	212,09 ± 9,28	198,30 ± 14,72	↓ ~ 6,5
5	11,27 ± 0,9	10,18 ± 0,78	↓ ~ 9,64	207,15 ± 17,03	186,90 ± 16,36	↓ ~ 9,77

TABELA 1. Wartości parametrów mechanicznych: moduł Young'a i wytrzymałość na ciskanie przed i po zastosowaniu pięciu metod maceracji tkanki kostnej.

TABLE 1. Values of the mechanical properties: Young's modulus and ultimate compressive strength before and after using bone tissue maceration methods.

Wyniki pomiarów wytrzymałości i modułu sprężystości (Young'a) otrzymane w próbie jednoosiowego ciskania przedstawiono w TABELI 1.

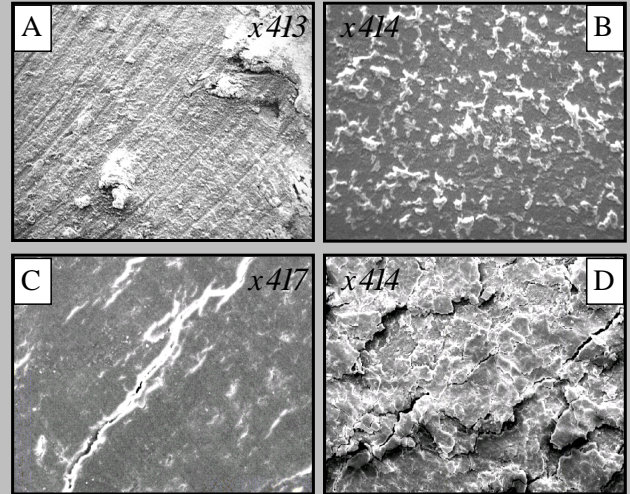
Z przeprowadzonych badań wynika, iż każda z zaproponowanych metod maceracji ma duży wpływ na wartości parametrów mechanicznych, jednak największy bo o 19% spadek w wartościach zaobserwowano przy użyciu acetonu, którego główną rolę było usunięcie tłuszczowych części organicznych. Jak wynika z analizy mikroskopowej stan ten może być wynikiem nadmiernego wysuszenia (przesuszenia) tkanki kostnej, czego skutkiem są pojawiające się mikropęknięcia obserwowane na powierzchni próbki (RYS. 2C). Inicjacja mikropęknięć w wyniku zastosowania tej metody przygotowania próbek, powoduje obniżenie, w stosunku do próbki referencyjnej, wytrzymałości na ciskanie. Również dla próbek gotowanych, zaobserwowano znaczny bo o 18% spadek w wartościach parametrów mechanicznych. Z przeprowadzonej analizy mikroskopowej wynika, iż w tym przypadku na powierzchni próbki zaczynają wytracać się kryształy, zidentyfikowane jako węgla wapnia (RYS. 2B), co może być przyczyną obniżonej wytrzymałości tkanki. W wyniku kąpieli w związku etyleno-di-aminie wartości parametrów mechanicznych podobnie jak w poprzednich przypadkach uległy obniżeniu. Badania mikroskopowe powierzchni wykazały także pewne odstępstwa w porównaniu z próbką odniesienia. Powierzchnia tkanki kostnej po zastosowaniu tej kąpieli zaczyna pęcznieć, rozwarstwia się i w efekcie czego odłupuje (rys. 2D). Ostatnia z metod zastosowanie podwyższonej temperatury, a tym samym "podsuszenie" próbki przez wyparowanie z niej wody, nieznacznie zmieniła wartości, co również znajduje potwierdzenie w literaturze [1].

Podsumowanie

W wyniku przeprowadzonych badań określono wpływ pięciu najpowszechniej stosowanych metod maceracji tkanki kostnej. Na podstawie wyników stwierdzono, iż każda z metod ma wpływ na otrzymywane wartości parametrów mechanicznych. Największe zmiany zaobserwowano dla próbek po gotowaniu, acetonie i etyleno-di-aminie. Zastosowanie tych metod nie tylko obniżyło wartości badanych parametrów, ale również zmieniło charakterystyki materiałowe na bardziej kruche, dlatego te związki te nie powinny być używane w przygotowywaniu próbek do testów wytrzymałościowych. Jak wynika z obserwacji to WODA, a właściwie jej zawartość, ma tutaj decydujący wpływ na charakterystyki biomechaniczne tkanki kostnej. Tak więc, wciśnięcie optymalnych warunków pomiarów *in vitro* należy w dalszych badaniach uwzględnić jeszcze nie tylko rodzaj, stężenie ale również CZAS zastosowania każdego z używanych preparatów.

Podziękowania

Niniejsza praca stanowi część projektu badawczego KBN No.5 T07A 028 23



RYS. 2. Obrazy tkanki kostnej w mikroskopie skaningowym: A-próbka referencyjna, B-próbka po gotowaniu, C-próbka po kąpieli acetonowej, D-próbka po kąpieli w etyleno-di-aminie.

FIG. 2. Microscopic evaluation of samples: A-reference sample, B-boiling sample, C-acetone bath sample, D-ethyleno-di-amine bath sample.

Acknowledgements

This work was supported by the Scientific Research Communities of Poland No. 5 T07A 028 23.

Piśmiennictwo

References

- [1] Yuehuei H.A., Draughn R.A., "Mechanical testing of Bone and the Bone - Implant Interface" CRC Press LLC, USA 2000.
- [2] Cowin S.C., et al. "Bone Mechanics Handbook" CRC Press, 2000.
- [3] Bzdowski R., "Biomechanical Engineering. Selected problems" Wrocław 1997.
- [4] Kuryszko J., Zarzycki J., "Histology of animals" Państw. Wyd. Rolnicze i Leśne 2001.

WPŁYW PROMIENIOWANIA JONIZUJĄCEGO NA POLI(SILOKSANOURETANY) - MATERIAŁU PRZEZNACZONEGO DO ZASTOSOWANIA BIOMEDYCZNYCH

IZABELA LEGOCKA, JAROSŁAW SĄDŁO, STANISŁAW WARCHOŁ,
GRACJANA PRZYBYTNIK

INSTYTUT CHEMII I TECHNIKI J. DROWEJ,
UL. DORODNA 16, 03-195 WARSZAWA

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 197-198]

Polimery są najważniejszą grupą materiałów stosowanych w inżynierii genetycznej do wytwarzania rusztowań dla różnych tkanek, w tym kości i innych tkanek zmineralizowanych. Jednym z tworzyw przeznaczonych do tego celu są segmentowe poli(siloksanouretany), w których możliwe jest wprowadzenie w szerokim zakresie zmian strukturalnych pozwalających na uzyskanie po danych właściwości [1]. Materiały te wykazują bardzo dobre parametry mechaniczne, mogą tworzyć pianki z których stosunkowo łatwo uzyskuje się różnego typu kształty anatomiczne, są odporne chemicznie, ich powierzchnia jest podatna na różnego typu modyfikacje. Użyte do badań polimery uzyskano dzięki

uprzejmości Instytutu Chemii Przemysłowej, Warszawa.

Wykonywane badania koncentrowały się na wyselekcjonowaniu biodegradowalnych polimerów na bazie poliuretanu, które jednocześnie nie mogą być sterylizowane radiacyjnie. Taki proces prowadzi nie tylko do wyeliminowania patogennych mikroorganizmów, lecz również może pogodzić za sobą degradację i sieciowanie materiałów polimerowych. Dlatego

wskazane jest kontrolowanie procesu z punktu widzenia chemicznego, a także optymalizowanie struktury materiału pod kątem jego przydatności do zastosowania w inżynierii tkankowej. Ponieważ sterylizacja radiacyjna może być istotnym elementem procesu wytwarzania rusztowania, wyselekcjonowane polimery powinny być zbadane przed i po napromieniowaniu, w celu określenia ewentualnych zmian ich właściwości.

Badane materiały były napromieniowane dawką 28 kGy, która jest często stosowana do sterylizacji radiacyjnej wyrobów medycznych. Korzystano z dwóch rodzajów promieniowania - wiązki elektronów o energii 10 MeV uzyskanej w liniowym akceleratorze LAE 13/9 i źródła gamma ⁶⁰Co Mineyola. Wpływ promieniowania jonizującego na poli(silok-

AN INFLUENCE OF IONISING RADIATION ON POLY(SILOXANEURETHANES) - MATERIAL FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

IZABELA LEGOCKA, JAROSŁAW SĄDŁO, STANISŁAW WARCHOŁ,
GRACJANA PRZYBYTNIK

INSTITUTE OF NUCLEAR CHEMISTRY AND TECHNOLOGY,
UL. DORODNA 16, 03-195 WARSZAWA

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 197-198]

Polymers are the primary materials for scaffolds in various tissue engineering applications, including bone and other mineralized tissues. Segmented poly(siloxaneurethanes) allow the structural variations to achieve a range of desired properties [1]. The materials reveal very good mechanical properties, can form foams that facilitates cells settling, is chemical resistant, possesses surface which is relatively easily modified. The urethane-based polymers were kindly provided by Industrial Chemistry Researching Institute, Warsaw.

Investigated block copolymers consist of rigid segments (diisocyanate - IPDI fragments common for all samples) and

flexible ones (oligosiloxane-diols).

Our recent efforts have been focused on the development of biodegradable urethane-based polymers which can be sterilized by ionising radiation. Such treatment involves not only

elimination of the pathogenic microorganisms but also degradation and cross-linking of the polymeric material [2]. Therefore it is necessary to control such process from chemical point of view and to optimize a structure of material designed for tissue engineering. Since the radiation sterilization might be the important stage of scaffold fabrication, the selected polymers have to be investigated before and after irradiation in order to detect any changes in their properties. The polymers were irradiated with a dose of 28 kGy, frequently used for sterilization of many medical products. Two sources of irradiation were applied - scanned beam of 10 MeV electrons from the linac LAE 13/9 and ⁶⁰Co gamma source (Mineyola). The effect of ionising radiation on poly(siloxaneurethanes) of varying length segments was

Struktura chemiczna próbek				
No	NCO/OH	Oligosiloksanodiole		
1	2:1	$\text{HO-R} \left[\begin{array}{c} \text{Me} \\ \\ \text{---Si---O---} \\ \\ \text{Me} \end{array} \right]_n \left[\begin{array}{c} \text{Me} \\ \\ \text{---Si---R---OH} \\ \\ \text{Me} \end{array} \right]_m$	n=30	R= -(CH ₂) ₆ -
2	3,5:1		n=30	R= -(CH ₂) ₆ -
3	2:1		n=40	R= -(CH ₂) ₃ -O-(CH ₂) ₂ -
4	3,5:1		n=40	R= -(CH ₂) ₃ -O-(CH ₂) ₂ -
5	2:1		n=10	R= -(CH ₂) ₆ -
6	3,5:1		n=10	R= -(CH ₂) ₆ -
7	3,5:1		n=20	R= -(CH ₂) ₃ -O-(CH ₂) ₂ -

TABELA. Struktura chemiczna wybranych poli(siloksanouretanów).
TABLE. Chemical structure of selected poly(siloxaneurethanes).

sanouretan) o różnej długości segmentów był badany następującymi metodami: EPR, DRS, FTIR-ART i SFE. W temperaturze otoczenia rodniki generowane pod wpływem promieniowania jonizującego są nietrwałe i przekształcają się w produkty diamagnetyczne. Zatem zachodziła konieczność, aby pomiary EPR wykonać dla próbek napromienionych w temperaturze ciekłego azotu. Uzyskane widma wskazują na obecność co najmniej trzech rodników trwałych w warunkach kriogenicznych; jednym z nich jest rodnik metylowy powstający w wyniku homolitycznego pęknięcia wiązań pomiędzy grupami CH_3 i atomem krzemu. Napromienienie próbek dawką 28 kGy nie wpływało natomiast na kształt i natężenie widm FTIR względem materiału wyjściowego. Z drugiej jednak strony zmiany kąta zwilżenia oraz wartości SFE wskazują, że wskutek działania promieniowania jonizującego właściwości powierzchni uległy modyfikacji. Stwierdzono, że hydrofobowy charakter powierzchni poli(siloksanouretanów) nieznacznie wzrasta. Zmniejszenie kąta zwilżenia hydrofilowych wiadczy o zwiększonym udziale segmentów siloksanodiolowych w zewnętrznej warstwie na skutek przemieszczenia indukowanego promieniowaniem jonizującym. Innym powodem tego zjawiska może być uszkodzenie grup polarnych występujących w materiale wyjściowym, tj. grup funkcyjnych -OH oraz -NCO. Powszechnie przyjmuje się, że w warunkach proliferacji tkanek *in vitro* (w środowisku wodnym) równowaga hydrofilowo/hydrofobowa rusztowania jest istotnym czynnikiem determinującym adhezję, wzrost, migrację i różnicowanie komórek [3, 4]. Ponieważ jednak po napromienieniu wzrost kąta zwilżenia nie przekracza 5%, modyfikacja powierzchni nie powinna mieć znaczącego wpływu na pozytywne oddziaływanie z komórkami. Wydaje się, że spadek zawartości segmentów izocyjanianowych w stosunku do udziału grup hydroksylowych (próbki Nr 1 i 2) zmniejsza wzrost kąta zwilżenia hydrofobowych powierzchni. Może to wynikać z większej promieniotętelności grup -NCO. Jednak potwierdzenie tej hipotezy wymaga dalszych badań.

studied with several methods: EPR, DRS, FTIR-ATR and SFE.

At ambient temperature the radicals generated upon irradiation are unstable and decay to diamagnetic products. Therefore the EPR measurements were performed also for the samples irradiated at 77 K. The spectra indicate that at least three stable radicals are present under cryogenic condition; one of them is methyl radical formed via homolytic scission of the bond between CH_3 group and silicon atom. Irradiation of the samples with a dose of 28 kGy does not influence IR spectra of the materials. On the other hand, variations in the contact angle θ and SFE values show that the surface property undergoes modification upon ionising radiation. It was observed that the hydrophobic character of poly(siloxaneurethane) surface slightly increases. The reduction of hydrophilic properties indicates that the contribution of siloxanediol segments in the superficial layer is enhanced due to their displacement induced by ionising radiation. The other reason of such phenomenon could result from the damage of polar residues occurring in the pattern substance, i.e. -OH and -NCO functional groups. It is generally accepted that under *in vitro* tissue culture conditions (in an aqueous medium) the hydrophilic/hydrophobic balance of scaffold is an important factor determining cell adhesion, growth, migration, and differentiated function [3,4]. It was found that upon irradiation an increase of the contact angle values is not higher than 5%, so the modifications are probably insignificant for positive interaction with cells. For samples No 1 and 3 even smaller changes in contact angles and SFE values were observed (aqua). It seems that the lower contribution of isocyanate component in comparison with hydroxyl groups reduces the increase of hydrophobic properties of the surfaces. The effect could rise from higher radiosensitivity of -NCO groups. However further investigation seems to be necessary to verify this hypothesis.

Pi miennictwo

- [1] Kwiatkowski et al., *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 11 (2) 107-114 (2003).
 [2] "Radiation Processing of Polymers" Ed. Singh A, Silverman J. Hanser, Munchen 1992.

References

- [3] Cima L.G. et al., *J. Biomech. Eng.* 113, 143-151 (1991).
 [4] "Principles of Tissue Engineering" Pachence J.M., Kohn J., Academic Press, 2000, 263-277.

WYBRANE ASPEKTY FORMOWANIA BIOZGODNYCH POWŁOK DWUWI ZKOW METOD IBAD

B. RAJCHEL*, L.M. PRONIEWICZ**, M. MITURA*, J. BONARSKI***, W. RAKOWSKI****

*INSTYTUT FIZYKI J DROWEJ IM.H.NIEWODNICZA SKIEGO,
POLSKA AKADEMIA NAUK,

UL. RADZIKOWSKIEGO 152, 31-342 KRAKÓW, POLSKA

**WYDZIAŁ CHEMICZNY UNIWERSYTETU JAGIELLO SKIEGO

UL. R. INGARDENA 3, 30-060 KRAKÓW, POLSKA

***INSTYTUT METALURGII I IN YNIERII MATERIAŁOWEJ,

POLSKA AKADEMIA NAUK,

UL. REYMONTA 25, 30-059 KRAKÓW, POLSKA

****AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,

WYDZIAŁ IN YNIERII MECHANICZNEJ I ROBOTYKI,

AL.MICKIEWICZA 30, 30 - 059 KRAKÓW, POLSKA

Streszczenie

Formowanie twardych biozgodnych powłok o dobrej adhezji na powierzchni metalowych endoprotez może umożliwić wydłużenie czasu ich pracy w organizmie człowieka. Dodatkową zaletą stosowania powłok na metalowych endoprotezach może być obniżenie migracji cząstek metalu z endoprotezy do organizmu ludzkiego. Wielopierwiastkowe oraz wielowarstwowe powłoki budowane z węgla, krzemu oraz tytanu charakteryzują się dobrymi mechanicznymi, chemicznymi oraz biologicznymi właściwościami. Adhezja powłok zależy między innymi od grubości i mikrostruktury warstwy przejściowej pomiędzy powłoką a podłożem. Zarówno grubość jak i mikrostruktura warstwy przejściowej może być kontrolowana przez odpowiedni dobór metody formowania powłoki.

Celem prezentowanej pracy było uformowanie oraz zbadanie mikrostruktury biozgodnych powłok typu Si_xC_y , formowanych dwuwieżkową metodą Ion Beam Assisted Deposition (DB IBAD). Metodę tę wybrano ze względu na prostotę kontroli zarówno grubości jak i mikrostruktury warstwy przejściowej przez odpowiedni dobór oraz monitorowanie parametrów wiązki jonów.

W tej metodzie do formowania powłok wykorzystywane są dwie wiązki jonów. Jedną wiązkę jonów, najczęściej jonów Ar^+ , służy do wybijania z powierzchni płyt grafitowej i krzemowej atomów. Jako współpracującą wiązkę, bombardując dynamicznie formowane powłoki, użyto wiązki jonów $^{12}C^+$ o energii 25 keV. Powłoki Si_xC_y formowano zarówno z powłoką titańową jak i bez warstwy pośredniej. Do formowania titańowej warstwy pośredniej użyto techniki sputteringu jonowego.

Do analizy uformowanych powłok zastosowano metodę RBS (Rutherford Backscattering Spectroscopy) oraz technikę NRA (Nuclear Reaction Analysis). Rozkład gęstości bocznej węgla, krzemu oraz tytanu określono bombardując badane powłoki wiązkami jonów He^+ . Do dokładnego określenia rozkładów gęstości bocznych węgla w uformowanych powłokach wyko-

SOME ASPECTS OF CREATION BIO- COMPATIBLE COATING LAYERS BY DUAL BEAM IBAD METHOD

B. RAJCHEL*, L.M. PRONIEWICZ**, M. MITURA*, J. BONARSKI***, W. RAKOWSKI****

*THE HENRYK NIEWODNICZSKI INSTITUTE OF NUCLEAR PHYSICS,
POLISH ACADEMY OF SCIENCE,

RADZIKOWSKIEGO STR. 15, 231-342 CRACOW, POLAND

**JAGIELLONIAN UNIVERSITY, FACULTY OF CHEMISTRY,

R. INGARDENA STR. 3, 30-060 CRACOW, POLAND

***INSTITUTE OF METALURGY AND MATERIALS SCIENCE,

POLISH ACADEMY OF SCIENCE,

REYMONTA STR. 25, 30-059 CRACOW, POLAND

****AGH-UST UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING AND ROBOTICS,

MICKIEWICZ AAV. 30, 30 - 059 CRACOW, POLAND

Abstract

Formation of hard biocompatible coating layers with the best possible adhesion to substrate is a key for prolongation of working time of metallic endoprostheses. Additional bonus of application of coating layer is decreasing migration of metallic particles from endoprosthesis to human body. Multielemental and multilayer coating based on carbon, silicon and titanium is known to have good mechanical, chemical and biological properties. The adhesion of formed layers is determined by thickness and microstructure of an interface sublayer between coating and substrate. The microstructure of this interface can be controlled by the methods used for their formation.

The aim of this work is the investigation of Si_xC_y biocompatible coating layers formed by dual beam Ion Beam Assisted Deposition (DB IBAD) method. This method is applied because the thickness and the microstructure of the interface sublayer can be easily controlled by applied ion beams parameters.

In this method two ion beams were applied. One of Ar^+ ion beam at the energy of 25 keV is used for sputtering of graphite and silicon plates. As the co-bombarding beam, the flux of $^{12}C^+$ ions at the energy of 25 keV is used. These Si_xC_y layers are formed with or without titanium intermediate sublayer. In case of creation of the titanium sublayer the sputter method is used.

Analysis of the obtained material is performed by Rutherford Backscattering Spectroscopy (RBS) and by Nuclear Reaction Analysis (NRA) techniques. Carbon and silicon distribution is determined by the use of He^+ ion beam. For detail determination of the carbon distribution the beam of protons is applied due to the resonance reaction $^{12}C(p,p)^{12}C$. The initial energy of protons and impact angle were varied. All investigated coating layers are shown to have complex structure with thin amorphous final sublayer and with thick interface sublayer.

For determination of microstructures of formed layers the micro-Raman spectroscopy and X-ray diffraction

zrystano reakcj rezonansow $^{12}\text{C}(p,p)^{12}\text{C}$. W analizach tych zmieniano energi poczkow bombardujcej wi zki protonów oraz k t, pod jakim bombardowano analizowan powłok . Wszystkie analizowane powłoki charakteryzowały si zło on struktur z cienk amorficzn ko cow warstw i szerok warstw przez ciow do podłó a.

Do okre lenia mikrostruktury uformowanych powłok zastosowano równie spektroskopii mikro - ramanowsk oraz dyfrakcj promieniowania X.

[In ynieria Biomateriałów, 38-43,(2004),199-200]

Podzi kowania

Praca ta była cz ciowo finansowana z grantu KBN nr. 4T08C 001 24.

BIOMEDYCZNE SKUTKI KONTAKTU TKANKI Z IMPLANTEM

BOGDAN WALKOWIAK

ZAKŁAD BIOFIZYKI MOLEKULARNEJ I MEDYCZNEJ,
UNIwersytet MEDYCZNY W ŁODZI

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 200-205]

Wst p

Obecno implantu w cieł człowieka powoduje liczne, cz - sto nieprzewidywalne i niedoceniane skutki. wiadomo zagro e plyn cych z wprowadzenia obcego materiału do organizmu przyczyniła si do opracowania zbioru przepisów prawnych, zawartych w normie ISO 10993 [1], reguluj cych sposób post powania z nowymi materiałami, i wykonanymi z nich implantami, w celu dopuszczenia ich do zastosowa medycznych. Niestety, nawet bezwzgl dne przestrzeganie zalece zawartych w w/w normie nie zabezpiecza biorcy implantu przed komplikacjami. Powodem takiej sytuacji jest du a ró norodno interakcji urz dzenia medycznego z kontaktuj c si z nim tkank . Stwierdzenie to dotyczy głównie oddziaływa i skutków zachodz cych na poziomie molekularnym w poszczególnych komórkach kontaktuj cej si tkanki, ale nie mo na mie pewno ci, e w wyniku tego kontaktu nie pojawi si zmiany w funkcjonowaniu odległych tkanek. Przyczyn tego odległego efektu mo e by zarówno dyfuzja molekuł uwalnianych z powierzchni implantu jak i migracja komórek i biologicznie aktywnych makromolekuł, które doznały kontaktu z implantem. Co prawda istniej ce normy przewiduj badania w zakresie cytotoksyczno ci czy te kanceronogenezy, to jednak wymagane testy nie bior pod uwag obserwacji zjawisk na poziomie molekularnym i niestety nie daj pełnej gwarancji bezpiecze stwa w zastosowaniu badanych urz - dze medycznych do kontaktu z ciałem człowieka. Dla przykładu mo na przytoczy materiały i produkty stosowane w dentystyce. Powszechnie stosowane do wykonania wypełnie i konstrukcji stomatologicznych stopy metali s przyczyn powstawania ogniw galwanicznych o niewielkiej pojemno ci energetycznej ale du ej zdolno ci regeneracyjnej [2]. Zjawiska elektrochemiczne zachodz ce w obr bie jamy ustnej s cz sto przyczyn patologicznych zmian, najcz -

methods are used.

[Engineering of Biomaterials, 38-43,(2004),199-200]

Acknowledgements

This work was carried out as part of research project: 4T08C 001 24, financed by the Committee for Scientific Research (KBN).

BIOMEDICAL EFFECT OF TISSUE CONTACT WITH AN IMPLANT

BOGDAN WALKOWIAK

DEPARTMENT OF MOLECULAR AND MEDICAL BIOPHYSICS,
MEDICAL UNIVERSITY IN LODZ

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 200-205]

Introduction

A presence of an implant in the human body causes numerous, often no predictable and underestimated results. An awareness of hazard resulted from insertion of artificial material into the human body contributed to work up of a set of regulations, collected in ISO 10993 international standard [1], controlling the way of use of new materials and produced implants in medical applications. Unfortunately, even strictly realized recommendations of the above standard do not protect an implant recipient from complications. A reason of such a situation results from a huge diversity of interactions of medical devices with directly surrounding tissues. This statement mainly concerns of interactions and effects taking place at a molecular level of individual cells of the tissue, but we should sure, that this contact do not cause changes in functioning of distant tissues. This faraway effect can results from diffusion of molecules released from an implant surface, as well as from migration of cells and biologically active macromolecules, which were in contact with implant surface. However existing standards provide given examinations in cytotoxicity and carcinogenesis, but required tests do not take into account a molecular level of phenomena and do not guarantee entirely safe use of the examined medical devices in contact with the human body. As an example we can indicate materials and products being in use in dentistry. Metal alloys, commonly used for dental fillings and restorations, are a reason of creation of galvanic elements possessing a low energetic capacity but a high regeneration ability [2]. Electrochemical phenomena taking place in the oral cavity are often a reason of pathological changes, most often leukoplakia [3], which usually subside with metal remove, but sometimes can also cause malignant changes [4]. There are very serious indications, that presence of galvanic elements can affect both, globally and

ciej leukoplakii (3), które zwykle ustępują po usunięciu metali, ale mogą być równie bezpośrednią przyczyną rozwoju choroby nowotworowej w obrębie jamy ustnej (4). Istnieją bardzo poważne wskazania, że obecnie ogniw galwanicznych może mieć wpływ nie tylko lokalny, ale i ogólnoustrojowy (5). Pomimo bardzo długiego okresu czasu stosowania materiałów metalicznych w dentystyce, opisane problemy wcale nie zostały rozwiązane i do dziś stanowią poważne zagrożenie (6). Jak widać, nawet dla najczęściej stosowanych dentystycznych zabiegów wprowadzania implantów pojawiają się liczne komplikacje, których natura nie jest do końca rozpoznana.

Celem niniejszego doniesienia jest próba współczesnego spojrzenia na zagadnienie oddziaływania tkanek z implantami, z uwzględnieniem aktualnie dostępnych technik badawczych z zakresu biologii molekularnej, ale również z uwzględnieniem potencjalnych zagrożeń ze strony produktów nanotechnologii.

Różne zagrożenia

Jest oczywiste, że w przypadku materiałów metalicznych dochodzi do biokorozji, a w efekcie tego zjawiska, do pojawienia się w obrębie kontaktującej się z implantem tkanki jonów metali w dużej koncentracji. Nawet w przypadku odległych od siebie dwóch metalicznych implantów powstaje wtedy ogniwo galwaniczne. Dodatkowym jednak efektem jest możliwość toksycznego wpływu jonów metali na tkankę oraz pojawienia się reakcji alergicznej. Aby ograniczyć zjawisko korozji metalu proponuje się różnorodne modyfikacje powierzchni implantu. Wydaje się, że jest to bardzo obiecujący sposób postępowania, mogący znacznie poprawić biogodność materiałów metalicznych. Należy jednak zdać sobie sprawę z faktu, że w ten sposób wprowadza się do organizmu zupełnie nowy materiał, o odmiennych właściwościach powierzchniowych, mogący w nieoczekiwany sposób zmienić reakcję tkanek na nową molekularną strukturę powierzchni. Co więcej, nowa powierzchnia może być źródłem uwalniania molekuł innych jonów metali i ich obecność w tkance powinna być brana pod uwagę. Zgodnie z normą ISO 10993 taki nowy materiał powinien zostać poddany ocenie biologicznej. Niezmiernie ważnym jest, aby wytworzona nowa powierzchnia trwale przylegała do materiału bazowego. Wszelkie powierzchniowe defekty materiałowe i lokalne delaminizacje warstwy całkowicie dyskwalifikują nowy produkt.

Inne biomateriały, w tym ceramiki, szkła, zole, materiały kompozytowe oraz materiały pochodzenia naturalnego, również ulegają stopniowej degradacji w środowisku płynów ustrojowych, stając się źródłem swobodnych substancji mogących stosunkowo łatwo migrować w całym organizmie, przyczyniając się do różnorodnych efektów biologicznych.

Często niedocenianym źródłem zagrożenia są mikroskopijnych rozmiarów pozostałości narzędzi chirurgicznych powstające w wyniku mechanicznego oddziaływania narzędzia z tkanką i z implantem lub ze złącza implantu [7]. Dobre materiały i złe wykonanie narzędzi oraz błędy operatora mogą być źródłem niespodziewanych reakcji alergicznych i zapalnych, ale te mogą być przyczyną poważniejszych w skutkach efektów cytotoksycznych, a nawet nowotworowych.

Zupełnie nową kategorię zagrożeń przynoszą produkty nanotechnologii [8, 9]. Z samego założenia rozmiary nanoobjektów i powierzchniowych nanostruktur są porównywalne z rozmiarami makrocząstek biologicznie aktywnych. Swobodne nanoobjekty mogą pokonywać różnorodne bariery we wnętrzu organizmu, w tym bariery komórkowe

systemicznie (5). Pomimo tak długiego czasu stosowania materiałów metalicznych w dentystyce, powyższe problemy nie zostały rozwiązane i nadal są naprawdę niebezpieczne (6). Jak możemy zobaczyć, nawet te najczęściej i najdłużej stosowane procedury implantacji nadal przynoszą liczne komplikacje, których naturę nadal nie znamy.

Celem niniejszego raportu jest próba nowoczesnego spojrzenia na problem oddziaływania tkanek z implantami, z uwzględnieniem aktualnie dostępnych technik biologii molekularnej i z uwzględnieniem potencjalnego ryzyka generowanego przez produkty nanotechnologii.

Źródła ryzyka

Jest oczywiste, że materiały metaliczne ulegają biokorozji, a w efekcie tego zjawiska, do pojawienia się w obrębie tkanek jonów metali w dużej koncentracji. Nawet w przypadku odległych od siebie dwóch metalicznych implantów powstaje wtedy ogniwo galwaniczne. Dodatkowym jednak efektem jest możliwość toksycznego wpływu jonów metali na tkankę oraz pojawienia się reakcji alergicznej. Aby ograniczyć zjawisko korozji metalu proponuje się różnorodne modyfikacje powierzchni implantu. Wydaje się, że jest to bardzo obiecujący sposób postępowania, mogący znacznie poprawić biogodność materiałów metalicznych. Należy jednak zdać sobie sprawę z faktu, że w ten sposób wprowadza się do organizmu zupełnie nowy materiał, o odmiennych właściwościach powierzchniowych, mogący w nieoczekiwany sposób zmienić reakcję tkanek na nową molekularną strukturę powierzchni. Co więcej, nowa powierzchnia może być źródłem uwalniania molekuł innych jonów metali i ich obecność w tkance powinna być brana pod uwagę. Zgodnie z normą ISO 10993 taki nowy materiał powinien zostać poddany ocenie biologicznej. Niezmiernie ważnym jest, aby wytworzona nowa powierzchnia trwale przylegała do materiału bazowego. Wszelkie powierzchniowe defekty materiałowe i lokalne delaminizacje warstwy całkowicie dyskwalifikują nowy produkt.

Inne biomateriały, w tym ceramiki, szkła, zole, materiały kompozytowe oraz materiały pochodzenia naturalnego, również ulegają stopniowej degradacji w środowisku płynów ustrojowych, stając się źródłem swobodnych substancji mogących stosunkowo łatwo migrować w całym organizmie, przyczyniając się do różnorodnych efektów biologicznych.

Często niedocenianym źródłem zagrożenia są mikroskopijnych rozmiarów pozostałości narzędzi chirurgicznych powstające w wyniku mechanicznego oddziaływania narzędzia z tkanką i z implantem lub ze złącza implantu [7]. Dobre materiały i złe wykonanie narzędzi oraz błędy operatora mogą być źródłem niespodziewanych reakcji alergicznych i zapalnych, ale te mogą być przyczyną poważniejszych w skutkach efektów cytotoksycznych, a nawet nowotworowych.

Zupełnie nową kategorię zagrożeń przynoszą produkty nanotechnologii [8, 9]. Z samego założenia rozmiary nanoobjektów i powierzchniowych nanostruktur są porównywalne z rozmiarami makrocząstek biologicznie aktywnych. Swobodne nanoobjekty mogą pokonywać różnorodne bariery we wnętrzu organizmu, w tym bariery komórkowe

systemicznie (5). Pomimo tak długiego czasu stosowania materiałów metalicznych w dentystyce, powyższe problemy nie zostały rozwiązane i nadal są naprawdę niebezpieczne (6). Jak możemy zobaczyć, nawet te najczęściej i najdłużej stosowane procedury implantacji nadal przynoszą liczne komplikacje, których naturę nadal nie znamy.

kowe i wewn trzkomórkowe. Jest dobrze znany efekt mimetyczny produktów, uzyskanych drog syntezy chemicznej (rodzaju nanotechnologii), posiadaj cych podobn zdolno wywoływania efektów biologicznych jak ich naturalne odpowiedniki [10, 11]. Wystarczy aby nanostruktura przypadkowo stała si mimetykiem okre lonego hormonu, lub innej regulatorowej biomolekuły, a mo e by przyczyn zmian w ekspresji okre lonych genów. Mo e to by przyczyn nieoczekiwane pojawiajacych si chorób, w tym chorób nowotworowych, neurologicznych a nawet psychicznych.

Co wi cej, molekularna struktura powierzchni, lub produkt nanotechnologii, mo e nieoczekiwane posiada zdolno indukcji zmian konformacyjnych białek na podobie stwo białek prionowych [12]. Proces taki nie musi prowadzi do encefalopatii g bczastej, jak w przypadku choroby prionowej, mo e by przyczyn innych, dotychczas nie zdefiniowanych schorze . Powy sze do spekulatywne rozwa ania dzi jeszcze nie mog by wsparte odpowiednimi wynikami bada naukowych z prostego powodu - dotychczas nikt takich bada nie prowadził.

Istniej bardzo powa ne poszlaki wskazuj ce na mo liwo nieoczekiwanych efektów kontaktu tkanki z powierzchni implantu. Dla przykładu hemodializa, zabieg ratuj cy ycie chorym z przewlekł niewydolno ci nerek, cho normalizuje parametry biochemiczne krwi, staje si jednocze nie przyczyn daleko id cych zmian w funkcjonowaniu płytek krwi. Hemodializowani chorzy w dalszym ci gu zagro eni s skutkami skazy krwotocznej, której towarzyszy znacz ce zmiany w profilu fosforylacji białek płytkowych, inne i bardziej drastyczne ni u chorych niedializowanych [13]. Mo na podejrzewa , e przyczyn tych zmian jest kontakt płytek krwi ze sztucz n powierzchni membrany dializatora, który uzyskał wszystkie niezb dne atesty wymagane przez norm ISO 10993.

Nie bez znaczenia jest w ko cu podatno powierzchni biomateriału na kolonizacj przez drobnoustroje oportunistyczne [14]. Implanty usuwane z ciała biorcy, z powodu gro nych powikła , zwykle zasiedlone s przez bakterie [15-17]. Zarówno cz sto wyst powiania powikła jak i ich obecno w renomowanych klinikach sugeruje, e to nie był dy w procesie sterylizacji i przygotowaniu implantu do wszczepienia ale pooperacyjne zasiedlenie przez mikroorganizmy s sprawc niepowodzenia. Oportunistyczne mikroorganizmy napotykaj c przyjazn sobie powierzchni kolonizuj j i wytwarzaj na niej struktury biofilmu, utrudniaj ce dost p komórek układu odporno ciowego a nawet antybiotyków. Biofilm uwalnia toksyczne substancje bakteryjnej przemiany materii, a w sprzyjaj cych sytuacjach uwalnia równie bakterie staj c si rdłem trudnych do likwidacji stanów zapalnych. Imobilizacja na powierzchni implantu substancji bakteriostatycznych znacz co redukuje liczb powikła [18, 19]. Jednak ograniczony czas ycia antybiotyków w warunkach in vivo oraz uodparnianie si na nie szczepów bakteryjnych jest przyczyn ograniczaj c to rozwi zanie.

Na zako czenie tych rozwa a nale y jednak doda , e omawiane powy ej procesy stanowi nie tylko o zagro eniu. Czasami s wysoce po dane, szczególnie wtedy, gdy czas trwania kontaktu z biomateriałem jest ograniczony. Dla przykładu, w dentystyce i chirurgii kostnej stosuje si biodegradowalne materiały stymuluj ce wzrost tkanki kostnej. Materiały takie z zało enia powinny aktywowa płytki krwi, prowadzi c w ten sposób do uwalniania czynników wzrostu stymuluj cych wzrost tkanki kostnej [20]. Równie odpowiednio wykonana struktura powierzchni mo e mie pozytywny wpływ na integracj implantu z tkanka kostn , co zostało potwierdzone zmianami w ekspresji odpowiednich genów (21).

tific results due to simple reason - to date nobody did such a research.

There are quite serious circumstantial evidences indicating a possibility of unexpected effects of tissue contact with implant surface. For example hemodialysis, a lifesaving procedure for patients with renal failure, however normalize biochemical parameters of blood, is a reason of serious changes in blood platelets functioning. A risk of bleeding tendency still is present in hemodialyzed patients, and this tendency is associated with significant changes in profile of blood platelets proteins phosphorylation [13]. One can suspect, that these changes result from blood platelet contact with artificial surface of dialysis membrane, which has received all attests required by ISO 10993 standard.

Finally, not less important is susceptibility of biomaterial surface to opportunistic microbes colonization [14]. Implants removed from a recipient bodies, due to dangerous complications, are usually settled by bacteria [15-17]. Both, frequency of complications and their presence in famous clinics suggest, that neither inadequate sterilization nor wrong preparation of implant, but post surgery microbial colonization of implant surface is responsible for surgery failure. Opportunistic microbes finding friendly surface colonize it and produce structure of biofilm, which makes difficult an access of immune cells and even antibiotics. A biofilm releases toxic substances of bacterial metabolism, and in a favorable situation it releases also bacteria causing inflammations difficult for treatment. An immobilization of antibiotics at an implant surface significantly reduced a number of complications [18, 19]. But limited in vivo lifetime of antibiotics and bacterial strain immune are limitations of this solution.

Finishing this consideration we have to state that above discussed processed, however risky for the body, sometimes are highly desirable, especially when contact time of medical device with the body is limited. For example, in bone surgery and in dentistry are used biodegradable materials stimulating growth of bone tissue. Such the materials, in assumption, should activate blood platelets causing a release of growth factors, stimulating bone tissue growth [20]. Also properly prepared structure of implant surface can positively affect implant integration with a bone tissue. It was confirmed by changes in specific genes expression [21].

Transcriptomics and proteomics in service of material engineering and nanotechnology

Risk sources, discussed above, have to be effectively monitored and defined. Currently being in force ISO 10993 standard does not include inspection of molecular processes affecting gene expression and related effects. The author of this report applied twice to 6 FP of European Commission, as a coordinator, for financial support for realization of project concerning of monitoring of risk connected to presence of new products of nanotechnology and materials engineering. Projects with acronyms NANORISK [22] and NANORISKA [23], were based on adaptation of well functioning in molecular biology techniques of proteomics and transcriptomics. Both projects, assessed as a good, were not qualified for financial support. But there is a very urgent need to organize in Poland a research center focusing interest on study of potential risk and also potential benefits resulting from possibility to affect specific genes expression. At present we can find very first reports describing the use of microarray technique for study of changes in expression of genes responsible for: signal transduction, transla-

Transkryptomika i proteomika na usługach inżynierii materiałowej i nanotechnologii

Omówione powyżej rodzaje zagrożeń dla organizmu biorcy muszą być skutecznie monitorowane i definiowane. Obecnie obowiązująca w tym zakresie norma ISO 10993 nie obejmuje nadzoru molekularnych procesów wpływających na ekspresję genów i wynikające stąd skutki. Autor opracowania dwukrotnie, w 2003 i 2004 roku, zgłaszał jako koordynator, w ramach 6 PR Unii Europejskiej, projekt dotyczący monitorowania zagrożeń związanych z powstawaniem nowych produktów nanotechnologii oraz inżynierii materiałowej. Projekty te, o akronimach NANORISK [22] i NANORISKA [23], oparte zostały na propozycji zastosowania technik dobrze funkcjonujących dla potrzeb proteomiki oraz transkryptomiki. Oba projekty, ocenione jako dobre, nie zostały zakwalifikowane do finansowania. Istnieje bardzo pilna potrzeba zorganizowania w Polsce centrum badawczego skupiającego swoje siły na badaniu potencjalnych zagrożeń, ale też potencjalnych korzyści wynikających z możliwości wpływania na ekspresję określonych genów. Już teraz pojawiają się doniesienia opisujące zastosowanie techniki mikromacierzy do badania zmian w ekspresji genów biorących udział w procesach: transdukcji sygnału, translacji, regulacji cyklu komórkowych, regulacji funkcji metabolicznych i strukturalnych oraz apoptozy w komórkach osteoblastów kontaktujących się powierzchniami o zróżnicowanej topografii [24]. Podobnie pojawiają się pierwsze doniesienia o zastosowaniu proteomiki do oceny wpływu kontaktu biomateriału z komórkami na funkcje wybranych białek receptorowych [25]. Trudno przecenić wagę zagrożeń i korzyści płynących z modulacji ekspresji genów i ich produktów - białek, a możliwość monitorowania tych zmian staje się zagadnieniem pierwszoplanowym dla nowoczesnych technologii materiałowych i nanotechnologii.

Nowe możliwości badawcze i diagnostyczne

Osiągnięcia technik badawczych biologii molekularnej umożliwiają śledzenie zmian w ekspresji poszczególnych genów w odpowiedzi na sygnały pochodzące z otoczenia komórki. Klasyczna już technika PCR (łańcuchowa reakcja polimerazy), pozwala na selektywne namnożenie wybranego fragmentu DNA, czy wykonanie kopii mRNA w postaci cDNA. Technika ta wykorzystuje termostabilny (odporny na wysokie temperatury) polimerazę DNA (lub odwrotną transkryptazę RNA), która na bazie matrycy jednoniciowego DNA (mRNA), syntetyzuje komplementarny DNA. Proces syntezy rozpoczyna się od miejsca wskazanego przez starter - krótki, syntetyczny fragment polinukleotydu o sekwencji komplementarnej do wybranego regionu DNA (mRNA), i powtarza się cyklicznie zawierając proces termicznej denaturacji dwuniciowej formy, hybridyzacji startera z cząsteczką matrycową oraz proces wydłużania komplementarnej nici przez polimerazę. Teoretycznie, w każdym cyklu liczba nowo syntetyzowanych nici podwaja się. Stosując technikę PCR można za niewielkiej ilości materiału wyjściowego uzyskać niemal dowolnie dużą ilość identycznych kopii wyjściowej matrycy. Technika Real Time PCR (RT-PCR) jest techniką pochodną, wykorzystując dodatkowo fluorescencyjne znakowanie produktów PCR. W ten sposób w trakcie trwania procesu można śledzić intensywność

tion, cell cycle regulation, cell metabolism and structure regulation and also apoptosis regulation, in osteoblast-like cells interacting with surface with distinct topography (24). Also first reports of use of proteomics approach for estimation of affect of biomaterial contact with cells are available (25). It is difficult to overestimate risks and benefits resulting from modulation of gene expression and their products - proteins, and monitoring of these effects becomes a crucial issue for modern material technologies and nanotechnologies.

New research and diagnostic capabilities

Achievements of research techniques in molecular biology make possible to monitor changes in expression of individual genes in response to signals coming from a cell environment. Already classical PCR (Polymerase Chain Reaction) technique allows for selective amplification of selected DNA fragment, or make and amplify copy of mRNA in a form of cDNA. This technique uses thermostable (resistant to a high temperature) DNA-polymerase (or reverse mRNA-transcriptase) which synthesizes complementary strand of DNA on the base of a single strand DNA (mRNA) template. The synthesis process begins from the site indicated by a primer - short, synthetic polynucleotide fragment with a sequence complementary to the selected region of DNA (mRNA), and is repeated in a cycle consisting of thermal denaturation of a double stranded form, primer hybridization to a template molecule, and an elongation of a complementary strand by a polymerase. A number of template molecules is doubled in each separate cycle. PCR technique allows to obtain almost unlimited number of identical template copies starting from a trace amount. Real Time PCR (RT-PCR) technique is a derivative technique, taking advantage of fluorescently labeled PCR products. On this way, it is possible to monitor, in a real time, an intensity of fluorescence and exactly estimate a number of created copies, or a cycle number giving fluorescence signal significantly different from a baseline. It means, this technique allows to estimate quantitatively an initial amount of template molecules. It is also possible to monitor simultaneously several distinct processes using multicolor labeling. The last solution allows to easily estimate differences in initial amount of specific mRNA templates, and as a result estimate a relative change in a specific gene expression. Transcriptomics is a part of molecular biology doing an estimation of genes expression by monitoring of information transcription from DNA to mRNA. A microarray technology, designed especially for transcriptomics, allows to analyze simultaneously an expression of several thousands genes. A microarray is a chip with intentionally prepared surface containing immobilized fragments of DNA or mRNA, in a dot format, representing specific genes. It is a kind of molecular library representing separate genes. A high density printing technology allows to place at a chip surface information about several thousands genes per a few square centimeters. PCR technique is used for production of fluorescently labeled cDNA probes representing a total amount of cellular mRNA. A contact of labeled probes with a microarray results in a specific probes hybridization to appropriate fragments of genes, and informs us about expression of specific genes. A quantitative information about a specific gene expression can be read from an intensity of fluorescence, which is related to hybridization intensity, Proteomics is a part of molecular biology doing an estimation of gene expression products - proteins. It turned out that not every expression of interested gene results in pro-

no fluorescencji i dokładnie ilo ciowo oznaczy ilo powstałych kopii lub numer cyklu od którego intensywno fluorescencji jest wyrażona od wartości bazowej. Inaczej mówiąc, jest to technika pozwalająca na ilościowe oznaczenie wyjściowej liczby cząsteczek matrycy. Zastosowanie wielobarwnego znakowania fluorescencyjnego pozwala na jednoczesne śledzenie kilku procesów zachodzących w tym samym czasie. Pozwala więc na ocenę różnic w wyjściowej ilości określonego mRNA, a tym samym na ocenę względnej zmiany ekspresji określonego genu. Transkryptomika to ta część biologii molekularnej, która zajmuje się oceną ekspresji genów poprzez śledzenie procesu transkrypcji informacji z DNA na RNA. Pracując nad rzeczą transkryptomiki technika mikromacierzy pozwala na jednoczesną analizę ekspresji wielu tysięcy genów. Mikromacierz to nośnik na powierzchni którego naniesiono i trwale związano, w postaci niewielkich, niemal punktowych obszarów, fragmenty DNA lub mRNA reprezentujące określone geny. Powstaje w ten sposób biblioteka molekularna reprezentująca te geny. Przy odpowiedniej gęstości nanoszonych kropek, na powierzchni kilku centymetrów kwadratowych można umieścić informację o wielu tysiącach genów. Wykorzystując technikę PCR można z wyjściowego materiału, zawierającego całkowity mRNA komórki, wykonać fluorescencyjnie znakowane kopie cDNA zwane sondami. Kontakt tak przygotowanych sond z mikromacierzą skutkuje specyficzną hybrydyzacją sondy z unieruchomionym fragmentem genu, informując więc w wyjściowym materiale obecne były cząsteczki mRNA powstałe w wyniku ekspresji tego genu. Intensywność hybrydyzacji, odczytywana z intensywności fluorescencji, informuje jednocześnie w sposób ilościowy o ekspresji tego genu.

Proteomika jest częścią biologii molekularnej zajmującą się badaniem produktów ekspresji genów - białek. Okazało się, że nie każda ekspresja genu skutkuje oczekiwaną produkcją aktywnej formy białka. Co więcej, na nici DNA znajduje się informacja o liniowej sekwencji aminokwasów w peptydzie, a aktywna biologicznie cząsteczka białka składa się zwykle z wielu peptydów (podjednostek) i poddana jest licznym posttranslacyjnym modyfikacjom. Wszystkie procesy, zarówno sama synteza nowych polipeptydów, jak i ich składanie, nadanie odpowiedniej struktury przestrzennej, oraz dołączanie grup cukrowych i fosfolipidowych nadzorowane są przez inne cząsteczki białkowe. Poznanie pełnej współzależności cząsteczek białkowych jest niezbędne dla wyjaśnienia i przewidywania funkcjonowania komórki. Proteomika bazuje na dwukierunkowej elektroforezie białek. Pierwszy kierunek rozdziału odbywa się zgodnie z wartościami pI, a drugi zgodnie z masami cząsteczkowymi białek. W tak uzyskanej dwuwymiarowej mapie wielu tysięcy białek poszukuje się tych cząsteczek, których ilość uległa zmianie (zmiana w ekspresji białek) w wyniku zadziałania kontrolowanego czynnika zewnętrznego. Białko to, pobrane z żelu elektroforetycznego, poddawane jest następnie identyfikacji przy pomocy spektrometrii masowej. Z dnia na dzień przybywa informacji o identyfikacji nowych białek i określaniu współdziałania i interakcji z innymi białkami. Proteomika wykorzystuje te techniki mikromacierzy do szybkiego, przesiewowego badania funkcjonalnych właściwości białek.

duction of an active form of protein. Moreover, DNA contains information about a linear sequence of amino acids in a peptide, but biologically active protein molecule usually consists of several peptides (subunits) and undergoes numerous posttranslational modifications. All processes, including synthesis of new polypeptides, their assembly and folding, and also incorporation of carbohydrate and phospholipid groups are managed by other proteins. Recognition of mutual relations between protein molecules is necessary for explanation and prediction of cell functioning. Proteomics bases on two dimensional (2D) electrophoresis of proteins. The first direction of separation is made in respect to pI values, whereas the second one is made according to molecular mass of proteins. This way obtained two dimensional map of several thousands of proteins allows to look for molecules appearing in a higher or lower amount, due to the cell interaction with a controlled external factor. The found protein, taken up from an electrophoretic gel, is subjected to mass spectrometry for identification. Almost every day brings new information about identification of new protein and proteins cooperation and interaction. Proteomics utilizes also microarray technique for fast screening of functional properties of known proteins.

- [1] ISO 10993, Biological evaluation of medical devices. The International Organization for Standardization 1999
- [2] Dzieńkowski T., Jatczak J., J drzejewski T., Walkowiak B. Measurements of the power of electric current generated on a resistor containing an electric pile developed in patients with amalgam fillings. *Czas Stomat.* 1980; 33: 905-12.
- [3] Perfetti G., Maggiore C., Isidori F. A case of leukoplakia from bimetallism in a single tooth. *Attual Dent.* 1988; 4: 36-8.
- [4] Ishii J., Fujita K., Munemoto S., Komori T. Management of oral leukoplakia by laser surgery: relation between recurrence and malignant transformation and clinicopathological features. *J. Clin. Laser Med. Surg.* 2004; 22: 27-33.
- [5] Bergman M. Corrosion in the oral cavity - potential local and systemic effects. *Int. Dent. J.* 1986; 36: 41-4.
- [6] Schmalz G., Garhammer P. Biological interactions of dental cast alloys with oral tissues. *Dent. Mater.* 2002; 18: 396-406.
- [7] Yagil-Kelmer E., Kazmier P., Rahaman MN., Bal BS., Tessman RK., Estes DM. Comparison of the response of primary human blood monocytes and the U937 human monocytic cell line to two different sizes of alumina ceramic particles. *J. Orthop. Res.* 2004; 22: 832-8.
- [8] The role of nano-particles in biomaterial-induced pathologies. Project supported by EC, No. QLK4-CT-2001-00147
- [9] Risk assessment in production and use of nano-particles with development of preventive measures and practice codes. Project supported by EC, No. G1MA-CT-2002-00020.
- [10] Gardiner J., Abell A.D. Synthesis and solid state conformation of phenylalanine mimetics constrained in a proline-like conformation. *Org. Biomol. Chem.* 2004; 2(16): 2365-70.
- [11] Lutolf M.P., Weber F.E., Schmoekel H.G., Schense J.C., Kohler T., Muller R., Hubbel J.A. Repair of bone defects using synthetic mimetics of collagenous extracellular matrices. *Nat Biotechnol.* 2003 21(5): 513-8.
- [12] Aguzzi A., Heikenwalder M., Miele G. Progress and problems in biology, diagnosis and therapeutics of prion diseases. *J Clin Invest.* 2004; 114: 153-160.
- [13] Walkowiak B., Tanski W., Koziółkiewicz W. Phosphorylation of platelet protein in hemofialysed patients is different than in control donors. XIX Congress on Thrombosis and Haemostasis, Birmingham, UK. July 2003, abstract No. P1315.
- [14] Jakubowski W., Bartosz G., Niedzielski P., Szymanski W., Walkowiak B. Nanocrystalline diamond surface is resistant to bacterial colonization. *Diamond and Related Materials*, 2004; 10: 1761-3.
- [15] Marrie T.J., Nelligan J., Costerton J.W. A scanning and transmission electron microscopic study of an infected endocardial pacemaker lead. *Circulation*, 1982; 66: 1339-41.
- [16] Leunisse C., van Weissenbruch R., Busscher HJ., van der Meri HC., Dijk F., Albers FW. Biofilm formation and design features of indwelling silicone rubber tracheoesophageal voice prostheses--an electron microscopical study. *J Biomed Mater Res.* 2001; 58: 556-563.
- [17] Zucchelli G., Cesari C., Clauser C., DeSanctis M. Early bacterial accumulation on guided tissue regeneration membrane materials. An in vivo study. *J Periodontol.* 1998; 69: 1193-202.
- [18] Zucchelli G., Sforza N.M., Clauser C., Cesari C., DeSanctis M. Topical and systemic antimicrobial therapy in guided tissue regeneration. *J Periodontol.* 1999; 70: 239-47.
- [19] Hendricks SK., Kwok C., Shen M., Horbett T.A., Ratner B.D., Breyers J.D. Plasma-deposited membranes for controlled release of antibiotic to prevent bacterial adhesion and biofilm formation. *J Biomed Mater Res.* 2000; 50: 160-70.
- [20] Kozakiewicz M., Okrój W., Klimek L., Łobos M., Walkowiak B. Bone substitute material and barrier membrane interaction with human blood platelets. 10th Erfurt Conference on Platelets. Erfurt, Germany, June 2004. Abstract book, page 71.
- [21] Schneider GB., Perinpanayagam H., Clegg M., Zaharias R., Seabold D., Keller J., Stanford C. Implant surface roughness affects osteoblast gene expression. *J. Dent. Res.* 2003; 82: 372-6.
- [22] Consequences of nanotechnology progression and use in medicine - estimation by genomics and proteomics approach. Proposal with acronym NANORISK, FP6-2003-NEST-A/2507.
- [23] Consequences of nanotechnology progression and use in medicine - estimation by genomics and proteomics approach. Proposal with acronym NANORISKA, FP6-2004-NEST-B-2/12895.
- [24] Carinci F., Pezzetti F., Volinia S., Francioso F., Arcelli D., Marchesini J., Scapoli L., Piattelli A. Analysis of osteoblast-like MG63 cells' response to a rough implant surface by means of DNA microarray. *J. Oral. Implantol.* 2003; 29: 215-20.
- [25] Ndimba B.K., Chivasa S., Hamilton J.M., Simon W.J., Slabas AR. Proteomic analysis of changes in extracellular matrix of Arabidopsis cell suspension cultures induced by fungal elicitors. *Proteomics*, 2003; 3: 1047-59.

PODATNO POWIERZCHNI BIOMATERIAŁU NA KOLONIZACJĘ BAKTERIAMI ZALEŻY OD RODZAJU TEJ POWIERZCHNI

W. JAKUBOWSKI*, W. SZYMAŃSKI*, W. OKRÓJ*,
I. PRZYBYSZEWSKA-DOROŃ*, M. PIREK*, B. WALKOWIAK**

*INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ,
**ZAKŁAD BIOFIZYKI MOLEKULARNEJ I MEDYCZNEJ,
UNIwersYTET MEDYCZNY W ŁODZI,

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 206-207]

Wstęp

Wykorzystanie biomateriałów znacznie wzrosło w ciągu ostatnich dekad. Biomateriały znalazły liczne zastosowania do produkcji implantów dentystycznych, implantów ortopedycznych, zastawki serca, soczewek kontaktowych czy narządów chirurgicznych. Niestety, użycie ich zawsze niesie ryzyko infekcji bakteryjnej głównie w wyniku pooperacyjnego powstawania biofilmu na sztucznych powierzchniach. Adhezja bakterii do powierzchni biomateriału jest pierwszym krokiem w powstawaniu biofilmu. Jego obecność na powierzchni implantu może doprowadzić do ogólnoustrojowej infekcji w sytuacji osłabienia systemu odpornościowego. Wynikiem tego jest zwykle utrata funkcji implantu, z powstaniem następstwami zdrowotnymi, w tym długotrwałą hospitalizacją a nawet śmiercią. Bakterie obecne w strukturze biofilmu są znacznie trudniej dostępne dla układu odpornościowego oraz bardziej odporne na antybiotyki. Dotychczas mechanizmy kolonizacji biomateriałów przez bakterie i powstawania biofilmu nie są dokładnie poznane. Ostatnio opisali my zróbnicowan podatno stali medycznej, tytanu oraz nanokrystalicznego diamentu (NCD) na kolonizację bakteriami w warunkach braku przepływu (Jakubowski W. i wsp., 2004).

Cel pracy

Nasze obecne badania poświęcone zostały obserwacjom pierwszego kroku powstawania biofilmu, w warunkach przepływu, w zależności od struktury powierzchni stali medycznej.

Materiały i metody

Wszystkie analityczne próbki zakupione były w firmie SIGMA-ALDRICH. Komórki *E.coli* (szczep K12) otrzymano z Zakładu Biofizyki Uniwersytetu Łódzkiego. Do badań użyto próbek ze stali medycznej (AISI 316L) polerowanej mechanicznie i elektrochemicznie. Cztery próbki poddano modyfikacji powierzchniowej poprzez pokrycie warstw krystalicznego diamentu metodą RF CVPD (Mitura S. i wsp., 1999). Próbkę umieszczano wewnątrz bioreaktora własnej konstrukcji (200 ml) wypełnionego po wyku zawierającego

A SUSCEPTIBILITY OF BIOMATERIAL SURFACE TO BACTERIAL COLONIZATION DEPENDS ON TYPE OF THIS SURFACE

W. JAKUBOWSKI*, W. SZYMAŃSKI*, W. OKRÓJ*,
I. PRZYBYSZEWSKA-DOROŃ*, M. PIREK*, B. WALKOWIAK**

*INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING,
TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND

**DEPARTMENT OF MOLECULAR AND MEDICAL BIOPHYSICS,
MEDICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 206-207]

Introduction

An application of implantable biomaterial as medical devices has grown rapidly over the past decades. Biomaterials found numerous applications in several fields, for example in production of dental or orthopedic implants, heart valves, contact lenses or surgical instruments. Unfortunately, the use of implants increases a risk of bacterial infection mainly due to post surgery biofilm formation on artificial surfaces. Bacterial adhesion to biomaterial surface is a first step in biofilm formation. Presence of biofilm at the implant surface can result in a massive infection when the immune system is weakened. It usually leads to complete failure of the implant with serious health problem, prolonged hospitalization and even death. Bacteria present in a biofilm structure are less accessible to the immune system and are significantly more resistant to antibiotics. So far the detailed mechanisms of bacterial colonization of biomaterials and biofilm formation remains unclear. Recently we have reported different susceptibility of medical steel, titanium and nanocrystalline diamond (NCD) to bacterial colonization under flow-less condition (Jakubowski W et al. 2004).

The aim

Our present investigation was devoted to estimation of the first step biofilm formation under flow condition in a dependence of surface structure of medical steel.

Materials and methods

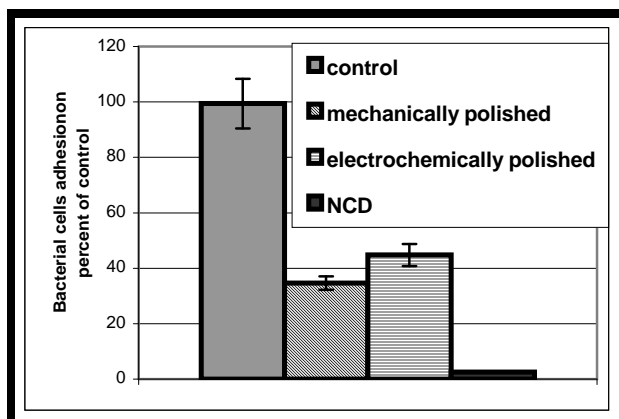
All chemicals were analytical grade and were purchased from SIGMA-ALDRICH. *E.coli* cells (strain K12) were from Department of Molecular Biophysics, University of Lodz. Samples made of stainless steel (AISI 316L) were mechanically and electrochemically polished. Some samples were then subjected to modification by nanocrystalline diamond synthesis at the surface by RF CVPD method (Mitura S. et al., 1999).

Samples were placed into a homemade bioreactor (200 ml) filled with a media containing NaCl (1%), bactopectone (1%) and yeast extract (0.5%), pH 7.0. The medium was supplemented with a trace amount of *E.coli* cells (approximately

... j c NaCl (1%), bactopectone (1%) i ekstrakt dro d owy (0.5%), pH 7,0. Do medium dodawano ładow ilo bak- ... *E.coli* (ok. 2×10^6). Komórki były hodowane przez 6 godzin w temp. 28°C w warunkach ci głego ci głym przepływu po ywki (10 ml/min). Po tym czasie próbki intensywnie przemyto wod destylovan . Na powierzchni próbki nanoszono barwnik fluorescencyjny bis-benzidyn - 20 ml z roztworu wyj ciowego (100 mg/ml). Wybarwione komórki bakteryjne obserwowane były na powierzchni próbki, i dokumentowane, przy u yciu mikroskopu fluorescencyjnego i kamery CCD. Wyniki z trzech niezależ nych eksperymentów poddano analizie statystycznej. Rezultaty prezentowane s jako REDNIA \pm ODCHYLENIE STANDARDOWE.

Wyniki

W pracy porównali my liczb komórek bakteryjnych znalezionych na powierzchniach próbek. Jako próbk kontroln potraktowano surow , niepolerowan próbk ze stali medycznej. Okazało si , e powierzchnia NCD była prawie całkowicie oporna na formowanie biofilmu, podczas gdy obie próbki, polerowane mechanicznie i elektrochemicznie, były z łatwo ci kolonizowane przez bakterie (RYS. 1). Jednocześnie nie porównano warto ci parametru Ra (chropowatości) pomierzonego dla badanych próbek (RYS. 2). Nasze wyniki wyra nie sugeruj , e liczba zaadherowanych bakterii zależy zarówno od chropowato ci powierzchni jak i od modyfikacji tej powierzchni.



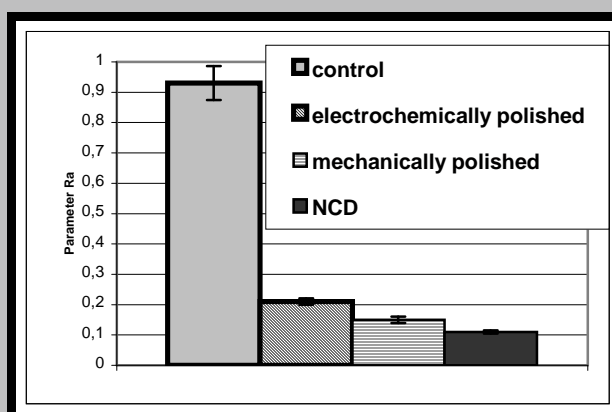
RYS. 1. Liczba komórek *E.coli* znalezionych na badanych powierzchniach przedstawiona jako procent kontroli (surowej stali medycznej).

FIG. 1. A number of *E.coli* cells found at the studied surfaces presented as a percent of control (crude sample of medical steel).

2×10^6). The cells were cultured for 6 hours at 28°C with a continuous flow of 10 ml/min. After that, samples were removed from the grow medium and were extensively washed out with distilled water. *E.coli* cells adhered to the surfaces were observed by a fluorescence microscope inspection with the use of bis-benzidine. Each surface was robed with the dye by applying of 20 μ l of stock solution (100 μ g/ml). Finally, bacterial cells present at the sample surface were detected with the fluorescence microscope, and pictures were documented with a CCD camera. At least three independent experiments with several examined segments of the samples provided data for statistical evaluations. The results are presented as a MEAN \pm SD.

Results

In the present report we have compared a number of bacterial cells found at the sample surfaces. As a control sample the crude, no polished, stainless steel sample was used. We have found that surface made of nanocrystalline diamond was almost totally resistant for biofilm formation, whereas both, mechanically and electrochemically polished medical steel samples were easily colonized by bacteria (FIG. 1). Simultaneously we have compared values of Ra parameter (roughness) determined for the studied samples (FIG. 2). Our results strongly suggest that the number of adhered bacteria depends on both, surface roughness and surface modification.



RYS. 2. Warto ci współczynnika Ra oznaczonego dla badanych powierzchni.

FIG. 2. Values of Ra parameter determined for the studied surfaces.

Pi miennictwo

References

- [1] W. Jakubowski, G. Bartosz, W. Okrój, P. Niedzielski, S. Mitura, B. Walkowiak, Nanocrystalline diamond surface is resistant to bacterial colonization. *Diam Rel Mater* 2004, 10:1761-1763.
- [2] Mitura S, Mitura A, Niedzielski P, Couvrat P. Nanocrystalline Diamond Coatings, *J Chaos, Solitons and Fractals*, 1999; 10:2165-2177.

BADANIA IN VITRO, TERPOLIMERU PVDF- PTFE-PP, MODYFIKOWA- NEGO WŁÓKNAMI ALGINIANOWYMI

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

*AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW, KRAKÓW

**UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI, COLLEGIUM MEDICUM,
KATEDRA IMMUNOLOGII, KRAKÓW

***POLITECHNIKA ŁÓDZKA, WYDZIAŁ INŻYNIERII I MARKETINGU
TEKSTYLÓW, KATEDRA WŁÓKNIEN SZTUCZNYCH, ŁÓDŹ

Słowa kluczowe: polimery w inżynierii biomateriałów, biopolimery, alginiany, właściwości powierzchni, modyfikacja powierzchni.

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 208-211]

Wprowadzenie

Znaczną część polimerów, stosowanych w dziedzinie inżynierii biomateriałów (np.: PP, PTFE, PS, PU, PVDF) charakteryzuje silna hydrofobowość powierzchni. Ta cecha materiału uniemożliwia osiadanie komórek na powierzchni polimeru a tym samym sprawia, że niemożliwe jest wytworzenie warstwy na granicy komórka-biomateriał. Właściwościami takimi jak topografia i chemia powierzchni są czynnikami determinującymi odpowiedź komórek (proliferyację, różnicowanie).

W pracy podjęto próby określenia wpływu modyfikacji powierzchni terpolimeru PP-PVDF-PTFE na odpowiedź komórek. Próbkę polimerową, zmodyfikowano przy użyciu włókien alginianowych. Alginiany są biopolimerami o hydrofilowej powierzchni. W pracy wykorzystano je do obniżenia energii powierzchniowej polimeru oraz do modyfikacji topografii powierzchni. Każde z badanych materiałów kontaktowano z dwoma rodzajami komórek ludzkich: osteoblastami i fibroblastami. Aktywność dehydrogenazy mitochondrialnej komórek, po 7 dniach hodowli (przeżywalność komórek) określono wykorzystując metodę MTT. Poziomą zawartość kolagenu typu I, badano przy użyciu testu ELISA.

Materiały i metody

Próbki do badań przygotowano stosując terpolimer PVDF-PTFE-PP (Aldrich Chemical Co., USA, cat. no. 45 458-3), który rozpuszczono w acetonie (POCH SA, Gliwice, Polska, cat. no 102480111). Włókna alginianowe przygotowano w Katedrze Włókien Sztucznych, Wydziału Inżynierii i Marketingu Tekstyliów Politechniki Łódzkiej. W celu otrzymania próbek, sporządzono roztwór terpolimeru (5 g PVDF-PTFE-PP w 50 ml acetonu). Otrzymano roztwór pośtuży do wytworzenia trzech rodzajów próbek:

1. Próbkę z czystego terpolimeru.

Na szalkę Petriego wylano roztwór terpolimeru i podano swobodnemu odparowaniu rozpuszczalnika.

2. Próbkę zawierającą 5% dodatek włókien z alginianu wapnia.

Krótkie włókna alginianu wapnia $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ rozprowadzono

IN VITRO BEHAVIOR OF PP-PVDF-PTFE TERPOLYMER MODIFIED WITH ALGINATE FIBRES

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

*AGH-UTS, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, CRACOW

**JAGIELLONIAN UNIVERSITY, COLLEGIUM MEDICUM, DEPARTMENT
OF IMMUNOLOGY, CRACOW

***DEPARTMENT OF MAN MADE FIBERS,
TECHNICAL UNIVERSITY OF ŁÓDŹ, ŁÓDŹ

Key words: polymers in biomaterials engineering, biopolymers, alginate, surface properties
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 208-211]

Introduction

Many polymers have been investigated widely and used in biomaterials engineering (e.g.; PP, PTFE, PS, PU, PVDF). Generally, most of polymers used in biomaterials engineering reveal a hydrophobic surface characteristics, which make them unuseful in cell culture. Because of hydrophobic surface state it is not possible to obtain a proper attachment of the cell on biomaterial surface. The cell response is mainly determined by the surface topography and its chemistry (proliferation, differentiating followed by multiplications of cells). In this work an attempt has been taken to determine the influence of surface topography of PP-PVDF-PTFE terpolymer on cellular response. Terpolymer samples were modified with short alginate fibres. Alginate biopolymers are known to have hydrophobic surface properties. The short alginate fibres were used in order to decrease surface energy of the composite samples. Each of the materials studied was contacted with two kinds of human cells: osteoblasts and fibroblasts. Activity of mitochondrial dehydrogenases of cells after 7 day culture (cell viability) was measured by using MTT method, and the level of collagen of type I was studied by using ELISA test.

Materials and methods

PTFE/PVDF/PP polymer (Aldrich Chemical Co., USA, cat. no. 45 458-3) has been used in the experiments. The solution was prepared by dissolving the polymer in a calculated amount of acetone (POCH SA, Gliwice, Poland, cat. no 102480111). $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ alginate fibres were fabricated at the Department of Man-Made Fibres, Faculty of Textile Engineering and Marketing, Technical University of Lodz, Poland.

Polymer samples have been obtained from polymer solution (5 g of PTFE/PVDF/PP polymer resin per 50 ml of acetone). The following kinds of samples have been obtained: solution.

1. Pure PTFE/PVDF/PP polymer sample

Polymer solution has been poured on to a Petri's dishes and left to freely evaporation (24 h).

2. Sample having a alginate fibre content of 5 weight percent $\text{Ca}(\text{Alg})_2$.

Short fibres of calcium alginate with terpolymer were mixed.

w roztworze terpolimeru i wylano na szalkę Petriego. Podano swobodnemu odparowaniu w powietrzu przez 24 godziny.

3. Próbką pokryta włóknami z alginianu wapnia.

Do szalki Petriego wylano roztwór terpolimeru i poddano swobodnemu odparowaniu rozpuszczalnika w powietrzu, przez 24 godziny. Otrzymane folie z PP-PVDF-PTFE nawiętlano przez 12 godzin promieniowaniem UV a następnie pokryto je warstwą włókien krótkich z alginianu wapnia $\text{Ca}(\text{Alg})_2$.

Analizę tekstury powierzchni materiałów polimerowych przeprowadzono wykonując zdjęcia w elektronowym mikroskopie skaningowym SEM (Jeol JSM - 5400). Pomiar kąta zwilżenia materiału wykonano, w temperaturze pokojowej, na aparacie DSA 10 Kruss. Ciecz pomiarowa była wodą podwójnie destylowaną o objętości kropli 2,5-2,8 ml. W badaniach biologicznych materiałów, zastosowano linie fibroblastów ludzkich HS-5 i linie osteoblastów ludzkich hFOB 1.19. Oceniono żywotność komórek kontaktowanych z wszystkimi rodzajami próbek (metoda MTT) oraz określono poziom kolagenu typu I, po 7 dniach hodowli, w oparciu o test ELISA.

Wyniki badań

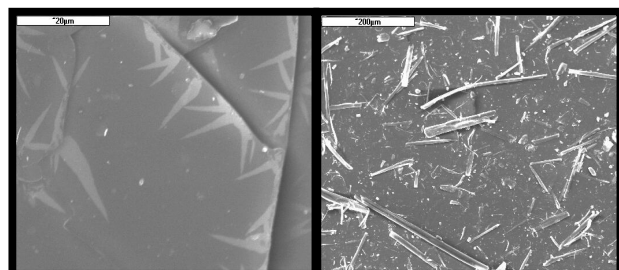
średnie wartości kąta zwilżenia dla wszystkich badanych próbek, podano w TABELI 1.

Jak widać z wyników zamieszczonych w TABELI 1, wprowadzenie włókien alginianowych do polimeru wpłynęło na wielkość kąta zwilżenia, mierzonego na powierzchniach badanych materiałów. Efekt ten jest silniejszy, w przypadku próbki z włóknami wyeksponowanymi na powierzchni, w porównaniu z próbką, w której włókna rozprowadzono w całej objętości.

Teksturę powierzchni obserwowano w skaningowym mikroskopie elektronowym (RYS. 1A, B). Próbką, do której wprowadzono włókna w całej objętości ma powierzchnię gładką, nieznacznie zmienioną przez włókna znajdujące się na jej powierzchni, natomiast druga z próbek posiada powierzchnię o wysokim stopniu chropowatości, na której widoczne są włókna lub ich fragmenty o różnej długości.

Wyniki badań komórkowych (metoda MTT), dotyczące aktywności dehydrogenazy mitochondrialnej komórek kontaktowanych z powierzchnią polimeru, przedstawia RYS. 2. (W obliczeniach przyjęto, że przeżywalność i poziom kolagenu dla próbki czystego polimeru wynosi 100%.)

Przeżywalność fibroblastów, po 7 dniach hodowli, jest zdecydowanie niższa w kontakcie z próbkami, których powierzchnie modyfikowano włóknami alginianowymi w porównaniu z komórkami kontaktowanymi z czystym polime-



RYS. 1. Zdjęcia tekstury powierzchni terpolimeru z włóknami z alginianu wprowadzonymi do wnętrza (A) i na powierzchnię (B).

FIG. 1. Surface microphotographs of terpolymer-based samples: mixed with alginate fibres: (A) and covered with the fibres (B).

Composites solution has been poured onto a Petri's dishes and air-dried to remove the solvent for 24h.

3. Sample covered with short alginate fibres $\text{Ca}(\text{Alg})_2$.

On to Petri's dishes terpolymer solution was poured out and left in air at room temp to remove the solvent, for 24 hours. The foil made of PP-PVDF-PTFE terpolymer was UV irradiated for 12 hours and then the surface sample was covered with a layer of short alginate fibres $\text{Ca}(\text{Alg})_2$.

To analyze the texture of terpolymer - based surface materials SEM (Jeol JSM - 5400) microphotographs have been made. Contact angle was measured by Kruss 10 DSA system at room temperature. Doubly distilled water was used in this measurement with the drop volumes of 2,5-2,8 ml. Viability of the cells contacted with the materials was studied by MTT method. Viability of the cells originating from fibroblasts HS-5 and hFOB 1.19 osteoblasts lines was determined after 7 days. Level of collagen of type I produced by the cells was analyzed using the ELISA test.

Results

Results of the contact angle measurements for the samples before and after modification with alginate fibres phase are gathered in TABLE 1.

	Kąt zwilżenia Contact angle
Terpolimer Terpolymer	101,8±2,5
Terpolimer z dodatkiem 5% włókien $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ Terpolymer with 5% fibres $\text{Ca}(\text{Alg})_2$	93,8±4,43
Terpolimer po 12h UV z naniesionymi włóknami $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ UV irradiated terpolymer covered with fibres $\text{Ca}(\text{Alg})_2$	85,0±3,24

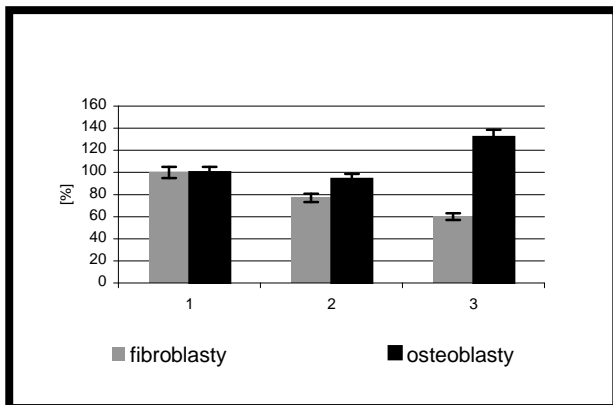
TABELA 1. Wartości kąta zwilżenia dla terpolimeru wyciągowego i dla terpolimeru z włóknami z alginianu wapnia $\text{Ca}(\text{Alg})_2$.

TABLE 1. Average values of contact angles for terpolymer foil (reference samples), terpolymer mixed with alginate fibres, and the terpolymer covered with short alginate fibres.

As it is shown in TABLE 1, an additive of alginate fibres to the terpolymer changes wettability of the sample surface determined by the values of contact angle. This effect was more significant for the sample having the fibres exposed on surface terpolymer in comparison to the sample in which alginate fibres were distributed in whole volume. Surface texture of the samples was observed in scanning electron microscope (FIG. 1A, B). The composite sample with the fibres introduced into the whole volume is characterized by the smooth surface (A) whereas the sample covered with the short fibres has high roughness and reveals short fragments of alginate fibres on its surface.

Results of activity of mitochondrial dehydrogenase (MTT test) of the cells contacted with the surface of polymer are shown in FIG. 2. The graph illustrates viability of two cellular lines; fibroblasts and osteoblasts. Viability of fibroblasts, after 7 days of the culture are distinctly lower for the surface samples having modified the surface topography, as compared to the samples made of pure terpolymer (reference). Calculation was made assuming that for pure polymer the level of viability and level of collagen were 100%.

Similarly, fibroblasts viability, determined after 7 days, is significantly lower on the surface samples with modified topography comparing to the sample prepared from pure terpolymer (reference sample). The highest viability was observed in the case of osteoblasts for the surface modified with the use of alginate fibres in comparison to both



RYS. 2. Prze ywalno komórek na powierzchni terpolimeru: wyj ciowy [1] z dodatkiem 5% $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ [2], pokrytego włóknami $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ [3].
FIG. 2. Cells viability on the surface of materials: reference samples [1] with alginates fibres 5% $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ inside the sample [2], covered by alginates fibres $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ [3].

rem. Natomiast prze ywalno komórek kostnych (osteoblastów) kontaktowanych z modyfikowanymi próbkami jest taka sama jak polimeru (próbka 2) lub znacz co wy sza (próbka z włóknami alginianowymi na powierzchni - 3). Ilo kolagenu typu I, produkowanego przez fibroblasty jak i osteoblasty przedstawia RYS.3. Wzmo on produkcje kolagenu (wy sz ni dla czystego polimeru) stwierdzono u osteoblastów kontaktowanych z próbk zawieraj c włókna w całej obj to ci. Praktycznie nie odnotowano kolagenu na próbkach o zmodyfikowanej powierzchni, wytworzonego przez fibroblasty.

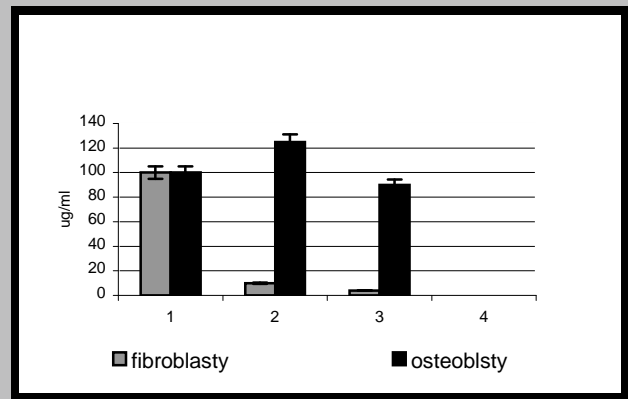
Wnioski

Wyniki uzyskane w badaniach wskazuj , e modyfikacja terpolimeru przy wykorzystaniu włókien alginianowych wpływa na odpowied komórek w warunkach in vitro. Wprowadzenie włókien alginianowych pod powierzchnie polimeru jak i pokrycie jej włóknem powoduje obni enie warto ci k ta zwil enia (a zatem równie energii powierzchniowej) oraz zmian topografii powierzchni. Modyfikacja powierzchni w odmienny sposób wpływa na komórki linii fibroblastycznej i linii osteoblastycznej. Lepsz prze ywalno na powierzchni modyfikowanego terpolimeru, po 7 dniach hodowli, wykazuj osteoblasty. Ten sam rodzaj komórek jest odpowiedzialny za produkcje znacznej ilo ci kolagenu typu I.

W podsumowaniu mo na stwierdzi , e zmodyfikowanie powierzchni polimeru przy u yciu włókien alginianowych prowadzi do uzyskania materiału stymuluj cego komórki kostne do produkcji kolagenu oraz działaj cego w odmiennym kierunku na komórki linii fibroblastycznej. Wydaje si zatem uprawnione stwierdzenie, e obrana przez nas droga modyfikacji polimeru prowadzi mo e do uzyskiwania implantów, które w warunkach in vivo, zastosowane do leczenia tkanki kostnej nie b d otacza si torebką ł cnotkankow natomiast przyspiesza b d odbudowe ko ci.

Podzi kowania

Praca ta została wykonana w ramach grantu PZB - KBN-082 - T08/2002, finansowanego przez Komitet Bada Naukowych.



RYS. 3. Ilo kolagenu typu I produkowanego przez osteoblasty i fibroblasty na powierzchniach terpolimeru: niemodyfikowanego [1], z 5% dodatkiem $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ [2], pokrytego włóknami $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ [3].
FIG. 3. Level of collagen type I produced by osteoblasts and fibroblasts cells on the surface of materials: reference samples [1] with alginates fibres 5% $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ inside [2], cover by alginates fibres $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ [3].

types of the samples, namely pure polymer, volume-modified polymer containing the fibres in whole volume. Level of type I collagen produced by fibroblasts and osteoblasts is shown in FIG. 3. Higher productions of collagen was observed on the surface of sample 2, contacted with osteoblasts. The collagen produced by fibroblasts was not noted on samples having modified topography of the surface.

Conclusions

This study describes the effect of surface topography changes of terpolymer on cellular response. An introduction of alginate fibres near the surface region of the polymer as well as covering the surface of polymer with these fibres results in reduction of contact angle (and therefore also surface energy). Moreover, such a procedure allows for modification of surface topography. Modification of the surface topography influences the cellular response in different way. After 7 days' cultures better viability of the cells was obtained on the surface of terpolymer for osteoblasts. The same kind of cells is responsible for productions of considerable higher level of collagen of type I.

Our results demonstrate that the surface of alginate fibres modified- terpolymer leads to improve the selective properties of biomaterial, which can better stimulate the osseous cells for production of collagen. Such a material functions in the opposite way with respect to the fibroblasts. It seems that the proposed procedure of modification of polymer is a promising way to obtain a biomaterial which can be used in the treatment of the diseased bone tissues in controlled manner without encapsulation effect.

Acknowledgements

This work was supported by the State Committee for Scientific Research (grant PBZ - KBN-082- T08/2002).

- [1] Morra M., Della Volpe C. Correlation between substratum roughness and wettability cell adhesion and cell migration J. Biomed. Mater. Res. 42 (1998) 473-474.
- [2] Matsuzaka K., Walboomers X., Yoshinari M., Inoue T., Jansen J., The attachment and growth behavior of osteoblasts - link cells on microtextured surface Biomaterials 24 (2003) 2711-2719.

- [3] Klee D., Ademovic Z., Bosserhoff A., Hoecker H., Maziolis G., Surface modification of poly(vinilidene fluoride) to improve the osteoblasts adhesion Biomaterials 24 (2003) 3663-3670.
- [4] Buddy D. Ratner, Surface modification of polymers: chemical, biological and surface analytical challenges, Biosensors and Bioelectronics 10, 1995, 797-804.

WŁAŚCIWOŚCI ZMĘCZENIOWE I BIOLOGICZNE PROTEZY TCHAWICY WYKONANEJ Z POLIMERU I AKTYWNYCH WŁÓKNIEN W GŁOWYCH

W. CIERSKI*, G. NAMYSŁOWSKI*, S. BŁA EWICZ**, J. PILCH*

*II KATEDRA I ODDZIAŁ KLINICZNY LARYNGOLOGII
L. SKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W ZABRZU

**AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW, KRAKÓW

Streszczenie

Opracowanie biomateriału odpowiadającego tego tkanec w rekonstrukcjach dużych ubytków tchawicy wymaga zastosowania wysokiej jakości materiałów złożonych. Materiały kompozytowe, które stanowią połączenie doskonałych, jednorodnych faz są w tym przypadku dobrymi kandydatami do takich zastosowań. Heterogeniczne układy takich faz pozwalają na nieograniczoną kombinację morfologii materiałów złożonych i takich właściwości. Z uwagi na to, że mikrostruktura decyduje o właściwościach kompozytów, istotnym zagadnieniem jest dobór składników do wytworzenia takiego biomateriału kompozytowego. Praca niniejsza poświęcona jest ocenie charakterystyki mechanicznej naturalnej tchawicy owczej w celu opracowania odpowiedniego materiału przydatnego w operacjach rekonstrukcyjnych. Na podstawie wyników badań mechanicznych naturalnej tchawicy owczej został zaprojektowany i wytworzony model sztucznej tchawicy wykonany z materiałów kompozytowych. Do wykonania takiego implantu autorzy pracy wykorzystali materiał kompozytowy złożony z aktywnych włókien w głowach, biostabilnego polisulfonu i terpolimeru na bazie teflonu. Przeprowadzono badania mechaniczne otrzymanego implantu w warunkach obciążenia dynamicznego. Dokonano wstępnej oceny biologicznej protezy o długości 50 mm w rekonstrukcji tchawicy owczej. Badania zmęczeniowe wykazały dobrą odporność zmęczeniową opracowanej protezy, poddanej cyklicznym obciążeniom o amplitudzie siły odpowiadającej 50% wartości siły niszczenia protez w warunkach statycznych. [Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 211]

FATIGUE AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF TRACHEAL PROSTHESIS MADE FROM POLYMER AND ACTIVE CARBON FIBRES

W. CIERSKI*, G. NAMYSŁOWSKI*, S. BŁA EWICZ**, J. PILCH*

*II ENT CLINIC, SILESIAN MEDICAL ACADEMY, ZABRZE

**AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, CRACOW

Summary

The elaboration of tissue adapted biomaterial in the reconstruction of large tracheal defects requires the use of high-performance complex materials. Composite materials that combine the best properties of their homogenous phases are optimal candidate for such applications. Heterogeneous composite materials consisting of various phases provide an unlimited variety of morphologies and properties. Because the microstructure affects the composite properties it is important to find the proper constituents of the resulting composite biomaterials. The work is devoted to evaluation of mechanical characteristic of natural trachea. Based on the results of mechanical characteristics of natural ovine trachea a representative model of the artificial composite trachea has been designed and prepared. Composite constituents, namely active carbon fibres, biostable polysulfone and Teflon-based ter-polymer were used to manufacture the implant.

Mechanical tests were conducted to study the fatigue behavior of the trachea prosthesis. Preliminary biological evaluation on ovine model was also done. The prostheses of 50 mm in length were used to reconstruct the tracheas in ovine and to evaluate their efficacy. Mechanical examination revealed good fatigue properties of the prosthesis subjected to dynamic tensile force with the amplitude maximum of 50% of static limit of strength.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 211]

ODPOWIEDZ TKAŃEK MIĘKICH NA POROWATE I LITE IMPLANTY PGLA

EL BIETA MENASZEK*, BOENA OGRODNA*, MARIA OŁNIEREK*,
EL BIETA PAMUŁA**

*UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI, COLLEGIUM MEDICUM,
ZAKŁAD CYTOBIOLOGII I HISTOCHEMII,
UL. MEDYCZNA 9, 30-688 KRAKÓW, POLSKA.

**AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLSKA

Streszczenie

Resorbowalny kopolimer glikolidu i L-laktydu, otrzymany metodą odlewania z roztworu i wypłukiwania soli, przygotowano w dwóch postaciach: folii i gąbki. Otrzymane materiały były wszczepiane do mięśni szkieletowego szczurów na okres 7, 30 i 90 dni w celu zbadania odpowiedzi immunologicznej tkanek miękkich, w zależności od właściwości zastosowanego materiału. W przypadku materiału porowatego stan zapalny wokół implantu trwał dłużej i miał zdecydowanie większe nasilenie. Zastosowane materiały PGLA różniły się przebiegiem procesu degradacji w tkance.

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 212-217]

Wstęp

Biodegradowalne podłoża polimerowe konstruowane są w celu uzyskania materiału biodegradablego do hodowli izolowanych komórek, umożliwiającego formowanie nowotworów, trójwymiarowych tkanek. W związku z procedurą uzyskania hodowli komórkowej i jej późniejszej implantacji do funkcjonujących tkanek, materiał na podłoża tkankowe musi posiadać cechy konieczne dla hodowli komórek zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*.

Resorbowalny kopolimer glikolidu i L-laktydu (PGLA), przebadany uprzednio *in vitro* [1], przeznaczony do wypełniania ubytków kostnych, wszczepiano do tkanki mięśniowej. Jako model do badań wybrano mięsień szkieletowy szczura ze względu na to, że materiał zastępuje kość jedynie w kontakcie nie tylko z tkanką kostną, ale także z otaczającymi ją tkankami miękkimi, których odpowiedź immunologiczna jest ostrzejsza niż w przypadku tkanki kostnej [2].

Wszczepienie biomateriału wywołuje odpowiedź immunologiczną gospodarza. Początkowo jest to odpowiedź nieswoista, wywołana samym zabiegiem chirurgicznym. W następnym etapie staje się odpowiedzią na wszczepione ciało obce. W niniejszej pracy badano biologiczny efekt materiałów PGLA wszczepionych w dwóch postaciach: jeden w formie litej folii i drugi w formie porowatej gąbki. Wiadomo, że oprócz innych właściwości implantu, na nasilenie odpowiedzi tkankowej mogą wpływać cechy jego powierzchni, w tym jej rozmiar [3]. Przy tej samej masie zastosowane materiały różniły się znacznie wielkością powierzchni, co miało odbicie w reakcji tkanek na obydwa implanty.

Metody

Materiały

Kopolimer glikolidu z L-laktydem (18:82 stosunek molo-

THE SOFT-TISSUE RESPONSE TO POROUS AND SOLID IMPLANTS OF PGLA

EL BIETA MENASZEK*, BOENA OGRODNA*, MARIA OŁNIEREK*,
EL BIETA PAMUŁA**

*JAGIELLONIAN UNIVERSITY, COLLEGIUM MEDICUM,
DEPARTMENT OF CYTOBIOLOGY AND HISTOCHEMISTRY,
9 MEDYCZNA ST., 30-068 CRACOW, POLAND

**AGH-UTS, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,
30 MICKIEWICZA AVE., 30-059 CRACOW, POLAND

Abstract

Resorbable copolymer of glycolide and L-lactide was processed in forms of foils and foams, obtained by solvent casting / particulate leaching method. The resulting two forms of copolymer were implanted into skeletal muscle of rats for 7, 30 and 90 days to examine the soft-tissue response according to the different properties of the obtained materials. The implanted porous material elicited a much more severe immunological response than the foil. The degradation of the two materials proceeded differently as well.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 212-217]

Introduction

Biodegradable polymer scaffolds are prepared as a supporting material for isolated cells to grow and form three-dimensional new tissues. According to the procedure of obtaining a culture of seeded cells and its later implantation into the functioning tissue, the material for the scaffold must be suitable both for *in vitro* and *in vivo* tissue culture.

The resorbable copolymer of glycolide and L-lactide (PGLA) examined previously under *in vitro* conditions [1], designed for bone rebuilding, has been implanted into muscle tissue. The rat skeletal muscle model has been chosen due to two important factors: the bone-replacing material will be in contact not only with bone, but also with the surrounding soft tissues; and these tissues' immunological response is more severe than in bone [2].

The implantation of a biomaterial induces a host inflammatory response. At first, it is due to the surgical injury of the tissues; afterwards, it is a reaction to the implanted foreign body. In the current study we examine the biological effects of two PGLA materials applied in two forms: one in the form of solid foil, and the second in the form of porous foam. It is stated that the extent of cellular response to the implant can be influenced by the surface characteristics of the biomaterial and among them, its area [3]. Although the two forms have the same mass, their areas greatly differ what has a reflection in the tissue response to these materials.

Methods

Materials

Copolymer of glycolide and L-lactide (18:82 glycolide to L-lactide molar ratio; molecular masses: $M_n=34\text{kDa}$, $M_w=85\text{kDa}$) was synthesized in the Centre of Polymer Chemistry,

wy glikolidu do L-laktydu, masy cz. steckowe $M_n = 34$ kDa, $M_w = 85$ kDa) zsyntezowano w Centrum Chemii Polimerów PAN w Zabrzu, zgodnie z metodą opisaną poprzednio [4]. Folie polimerowe otrzymano poprzez odlanie na szklane szalki Petriego 10% (m/v) roztworu kopolimeru w chlorku metylenu. Głównym składnikiem otrzymanego kopolimeru (PCL/PLGA) było 10% (m/v) roztworu w chlorku metylenu. Głównym składnikiem otrzymanego kopolimeru (PCL/PLGA) było 10% (m/v) roztworu w chlorku metylenu. Głównym składnikiem otrzymanego kopolimeru (PCL/PLGA) było 10% (m/v) roztworu w chlorku metylenu.

Grubość folii polimerowych wynosiła: $0.18 \text{ mm} \pm 0.014 \text{ mm}$, a grubość gąbki wynosiła $1.68 \text{ mm} \pm 0.11 \text{ mm}$. Porowatość otrzymanych gąbek wynosiła $87.0 \pm 1.4\%$, a wielkość porów była zbliżona do wielkości cząstek porogenu, tj. $600 \pm 100 \mu\text{m}$ [5].

Przed implantacją próbki zostały wysterylizowane metodą plazmy nadtlenku wodoru (Sterrad 120, ASP, Johnson & Johnson).

Zwierzęta

Wszystkie zwierzęta w eksperymencie dorosłe szczury rasy kapturowej pochodziły z hodowli własnej Wydziału Farmaceutycznego CM UJ. Zwierzęta przetrzymywane były w warunkach standardowych, ze swobodnym dostępem do paszy i wody.

Implantacja

Materiał PGLA w postaci folii lub gąbki o masie 0.02 g wszczepiano do nacięcia mięśnia pośladkowego szczura. Każde zwierzę otrzymało dwa implanty: do prawego mięśnia folię i do lewego gąbkę PGLA. Zabieg przeprowadzono w warunkach aseptycznych i pod narkozą.

Badania histologiczne i histochemiczne

Po upływie 7, 30 i 90 dni od operacji, po 5 zwierząt z każdej serii zabijano w celu uzyskania wycinka tkankowego wraz z biomateriałem. Pobrano tkankę zamrażano w ciekłym azocie i skrawano przy użyciu mikrotomu kriostatowego. Na uzyskanych skrawkach przeprowadzono barwienie histologiczne metodą May-Grünwalda Giemsa (MGG) [6] w celu identyfikacji komórek stanu zapalnego oraz histochemiczne pozwalające ocenić nasilenie stanu zapalnego oraz aktywność metaboliczną tkanek otaczających implant. Badano aktywność następujących enzymów: fosfatazy kwasowej (FK) [7], esterazy niespecyficznego (EN) [8] oraz oksydazy cytochromu c (OCC), dehydrogenazy NADH (NADHDH), dehydrogenazy mleczanowej (LDH) i glukozy-6-fosforanowej (G6PDH) [9].

Relatywna liczba komórek stanu zapalnego (makrofagów, neutrofilów, eozynofili, mastocytów i wielojądrowych komórek olbrzymich) i aktywność FK i EN służyła jako kryterium nasilenia stanu zapalnego w 5-stopniowej skali szacunkowej: brak reakcji (Stopień 0), minimalny (Stopień 1), słaby (Stopień 2), średni (Stopień 3), silny (Stopień 4) i bardzo silny odczyn reakcji (Stopień 5). Takiej samej skali użyto do oceny enzymatycznej aktywności komórek stanu zapalnego oraz włókien mięśniowych otaczających implant.

Wyniki i dyskusja

W serii 7-dniowej implanty obu typów nie wykazywały cech degradacji. PGLA gąbka otoczona było naciekiem zapalnym, składającym się głównie z neutrofilów oraz z makrofagów. Wysoki udział neutrofilów w nacieku zapalnym

Polish Academy of Sciences, Zabrze, according to a method described previously [4].

The foils were obtained by solvent casting of 10% [w/v] copolymer solution in methylene chloride on glass Petri dishes, followed by air and vacuum drying.

The foams were produced through a solvent casting / particulate leaching technique, according to a method described elsewhere [5]. Briefly, sieved sodium citrate particles (POCH, Gliwice, Poland) of defined size ($500 \pm 100 \mu\text{m}$), were mixed with 10% (w/v) copolymer solution in methylene chloride, and followed by air and vacuum drying. Next, salt was leached in distilled water and the resulting samples dried in the oven under decreased pressure for at least 24h and stored in a desiccator prior to use.

The thickness of the foils and foams was $0.18 \text{ mm} \pm 0.014 \text{ mm}$ and $1.68 \text{ mm} \pm 0.11 \text{ mm}$, respectively. The porosity of the foams was $87 \pm 1.4\%$ and the pore size was $600 \pm 100 \mu\text{m}$, e.g. close to the size of porogen particles [5].

Before implantation, the foils and foams were sterilized using the plasma-hydrogen peroxide method (Sterrad 120, ASP, Johnson & Johnson).

Animals

Adult hooded rats used in the experiment were derived from the Animal Facility of the Jagiellonian University Pharmaceutical Faculty. Animals were maintained under standard conditions with free access to food and water.

Implantation

PGLA material in the form of foil or foam weighing 0.02 g was inserted into the glutei muscles of the rats. Each animal received two implants: the foil into the right muscle, and the foam into the left one. All procedures were conducted in sterile conditions and under anaesthesia.

Histological and histochemical analysis

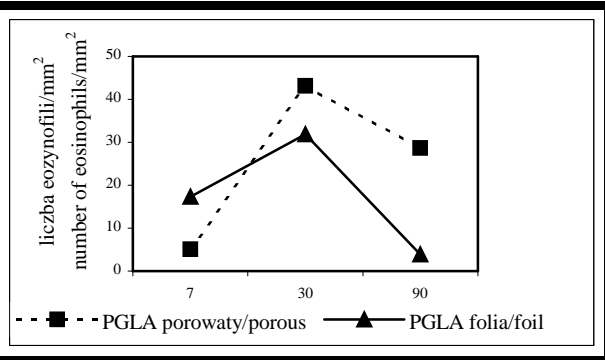
At 7, 30 and 90 days after implant surgery, animals were sacrificed and tissue blocks containing the biomaterial were excised. Samples were frozen in liquid nitrogen and cut into 6 mm thick slides in a cryostat microtome.

On the obtained slides histological reactions were carried out by May-Grünwald Giemsa (MGG) method to identify inflammatory cells [6], and histoenzymatic reactions to estimate the intensity of inflammation and the metabolic activity of muscle tissue surrounding implants. The activity of following enzymes was studied: acid phosphatase (FK) [7], non-specific esterase (EN) [8], and cytochrome c oxidase (OCC), NADH dehydrogenase (NADHDH), lactic dehydrogenase, and glucoso-6-phosphorase dehydrogenase (G6PDH) [9].

The relative numbers of inflammatory cells (macrophages, neutrophils, eosinophils, mast cells and multinucleated giant cells) as well as FK and EN activity were used as criteria of inflammation severity on a 5-point ordinal severity scale: no reaction (Grade 0), minimal (Grade 1), mild (Grade 2), moderate (Grade 3), strong (Grade 4), and very strong reaction (Grade 5). The same scale was used to estimate the enzymatic activity of the inflammatory cells and muscle fibres surrounding the implants.

Results and discussion

7-day series. Neither implant (foam or foil) exhibited signs of degradation. The PGLA foams were surrounded by inflammatory infiltration cells, consisting mainly of neutrophils and macrophages. The presence of numerous neutrophils in this inflammatory infiltration is characteristic of an acute prolonged acute inflammation [10]. In addition, early devel-



RYS. 1. rednia liczba eozynofili w tkankach otaczających implanty PGLA.
FIG. 1. The average number of eosinophils in tissues surrounding PGLA implants.

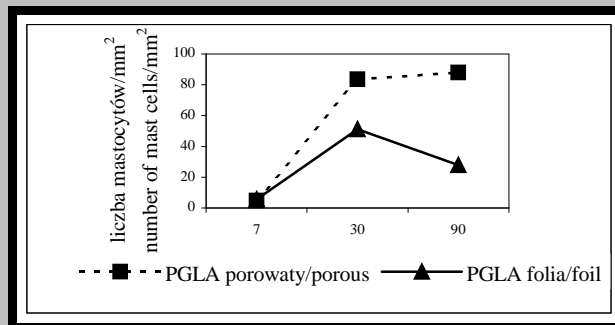
wiadczy o przedłu onej ostrej fazie zapalenia [10]. Obserwowano początkowe stadia tworzenia się komórek wielojądrowych. W tym samym czasie wokół wszczepionego PGLA folii powstawała już tkanka ziarninowa: wśród komórek nacieku zapalnego nie obserwowano już neutrofilów charakterystycznych dla wczesnego stadium odpowiedzi immunologicznej, oprócz makrofagów wokół implantu pojawiło się więcej fibroblastów.

W serii 30-dniowej tylko brzości materiału porowatego uległy fragmentacji, na powierzchni folii natomiast widoczne były liczne pęknięcia. Wzrosła liczba napływających mastocytów i eozynofili (RYS. 1, 2). Na powierzchni implantów pojawiły się komórki olbrzymie, szczególnie liczne w przypadku materiału porowatego.

W serii 90-dniowej nastąpiła degradacja PGLA folii. Sposób degradacji wskazuje jednak na autokatalityczny mechanizm degradacji [5, 11]. Jednocześnie nie stan zapalny wokół folii wygasł: obniżyła się liczba mastocytów, eozynofili i makrofagów, w stosunku do krótkich serii nie była aktywność enzymów hydrolitycznych FK i EN. Stan zapalny wokół PGLA gąbki natomiast był wciąż intensywny: licznie występowały komórki wielojądrowe, wiadczą o toczących się procesach degradacji i fagocytozy, ale również o przewlekłym stanie zapalnym [12], wysokie było nasilenie reakcji na aktywność enzymów FK i EN (RYS. 3).

W celu oceny wpływu implantów na kondycję metaboliczną otaczających tkanek, badano aktywność enzymów o szczególnym znaczeniu dla prawidłowego przebiegu procesów metabolicznych: dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej, dehydrogenazy NADH, dehydrogenazy mleczanowej oraz oksydazy cytochromu c (TAB. 1-4). Porównując aktywność badanych enzymów w włóknach mięśniowych lokalnych przy wszczepieniu i oddalonych od wszczepów stwierdzono, że włókna przy wszczepach mają aktywność zbliżoną lub wyższą od włókien oddalonych od implantów. Implantacja PGLA folii i PGLA gąbki nie tylko nie wpłynęła na stan włókien mięśniowych, ale spowodowała mobilizację procesów metabolicznych w komórkach otaczających wszczep.

Poziomo aktywność ci G6PDH w włóknach mięśniowych regenerujących przy obu rodzajach implantów w serii 7-dniowej była wyższa niż w włóknach dojrzałych. Wyższa aktywność tego enzymu związana jest z nasilonymi procesami syntezy składników komórkowych w procesach regeneracji. Również w seriach 30 i 90-dniowych, w peryferyjnych strefach ziarniny obserwowano regenerujące włókna mięśniowe o wysokiej aktywności badanych enzymów utleniających.



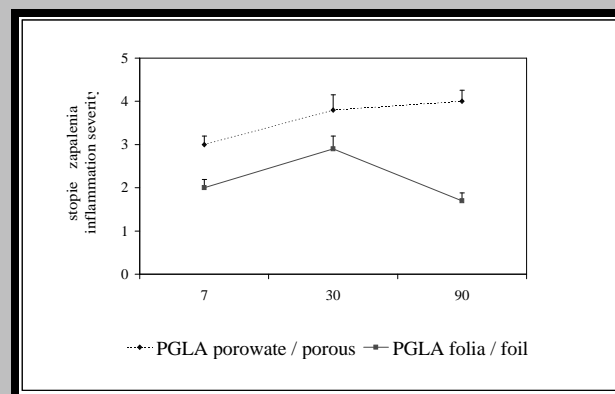
RYS. 2. rednia liczba mastocytów w tkankach otaczających implanty PGLA.
FIG. 2. The average number of mast cells in tissues surrounding PGLA implants.

W późniejszych etapach wielojądrowych komórek wielojądrowych nie obserwowano. W międzyczasie, granulacja wokół PGLA folii zaczęła formować się, kiedy komórki zapalne były już mniej liczne. Neutrofile charakterystyczne dla ostrego zapalenia nie były obserwowane, a dodatkowe fibroblasty pojawiły się blisko implantu.

W serii 30-dniowej. Wówczas tylko częściowa fragmentacja na powierzchni implantu porowatego miała miejsce, natomiast folia miała liczne pęknięcia. Wielojądrowe komórki ciała obcego pojawiły się na powierzchni obu implantów, ale były szczególnie liczne na powierzchni gąbki. Liczba infiltrujących eozynofili i mastocytów znacząco wzrosła (RYS. 1, 2).

W serii 90-dniowej. Degradacja folii nastąpiła w sposób wskazujący na autokatalityczny mechanizm [5, 11]. Zapalenie wokół folii zaczęło zanikać; liczba eozynofili, mastocytów i makrofagów zmniejszyła się w porównaniu z poprzednią serią; aktywność enzymów FK i EN w komórkach tkanki granulacji była znacznie niższa. Zapalenie wokół gąbki, mimo to, było nadal silne; liczne wielojądrowe komórki wykazywały fagocytozę i degradację, a także przewlekłe zapalenie [12]; aktywność FK i EN była wysoka (RYS. 3).

Aby ocenić wpływ implantów na stan metaboliczny otaczających tkanek, sprawdzono aktywność enzymów o znaczącej roli w procesach metabolicznych: dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej, dehydrogenazy NADH, dehydrogenazy mleczanowej oraz oksydazy cytochromu c (TAB. 1-4). Porównując aktywność badanych enzymów w włóknach mięśniowych lokalnych przy wszczepieniu i oddalonych od wszczepów stwierdzono, że włókna przy wszczepach mają aktywność zbliżoną lub wyższą od włókien oddalonych od implantów. Implantacja PGLA folii i PGLA gąbki nie tylko nie wpłynęła na stan włókien mięśniowych, ale spowodowała mobilizację procesów metabolicznych w komórkach otaczających wszczep.



RYS. 3. Nasilenie stanu zapalnego w tkankach otaczających implanty PGLA.
FIG. 3. Severity of the tissue inflammatory response to PGLA implants.

składowe tkanek tissue elements		PGLA g bka / foam						PGLA folia / foil					
		7 dni/days		30 dni/days		90 dni/days		7 dni/days		30 dni/days		90 dni/days	
		X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD
wł.m. dalekie* distant m.fibres	szerokie wide	2,38	0,32	1,25	0,20	2,06	0,12	2,63	0,12	1,75	0,20	2,0	0,20
	w skie narrow	2,88	0,32	2,25	0,29	2,88	0,14	3,19	0,24	2,06	0,43	2,94	0,24
wł.m. bliskie** close m.fibres	szerokie wide	2,63	0,52	1,56	0,43	2,56	0,43	2,69	0,24	2,19	0,55	2,63	0,32
	w skie narrow	3,25	0,20	2,69	0,43	3,56	0,24	2,69	0,24	2,0	0,88	3,38	0,32
wł. regeneruj ce regenerative m.fibres		3,75	0,20	2,38	0,85	3,63	0,32	3,5	0,12	3,13	0,32	3,13	0,32
Fibroblasty fibroblasts		-	-	3,38	0,32	3,88	0,48	3,5	0,20	3,63	0,32	2,75	0,20
ściana naczey vessels' wall		3,56	0,12	3,5	0,41	4,25	0,20	3,25	0,32	3,19	0,55	3,81	0,24
kom. olbrzymie giant cells		-	-	4,63	0,32	4,38	0,32	-	-	4,69	0,24	-	-
ziarnina ogółem granulation tissue in all		3,38	0,32	3,75	0,20	4,38	0,43	3,25	0,20	4,13	0,14	3,25	0,20

TABELA. 1. Aktywno enzymu G6PDH w tkankach wokół implantów PGLA.

TABLE 1. The activity of G6PDH in tissues surrounding PGLA implants.

x włókna mi niowe oddalone od wszczepu / muscle fibres distant from the implant
xx włókna mi niowe blisko wszczepu / muscle fibres close to the implant

składowe tkanek tissue elements		PGLA g bka / foam						PGLA folia / foil					
		7 dni/days		30 dni/days		90 dni/days		7 dni/days		30 dni/days		90 dni/days	
		X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD
wł.m. dalekie distant m.fibres	szerokie wide	2,44	0,31	3,19	0,55	3,25	0,20	2,63	0,14	3,50	0,20	3,13	0,14
	w skie narrow	3,00	0,46	3,44	0,55	3,63	0,14	3,25	0,20	3,75	0,20	3,50	0,20
wł.m. bliskie close m.fibres	szerokie wide	2,63	0,52	2,81	0,43	3,63	0,14	2,13	0,14	3,63	0,14	3,19	0,12
	w skie narrow	3,25	0,46	3,19	0,43	3,75	0	2,63	0,14	3,69	0,12	3,38	0,14
wł. regeneruj ce regenerative m.fibres		3,88	0,14	3,31	0,24	3,88	0,14	3,5	0,20	3,50	0,20	3,50	0,20
Fibroblasty fibroblasts		-	-	3,56	0,24	4,25	0,20	3,5	0,20	3,81	0,24	3,75	0,20
ściana naczey wall of vessels		3,63	0,14	2,88	0,32	3,50	0,20	3,25	0,32	3,31	0,55	3,19	0,24
kom. olbrzymie giant cells		-	-	3,88	0,32	4,31	0,24	-	-	3,75	0,25	3,63	0,18
ziarnina ogółem granulation tissue in all		3,25	0,29	3,56	0,24	3,99	0,20	3,25	0,14	3,63	0,3	3,50	0,20

TABELA. 2. Aktywno enzymu LDH w tkankach wokół implantów PGLA.

TABLE. 2. The activity of LDH in tissues surrounding PGLA implants.

Porównuj c nasilenie reakcji na aktywno enzymów G6PDH, NADHDH i OCC w ziarninie otaczaj cej wszczepu 90-dniowe folii i g bek stwierdzono, e było ono słabsze dla litych implantów. Wyniki te wskazuj , e okres intensywnej naprawy tkanek zako czył si szybciej w przypadku PGLA folii, natomiast wokół PGLA g bki trwał nadal, 90 dni po zabiegu. Osłabienie aktywno ci enzymatycznej ziarniny przy PGLA folii w serii 90-dniowej mo e by równe zwi zane z uwalnianiem kwa nych produktów rozkładu z folii degraduj cej intensywniej, ni PGLA o porowatej strukturze. Wydaj si to potwierdza obserwacje aktywno ci LDH. Jest to jedyny z badanych enzymów, który w 90-dniowej serii nie wykazał spadku aktywno ci w tkance naprawczej wokół folii w stosunku do serii 30-dniowej. Przyczyn mo e by uwalnianie kwasu mlekowego - produktu degradacji PGLA i zarazem substratu dla tego enzymu. Dane

observed that fibres neighbouring the implant had activity similar to or higher than the more distant ones.

In conclusion, the PGLA implants (foam and foil) did not seem to have any detrimental physiologic effect on the surrounding muscle fibres. Instead, they generated the mobilization of metabolic processes in those fibres. The level of G6PDH activity in regenerating muscle fibres in the 7-day series of both implants was higher than in already-differentiated fibres. Such high enzymatic activity indicates an increased level of cellular metabolic processes during regeneration. Similarly, in the 30- and 90-day series, a higher level of the oxidative enzymes activity was detected in the regenerating muscle fibres within granulation tissue.

Evaluation of the oxidative enzymes' activity levels (G6PDH, NADHDH, and OCC) in the granulation tissue surrounding implants in the 90-day series, showed a lower activity level

składowe tkanek tissue elements		PGLA g bka / foam						PGLA folia / foil					
		7 dni/days		30 dni/days		90 dni/days		7 dni/days		30 dni/days		90 dni/days	
		X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD
wł.m. dalekie distant m.fibres	szerokie wide	2,88	0,14	2,19	0,24	2,50	0,58	2,88	0,14	2,38	0,32	2,75	0,29
	w skie narrow	3,63	0,14	3,25	0,20	3,50	0,20	3,81	0,12	2,81	0,55	3,63	0,32
wł.m. bliskie close m.fibres	szerokie wide	2,88	0,14	2,06	0,32	2,63	0,32	3,00	0,20	2,5	0,20	3,00	0,29
	w skie narrow	3,50	0,29	3,25	0,29	3,50	0,20	3,38	0,32	2,88	0,32	3,88	0,14
wł. regeneruj ce regenerative m.fibres		3,50	0,14	3,63	0,14	3,56	0,43	3,5	0,14	3,13	0,32	3,31	0,24
Fibroblasty fibroblasts		-	-	4,00	0,20	3,88	0,14	3,75	0,32	4,31	0,20	3,56	0,31
ciana naczy wall of vessels		3,69	0,12	3,88	0,14	4,25	0,20	3,5	0,14	4,31	0,24	4,13	0,14
kom. olbrzymie giant cells		-	-	4,69	0,12	4,63	0,14	-	-	4,43	0,14	4,00	0,20
ziarnina ogółem granulation tissue in all		3,00	0,41	4,25	0,20	4,38	0,14	3,5	0,32	4,56	0,31	3,50	0,20

TABELA 3. Aktywność enzymu NADHDH w tkankach wokół implantów PGLA.
TABLE 3. The activity of NADHDH in tissues surrounding PGLA implants.

składowe tkanek tissue elements		PGLA g bka / foam						PGLA folia / foil					
		7 dni/days		30 dni/days		90 dni/days		7 dni/days		30 dni/days		90 dni/days	
		X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD	X	SD
wł.m. dalekie distant m.fibres	szerokie wide	3,38	0,32	2,88	0,32	3,31	0,55	3,50	0,40	3,00	0,20	3,31	0,24
	w skie narrow	4,13	0,14	3,56	0,12	3,81	0,55	4,19	0,23	3,75	0,20	3,94	0,24
wł.m. bliskie	szerokie wide	3,25	0,20	2,94	0,42	3,25	0,29	3,63	0,14	3,38	0,32	3,56	0,43
	w skie narrow	3,63	0,14	3,75	0,20	3,94	0,43	4,00	0,20	3,75	0,20	3,94	0,43
wł. regeneruj ce regenerative m.fibres		4,31	0,23	3,63	0,14	4,00	0,20	4,0	0,32	3,63	0,14	4,00	0,20
Fibroblasty fibroblasts		-	-	3,38	0,14	2,50	0,20	3,5	0,54	3,88	0,32	3,06	0,24
ciana naczy wall of vessels		3,25	0,20	2,13	0,32	2,81	0,75	2,0	0,54	2,50	0,35	2,75	0,35
kom. olbrzymie giant cells		-	-	4,38	0,14	4,56	0,31	-	-	4,75	0,23	4,25	0,25
ziarnina ogółem granulation tissue in all		3,75	0,20	3,69	0,23	3,88	0,14	4,0	0,20	3,88	0,32	3,25	0,20

TABELA 4. Aktywność enzymu OCC w tkankach wokół implantów PGLA.
TABLE 4. The activity of OCC in tissues surrounding PGLA implants.

literaturowe wskazują na mo liwo wpływ produktów rozpadu PGLA na odpow ied tkankow [13, 14]. W przedstawionym do wiadzczeniu na silniejsze dzialanie enzymatyczne nara one byly g bki, indukuj ce stan zapalny z wi kszym naplywem fagocytow i powstawaniem licznych wieloj drowych komorek olbrzymich. Nie spowodowalo to jednak znacznego przyspieszenia degradacji porowatych struktur polimerowych. Prawdopodobnie hydrofobowy charakter polimeru utrudnia zarowno powierzchniowo hydroliz , jak i dzialanie enzymow, ktore maj hydrofilowe wla ciwo ci [15].

Podzi kowania

Autorki dzi kuj Panu Dr P. Dobrzy skiemu i Panu Doc. M. Bero (Centrum Chemii Polimerow, Zabrze) za dostarczenie probek kopolimerow.

around the foils. These results indicate that the period of intensive tissue regeneration ended faster near the foil implants, whereas around the foam implants such regeneration was still occurring 90 days into the experiment. This attenuation in enzymatic activities around the foil can likely be attributed to the release of acidic products by the more rapidly degrading foil compared to the more slowly degrading, porous PGLA.

The above findings were confirmed by measuring the activity of lactate dehydrogenase as well. LDH was the only enzyme in the 90-day series with an activity which did not decrease in the regenerating tissue around the implant compared to the 30-day series. The reason for this may be the release of lactic acid, which is both a PGLA degradation product as well as the substrate for LDH. Some reports in the literature suggest that PGLA degradation products do affect the tissue response [13, 14].

In our experiments the foam material was more susceptible

Praca była finansowana z projektu badawczego KBN 'Nowe materiały i technologie dla inżynierii biomedycznej' (PBZ-KBN-082/T08/2002).

to elevated enzymatic activity, leading to stronger inflammatory responses with macrophage in-flow and the appearance of numerous giant cells. This response, however, did not accelerate the degradation rate of the porous polymeric structures. Probably the hydrophobic nature of these polymers hinders both surface hydrolysis as well as the activities of enzymes with hydrophilic mechanisms of catalysis [15].

Pi miennictwo

- [1] Pamuła E., Błażewicz M., Buczyńska J., Czajkowska B., Dobrzyński P., Bero M., "Bioresorbowalne podłoża dla inżynierii tkankowej z kopolimeru glikolidu z L-laktydem: wpływ mikrostruktury na osteoblasty in vitro", Inżynieria Biomateriałów 30 (2003): 95-99.
- [2] Ooms E.M., Egglezos E.A., Wolke J.G.C., Jansen J.A., "Soft-tissue response to injectable calcium phosphate cements", Biomaterials 24 (2003): 749-757.
- [3] Chesmel K.D., Black J., "Cellular responses to chemical and morphologic aspects of biomaterial surfaces. I. A novel in vitro model system", J Biomed Mater Res 29 (1995): 1089-1099.
- [4] Dobrzyński P., Kasperczyk J., Janeczek H., Bero M., "Synthesis of biodegradable copolymers with the use of low toxic zirconium compounds. 1. Copolymerisation of glycolide with L-lactide initiated by $Zr(acac)_4$ ", Macromolecules 34 (2001), 5090-5098.
- [5] Pamuła E., Buczyńska J., Menaszek E., Dobrzyński P., "How microstructural factors influence in vitro and in vivo degradation of poly(glycolide-co-L-lactide)", Engineering of Biomaterials (2004), in print
- [6] Zawistowski S., "Technika histologiczna, histologia i podstawy histopatologii", PZWL (1986), str. 145.
- [7] Goldberg A.F., Barka T., "Acid phosphatase activity in human blood cells", Nature 195 (1962): 297.

Acknowledgements

The authors thank Dr P. Dobrzyński and Doc M. Bero (Centre of Polymer Chemistry, Polish Academy of Sciences, Zabrze) for providing the copolymer samples.

The research program of the Polish Committee for Scientific Research "New materials and technologies for biomedical engineering" supported this study (project PBZ-KBN-082/T08/2002).

References

- [8] Kiernan J.A., "Histological and histochemical methods. Theory and practice", Pergamon Press, (1992).
- [9] Pearse E.A.G. "Histochemistry Theoretical and Applied", Churchill Livingstone Longman Group, London (1991).
- [10]. Jakóbsiak M. red., "Immunologia". Wydawnictwo Naukowe PWN Warszawa, (2000).
- [11] Anderson J.M., Shive M.S., "Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres", Advanced Drug Delivery Reviews 28: (1997): 5-24.
- [12] Kao W.J., Lee D., "In vivo modulation of host response and macrophage behavior by polymer networks grafted with fibronectin-derived biomimetic oligopeptides: the role of RGD and PHSRN domains", Biomaterials 22 (2001): 2901-2909.
- [13] Middleton J.C., Tipton A.J., "Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices", Biomaterials 21 (2001): 2335-2346.
- [14] Yang S., Leong K.-F., Du Z., Chua C.-K., "The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part I. Traditional Factors", Tissue Engineering 7 (2001): 679 - 689.
- [15] Cai Q., Guixin S., Jianzhong B., Wang S., "Enzymatic degradation behavior and mechanism of Poly(lactide-co-glycolide) foams by trypsin", Biomaterials 24 (2003): 629-638.

ZASTOSOWANIE IMPLANTÓW W OKULISTYCE

RAFAŁ LESZCZYŃSKI, BOENA KAMIŃSKA-OLECHNOWICZ, MARIA FORMIŃSKA-KAPUŃCIK

KATEDRA I KLINIKA OKULISTYKI
KULSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH

Streszczenie

Celem pracy jest przedstawienie osiągnięć i rodzajów sił wyzwań, jakie stawia przed inżynierią materiałów okulistyka.

W wielu schorzeniach narządu wzroku lekarze okuliści ci zmuszeni są wszczepiać implanty, których celem jest przywrócenie kształtu, wyglądu, a przede wszystkim funkcji narządu wzroku. Wszczepy z metali szlachetnych, szkła i porcelany zastępowane są

IMPLANTS IN OPHTHALMOLOGY

RAFAŁ LESZCZYŃSKI, BOENA KAMIŃSKA-OLECHNOWICZ, MARIA FORMIŃSKA-KAPUŃCIK, RADOŚLAW DYSZAK

DEPARTMENT OF OPHTHALMOLOGY
SILESIA UNIVERSITY OF MEDICINE, KATOWICE, POLAND

Abstract

The aim of the study is to present achievements of ophthalmology and how it challenges material engineering.

In various diseases of an organ of vision ophthalmologists have to insert grafts whose aim is to restore shape, appearance and, first of all, function of an organ of sight. Grafts made of biomaterials are substituted for those made of precious metals, glass and porcelain. Present development of material engineering allows to design such physical features

przez implanty wykonane z biomateriałów. Obecny rozwój inżynierii materiałowej pozwala na zaprojektowanie cech fizycznych takich jak przezroczystość i sprężystość.

W dalszym ciągu nie możemy przewidzieć odległych skutków implantacji i reakcji tkanek oka na obecność ciała obcego, którym jest wszczep.

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 217-220]

Wprowadzenie

W ciągu ostatnich trzech wieków wielu okulistów na wiecie zastanawiało się nad możliwością odzyskania widzenia przy pomocy materiałów alloplastycznych, u pacjentów z nieprzeziernymi ośrodkami optycznymi. Ze względu na stały wzrost urazów oczu, ciężeń, wad wrodzonych, schorzeń zwyrodnieniowych, alergicznych i biochemicznych coraz więcej pacjentów wymaga operacji zaćmy, bielma rogówki, jaskry odwarstwienia siatkówki. Zmuszeni więc jesteśmy do poszukiwania nowych materiałów, narzędzi i technik chirurgicznych.

Zastosowane materiały powinny nie tylko przywracać kształt zastąpionych narządów oka, ale również powinny spełniać ich funkcje. Podstawową funkcją rogówki soczewki ciała szklonego jest utrzymanie przezroczystości i stałej siły refrakcji.

Zastosowane implanty muszą nie tylko zachowywać przezroczystość, ale również muszą być biokompatybilne, biogodnie i odporne na promienie UV. Ponieważ powszechnie w przypadku błon wtórnych wykorzystujemy lasery Nd:YAG, stosowane materiały powinny być odporne na ekspozycje laserowe.

Rozwój inżynierii materiałowej pozwala na zastąpienie implantów ze szkła i metali szlachetnych materiałami z kompozytów węgla i polimerów.

W dalszym ciągu nie potrafimy dokładnie przewidzieć tempa biodegradacji materiału i zachowania funkcji implantu w długim okresie obserwacji.

Narządy oka i implanty

Rogówka

Jest gładkim przezroczystym narządem oka stanowi przedni odcinek błony włóknistej gałki ocznej. W wielu schorzeniach gałki ocznej dochodzi do powstania tzw. beznacieńczego bielma [1, 2].

Pomysł zastąpienia nieprzezierną rogówką przezroczystą protezą pochodzi z końca XVII-go wieku, kiedy to w 1771 roku francuski okulista Peller de Quenqsy zaproponował włożenie płytki szklanej. Według Diffenbacha pomysł zastąpienia zmętniałą rogówką przezroczystą protezą był jednym z najmiększych idei, które kiedykolwiek przychodziły do głowy człowiekowi. Do chwili obecnej przebadano wiele modeli keratoprotez.

Wielkość modeli składała się z części haptycznej odpowiedzialnej za właściwe położenie implantu i umocowanie części optycznej. Część optyczna zbudowana z materiału przeziernego umożliwia przenikanie promieni światła. Materiały stosowane do budowy keratoprotezy można podzielić na alloplastyczne i homoplastyczne.

Części optyczne mogą być zbudowane z: szkła, PMMA, hydroelu, silikonu, części haptyczne z tytanu, teflonu, protoplastu, dakronu. Bardzo dobrze tolerowane keratoprotezy, których części haptyczna zbudowana jest z kości lub z białka pacjenta.

Niezależnie od stosowanego materiału po 5 latach od operacji w około 30% przypadków dochodzi do odrzucenia ke-

as transparency or resilience.

Still we cannot foresee distant result of implantation and the reaction of eye tissues to the presence of foreign body - an implant

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 217-220]

Introduction

Further development of ophthalmologists in the world have been thinking about the possibility of recovering sight by patients with opaque optic centres by means of alloplastic materials. Due to constant increase of eye injuries, serious burns, congenital anomalies, degenerative, allergic and biochemical diseases more and more patients require cataract, leucoma, glaucoma or retinal detachment operations. Thus we are forced to seek for new materials, tools and surgical techniques.

The applied materials should not only recover the shape of substituted eye organs but also their function.

The main function of cornea, lens and vitreous body is to keep transparency and constant force of refraction. The applied implants must not only retain transparency but also be biocompatible and resistant to UV radiation. Since in case of secondary membranes Nd:YAG lasers are used the applied materials should be unaffected by laser exposure.

Development of material engineering allows to substitute implants made of carbon-carbon composite materials and polymers for those made of glass and precious metals. Still we cannot exactly foresee the rate of material biodegradation and retaining of the implant function during long-distance observation.

Organs of an eye and implants

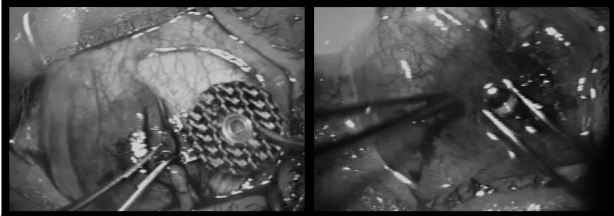
Cornea

is a smooth, transparent organ of an eye which constitutes the front section of an eyeball fibrous membrane. In many eyeball diseases so called hopeless leucoma appears [1, 2]. The idea of replacing an opaque cornea with a transparent prosthesis comes from the end of XVIII century when in 1771 French ophthalmologist Peller de Quenqsy suggested putting a glass plate. According to Diffenbach the idea of replacing a turbid cornea with a transparent prosthesis was one of the bravest ideas which have ever come to human mind. A lot of keratoprosthesis models have been examined so far. Most of the models consisted of a haptic part which was responsible for the correct position of the implant and securing the optic part. The optic part was built of a transparent material which allowed the light to come through. The materials used for building keratoprosthesis can be divided into alloplastic and homoplastics.

Optic parts may be made of glass, PMMA, hydrogel, silicone and haptic parts of titanium, teflon, protoplast and dacron. Keratoprostheses whose haptic parts are made of the patient's bone or tooth are very well tolerated.

Irrespective of the used material in 30% of the cases the keratoprosthesis is rejected 5 years after the operation. The main and last reason is aseptic necrosis. It was due to metabolic disorders caused by the keratoprosthesis in the leucoma. In order to avoid this complication the attempts were made to use carbon-carbon fibre material to build the haptic part (FIG. 1).

The material underwent slow biodegradation and biocolonization which enabled to limit frequency of aseptic necrosis. After a year of observation, however, it turned out that the haptic part built in such a way becomes unable to



RYS. 1. Prototyp keratoprotezy z kompozytu w gło-w-głowego.
FIG. 1. Prototype of keratoprosthesis made of carbon-carbon composite material.

ratoprotezy. Głównym i ostatecznym powodem jest martwica aseptyczna. Spowodowana została zaburzeniami metabolicznymi wywołanymi przez keratoprotez w białmie. Aby uniknąć tego powikłania podjęto próby wykorzystania materiału z włókna w gło-w-głowego do budowy części haptycznej (RYS. 1).

Materiał ten ulegał powolnej biodegradacji i biokolonizacji dzięki czemu udało się ograniczyć wzrost martwicy aseptycznej. Okazało się jednak, że tak skonstruowana część haptyczna po roku obserwacji traci zdolność do podtrzymywania cylindra optycznego [1]. Pojawiła się konieczność wypracowania nowego połączenia części nośnej i optycznej, które sprostało by procesom ścisłotkankowym, ciśnieniu hydrostatycznemu płynu komorowego i siłom mechanicznym.

Soczewki

Najczęściej wykonywaną operacją okulistyczną na świecie jest operacja zaćmy. Według różnych analiz w chwili obecnej żyje około 30 milionów ludzi z obustronną odwracalną ślepotą w wyniku zaćmy. Szacuje się, że liczba osób z powodu zaćmy rośnie co roku o milion, w związku z wydłużeniem życia.

Usunięcie zmętniałej soczewki powoduje konieczność wprowadzenia implantu o odpowiedniej mocy, która uzupełniła by spowodowaną lukę w refrakcji.

Początkowo były to wszczepy przedniokomorowe. Z uwagi na dużą liczbę powikłań zastąpiono je wszczepami tylnokomorowymi, a obecnie podstawową metodą staje się fakoemulsyfikacja z implantem wszczepianym do torebki soczewki [3].

Twarde implanty wykonane z PMMA zastąpiono miękkimi związalnymi implantami silikonowymi i akrylowymi. Ich właściwości pozwalają na wprowadzenie implantu do komory przedniej przez cięcie 3,5 mm i mniejsze.

Trwają prace kliniczne nad soczewkami posiadającymi właściwości szkła progresywnych i akomodacyjnych.

Tęczówka

Tęczówka odgrywa w oku tę samą rolę, jak w aparacie fotograficznym odgrywa przysłona.

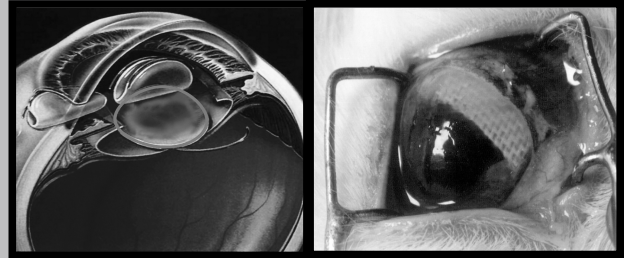
Jej ubytki są najczęściej spowodowane zmianami wrodzonymi, urazami lub schorzeniami zapalnymi.

Najczęściej dla uzupełnienia jej braku stosuje się kolorowe szkła kontaktowe, lub wszczepy z warstwą posiadającą właściwości przesłony. Trwają prace kliniczne nad zastosowaniem materiału dakron do wytworzenia tęczówki.

Wyzwaniem dla okulistów i inżynierów będzie zbudowanie tęczówki posiadającej zdolność reakcji na światło?

Ciało szkliste

W chwili obecnej brak jest substytutu, który na trwałe mógłby zastąpić ciało szkliste.



RYS. 2. Implantacja soczewki związalnej.
FIG. 2. implantation of a foldable lens.

RYS.. 3. Oko królika z wszczepionym materiałem.
FIG. 3. An eye of a rabbit with inserted material.

support the optic cylinder [1]. It became necessary to work out a new connection between the supporting and optic parts which would resist connective tissue processes, hydrostatic pressure of chamber liquid and mechanical forces.

Lenses

The most often performed ophthalmological operation in the world is cataract operation. According to various analyses there are nowadays about 30 million people with reversible blindness caused by cataract. It is estimated that the number of people suffering from cataract rises by a million every year due to lengthening of lifetime.

Removal of a turbid lens requires inserting an implant powerful enough to complete the gap in refraction. At first these were anterior chamber grafts. Due to a great number of complications they were replaced with posterior chamber grafts and now phacoemulsification with an implant inserted into lenticular capsule becomes the main method [3].

Hard implants made of PMMA were replaced with soft, foldable, silicone and acrylic implants. Their properties enable to insert an implant to the anterior chamber through a cut 3,5 mm wide or less.

Clinical studies are out over lenses which have properties of progressive and accommodative glass.

Iris

An iris plays the same role in an eye as a diaphragm in a camera. Its defects are usually caused by congenital changes, injuries or inflammatory diseases. Colour contact lenses or implants with a film of diaphragm properties are usually used to complete its defects. Clinical studies of using dacron to build an iris are carried out.

It will be a challenge for ophthalmologists and engineers to build an iris able to react to light.

Vitreous body

At present there is no substitute which could permanently replace vitreous body.

Widely used silicone oil must be removed from an eye after some time, which puts the patient at risk of additional operation and is usually the beginning of a renewed retinal detachment and the gases used (SF₆, C₃F₈) are absorbed and their working as endotamponade recedes.

Glaucoma

One of the most dangerous eye diseases which causes so-called irreversible blindness is glaucoma. It is estimated that over 40 million people in the world suffer from it and 6 million of them are irreversibly blind.

Trabeculectomy, which until recent was a method of choice

Stosowany powszechnie olej silikonowy musi być po pewnym czasie usunięty z oka, co naraża pacjenta na ryzyko dodatkowego zabiegu i często jest powodem ponownego odwarstwienia siatkówki, a stosowane gazy SF₆ i C₃F₈ ulegają wchłonięciu i po tym okresie ich działanie jako endotamponady ustępuje.

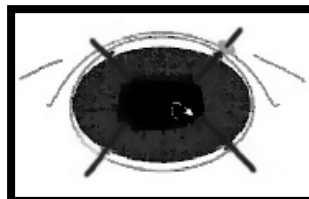
Jaskra

Jednym z najgroźniejszych schorzeń oczu powodujących tzw. nieodwracalny ślepotę jest jaskra. Szacuje się, że choruje na nią około 40 milionów ludzi na świecie, z czego 6 milionów ma nieodwracalny oboczny ślepotę. Trabekulektomia, która do niedawna była metodą z wyboru w leczeniu wielu postaci jaskry coraz częściej zastępowana jest przez zabiegi nieperforujące. Podczas wykonywania tych zabiegów lekarze okuliści stosują implanty rództwardówkowe. Dotychczas stosowane implanty z materiałów organicznych takich jak kolagen zwierzęcy czy Sk-gel (hialuronian sodu) zastępowane są przez implanty z polimerów [4].

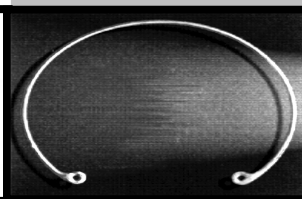
W przypadku niepowodzenia zabiegów niepenetrujących z implantami stosuje się zabiegi setonowe [5].

Setony, czyli sztuczne przetoki filtrujące wykonywane są z polipropylenu i silikonu istnieje ogromne zapotrzebowanie na setony, które wykonywane byłyby w Polsce.

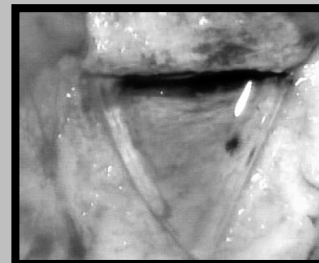
Oprócz implantów na stałe wprowadzanych do organizmu stosujemy implanty wprowadzane na pewien okres. Przykładem mogą być retraktory tęczówki (RYS. 5), które umożliwiają bezpieczne wykonanie zabiegu w przypadku współistnienia zrostów tylnych lub pierścienie wprowadzane do torebki soczewki podczas zabiegu usunięcia podwójnej soczewki (RYS. 6).



RYS. 5. Retraktory tęczówki.
FIG. 5. Iris retractors.



RYS. 6. Pierścień.
FIG. 6. Ring.



RYS. 4. Sklerektomia głęboka z implantacją rództwardówkow Sk-gelu.

FIG. 4. Deep sclerectomy with Sk-gel intrascleral implantation.

In treating many forms of glaucoma, is more and more often replaced with non-penetrating procedures. While performing these procedures ophthalmologists use intrascleral implants. Implants from organic materials such as animal collagen or Sk-gel (sodium hyaluronate) used so far are replaced with implants made of polymers [4].

When non-penetrating procedures with implants fail seton procedures are performed [5]. Setons which are artificial filtering fistulas are made of polypropylene and silicone.

There is a great demand for setons which would be produced in Poland.

Apart from implants which are inserted into the organism, permanently we use implants which are inserted for a certain period of time. For instance iris retractors (FIG. 5) which enable to perform an operation safely in case of co-existence of posterior synechiae or rings inserted to the lenticular capsule during removal of a subluxated lens (FIG. 6).

Wnioski

Dalszy rozwój okulistyki wymaga ścisłej współpracy pomiędzy lekarzami i inżynierami w celu opracowania nowych implantów mogących sprostać potrzebom naszych pacjentów.

Conclusions

Further development of ophthalmology requires close cooperation of doctors and engineers in order to process new implants which would be able to meet our patients' needs.

Piśmiennictwo

- [1] Kamińska B., Leszczyński R., Błażewicz S. Badania do wiadczalne i kliniczne nad możliwość zastosowania keratoprotezy o czynnikiem z kompozytu w głowce w głowce. Karbo3.101-103,1997
- [2] Kanski J., J. Okulistyka kliniczna. Wydanie I polskie pod redakcją Z. Zagórskiego Urban & Partner. Wrocław 1997.129-423.
- [3] Kałuski J., Seredyka-Burduk M., Kałuski J.J., Stan obecny i perspektywy rozwoju chirurgii za my. Okulistyka początku XXI

References

- [1] Kamińska B., Leszczyński R., Błażewicz S. Badania do wiadczalne i kliniczne nad możliwość zastosowania keratoprotezy o czynnikiem z kompozytu w głowce w głowce. Karbo3.101-103,1997
- [2] Kanski J., J. Okulistyka kliniczna. Wydanie I polskie pod redakcją Z. Zagórskiego Urban & Partner. Wrocław 1997.129-423.
- [3] Kałuski J., Seredyka-Burduk M., Kałuski J.J., Stan obecny i perspektywy rozwoju chirurgii za my. Okulistyka początku XXI
- [4] Schnyder C.C., Ravinent E., Implants in non-penetrating filtering surgery. Non penetrating glaucoma surgery, edited by Andre Mermoud & Tarek Shaarawy. 177-183.2001
- [5] Kałuski J.J., Mc Allister J.A., Salmon J.F., Jaskra .Wydanie I polskie pod redakcją M. Hanny Nińkowskiej, Urban & Prtner, Wrocław 1998, 160-168.

CHARAKTERYSTYKA WARSTW PASYWNYCH WYTWORZONYCH NA IMPLANTACYJNYM STOPIE TYTANU

JAN MARCINIAK, WOJCIECH CHRZANOWSKI, GINTER NAWRAT

POLITECHNIKA ŁÓDZKA, CENTRUM INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ,
44-100 GŁIWICE, UL. AKADEMICKA 2A

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 221-223]

Wstęp

Stop Ti6Al4V już w latach 80-tych traktowany był jako tworzywo modelowe wykorzystywane w alloplastyce stawowej [1-3]. Analizy biomechaniczne wykazują, że optymalne właściwości mechaniczne implantu są związane ze strukturą chemiczną i fazową biomateriału metalicznego. Obecnie prowadzone są próby modyfikacji modelowego stopu Ti6Al4V. Zastrzeżenia w odniesieniu do stopu Ti6Al4V dotyczą składu chemicznego, a głównie udziału aluminium i wanadu. Obserwacje kliniczne dotyczące biotolerancji endoprotez z tego stopu wykazały, że wanad wywołuje reakcje cytologiczne i w konsekwencji zaburzenia neurogenne, a aluminium z kolei wpływa na rozmiękanie kości, uszkadza komórki nerwowe, może wywoływać schorzenia mózgu i naczyń krwionośnych [2, 3]. Na tle omawianych trudnościi podejmowane są próby modyfikowania składu chemicznego i fazowego stopów na podstawie tytanu. Rozwiązanie takie jest jednak z reguły bardzo kosztowne. Alternatywą jest wytworzenie powłok ochronnych zapobiegających rozwojowi procesów korozyjnych, które mogą także polepszyć właściwości trybologiczne. Do najczęściej stosowanych metod modyfikacji powierzchni stopów tytanu należą zaliczyć: pasywację, wytwarzanie powłok w głównych (mimo innymi o strukturze DLC - Diamond Like Coating, fullereny, nanorurki, etc), SiC, TiC, wielowarstwowe (Ti-w giel, SiC-w giel), HAP - Hydroksyapatyt. Powłoki powinny być elastyczne aby w trakcie pracy implantu oraz ewentualnego modelowania nie ulegały pęknięciu. Na tym tle w Zakładzie Inżynierii Biomedycznej podjęto próbę wytworzenia warstw pasywnych na stopie Ti6Al4V ELI zapewniających dobrą odporność na korozję oraz podatność do odkształceń plastycznych.

Metodyka

Materiał do badań stanowiły próbki wykonane ze stopu Ti6Al4V ELI [4]. Próbki poddano następującym obróbkom powierzchniowym: szlifowaniu, polerowaniu elektrochemicznemu, utlenianiu anodowemu (pasywacji elektrochemicznej). Polerowanie oraz pasywację elektrochemiczną przeprowadzono w nowo opracowanych kąpielach. Odporność korozyjną oceniono metodą potencjodynamiczną w roztworze fizjologicznym Tyrode'a o temperaturze $36,6 \pm 1^\circ\text{C}$ i pH z przedziału 6,9-7,5. Uzupełniono przeprowadzono badania odporności na korozję szczelinową wg zaleceń normy ASTM [5]. Badania struktury elektronowej i składu chemicznego warstwy powierzchniowej przeprowadzono metodą spektroskopii fotoelektronów wzbudzonych promienio-

CHARACTERISATION OF PASSIVE LAYERS ON THE TITANIUM ALLOY USED FOR MEDICINE

221

JAN MARCINIAK, WOJCIECH CHRZANOWSKI, GINTER NAWRAT

POLITECHNIKA ŁÓDZKA, CENTRUM INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ,
44-100 GŁIWICE, UL. AKADEMICKA 2A

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 221-223]

Introduction

Titanium alloy Ti6Al4V has been used as a main material to produce implants since '80 [1-3]. Biomechanical analyses show that optimal mechanical properties are correlated with chemical and phase structure of metallic biomaterial. Nowadays a lot of studies is dedicated to modification of the Ti6Al4V alloy. Main problem connected with Ti6Al4V concerns a containing of aluminium and vanadium. The clinical observations concerning biotolerance of endoprosthesis made from this alloy showed that vanadium causes a cytotoxic reaction and as a consequence neurological problems. An aluminium generates osteomalacia, damage nerve cells and can cause brain and blood diseases. Because of this, trials of chemical and phase composition modification are led by many institutions. This solution seems to be expensive. Creation of the protective layers can be an alternative solution. The layers prevent from corrosion and improve tribological properties. Passivation, carbon coatings, DLC, SiC, TiC, multilayers (Ti-w giel, SiC-w giel), HAP are main methods employed for medical and technical purposes. The layers should be flexible not to break after or during implantation. In Biomedical Engineering Centre an attempt was made to generate the passive layers on the Ti6Al4V ELI alloys that ensure good corrosion resistance and flexibility.

Materials and methods

Ti6Al4V ELI was used in the research. Chemical composition and mechanical properties met the ASTM standard [5]. Surface preparation involved: grinding, electrochemical polishing, anodic oxidation. The polishing and oxidation carried out in the new chemical bath. The corrosion resistance of the layers was evaluated by potentiodynamic method in the Tyrode's solution ($36,6 \pm 1^\circ\text{C}$ and $\text{pH}=6,9-7,5$). Additionally crevice corrosion tests of the specimens were carried out according to ASTM standard [4]. In the X-ray Photoelectron Spectroscopy the electron and chemical structures were evaluated.

Results

Ti6Al4V ELI alloy with grinded surface had the corrosion potential in the range of $E_{\text{cor}} = +50 \div +59$ mV, the breakdown potential was in the range of $E_B = +1540 \div +1980$ mV. Electrochemical polishing caused 75 mV increase of the corrosion potential E_{cor} and 500 mV increase of breakdown potential E_B . For the polished and passivated electrochemically specimens the corrosion potential increased to $E_{\text{cor}} = +342 \div +402$ mV. The increase of anodic current den-

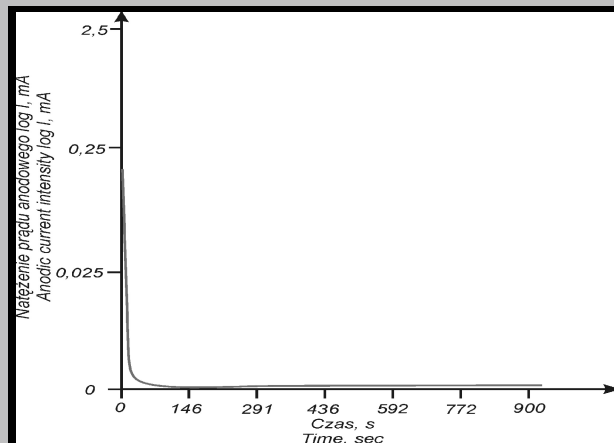
Wyniki bada

W wyniku przeprowadzonych bada odporno ci na korozj w erow stwierdzono, e warto ci potencjału korozyjnego stopu Ti6Al4V ELI o powierzchni szlifowanej mieciły si w przedziale $E_{kor}=+50\div+59$ mV, natomiast potencjały przebicia w przedziale $E_p=+1540\div+1980$ mV. Zastosowanie polerowania spowodowało wzrost potencjału korozyjnego o około 75 mV i potencjału przebicia o około 500 mV. Wytworzenie warstwy pasywnej wg opracowanej w pracy technologii spowodowało dalszy wzrost potencjału korozyjnego do warto ci z zakresu $E_{kor}=+342\div+402$ mV. Dla próbek z wytworzonych warstw pasywnych nie obserwowano znacznego wzrostu g sto ci pr du anodowego w całym badanym zakresie (do 5 V), co wiadczy o dobrych własnościach ochronnych wytworzonej warstwy.

Wykonane badania odporno ci stopu tytanu na korozje szczelinow wykazały, e próbki

z tego stopu zarówno szlifowane, jak i polerowane i pasywowane, s odporne na korozj szczelinow - RYS.1.

Wykonane pomiary widm przegli dowych metod XPS dla



RYS. 1. Przebieg zmian pr du anodowego w funkcji czasu dla próbek o powierzchni polerowanej i pasywowanej ze stopu Ti6Al4V ELI przy warto ci potencjału 800 mV.

FIG. 1. The graph of the anodic current in time for polished and oxidized Ti6Al4V ELI specimens for potential 800 mV.

Pierwiastek chemiczny Element	O	Ti	Al	V	F	N	C	Cr	S	Na	Ca	K
St enie atomowe Atomic concentration [%]	41,29	9,29	2,08	0,33	1,68	2,03	37,17	2,15	0,48	1,30	0,56	1,01
Zwi zek chemiczny Chemical compounds	TiO ₂ + zanieczy- szczenia contamination	TiO ₂	Al ₂ O ₃	V ₂ O ₅	Ca ₂ F	-	zanieczyszczenia contamination	Cl ³⁺	siarczany sulfates	-	Ca ₂ F	-

TABELA 1. Skład chemiczny warstw pasywnych wytworzonych na stopie tytanu wyznaczony na podstawie bada XPS.

TABLE 1. Chemical composition of oxide layers produced on the titanium alloy on the base of the XPS examinations.

próbek o powierzchniach polerowanych i pasywowanych ujawniły wyst powanie nast puj cych pierwiastków: Al, C, Ca, F, Cr, Fe, N, Na, O, P, S, Si, Ti oraz V - rys. 2. Wykonanie widm szczegółowych pozwoliło na identyfikację zwi zków chemicznych z udziałem poszczególnych pierwiastków oraz ich ilo ciowych udziałów w warstwie - TABELA 1. Tytan wyst pował głównie w postaci tlenku TiO₂. Dla wszystkich próbek, w odniesieniu do rdzenia, obserwowano obnienie st enia wanadu i aluminium w warstwie pasywnej b d cych w formie tlenków (Al₂O₃, V₂O₅). Na powierzchni zaobserwowano pewne ilo ci chromu oraz fluoru, które s pozostało ciami z procesów elektrochemicznych. Trójwarstwowy chrom zwi zany był w postaci tlenku, natomiast fluor wyst pował jako fluorek.

Omówienie wyników

Na podstawie przeprowadzonych w pracy bada stwierdzono pełn zależność pomiędzy wynikami poszczególnych analiz. Wytworzenie warstwy pasywnej wpływało na poprawę odporno ci korozyjnej, jak również na zmniejszenie aktywności chemicznej. Największą odporno ci korozyjną charakteryzowały si próbki ze stopu tytanu, które w składzie chemicznym warstwy pasywnej zawierały głównie tlenek tytanu TiO₂. W warstwach tych obserwowano ponadto

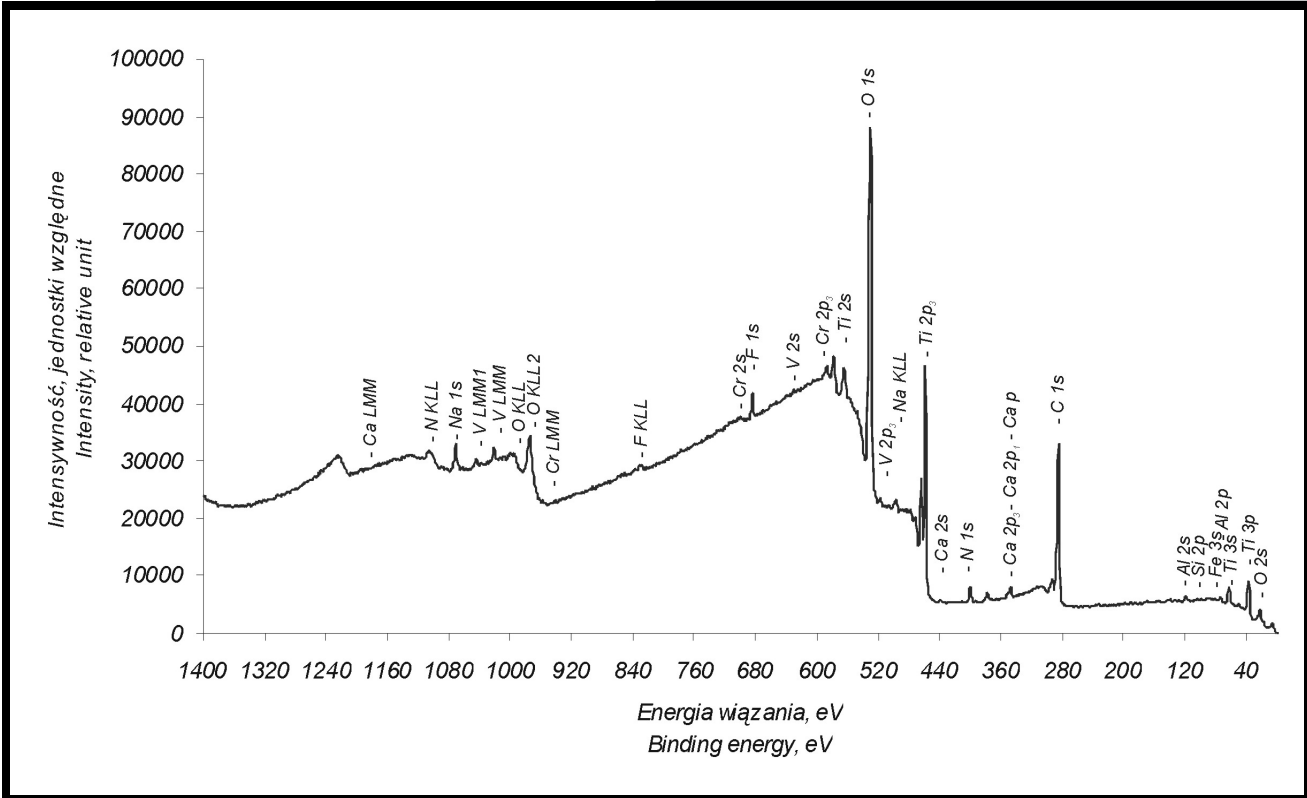
city in the investigation range up to +5V was not observed for the passivated specimens. Crevice corrosion tests showed that Ti6Al4V ELI specimens (both grinded and polished+oxidated) are resistant for this type of corrosion - FIG. 1.

The survey spectrums obtained from the XPS tests of polished and oxidated specimens revealed the following elements: Al, C, Ca, F, Cr, Fe, N, Na, O, P, S, Si, Ti oraz V - FIG. 2. The chemical compounds and their concentration was identified by the use of the XPS high resolution spectrums - TABLE 1.

Titanium was predominantly in oxide form TiO₂. The lower concentration of the vanadium and aluminium (both in oxide form Al₂O₃, V₂O₅) in the passive layer comparing to the bulk material was observed. Minute amount of chromium and fluorine was observed on the surface. Chromium occurred as a trioxide and fluorine as a fluoride.

Discussion

On the basis of the tests on the titanium alloy specimens it was stated that polishing and oxidation processes caused increase of corrosion resistance. The main component of the passive layer of the specimens that has the highest corrosion resistance was titanium dioxide TiO₂. In the layer



RYC. 2. Widmo przeglądowe wykonane na próbce ze stopu Ti6Al4V ELI o powierzchni polerowanej i pasywanej.

FIG. 2. The survey spectrum of the polished and oxidized Ti6Al4V ELI specimen.

obni enie st enia aluminium oraz wanadu, co nale y uzna za bardzo korzystne dla biotolerancji stopu w rodowisku tkankowym. Aluminium oraz wanad wyst powały w formie utlenionej.

prepared in the condition worked out in the study lower concentration of aluminium and vanadium was observed which is beneficial for the implants. The aluminium and vanadium occurred in oxide form.

Pi miennictwo

- [1] J. P. Simpson: Electrochemical behavior of titanium and titanium alloys with respect to their use as surgical implant materials. In: Christel P., Meunier A., Lee A. J. C.: Biomedical and Biomechanical Performance of Biomaterials. Elsevier, Amsterdam 1986, p. 63-68.
- [2] U. Zwicker :Titan and Titanlegierungen. (Springer, Berlin Heidelberg New York 1974, ISBN 3-540-05233).

References

- [3] J. Marciniak: Biomaterials. (Wydawnictwo Politechniki lskiej, Poland, Gliwice 2002).
- [4] ASTM-F136 -84 (1984, USA).
- [5] Norma: ASTM F-746-81.

WPLÝW NANODODATKU SiO_2 NA WŁA CIWO CI PREKURSOROWYCH WŁÓKIEN PAN I UZYSKANYCH Z NICH WŁÓKIEN W GŁOWYCH

T. MIKOŁAJCZYK*, M. BOGU *, I. PIEKARCZYK**,
M. BŁA EWICZ** D. WOŁOWSKA-CZAPNIK*

*POLITECHNIKA ŁÓDZKA, WYDZIAŁ IN YNIERII I MARKETINGU
TEKSTYLIÓW, KATEDRA WŁÓKIEN SZTUCZNYCH, ŁÓD
**AGH, WYDZIAŁ IN YNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI, KATEDRA
BIOMATERIAŁÓW, KRAKÓW

Streszczenie

W poni szej pracy podj to prób otrzymania nowej generacji włókien PAN zawieraj cych nano -cz stki krzemionki. Włókna poliakrylonitrylowe o wytrzymało ciach przekraczaj cych 26 cN/Tex, opracowano jako prekursor dla włókien w głowych. Włókna w - głowe zawieraj ce faz ceramiczn mog zosta wykorzystane jako materiały implantacyjne przyspieszaj ce odbudowe tkanki kostnej. Przedmiotem pracy było okre lenie wpływu krzemionki na wytrzymało i mikrostruktur włókien PAN oraz otrzymanych z nich włókien w głowych.

Słowa kluczowe: nanocząstka, krzemionka, prekursor włókien, formowanie włókien, włókna w głowe

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 224-228]

Wst p

Zastosowanie do wytwarzania prekursorowych włókien poliakrylonitrylowych nanokompozytu, w którym w tworzywie włóknotwórczym, rozproszone s ceramiczne nanocząstki stwarza mo liwo ci nadania im szeregu nowych cech, niespotykanych dot d w klasycznych włóknach prekursorowych. Włókna w głowe, otrzymane z takiego prekursora, równie powinny wykazywa obecno krzemionki. Modyfikowane materiały w głowe, mog by z powodzeniem wykorzystywane do leczenia ubytków tkanki kostnej lub chrzestnej [1-3] Z wprowadzeniem do włókien ceramicznych nanododatków zwi zany jest równie wzrost porowato ci włókien. Zostało to przez nas stwierdzone w przypadku innych tworzyw włóknotwórczych [4]. Obecno nie włóknotwórczych nanododatków wpływa tak e na zmian charakterystyki reologicznej roztworów prz - dzalniczych oraz mo e powodowa zmniejszenie podatno ci tworzyw na deformacje w etapie rozci gu [5-7].

Celem pracy jest okre lenie wpływu wprowadzonej do tworzywa nanokrzemionki na mikrostruktur i wła ciwo ci wytrzymało ciowe prekursorowych włókien poliakrylonitrylowych oraz włókien w głowych. Dobór warunków formowania ukierunkowany na maksymalizacj wła ciwo ci wytrzymało ciowych przy jednocze nie podwy szonej porowato ci umo liwi wytypowanie warunków wytwarza-

EFFECT OF SILICA NANOPARTICLES ON THE PROPERTIES OF PRECURSOR PAN FIBRES AND OBTAINED FROM THEM CARBON FIBRES

T. MIKOŁAJCZYK*, M. BOGU *, I. PIEKARCZYK**,
M. BŁA EWICZ** D. WOŁOWSKA-CZAPNIK*

*TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ
FACULTY OF TEXTILE ENGINEERING AND MARKETING,
INSTITUTE OF MAN-MADE FIBRES
** AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, CRACOW

Abstract:

New generation PAN fibres containing silica nanoparticles with a tenacity of 26 cN/tex have been prepared to be used as precursor fibres to carbon fibres; the presence of silicon in carbon fibres will make it possible to use them for implants that can support and stimulate the process of bone reconstruction. The effect of silica nanoparticles on the strength properties and porous structure of the fibres has been assessed.

Key words: silica nanoparticles, precursor fibres, fibre formation, carbon fibers

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 224-228]

Introduction

The use of a fibre-forming material that contains scattered ceramic nanoparticles for the manufacture of polyacrylonitrile precursor fibres makes it possible to impart to them several new features, unparalleled in conventional precursor fibres. Carbon fibres prepared from such a precursor will contain silicon incorporated in the form of silica nanoparticles during PAN fibre formation. properties. Modified carbon fibers can be promising implants for healing of tissue defects of bone and cartilage. [1-3]. The incorporation of ceramic Nan particles into fibres results in an increase in fibre porosity as confirmed by us in the case of other fibre-forming polymers [4]. The presence of non-fibre-forming Nan particles changes also the theological characteristic of spinning solutions and can decrease the susceptibility of the fibre-forming material to deformation during fibre drawing [5-7].

The aim of the present study is to assess the effect of the incorporated silica Nan particles on the porous structure and strength properties of precursor polyacrylonitrile fibres. The selection of fibre spinning conditions directed towards the maximisation of strength properties with simultaneously increased porosity will make it possible to produce a new generation of precursor fibres containing silica nanoparticles. These fibres will show an increased porosity (required in respect of using carbon fibres for medical applications) as well as a strength suitable for the fibre car-

nia nowej generacji zawieraj cych nanokrzemionk włókien prekursorowych. Włókna te wykazywa b d (po dan ze wzgl du na zastosowanie medyczne włókien w głowych) podwy szon porowato przy wytrzymałoci odpowiedniej do procesu karbonizacji.

Materiały i metody

Do wytwarzania włókien stosowano terpolimer PAN o składzie:

- 93-94% merów wagowych akrylonitrylu,
- 5-6% merów wagowych akrylanu metylu,
- ok. 1% merów wagowych alilosulfonianu sodu.

U yto nanokrzemionk w ilo ci 3% w stosunku do masy polimeru o wymiarach rz du od kilkunastu do 50 nm (oznaczonych na podstawie zdj z mikroskopu skaningowego). Włókna formowano z 22% roztworu prz dzalniczego PAN przy zastosowaniu jako rozpuszczalnika DMF. Po procesie zestalania włókna poddawano dwuetapowemu rozci gowi w k pieli plastyfikacyjnej oraz w atmosferze przegrzanej pary wodnej [4]

Stabilizacje prekursora zawieraj cego nano cz stki SiO₂, prowadzono wieloetapowo w zakresie temperatur 150-280°C, w utleniaj cej atmosferze. Nast pnie włókna karbonizowano w temperaturze 1000°C przez 15 minut (50C/min). Mikrostruktur włókien w głowych i skład chemiczny scharakteryzowano przy u yciu mikroskopii skaningowej z mikroanaliz rentgenowsk . Moduł wła ciwo ci włókien prekursorowych i karbonizowanych wyznaczono stosuj c badania ultrad wi kowe [8].

Wyniki bada i dyskusja

Wpływ nanododatku SiO₂ na wła ciwo ci włókien PAN

W metodzie formowania z roztworu na mokro struktura i wła ciwo ci włókien uzale nione s od przebiegu procesu zestalania i podatno ci tworzywa na deformacje w etapie rozci gu. Podstawowym parametrem procesowym jest wielko wyci gu filerowego i zwi zana z tym warto deformacji w etapie rozci gu. Wyci g filerowy zmieniano w zakresie od -50% do 50%. Jednocznie nie zgodnie z założeniem proces zestalania prowadzony był w łagodnej k pieli zestalaj cej o podwy szonej zawarto ci rozpuszczalnika i niskiej temperaturze, co stwarzało korzystne warunki do otrzymywania włókien o podwy szonej wytrzymałoci.

W TABELI 1 umieszczono wła ciwo ci wytrzymałociowe,

Sample symbol	As-spun draw out ratio [%]	Total draw ratio [%]	Moisture absorption at 65% RH [%]	Moisture absorption at 100% RH [%]	Tenacity [cN/tex]
PAN 1	- 50	516,8	4,09	9,92	19,07
PAN 2	- 20	546,9	2,99	9,69	26,73
PAN 3	20	449,6	2,77	9,96	27,54
PAN 4	50	443,3	2,87	9,90	25,19

TABELA1. Wła ciwo ci wytrzymałociowe, sorpcyjne dla prekursorowych włókien PAN z 3% udziałem nanokrzemionki.

TABLE 1. Mechanical and sorption properties of PAN presursor fibres with 3% addition of Silica nano-powder.

bonisation process.

Materials and methods

PAN terpolymer with the following composition was used to prepare fibres:

- 93-94% by wt. of acrylonitrile units,
- 5-6% by wt. of methyl acrylate units,
- about 1% by wt. of sodium allylsulphonate.

Silica nanoparticles with dimensions from a dozen or so nm to 50 nm (measured from their images under scanning a microscope) were used as additives. Fibres were spun from a 22% PAN spinning solution using DMF as solvent. After solidification the fibres were drawn in two stages: in a plasticising bath and under superheated steam, respectively [4]. PAN fibers were stabilized in oxidizing atmosphere by multistage process(150 -280°C). Carbonization process was done in 1000°C/15 min. with heating rate of 50 C/min.

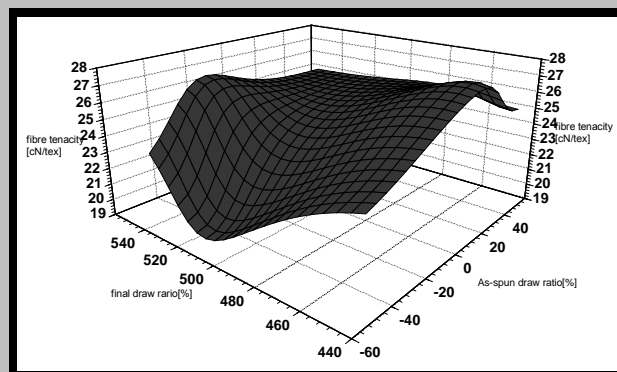
Porosity of PAN fibre was measured by using Carlo Erba equipment. Microstructure and elemental analysis of carbon fibers containg nano-particles were characterized by scanning microscopy (Joel) and EDS analysis. The elastic properties of fibers were calculated by using ultrasonic method.

Results and discussion

The effect of SiO₂ nanoparticles addition on properties of PAN fibers

In the wet process of fibre formation from solution, the fibre structure and properties depend on the course of solidification and the polymer susceptibility to deformation during the drawing stage. The basic process parameter is the as-spun draw out ratio and the related to it deformation during drawing. The as-spun draw out ratio was changed within the range from -50% to 50%. In accordance with the accepted assumption, the solidification of fibres was carried out in a mild solidifying bath with an increased content of solvent and at a low temperature to create beneficial conditions for the formation of fibres with an increased strength. TABLE 1 contains the results of measured tenacity and moisture absorption of the precursor PAN fibres with silica Nan particles obtained with various values of as-spun draw out ratio and total draw ratio.

The character of changes in fibre tenacity versus the as-spun draw out ratio and the total draw ratio shows an extreme course (FIG. 1). The tenacity at a level of 26.37 cN/



RYS. 1. Zale no wytrzymałoci wla ciwej od wyci gu filerowego i rozci gu całkowitego dla próbki PAN 2.

FIG. 1. Relationship of specific strength, and total extention for sample PAN 2.

Sample symbol	As-spun draw out ratio [%]	Total draw ratio [%]	Moisture absorption at 65% RH [%]	Moisture absorption at 100% RH [%]	Tenacity [cN/tex]
PAN 2	-20,0	546,9	2,99	9,69	26,73
PAN without SiO ₂	-20,1	582,2	2,18	6,80	31,21

TABELA 2. Porównanie właściwości włókien PAN z nanododatkiem oraz bez nanododatku.
TABLE 2. Comparison of properties of PAN fibres with and without Silica nano-powder addition.

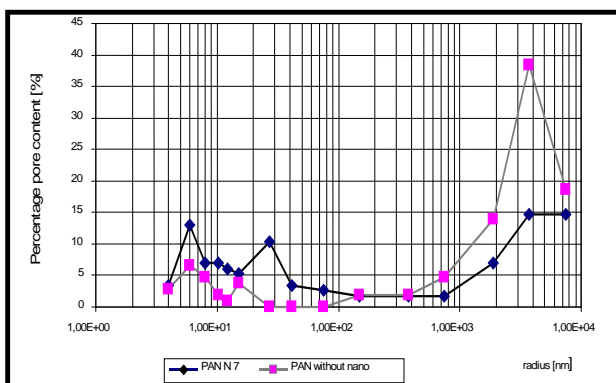
sorpcyjne dla prekursorowych włókien PAN z nanokrzemionk przy różnym wyciągu filerowym i różnych wartościach rozciągnięcia całkowitego. Charakter zmian właściwości wytrzymałościowych w funkcji wyciągu filerowego i rozciągnięcia ma przebieg ekstremalny (RYS.1). Wytrzymałość na poziomie 26,37 cN/tex przy jednocześnie nie dobrych właściwościach sorpcyjnych, za które w bezprocentowy sposób odpowiedzialna jest wytworzona struktura drobnoporowata, wykazują włókna formowane przy niskiej wartości wyciągu filerowego na poziomie -20% (próbka PAN 2).

W celu porównania wpływu nanododatku na właściwości włókien prekursorowych wypradzono włókna bez nanododatku w analogicznych warunkach co włókna oznaczone symbolem PAN 2, (TABELA 2).

Z analizy wpływu nanododatku SiO₂ na strukturę porowatych włókien formowanych w wytypowanych warunkach wynika, iż włókna zawierające nanododatek SiO₂ odznaczają się wyższą całkowitą objętością porów i większą powierzchnią wewnętrzną w porównaniu z włóknami bez nanododatku (TABELA 3).

Jednakże ze względu na różną wielkość całkowitej objętości porów włókien tych nie można zaliczyć do typowych włókien o podwyższonej porowatoci.

Charakter struktury porowatej dla obu typów włókien jest odmienny (RYS. 2). W przypadku włókien bez nanododatku krzywa rozkładu porów odznacza się płaskim przebiegiem w zakresie porów małych i średnich oraz wystąpieniem wysokiego maksimum w zakresie porów bardzo dużych. Natomiast dla włókien zawierających nanokrzemionki na krzywej rozkładu porów występują trzy wyraźne maksima w zakresie porów małych i średnich oraz bardzo dużych. Włókna zawierające nanododatek SiO₂ wykazują więc korzystne podwyższenie udziałów procentowych porów małych i średnich przy jednoczesnym obniżeniu porów bardzo



RYS. 2. Zależność udziałów procentowych porów w funkcji logarytmu ich promienia.
FIG. 2. Log dependence of % contribution of pores and their radius.

Sample symbol	Total pore volume [cm ³ /g]	Internal surface [m ² /g]	Percent contents of pores [%]			
			Small pores 4-12.3 [nm]	Medium pores 12.3-75 [nm]	Large pores 75-750 [nm]	Very large pores 750-7500 [nm]
PAN 2	0,194	27,18	36,53	21,74	5,22	36,52
PAN without SiO ₂	0,152	10,25	16,81	3,74	8,41	71,03

TABELA 3. Udziały procentowe zbiorów kapilar, powierzchnia wewnętrzna i całkowita objętość porów dla włókien zawierających nanododatki oraz włókien bez nanododatku.

TABLE 3. Capillary contribution, specific surface and total pore volume for fibres free of, and containing nano-powder addition.

tex and good absorption properties that result directly from the formed fine-porous structure are shown by the fibres formed with a low value of the as-spun draw out ratio at a level of -20% (sample PAN 2).

In order to compare the effect of silica nanoparticles on the properties of precursor fibres, also fibres without this additive were spun under the same conditions as those of sample PAN 2 (TABLE 2). From the analysis of the effect of silica nanoparticles on the porous structure of fibres formed under selected conditions it follows that these fibres show higher total pore volume and internal surface than those of fibres without silica nanoparticles (TABLE 3).

However, considering the order of magnitude of the total pore volume, these fibres cannot be considered as typical fibres with increased porosity.

The porous structures of both types of fibres show different character (FIG.2). In the case of fibres without silica nanoparticles, the pore distribution curve shows a flat course within the range of small and medium-sized pores and a high maximum within the range of very large pores. On the other hand, the pore distribution curve of fibres containing silica nanoparticles has three distinct maxima with the range of small, medium-sized and very large pores. Thus, the PAN fibres containing silica nanoparticles show a beneficial increase in the percent contents of small and medium-sized pores with a simultaneous decrease in the content of very large pores in comparison with the fibres without silica nanoparticles. This is a very advantageous phenomenon as the very large pores are a source of structural defects occurring also in carbon fibres after carbonisation [6].

The precursor PAN fibres with a beneficial pore contribution and a total pore volume at a level of 0.6 cm³/g that classifies them as highly porous fibres were obtained under fibre formation conditions typical for highly porous fibres [5].

The effect of SiO₂ nanoparticles addition on properties of carbon fibres

The microscopic observations of fibres as well as X-ray microprobe examination carried out before and after stabilization process indicate the presence of silica both on the surface and inside the fibres (FIG. 3). In order to determine the effects of Silica addition on the properties of carbon fibres, the ultrasonic tests have been performed using the MT-541 apparatus and transducers with concentrators, of the frequency of 1 MHz.

The measurements of the ultrasound wave transfer time were performed on thin bundles of fibres of length of about 15 cm for precursor fibres, and of the length of 9 cm for carbon fibres. The free ends of the bundles were glued to

duych w porównaniu z włóknami bez nanododatku. Jest to zjawisko bardzo korzystne ponieważ pory bardzo dużej średnicą i różnorodnością defektów strukturalnych występujących równie po procesie karbonizacji we włóknach w głowach [6]. Włókna prekursorowe PAN o korzystniejszym rozkładzie por i całkowitej objętości por na poziomie rzędu $0,6 \text{ cm}^3/\text{g}$ upoważniającej do zakwalifikowania ich do grupy włókien wysokoporowatych uzyskano w warunkach formowania typowych dla włókien wysokoporowatych [5].

Wpływ nanododatku SiO_2 na właściwości włókien w głowach

Obserwacje mikroskopowe włókien jak również badania przy użyciu mikroskopy rentgenowskiej przeprowadzone przed i po procesie stabilizacji pokazują, że zarówno na powierzchni jak i we wnętrzu włókien obecna jest krzemionka (RYS. 3).

W celu określenia wpływu dodatku krzemionki na właściwości włókien w głowach przeprowadzono badania ultradźwiękowe stosując aparat MT-541 oraz przetworniki z koncentratorami o częstotliwości 1 MHz . Pomiarów czasów przejścia fali ultradźwiękowej wykonano na cienkich wiązkach włókien o długości około 15 cm dla włókien prekursorowych i około 9 cm dla włókien w głowach. Każde badane wiązki włókien przyklejano mieszaniną kalafonii z parafiną do przetworników. Pomiarów powtarzano skracając wiązki o ok. 1 cm (do uzyskania końcowej długości ok. 1 cm). Prędkość przejścia fali ultradźwiękowej wyznaczono z wykresów zależności czasu przejścia fali ultradźwiękowej (t) od długości włókien (l). Jest to zależność prostoliniowa (wykres 3) a tangens kąta nachylenia prostej ($l=at+b$) jest poszukiwaną prędkością, czyli $V=a$. Wyniki pomiarów zebrano w TABELI 4. Wyznaczenie prędkości fali ultradźwiękowej w włóknach pozwala na określenie modułu właściwego włókien $V^2=E/\rho$ (E - moduł Younga, ρ - gęstość) [8].

Dodatek krzemionki wpływa na obniżenie modułu właściwego oraz prędkości rozchodzenia się fali ultradźwiękowej zarówno włókien prekursorowych (PAN) jak i wytworzonych z nich włókien w głowach. W przypadku prekursorowych włókien PAN zmiany te są nieznaczne (mieszczą się w granicach błędów pomiaru). W włóknach w głowach dodatek nanopowidku powoduje istotne obniżenie prędkości fali ultradźwiękowej.

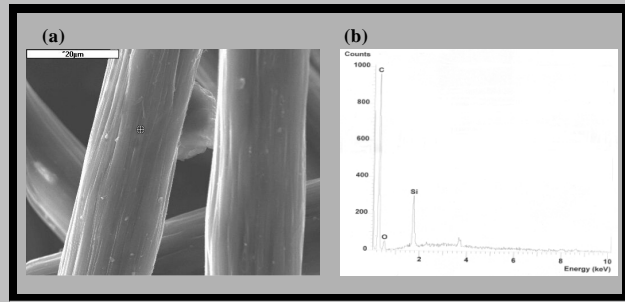
Proces karbonizacji powoduje kilkukrotny wzrost prędkości fali ultradźwiękowej w włóknach. Uzyskane wartości prędkości wiążą się słabo uporządkowanej strukturze włókien.

Rodzaj włókien	V [m/s]	a [cm/ μ s]	S(a) [cm/ μ s]	b [cm]	R
Włókno PAN bez nanododatku	3555,3 \pm 122	0,35553	0,02028	-1,5025	0,9934
Włókno w głowie bez nanododatku	8902,2 \pm 558	0,89022	0,06902	-4,8982	0,9945
Włókno PAN z SiO_2 (PAN3)	3539,2 \pm 39	0,35392	0,00455	-1,8787	0,9994
Włókno w głowie z SiO_2	8509,8 \pm 112	0,85098	0,03556	-4,7002	0,9961

TABELA 4. Wyniki badań ultradźwiękowych.
TABLE 4. Results of ultrasonic tests.

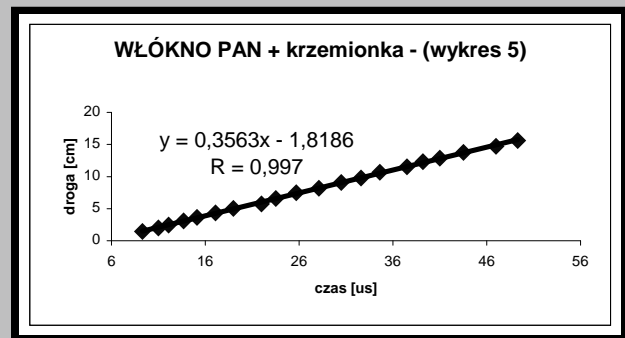
Wnioski

Wprowadzenie krzemionki do włókien prekursorowych PAN umożliwiło uzyskanie nowej generacji prekursora włókien w głowach o złożonym składzie chemicznym. Włókna w głowie wzbogacane fazą ceramiczną mogą stać się cennym materiałem implantacyjnym do leczenia ubytków tkanek.



RYS. 3. Obraz mikroskopowy SEM włókien w głowach z dodatkiem nanokrzemionki (a). Wykres EDS powierzchni włókien w głowach modyfikowanych SiO_2 (b).

FIG. 3. The SEM image of carbon fibres with silica nano-powder addition (a). The EDS plot of fibre surfaces modified with SiO_2 (b).



RYS. 4. Przykładowy wykres pojedynczego pomiaru czasu przejścia fali ultradźwiękowej przez wiązkę włókien.

FIG. 4. Example of plot for single measurement of transition time of ultrasonic wave through fibre bundle.

transducers using the mixture of calophony resin and paraffin. Measurements were repeated while shortening bundle length of 1 cm each time, until their final length of 1 cm has been achieved.

The velocity of ultrasound wave was determined from the diagrams of transit time (t) vs fibre length (l). This relationship is linear (FIG. 3), and the tangent of the angle of inclination of the straight line ($l=at+b$) is the searched velocity, i.e. $V=a$. The results are collected in TABLE 4. Determination of the velocity of ultrasonic wave within the fibres allows to define their specific modulus $V^2 = E/\rho$ (E - Young's modulus, ρ - relative density) [8].

The Silica addition decreases both the specific modulus and the velocity of ultrasonic waves in precursor (PAN), as well as in carbon fibres made of them. In the case of precursor PAN fibres these changes are small (within the limits of measuring error). The addition of nano-powder to carbon fibres causes significant decrease of ultrasonic wave. Carbonization process leads to multiple increase of velocity of ultrasonic wave in the fibres.

Conclusions

The incorporation of silica nanoparticles into precursor PAN fibres made it possible to obtain a new generation precursor to carbon fibres. The resultant carbon fibres will be designed for the manufacture of implants supporting and stimulating the process of bone reconstruction.

Pi miennictwo

[1] S. Błażewicz, I. Piekarczyk, E. Staszko, T. Mikołajczyk "Chemically and physically functionalized carbon composites - a prospective material for tissue treatment", Carbon 2004, Providence, Rhode Island, USA, 11-16 July, 2004.

[2] I. Piekarczyk, E. Menaszek, L. Zamorska "Porowate włókna w - głoce dla celów medycznych" In ynieria Biomateriałów nr 30-33, 2003.

[3] M. Błażewicz "W giel jako biomateriał" Ceramika Vol. 63, 2001.

[4] T. Mikołajczyk, M. Bogu "Wpływ warunków formowania na właściwości prekursorowych włókien PAN zawierających nanododatek SiO₂", Fibres&Textiles in Eastern Europe - w druku .

References

[5] T. Mikołajczyk, D. Wołowska-Czapnik, M. Bogu , "Precursor alginate fibres containing nanoparticles" Fibres&Textiles in Eastern Europe - w druku.

[6] T. Mikołajczyk, M. Bogu , "Rheological properties of spinning solutions polyacrylonitrile in dimethylformamide containing ceramic nanoparticles", Fibres&Textiles in Eastern Europe - w druku

[7] T. Mikołajczyk, I. Krucińska, Fibres & Textiles In Ekstern Europe, 3 (3), (1995), 44.

[8] J. Piekarczyk "Ultradźwiękowe metody badania modułu Younga włókien" Materiały I ogólnopolskiej konferencji włókna w głoce I ich zastosowanie w technice, Kraków 1983.

WCZESNY OKRES OBSERWACJI BIORESORBOWALNEGO KOMPozyTU KOPOLIMERU P(LLA/GLA) WPROWADZONEGO W KOŁODOWA KRÓLIKA- BADANIA DO WIADCZALNE

BAJOR GRZEGORZ*, ADWENT MAREK**,
CIELIK-BIELECKA AGATA**, STARZAK PIOTR*,
PROSZEK MAGDALENA****, CHŁOPEK JAN****,
SABAT DANIEL***, CIELIK TADEUSZ**

*KLINIKA I KATEDRA CHIRURGII DZIECI CEJ L.A.M.W KATOWI-
CACH

**I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ
L.A.M.W ZABRZU

***KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII L.A.M.W ZABRZU

****KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNASTWA STOMATOLOGICZNEGO
L.A.M.W ZABRZU

*****AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW W KRAKOWIE

Streszczenie

Celem prowadzonych badań do wiadczalnych jest ocena kompozytów kopolimerów polilactyd/poliglikolid w warunkach dotkankowej implantacji. Badania przeprowadzono na grupie 30 królików nowozelandzkich z okresami kontroli przypadającymi na 1,2,3,6,12,24,48 tygodnie. Zwierzętom implantowano badane kompozyty w nasadę dalszą kości udowej, oraz tkanki miękkie grzbietu. Wykonywano badania kliniczne, radiologiczne, histopatologiczne oraz morfologiczne. W kolejnych okresach obserwacji (po 3-6 tygodniu) wokół wszczepu obecna była już dojrzała

THE PRELIMINARY PERIOD OF THE OBSERVATION OF THE BIORESORBABLE COMPOSITE OF THE COPOLYMER P (LLA/GLA) INSERTED INTO RABBIT'S FEMORAL BONE- EXPERIMENTAL RESEARCHES

BAJOR GRZEGORZ*, ADWENT MAREK**,
CIELIK-BIELECKA AGATA**, STARZAK PIOTR*,
PROSZEK MAGDALENA****, CHŁOPEK JAN****,
SABAT DANIEL***, CIELIK TADEUSZ**

*KLINIKA I KATEDRA CHIRURGII DZIECI CEJ L.A.M.W KATOWI-
CACH

**I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ
L.A.M.W ZABRZU

***KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII L.A.M.W ZABRZU

****KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNASTWA STOMATOLOGICZNEGO
L.A.M.W ZABRZU

*****AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW W KRAKOWIE

Abstract

The aim of this study was evaluation of the lactide/glycolide composites with carbon fibres in vivo. The experimental study was carried out on 30 New Zealand white rabbits. The implants were placed in the femoral and soft tissues of the back. The control periods were determined as 1,2,3,6,12,24,48 weeks. In consecutive periods of the observations (after 3-6 weeks) round about graft has been found mature bone tissue. Preliminary study

tkanka kostna.

Słowa kluczowe: kopolimery, laktyd, glikolid, implanty
[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 228-231]

Wstęp

Wielokierunkowe badania wykazały, że bioresorbowalne porowate podłoża z kopolimerów mają swoje zastosowanie w inżynierii tkankowej z wykorzystaniem dla hodowli tkanek w warunkach in vitro [7, 9, 10]. Zaletą polimerów jest możliwość wytwarzania z nich termoplastycznych elementów zespalających jak również ich zdolność do biodegradacji w organizmach żywych [1, 4, 11].

Dotychczas nie wyjaśniono w pełni mechanizmów degradacji PLLA in vitro ze względu na jego złożoność i tworzenie produktów endogennych, które mogą wpływać na proces degradacji [2, 3, 4, 11, 12].

Toksyczne związki powstałe w wyniku syntezy kopolimerów wyeliminowano poprzez zastosowanie nowego inicjatora-acetyloacetonianu cyrkonu [1, 4, 5].

Badane materiały ulegają procesowi biodegradacji w przeciągu kilku tygodni przebywania w środowisku wodnym, co wydaje się być czasem pozwalającym na uzyskanie zrębu kostnego. Do określenia przydatności opracowanych materiałów w praktyce klinicznej, biorąc pod uwagę obserwowane wcześniej spowolnienie degradacji w tkance kostnej w porównaniu do badań prowadzonych in vitro w środowisku wodnym, konieczne jest przeprowadzenie badań in vivo na zwierzętach do wiadczałnych [10].

Celem prowadzonych badań do wiadczałnych na królikach jest ocena kompozytów kopolimerów polilaktyd/poliglikolid w warunkach dotkankowej implantacji oraz wykazanie różnic przy wzmocnieniu np. włóknem w gwałtownym czy hydroksyapatytem.

Materiał i metody

Badania do wiadczałne przeprowadzono na grupie 30 królików nowozelandzkich różnej płci i wadze 3500-4000 g. Wszystkie zabiegi prowadzone są w Centralnej Zwierzynie I skiej Akademii Medycznej za zgodą Komisji Bioetycznej. Przed zabiegiem zwierzętom podawano domięśniowo 2% roztwór xylazyny, następnie usypiano je podając dożylnie ketamin. Dodatkowo tkanki w okolicy operowanej ostrykiwano 2% roztworem lignokainy. W chirurgicznie przygotowane łuski o średnicy 3,2 mm na bocznej powierzchni przynasady dalszej kości udowej wprowadzono wszczep wykonany z kompozytu polilaktyd/poliglikolid P(LLA/GLA). Dodatkowo wszczepy wprowadzano w kiesze wykonanej w tkance podskórnej na grzbiecie oraz w kiesze wykonanej w mięśniach prostym grzbiecie. Okresy kontrolne wyznaczono na 1,2,3,6,12,24,48 tygodni od implantacji materiału. Po likwidacji zwierzęt do badań klinicznych zabezpieczano skórę, mięsień grzbiecia, kość udową / tkanki zawierające implant/ oraz dodatkowo pobierano do oceny fragmenty wątroby i nerki. W każdym okresie do wiadczałnym pobierano krew na badania markerów stanu zapalnego, wykonywano radiogramy kości oraz oceniono histopatologicznie tkankę kostną i tkanki miękkie z okolicy wszczepu.

Wyniki

Badania kliniczne wykazały prawidłowe gojenie się ran pooperacyjnych. Nie stwierdzono odczynów zapalnych ani patologicznej wydzieliny z ran. Gojenie przebiegało przez

results are very optimistic and give hope for getting good material for implants. Preliminary study results are very optimistic and give hope for getting good material for implants.

229

Key words: copolymers, lactide, glycolide, implants.

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 228-231]

Introduction

The multidirectional researches proved that bioresorbable porosity vehicles of copolymers have its own application of the tissue engineering for breeding tissues in vitro terms [7, 9, 10]. A quality of the copolymers is either the capability to create the thermoplastic uniting materials or the ability to biodegradation process in vivo [1, 4, 11].

The mechanisms of biodegradation of the PLLA in vitro haven't been explained yet cause of complicated functions and endogenous products which can put in to the degradation process also [2, 3, 4, 11, 12].

Toxic unions, arisen from copolymers synthesis, have been eliminated by putting into practice a new acetyloacetate zirconium initiator [1, 4, 5].

Whole testing material have been putting into biodegradation process in several weeks while resisted in the water environment what seems to be correct period allow for healing bone, as well. It's necessary to perform different kinds of tests either in vitro or in water environment due to experimental animals for describe and determine usefulness elaborated materials at clinical practice, taking into consideration earlier observed getting slow down the biodegradation process in the bone's tissue [10].

The aim of the experimental researches management with rabbits is the evaluation of the copolymers composites polylactide/polyglycolide in the into tissue implantation conditions and it's shows any differences by strengthen them with for example carbon fibre or hydroxyapatite.

Materials and methods

Thirty New Zealand's rabbits, weight 3500-4000 g, male and female, put into research program. Whole procedures have been performed in Central Animal Room at the Upper Silesian Medical School with the consent of Bioethical Committee. 2% Xalazin solution has been injected in to the animals' muscles just before each surgical procedure and next an intravenous anaesthesia by Ketamine has been induced. In spite of this the borderline tissues of the operated area have been injected by 2% Lignocain as well. The polylactide/polyglycolide with carbonic fibre graft has been implanted into surgically prepared bed, (diameter 3,2 mm), at the lateral surface of the distal epiphysis of the femoral rabbit's bone. Other grafts have been inserted into subcutaneous straight dorsal muscle pocket. Control periods assigned for 1,2,3,6,12,26,48 weeks since for implanted uniting material. Rabbits' skins, dorsal muscles and femoral bones (tissues with implants) were protected after animal's annihilation. The parts of the liver and kidneys were evaluated in the same time also. Rabbits' blood has been taken for the experimental researches looked for inflammatory markers in every experimental period. There were taken either the bones' radiograms or estimated bone tissue and soft tissues by the graft area histopathologically.

Results

The clinical researches proved properly healing of the

rychłozrost. Badania radiologiczne wykazały okręgi ubytek kości o rozmiarze odpowiadającym średnicy wszczepu, wokół którego znajdowała się kość o prawidłowej strukturze. Nie stwierdzono cech osteolizy. Po okresie 1 tygodnia wokół wszczepu można było zauważyć nieznaczne zacieńczenie przypominające otoczkę osteosklerotyczną. Na radiogramach dwu i trzytygodniowych struktura ta nie była już widoczna. Histologicznie w początkowym okresie po wprowadzeniu wszczepu (po 1-2 tygodniach) ściany kanału były pokryte młodą tkanką łączną włóknistą, w której dochodziło do szybkiej odbudowy tkanki kostnej obecne były liczne beleczki kostne obrzeżone osteoblastami. Natomiast szczególnie w szpiku kostnym obserwowano początkowo liczne martwicze fragmenty kostne. Jest to pozostałość po zabiegu operacyjnym wytworzenia kanału dla wszczepu, otoczonych osteoklastami. W kolejnych okresach obserwacji (po 3-6 tygodniach) wokół wszczepu obecna była już dojrzała tkanka kostna (RYS. 1). W głębszych warstwach beleczki kostne wykazywały jeszcze cechy szybkiej aktywności komórkowej i pokryte były licznymi osteoblastami. Badania histopatologiczne

tkanki podskórnej wykazały obecność pogrubiałej torebki łącznotkankowej zbudowanej z włókien kolagenowych. W miąższach po okresie 3-6 tygodni obserwacji wokół wszczepu widoczna była wyraźna torebka zbudowana z tkanki łącznej włóknistej. Badania histopatologiczne w wątrobie i nerkach nie uwidoczniły w nich zmian patologicznych. Ze wstępnych obserwacji i ocen klinicznych wynika, że kompozyt kopolimeru tak w tkankach miękkich jak i kości udowej jest bardzo dobrze tolerowany i nie daje odczynów typu "około ciała obcego".

Wnioski

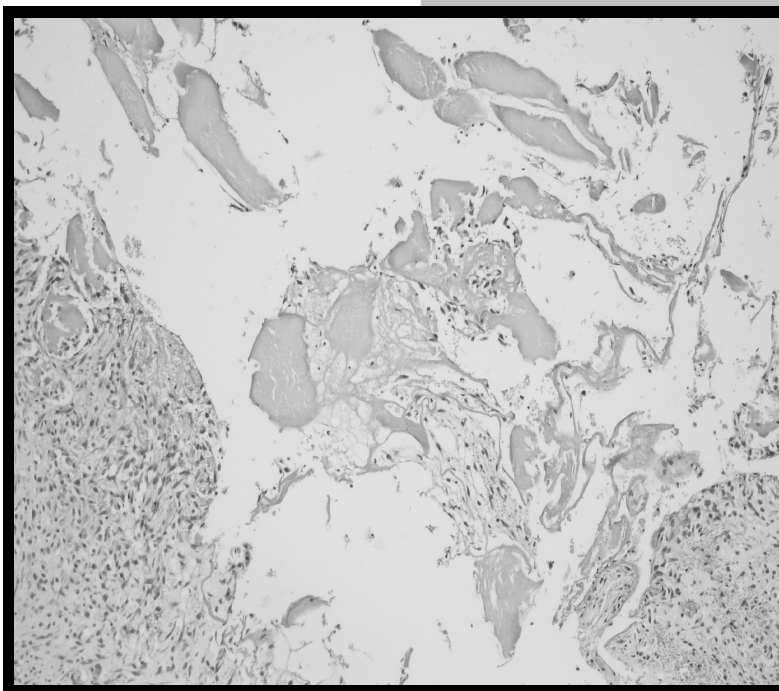
W kościach długich dochodziło do szybkiego połączenia kompozytu z kością udową królika. Badane wszczepy w wczesnym okresie obserwacji nie wykazywały odczynów zapalnych i były bardzo dobrze tolerowane przez żywe tkanki. Proces włączania kompozytów P(LLA/GLA) w kościach długich przebiegał bardzo intensywnie w oparciu o bezpośrednie połączenie się wszczepu z kością. Szybka jednak biodegradacja ogranicza bezpośrednie zastosowanie w chirurgii kostnej.

post surgical wounds. There weren't noticed neither any inflammatory reactions nor pathological tissue secretion. We observed the healing surgical wounds by first intention. A circle bone tissue defect has been found during radiological examinations seems to bone graft diameter and the correct bone structure round about also. Osteolysis traits haven't been confirmed. A slightly opaqueness looks like osteosclerotic ring one should noticed after one week. On the other hand this described structure hasn't been visible on the two and three weeks radiograms. Histologically during the first period after inserted graft (after 1-2 weeks) a young connective fibrous tissue covered the canal's walls and the rebuilding process of the activity bone tissue was noticed as well. Many bone's trabecules were encircled by osteoblasts. Especially in medullar bone we can observed primary many necrotic bone parts. There is resistance after surgical procedure due to create graft canal, encircled by osteoclasts. In consecutive periods of the observations (after 3-6 weeks) round about graft has been found mature

bone tissue. In the deeper place the trabecules of the bone were presented the activity traits of the cellular and were covered by many sum of the osteoblasts (FIG. 1). The lower part of the medullar canal was covered by thin and evident stratum of the bone tissue.

Histopathological examinations shown a thickened tissue capsule built of collagen fibres. The evident connective fibrous tissue has been sharply seen encircled graft among the muscles after 3-6 weeks. There weren't observed any pathological changes in liver and kidney's tissues.

According to preliminary observations and clinical evaluations results that copolymer composite either in soft tissues or femoral bone is very good tolerated and don't give any reactions like "by foreign body".



RYS. 1. Histologiczny obraz szybkiej przebudowy tkanek wokół wszczepu z polilaktydu.

FIG. 1. A histological picture of the fast rebuilding tissues encircled the polylactide graft.

Conclusions

A very fast joint process between composite and rabbit's femoral bone has been noticed in the long bones. There weren't any inflammatory reactions in the primary period of the observation the grafts and were very good tolerated by tissues in vivo. The healing process of the composites P(LLA/GLA) due to long bones were very intensive according to straight junction the graft and the bone. Although a very fast biodegradation restricts the straight perform one in to the bone surgery as well.

- [1] Chłopek J., Kmita G., Dobrzyński P., Bero M.: Właściwości mechaniczne i biologiczne rurek z kopolimeru P(LLA/GLA) oraz kopolimeru wzmocnionego włóknem w glowym. In . *Biomat.* 2002, 23, 24, 25, 88-90.
- [2] Czajkowska B., Kowal J.: Wpływ makrofagów na proces degradacji poli(kwasu L-mlekowego). In . *Biomat.* 2002, 22, 23-27.
- [3] Czajkowska B., Kowal J., Ptak M., Bobek M.: Oddziaływanie makrofagów i osteoblastów z kopolimerami PLLA z GLA. In . *Biomat.* 2001, 17, 18, 19, 22.
- [4] Czajkowska B., Bero M., Dobrzyński P., Kasperczyk J.: Badanie biogodności kopolimerów glikolidu i laktydu otrzymywanych z wykorzystaniem nowego inicjatora cyrkonowego lub cynowego w oparciu o badania in vitro. In . *Biomat.*, 2001, 17, 18, 19, 74-75.
- [5] Dobrzyński P., Bero M., Kasperczyk J.: Synteza i właściwości kopolimerów biodegradowalnych (PGLA, PACA, PLCA) otrzymanych w obecności nowego, niskotoksycznego inicjatora cyrkonowego. In . *Biomat.* 2001, 17-19, 72-73.
- [6] Kmita G., Chłopek J.: Ocena trwałości kompozytowych rurek polimerowych poddanych stałemu obciążeniu w warunkach in vitro. In . *Biomat.* 2001, 17, 18, 19, 67-69.

- [7] Konieczna B., Pamuła E.: Polimery termoplastyczne wzmocnione włóknami w glowym do zastosowań medycznych. In . *Biomat.* 2001, 17, 18, 19, 77-79.
- [8] Pagnetto G., Mazullo S. et al. Poly-L-Lactide amid: biointeraction and processing variable relationship. *Biomaterials* 1991, 5, 2, 179-181.
- [9] Pamuła E., Chłopek J., Błażewicz M.: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktydu dla celów medycznych. In . *Biomat.* 2001, 20, 23-28.
- [10] Pamuła E., Chłopek J., Błażewicz M., Makinen K., Dobrzyński P., Kasperczyk J., Bero M.: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktydu dla celów medycznych. In . *Biomat.* 2000, 12, 23-28.
- [11] Verheyen C.C.P.M., De Vries J.R. et al.: Evaluation of hydroxyapatite (POLY(L-LACTIDE) composites: mechanical behaviour. *J. Biomedical Materials Research.* 1992, 26, 1277-1296.
- [12] Verheyen C.C.P.M., De Vries J.R. et al.: Hydroxyapatite (POLY(L-LACTIDE) composites: an animal study push-out strengths and interface histology. *J. Biomedical Materials Research.* 1993, 27, 433-444.

SZE CIOTYGODNIOWY OKRES OBSERWACJI WSZCZEPÓW P(LLA/ GLA)+CF WPROWADZONYCH W KOŁODOWY KRÓLIKA

BAJOR GRZEGORZ*, ADWENT MAREK**,
CIELIK-BIELECKA AGATA**, STARZAK PIOTR*,
PROSZEK MAGDALENA****, SABAT DANIEL***, CIELIK TADEUSZ**

*KLINIKA I KATEDRA CHIRURGII DZIECI CEJ L.A.M. W KATOWICACH

**I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ L.A.M. W ZABRZU

***KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII L.A.M. W ZABRZU

****KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNASTWA STOMATOLOGICZNEGO L.A.M. W ZABRZU

Streszczenie

Celem prowadzonych badań do wiadczalnych jest ocena kompozytów kopolimerów polilaktydu/poliglikolidu z włóknem w glowym w warunkach dotkankowej implantacji. Badania przeprowadzono na grupie 30 królików nowozelandzkich z okresami kontroli przypadającymi na 1,2,3,6,12,24,48 tygodni. Zwierzętom implantowano badane kompozyty w nasadę kości udowej, oraz tkanki miękkie grzbietu. Wykonywano badania kliniczne, radiologiczne, histopatologiczne oraz morfologiczne. W 3 tygodniu do wiadczania wszczep w kość udową otoczony był przez kość w której stwierdzono cechy aktywnej angiogenezy. Po 6 tygodniach do wiadczania kanał wszczepu pokryty był warstwą dojrzałej kości zbitą bez cech aktywności osteoblastycznej. W tkankach miękkich wszczep otaczała torebka błonka śluzowa. Wyniki wpływające do wiadczania należy ocenić jako bardzo obiecujące dla pozyskania dobrego materiału implantacyjnego.

THE SIX WEEKS OBSERVATION PERIOD OF THE IMPLANTS P (LLA/GLA)+C INSERTED IN TO RABBIT'S FEMORAL BONE

BAJOR GRZEGORZ*, ADWENT MAREK**,
CIELIK-BIELECKA AGATA**, STARZAK PIOTR*,
PROSZEK MAGDALENA****, SABAT DANIEL***, CIELIK TADEUSZ**

*KLINIKA I KATEDRA CHIRURGII DZIECI CEJ L.A.M. W KATOWICACH

**I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ L.A.M. W ZABRZU

***KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII L.A.M. W ZABRZU

****KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNASTWA STOMATOLOGICZNEGO L.A.M. W ZABRZU

Abstract

The aim of this study was evaluation of the lactide/glycolide composites with carbon fibres in vivo. The experimental study was carried out on 30 New Zealand white rabbits. The implants were placed in the femoral and soft tissues of the back. The control periods were determined as 1,2,3,6,12,24,48 weeks. Clinical, radiological, and histopathological and laboratory tests were performed. Three weeks observation revealed that in the femoral implant was directly joint to the bone and active process of angiogenesis was present. After 6 weeks of the experience the graft canal were covered by mature compact bone without any osteoblast activity traits. In the soft tissues implant was surrounded by fibrous capsule. Preliminary study results are very optimistic and give hope for getting good material for implants.

Key words: copolymers, lactide, glycolide, carbon fibres, implants.

Wst p

Kopolimery polilaktydu i poliglikolu z uwagi na możliwość kształtowania porowatego materiału w chwili obecnej stwarzają duże nadzieje na wytworzenie dobrego materiału zespalającego w ortopedii i traumatologii dziecięcej. Wielokierunkowe badania wykazały, że bioresorbowalne porowate podłoża z kopolimerów mają swoje zastosowanie w inżynierii tkankowej z wykorzystaniem dla hodowli tkanek w warunkach in vitro [7, 9, 10]. Zaletą kopolimerów jest możliwość wytwarzania z nich termoplastycznych elementów zespalających jak również ich zdolność do biodegradacji w organizmach żywych [1, 4, 11]. Dotychczas nie wyjaśniono w pełni mechanizmów degradacji PLLA in vitro ze względu na jego zdolność do tworzenia produktów endogennych, które mogą wpływać na proces degradacji [2, 3, 4, 11, 12]. Słabe parametry mechaniczne wyeliminowano poprzez zbrojenie ich włóknami syntetycznymi, np. w głowicy, natomiast toksyczne związki powstałe w wyniku syntezy kopolimerów wyeliminowano poprzez zastosowanie nowego inicjatora-acetyloacetonianu cyrkonu. Aby zwiększyć wytrzymałość mechaniczną materiału wytworzono dla potrzeb do wiadczalnych kompozytów kopolimeru P(LLA/GLA) z włóknem w głowicy krótkim oraz ciętym [1, 4, 5]. Badane materiały ulegają procesowi biodegradacji w przeciągu kilku tygodni przebywania w środowisku wodnym, co wydaje się być czasem pozwalającym na uzyskanie zrębu kostnego. Do określenia przydatności opracowanych materiałów w praktyce klinicznej, biorąc pod uwagę obserwowane wcześniej spowolnienie degradacji w tkance kostnej w porównaniu do badań prowadzonych in vitro w środowisku wodnym, konieczne jest przeprowadzenie badań in vivo na zwierzętach do wiadczalnych [10]. Celem prowadzonych badań do wiadczalnych na królikach jest ocena kompozytów kopolimerów polilaktyd/poliglikolid z włóknem w głowicy w warunkach dotkankowej implantacji.

Materiał i metody

Badania do wiadczalne przeprowadzono na grupie 30 królików nowozelandzkich różnej płci i wadze 3500-4000 g. Wszystkie zabiegi prowadzone są w Centralnej Zwierzętarni Iłskiej Akademii Medycznej za zgodą Komisji Bioetycznej. Przed zabiegiem zwierzętom podawano domięśniowo 2% roztwór xylazyny, następnie usypiano je podając dożylnie ketamin. Dodatkowo tkanki w okolicy operowanej ostrykiwano 2% roztworem lignokainy. W chirurgicznie przygotowane otwory o średnicy 3,2 mm na bocznej powierzchni przynasady dalszej kości udowej wprowadzano wszczep wykonany z kompozytu polilaktyd/poliglikolid+włókno w glowe P(LLA/GLA+C). Dodatkowo wszczepy wprowadzano w kiesze wykonane w tkance podskórnej na grzbiecie oraz w kiesze wykonane w mięśniach prostym grzbiecie. Okresy kontrolne wyznaczono na 1,2,3,6,12,24,48 tygodni od implantacji materiału. Po likwidacji zwierzętom do badań klinicznych zabezpieczano skórę, mięsień grzbiecia, kości udowe i tkanki zawierające implant oraz dodatkowo pobierano do oceny fragmenty tkanki w trojcy i nerki. W każdym okresie do wiadczalnych pobierano krew na badania markerów stanu zapalnego, wykonywano radiogramy kości oraz oceniono histopatologicznie tkankę kostną i tkankę mięśniową z okolicy wszczepu.

Introduction

Copolymers of the polylactide and polyglycolide considering the ability to form a porosity of the material are going to create high hopes to produce a good joint material either in orthopedic surgery or traumatology of the children. The multidirectional researches proved that bioresorbable porosity vehicles of copolymers have its own application of the tissue engineering for breeding tissues in vitro terms (7, 9, 10). A quality of the copolymers is either the capability to create the thermoplastic uniting materials or the ability to biodegradation process in vivo [1, 4, 11]. The mechanisms of biodegradation of the PLLA in vitro haven't been explained yet cause of complicated functions and endogenous products which can put in to the degradation process also [2, 3, 4, 11, 12].

Faulty mechanical parameters have been eliminated by bracing them with synthetics fibres, for example carbonic fibres, on the other hand, the toxic unions, arisen from copolymers synthesis, have been eliminated by putting into practice a new acetyloacetoniolate zirconium initiator. Copolymer composite P (LLA/GLA) has been produced joint with short and long carbonic fibre for experimental methods cause better mechanical resistance [1, 4, 5].

Whole testing material have been putting into biodegradation process in several weeks while resisted in the water environment what seems to be correct period allow for healing bone, as well. It's necessary to perform different kinds of tests either in vitro or in water environment due to experimental animals for describe and determine usefulness elaborated materials at clinical practice, taking into consideration earlier observed getting slow down the biodegradation process in the bone's tissue. The aim of the experimental researches management with rabbits is the evaluation of the copolymers composites polylactide/polyglycolide with carbonic fibre in the into tissue implantation conditions.

Materials and methods

Thirty New Zealand's rabbits, weight 3500-4000 g, male and female, put into research program. Whole procedures have been performed in Central Animal Room at the Upper Silesian Medical School with the consent of Bioethical Committee. 2% Xalazin solution has been injected in to the animals' muscles just before each surgical procedure and next an intravenous anaesthesia by Ketamine has been induced. In spite of this the borderline tissues of the operated area have been injected by 2% Lignocain as well. The polylactide/polyglycolide with carbonic fibre graft has been implanted into surgically prepared bed, (diameter 3,2 mm), at the lateral surface of the distal epiphysis of the femoral rabbit's bone. Other grafts have been inserted into subcutaneous straight dorsal muscle pocket. Control periods assigned for 1,2,3,6,12,26,48 weeks since for implanted uniting material. Rabbits' skins, dorsal muscles and femoral bones (tissues with implants) were protected after animal's annihilation. The parts of the liver and kidneys were evaluated in the same time also. Rabbits' blood has been taken for the experimental researches looked for inflammatory markers in every experimental period. There were taken either the bones' radiograms or estimated bone tissue and soft tissues by the graft area histopathologically.

Badania kliniczne wykazały prawidłowe gojenie się ran pooperacyjnych. Nie stwierdzono odczynów zapalnych ani patologicznej wydzielin z ran. Gojenie przebiegało przez rychłozrost. Badania radiologiczne wykazały okrągły ubytek kości o rozmiarze odpowiadającym ciału kości w szpiczku, wokół którego znajdowała się kość o prawidłowej strukturze. Nie stwierdzono cech osteolizy. Po okresie 1 tygodnia wokół wszczepu można było zauważyć nieznaczne zacieńnienie przypominające otoczkę osteosklerotyczną. Na radiogramach dwu i trzytygodniowych struktura ta nie była już widoczna (RYS. 1). Badania histopatologiczne wykazały, że po 7 dniach od strony kości zbitiej wnikały do wytworzonego kanału młode niedojrzałe beleczki kostne obrzeżone osteoblastami. Wokół nich obecna była również młoda tkanka łączna włóknista. Po 14 dniach w miejscach bezpośredniego przylegania wszczepu do kości, kanał otoczony był przez kość zbitą i gąbczastą z zachowanymi cechami aktywności osteoblastycznej. W 3 tygodniu do wiadczenia wytworzony kanał wszczepu pokryty był wyraźną warstwą kości zbitą i gąbczastą (RYS.2). Miejscami, od strony światła kanału, kość była już dojrzała i nie wykazywała cech aktywności osteoblastycznej. Pomiędzy tworzącymi się w szpiczku beleczkami obserwowano cechy przekrwienia z licznymi poszerzonymi naczyniami włosowatymi wypełnionymi erytrocytami. Po 6 tygodniach kanał wszczepu pokryty był warstwą dojrzałej kości zbitą i gąbczastą bez cech aktywności osteoblastycznej. Znajdująca się w jamie szpiczkowej dolna część kanału zbudowana była z kości gąbczastej z obecnymi jeszcze cechami aktywności komórkowej. Badania histopatologiczne tkanki podskórnej wykazały obecność torebki łącznotkankowej zbudowanej z włókien kolagenowych i nielicznych makrofagów.

W miarę niżej obok torebki łącznotkankowej stwierdzono fibroblasty. Badania histopatologiczne w trybie i nerek nie uwidoczniły w nich zmian patologicznych. Ze wstępnych obserwacji i ocen klinicznych wynika, że kompozyt kopolimeru z włóknem w glowym tak w tkankach miękkich jak i kości udowej jest dobrze tolerowany i nie daje odczynów typu "około ciała obcego".

Wnioski

Wstępne wyniki wpływają na to, że do wiadczenia należy ocenić jako bardzo obiecujące dla pozyskania dobrego materiału implantacyjnego. W kościach długich dochodziło do bezpośredniego połączenia kompozytu z kością udową królika. Badane wszczepy we wczesnym okresie obserwacji nie wykazywały odczynów zapalnych. Proces wganiania kompozytów P(LLA/GLA)+C w kościach długich przebiegał w oparciu o bezpośrednie połączenie się wszczepu z kością.

The clinical researches proved properly healing of the post surgical wounds. There weren't noticed neither any inflammatory reactions nor pathological tissue secretion. We observed the healing surgical wounds by first intention. A circular bone tissue defect has been found during radiological examinations seems to bone graft diameter and the correct bone structure round about also. Osteolysis traits haven't been confirmed. A slightly opaqueness looks like osteosclerotic ring one should noticed after one week. On the other hand this described structure hasn't been visible on the two and three weeks radiograms (FIG. 1). The young immature trabecules of the bone round about osteoblasts were penetrated in to prepared canal after 7 days according to histopathological examinations. The fibrous tissue was



RYS. 1. Obraz radiologiczny kości udowej z kanałem kostnym wszczepu-wyraźne cechy osteoblastycznej aktywności komórkowej na obwodzie.

FIG. 1. The radiological picture of the femoral bone with graft canal-evident traits of the osteoblast activity cellular round about.

RYS. 2. Po 21 dniach obserwacji wytworzony kanał wszczepu pokryty był wyraźną warstwą kości zbitą i gąbczastą.

FIG. 2. After 21 days of the observation created graft canal has been covered by evident stratum of the compact and spongy bone.

around them also. The compact and fibrous bone with persisted osteoblast activity traits were encircled canal at the nearest graft zone after 14 days. In the end of the third week of the examinations the created graft canal was fulfilled by evident stratum of the compact and spongy bone (FIG. 2).

Going through the canal foramen, locally we can observe mature bone without osteoblasts activity traits any more. Some functional hyperaemia traits with many wider capillary vessels fulfilled by erythrocytes have been observed between arising medullar trabecules. After 6 weeks of the experience the graft canal were covered by mature compact bone without any osteoblast activity traits.

The lower part of the canal (which has been in the medullar cave) has been built of the spongy bone with the activity traits of the cellullars.

Histopathological examinations shown a connective tissue capsule built of collagen fibres and few macrophages. Some fibroblasts have been found among muscle tissue side to connective tissue capsule. There weren't observed any pathological changes in liver and kidney's tissues.

According to preliminary observations and clinical evaluations results that copolymer composite with carbonic fibre either in soft tissues or femoral bone is good tolerated and don't give any reactions like "by foreign body".

Conclusions

Preliminary results come from experience one should estimate as a very promising idea due to acquire a good implantation material, as well. We can observed the directly junction between composite material and the rabbit's femoral bone. The testing explorationed grafts haven't shown any inflammatory response in the early period of the research. The healing process of the composites P(LLA/GLA)+C in to the long bones has been coursed based on directly joint of the graft and the bone.

- [1] Chłopek J., Kmita G., Dobrzyński P., Bero M.: Właściwości mechaniczne i biologiczne kopolimeru P(LLA/GLA) oraz kopolimeru wzmocnionego włóknem w głowym. In: *Biomater.* 2002, 23, 24, 25, 88-90.
- [2] Czajkowska B., Kowal J.: Wpływ makrofagów na proces degradacji poli(kwasu L-mlekowego). In: *Biomater.* 2002, 22, 23-27.
- [3] Czajkowska B., Kowal J., Ptak M., Bobek M.: Oddziaływanie makrofagów i osteoblastów z kopolimerami PLLA z GLA. In: *Biomater.* 2001, 17, 18, 19, 22.
- [4] Czajkowska B., Bero M., Dobrzyński P., Kasperczyk J.: Badanie biogodności kopolimerów glikolidu i laktynu otrzymanych z wykorzystaniem nowego inicjatora cyrkonowego lub cynowego w oparciu o badania in vitro. In: *Biomater.*, 2001, 17, 18, 19, 74-75.
- [5] Dobrzyński P., Bero M., Kasperczyk J.: Synteza i właściwości kopolimerów biodegradowalnych (PGLA, PACA, PLCA) otrzymanych w obecności nowego, niskotoksycznego inicjatora cyrkonowego. In: *Biomater.* 2001, 17-19, 72-73.
- [6] Kmita G., Chłopek J.: Ocena trwałości kompozytowych rur polimerowych poddanych stałemu obciążeniu w warunkach in vitro. In: *Biomater.* 2001, 17, 18, 19, 67-69.

- [7] Konieczna B., Pamuła E.: Polimery termoplastyczne wzmocnione włóknami w głowym do zastosowań medycznych. In: *Biomater.* 2001, 17, 18, 19, 77-79.
- [8] Pagnetto G., Mazullo S. et al. Poly-L-Lactide amid: biointeraction and processing variable relationship. *Biomaterials* 1991, 5, 2, 179-181.
- [9] Pamuła E., Chłopek J., Błażewicz M.: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktynu dla celów medycznych. In: *Biomater.* 2001, 20, 23-28.
- [10] Pamuła E., Chłopek J., Błażewicz M., Makinen K., Dobrzyński P., Kasperczyk J., Bero M.: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktynu dla celów medycznych. In: *Biomater.* 2000, 12, 23-28.
- [11] Verheyen C.C.P.M., De Vries J.R. et al.: Evaluation of hydroxyapatite (POLY(L-LACTIDE) composites: mechanical behaviour. *J. Biomedical Materials Research.* 1992, 26, 1277-1296.
- [12] Verheyen C.C.P.M., De Vries J.R. et al.: Hydroxyapatite (POLY(L-LACTIDE) composites: an animal study push-out strengths and interface histology. *J. Biomedical Materials Research.* 1993, 27, 433-444.

BIOZGODNE I NIE BIOZGODNE PRODUKTY DEGRADACJI WŁÓKIEN W GŁOWYCH

M. BŁAŻEWICZ*, E. MENASZEK**, E. STASZKÓW***,
A. POWROŃNIK*

*AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW, KRAKÓW

**UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI, COLLEGIUM MEDICUM, KRAKÓW

***SZPITAL IM. S. EROMSKIEGO, KRAKÓW

Streszczenie

Włókna w głowie, otrzymywane w różnych postaciach i formach (włókniny, plecionki, faza wzmocniająca polimery) stosowane są w medycynie od wielu lat (1-9).

Znaczna część włókien w głowym używana była jako protezy ścięgna i więzadeł, natomiast w giel w formie włókien stosowany jest do leczenia ubytków tkanek. Kompozyty z włóknami w głowym w osnowach w głowym lub polimerowych stosowane są obecnie do leczenia tkanki kostnej. Kompozyty włókniste są z powodzeniem wykorzystywane w ortopedii ponieważ otrzymywane są jako materiały o anizotropii właściwości mechanicznych, identycznej z tkanką kostną. Protezy wykonane z włóknistych materiałów kompozytowych posiadają zdolność przenoszenia naprężenia na otaczające tkanki, która nie powoduje negatywnych reakcji w kości a prowadzi do powstania optymalnego połączenia z implantem (7).

Jednakże opinie o naturze biogodności, implantów wykonanych z włókien w głowym, pozostają nadal różnicowane i kontrowersyjne. Wiele poglądów sprowadza się do konkluzji, że włókno w głowym posiada dużą potencjał do zastosowań medycznych, jednakże produkty jego degradacji mogą być nie bio-

BIOCOMPATIBLE AND NON - BIOCOMPATIBLE DEGRADATION PRODUCTS OF CARBON FIBERS

M. BŁAŻEWICZ*, E. MENASZEK**, E. STASZKÓW***,
A. POWROŃNIK*

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

** JAGIELLONIAN UNIVERSITY, COLLEGIUM MEDICUM, CRACOW

*** MUNICIPAL HOSPITAL S. EROMSKI, CRACOW

Abstract

Carbon fibers manufactured in different forms and shape (fabrics, braids, reinforcing phase of polymers) have been attempted in medicine for many years. A significant part of carbon fibrous implants were used as prostheses of ligaments and tendons whereas carbon fabrics and tissue for filling of tissue defects. Carbon fibers - based carbon or polymers composites are nowadays considered to be used for the treatment of hard tissue. Such composite implants are useful materials for many orthopedic application because they can be designed and fabricated to possess anisotropic mechanical properties matched to physiological properties of bone. A prosthesis made of such composite can mimic normal transfer of weight bearing forces through to supporting bone and allows for significant reduce bone loss providing long-term stability.

However, opinions on nature of biocompatibility of carbon fibers - based implants are different and controversial. Several data showed that carbon fibers are very promising materials while possible degradation products may be non-biocompatible.

zgodne z ywymi tkankami (7-9).

Na ogół, włókna w glowe otrzymuje si na drodze pirolizy polimerowych prekursorów. Podczas termicznego rozpadu organicznej substancji formuje si grafito- podobna struktura z licznymi defektami.

Włókna w glowe słu ce do otrzymywania implantów s materiałem, który posiada ogromne mo liwo ci w zakresie modyfikacji mikrostruktury. Ten parametr włókna w glowego jest w znacznej mierze zale ny od mikrostruktury polimerowego prekursora. Mikrostruktura włókien w glowych jest decyduj cym parametrem z punktu widzenia rodzaju produktów degradacji.

W pracy analizowali my odpowied tkankow , na produkty degradacji dwóch typów włókien w glowych, ró ni cych si mikrostruktur . Próbki dwóch rodzajów włókien w glowych były implantowane do mi - nia szkieletowego, dorosłych szczurów. Reakcja tkanek na produkty degradacji włókien w glowych była okre lana, mi dzy innymi na drodze analizy aktywno ci enzymów (EN, PK, CCO), w funkcji czasu.

Z naszych bada wynika, e odpowied tkanek na ka dy z rodzajów włókien jest odmienna. Cz stki powstaj ce w wyniku rozpadu włókien, w formie nano- włókienek mog indukowa reakcje komórek wiad- cz ce o ich toksyczno ci. Podczas gdy produkty de- gradacji typowych włókien, otrzymanych z litego pre- kursora s biozgodne z tkankami szczura.

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 234-235]

Podzi kowania

Praca została wykonana w ramach grantu KBN, PBZ - KBN - 082-T08/2002.

Pi miennictwo

- [1] Jenkins DHR. The repair of cruciate ligaments with flexible carbon fiber. *J.Bone Joint Surg.* 1978, 60. 520-522.
- [2] McKibin B. New materials in orthopedics: carbon fibers. Edinburgh; Churchill Livingstone, 1983, 179-203.
- [3] Blazewicz M., Carbon materials in the treatment of soft and hard tissue injuries, *European Cells and Materials*, 2001, 2, 21-29.
- [4] Blazewicz M., Blazewicz S., Wajler C., Mechanical and implant behaviors of chemically modified carbon braids, *Ceramics International*, 1994, 20.
- [5] Kus W., Gorecki A., Strzelczyk P., Swiader P., Carbon fiber scaffolds in the surgical treatment of cartilage lesions, *Ann. Transplant*, 1999, 4, 102.

Usually, carbon fibers are prepared by pyrolysis of polymer precursor. During thermal decomposition of an organic substance, graphite- like structures with numerous defects are formed.

Carbon fibers - based biomaterial forms a material which offers unprecedented possibilities to modify the microstructure. This parameter strongly depends on the type of microstructure of polymer precursor. Microstructure of carbon fibers is very important factor influencing their degradation products.

We have analyzed the in vivo behavior and tissue response to degradation products of two kinds of carbon fibers differing in microstructure. The samples obtained from two kinds carbon fibers were implanted into the glutei muscle rat of adult rats. Tissue reaction towards degradation products of carbon fibers were estimated by studying the activity of enzymes (EN, PK, OCC) as a function of time The intensity of histochemical reaction was estimated by the microdensitometric methods From this study indicates that tissue response to debris of two kind of carbon fibers is different. Carbon particles in form of nanofibers obtained from one type of carbon fibers invoke toxic reaction for rat cells. On the contrary, the debris obtained from typical carbon fibers show very good biocompatibility.

[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 234-235]

Acknowledgment

This work was supported by the State Committee for Scientific Research (grant PBZ - KBN-082- T08/2002).

References

- [6] Minns R.J. Muckle D.S., Donkin J.E., The repair of osteochondral defect in osteoarthritic rabbit knees by use of carbon fibre, *Biomaterials*, 1982, vol. 3, 4.
- [7] Ramakrishna S Mayer J. Wintermantel E. Leong K.W. Biomedical applications of polymer -composite materials: a review. *Composites Science and Technology* 2001, 61, 1189-1224.
- [8]. Debanth U.K., Fairelough J.A., Williams R.L. Long-term local effects of carbon fiber in the knee, *The Knee*, 2004,259-264.
- [9] Elias K.L., Price R.L., Webster T.J. Enhanced functions of osteoblasts on nanometer diameter carbon fibers. *Biomaterials* 2002, 23, 3279-3287.

POROWATE WSZCZEPY Z BOWE Co-Cr-Mo Z BIOSZKŁEM Z NATYCH- MIASTOW ODBUDOW PROTETYCZNYCH – WSTĘPNE BADANIA DO WIADCZALNOŚCI

ADWENT MAREK, CIELIK-BIELECKA AGATA, CIELIK TADEUSZ

I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ LAM
ZABRZE

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43,(2004),236-237]

Wstęp

Wszczepy z bryły były wykonywane już w starożytności. Wykorzystywano do tego specjalnie przygotowane muszle lub zębiny ludzkie mocowane za pomocą nici do zębów siednich. O początkach nowoczesnej implantologii można mówić od momentu wprowadzenia w latach 30 XX wieku stopu kobaltowo-chromowo-molibdenowego (CoCrMo). Ówczesne wszczepy wykonane z tego materiału były w stanie wytrzymać w dobrym stanie funkcjonalnym nawet 15 lat. Dalszym krokiem w rozwoju implantologii było wprowadzenie w latach 60 XX wieku stopów tytanu, wszczepu w kształcie rury oraz zaobserwowanie zjawiska osteointegracji czyli bezpośredniego połączenia wszczepu z kością. Jest to w chwili obecnej jedyny, uznawany za właściwy sposób włączania się metalowego wszczepu do kości. Im większa powierzchnia kontaktu wszczepu z kością, tym lepsze jest jego utrzymanie. Słynne sposoby modyfikacji powierzchni wszczepów: wytrawianie kwasem, piaskowanie, natryskiwanie ceramicznymi fosforanami, natryskiwanie tlenkiem tytanu. Na wydziale Metalurgii i Materiałoznawstwa Politechniki Białostockiej opracowano metodę otrzymywania porowatych wszczepów kobaltowo-chromowo-molibdenowych (CoCrMo) poprzez zgrzewanie i doprasowanie obwiedniowe sproszkowanych stopów CoCrMo. Wyżej wymieniona metoda pozwala na uzyskiwanie kompozytów w/w stopów z np. hydroksyapatytem, bioszklą. Kompozyty te można zaprojektować w taki sposób aby miały z góry zaplanowane właściwości. Materiał został dokładnie przebadany w badaniach do wiadczalności na zwierzętach [3]. Wykazały one, że badane wszczepy wszczepione w uchwyt królików połączyły się z kością bez obecności tkanki łącznej i po roku nie wywoływały patologicznych reakcji [1]. Kolejnym etapem badań było przygotowanie wszczepów z bryły. Celem badań jest ocena przygotowanych wszczepów z bryły z odbudową protetyczną w badaniach in vivo.

Materiał i metody

Badane wszczepy miały wysokość 80 mm i średnicę 5 mm w części koronowej oraz 3,7 mm w części korzeniowej. Dla zwiększenia powierzchni przylegania do kości wykonano poziome i pionowe nacięcia. W części koronowej wszczepu przygotowano miejsce do zamocowania filara protetycznego (RYS. 1, 2).

POROUS COMPOSITES Co-Cr-Mo+BIODGLASS IMPLANTS WITH IMMEDIATE PROSTHETIC RECONSTRUCTION – PRELIMINARY ANIMAL STUDY

ADWENT MAREK, CIELIK-BIELECKA AGATA, CIELIK TADEUSZ

I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ LAM
ZABRZE

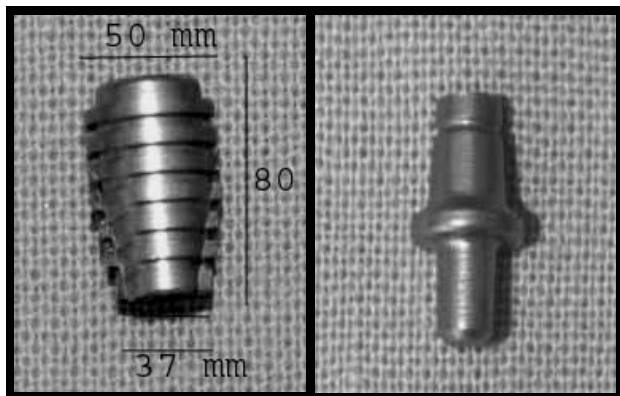
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 236-237]

Introduction

Dental implants have been known since antiquity. Specially prepared shells or human teeth were fixed to the other teeth with help of thread. The modern implantology had started since introduction of the CoCrMo alloy in third decade of XX century. The implants made of those materials provided its proper function for more than 15 years. Significant development of dental implantology were followed by introduction of titanium, screw shape implants and observing of osteointegration. Nowadays it is considered as the only proper way of healing of the implant to the bone. The more bone have a contact with the implant the better is stabilization of one. There are different ways of surface modification-acid etching, sandblasting, TiO₂ or HA coatings. In the Department of Material Science, Faculty of Mechanics, Technical University Białystok method of receiving of porous implants was worked out. Rotary cold repressing and heat treatment of porous materials from CoCrMo alloy allows to achieve composites with for example bioglass or HA. This method allows also to design planned properties of composites. The material has been examined in previous animal studies and the outcomes were very promising [3]. In the rabbit mandible the porous CoCrMo alloys directly joined to the bone and did not induced any local and general pathological processes [1]. Preparation of dental implants was next stage of the experiment. The aim of the study was in vivo evaluation of porous CoCrMo+10% bioglass dental implants with immediate prosthetic reconstruction.

Material and methods

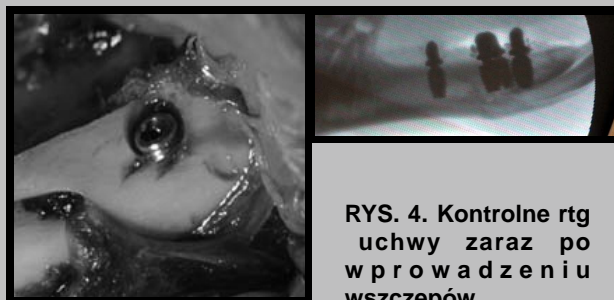
The implants were 80 mm height and 5 mm diameter in crown parts as well as 3,7 mm in radicular part. For enlargement of surface of adhesion of bone horizontal and perpendicular grooves were made. In the crown part special whole was prepared for fastening of the abutment (FIG. 1, 2). The experimental study were made on the 3 sheep. All surgery were made in the Central Experimental Animal Clinic of Silesian Medical University after approval of Bioethical Commission. The surgery were performed in general anesthesia. Additionally in the operating area local anesthetic 2% lidocaine was injected. Before the surgery radiography of the mandible were made to evaluate ana-



RYS. 1. Badany wszczep CoCrMo + bioszkło.
FIG. 1. CoCrMo + bioglass implant.

RYS. 2. Filar prote- tyczny.
FIG. 2. Prosthetic abutment.

Badania do wiadczalne przeprowadzono na 3 owcach, w Centralnej Zwierz tami lskiej Akademii Medycznej za zgod Komisji Bioetycznej. Zabiegi przeprowadzono w znie- czuleniu ogólnym do ylnym. Dodatkowo okolic implanta- cji ostrzykiwano znieczuleniem miejscowym 2% lignokain . Po znieczuleniu zwierz t a przed wprowadzeniem wszcze- pów wykonywano skopi uchwy celem ustalenia warun- ków anatomicznych. Nast pnie nacinano błon luzow wraz z okostn i odpreparowywano odsłaniaj c trzon uchwy. Wiertłem ró yczkowym wykonywano nawierty pocz t- kowe w korowej blaszce kostnej. Nast pnie wiertłem pilo- tuj cym o rednicy 2 mm wykonywano kanał w ko ci na gł boko 8 mm. Wykonany kanał poszerzano kolejno wier- tłami o rednicy 2,8 mm, 3,8 mm i frezem ostatecznym o rednicy 4,5 mm. Wiertła chłodzono jałow wod do wstrzyk- ni . W tak przygotowane kanały wprowadzano badane wszczepy, które delikatnie wbijano (RYS. 3). We wszyst- kich przypadkach uzyskiwano stabilizację pierwotną, któr sprawdzano próbuj c wyci gn badane wszczepy. Próby te ko czyły si nieopowodzeniem. Nast pnie do wszcze- pów mocowano filary protetyczne. Rany zaszywano szczel- nie w taki sposób, aby talerzyk filara protetycznego znajdo- wał si na łonie luzowej. Po zaszyciu ran na filary wszcze- pów cementowano przygotowane wcze niej uzupełnienia protetyczne. W trzon uchwy po stronie prawej wprowa- dzono wszczepy wykonane ze stopów tytanu, po stronie lewej kompozyty kobaltowo-chromowo-molibdenowe z 10% bioszkłem. Po wprowadzeniu wszczepów wykonywano kon- trolne radiogramy (RYS. 4). Wst pne wyniki bada klinicz- nych nie wykazały patologicznych odczynów we wczesnym okresie pozabiegowym. W podsumowaniu nale y stwier- dzi , e bioszkło b d ce dodatkiem kompozytów indukuje odbudow kostn na granicy z wszczepem, co potwier- dzaj doniesienia literaturowe [2]. Na podstawie wcze niej- szych bada spodziewane jest prawidłowe gojenie wszcze- pów. Natomiast aby oceni wyniki tego modelu do wiad- czenia konieczne s dalsze obserwacje



RYS. 3. Badany wszczep wpro- wadzony w ko .
FIG. 3. The implant placed in the bone.

RYS. 4. Kontrolne rtg uchwy zaraz po wprowadzeniu wszczepów.
FIG. 4. The mandible radiogram taken after implants placement.

tomical structures. After incision and dissection of oral mu- cos and periosteum the implant canal was prepared with pilot drill of 2 mm diameter and subsequently 2.8, 3.8, and finally 4.5 drill. The bits were permanently cooled during drilling. After bone preparation the examined implants were pressed in. The mucous membrane and perionsteum were sutured followed abutment placement. Temporary crowns were cemented after finishing of surgical procedudres. In the right mandible corpus were placed titanium implants and in the left one CoCrMo+10% bioglass porous implants. After implant placement check-up radiogram was taken (FIG. 4). The preliminary clinical evaluation reveled wound healing without disturbances. The previous experiments as well as literature prove good outcomes of implantation of the bioglass reinforced implants [3]. However for the evalua- tion of this animal model further observation are required.

Pi miennictwo

References

[1] Adwent M., Cie lik T., D browski J.R., Sabat D., Wróbel J.: Stopy CoCrMo otrzymywane metod metalurgii proszków jako wsz- czepy ródkostne dla zwierz t. Med. Weterynaryjna 2004, 3, 262-264.
[2] Aldini N.N., Fini G., Martini L., Dubini B., Ponzi Bossi M.G., Ru- stichelli F., Krajewski A., Ravaglioli A., Mazzocchi M., Giardino R.: Osteointegration of bioactive glass-coated and uncoated zirconia in osteopenic bone:an in vivo experimental study. J. Biomed. Ma- ter. Res. 2004,1, 68A(2), 264-272.
[3] Jodkowska K., Kłos Z.: "Przy yciowa ocena nast pstw wszcze- pienia implantów wykonanych ze spieku proszku stopu CoCrMo z dodatkiem bioszkła oraz kompozytu w głowego w brzeg bezz bo- wy uchwy u kozłów. In . Biomat. 2001, 17-19, str. 55-56.

OCENA WST PNA KOPOLIMERÓW P(LLA/ GLA) WPROWADZONYCH W TKANKI MIKKIE I UCHW KRÓLIKÓW NOWOZELANDZKICH

CIE LIK-BIELECKA AGATA*, ADWENT MAREK*,
PROSZEK MAGDALENA**, BAJOR GRZEGORZ***,
SABAT DANIEL****, CIE LIK TADEUSZ*

*I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZ KOWO-TWARZOWEJ L.AM,
ZABRZE

**KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNAWSTWA STOMATOLOGICZNEGO
L.AM, BYTOM

***KATEDRA CHIRURGII DZIECI CEJ L.AM, KATOWICE

****KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII L.AM, ZABRZE

[In ynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 238-239]

Polimery kwasu mlekowego znalazły stałe miejsce w chirurgii w 1962 roku, kiedy to amerykańska firma wprowadziła nici wykonane z poliglikolidu pod nazwą handlową Dexon. W 1975 roku kopolimer laktydu i glikolidu, również resorbowalny chirurgicznie – Vikryl. Dzięki niemu bardzo dobrej biokompatybilności kopolimery znalazły kolejne zastosowania w klinice człowieka. Zaczęto używać ich jako nośników leków. Dzięki odpowiednio dobranym parametrom kopolimeru można w kontrolowany sposób uwalniać z niego leki, ustalając szybkość uwalniania i czas. Kopolimery polilaktydu i glikolidu znalazły też zastosowanie w chirurgii jako elementy stabilizujące [1]. Synteza kopolimerów odbywa się na drodze reakcji otwarcia pierścienia z zastosowaniem inicjatora cynowego [2]. Ze względu na własności toksyczne cyny próbowano zmienić inicjatory na związki nie zawierające metali ciężkich. Uzyskane polimery charakteryzowały się jednak małymi masami cząsteczkowymi, a tym samym niską wytrzymałością mechaniczną. Aby otrzymać polimery o większej masie cząsteczkowej, a tym samym lepszej wytrzymałości mechanicznej konieczne było zadziałanie inicjatorem należącym do grupy metali ciężkich. Najlepsze właściwości okazał się inicjator cyrkonowy. Przeprowadzone badania in vitro potwierdziły mniejszą toksyczność nowego inicjatora w porównaniu z poprzednio stosowanymi związkami cyny [3]. Celem niniejszej pracy była ocena kopolimerów P(LLA/GLA) wszczepionych królikom. Badania doświadczenia na grupie 30 królików nowozelandzkich przeprowadzono za zgodą Komisji Bioetycznej przy Polskiej Akademii Medycznej w Katowicach. Zwierzęta operowano i przechowywano w Centralnej Zwierzętarni Polskiej Akademii Medycznej w Katowicach. Po znieczuleniu zwierzęcia nacinano skórę w okolicy poduchwowej po stronie lewej i docierano do trzonu uchwy. Wiertłem o średnicy 2,9 mm wykonywano kanał na dolnej krawędzi trzonu uchwy poniżej przebiegu zębca siecznego. W tak przygotowane miejsce wprowadzano badany wszczep z kopolimeru laktydu i glikolidu, w kształcie walca o średnicy 3 mm (RYS. 1).

Rany zaszywano. Następnie z cięcia skórznego na grzbiecie preparując tkankę docierano do miejsca prostego grzbieca, w którym po wytworzeniu kieszeni umieszczano fragment badanego wszczepu. Podobnie wszczep umieszcza-

PRELIMINARY RESULTS OF P(LLA/GLA) COPOLYMERS IMPLANTED INTO RABBITS SOFT TISSUES AND MANDIBLE

CIE LIK-BIELECKA AGATA*, ADWENT MAREK*,
PROSZEK MAGDALENA**, BAJOR GRZEGORZ***,
SABAT DANIEL****, CIE LIK TADEUSZ*

*I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZ KOWO-TWARZOWEJ L.AM,
ZABRZE

**KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNAWSTWA STOMATOLOGICZNEGO
L.AM, BYTOM

***KATEDRA CHIRURGII DZIECI CEJ L.AM, KATOWICE

****KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII L.AM, ZABRZE

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 238-239]

Lactide acid polymers are known in the surgery since 1962s when one of the American firms introduced polyglycolide sutures named Dexon and then in 1975s copolymer lactide and glycolide sutures named Vicryl. The copolymers are used as a drug delivery system as well as in bone stabilization [1]. Copolymers are synthesized by opening ring reaction with is activated by the tin [2]. Because of toxic properties of the tin there were trials for changing of the activator and the best properties has a zirconium activator which is less toxic [3].

The aim of this experiment was the evaluation in vivo of lactide-co-glycolide with hydroxyapatite composites. Examinations were performed on 30 white rabbits. Experiments were performed in Central Experimental Hospital Silesian Medical University in Katowice after obtaining agreement of Bioethics Commission of Silesian Medical University. Examined biomaterial cylinder shaped and 3 mm diameter was placed into canal which was made in mandible corpus of the left side (FIG. 1). This biomaterial was also implanted into straight muscle of the dorsum and subcutaneous tissue. Wounds were sutured. In 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 week of experiment laboratory, histopathological, radiological examinations were performed. Healing of wounds was correct. There was no swelling and pathological secretion from wound. 3 weeks radiograms showed round bone defect with alight inside and smooth borders, surrounded by trabecular bone. Microscopic evaluation revealed young connective tissue with osteogenetic activity. After three weeks mature bone was present. Only in a small area which had contact with periodontal tissue connective tissue adhered to the implant. In the subcutaneous area as well as in muscles implants were surrounded by fibrous capsule. In the early stage observation - one week graft placed in the subcutaneous area there were traces of inflammatory secretion with presence of lymphocytes and plasmatic cells. Evaluation of the kidneys and liver did not revealed any pathology.

Conclusions

Lactide-co-glycolide copolymers do not induce the local or general pathological responses. The was osteointegration process visible in the 3 weeks after implant placement.

no w kieszeni wytworzonej w tkance podskórnej. Rany szczelnie zaszywane. Okresy kontrolne wyznaczono na 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 tygodnie. Po likwidacji zwierząt pobierano krew celem wykonania badań laboratoryjnych. Pobierano trzon uchwy z badanym wszczepem do oceny radiologicznej i histopatologicznej. Pobierano również fragment mięśnia i tkanki podskórnej zawierające badany wszczep oraz wtroby i nerki.

Gojenie ran pooperacyjnych odbywało się przez rychłozrost. Nie obserwowano reakcji patologicznych. Badania radiologiczne wykazały obecność ubytku w kości o równych, dobrze odgraniczonych brzegach, średnicy 3 mm, bez obecności cech patologicznych. Wokół ubytku znajdowała się ubieleczkowana kość (RYS. 2).

W ocenie histopatologicznej po 7 dniach do wiadczenia w miejscu wszczepu widoczna była młoda tkanka łączna włóknista z cechami odbudowy tkanki kostnej – osteogenezy. Po 3 tygodniach obserwacji kanał wszczepu pokryty był już dojrzałą tkanką kostną. Jedynie dno kanału, siedzący w nim kanał z kanałem zębą, pokryte było warstwą tkanki łącznej włóknistej. Przez cały okres wczesnej obserwacji w skórze właściwej lub głębokiej w tkance podskórnej widoczna była cienka torebka łącznotkankowa pokrywająca wszczep. Po 1 tygodniu towarzyszył jej jeszcze niewielki wysięk zapalny złożony z limfocytów i komórek plazmatycznych. W późniejszym okresie, po 3 tygodniach, obserwowano czasami nieznaczne pogrubienie torebki z obecnością włókien kolagenowych.

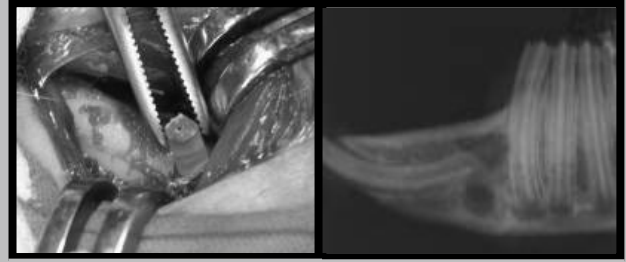
W tkance mięśniowej reakcja na wszczep była znacznie wyżej wyrażona. Poczynając od 1-2 tygodni obserwowano cechy obumierania i martwicy skrzepowej uszkodzonych włókien mięśniowych z towarzyszącym wywym odczynem zapalnym. Towarzyszył temu rozrost młodej tkanki łącznej włóknistej. Po 3 tygodniach obserwacji wokół wszczepu widoczna była wyraźna torebka zbudowana z tkanki łącznej włóknistej. Tkanka włóknista tworzyła także blizny łącznotkankowe w miejscu uszkodzonych włókien mięśniowych.

Wnioski

Kopolimery czystego laktydu z glikolidem nie wywołują patologicznych odczynów miejscowych i ogólnoustrojowych, a gojenie ubytku kostnego wypełnionego tym wszczepem odbywa się na drodze oteointegracji już w 3 tygodniu do wiadczenia.

Podziękowania

Badania przeprowadzono w ramach projektu badawczego Komitetu Badań Naukowych nr 3 T09B 010 17.



RYS. 1. Moment wprowadzenia wszczepu w trzon uchwy.
FIG. 1. Implant insertion in mandible corpus

RYS. 2. Rentgenogram boczny uchwy, strona lewa 2 tygodnie. Widoczny ubytek kości o średnicy 3 mm.
FIG. 2. X ray, mandibula, left side, 2 weeks. Bone defect diameter 3 mm.

Acknowledgements

The work was carried out under Contract No. 3 T09B 010 17 financed by the Polish Committee for Scientific Research.

Piśmiennictwo

References

- [1] Brand J. Jr, Weiler A., Caborn D., Brown Ch. Jr, Johnson D.: Graft fixation in cruciate ligament reconstruction. *The American Journal of Sports Medicine*. 2000, 5, 761-774.
- [2] Dobrzyński P., Kasperczyk J., Bero M.: Nowe możliwości syntezy i zastosowania w medycynie biodegradowalnych kopolimerów glikolidu nie zawierających cyny. In: *Wyniki Biomateriałów 2002*, 23-23, 27-29.

WCZESNE OBSERWACJE GOJENIA SI WSZCZE- PÓW KOPOLIMERÓW P(LLA/GLA)+HA WSZCZE- PIONYCH W UCHW I TKANKI MI KKIE KRÓLIKÓW

ADWENT MAREK*, CIE LIK-BIELECKA AGATA*, PROSZEK
MAGDALENA**, BAJOR GRZEGORZ***, SABAT DANIEL****,
CIESLIK TADEUSZ*

*I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZ KOWO-TWARZOWEJ L.AM,
ZABRZE

**KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNAWSTWA STOMATOLOGICZNEGO
L.AM, BYTOM

***KATEDRA CHIRURGII DZIECI CEJ L.AM, KATOWICE

****KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII L.AM, ZABRZE

[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 240-241]

Biomateriały zajmują stałe miejsce w chirurgii człowieka. Spośród licznej grupy materiałów, które wprowadza się w ludzkie tkanki szczególne miejsce zajmują polimery oraz hydroksyapatyt. Polimery kwasu mlekowego wykorzystywane są jako nośniki leków, materiał szewny, jako materiał wypełniający ubytki kostne po operacji np. torbieli, jako elementy zespalające złamania kości. Materiały te degradują w środowisku tworząc proste α -hydroksykwasy. Kinetyka degradacji polimerów decyduje o ich zastosowaniu. Pomimo przeprowadzenia licznych badań nie wyjaśniono w pełni mechanizmów degradacji polimerów PLLA [2]. Właściwości polimerów pozwalają na tworzenie kompozytów, np. z hydroksyapatytem. Hydroksyapatyt jest stosowany w chirurgii kostnej od wielu lat. Jest podobny do kości i stymuluje jej wzrost [3]. W zależności od stopnia krystalizacji hydroksyapatytu można ustalić przypuszczalny czas jego resorpcji. Podobne możliwości dają kopolimery laktydu i glikolidu. W zależności od składu procentowego kopolimerów ustala się przypuszczalny czas ich rozkładu. Zastosowanie biomateriałów jest uzasadnione w przypadkach, w których ważne jest zachowanie kształtu i wysokości odbudowywanej kości. Biomateriał stanowi szkielet do odbudowy nowej tkanki kostnej [1]. Z czasem powinien on ulec wchłonięciu, a w jego miejscu wytwarza się kość. Celem powyższych badań była ocena in vivo kompozytów kopolimeru laktydu i glikolidu z hydroksyapatytem.

Badania przeprowadzono na grupie 30 królików nowozelandzkich, którym wszczepiano badane kompozyty. Zabiegi przeprowadzono w Centralnej Zwierzętarni Doświadczalnej I Licealnej Akademii Medycznej w Katowicach po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej I Licealnej Akademii Medycznej. Badany materiał w kształcie walca o średnicy 3 mm wprowadzano w kanał wykonany w trzonie uchwytu po stronie lewej (RYS. 1).

Próbki materiału wszczepiano także w miejsce prosty grzbietu i kiesze wytworzone w tkance podskórnej na grzbiecie. Rany szczelnie zaszywano. W okresach kontrolnych przypadających na 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 tygodni wykonywano badania laboratoryjne, radiologiczne i histopatologiczne tkanek z miejsc wprowadzenia implantów. Pobierano również

THE COPOLYMERS P(LLA/ GLA)+HA IMPLANTED INTO MANDIBLE AND SOFT TISSUES OF THE RABBITS-EARLY STAGE EVALUATION

ADWENT MAREK*, CIE LIK-BIELECKA AGATA*, PROSZEK
MAGDALENA**, BAJOR GRZEGORZ***, SABAT DANIEL****,
CIESLIK TADEUSZ*

*I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZ KOWO-TWARZOWEJ L.AM,
ZABRZE

**KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNAWSTWA STOMATOLOGICZNEGO
L.AM, BYTOM

***KATEDRA CHIRURGII DZIECI CEJ L.AM, KATOWICE

****KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII L.AM, ZABRZE

[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 240-241]

Biomaterials are very often used in human surgery. The polymers and hydroxyapatite have a solid place in a large group of biomaterials. Lactide acid polymers are used as a drug delivery system, sutures, as material which is used in filling bone defects after cysts resection as well as materials for osteosynthesis. These materials decompose in environment to simple α -hydroxyacids. Kinetics of its decomposition processes determine the polymers using. Many experiments were performed, but decomposition process of polymers PLLA is still not explained [2]. Properties of the polymers allow to form composites for example with the hydroxyapatite. The hydroxyapatite have been used in bone surgery for many years. It is similar to bone and it stimulates its growth [2]. Depending on crystallization degree of hydroxyapatite probable time of its resorption can be established. The same properties have lactide and glycolide copolymers. By changing percent relation of copolymers, suppose time of its degradation is established. Biomaterials are used in guided bone regeneration when sufficient bone height is required. [1]. Within few months biomaterial should have been absorbed and replaced with new bone formation.

The aim of these experiment was in vivo evaluation of composites polylactide-co-glycolide + hydroxyapatite. Examinations were performed on the group of 30 white rabbits in Central Experimental Hospital Silesian medical University in Katowice after obtaining agreement of Bioethics Commission of Silesian Medical University. The examined cylinder shaped, 3 mm diameter implant was placed into canal which was made in the mandible corpus of the left side (FIG. 1). This biomaterial was also implanted into straight muscle of the dorsum and subcutaneous tissue. Wounds were sutured. In 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 week of experiment laboratory, histopathological evaluation and radiological examinations were performed. Healing of wounds was correct. There was no swelling and pathological secretion from wound. After 3 weeks wounds were healed primary. After 3 weeks on X ray 3mm diameter bone defect was seen with smooth edge. Around the defect trabecular bone was seen. There was no trace of inflammatory response (FIG. 2). Histopathological evaluation revealed young fibrous tissue with

w troby i nerek do oceny histopatologicznej.

Badaniem klinicznym stwierdzono prawidłowe gojenie się ran pooperacyjnych. Nie stwierdzono obrzęku ani patologicznej wydzielin z rany w poszczególnych okresach kontrolnych. Obserwowano gojenie się przez rychłozrost. Po okresie 3 tygodni rany były całkowicie wygojone.

Badaniem radiologicznym po okresie 3 tygodni stwierdzono ubytek kostny o średnicy około 3 mm o gładkich brzożkach. Wokół ubytku znajdowała się uboleczkowana kość. Nie stwierdzono cech odczynu zapalnego ze strony kości (RYS. 2).

W badaniu histopatologicznym uchwycy po 7 dniach doświadczenia kanał wszczepu pokryty był młodą tkanką włóknistą. Na jej powierzchni i w głębi obserwowano bardzo wyjątkowe odbudowy tkanki kostnej. Po 3-tygodniowym okresie obserwacji kanał wszczepu był wyraźnie uformowany i pokryty dojrzałą tkanką kostną. W skórze włośni lub tkance podskórnej obecna była cienka torebka włóknista pokrywająca wszczep. Wewnątrz niej widoczne były mgiełkowate złoże hydroksyapatytu i polilaktydu. Po 3 tygodniach obserwacji torebka była nieco pogrubiała, z obecnymi włóknami kolagenowymi. W ścianie torebki i wokół niej, w otaczającej tkance obserwowano pojedyncze olbrzymiokomórkowe ziarniniaki typu około ciała obcego powstałe wokół drobin hydroksyapatytu lub polilaktydu. Nie obserwowano wokół torebki odczynu zapalnego.

Zmiany w tkance mięśniowej przebiegały w sposób typowy. Po 1 tygodniu obserwacji wyraźnie zaznaczona była wokół wszczepu torebka włóknista, cechy bliznowacenia i regeneracji włókien mięśniowych oraz niezbyt obfity naciek zapalny. Po 3 tygodniach doświadczenia torebka włóknista w tkance mięśniowej była wyraźnie wykształcona i znacznie pogrubiała w miejscach obecności blizny włóknistej. Posiadała liczne włókna kolagenowe. Ponadto obserwowano pojedyncze ziarniniaki typu około ciała obcego. Badania histopatologiczne w troby i nerek wykazały prawidłowy obraz tych narządów.

Wnioski

1. Badane wszczepy nie wywołują odpowiedzi patologicznej po wszczępieniu do żywego organizmu.
2. Gojenie wszczepów w kości odbywa się na drodze osteointegracji.

Podziękowania

Badania przeprowadzono w ramach projektu badawczego Komitetu Badań Naukowych nr 3 T09B 010 17.

Piśmiennictwo

- [1] Cieplik-Bielecka A., Sabat D., Szczurek Z., Król W., Bielecki T., Cieplik T.: Wpływ odbiałczonej kości bydliwej na gojenie ran kostnych. Inżynieria Biomateriałów, 2001, 17-19, 36-37.
- [2] Czajkowska B., Kowal J.: Wpływ makrofagów na proces degradacji poli (kwasu L-mlekowego). Inżynieria Biomateriałów, 2002, 22, 23-28.



RYS. 1. Wszczep P(LLA/GLA) + HA wprowadzony w trzon uchwy po stronie lewej. Widok od strony przyrodkowej.
FIG. 1. Implant P(LLA/GLA)+HA inserted in mandibular corpus of the left side.

RYS. 2. Rentgenogram boczny uchwy, strona lewa, 3 tygodnie. Widoczny ubytek w kości o średnicy 3 mm. Brak cech odczynu zapalnego ze strony kości.

FIG. 2. X ray, mandible, left side, 3 weeks. Bone defect 3 mm diameter. There are no evidence of pathological processes.

evidences of active bone regeneration. After 3 weeks ripe bone covered well shaped implantation canal. In the subcutaneous tissue thin fibrous capsule was revealed within traces of HA and polylactide. After three weeks the wall of the capsule was thickened with presence of foreign body granulomas formed around Ha and PLLA particles. There were no evidence of inflammatory response around capsule. In the muscles changes were typical. After 3 weeks fibrous capsule was formed and thickened with presence of collagen fibers. There were single foreign body granulomas. There were no trace of pathology in the examination of kidneys and liver.

Conclusions

1. Examined implants do not induce pathological response after implantation to living organism.
2. Implants connected directly to the bone that means that osteointegration process was present.

Acknowledgements

The work was carried out under Contract No. 3 T09B 010 17 financed by the Polish Committee for Scientific Research.

References

- [3] Shwartz, Weesner T.: Ability of deproteinized cancellous bovine bone to induce new bone formation. J. Periodontal, 2000, 71, 1258-1261.

OCENA GOJENIA RAN KOSTNYCH UCHWY KRÓLIKÓW WYPEŁNIONYCH KOPOLIMEREM P(LLA/ GLA) WZMACNIANYM WŁÓKNAMI W GŁOWYMI

MAGDALENA PROSZEK*, MAREK ADWENT**,
AGATA CIE LIK-BIELECKA**, GRZEGORZ BAJOR***,
DANIEL SABAT****, TADEUSZ CIE LIK**, ANNA MORAWSKA*****

*KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNAWSTWA STOMATOLOGICZNEGO
L.AM, BYTOM

**I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ
L.AM, ZABRZE

***KATEDRA CHIRURGII DZIECI CEJ L.AM, KATOWICE

****KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII L.AM, ZABRZE

*****AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW, KRAKÓW

Streszczenie

Celem pracy była ocena niektórych właściwości biologicznych kompozytu otrzymanego z biodegradowalnego kopolimeru glikolidu z laktidem wzmocnionego włóknami w głowach królików. Wyniki przeprowadzonych badań na zwierzętach poddano ocenie klinicznej, radiologicznej i histopatologicznej. Uzyskane wyniki badań wykazały, iż badany materiał nie wywołuje negatywnych odczynów miejscowych i ogólnoustrojowych, a najbardziej aktywny proces odnowy tkanki kostnej następuje między 14 a 21 dniem, natomiast mineralizacja pomiędzy 6 a 12 tygodniem obserwacji.

Słowa kluczowe: biomateriały, materiały biodegradowalne, kopolimer P(LLA/GLA), włókna w głowie, regeneracja tkanki kostnej, badania na zwierzętach
[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 242-246]

Wprowadzenie

Od szeregu lat dzięki znacznemu rozwojowi techniki i wprowadzeniu nowych technologii w zabiegach odtworczych stosuje się w medycynie tzw. "materiały obce" tj. tworzywa metaliczne, materiały ceramiczne, polimery czy kompozyty - określane jako biomateriały. Mogą one stanowić rusztowanie dla wrastających w nie tkanek otaczających, ale do czasu stosowane są jako elementy podporowe lub stabilizujące. Powinno je charakteryzować szereg odpowiednich właściwości fizycznych, chemicznych czy mechanicznych, ale nade wszystko nie powinny wywoływać alergii ani posiadać właściwości toksycznych czy nowotworogennych [1, 2]. W ostatnich latach przeprowadzono szereg badań in vitro i in vivo z zastosowaniem różnorodnych polimerów. Uzyskane pozytywne wyniki badań doprowadziły do ich klinicznego zastosowania. Przykładami takich materiałów są polilaktid (PLA), poliglikolid (PGA), polisulfon (PSU) czy włóknisty materiał w głowie w postaci kompozytu w giel-w giel (C-C) [1, 3]. Każde z tych materiałów posiada szereg zalet, między innymi duży porowatość, brak toksyczności, oraz

HEALING ESTIMATION OF RABBITS MANDIBLE OSSEOUS WOUNDS FILLED WITH LACTIDE- GLYCOLIDE CO-POLYMER REINFORCED BY CARBON FIBERS

MAGDALENA PROSZEK*, MAREK ADWENT**,
AGATA CIE LIK-BIELECKA**, GRZEGORZ BAJOR***,
DANIEL SABAT****, TADEUSZ CIE LIK**, ANNA MORAWSKA*****

*DEPARTMENT & SECTION OF STOMATOLOGICAL MATERIALS
SCIENCE OF SILESIA MEDICAL ACADEMY, BYTOM

**I DEPARTMENT AND CLINIC OF ORAL AND MAXILLOFACIAL
SURGERY OF SILESIA MEDICAL ACADEMY, ZABRZE

***DEPARTMENT OF CHILDREN SURGERY OF SILESIA MEDICAL
ACADEMY, BYTOM

****DEPARTMENT OF PATHOMORFOLOGY OF SILESIA MEDICAL
ACADEMY, ZABRZE

*****AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERA-
MICS, DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, CRACOW

Abstract

The main purpose of this investigation was estimation of some biological properties of biodegradable lactide-glycolide co-polymer reinforced by carbon fibres. The results of the research subjected to clinical, radiological and histopathological estimation. The tested material caused lack of local and general negative reactions, the most active process of osseous tissue regeneration was between 14 and 21 day, however the most mineralization was between 6 and 12 week of observation.

Keywords: biomaterials, biodegradable materials, lactide-glycolide co-polymer, carbon fibres, osseous tissue regeneration, experiments on animals
[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 242-246]

Introduction

From a lot of years thanks to considerable growth of the technology and introduction of new production engineering in reconstructive operations it's used for medical application "foreign materials" - biomaterials - like metal, ceramic, polymer or composite materials. They can be used as scaffold for growing in surrounding tissues but also as supporting and stabilizing elements. These materials should have right physical, chemical and mechanical properties but above all they shouldn't call out allergy and toxic or carcinogenic reactions [1, 2].

In recent years it was done a lot of in vitro and in vivo examinations using varied polymer materials. The positive results received during the tests led to their clinical applications. The examples of these materials are polylactide (PLA), polyglycolide (GLA), polysulfone (PSU) or carbon-carbon composites (C-C) [1, 3]. Each of them has a number of advantages, among others a proper porosity, lack of toxicity and biocompatibility manifesting themselves lack of

biozgodno przejawiają się brakiem odczynu typu "około ciała obcego". Mają jednak i wady, do których należą głównie kruchość, mała wytrzymałość na zginanie, co eliminuje te materiały jako elementy podporowe. Zauważono jednak, iż istnieje możliwość tworzenia kopolimerów z szeregiem korzystniejszych właściwości [1].

Kopolimery laktidu z glikolidem są typowymi materiałami termoplastycznymi, dzięki czemu możliwe jest wytworzenie z nich, np. metodą wtrysku czy wytłaczania, wyrobów przeznaczonych dla medycyny. Oznaczają się jednak stosunkowo słabymi parametrami mechanicznymi, co ogranicza ich medyczne zastosowania do przypadków, gdzie nie muszą przenosić znacznych obciążeń. Optymalnym sposobem poprawy właściwości mechanicznych jest zbrojenie tych materiałów różnego rodzaju włóknami syntetycznymi, np. w głowymi [4, 5].

Celem niniejszej pracy była ocena niektórych właściwości biologicznych kompozytu otrzymanego z kopolimeru glikolidu z laktidem wzmocnionego włóknami w głowymi - P(LLA/GLA)+CF. Dla zrealizowania tego celu wykonano badania na zwierzętach, a wyniki poddano ocenie klinicznej, radiologicznej i histopatologicznej. Na podstawie badań analizowano czy kopolimer P(LLA/GLA)+CF wywołuje niekorzystne odczyny tkankowe, w jakich okresach badawczych dochodziło do najbardziej aktywnego procesu odbudowy kości i mineralizacji tkanki kostnej oraz czy kopolimer P(LLA/GLA)+CF wpływał na spowolnienie czy też przyspieszenie odnowy tkanki kostnej w porównaniu z grupą kontrolną.

Material i metody

W pracy zastosowano kompozyt otrzymany z niezawierającego toksycznych domieszek kopolimeru glikolidu z laktidem (18:82) wzmocniony włóknami w głowymi o długości 3 mm. Udział objętościowy włókien wynosił 15%.

Do badań wiadczałnych na 24 królikach (miesza ceniowej płci o wadze od 2600 - 3200 gramów) użyto materiału w postaci walców o średnicy 3,2 mm.

Podczas operacji zastosowano znieczulenie ogólne (premedykacja - Diazepam i Atropina, znieczulenie - Ketamina).

Z cięcia obustronnego u podstawy uchwytu docierano do jej bocznych powierzchni. Frezem wykonywano ubytki kostne o średnicy około 3,2 mm na obu powierzchniach bocznych. Ubytki po stronie lewej pozostawiono do wypełnienia skrzepem krwi (grupa kontrolna), a po stronie prawej wypełniono badanym kopolimerem P(LLA/GLA)+CF (grupa badana). Na grzbiecie zwierzęcia wzdłuż kręgosłupa lędźwiowego wykonano nacięcie skóry. Po lewej stronie kręgosłupa pod skórą wytworzono kieszę, po prawej natomiast rozwarstwiono mięsień grzbieta. W tak przygotowane miejsca wprowadzono badany materiał. Rany po obu stronach zaszywano warstwowo "Dexonem".

W okresie pooperacyjnym zwierzęta nie otrzymywały żadnych leków.

U wszystkich zwierząt wykonywano obserwacje kliniczne przebiegu gojenia ran, a po ich zabiciu badania radiologiczne, makroskopowe i histopatologiczne w 7, 14 i 21 dobie, oraz w 6, 12 i 24 tygodniu do wiadczenia.

W ocenie klinicznej uwzględniono zachowanie zwierząt oraz gojenie ran.

Ocenę radiologiczną wykonano na podstawie rentgenowskich zdjęć z bocznych obejmujących części trzonu uchwytu wraz z zębami i ubytkami kostnymi.

Makroskopowo oceniano wygląd ubytków i tkanek kostnych bezpośrednio je pokrywających.

W badaniach histopatologicznych oceniano tkankę kostną

foreign body type reaction. They have also a lot of disadvantages, for example fragility or low bending strength, which eliminate these materials as supporting elements. It was observed that thanks to jointing these materials and formation of co-polymers it can obtain many better properties [1]. The lactide-glycolide co-polymers are typical thermoplastic materials and therefore 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 limit the applications to the regions where it's not necessary that they bear significant loads. It seems that reinforcement with some synthetic fibres like carbon fibres might greatly improve their mechanical properties.

The main purpose of this investigation was estimation of some biological properties

of biodegradable lactide-glycolide co-polymer reinforced by carbon fibres - P(LLA/GLA)+CF. For that purpose it was carried out research on animals which next was subjected to clinical, radiological and histopathological estimation. On the base received of results firstly it was analyzed does the lactide-glycolide co-polymer call out adverse tissue reactions, secondly in which research periods the most process of bone reconstruction and osseous tissue mineralization was observed and thirdly does the P(LLA/GLA)+CF co-polymer influence on acceleration or slowdown of osseous tissue regeneration compared to control group.

Material and methods

In this work used composite obtained from a lactide-glycolide (18:82) co-polymer without any toxic additives reinforced by 3 mm long carbon fibres. The volume fraction of carbon fibres in the composite was 15%.

The experimental study was performed on 24 rabbits (both sex and weight between 2600-3200 g) and the using material was in 3,2 mm diameter cylinder state.

During the surgery all animals received diazepam and atropine premedication and then were anaesthetized with ketamine.

In the first stage of surgery bilateral incision over mandible corpus was made and the bone was exposed. The canal in the bone on the both flanks was made with 3,2 mm diameter bur. Then the canals on the left was filled with blood clot (control group) and the canals on the right tested composite P(LLA/GLA)+CF (experimental 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 openings. In the all cases Dextron was used to wounds suture.

For all animals clinical examination and then (after the rabbits were killed) radiological, histopathological and macroscopy investigations were executed in 1, 2, 3, 6, 12 and 24 week of examination.

The behaviour of animals and healing of surgical wounds were observed during clinical examination.

The radiological investigation performed on the basis of X-ray tooth pictures including part of body of the mandible with tooth and bone defects.

The appearance of bone defects and osseous tissue was estimated during macroscopy investigation.

The osseous tissue which was situated in and around of bone defects, subcutaneous and muscular tissue from area of lumbar backbone were estimated during histopathological investigations. It was investigated internal organs (kidney and liver) of the animals, too.

w miejscu wykonywanych ubytków i z otoczenia, ponadto tkanek podskórnych i mięśniów z okolic kręgosłupa lędźwiowego. Badano również narządy wewnętrzne zwierząt doświadczalnych (wątrobki i nerki). Pobrane fragmenty tkanek przeprowadzono w sposób typowy.

Wyniki i dyskusja

Obserwacje kliniczne

W okresie pooperacyjnym zwierzęta zachowywały się spokojnie. Po 2 godzinach od zakończenia zabiegu rozpoczęły picie wody, a następnie przyjmowanie karmy. Przez cały czas nie wykazywały oznak zniecierpliwienia (brak bólu pooperacyjnego). Do 3 doby po zabiegu w otoczeniu ran skórnych widoczny był obrzęk tkanek, gdzieśgdzie widoczne były zaczerwienienia wokół szwów - nie stwierdzono objawów chęłbotania (brak krwaka lub te obfitej wydzieliny przyrannej). Przez cały okres obserwacji nie zauważono rozchodzenia się ran. Okres całkowitego wygojenia ran zamykał się między 10 - 14 dniem (usuwanie szwów), a mierne zgrubienia tkanek (głównie skóry i tkanki podskórnej) były niedostrzegalne od 21 doby do wyłdzczenia. Przez cały okres do wyłdzczenia obserwowano stały przyrost masy ciała królików.

Badania radiologiczne

W 7 dobie, zarówno w grupie badanej jak i kontrolnej, widoczne było kuliste przejaśnienie o regularnych brzegach, wielkości odpowiadające wykonanemu ubytkowi tkanki kostnej.

W późniejszym okresie obserwowano zmniejszające się nieregularne przejaśnienie, które w grupie badanej było widoczne w postaci drobnych punkcików, przeważały jednak wypowate cienie.

W 24 tygodniu ubytek kostny wypełniony był już zmineralizowaną tkanką, co widoczne było w postaci zaznaczonego zacielenia.

Ocena makroskopowa

W obu grupach w pierwszym tygodniu tkanki pokrywające ubytek kostny dały się łatwo preparować, co stało się trudniejsze już w 14 dobie, gdy tkanki pokrywające ubytek ściśle przylegały do kości i miały wiązki spójne. W 6 i 12 tygodniu obserwacji ubytek tkanki kostnej pokryty był miejscami tkanką o wyglądzie kości, w grupie badanej jej powierzchnia była porowata i usłana drobnymi, ledwo dostreżalnymi zagłębieniami. W 24 tygodniu ubytek w całości pokryty był tkanką kostną i makroskopowo miejsce wykonanego ubytku nie różniło się od otoczenia.

Badania histopatologiczne

W tkance kostnej do 14 doby obserwacji obrazy histopatologiczne w obu grupach nie wykazywały znacznych różnic. Widoczny był wyraźnie uformowany ubytek pokryty przez młodą tkankę łączną włóknistą z cechami aktywnej odbudowy tkanki kostnej pod postacią licznych pasm młodych, niedojrzałych beleczek kostnych obrzeżonych osteoblastami. Ponadto obecne były martwicze resztki tkanki kostnej otoczone osteoklastami, a w grupie badanej pojedyncze włókna w glowie umiejscowione na dnie ubytku. W tkance łącznej włóknistej uwidoczniły się włókna kolagenowe oraz niedojrzałe i dojrzałe beleczki kostne pokryte osteoblastami (RYS. 1). W 21 dobie w grupie kontrolnej aktywność osteoblastyczną obserwowano w niektórych beleczkach kostnych (w innych kości wykazywała cechy dojrzaloci), a w grupie badanej jedynie w znajdujących się głębiej tkance łącznej włóknistej.

W tkance podskórnej po tygodniu obserwacji wszczep otoczenia

Results and discussion

Clinical examinations

The animals behaved calm in postoperative period. After 2 hours from the end of surgery they started to drink water and next eat the fodder. All the time they weren't impatient (lack of postoperative pain). The tissues edema around the skin wounds and redness around the sutures were observed to the 3 week of experiment - there was no fluctuation symptom (lack of hematoma or wound secretion). For all the time of observation the wounds didn't parted. The period of complete healing of the wounds was between 10 and 14 day of experiment (time of sutures removal), mediocre pachyderma was observed to 21 day of experiment. For all period of experiment it was observed changeless weight gain of the rabbits.

Radiological investigations

In 7 day of experiment radiological study of mandible showed round alight with regular border which dimension was such as the bone defect. In later period the alight was got smaller and irregular and in experimental group it was observed in shape of small points, there were a lot of local shades. In 24 week the bone defect was filled with mineralized tissue what was observed in shape of marked shade.

Macroscopy investigation

In both groups in first week of experiment the preparation of tissues covering the bone defect was easy what in 14 day of observation became already more difficult because tissues covering bone defect adhered more to the bone and had more cohesion. In 6 and 12 week of experiment the bone defect was local covered with similar to bone tissue, its surface in experimental group was porous and covered with small and hardly discernible hollows. After 24 week period examination whole bone defect was covered with osseous tissue and the place of defect didn't differ from surroundings.

Histopathological investigations

In the osseous tissue to 14 day of observation in both groups histopathological pictures didn't show considerable differences. It was shown the bone defect covered with young fibrous tissue with features of active osseous tissue reconstruction assuming shape of numerous bands of young and immature osseous trabeculas which were surrounded with osteoblasts. Besides there were necrotic leavings of osseous tissue what was surrounded with osteoclasts. In experimental group there were the single carbon fibers on the bottom of defect. The collagenic fibres, besides immature and mature osseous trabeculas covered with osteoblasts were visible (FIG. 1). In 21 day in the control group osteoblasts were in some osseous trabeculas (in others the bone was mature) and in the experimental group they were only in deeper situated fibrous tissue.

After one week of observation in the subcutaneous tissue a graft was surrounded with a connective tissue capsule with some carbon fibres which remained during removal of the graft. In later period a connective tissue capsule became thicker and there were onenuclear phagocytic cells, which sometimes blended and created giant multinuclear cells on its surface (FIG. 2). The scraps of carbon fibres and tested material were surrounded with macrophages which created small foreign body granulomas. After 21 days of observation a connective tissue capsule was built mainly with collagenic fibres and few macrophages. In same places around capsule a connective tissue scar and regeneration of damaged muscle fibres was observed.

czony był cienki torebka i czotkankow z widocznymi miejscami fragmentami włókien w głowach po usunięciu tym wszczępie. W późniejszym okresie torebka i czotkankowa stała się pogrubiała, a na jej powierzchni obecne były jednej drobne komórki fagocytarne, czasami zlewające się i tworzące komórki ołbrzymie wielojądrowe (RYS. 2). Fragmenty włókien w głowach i badanego materiału otoczone były przez makrofagi tworzące drobne ziarniniaki typu okołociała obcego. Po 21 dniach obserwacji torebka i czotkankowa zbudowana była głównie z włókien kolagenowych i nielicznych makrofagów.

W niektórych miejscach wokół torebki obserwowano cechy tworzenia się blizny i czotkankowej i regeneracji uszkodzonych włókien mięśniowych.

Początkowa obserwacja tkanki mięśniowej wokół wszczępu wykazała obecność młodej tkanki łącznej włóknistej z bogatą siecią włosowatych naczyń krwionośnych wnikaćcej pomiędzy uszkodzone włókna mięśniowe poprzecznie przekrojonych (RYS. 3). W dalszym etapie w tkance włóknistej pojawiły się włókna kolagenowe, a w tkankach poza wszczępem nieliczne ołbrzymiokomórkowe ziarniniaki typu okołociała obcego wytworzone wokół luźnych fragmentów włókien w głowach. Po 3 tygodniach obserwacji wokół wszczępu wytworzyła się gruba bliznowaciec ca torebka i czotkankowa zbudowana z włókien kolagenowych i fibroblastów. Na obwodzie zmian widoczne były cechy regeneracji włókien mięśniowych z pomnożeniem jądrowym komórkowym. W badanych narządach wewnętrznych (nerki i w trossa) nie wykazano żadnych zmian patologicznych związanych z zastosowanymi wszczępami.

Podsumowanie

Kopolimer P(LLA/GLA)+CF nie wywołuje negatywnych odczynów miejscowych i ogólnoustrojowych.

Wydaje się, iż najbardziej aktywny proces odnowy tkanki kostnej następuje między 14 a 21 dniem, a mineralizacji pomiędzy 6 a 12 tygodniem obserwacji.

Podziękowania

Badania przeprowadzono w ramach projektu badawczego Komitetu Badań Naukowych nr 3 T09B 010 17.

Initial observations of muscle tissue showed a young fibrous tissue with a lot of capillary blood vessels penetrating between damaged fibres of skeletal muscles (FIG. 3). In next period in fibrous tissue a collagenic fibres were observed. Besides there were few giantocellular foreign body granulomas around scars of carbon fibres in tissue out of graft. After 3 weeks period it was shown thick cicatricial connective tissue capsule built with collagenic fibres and fibroblasts. On the periphery of changes it was shown features of muscle fibres regeneration in conjunction with multiplication of nucleuses.

The histopathological evaluation of kidney and liver did not demonstrate any pathological changes.

Conclusion

Lactide-glycolide co-polymer caused lack of local and general negative reactions.

It seems that the most active process of osseous tissue regeneration was between 14 and 21 day, however the most mineralization was between 6 and 12 week of observation.

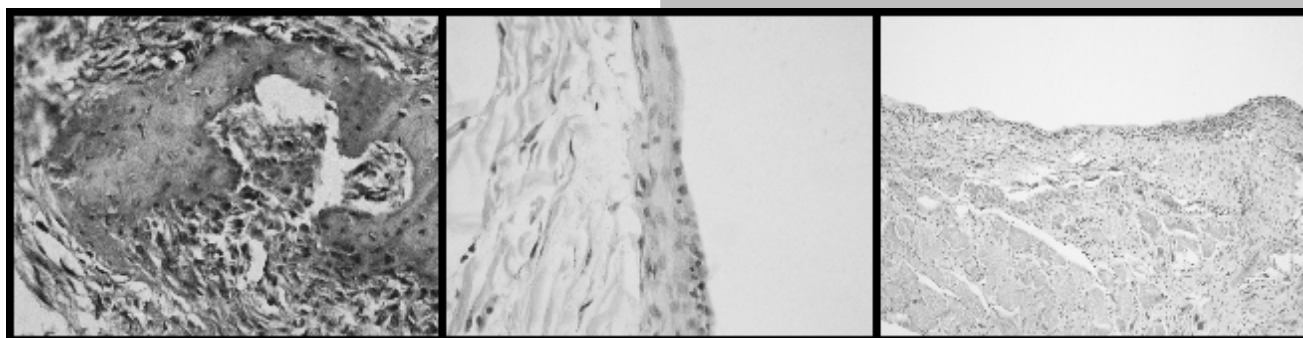
Acknowledgements

The work was carried out under Contract No. 3 T09B 010 17 financed by the Polish Committee for Scientific Research.

Piśmiennictwo

References

- [1] Bzdowski R.: Biomechanika inżynierska, Oficyna Wyd. PW, Wrocław (1997).
- [2] Chłopek J., Kmita G., Dobrzyński P., Bero M.: Właściwości mechaniczne i biologiczne kopolimeru P(LLA/GLA) oraz kopolimeru wzmacnianego włóknami w głowach. In: Inżynieria Biomateriałów, 23,24,25, 88-90 (2002).
- [3] Cieplik T., Wróbel J., Chłopek J.: Polysulfon wzmocniony włóknem w głowach jako element stabilizujący złamania kości twarzy. In: Inżynieria Biomateriałów, 30,31,32,33, 112-115 (2003).
- [4] Pamuła E., Chłopek J., Błażewicz M. i wsp.: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktid dla celów medycznych. In: Inżynieria Biomateriałów, 12, 23-28 (2000).
- [5] Konieczna B., Pamuła E.: Polimery termoplastyczne wzmacniane włóknami w głowach do zastosowań medycznych. In: Inżynieria Biomateriałów, 17, 18, 19, 77-79 (2001).



RYS. 1. Liczne niedojrzałe i dojrzałe beleczki kostne pokryte osteoblastami. Barw. H.E., pow. 200x.

FIG. 1. Immature and mature osseous trabeculas covered with osteoblasts (H&E, 200x).

RYS. 2. Pogrubiała torebka i czotkankowa wokół wszczępu. Barw. H.E., pow. 100x

FIG. 2. Thick connective tissue capsula around graft (H&E, 100x).

RYS. 3. Tkanka łączna włóknista rozrastająca się pomiędzy uszkodzonymi pęczkami włókien mięśniowych. Barw. H.E., pow. 100x.

FIG. 3. Fibrous tissue penetrating between damaged fibres of skeletal muscles (H&E, 100x).

Wskazówki dla autorów

Prace do opublikowania w czasopiśmie "Inżynieria Biomateriałów" będą przyjmowane wyłącznie z tłumaczeniem na język angielski.

Prosimy je nadsyłać na dyskietkach wyłącznie w formacie Word 6.x (lub wyższy) wraz z jednym egzemplarzem kontrolnego wydruku i kompletem rysunków i zdjęć.

Możliwe jest również dołączenie ilustracji w różnych formatach grafiki typu .eps, .jpg, .tif, .cdr, .cpt, .gif.

Rozmiar artykułu:

- przebieg dowodu i pracy oryginalnej - do 10 stron standardowego maszynopisu,
 - komunikatu - do 5 stron,
 - noty technicznej - do 3 stron
- Obowiązuje układ jednostek SI.
Rysunki, tabele i równania powinny być kolejno ponumerowane.

Struktura artykułu:

- streszczenie (do 200 słów),
- słowa kluczowe (3-10 słów),
- wprowadzenie,
- materiał i metodyka,
- wyniki,
- dyskusja,
- wnioski,
- piśmiennictwo (wg systemu Harvard).

Odnośniki literaturowe w tekście należy podawać jako kolejne liczby arabskie w nawiasach kwadratowych.

Piśmiennictwo (zawierające nazwiska autorów i skróty ich imion, tytuł artykułu, tytuł czasopisma, tom, rok w nawiasach okrągłych i strony) powinno być zamieszczone na końcu artykułu. Skróty tytułów czasopism należy unikać i podawać zgodnie z Chemical Abstract. Cytując książki należy podawać numery odpowiednich rozdziałów.

Nie przewiduje się wypłacania honorariów autorskich.

Prace należy nadsyłać na adres:

Redakcja "Inżynieria Biomateriałów"
Akademia Górniczo - Hutnicza
Katedra Biomateriałów
30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A-3
fax. (48-12) 617-33-71
tel. (48-12) 617-22-39
e-mail: apowroz@uci.agh.edu.pl

Warunki prenumeraty

Wydawnictwo Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów w Krakowie przyjmuje zamówienia na prenumeratę, która może obejmować dowolny okres, w którym wydawane są kolejne zeszyty. Zamawiający otrzyma zaprenumerowane zeszyty poczyniwszy od daty dokonania wpłaty. Zamówienia wstecz będą realizowane w miarę posiadanych zapasów.

Realizacja zamówienia

Warunkiem realizacji zamówienia jest otrzymanie z banku potwierdzenia dokonania wpłaty przez prenumeratora.

Konto

Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów
30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A-3
Bank Polski S.A. O/Kraków,
nr rachunku 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001
Należy podać swój adres, tytuł czasopisma, okres prenumeraty i liczbę zamawianych egzemplarzy.

Opłata

Cena jednego numeru - 15 PLN,
Cena zeszytu Nr 38-43 - 100 PLN

Instructions to authors

Contributions in English language version should be submitted to:

Editorial Office

"Engineering of Biomaterials"
AGH University of Science and Technology
Department of Biomaterials,
Al. Mickiewicza 30/A-3, 30-059 Kraków, Poland
fax. (48-12) 617-33-71, tel. (48-12) 617-22-39
e-mail: apowroz@uci.agh.edu.pl

Texts should be delivered on a 3.5-inch diskette, accompanied by a printout (with a double spacing) including drawings, photographs, tables etc. Recommended is IBM-compatible MS format, e.g. Word 6.x (or higher). Illustrations can be enclosed on diskettes in the formats: .eps, .jpg, .tif, .cdr, .cpt, .gif.

Advised paper length is:

- review papers and accounts of original unpublished research - up to 10 pages (standard manuscript pages);
- short communications - up to 5 pages;
- technical notes - up to 3 pages.

SI units should be used in the text.

Figures, Tables and Equations should be numbered in corresponding consecutive series of the Arabic numbers.

Layout of the paper should be the following:

- Abstract (up to 200 words)
- Key words (3-10 words)
- Introduction
- Materials and Methods
- Results
- Discussion
- Conclusions
- References

References should be made in the text by using consecutive Arabic numbers in brackets. Full references (including author's surname and abbreviated names, title of the paper, title of the journal, volume, year in parenthesis and pages) should be given in a list at the end of the paper. Abbreviations of journal titles should be avoided or used in accordance with those listed in Chemical Abstracts. Whenever a book is cited, the number of the relevant chapter should be given.

The journal makes no page charges.

Subscription terms

Subscription orders should be addressed to the Polish Society for Biomaterials in Kraków.

The ordered issues will be delivered consecutively starting from the date of payment, acknowledged by the bank.

Earlier issues will be supplied if available.

Subscription rates:

Cost of one number - 15.00 PLN
Cost Nr 38-43 - 100 PLN

Payment should be made to:

Polish Society for Biomaterials,
Al. Mickiewicza 30/A-3,
30-059 Kraków, Poland
Bank Polski S.A. O/Kraków,
account no. 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001

It is requested to quote the subscriber's name, title of the journal, desired subscription period and number of the ordered copies.