

ENGINEERING OF BIOMATERIALS

INŻYNIERIA BIOMATERIAŁÓW
CZASOPISMO POLSKIEGO STOWARZYSZENIA BIOMATERIAŁÓW
I WYDZIAŁU INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI AGH

Number 75

Numer 75

Volume XI

Rok XI

SEPTEMBER 2008

WRZESIEŃ 2008

ISSN 1429-7248

PUBLISHER:

WYDAWCA:

**Polish Society
for Biomaterials
in Cracow**

Polskie
Stowarzyszenie
Biomateriałów
w Krakowie

**EDITORIAL
COMMITTEE:**

KOMITET
REDAKCYJNY:

Editor-in-Chief

Redaktor naczelny
Jan Chłopek

Editor

Redaktor
Elżbieta Pamuła

Secretary of editorial

Sekretarz redakcji
Katarzyna Trała

Design

Projekt
Augustyn Powroźnik

**ADDRESS OF
EDITORIAL OFFICE:**

ADRES REDAKCJI:

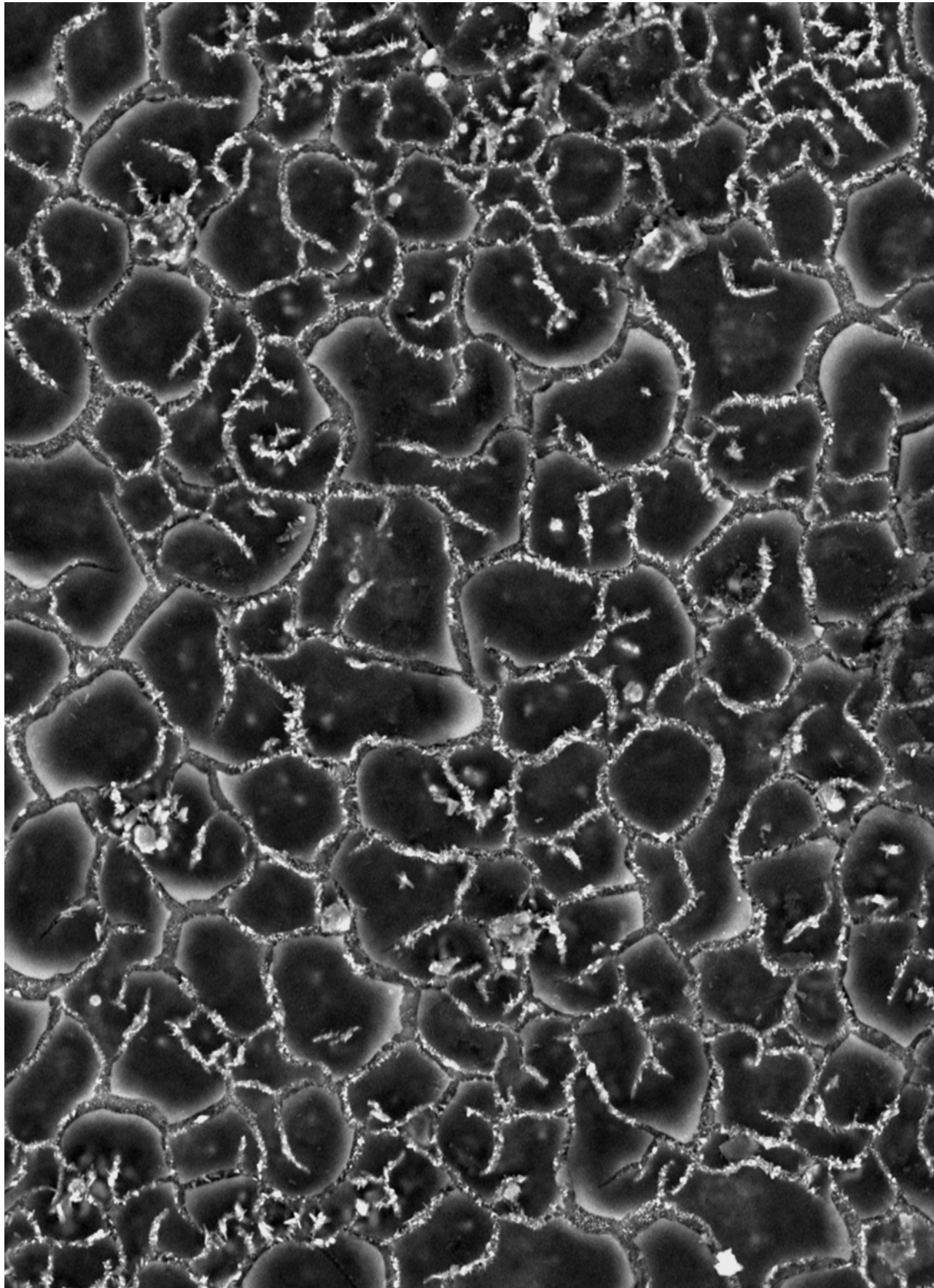
AGH-UST
al. Mickiewicza 30/A3
30-059 Cracow, Poland
Akademia
Górnictwo-Hutnicza
al. Mickiewicza 30/A-3
30-059 Kraków

Issue: 200 copies

Nakład: 200 egz.

**Scientific Publishing
House AKAPIT**

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



INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

MIĘDZYNARODOWY KOMITET REDAKCYJNY

Iulian Antoniac
UNIVERSITY POLITEHNICA OF BUCHAREST, ROMANIA

Lucie Bacakova
ACADEMY OF SCIENCE OF THE CZECH REPUBLIC, PRAGUE, CZECH REPUBLIC

Romuald Bedziński
POLITECHNIKA WROCLAWSKA / WROCLAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

Marta Błażewicz
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW / AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW

Stanisław Błażewicz
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW / AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW

Maria Borczuch-Łączka
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW / AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW

Tadeusz Cieślik
ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY / MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA

Jan Ryszard Dąbrowski
POLITECHNIKA BIAŁOSTOCKA / BIAŁYSTOK TECHNICAL UNIVERSITY

Andrzej Górecki
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY / MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Robert Hurt
BROWN UNIVERSITY, PROVIDENCE, USA

James Kirkpatrick
JOHANNES GUTENBERG UNIVERSITY, MAINZ, GERMANY

Wojciech Maria Kuś
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY / MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Małgorzata Lewandowska-Szumieł
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY / MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Jan Marciniak
POLITECHNIKA ŚLĄSKA / SILESIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

Sergey Mikhailovsky
UNIVERSITY OF BRIGHTON, GREAT BRITAIN

Stanisław Mitura
POLITECHNIKA ŁÓDZKA / TECHNICAL UNIVERSITY OF ŁÓDŹ

Roman Pampuch
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW / AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW

Stanisław Pielka
AKADEMIA MEDYCZNA WE WROCLAWIU / WROCLAW MEDICAL UNIVERSITY

Jacek Składzień
UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI, COLLEGIUM MEDICUM, KRAKÓW /
JAGIELLONIAN UNIVERSITY, COLLEGIUM MEDICUM, CRACOW

Anna Ślósarczyk
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW / AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW

Tadeusz Trzaska
AKADEMIA WYCHOWANIA FIZYCZNEGO, POZNAŃ / UNIVERSITY SCHOOL OF PHYSICAL EDUCATION, POZNAŃ

Dimitris Tsipas
ARISTOTLE UNIVERSITY OF THESSALONIKI, GREECE

Wskazówki dla autorów

1. Prace do opublikowania w kwartalniku „Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów” przyjmowane będą wyłącznie z tłumaczeniem na język angielski. Obcokrajowców obowiązuje tylko język angielski.
2. Wszystkie nadsyłane artykuły są recenzowane*.
(*Prace nierecenzowane, w tym materiały konferencyjne, będą drukowane w numerach specjalnych pod koniec roku kalendarzowego.)
3. Materiały do druku prosimy przysyłać na adres redakcji na płytach CD wraz z jednym egzemplarzem kontrolnego wydruku i kompletem rysunków i zdjęć.
4. Struktura artykułu:
• TYTUŁ • Autorzy • Streszczenie (100-200 słów) • Słowa kluczowe • Wprowadzenie • Materiały i metody • Wyniki i dyskusja • Wnioski • Podziękowania • Piśmiennictwo
5. Materiały ilustracyjne powinny znajdować się poza tekstem w oddzielnych plikach. Rozdzielczość rysunków min. 300 dpi. Wszystkie rysunki i wykresy powinny być czarno-białe lub w odcieniach szarości i ponumerowane cyframi arabskimi. W tekście należy umieścić odnośniki do rysunków i tabel. W tabelach i na wykresach należy umieścić opisy polskie i angielskie. W dodatkowym dokumencie należy zamieścić spis tabel i rysunków (po polsku i angielsku).
6. Na końcu artykułu należy podać wykaz piśmiennictwa w kolejności cytowania w tekście i kolejno ponumerowany.
7. Redakcja zastrzega sobie prawo wprowadzenia do opracowań autorskich zmian terminologicznych, poprawek redakcyjnych, stylistycznych, w celu dostosowania artykułu do norm przyjętych w naszym czasopiśmie. Zmiany i uzupełnienia merytoryczne będą dokonywane w uzgodnieniu z autorem.
8. Opinia lub uwagi recenzenta będą przekazywane Autorowi do ustosunkowania się. Nie dostarczenie poprawionego artykułu w terminie oznacza rezygnację Autora z publikacji pracy w naszym czasopiśmie.
9. Za publikację artykułów redakcja nie płaci honorarium autorskiego.
10. Adres redakcji:

Czasopismo
„Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów”
Akademia Górniczo-Hutnicza im. St. Staszica
Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki
al. Mickiewicza 30/A-3, 30-059 Kraków

tel. (48 12) 617 25 03, 617 22 38
tel./fax: (48 12) 617 45 41
e-mail: chlopek@agh.edu.pl, apowroz@agh.edu.pl
www.biomat.krakow.pl

Warunki prenumeraty

Zamówienie na prenumeratę prosimy przysyłać na adres:
apowroz@agh.edu.pl, tel/fax: (48 12) 617 45 41

Konto:
Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów
30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A-3
Bank Śląski S.A. O/Kraków,
nr rachunku 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001
Opłaty: Cena 1 numeru wynosi 20 PLN

Instructions for authors

1. Papers for publication in quarterly magazine „Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów” should be written in English.
2. All articles are reviewed*.
(* Non-reviewed articles, including conference materials, will be printed in special issues at the end of the year.)
3. Manuscripts should be submitted to Editor’s Office on CD with a printout, drawings and photos.
4. A manuscript should be organized in the following order:
• TITLE • Authors and affiliations • Abstract (100-200 words) • Keywords (4-6) • Introduction • Materials and methods • Results and Discussions • Conclusions • Acknowledgements • References
5. Authors’ full names and affiliations with postal addresses should be given. If authors have different affiliations use superscripts 1,2...
6. All illustrations, figures, tables, graphs etc. preferably in black and white or grey scale should be presented in separate electronic files (format .jpg, .gif, .tiff, .bmp) and not incorporated into the Word document. High-resolution figures are required for publication, at least 300 dpi. All figures must be numbered in the order in which they appear in the paper and captioned below. They should be referenced in the text. The captions of all figures should be submitted on a separate sheet.
7. References should be listed at the end of the article. Number the references consecutively in the order in which they are first mentioned in the text.
8. Opinion or notes of reviewers will be transferred to the author. If the corrected article will not be supplied on time, it means that the author has resigned from publication of work in our magazine.
9. Editorial does not pay author honorarium for publication of article.
10. Papers will not be considered for publication until all the requirements will be fulfilled.
11. Manuscripts should be submitted for publication to:

Journal
„Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów”
AGH University of Science and Technology
Faculty of Materials Science and Ceramics
30/A-3, Mickiewicza Avenue, 30-059 Cracow, Poland

tel. (48 12) 617 25 03, 617 22 38
tel./fax: (48 12) 617 45 41
e-mail: chlopek@agh.edu.pl, apowroz@agh.edu.pl
www.biomat.krakow.pl

Subscription terms

Subscription rates:
Cost of one number: 20 PLN

Payment should be made to:
Polish Society for Biomaterials
30/A3 Mickiewicz Avenue
30-059 Cracow, Poland
Bank Slaski S.A. O/Krakow
account no. 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001

SPIS TREŚCI

HUMAN BONE-DERIVED CELLS ON C-C COMPOSITES TREATED BY GRINDING, a-C:H COATING, LASER IRRADIATION AND LASER PERFORATION 2

LUCIE BACAKOVA, LIBOR BERANEK, MARKETA BACAKOVA, DALIBOR SOUKUP, VERA LISA, RUDOLF DVORAK

THE ADHESION AND GROWTH OF VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS IN CULTURES ON CARBORANETHIOL-MODIFIED GOLD FILMS 6

MARTIN PARIZEK, TOMAS BASE, MICHAEL G.S. LONDESBOROUGH, VERA LISA, LUCIE BACAKOVA

LECZENIE ROZWARSTWIENIA AORTY METODĄ ENDOWASKULARNĄ 9

ARTUR PUPKA, JUSTYNA BOGDAN, AGNIESZKA LEPIESZA, ALEKSANDRA ROJEK, PRZEMYSŁAW P. SZYBER

RESORBOWALNE KOMPOZYTY GRADIENTOWE MODYFIKOWANE DRUTAMI MAGNEZOWYMI 20

MAGDALENA ZIĄBKA, BARBARA SZARANIEC, KATARZYNA KILANOWICZ, RAFAŁ KUCHARSKI, JAN CHŁOPEK

STRESZCZANE W APPLIED MECHANICS REVIEWS
 ABSTRACTED IN APPLIED MECHANICS REVIEWS

CONTENTS

HUMAN BONE-DERIVED CELLS ON C-C COMPOSITES TREATED BY GRINDING, a-C:H COATING, LASER IRRADIATION AND LASER PERFORATION 2

LUCIE BACAKOVA, LIBOR BERANEK, MARKETA BACAKOVA, DALIBOR SOUKUP, VERA LISA, RUDOLF DVORAK

THE ADHESION AND GROWTH OF VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS IN CULTURES ON CARBORANETHIOL-MODIFIED GOLD FILMS 6

MARTIN PARIZEK, TOMAS BASE, MICHAEL G.S. LONDESBOROUGH, VERA LISA, LUCIE BACAKOVA

ENDOVASCULAR TREATMENT OF AORTIC DISSECTION 9

ARTUR PUPKA, JUSTYNA BOGDAN, AGNIESZKA LEPIESZA, ALEKSANDRA ROJEK, PRZEMYSŁAW P. SZYBER

RESORBABLE GRADED COMPOSITES MODIFIED WITH MAGNESIUM WIRES 20

MAGDALENA ZIĄBKA, BARBARA SZARANIEC, KATARZYNA KILANOWICZ, RAFAŁ KUCHARSKI, JAN CHŁOPEK

WYDANIE DOFINANSOWANE PRZEZ
 MINISTRA NAUKI I SZKOLNICTWA WYŻSZEGO
 EDITION FINANCED BY
 THE MINISTER OF SCIENCE AND HIGHER EDUCATION

HUMAN BONE-DERIVED CELLS ON C-C COMPOSITES TREATED BY GRINDING, a-C:H COATING, LASER IRRADIATION AND LASER PERFORATION

LUCIE BACAKOVA^{1*}, LIBOR BERANEK^{2*}, MARKETA BACAKOVA¹, DALIBOR SOUKUP¹, VERA LISA¹, RUDOLF DVORAK²

¹ INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC, VIDENSKA 1083, 142 20 PRAGUE 4 – KRC, CZECH REPUBLIC

* E-MAIL: LUCY@BIOMED.CAS.CZ

² FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING, CZECH TECHNICAL UNIVERSITY, TECHNICKA 4, 166 07 PRAGUE 6 – DEJVICE, CZECH REPUBLIC

* E-MAIL: BERANEK.LIBOR@SEZNAM.CZ

Abstract

Carbon fiber-reinforced carbon (CFRC) composites were modified by grinding with abrasive papers, laser irradiation, coating with diamond-like carbon (DLC), creation of pores by laser perforation and various combinations of these treatments, and seeded with human osteoblast-like MG 63 cells. Twenty four hours after seeding, the lowest cell numbers were obtained on the non-ground, non-coated composites with Type 1 laser perforations (diameter 0.1 mm, depth 0.2 mm, spacing 0.3 mm), i.e., on samples with relatively high surface roughness ($R_a = 17.7 \pm 0.9 \mu\text{m}$, $S = 93.0 \pm 2.0 \mu\text{m}$). On the other hand, the cells on these samples were well-spread, adhering with a relatively large cell-material projected area. In comparison with these samples, a significantly higher number of cells were obtained on composites treated with a DLC coating, especially those with laser perforation 2 (diameter 0.4 mm, depth 0.8 mm, spacing 1.2 mm). The cells on both types of laser-perforated samples started to colonize pores created by the laser beam.

[*Engineering of Biomaterials*, 75, (2008), 2-6]

Introduction

Over a period of more than 30 years, carbon fiber-reinforced carbon (CFRC) composites have proven to be suitable materials for technical applications requiring high mechanical, thermal and chemical resistance, such as rocket motor nozzles, reentry heatshields, aircraft disk brakes, and turbine engines [1]. In addition, the physical properties of these materials, such as specific weight, porosity, modulus of elasticity as well as flexural and shear strength, can be tailored to be similar to the corresponding parameters of bone tissue [2,3]. Therefore, CFRC composites have been considered promising materials for application in orthopedics, dentistry and surgery of the spine, e.g., for the construction of hip joint prostheses [4-7], spinal cages [8] or endosseous dental implants [2]. For hard tissue surgery applications, great attention has also been paid to related materials containing carbon fibres reinforcing various types of polymeric matrices, such as polyetheretherketone (PEEK, [9], liquid crystalline polymer [10], polyamide [11] or poly(methylacrylate) [12]. Some carbon fiber-reinforced polymeric materials have been used clinically, e.g., as cages for lumbar interbody fusion for treatment of spondylolisthesis

[13,14], for spine reconstruction after spondylectomy [15] or reconstruction of cranial defects [16]. Carbon fiber modular implants filled with cortical and cancellous bone grafts have been applied for reconstruction of vertebrae in patients suffering from primary or metastatic tumors of the spine [17]. All these materials are radiolucent, which facilitates the examination of the implants with X-rays, computed tomography or magnetic resonance [14,16,18]. However, these materials also have some disadvantages, particularly the tendency to release carbon particles, which is due to the brittle nature of both carbon fibres and matrix. In addition, due to the prominence of carbon fibres over carbon matrix, the surface microroughness of CFRC composites can be relatively high, and this can hamper the adhesion, spreading and growth of bone cells [3,19]. These problems can be minimized by polishing the composites and/or coating these materials with strong and mechanically resistant biocompatible layers, e.g., pyrolytic carbon or graphite [19,20], carbon-titanium [3], zirconium nitride [21] or fullerite [22,23]. Integration of CFRC composites with the surrounding bone tissue could be further enhanced by the presence of pores in these materials, which would enable the ingrowth of bone tissue [24]. Therefore, in the present study, we investigate the adhesion and spreading of human osteoblast-like MG 63 cells in cultures on CFRC composites modified by grinding, coating with amorphous hydrogenated diamond-like carbon (a-C:H, also referred to as DLC), laser irradiation, creation of pores by laser perforation, and various combinations of these treatments.

Material and Methods

Preparation of CFRC composites

Preparation of CFRC composites was described in detail in our earlier papers [3,19,21-23]. Briefly, the two-dimensionally reinforced CFRC composites used in this study were prepared at the Institute of Rock Structure and Mechanics, Acad. Sci. CR, Prague. Commercially available woven fabric (made of Toray T 800 carbon fibres) was arranged in layers, infiltrated with a carbon matrix precursor (UMAFORM LE phenolic resin, Synpo Ltd., Pardubice, Czech Republic), pressed, cured, carbonised at 1000°C in N₂, and finally graphitised at 2200°C in Ar. The composites were then cut with a diamond saw into samples 9 x 9 mm in size and 2 mm in thickness, and subjected to one or more of the surface modifications described below. The surface morphology of a pristine unmodified CFRC sample is shown in FIG. 1A.

Surface modifications of CFRC composites

Grinding

The samples were progressively ground by abrasive papers of grain sizes 350, 600, 800, 1000 and 4000. The resulting surfaces were apparently smooth, with a shiny glass-like appearance (FIG. 1B). The samples were then cleaned in an ultrasonic washer.

Laser irradiation

This treatment was used with the aim to improve some properties of CFRC composites that are important for the cell-material interaction, such as consistency of the carbon matrix, which would prevent the release of carbon particles. The laser beam was applied using a MCVL 1000 LASER machining centre (Nd:YAG laser) under the following parameters: output 50W, speed of the laser beam 80 mm/s, beam trail \varnothing 0.1mm, pulse frequency 4000 Hz, perpendicular hatching, pitch 0.07 mm, crossover count 2. The surface morphology of a laser-irradiated CFRC sample is shown in FIG. 1C.

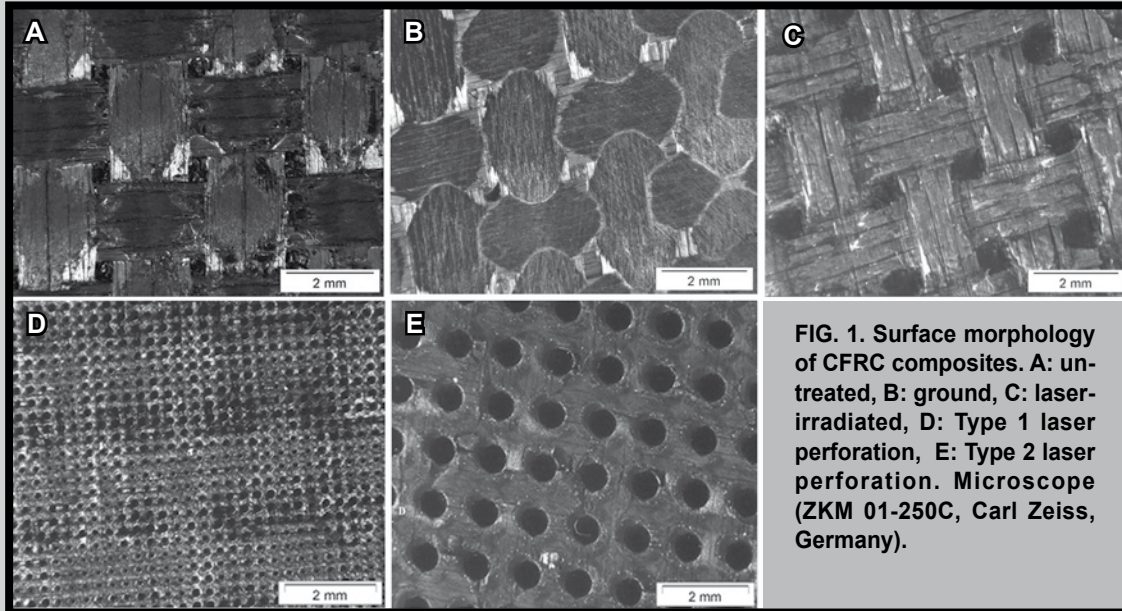


FIG. 1. Surface morphology of CFRC composites. A: untreated, B: ground, C: laser-irradiated, D: Type 1 laser perforation, E: Type 2 laser perforation. Microscope (ZKM 01-250C, Carl Zeiss, Germany).

Deposition of amorphous hydrogenated diamond-like carbon (a-C:H)

DLC films of good adhesion to the CFRC surface and about 200 nm in thickness were created using the plasma-assisted chemical vapor deposition (PACVD) method in a lab-made reaction chamber. First, the samples were cleaned chemically in acetone, then in plasma, using argon. The precursors for creating DLC were CH_4 and H_2 . The frequency of the plasma used for both cleaning and deposition was 13.56 MHz. Two types of film were prepared. The differences between them consisted in the bias used for the deposition (-50V or -100V for Type 1 and Type 2, respectively), and for that reason also in the time needed for creating layers of the same thickness (40 and 16 min, for Type 1 and Type 2, respectively). The output was 20 – 25 W for Type 1 and 50 W for Type 2. The other parameters, such as flow of CH_4 (50 sccm), H_2 (30 sccm) and pressure (7.7×10^{-1} Torr) were similar for deposition of both types of DLC layers.

Laser perforation

The samples were modified by a laser beam on an MCVL 1000 LASER machining centre (Nd:YAG laser, output 50 W, speed of the laser beam 80 mm/s, pulse frequency 4500 Hz). Two types of surface texture were created. Perforation 1 represents burning of openings with the following parameters: diameter 0.1 mm, depth 0.2 mm, spacing 0.3 mm. The perforation 2 parameters were: diameter 0.4 mm, depth 0.8 mm, spacing 1.2 mm.

Using these procedures and combinations of them, 27 experimental groups of CFRC samples were prepared in duplicates (TAB. 1). All treatments were performed on one side of the samples, specified in advance.

Surface roughness and morphology of CFRC composites

The surface roughness was characterized by parameter R_a (departures of the roughness profile from the mean line) and parameter S (the mean spacing of the adjacent local peaks). These parameters were determined using a Talysurf profilometer (Talysurf 6, Rank Taylor Hobson Ltd., England). The material surface morphology (FIG. 1) was evaluated using a digitized microscope (ZKM 01-250C, Carl Zeiss, Germany).

TABLE 1. Surface modifications of CFRC composites.

Group No.	Surface processing	Layer deposition	Laser perforation
1	Without processing	Without layer	Without perforation
2	Grinding	Without layer	Without perforation
3	Laser irradiation	Without layer	Without perforation
4	Without processing	a-C:H 1	Without perforation
5	Grinding	a-C:H 1	Without perforation
6	Laser irradiation	a-C:H 1	Without perforation
7	Without processing	a-C:H 2	Without perforation
8	Grinding	a-C:H 2	Without perforation
9	Laser irradiation	a-C:H 2	Without perforation
10	Without processing	Without layer	Perforation 1
11	Grinding	Without layer	Perforation 1
12	Laser irradiation	Without layer	Perforation 1
13	Without processing	aCH 1	Perforation 1
14	Grinding	a-C:H 1	Perforation 1
15	Laser irradiation	a-C:H 1	Perforation 1
16	Without processing	a-C:H 2	Perforation 1
17	Grinding	a-C:H 2	Perforation 1
18	Laser irradiation	a-C:H 2	Perforation 1
19	Without processing	Without layer	Perforation 2
20	Grinding	Without layer	Perforation 2
21	Laser irradiation	Without layer	Perforation 2
22	Without processing	aCH 1	Perforation 2
23	Grinding	aCH 1	Perforation 2
24	Laser irradiation	aCH 1	Perforation 2
25	Without processing	aCH 2	Perforation 2
26	Grinding	aCH 2	Perforation 2
27	Laser irradiation	aCH 2	Perforation 2

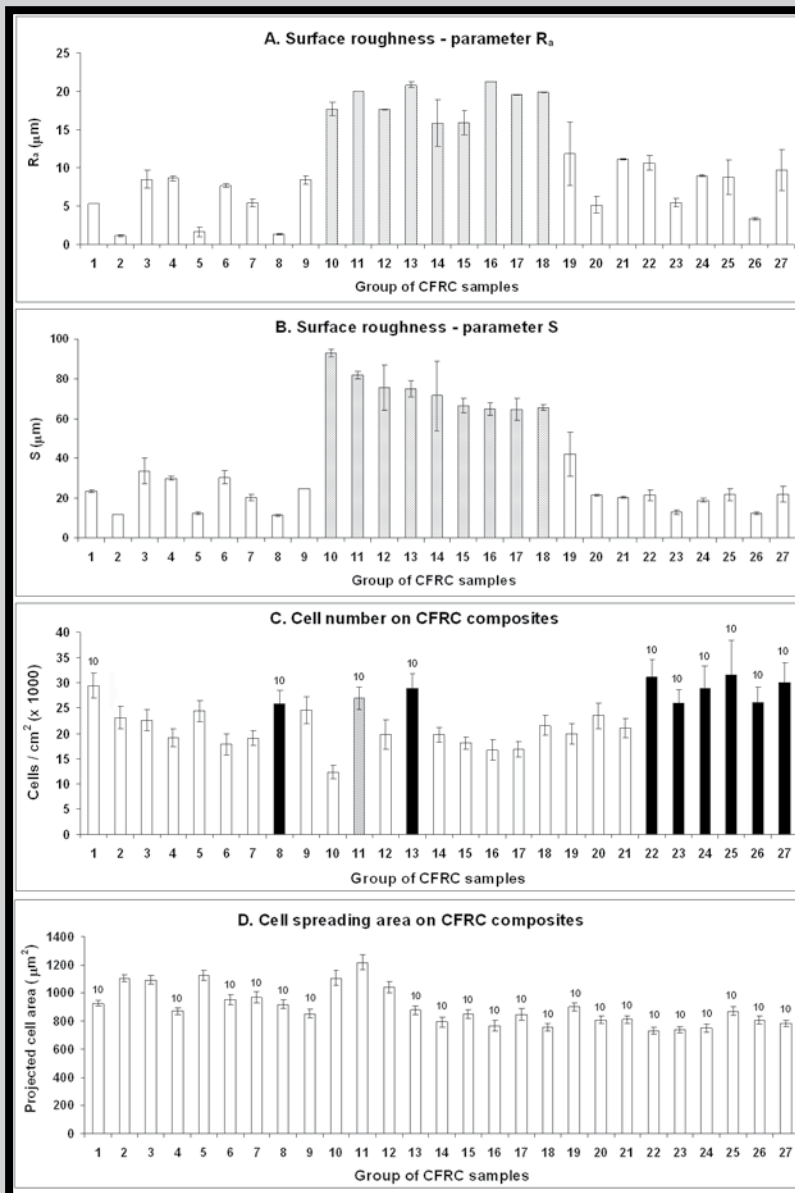


FIG. 2. Parameter R_a (A) and S (B) of the surface roughness correlated with the number (C) and spreading area (D) of human osteoblast-like MG 63 cells. Mean \pm S.D. from 2 samples, each measured in 6 areas (A, B) or S.E.M. from 32 measurements (C) or 47-383 cells (D) for each group. ANOVA, Student-Newman-Keuls method. Statistical significance: ¹⁰: $p \leq 0.05$ in comparison with the samples of group 10.

Cell culture on the CFRC composites

The CFRC samples were sterilized in 70% ethanol for 2 hours, air dried, inserted into 24-well culture plates (well diameter 15 mm; TPP, Trasadingen, Switzerland) and seeded with human osteoblast-like MG 63 cells (30 000 cells/well, i.e., about 17,000 cells/cm²) into 1 ml of Dulbecco's modified Eagle's Minimum Essential Medium (DMEM; Sigma, U.S.A., Cat. N° D5648) supplemented with 10% foetal bovine serum (FBS; Sebak GmbH, Aidenbach, Germany) and gentamicin (40 µg/ml, LEK, Ljubljana, Slovenia). The cells were cultured at 37°C in a humidified air atmosphere containing 5% of CO₂.

Twenty four hours after seeding, the cells were rinsed with phosphate-buffered saline (PBS), fixed with 70% cold ethanol (-20°C, 10 min.) and visualized by fluorescence staining. The proteins of the cell membrane and cytoplasm were stained with Texas Red C₂-maleimide (Molecular Probes, Invitrogen, Cat. No. T6008; 20 ng/ml in PBS), and the cell nuclei with Hoechst 33342 (Sigma, U.S.A.; 5 µg/ml

in PBS) for 2 hours at room temperature. Digital pictures of the cells were then taken under a conventional fluorescence microscope (Olympus IX 50) and in a confocal microscope (DM 2500, Leica, Germany). The latter enables precise focusing of the cells on highly irregular surfaces or inside porous materials using a series of optical sections. Each sample was photographed in 16 fields (0.136 and 2.25 mm² in the conventional microscope and in the confocal microscope, respectively) randomly selected but homogeneously distributed over the material surface. In these fields, the cells were counted and their spreading area (i.e., the cell area projected on the material) was measured using Atlas software (Tescan S.R.O., Brno, Czech Republic).

Statistical analysis

The quantitative data on the physical properties of the material was presented as mean \pm S.D. (Standard Deviation). The quantitative data obtained in the cells was presented as mean \pm S.E.M. (Standard Error of the Mean). Multiple comparison procedures were performed by the One Way Analysis of Variance (ANOVA), Student-Newman-Keuls method, using SigmaStat software (Jandel Corp. U.S.A.). *P* values equal to or less than 0.05 were considered significant.

Results and Discussion

Grinding the CFRC composites with abrasive papers markedly decreased the size of the irregularities (parameter R_a) on the material surface as well as their spacing (S) (FIG. 2A and B, group 1 vs. group 2). On the other hand, the surface roughness after laser irradiation increased (group 1 vs. group 3), which could be explained by more prominent bundles of carbon fibers over the carbon matrix. In other words, the hollows among the carbon fiber bundles seemed to be deeper, probably due to the increased consistency and dense packing of the carbon matrix after laser irradiation (FIG. 1C compared to 1A). Similarly, coating with diamond-like carbon of Type 1 or Type 2 also increased or did not change the surface roughness (FIG. 2A and B, group 1 vs. groups 4 and 7).

The highest surface roughness values were achieved on the composites treated with Type 1 laser perforation (diameter 0.1 mm, depth 0.2 mm, spacing 0.3 mm), i.e., on the samples in experimental groups 10 to 18. The lowest numbers of adhering cells were found on group 10, i.e., on non-processed, non-coated composites with laser perforation 1 (see FIG. 2C). In our earlier studies, a higher surface roughness of CFRC was also associated with a lower number of MG 63 cells and vascular smooth muscle cells [3,19,21].

However, material surface roughness was not the only factor affecting cell adhesion. In comparison with the samples of group 10, significantly higher cell numbers were usually achieved on samples coated with DLC 1 or 2, i.e. groups 8, 13 and 22 to 27 (except the unmodified group 1 and laser 1-perforated group 11 with surface grinding; FIG. 2C). DLC coating therefore seems to be advantageous for supporting the colonization of CFRC composites by cells.

Similar results were also found when CFRCs were coated with a carbon-titanium layer or pyrolytic graphite [3,19].

On the other hand, the cells on samples with the lowest cell population density (group 10) adhered to the material with a relatively large area, which may be due to the fact that these cells were not limited by cell-to-cell contacts, and thus they used more space for their spreading (FIG. 2D). Similar results were also obtained on CFRCs coated with a fullerite layer [23].

The morphology of MG 63 cells on pristine CFRC composites and materials modified by grinding, laser irradiation, DLC coating and laser perforation is shown in FIG. 3. The cells were polygonal or spindle-shaped, often oriented along the carbon fibers prominent on the material surface, also adhering in hollows in the regions where the carbon fiber bundles crossed in the carbon fabrics (FIG. 3A-E). On both types of laser-perforated samples, the cells started to penetrate into the pores, though they usually did not reach the pore bottom due to the relatively short culture interval of only 24 hours (FIG. 3F,G). Ingrowth of the cells into the pores would be beneficial for integration with the surrounding bone tissue [24], if the CFRC composites are used for constructing bone implants.

Conclusion

Grinding CFRC composites with abrasive papers decreased their surface roughness, measured by parameters Ra and S. On the other hand, laser irradiation and especially Type 1 laser perforation (diameter 0.1 mm, depth 0.2 mm, spacing 0.3 mm) markedly increased the surface roughness, which was negatively correlated with the number of human osteoblast-like MG 63 cells adhering to these materials 24 hours after seeding. The lowest number of cells was achieved on non-ground, DLC non-coated and laser 1-perforated samples. DLC coating was usually associated with relatively high cell numbers, especially on composites treated with laser perforation 2 (diameter 0.4 mm, depth 0.8 mm, spacing 1.2 mm). On both types of laser-perforated samples, the cells showed a tendency to colonize the laser-created pores.

Acknowledgements

This study was supported by the Grant Agency of the Czech Republic (contract No. 101/060226). Mr. Robin Healey (Czech Technical University) is gratefully acknowledged for his language revision of the manuscript.

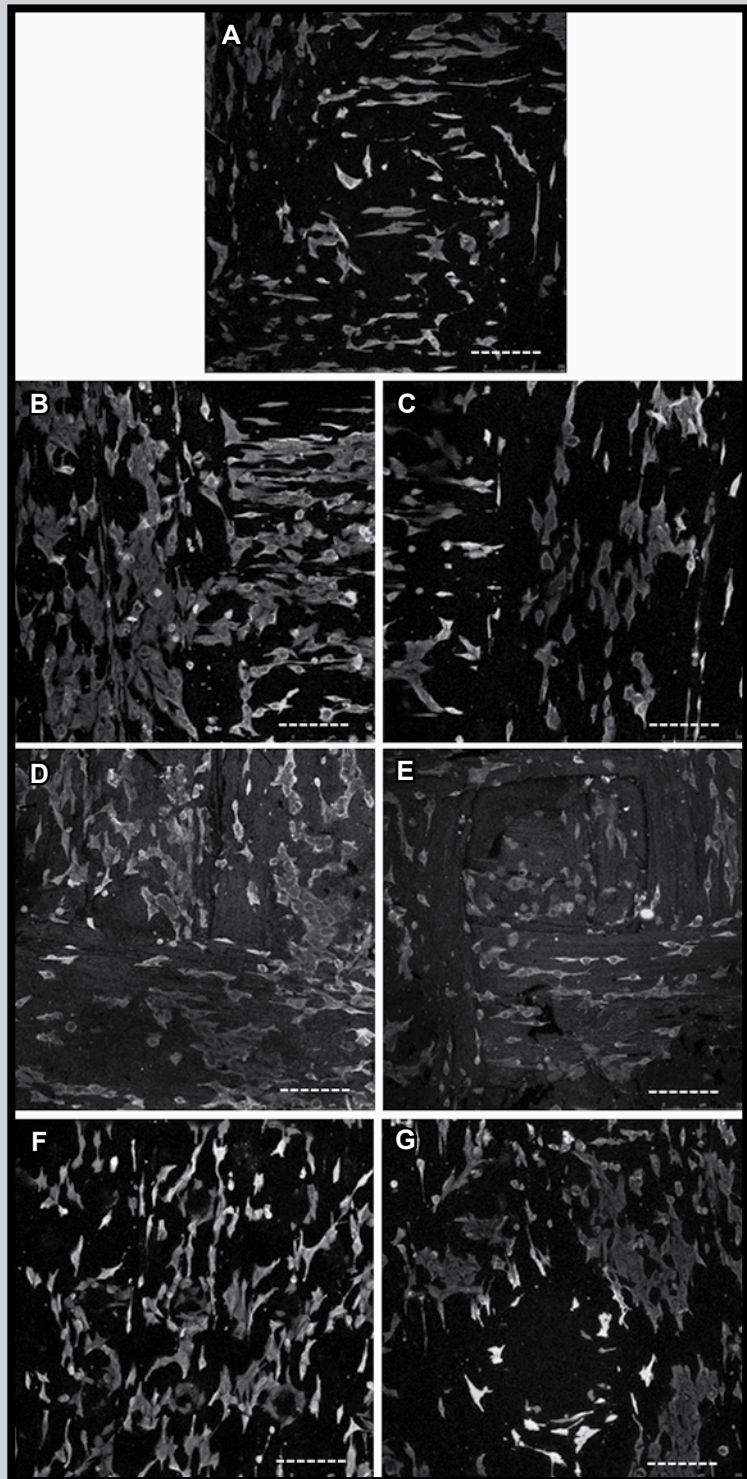


FIG. 3. Morphology of human osteoblast-like MG 63 cells on day 1 after seeding of unmodified CFRC composites (group 1, A), composites modified by grinding (group 2, B), laser irradiation (group 3, C), Type 1 amorphous hydrogenated diamond-like carbon (D) and 2 (E), laser perforation 1 (F) and laser perforation 2 (G). Leica DM 2500 confocal microscope, obj. 10x, bar = 300 μm . The cells are visualized in spectral colors (violet, blue, green, yellow and red from the material surface to the depth). A: summation of 18 optical sections performed to a depth of 170 μm ; B, C: 8 sections, depth 70 μm ; D: 6 sections, depth 50 μm ; E: 25 sections, depth 240 μm ; F: 11 sections, depth 100 μm ; G: 29 sections, depth 280 μm . The thickness of all sections was 10 μm .

References

- [1] Park S.J., Cho M.S., Lee J.R.: J. Colloid Interface Sci. 226: 60-64, 2000.
- [2] Adams D., Williams D.F., Hill J.: J. Biomed. Mater. Res. 12: 35-42, 1978.
- [3] Bacakova L., Stary V., Kofronova O., Lisa V.: J. Biomed. Mater. Res. 54: 567-578, 2001.
- [4] Christel P., Meunier A., Leclercq S., Bouquet P., Buttazzoni B.: J. Biomed. Mater. Res. 21(A2 Suppl): 191-218, 1987.
- [5] Mukherjee D.P., Saha S.: J. Long Term Eff. Med. Implants. 3: 131-141, 1993.
- [6] Howling G. I., Sakoda H., Antonarajah A., Marrs H., Stewart T. D., Appleyard S., Rand B., Fisher J., Ingham E.: J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater. 67: 758-764, 2003.
- [7] Howling G.I., Ingham E., Sakoda H., Stewart T.D., Fisher J., Antonarajah A., Appleyard S., Rand B.: J. Mater. Sci. Mater. Med. 15: 91-98, 2004.
- [8] Li H., Zou X., Woo C., Ding M., Lind M., Bünger C.: J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater. 81: 194-200, 2007.
- [9] Sagomonyants K. B., Jarman-Smith M. L., Devine J. N., Aronow M. S., Gronowicz G. A.: Biomaterials 29: 1563-1572, 2008.
- [10] Kettunen J., Mäkelä A., Miettinen H., Nevalainen T., Heikkilä M., Törmälä P., Rokkanen P.: J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 10: 715-728, 1999.
- [11] Bougherara H., Bureau M., Campbell M., Vadean A., Yahia L.: J. Biomed. Mater. Res. A 82: 27-40, 2007.
- [12] Ekstrand K., Hirsch J.M.: Clin. Implant Dent. Relat. Res. 10: 23-29, 2008.
- [13] Brantigan J. W., Neidre A.: Spine J. 3: 186-196, 2003.
- [14] Fogel G.R., Toohey J.S., Neidre A., Brantigan J.W.: Spine J. 8: 570-577, 2008.
- [15] Samartzis D., Foster W. C., Padgett D., Shen F. H.: Surg. Neurol. 69: 138-141, 2008.
- [16] Wurm G., Tomancok B., Holl K., Trenkler J.: Surg Neurol. 62: 510-521, 2004.
- [17] Boriani S., Bandiera S., Biagini R., De Iure F., Giunti A.: Chir. Organi Mov. 85: 309-335, 2000.
- [18] Ernstberger T., Heidrich G., Buchhorn G.: Spine J. 7: 353-359, 2007.
- [19] Stary V., Bacakova L., Hornik J., Chmelik V.: Thin Solid Films, 433: 191-198, 2003.
- [20] Pesakova V., Klezl Z., Balik K., Adam A.: J. Mater. Sci.: Mater. Med. 11: 793-798, 2000.
- [21] Paul J., Bacakova L., Douderovala M., Stary V., Vyskocil J., Lisa V., Slosarczyk A., Zima A.: Eng. Biomater. 10(67-68): 5-8, 2007.
- [22] Bacakova L., Grausova L., Vacik J., Jungova I.: Eng. Biomater. 8(47-53): 3-6, 2005.
- [23] Bacakova L., Grausova L., Vacik J., Fraczek A., Blazewicz S., Kromka A., Vanecek M., Svorcik V.: Diamond Relat. Mater. 16: 2133-2140, 2007.
- [24] Pamula E., Bacakova L., Filova E., Buczynska J., Dobrzynski P., Noskova L., Grausova L.: J. Mater. Sci. Mater. Med. 19: 425-435, 2008.

THE ADHESION AND GROWTH OF VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS IN CULTURES ON CARBORANETHIOL-MODIFIED GOLD FILMS

MARTIN PARIZEK¹, TOMAS BASE², MICHAEL G.S. LONDESBOROUGH², VERA LISA¹, LUCIE BACAKOVA¹

¹ INSTITUTE OF PHYSIOLOGY, ACAD. SCI. CR, VIDENSKA 1083, 142 20 PRAGUE 4-KRC, CZECH REPUBLIC

E-MAIL: PARIZEK.M@SEZNAM.CZ, LUCY@BIOMED.CAS.CZ

² INSTITUTE OF INORGANIC CHEMISTRY, ACAD. SCI. CR, 250 68 HUSINEC-REZ 101, CZECH REPUBLIC

E-MAIL: TBASE@IIC.CAS.CZ

Abstract

Metal surfaces have become important over the last decade for potential surgical implants, and within this context we present here a study of the cell growth on modified gold surfaces. Gold films, deposited on glass plates and annealed with a hydrogen flame, were modified with four different carboranethiol derivatives: 1-(HS)-1,2-C₂B₁₀H₁₁ (A), 1,2-(HS)₂-1,2-C₂B₁₀H₁₀ (B), 9,12-(HS)₂-1,2-C₂B₁₀H₁₀ (C) and 1,12-(HS)₂-1,12-C₂B₁₀H₁₀ (D). The materials engendered from these modifications were used to investigate the adhesion and growth of rat aortic smooth muscle cells cultured on these surfaces in a DMEM medium with 10% of fetal bovine serum. One day after seeding, the highest number of initially adhered cells was found on

the surface of a bare gold film. However, three days after seeding, the number of cells on carboranethiol-modified gold samples B, C and D was significantly higher than the number on a bare gold film. After seven days, the number of cells on a bare gold film and on gold films modified with derivatives A, B and D was very similar, but the surface of a gold film modified with derivative C exhibited a significantly smaller number of cells. This may be explained by the exposure of the CH vertices of the carborane cluster, which are more acidic than the BH vertices exposed toward the cells in either A or B.

Keywords: Metal coating, gold film, carboranethiol, cell adhesion, cell spreading, cell proliferation, biomaterials, tissue engineering, surgical implants.

[Engineering of Biomaterials, 75, (2008), 6-8]

Introduction

Artificial and nature-derived materials, including metals, have been intensively studied in medicine and in various biotechnologies. Examples are bio-imaging, bio-sensing, drug delivery, cell cultivation, and the construction of replacements of irreversibly damaged tissues and organs. A largely accepted concept in recent tissue engineering is of surfaces supporting and controlling cell colonization associated with successful integration of an implant within the organism. This concept is used for the construction of durable bone prostheses persisting in the patient for many years, and is being developed to make bio-artificial replacements of blood vessels, liver, pancreas or even nervous tissue (for a review, see [1-3]).

Metallic materials have frequently been utilized in a hard tissue surgery, e.g., for constructing joint prostheses and other bone implants. However, these materials could be used in the form of thin nanocomposite films in soft tissue surgery, e.g. for coating artificial heart valves or vascular prostheses. Gold, one of the metallic materials that have been studied, has been used in medicine and in implantology because of its inert character and negligible toxicity. Gold reacts easily with thiol (-SH) groups [4], and this reaction can be used for modifying gold films to make surfaces suitable for the adhesion and growth of cells. In this study, we present the use of flat gold coatings modified with selected carboranethiol derivatives as new substrates for cell colonization. Vascular smooth muscle cells were chosen as a model system because they are an important component of both hard and soft tissues and organs - including bone and blood vessels.

Experimental

Preparation of the gold samples

Gold films deposited on glass plates with dimensions 11×11 mm were purchased from Arrandee (Germany). All films were freshly annealed with a hydrogen flame before use. These films were modified with carboranethiol derivatives in accordance with the literature [4]. The following carboranethiol species were used: 1-(HS)-1,2-C₂B₁₀H₁₁ (**A**), 1,2-(HS)₂-1,2-C₂B₁₀H₁₀ (**B**), 9,12-(HS)₂-1,2-C₂B₁₀H₁₀ (**C**) and 1,12-(HS)₂-1,12-C₂B₁₀H₁₀ (**D**) (FIG. 1).

Cells and culture conditions

For the cell culture experiments, the materials were sterilized with 70% ethanol for 1 hour, inserted into 24-well polystyrene plates (TPP, Switzerland; well diameter 1.5 cm), and seeded with smooth muscle cells derived from rat aorta by an explantation method [1, 2]. The cells were used in passage 3 and seeded at a density of 17 000 cm². The cells were cultivated for 1, 3 or 7 days in 1.5 ml Dulbecco's Modified Eagle Minimum Essential Medium (Sigma, U.S.A.), supplemented with 10% foetal bovine serum (Sebak GmbH, Aidenbach, Germany) and 40 µg/ml of gentamycin (LEK, Ljubljana, Slovenia), in a cell incubator with a humidified atmosphere of 5% of CO₂ in the air and at a temperature of 37°C. For each experimental group and time interval, three samples were used.

The cells on one sample for each experimental group were rinsed with phosphate-buffered saline (PBS), fixed by 70% cold ethanol (-20°C, 5 min.) and stained with a combination of Texas Red C₂-maleimide fluorescent membrane dye (Molecular Probes, Invitrogen, Cat. No. T6008; 20 ng/ml in PBS), and Hoechst # 33342 nuclear dye (Sigma, U.S.A.; 5 µg/ml in PBS). The number and morphology of the cells on the sample surface were then evaluated from pictures (10 for each sample, size 0.136 mm²) taken under an Olympus IX 50 microscope using an Olympus DP 70 digital camera (FIG. 2).

On the remaining two samples, the cells were rinsed with PBS, released using a trypsin-EDTA solution (Sigma, Cat. No. T4174) and counted in a Cell Viability Analyzer (VI-Cell XR, Beckman Coulter). As control materials, samples with a bare gold film, standard tissue culture polystyrene dishes (PS) and uncoated glass substrates were used.

The size of the cell spreading areas, i.e., cell areas projected on the material surface, was measured one day after seeding using Atlas software (Tescan Ltd., Brno, CR). Fifty seven to 170 cells from 10 pictures for each experimental group were evaluated.

Statistics

The results are presented as a mean value with a standard error (Mean ± SEM). Statistical significance was evaluated using the ANOVA, Student-Newman-Keuls method. Values of $p \leq 0.05$ were considered as significant.

Results and Discussion

One day after seeding, the highest number of initially adhered cells was found on the surface of a bare gold film with 23000 ± 1400 cells/cm², compared to a range from 7900 ± 800 to 16100 ± 800 cells/cm² on the modified gold surfaces (FIG. 3).

However, three days after seeding, the number of cells on the carboranethiol-modified gold samples **B**, **C** and **D** (24200 ± 1500 cells/cm² to 31400 ± 1500 cells/cm²) was significantly higher than the number on the bare gold film (16900 ± 900 cells/cm², FIG. 3).

After seven days, the number of cells on the bare gold film and gold films modified with derivatives **A**, **B** and **D** was very similar, all in the range from 71800 ± 2400 cells/cm² to 72300 ± 2200 cells/cm² (FIG. 3). These cell population densities were significantly higher than the values obtained on standard polystyrene culture dishes. This result is favorable, especially in the case of derivative **D**. In this molecule, the SH groups are located in *para*-orientation (FIG. 1), which would facilitate the attachment of the carboranethiol to the gold surface and its simultaneous functionalization with other bioactive groups or molecules in order to further increase the attractiveness of gold surfaces for cell colonization [5-9].

However, the surface of a gold film modified with carboranethiol **C** exhibited a significantly smaller number of cells, 51600 ± 1900 cells/cm² (FIG. 3). This may be explained by the exposure of the CH vertices of the carborane cluster, which are more acidic than the BH vertices exposed toward the cells in either **A** or **B**. Nevertheless, the cells on all tested surfaces were able to form a confluent layer.

The cell spreading areas on day 1 after seeding were significantly larger on the bare gold sample (2700 ± 270 µm²) than in all remaining experimental groups. In these groups, the cell spreading areas were in the range from 1650 ± 80 µm² (on the samples modified with derivative **D**) to 2140 ± 240 µm² (on polystyrene dishes) but these differences were not statistically significant (FIG. 3).

Conclusion

Modification of a gold surface with carboranethiol derivatives **A**, **B** and **D** increased the population density of rat aortic smooth muscle cells after 7-day-cultivation on these surfaces in comparison with standard polystyrene cell culture dishes. However, on derivative **C**, the cell population density was significantly lower. This may be associated with the orientation of the carborane cluster, in which the acidic CH vertices face upward from the surface. Carboranethiol derivative **D** has thiol groups attached in the opposite (i.e., *para*-) positions, and can be considered as a promising linker for the attachment of various biological molecules to a gold surface.

Acknowledgements

This work was supported by the Grant Agency of the Acad. Sci. CR (Grant No. KAN400480701). Mr. Robin Healey (Czech Technical University, Prague) is gratefully acknowledged for his language revision of the manuscript.

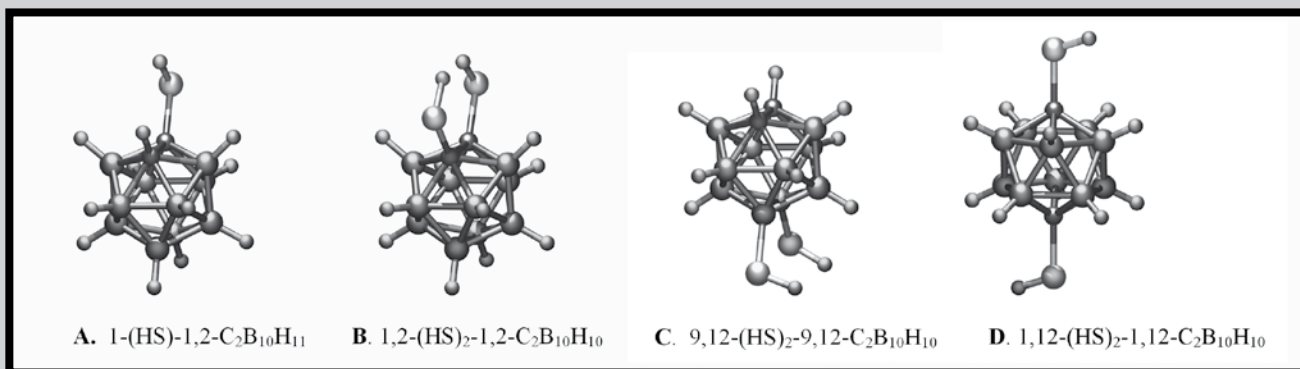


FIG. 1. Carboranethiol derivatives used for modification of gold films.

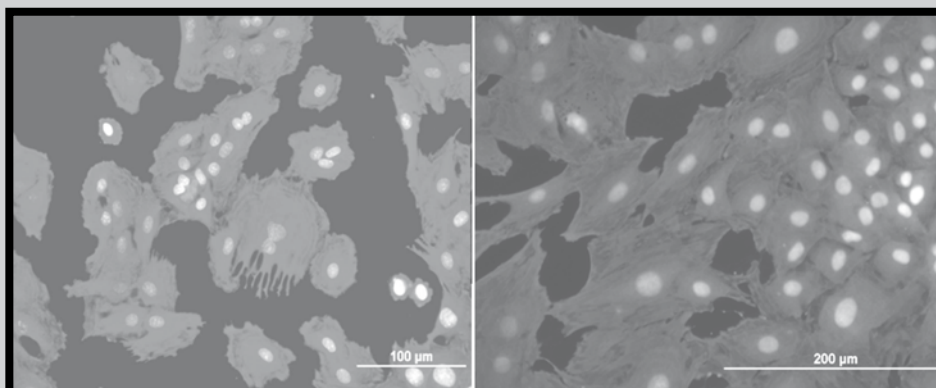


FIG. 2. Examples of the morphology of vascular smooth muscle cells on day one (left) and day 7 (right) after seeding on a gold film modified with the carboranethiol derivative 1-(HS)-1,2-C₂B₁₀H₁₁ (A). Stained with Texas Red C₂-maleimide and Hoechst #33342. Olympus IX microscope 50, obj. 20, digital camera DP 70.

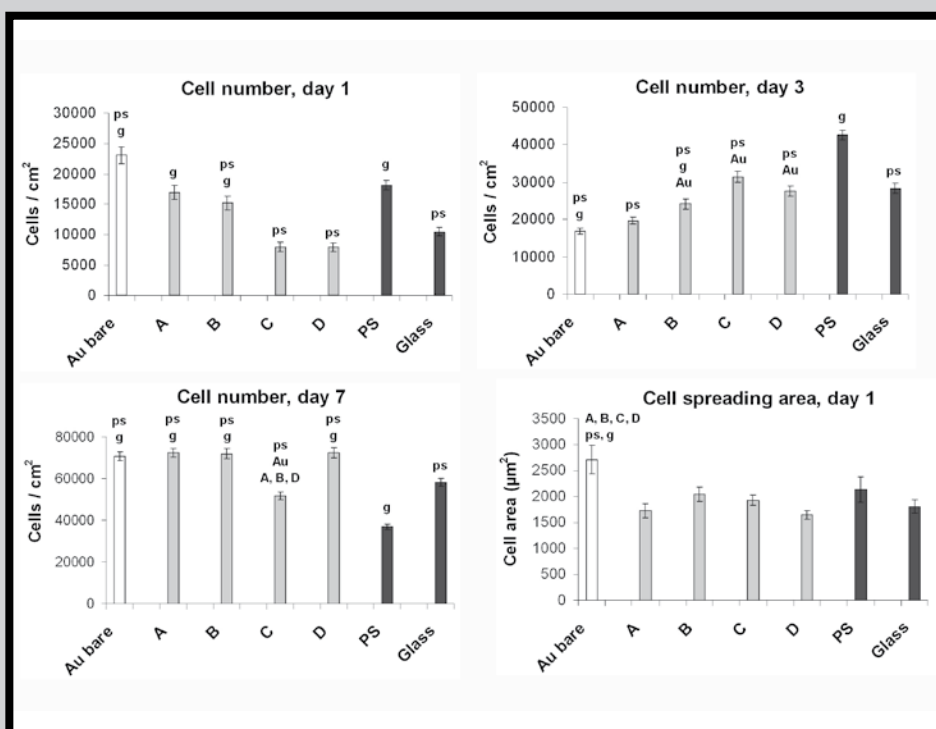


FIG. 3. Number and cell spreading area of rat aortic smooth muscle cells on day 1, 3 and 7 after seeding on gold modified by carboranethiol derivatives 1-(HS)-1,2-C₂B₁₀H₁₁ (A), 1,2-(HS)₂-1,2-C₂B₁₀H₁₀ (B), 9,12-(HS)₂-9,12-C₂B₁₀H₁₀ (C), 1,12-(HS)₂-1,12-C₂B₁₀H₁₀ (D), polystyrene culture dish (PS) and glass (G). Mean ± SEM from 100 measurements performed on 2 samples (cell number) or 57-170 cells from 10 pictures of each sample (spreading area). Statistical significance: ps, g, Au, B, A, D: p ≤ 0.05 in comparison with polystyrene dish, bare Au film or carboranethiol derivatives A, B, D.

References

- [1] Bacakova L., Mares V., Bottone M. G., Pellicciari C., Lisa V., Svorcik V.: J. Biomed. Mater. Res. 49: 369-379, 2000.
- [2] Bacakova L., Walachova K., Svorcik V., Hnatowicz V.: J. Biomater. Sci. Polymer Edn., 12: 817-834, 2001.
- [3] Bacakova L., Filova E., Rypacek F., Svorcik V., Stary V.: Physiol. Res. 53 Supp: S35-S45, 2004.
- [4] Base T., Bastl Z., Plizak Z., Grygar T., Plesek J., Carr M.J., Malina V., Subrt J., Bohacek J., Vecernikova E., Kriz O.: Langmuir 21: 7776-7785, 2005.
- [5] McGhee A.M., Procter D.J.: Top. Curr. Chem. 264: 93, 2006.
- [6] Rautaray D., Sastry M.: Biotechnol. Prog. 21: 1759-1756, 2005.
- [7] Berry C.C., de la Fuente J.M., Mullin M., Chu S.W., Curtis A.S.: IEEE Trans Nanobioscience 6: 262-269, 2007.
- [8] de la Fuente J.M., Alcantara D., Penades S.: IEEE Trans Nanobioscience 6: 275-281, 2007.
- [9] Park S.Y., Lytton-Jean A.K., Lee B., Weigand S., Schatz G.C., Mirkin C.A.: Nature 451: 553-556, 2008.

LECZENIE ROZWARSTWIENIA AORTY METODĄ ENDOWASKULARNĄ

ARTUR PUPKA, JUSTYNA BOGDAN, AGNIESZKA LEPIESZA, ALEKSANDRA ROJEK, PRZEMYSŁAW P. SZYBER

KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII NACZYNIOWEJ, OGÓLNEJ I TRANSPLANTACYJNEJ AKADEMII MEDYCZNEJ WE WROCŁAWIU

Streszczenie

Rozwarstwienie jest jedną z najpoważniejszych chorób aorty. Nową metodą leczenia rozwarstwienia aorty jest technika endowaskularna.

Celem pracy jest ocena skuteczności leczenia endowaskularnego rozwarstwienia aorty typu B oraz częstości powikłań i śmiertelności związanych z zastosowaniem tej techniki.

Materiał i metoda: U 33 pacjentów na podstawie badania angiograficznego lub TK rozpoznano rozwarstwienie aorty, typu A u 2 (6,1%) i typu B u 31 (93,9%). U 11 pacjentów (33,3%) zastosowano leczenie z wykorzystaniem trzech typów stent-graftów: Zenith (2 protezy - 13,3%), Talent (11 protez - 73,3%) i Valiant (2 protezy - 13,3%). W 3 przypadkach zaistniała konieczność zastosowania więcej niż jednego stent-graftu (u dwóch pacjentów po 2 stent-grafy, u jednego 3). Średnica proksymalnego końca implantowanego stent-graftu wynosiła od 34 do 42 mm (średnia $37,6 \pm 3,44$ mm), natomiast długość wahała się w granicach od 130 do 230 mm (średnia $183,6 \pm 37,42$ mm). U 4 pacjentów (36,4%) w trakcie implantacji konieczne było częściowe, a u 2 (18,2%) całkowite pokrycie odejścia LSA.

Wyniki: U jednego pacjenta (9,1%), nastąpił zgon w 13 dobie po implantacji. Zabieg endowaskularny w 9,1% był powikłany wystąpieniem endoleaku typu II, w 18,2% zespołem poimplantacyjnym, w 9,1% przeciekaniem do lewej jamy opłucnowej wymagającym implantacji drugiego stent-graftu. W jednym przypadku w celu uniknięcia powikłań neurologicznych i zespołu podkradania zastosowano rewaskularyzację LSA.

Wnioski: Zastosowanie stent-graftów wychodzi na przeciw ogólnemu dążeniu do minimalizacji rozległości i traumatyzacji zabiegów chirurgicznych, redukcji liczby około- i pooperacyjnych powikłań, skrócenia czasu hospitalizacji i rekonwalescencji.

[Inżynieria Biomateriałów, 75, (2008), 9-19]

Wstęp

Rozwarstwienie jest jedną z najpoważniejszych i najgroźniejszych chorób aorty. Stanowi wyzwanie dla współczesnej chirurgii, zarówno w kwalifikacji, technice operacyjnej, jak i intensywnej terapii około- i pooperacyjnej. Schorzenie to występuje z częstością 10 do 20 przypadków na milion rocznie [1,2] i obarczone jest wysoką śmiertelnością. Standardem leczenia tętniaków rozwarstwiających aorty jest zastosowanie zarówno metod chirurgicznych jak i leczenia farmakologicznego [3], obciążonych ryzykiem pęknięcia aorty, progresji rozwarstwienia oraz wysoką śmiertelnością. Leczenie endowaskularne rozwarstwienia aorty jest nową metodą oferującą mniejszą inwazyjność, redukcję liczby powikłań, skrócenie okresu hospitalizacji i rekonwalescencji w porównaniu do klasycznego leczenia chirurgicznego [4-9].

ENDOVASCULAR TREATMENT OF AORTIC DISSECTION

ARTUR PUPKA, JUSTYNA BOGDAN, AGNIESZKA LEPIESZA, ALEKSANDRA ROJEK, PRZEMYSŁAW P. SZYBER

DEPARTMENT OF VASCULAR, GENERAL, TRANSPLANTATION SURGERY, MEDICAL UNIVERSITY OF WROCLAW

Abstract

Aortic dissection is one of the most catastrophic aortic disease. Endovascular technique using endovascular prostheses called stent-grafts offers less invasive new method.

Purpose: Assessment of endovascular aortic dissection type B treatment effectiveness, complications and mortality frequency associated with this technique.

Material and methods: Among 33 patients aortic dissection diagnosis was established on the basis of angiography and CT; type A – 2 patients (6.1%) and type B – 31 (93.9%). 11 patients (33.3%) underwent endovascular stent-grafts implantation procedures using 3 types of grafts: Zenith (2 prostheses – 13.3%), Talent (11 prostheses – 73.3%) and Valiant (2 prostheses – 13.3%). There was necessity of implantation of more than one stent-graft in 3 cases (2 patients – 2 stent-grafts, one patient – 3 stent-grafts). The diameter of proximal end of stent-graft ranged from 34 to 42 mm (mean 37.6 ± 3.44 mm), length – from 130 to 230 mm (mean 183.6 ± 37.42 mm). 4 patients (36.4%) needed partial, and 2 – complete coverage of the LSA during implantation.

Results: One patient (9.1%) died on the 13th day after implantation. Endovascular procedure in 9.1% was complicated by endoleak type II, in 18.2% - post-implantation syndrome, in 9.1% leakage to the left pleural cavity requiring second stent-graft implantation. The LSA revascularization was performed in one patient in order to avoid neurological complications and steal syndrome

Conclusions: Endovascular technique is promising strategy of aortic dissection type B treatment. Stent-graft application faces up to general aspiration to minimize extension and traumatization of surgical procedures, to reduce peri- and postoperative complications, decrease hospitalization and convalescence period.

[Engineering of Biomaterials, 75, (2008), 9-19]

Introduction

Aortic dissection is one of the most serious and catastrophic disease that can affect the aorta. This condition remains a great challenge for modern surgery, as regards qualification, surgical technique and also peri- and postoperative intensive care. There are 10 to 20 cases per million population per year [1,2] with the high mortality rate. Aortic dissection treatment including both surgical and pharmacological methods is related to aortic rupture, progression of dissection and high mortality risk [3]. Endovascular treatment as a new method offers less invasive procedure with reduced complication rate, shorter time of hospitalization and convalescence in comparison with classical surgical technique [4-9].

Celem pracy jest ocena skuteczności leczenia endowaskularnego rozwarstwień aorty typu B oraz częstości powikłań i śmiertelności związanych z zastosowaniem tej techniki.

Material i metody

W latach 1993-2007 w Katedrze i Klinice Chirurgii Naczyniowej, Ogólnej i Transplantacyjnej AM we Wrocławiu było leczonych 33 pacjentów z rozwarstwieniem aorty, w tym 2 pacjentów (6,1%) z typem A i 31 (93,9%) z typem B wg Stanforda. Rozpoznanie zostało postawione na podstawie badania angiograficznego lub TK z oceną rozległości procesu rozwarstwienia. W grupie chorych było 24 mężczyzn (73%) i 9 kobiet (27%) w wieku od 19 do 76 lat (średnia, 65,6 ± 7 lat). W 11 przypadkach (33,3%) zastosowano leczenie z wykorzystaniem stent-graftów, w 3 (9,1%) użyto protezy naczyniowej, w 2 (6,1%) wykonano trombektomię z fenestracją, w 1 (3%) wyłącznie trombektomię, w 1 (3%) wyłącznie fenestrację, u 1 pacjenta (3%) założono stent do tętnicy nerkowej, a w 14 przypadkach (42,5%) nie wykonano zabiegu chirurgicznego z powodu dyskwalifikacji bądź bezpośredniego przekazania na oddział kardiochirurgiczny.

Wśród pacjentów u 17 (51,5%) współistniało nadciśnienie tętnicze, u 2 (6,1%) - nadciśnienie tętnicze i zaburzenia lipidowe, u 2 (6,1%) - nadciśnienie tętnicze i rozsiały proces miażdżycowy, w 1 przypadku (3%) rozwarstwienie było powikłaniem zabiegu udrożnienia aorty brzusznej i prawej osi tętniczej biodrowej.

The aim of this report is to evaluate effectiveness of aortic dissection type B endovascular treatment, complication and mortality rate associated with this technique.

Material and method

Between 1993-2007 at the Department of Vascular, General and Transplantological Surgery at the Medical University of Wrocław, 33 patients (24 men – 73% and 9 women – 27%, aged 19 – 76 years (mean [±SD], 65.6 ± 7 years) with aortic dissection (type A – 2 patients (6.1%) and type B – 31 (93.9%) diagnosed on the basis of angiography and CT underwent medical procedures. Stent-graft implantation was performed in 11 cases, in 3 (9.1%) – vascular prostheses, in 2 (6.1%) – thrombectomy with fenestration, in 1 (3%) – only thrombectomy, in 1 (3%) – only fenestration, in 1 (3%) – renal artery stenting and in 14 cases (42.5%) no surgical treatment due to disqualification or direct transfer to cardiosurgical ward.

Patients' comorbidities were – in 17 cases (51.5%) arterial hypertension, in 2 (6.1%) – arterial hypertension and dyslipidaemia, in 2 (6.1%) – arterial hypertension and disseminated atherosclerotic process, in 1 (3%) – iatrogenic dissection as a result of surgical restoring of abdominal aorta and right iliac arterial axis patency.

At admission 8 patients (24%) presented symptoms of acute limb ischaemia, 2 (6.1%) – circulatory and respiratory insufficiency, 1 (3%) – haemorrhagic shock, 1 (3%) – cardiogenic shock, 8 (24%) – pain, 1 (3%) – hoarseness, aphonia, cough.

TABELA 1. Pacjenci z rozwarstwieniem aorty leczeni metodą endowaskularną.
TABLE 1. Patients' characteristics.

Pacjent Patient	Wiek Age	Płeć Sex	Objawy Symptoms	Choroby współistniejące Comorbidities
1	72	K F	dolegliwości bólowe w okolicy kręgosłupa piersiowego backache of thoracic region	HA, AO, poszerzenia aorty wstępującej (47mm) AH, OA, dilatation of ascending aorta (47mm)
2	64	M M	stan bardzo ciężki very severe condition	n/n not known
3	65	M M	brak no symptoms	CAD CAD
4	57	M M	brak no symptoms	HA, CAD, dysfunkcja węzła zatokowego, rozrusznik, przewlekłe zapalenie bł. śluzowej żołądka i dwunastnicy (Hp+), utraty przytomności w wywiadzie, AH, CAD, SSS, pacemaker, chronic gastroduodenitis (Hp+), blackouts in anamnesis
5	63	M M	ból w zakresie jamy brzusznej abdominal pain	zespół nerczycowy (2003), HA, hiperlipidemia, hipoproteinaemia, wieloletnia brucelloza (→PNN) nephrotic syndrome (2003), AH, hyperlipidaemia, hypoproteinaemia, brucellosis (→CRF)
6	64	M M	silny piekący ból w okolicy piersiowego kręgosłupa, ból o mniejszym nasileniu od 2 dni severe burning backache of thoracic region, less intensive pain for 2 days	HA, zoperowany tętniak pęknięty mózgu (96), żółtaczk mechaniczna, przepuklina pachwinowa (12 r.ż.) AH, operated ruptured brain artery aneurysm (1996), obstructive jaundice, inguinal hernia (12 yr)
7	70	M M	ból brzucha i klatki piersiowej oraz wyżki RR abdominal and chest pain, increases of BP	HA AH
8	75	K F	brak no symptoms	AF, ileostomia z powodu CU, hypotyreoza, anomalia rozwojowa łuku aorty AF, ileostomy due to UC, hypothyreosis, congenital anomaly of aortic arch
9	64	M M	chrypka, utrata głosu, kaszel hoarseness, aphonia, cough	n/n not known
10	53	K F	brak no symptoms	HA, stan po cholecystektomii AH, cholecystectomy
11	75	M M	stan bardzo ciężki very severe condition	n/n not known

HA – nadciśnienie tętnicze, AO – miażdżycza zarostowa, CAD – choroba niedokrwienności serca, AF – migotanie przedsionków, CU – colitis ulcerosa, PNN – przewlekła niewydolność nerek, n/n – brak danych
AH – arterial hypertension, OA – obliterative atheromatosis, CAD – coronary artery disease, AF – atrial fibrillation, UC – ulcerative colitis, CRF – chronic renal failure, SSS – sick sinus syndrome.

Przy przyjęciu 8 pacjentów (24%) prezentowało objawy ostrego niedokrwienia kończyn, 2 (6,1%) – niewydolności krążeniowo-oddechowej, 1 (3%) – wstrząsu krwotocznego oraz 1 (3%) – wstrząsu kardiogenego, w 8 przypadkach (24%) występowały objawy bólowe, w 1 (3%) – chrypka, bezgłós i kaszel (TABELA 1).

W grupie 11 pacjentów, u których zastosowano leczenie endowaskularne z wykorzystaniem 15 stent-graftów, u jednego pacjenta rozpoznano rozwarstwienie typu A, zaopatrzone wcześniej kardiochirurgicznie w obrębie aorty wstępującej i łuku. U 10 pacjentów stwierdzono drożny kanał rzekomy. Lokalizacja miejsca rozdarcia błony wewnętrznej (entry) u 6 pacjentów przypadła (54,5%) poniżej odejścia lewej tętnicy podobojczykowej (LSA), u 4 (36,4%) entry znajdowało się na wysokości odejścia, a w 1 przypadku (9,1%) powyżej odejścia LSA. W ostatnim przypadku (entry powyżej LSA) zaistniała konieczność wykonania by-passu pomiędzy pniem ramienno-głowym a tętnicą szyjną wspólną lewą (LCCA) z transpozycją LSA do LCCA.

U 2 pacjentów (18,2%) rozwarstwienie obejmowało dodatkowo jedną lub dwie tętnice biodrowe wspólne. W 2 przypadkach (18,2%) stwierdzono progresję rozwarstwienia wstecznie w kierunku LSA. U jednego pacjenta (9,1%) uwidoczono w badaniu angio-TK dodatkowo rozwarstwienie początkowego odcinka pnia trzewnego, odejście lewej tętnicy nerkowej (paracentalnie zwężonej o ok.50% na krótkim odcinku tuż poza odejściem tętnicy biegunowej górnej) oraz odejście tętnicy kręzkowej dolnej od światła kanału fałszywego. U kolejnego pacjenta w angio-TK stwierdzono odejście pnia trzewnego i tętnicy nerkowej lewej od światła kanału rzekomego oraz słabe zakontrastowanie mięszu lewej nerki, budzące podejrzenie jej niedokrwienia.

W 5 przypadkach (45,4%) stwierdzono współistnienie innych chorób dotyczących układu tętniczego: w jednym przypadku – miażdżycy zarostowej oraz poszerzenia aorty wstępującej (47 mm), w drugim – choroby niedokrwiennej serca (CAD) bez istotnych zwężeń w koronarografii u pacjenta z rozwarstwieniem typu A zaopatrzonym kardiochirurgicznie dwa tygodnie wcześniej, w trzecim – tętniaka tętnicy wewnętrzczaszkowej operowanego neurochirurgicznie z powodu pęknięcia w 1996 roku, w kolejnym – współistnienie anomalii rozwojowej w postaci transpozycji naczyń odchodzących od łuku aorty (kolejność odejścia: pień ramienno-głowy, LSA, LCCA), w następnym przypadku – współistnienie CAD.

W 3 przypadkach (27,3%) zaistniała konieczność zastosowania więcej niż jednego stent-graftu. W jednym przypadku była to jednoczasowa implantacja dwóch stent-graftów powikłana w 5 dobie pooperacyjnej krwawieniem do lewej jamy opłucnowej oraz wykazanym w angio-TK przeciekiem wymagającym w trybie pilnym implantacji kolejnego stent-graftu. U kolejnego pacjenta wystąpił przeciek krwi do prawej jamy opłucnowej, wstrząs krwotoczny oraz zatrzymanie krążenia. Ze względu na ciężki stan pacjenta w trybie pilnym implantowano dwa stent-grafy. U innego pacjenta po trzech latach po implantacji pierwszego stent-graftu zaszła konieczność wykonania kolejnej interwencji endowaskularnej (drugi stent-graft).

Protezy wewnętrzznacyniowe

W leczeniu zastosowano trzy rodzaje stent-graftów: Zenith (2 protezy), Talent (11) i Valiant (2). Zenith stent-graft (Cook Inc., Bloomington, IN) znany pierwotnie jako Perth stent-graft posiada rusztowanie ze stali nierdzewnej w postaci niezależnych segmentów wykonanych ze stentów Z zapewniających bardzo dużą giętkość. Różne długości Z-stentów i średnice segmentów zapewniają pewne i bezpieczne przyleganie stent-graftu do naczyń. Rusztowanie pokryte jest

11 patients underwent 15 stent-graft placements. One patient had previously cardio-surgical operation of ascending aorta and aortic arch due to aortic dissection type A. The false lumen was patent in 10 patients. The entry tear was located in 6 cases (54.5%) below left subclavian artery (LSA), in 4 (36.4%) – on the level of LSA, in 1 (9.1%) – above LSA. In the last case by-pass graft between innominate artery and left common carotid artery (LCCA) with transposition LSA to LCCA was necessary.

In 2 patients (18.2%) dissection extended distally into one or both iliac arteries. In 2 cases (18.2%) the retrograde progression of dissection towards LSA was reported. In one patient angio-CT examination demonstrated additional dissection of proximal portion of coeliac trunk, left renal artery (short segment 50% paracentrally narrowed close to origin of superior polar artery) and inferior mesenteric artery originating from false lumen. Angio-CT examination of the next patient showed coeliac trunk and left renal artery originating from false lumen and poorly visible left renal parenchyma arousing suspicion of its ischaemia.

Coexistence of other arterial diseases was noted in 5 cases (45.4%): in one case – obliterative atheromatosis and dilatation of ascending aorta (47 mm), in second – coronary artery disease (CAD) without significant narrowing showed in coronarography in patient with type A dissection treated on cardio-surgery ward two weeks earlier, in third – intracranial artery aneurysm operated due to its rupture in 1996, in other – developmental anomaly in the form of transposition of vessels originating from aortic arch (in order: innominate artery, LSA, LCCA), in the next case – coexisting CAD.

3 patients (27.3%) needed implantation of more than one stent-graft. In first case simultaneous implantation of two stent-grafts complicated on 5th postoperative day with bleeding into left pleural cavity and revealed in angio-CT leakage requiring emergent implantation of subsequent endograft. The second patient presented leakage into right pleural cavity, haemorrhagic shock and cardiac arrest. On account of serious patient's condition two stent-grafts were implanted emergently. Three years after the first stent-graft implantation the 3rd patient needed another endovascular intervention.

Three types of stent-graft were used: Zenith (2 prostheses), Talent (11) and Valiant (2).

Zenith stent-graft (Cook Inc., Bloomington, IN), originally known as the Perth bifurcated aortoiliac stent-graft is a self expandable stent-graft with independent stainless steel Z-stents assuring high flexibility. Different lengths of Z-stents and segment diameters ensure firm and secure stent-graft adherence to the vessel. Scaffolding covered with light, strong, expansion resistant and non-shrinking polymer – Dacron [10]. Unique peak configuration ensures multilevel anchoring of the stent-graft. Four gold markers localized 2 mm from proximal edge enable the identification of proximal fragment of polyester covering of the stent-graft.

Talent Stent-Graft (World Medical Inc. Sunrise, FL/ Medtronic, Sunnyvale, CA) is a self-expandable prosthesis with a metal frame made of multiple Nitinol stents, covered with thin layer of Dacron (Low Profile System, LPS) [10]. Its diameter ranges from 24 to 46 mm [11].

Valiant stent-graft (Medtronic, Santa Rosa, CA, USA) is an evolution from the Talent endovascular graft specified as a third generation of stent-grafts and available in a range of length up to 227 mm and diameter from 24 to 46 mm. The Valiant endograft has included modifications to delivery sheath, deployment methodology, distal end markers and a complete redesign of the delivery system (from the CoilTrac to Xcelerator system). Moreover, on the Valiant endograft, the proximal spring has been redesigned, with more peaks (8 versus 5) to provide better stability during deployment

lekkim, mocnym, odpornym na rozciąganie i niekurczącym się polimerem – dakronem [10]. Unikalne ułożenie haczyków zapewnia kilkupoziomowe zakotwiczenie stent-graftu. Identyfikację proksymalnego fragmentu poliestrowego pokrycia stent-graftu zapewniają cztery złote znaczniki zlokalizowane 2 mm od proksymalnej krawędzi materiału.

Talent Stent-Graft (World medical Inc.Sunrise, FL/Medtronic, Sunnyvale,CA) to samorozprężalny stent-graft, posiadający metalowe rusztowanie zbudowane z licznych nitinolowych stentów, pokryty cienką warstwą dakronu (tzw. Low Profile System-LPS) [10] o średnicy od 24 do 46 mm [11].

Valiant stent-graft (Medtronic, Stanta Rosa,CA,USA) jest nowocześniejszą formą Talentu [5] określaną jako stent-graft trzeciej generacji o maksymalnej dostępnej długości 227 mm i średnicy od 24 do 46 mm. W Valiancie zastosowano: nowocześniejszą osłonkę graftu, nowy sposób fiksowania protezy, nowe markery umieszczane na końcach graftu, a przede wszystkim nowy system wprowadzający (zmiana z CoilTrac na Xcelent system). Ponadto w Valiancie zwiększono liczbę proksymalnych haczyków z 5 (Talent) do 8, aby zapewnić lepszą stabilność w czasie wprowadzania stentu oraz zredukować stopień traumatyzacji ściany aorty. Sprężyny w Valiancie są przymocowane do zewnętrznej części materiału graftu w przeciwieństwie do Talentu, gdzie są zakotwiczone wewnątrz protezy. W celu łatwiejszej identyfikacji końca proksymalnego i dystalnego, zwłaszcza u pacjentów z wielosekcyjnymi stentgraftami jako marker dystalnego końca wprowadzono znacznik w kształcie „0”, natomiast końca proksymalnego znacznik w kształcie „8” [11].

Implantacja protezy wewnątrznaczyniowej

Wszystkie procedury endowaskularne zostały przeprowadzone badaniem angiograficznym lub angio-TK. Przed zabiegami podawano 5000 j. heparyny. Odślaniano lewą tętnicę udową wspólną cięciem podłużnym w pachwinie i ujmowano na tasiemki. Następnie nakłuwano prawą tętnicę udową, do której wprowadzano cewnik typu pig-tail. Do prawdziwego światła tętnicy wprowadzano cewnik pig-tail poprzez koszulkę hemostatyczną umieszczaną w odsłoniętej tętnicy udowej. Przez cewnik ten wykonywano arteriografię łuku aorty i dokonywano odpowiednich pomiarów. Następnie wprowadzano po przewodniku stent-graft. Po odpowiednim pozycjonowaniu pod kontrolą angiografii implantowano endoprotezy. Wykonywano kontrolne arteriografie w celu oceny drożności tętnic odchodzących od aorty oraz obecności ewentualnego przecieku. Zestawy usuwano. Tętnicę udową powierzchowną lewą zszywano szwem ciągłym. Ranę w lewej pachwinie zaszywano warstwowo z założeniem drenu Redona. Zakładano opatrunki uciskowe na prawą pachwinę. Zalecano dalszą antykoagulację.

Średnica proksymalnego końca implantowanego stent-graftu wynosiła od 34 do 42 mm (średnia $37,6 \pm 3,44$ mm), natomiast długość wahała się w granicach od 130 do 230 mm (średnia $183,6 \pm 37,42$ mm). U 4 pacjentów (36,4%) w trakcie implantacji konieczne było częściowe, a u 2 (18,2%) całkowite pokrycie odejścia LSA (TABELA 2).

Wyniki

U wszystkich pacjentów (100%) procedura implantacji stent-graftu zakończyła się powodzeniem. W okresie pooperacyjnym u jednego pacjenta (9,1%), u którego zabieg endowaskularny przeprowadzono w trybie pilnym, wśród objawów narastającej niewydolności krążeniowo-oddechowej, nastąpił zgon w 13 dobie po implantacji.

and make the device less traumatic to the aortic wall. The springs are now attached to the outside of the graft material in contrast to Talent where the springs are attached to the inside. The distal end markers now have the 0 shape to help distinguish them from proximal 8 markers in patients in whom multiple sections have been used [11].

Stent-graft placement

Angiography and angio-CT were performed before all endovascular procedures. Preoperatively 5000 U of heparin sodium was administered intravenously. The left femoral artery was surgically exposed and taken hold on the tapes. The right femoral artery was the access site and pig-tail catheter was inserted. The pig-tail catheter was delivered through the sheath in the true lumen of the femoral artery. Arteriography of the aortic arch was performed through the catheter and the appropriate measurements were taken. The sheath of stent-graft was introduced. After appropriate placement endograft was implanted under angiographic control. After the device was deployed arteriography was performed to evaluate the flow within branch vessels and the possible presence of endoleak. Both the sheaths and the pig-tail catheter were removed. The left femoral artery was closed with continuous suture. Wound in the left groin was lamellarly sutured. Pressure dressings were put on the right groin. Further anticoagulation was recommended.

TABELA 2. Parametry stent-graftów oraz czas hospitalizacji.

TABLE 2. Endografts' parameters and hospitalization period.

Pacjent Patient	Rodzaj stent-graftu Type of stent-graft	Średnica stent-graftu Stent-graft diameter [mm]	Długość stent-graftu Stent-graft length [mm]	Pokrycie ujścia LSA Coverage of LSA	Czas hospitalizacji [dni] Hospitalization period [days]
1	Zenith	36 → 32	200	Częściowo partial	9
2	Talent(2)	32; 34	115; 115	Nie no coverage	4
3	Talent(2)	34; 34	200 (/all)	Nie no coverage	13
4	Talent	34	130	Pokryto total	11; 8
5	Talent	42 → 38	n/n	nie no coverage	4
6	Talent	42	130	Pokryto total	8
7	Talent	40	130	Częściowo partial	12
8	Talent	38	200	Częściowo partial	2; 4
9	Valiant	38	200	nie no coverage	19
10	Zenith	34	186	Częściowo partial	10
11	Valiant(1), Talent(2)	38-V, 42-T, n/n-T	100-V; 130-T; n/n-T	nie no coverage	19

V – Valiant, T – Talent, n/n – brak danych/not know

Ostra niewydolność krążeniowo-oddechowa spowodowana powiększeniem się tętniaka i jego uciskiem na tchawicę i oskrzela, wymagająca wykonania tracheostomii, wystąpiła w drugiej dobie po rewaskularyzacji LSA. W innym przypadku implantowano w trybie pilnym 2 stent-grafy u pacjenta w ciężkim stanie ogólnym, z pękniętym do jamy opłucnowej tętnikiem rozwarstwiającym aorty (pacjent przewieziony z założonym drenem do prawej jamy opłucnowej, na oddechu kontrolowanym z respiratora, po incydencie zatrzymania krążenia i w stanie wstrząsu krwotocznego). Pacjent po zabiegu endowaskularnym został przekazany do Kliniki Anestezjologii i Intensywnej Terapii. U kolejnego pacjenta obserwowano cechy anemizacji oraz krwawienia do lewej jamy opłucnowej w 5 dobie po zabiegu, choremu wykonano badanie angio-TK, w którym stwierdzono obecność przecieku. U pacjenta w trybie pilnym implantowano kolejny stentgraft. W przebiegu pooperacyjnym z uwagi na obecność krwi w lewej jamie opłucnowej wykonano u pacjenta kilkakrotnie punkcje odbarczające lewej jamy opłucnowej (drenując około 4l zhemolizowanej, mętnej krwi). W wykonanym z powodu utrzymującej się gorączki posiewie treści opłucnowej stwierdzono obecność paciorkowców. W 18 dniu od pierwszego zabiegu nastąpiło gwałtowne nasilenie się cech niewydolności oddechowej - w rtg klatki piersiowej stwierdzono cechy odmy opłucnowej. Założono drenaż odbarczający do lewej jamy opłucnowej uzyskując czasowo zdecydowaną poprawę stanu ogólnego, pacjent został przekazany do Kliniki Torakochirurgii.

W 3 przypadkach (27,3%) w okresie pooperacyjnym wystąpiła gorączka. U dwóch pacjentów, ze względu na brak uchwytynego źródła zakażenia rozpoznano zespół poimplantacyjny. U jednego pacjenta (9,1%) w kontrolnej angiografii wykonanej w dniu zabiegu wykazano utrzymujący się niewielki wsteczny przeciek do światła kanału rzekomego. Czas hospitalizacji wahał się w granicach od 4 do 19 dni (średnia 11,2±5,77 dni).

Omówienie

Rozwarstwienie jest jedną z najpoważniejszych chorób aorty. Pierwszy opis rozwarstwienia aorty został dokonany w 1761 roku w czasie sekcji Grzegorza II króla Anglii [12]. Próbę leczenia chirurgicznego podjęto dopiero w 1935 roku [13]. Natomiast pierwszą operację rozwarstwienia aorty, która zakończyła się sukcesem wykonał DeBakey w 1955 roku [14]. Mimo że od tego czasu minęło ponad 50 lat, rozwarstwienie aorty stanowi wyzwanie dla współczesnej chirurgii.

Rozwarstwienie aorty powstaje w mechanizmie pęknięcia błony wewnętrznej, prowadzącego do oddzielenia błony środkowej przez prąd krwi i powstania światła rzekomego aorty. Głównym czynnikiem ryzyka wystąpienia rozwarstwienia aorty jest nadciśnienie tętnicze (od 50% do 100% przypadków) [15-18], zwłaszcza u chorych z zaawansowaną miażdżycą. Wśród pacjentów leczonych w naszej klinice odsetek ten wynosił 63,6%. Spośród innych czynników ryzyka wymienia się: dwupłatkową zastawkę aortalną, koarktację aorty oraz stan po operacji naprawczej tej wady, istniejący wcześniej tętniak aorty (10%) – wśród naszych pacjentów u 6%, wrodzone choroby tkanki łącznej (zespół Marfana, zespół Ehlersa-Danlosa, rozstrzeń pierścienia aorty), torbielowate zwyrodnienie błony środkowej, zapalenia aorty, ciążę, urazy [4,5,19,20]. Urazy jatrogenne powstałe w wyniku cewnikowania wewnątrznaczyniowego, stosowania balonów wewnątrzaoortalnych oraz operacji kardiochirurgicznych są przyczyną rozwarstwienia w 5% przypadków, wśród naszych pacjentów odsetek ten wynosił 3%.

The proximal diameter of the implanted stent-grafts ranged from 34 to 42 mm (mean 37.6±3.44 mm) and length of the device ranged from 130 to 230 mm (mean 183.6±37.42 mm). In 4 patients (36.4%) partial and in 2 (18.2%) - total coverage of the LSA was required during endovascular procedure.

Results

Transluminal placement of the stent-graft prostheses was successful in all patients (100%). One patient (9.1%), with progressive circulatory and respiratory failure, who underwent endovascular procedure emergently, died on 13th day after implantation. Acute respiratory and circulatory failure, as a result of aneurysm enlargement and its compression to the trachea and the bronchi, requiring tracheotomy, appeared on the 2nd day after LSA revascularization. In other case 2 stent-grafts were implanted to the patient with poor general condition, with aortic dissection ruptured into the pleural cavity (at admission right pleural drainage, controlled respiration, after cardiac arrest, with haemorrhagic shock). After endovascular procedure patient was transported to the intensive care unit. Next patient with anaemia and bleeding into the left pleural cavity on the 5th day after procedure was diagnosed with leakage revealed in angio-CT. The patient emergently underwent subsequent stent-graft implantation. Patient was performed several pleural punctures draining 4l turbid, haemolyzed blood because of postoperative haemothorax. Streptococcus spp. was isolated from the pleural culture performed for the reason of fever. On the 18th day after the first surgical procedure sudden progression of respiratory failure appeared – the chest X-ray showed pneumothorax. Patient was transported to the thoracosurgical ward after pleural drainage resulting in patient's general condition improvement.

3 patients (27.3%) presented fever postoperatively. In 2 cases (18.2%) postimplantation syndrome was diagnosed as a result of elusive source of infection. In one case at the day of procedure in control angiography small retrograde endoleak to the false lumen was demonstrated. The hospitalization period ranged from 4 to 19 days (mean 11.2±5,77 days).

Discussion

Aortic dissection is one of the most serious disease that can affect aorta. First description of aortic dissection was made in 1761 during George II autopsy [12]. The first attempt of aortic dissection surgical treatment was made in 1935 [13]. However, the first successful aortic dissection surgery was performed by DeBakey in 1955 [14]. Although, it has been 50 years since that event, aortic dissection has still been a challenge for the modern surgery.

Aortic dissection occurs as the result of the tear within intimal lining of the aorta, leading to exposure of the intima to elevated aortic pressures with resultant separation of the intima from the aortic wall to form a false lumen. Exposure of the intima to elevated aortic pressures ultimately results in propagation of the dissection antegrade, retrograde, or in both directions from the site of the initial aortic tear [15]. Arterial hypertension is the main risk factor of the aortic dissection (from 50% to 100% cases) [16-19], especially in patients with advanced atheromatosis. Among patients treated in our clinic percentage amounted to 63.6%. The other risk factors are: bicuspid aortic valve, coarctation of the aorta and postoperative condition after aortic reconstruction, earlier prevalence of the aortic aneurysms (10%) – among our patients in 6%, congenital connective tissue diseases

Istotne dla celów terapeutycznych i leczniczych jest określenie lokalizacji rozwarstwienia. Służą temu różne systemy klasyfikacji. Do najczęściej stosowanych należą:

a) klasyfikacja DeBakeya (typ I – rozwarstwienie powstałe w aorcie wstępującej obejmujące zasięgiem łuk aorty z możliwością progresji zstępującej, typ II – rozwarstwienie dotyczące wyłącznie aorty wstępującej, typ III – każde rozwarstwienie powstałe w aorcie zstępującej, w tym rzadkie przypadki progresji wstecznego rozwarstwienia z objęciem łuku i aorty wstępującej),

b) klasyfikacja Stanford (typ A – wszystkie rozwarstwienia obejmujące aortę wstępującą, bez względu na miejsce powstania, typ B – wszystkie rozwarstwienia, które nie obejmują aorty wstępującej),

c) klasyfikacja objawowa (proksymalne – dotyczy rozwarstwień typu I i II wg klasyfikacji DeBakeya lub rozwarstwień typu A wg klasyfikacji Stanford, dystalne – dotyczy rozwarstwień typu III wg klasyfikacji DeBakeya lub typu B wg klasyfikacji Stanford).

Równie ważny dla wyboru sposobu leczenia poza lokalizacją rozwarstwienia jest czas, jaki upłynął od wystąpienia objawów do chwili rozpoznania. Za rozwarstwienie ostre uznaje się każde rozwarstwienie, w którym czas od wystąpienia objawów do chwili rozpoznania był krótszy niż 2 tygodnie, pozostałe przypadki uznajemy za rozwarstwienie przewlekłe. Wskaźnik śmiertelności jak i dalszy postęp choroby maleją z czasem, dlatego postępowanie terapeutyczne jest odmienne w przypadku ostrym i przewlekłym [3].

Leczenie farmakologiczne jest leczeniem z wyboru w: niepowikłanych rozwarstwieniach dystalnych, stabilnych izolowanych rozwarstwieniach łuku aorty, stabilnych przewlekłych rozwarstwieniach. Głównym celem leczenia farmakologicznego jest kontrola ciśnienia tętniczego. W pozostałych przypadkach stosowane jest leczenie interwencyjne. Obecnie preferowaną metodą leczenia rozwarstwienia są zabiegi endowaskularne z użyciem stent-graftów, których działanie ingeruje w podstawowy mechanizm powstawania rozwarstwienia poprzez pokrycie entry, wykrzepienie kanału fałszywego oraz poszerzenie światła kanału prawdziwego aorty. Wskazaniami do leczenia wewnątrznaczyniowego są: rozwarstwienia niestabilne – zagrażające pęknięciem, obwodowe niedokrwienie narządowe, stabilne rozwarstwienie ponad 5 cm [21-25]. Stosowanie stent-graftów u chorych ze stabilnym rozwarstwieniem pozostaje nadal sprawą kontrowersyjną [26,27].

Po raz pierwszy technika endowaskularna została zastosowana do leczenia tętniaków aorty brzusznej w 1990 roku przez N. Volodos i J.C. Parodi [4]. Od tego momentu rozpoczął się gwałtowny rozwój tej metody leczenia.

Protezy wewnątrznaczyniowe nazywane są popularnie stent-graftami. Ich rusztowanie stanowi wykonany z biologicznie neutralnego metalu (stal nierdzewna, nitinol, inne stopy) stent o średnicy konkretnego odcinka aorty. Jest on powleczony tworzywem, poliestrem, stosowanym również do produkcji klasycznych protez chirurgicznych - politetrafluoroetylenem (PTFE, Gore-Tex firmy DuPont) lub dacronem. W zależności od zastosowanej technologii stent-graft może być powleczony w całości lub mieć nie pokryte segmenty końcowe, co pozwala na pozycjonowanie stent-graftów w poprzek ważnych pni naczyniowych. Alternatywą takiego postępowania jest pozostawienie okienka w powłoce stent-graftu (tzw. stent-grafy fenestrowane). Niektóre protezy wewnątrznaczyniowe wyposażone są w haczyki mocujące protezę do ściany naczynia, dodatkowo zabezpieczające ją przed przemieszczeniem się. W innych systemach mocowanie odbywa się na zasadzie docisku [28,29].

W rozwarstwieniu aorty używane są te same typy stent-graftów, które wszczepia się w przypadku leczenia tętniaków aorty piersiowej o innej etiologii. Zastosowanie znajdują

(Marfan syndrome, Ehlers-Danlos syndrome, aortic annulus dilatation), cystic degeneration of the aortic media, aortitis, pregnancy, injuries [4,5,20,21]. Iatrogenic injuries arose as a result of intravascular catheterization, IABP (Intra-Aortic Balloon Pump) placement and cardiosurgical procedures induce aortic dissection in 5% cases, among our patients this percentage amounted to 3%.

For the therapeutic purpose it is significant to localize the entry tear. Standardized classification systems have been developed to describe the anatomic location of an aortic dissection. These classification systems are useful for determining prognosis and the approach to management for patients with aortic dissection. In the DeBakey system, a type I dissection originates in the ascending aorta and extends into the aortic arch or beyond and may extend into the abdominal aorta or iliac arteries. Type II aortic dissection originates within, and is confined to, the ascending aorta. Type III aortic dissection originates distal to the left subclavian artery and propagates distally into the descending thoracic (IIIa) or the abdominal (IIIb) aorta. In the Stanford, or Daily, classification system, aortic dissections are classified as those involving the ascending aorta (type A) and those that do not involve ascending aorta (typeB). Type A aortic dissections are referred to as "proximal" aortic dissections and type B as "distal" aortic dissections [15].

The period of time from the beginning of the symptoms to the aortic dissection diagnosis is essential for the treatment strategy selection. Aortic dissections are defined as acute aortic dissections when the period of time from the beginning of the symptoms to the diagnosis is shorter than 2 weeks; the other cases are defined as chronic aortic dissections. Mortality rate and further disease progression decrease in time, therefore therapeutic management differs in both acute and chronic cases.

Pharmacotherapy is a first choice treatment for: non-complicated distal aortic dissection, stable isolated dissection of aortic arch, stable chronic aortic dissection. The main purpose of pharmacotherapy is to control arterial hypertension. In the other cases surgical interventions should be performed. Currently endovascular procedures with stent-graft placement, which interfere in the elementary mechanism of the aortic dissection pathogenesis through coverage of the entry tear, thrombosis of the false lumen and dilatation of the true channel. Indications for endovascular treatment include: unstable aortic dissection imminent of rupture, peripheral ischaemia, stable dissection greater than 5 cm [22-26]. Stent-graft placement among patients with stable aortic dissection still remains controversial [27,28].

Since 1990 when N. Volodos and J.C. Parodi for the first time used stent-graft implantation for the abdominal aortic aneurysm treatment [4] the endovascular technique has rapidly developed.

Endovascular prostheses commonly called stent-grafts consist of supporting frame covered with synthetic graft material. Endoprosthesis framework (stent) is made of biologically neutral metal (stainless steel, nitinol and the other alloys) covered with polyester (polytetrafluoroethylene - PTFE or Dacron) also used to produce classical prostheses. Depending on the applied technology, stent-grafts may be covered completely or partially (uncovered ending segments) that allows stent-graft placement across the vital vascular trunks. The alternative procedure uses fenestrations in the covering of the stent-graft (so-called fenestrated stent-grafts). Some endografts are fitted with peaks fixing prosthesis to the vascular wall, additionally protecting graft against dislocation. In other systems attachment is performed on the base of pressurization technique [29,30].

The same types of stent-grafts are used in both aortic dissection and thoracic aortic aneurysm. In contrast to

stent-grafy proste w przeciwieństwie do stent-graftów rozwidlonych wykorzystywanych w przypadku leczenia tętniaków aorty brzusznej. W praktyce implantowane są często dwa i więcej stent-graftów, umieszczanych w sposób „teleskopowy”. Wielkość stosowanego stent-graftu określana jest na podstawie pomiaru średnicy zdrowego odcinka aorty ponad miejscem rozwarstwienia [18]. Średnica stent-graftu powinna przekraczać o 10-15% średnicę aorty [30]. W leczeniu rozwarstwienia wykorzystywane są stent-grafy długie w związku z częstym występowaniem kilku re-entry. Zastosowania nie znajdują stent-grafy z niepokrytym segmentem końcowym, którego nacisk na cienką ścianę odgradzającą kanał prawdziwy od rzekomego mógłby doprowadzić do jej rozdarcia [18].

Podstawowymi rodzajami stent-graftów są Talent, Zenith, PowerLink, Excluder, AneuRx, Stenway, Ancure i Lifepatch. Dawniej stosowano również inne modele jak Stentor, Vanguard należące do pierwszej generacji, wycofanej z użycia ze względu na udowodniony zwiększony odsetek powikłań po ich implantacji (przecieki, wykrzepianie, migracja stent-graftu) [28,29] związanych z uszkodzeniami struktury zastosowanych materiałów, rozejściem się modułów, zgięciem i skręceniem się protezy [31-33].

Spośród drugiej generacji stent-graftów w naszej klinice stosowano Talent (11 protez 73,3%) i Zenith (2 protezy 13,3%). Zaletą tych stent-graftów jest sposób ich uwalniania – dają one możliwość bardzo precyzyjnego pozycjonowania. Jednak u pacjentów ze znacznie zagiętymi tętnicami biodrowymi obserwowano, iż segmentalna budowa odnog tego typu stent-graftów przyczynia się do powstania w nich zakrzepicy. System wprowadzający stent-graftu Zenith jest pokryty substancją hydrofilną znacznie ułatwiającą jego implantację nawet w przypadku dużych zmian miażdżycowych zwężających światło tętnic biodrowych i udowych [34].

Jako odpowiedź na wyzwanie jakim stało się leczenie różnych schorzeń w obrębie aorty piersiowej Medtronic wprowadził stent-graft typu Valiant do praktyki klinicznej w 2005 roku [35]. Wśród pacjentów leczonych w naszej klinice stent-graft typu Valiant został zastosowany w 2 przypadkach (2 protezy 13,3%). Do tej pory z dobrym rezultatem stosowano stent-graft typu Talent, miał on jednak pewne ograniczenia w postaci:

- trudności w precyzyjnym umieszczeniu stent-graftu w ściśle określonym miejscu aorty,
- krótkiej długości protezy skutkującej koniecznością implantowania kilku protez jednocześnie,
- trudności we wprowadzaniu stent-graftów do silnie zwężonych tętnic biodrowych oraz łuku i aorty zstępującej o krętym przebiegu,
- niedostatecznej stabilizacji proksymalnego odcinka protezy w obrębie łuku aorty.

Valiant stał się kolejną postacią stent-graftu Talent zawierającą nowe modyfikacje dotyczące: osłonki wprowadzającej, konfiguracji stent-graftu, sposobu pozycjonowania protezy i systemu markerów. Znaczące różnice między Talentem a Valiantem wynikają z: usunięcia sprężynek łączących, zmian systemu konfiguracji rusztowania stent-graftu, rozszerzenia zakresu dostępnych długości stent-graftów, całkowitej zmiany systemu wprowadzającego (z CoilTrac na Xcelerantssystem). Modyfikacje te miały na celu poprawę giętkości stent-graftu oraz zwiększenie wytrzymałości na zmianę struktury podłużnej. W Valiancie liczba proksymalnych haczyków została zwiększona z 5 (Talent) do 8 w celu zapewnienia lepszej stabilności w czasie wprowadzania stentu. Sprężynki w Valiancie przymocowane są do zewnętrznej części materiału graftu w przeciwieństwie do Talentu, w którym są mocowane od strony wewnętrznej. Nieprzepuszczalne dla promieni rentgenowskich markery zostały również ulepszone.

bifurcated stent-grafts administered in abdominal aortic aneurysm, non-bifurcated stent-grafts are required for aortic dissection treatment. In practice two or more stent-grafts are implanted in the “telescopic” way [19]. Stent-grafts should be 10% to 15% larger than the diameter of the non-diseased aorta proximal to the entry tear [31].

On account of frequent incidence of several re-entries long endoprostheses are used, however stent-grafts with uncovered distal segments cannot be implanted due to the risk of the aortic rupture in the mechanism of their pressurization on the thin wall separating true from false channel [19].

The basic type of stent-grafts are Talent, Zenith, PowerLink, Excluder, AneuRx, Stenway, Acure i Lifepatch. Previously implanted, the first stent-graft generation involving Stentor and Vanguard, has been removed from usage because of proven increased postimplantation complication rate (endoleak, thrombosis, stent-graft migration) [29,30] associated with structural alterations, disconnection of modular components, bending and kinking of prosthesis [32-34].

Among second stent-graft generation in our clinic Talent endografts (11 prostheses -73.3%) and Zenith (2 prostheses -13.3%) were implanted. They are characterized by advantageous way of deployment and very precise fixation. However patients with substantial tortuosity of iliac arteries were observed to develop thrombosis due to segmental construction of its branches. Zenith stent-graft delivery system is covered with hydrophilic substance making its implantation easier even in the case of advanced atherosclerotic changes narrowing the lumen of iliac and femoral arteries [35].

In response to the challenges of the thoracic aorta, Medtronic introduced the Valiant thoracic endograft into clinical practice in 2005 [36]. Among patient treated in our clinic Valiant stent-graft was implanted in 2 cases (2 prostheses -13.3%). The Talent thoracic endograft performed well in initial experiences of endovascular thoracic procedures. However, in challenging cases the graft could be limited by:

- high deployment forces leading to excessive manipulation or inability to deploy the graft in the correct position;
- short graft lengths leading to inadequate overlap or large numbers of grafts;
- difficult track ability in calcified iliacs or excessive tortuosity of the arch or descending thoracic aorta;
- poor conformability due to the connecting bar in the proximal graft, if deployed around the arch.

The Valiant was an evolution from the Talent thoracic endograft and contained some improved design features, which included modifications to stent design delivery sheath, graft configuration, deployment methodology and markers. The most significant changes from the TalentTM to ValiantTM are removal of the spring, connecting bar, a redesign of the proximal and supporting stent configuration, an increase in choice of graft lengths and a complete redesign of the delivery system (from the CoilTrac to the Xcelerant system). These changes were intended to make the device behave identically regardless of orientation, to make the system more flexible, track better and have better kink resistance. On the ValiantTM endograft, the proximal spring has been redesigned with more peaks (8 versus 5) to provide better stability during deployment and make the device less traumatic to the aortic wall. The springs are now attached to the outside of the graft material in contrast to ZenithTM in which springs are attached to the inside. The radiopaque markers have also been improved; the distal end markers now have the 0 shape to help distinguish them from proximal 8 markers in patient in whom multiple sections have been used [8].

Early results of stent-graft implantation seem to be very promising (lower complication rate in comparison to the

W celu łatwiejszej identyfikacji końca proksymalnego i dystalnego, zwłaszcza u pacjentów z wielosekcyjnymi stent-graftami, jako marker dystalnego końca wprowadzono znacznik w kształcie „0”, natomiast końca proksymalnego znacznik w kształcie „8” [11].

Wczesne wyniki stosowania protez wewnątrznaczyniowych wydają się bardzo obiecujące (mniejsza liczba powikłań w porównaniu z grupą leczoną w sposób klasyczny, krótszy czas hospitalizacji, niższy wskaźnik śmiertelności w obserwacji jednorocznej) [3].

Powodzenie procedury implantacji stent-graftu waha się od 86 do 100% [30], w naszej klinice osiągnięto 100% skuteczność. Czas hospitalizacji wahał się od 4 do 19 dni ($11,2 \pm 5,77$ dni). Wynik ten jest porównywalny do uzyskanego przez Nienaber i wsp., u których czas ten wynosił od 4 do 15 dni (7 ± 3 dni) [5]. Natomiast czas hospitalizacji pacjentów leczonych metodą klasyczną był zdecydowanie dłuższy i wynosił od 14 do 96 (40 ± 24). Odsetek śmiertelności wczesnej (do 30 dni od implantacji) w naszej klinice wynosił 9,1% (1 zgon), jest więc porównywalny z wynikami przedstawionymi w literaturze wahającymi się w granicach od 8,4% wg Neuhauser [36] do 16% wg Dake i wsp. [4].

Jedną z najczęstszych przyczyn powikłań po implantacji stent-graftów jest przeciek, czyli tzw. endoleak. Endoleak jest to trwały wypływ krwi poza światło protezy wewnątrznaczyniowej, jednak w obręb worka tętniaka bądź segmentów naczyniowych przylegających do stent-graftu [6]. Podział przecieków ze względu na mechanizm powstawania pozwala na sklasyfikowanie ich w sześciu grupach:

Typ I – polega na przecieku krwi do worka tętniaka obok stent-graftu, może się pojawić zarówno na bliższym jak i dalszym końcu. Pojawienie się go wkrótce po zabiegu, świadczy o złym dopasowaniu stent-graftu do średnicy aorty (zbyt mała lub duża średnica stent-graftu). Natomiast pojawienie się go w czasie odległym od zabiegu jest wynikiem poszerzenia się aorty lub też przemieszczenia się stent-graftu. Istnieje również możliwość sfałdowania protezy od strony krzywizny mniejszej łuku aorty (zjawisko „akordeonu”). Usunięcie tego typu endoleaku polega na wewnątrznaczyniowym domodelowaniu protezy cewnikiem balonowym lub zastosowaniu dodatkowego krótkiego, prostego stent-graftu, tzw. przedłużki. Często jej wykorzystanie jest związane z koniecznością pokrycia LSA, a nawet LCCA oraz chirurgicznej rewaskularyzacji w obszarze unaczynionym przez tętnice [37,38].

Typ II – najczęściej występuje bezpośrednio po zabiegu, polega na wstecznym napływie krwi do worka tętniaka przez różne gałęzie boczne aorty. Istnieje możliwość jego samistnego zamknięcia w ciągu kilku tygodni do 6 m-cy. Jeśli to nie nastąpi stosuje się przeznaczyniową, selektywną embolizację, laparoskopową obliterację lub podanie materiału trombotycznego do światła tętniaka.

Typ III – jest konsekwencją nieszczelności w miejscu łączenia elementów stent-graftu wynikającej ze zbyt krótkiego odcinka wzajemnego nakładania się sąsiadujących elementów protezy lub połączenia poszczególnych elementów protezy w miejscu wygięcia aorty bądź strukturalnego uszkodzenia protezy np. przedziurawienia. Leczenie polega na dostawieniu dodatkowego modułu.

Typ IV – związany z porowatością materiału budującego protezę, pojawia się najczęściej do 30 dni od zabiegu. [6,18].

Przeciek nieznanego pochodzenia (Endoleak of Undefined Origin) – jest to powiększenie się worka tętniaka bez uchwytnej przyczyny i lokalizacji, która może zostać wykryta wraz ze zwiększeniem się czułości metod obrazowych.

Endotension – ma miejsce wtedy, gdy wysokie ciśnienie może być utrzymywane wewnątrz worka tętniaka bez widocznego przecieku poza graft. Ten trudny do zobaczenia

classical technique, shorter hospitalization period and lower mortality rate in one year observation). Successful stent-graft implantation ranged from 86% to 100% reported in the literature, in our clinic 100% efficacy was achieved. The hospitalization period ranged from 4 to 19 days ($11,2 \pm 5,77$ days). This result is comparable to the Nienaber et al. results ranging from 4 to 15 days (7 ± 3 days). However the hospitalization period after classical surgery treatment was significantly longer and extended from 14 to 96 (40 ± 24) [5]. The early mortality rate (30 days after implantation) in our clinic amounted 9.1% (1 death), thus is comparable to the results reported in the literature ranging from 8.4% according to Neuhauser [37] to 16% according to Dake et al. [4].

Endoleak is one of the most frequent postimplantation complications. Endoleak is a condition unique to endoluminal vascular grafts defined by the persistence of blood flow outside the lumen of the endoluminal graft but within an aneurysm sac or adjacent vascular segment being treated by the device. Endoleak classification including 6 types of endoleaks is based on the mechanism of their origin.

Type I – blood leakage to aneurysmal sac around the device, appearing both at proximal and distal ends. When present early in the course of the treatment it reflects inadequate fitting of stent-graft to the aortic diameter (to large or to small stent-graft diameter), while its remote appearance is a result of aortic dilatation or stent-graft migration. Possibility of endograft folding along the minor curvature of aortic arch can be also taken into account (“accordion” phenomenon). Removal of this endoleak includes endovascular balloon angioplasty or implantation of additional short, non-bifurcated stent-graft frequently requiring LSA or even LCCA coverage and surgical revascularization of the area supplied by these arteries [38,39].

Type II – most frequently present directly after implantation procedure, occurs when there is persistent retrograde blood flow into the aneurysm sac from patent collateral aortic vessels. There is a possibility of its spontaneous closure within several weeks to 6 months, otherwise selective transluminal embolization, laparoscopic obliteration or administration of thrombotic material into the aneurysm lumen should be performed.

Type III - this type of endoleak is related to inadequate or ineffective seal at the graft joints as a consequence of too short overlapping of adjacent graft segments, connection of prosthesis elements at the side of aortic curve, structural destruction of endograft, for example endograft perforation. The treatment involves additional segment placement.

Type IV – this type of endoleak is related to the porosity and passage of blood through the fabric of the graft and frequently appears within 30 days after implantation [6,19].

Endoleak of Undefined Origin - this type of endoleak has an unknown cause and location, which may be eventually defined as the imaging techniques get more refined. Endotension – condition, when high pressure, may be maintained within the aneurysm sac with no evidence of leak or blood flow outside the graft. One proposed mechanism is pressure transmission via thrombus that lines the attachment site. Endotension may also represent an indiscernible, very low flow endoleak that allows blood to clot at the source of leakage. It is also known as “Endo-pressure” or “Nonendoleak aneurysm sac pressurization”. Classification of endoleaks is an evolving proposition and further specificity can be gained by adding the qualifiers A or B, where A refers to endoleaks in which only an inflow channel can be demonstrated and B refers to endoleak with apparent inflow and outflow channels. Endoleaks can be also called primary (early) or secondary (late) [6].

Endovascular procedures performed in our clinic to patient with aortic dissection were complicated with endoleak

przeciek może wynikać z bardzo wolnego przepływu krwi, która zdąży skrzepnąć na powierzchni wycieku. Ten typ jest również nazywany „Endopressure” albo „Noneendoleak aneurysm sac pressurization”.

Inny sposób klasyfikacji uwzględni podział przecieków na typ A- z widocznym wyłącznie kanałem napływu oraz typ B – widoczny kanał napływu i odpływu.

Istnieje również podział przecieków na wczesne – do 30 dni od zabiegu i późne – powyżej 30 dni po zabiegu [6].

Zabiegi endowaskularne wykonane w naszej klinice u pacjentów z rozwarstwieniem aorty w 9,1% powikłane były wystąpieniem endoleaku (jeden przypadek pacjenta, u którego w kontrolnej angiografii pooperacyjnej stwierdzono niewielki wsteczny napływ krwi przez re-entry do światła kanału rzekomego – typ II endoleaku). Wynik ten jest porównywalny do uzyskanego przez Neuhasera i wsp. – 4% [36].

U jednego pacjenta (9,1%) wystąpił przeciek poza światło naczynia do lewej jamy opłucnowej. Powikłanie to wymagało implantacji w trybie pilnym drugiego stent-graftu.

Wśród innych powikłań obserwuje się migrację endoprotezy stwierdzaną, gdy stent-graft przemieści się o ponad 5 mm w stosunku do pierwotnego położenia (zarówno w kierunku obwodowym jak i dosercowym). Najczęstszą przyczyną jest błąd implantacji (m.in. źle dopasowany rozmiar stent-graftu lub złe pozycjonowanie końca stent-graftu, np. w ostrym zagięciu aorty), powiększenie szyi tętniaka i zmiany patologiczne ściany naczynia (np. bardzo kręty przebieg) [29]. Częstym błędem jest niedoszacowanie długości protezy, zwłaszcza gdy przebieg aorty jest dość kręty, pomiar jej długości na podstawie długości cewnika kalibrowanego może być niewiarygodny w związku z układaniem się cewnika wzdłuż mniejszych krzywizn aorty [18]. Powikłania tego nie stwierdzono w naszej grupie pacjentów.

Indukcja układu krzepnięcia przez obcy materiał, jakim jest endoproteza, może doprowadzić do powikłania w postaci jej zakrzepicy. Wytworzenie przyściennego zakrzepu jest pod pewnymi względami zjawiskiem korzystnym, gdyż oddziela sztuczną powierzchnię protezy od krwioobiegu. Jednak z czasem proces ten może się nasilać i doprowadzić do niebezpiecznego zwężenia światła protezy, skutkującego objawami przewlekłego lub ostrego niedokrwienia kończyn dolnych. Zakrzep często lokalizuje się w miejscach zgięć i rozwidleń. Jako profilaktykę przed wystąpieniem tego powikłania stosuje się przewlekle leki antykoagulacyjne lub antyagregacyjne. Gdy jednak dojdzie do zakrzepnięcia endoprotezy należy przeprowadzić zabieg rekanalizacji radiologicznej (tromboliza) lub chirurgicznej (trombektomia), bądź otwarte metody wytworzenia by-passów ekstraanatomicznych [29].

Niedokrwienie rdzenia kręgowego (SCI) wynikające z pokrycia odgałęzień aorty piersiowej przez stent-graft zdarza się z częstością od 0 do 12% [39]. SCI po leczeniu endowaskularnym występuje częściej w wypadku objęcia przez stent-graft tętnic zaopatrujących rdzeń kręgowy (tętnica Adamkiewicza, tętnice międzyżebrowe, tętnice lędźwiowe), długiego okresu hipotensji bądź wystąpienia zatoru materiałem miazdźcowym pochodzącym z aorty [39%]. Głównym czynnikiem wpływającym na wystąpienie SCI jest długość stent-graftu (wg Shim i wsp. bezpieczne jest stosowanie stent-graftów o długości od 3 do 7 trzonów kręgowych) [30], dodatkowym czynnikiem ryzyka jest wcześniejsza operacja tętniaka aorty brzusznej zarówno metodą klasyczną jak i endowaskularną.

Pokrycie stent-graftem ujścia LSA uważane jest za stosunkowo bezpieczną procedurę jednak Thomson i wsp. [35%] zaobserwowali większą częstość występowania udarów w grupie pacjentów, u których pokryto ujście LSA (9%), w porównaniu z pacjentami, u których proksymalny koniec stent-graftu znajdował się poniżej odcinka LSA (0,8%).

in 9.1% (in one case postoperative control angiography revealed small retrograde blood flow into the false channel – type II endoleak). The result is comparable to the one achieved by Neuhauser et al. – 4% [37]. One patient presented (9.1%) leakage to the left pleural cavity requiring emergent second stent-graft implantation.

Among other complications endograft migration, defined as more than 5 mm dislocation of the graft both peripherally and proximally, was observed. The most frequent cause is implantation failure (inadequate fitting of stent-graft diameter, inappropriate stent-graft fixation, e.g. severe angulations of aorta), enlargement of aneurysmal neck and pathological changes of vascular wall (e.g. essential aortic tortuosity) [30].

Underestimation of stent-graft length appears a frequent mistake particularly in the case of significant aortic tortuosity, when assessment of endograft size on the basis of calibrated catheter length may be unreliable as a result of catheter positioning along minor aortic curvature [19]. This complication was not observed among our patients.

The induction of blood coagulation by foreign material such as endoprosthesis can lead to its thrombosis. Formation of parietal thrombus can be beneficial phenomenon in some respects, because of separation of artificial endograft surface from bloodstream. However, the aggravation of thrombogenic process may occur, leading to the dangerous narrowing of endograft lumen resulting in chronic or acute lower limb ischaemia. Angulations and bifurcations are the places of frequent thrombus localization. Prophylaxis including anticoagulant and antiplatelet medications should be administered. However in case of endograft thrombosis radiological recanalization procedure (thrombolysis), surgical recanalization procedure (thrombectomy) or open methods of extraanatomical by-pass grafting should be performed.

Spinal cord ischaemia (SCI) resulting from stent-graft coverage of thoracic aortic branches occurs with the frequency that ranges from 0 to 12% [40]. SCI after endovascular treatment occurs more frequently when the arteries that supply the spinal cord are sacrificed (Adamkiewicz's artery, intercostal and lumbar arteries), as well as after a period of hypotension or as a result of emboli from aortic atheromatous lesions [40]. Stent-graft length seems to be the main factor that influences SCI incidence (according to Shim et al. safety of endovascular methods is associated with usage of stent-graft covering only 3 to 7 segments of thoracic vertebrae) [31], previous abdominal aortic aneurysm surgery (both open surgery and endovascular technique) constitutes additional risk factor.

LSA coverage by the stent-graft is considered to be relatively safe procedure, however Thomson et al. [36] observed that the incidence of stroke in patients with LSA occlusion appeared in 9%, compared to a stroke rate of 0.8% among patients with no coverage or revascularization of LSA. Concern about the development of left upper-extremity ischaemia and vertebral artery still as a result of coverage of the LSA after graft deployment led to the practice of prophylactic left subclavian – carotid artery transposition, or left carotid – subclavian artery by-pass in patients where LSA coverage would be required to obtain an adequate proximal landing zone. Clinical indications for LSA revascularization are: dominant left vertebral artery, aberrant right vertebral artery, prior left internal thoracic – coronary artery by-pass [41]. One of our patient needed LSA revascularization procedure. No neurological complications were reported.

Endoprosthesis infection, as a very serious complication, usually occurs in the endogenous way and is caused by microbes present in the blood. Due to the lack of possibility of infected endograft removal this complication is associated with 100% mortality rate [30].

Rozwój niedokrwienia lewej kończyny górnej oraz wystąpienie zespołu podkradania jako rezultat pokrycia LSA skłoniło do stosowania praktyki profilaktycznej transpozycji LSA do LCCA lub wykonywania by-passu między tymi dwiema tętnicami. Klinicznymi wskazaniami do zastosowania metod rewaskularyzacyjnych są: dominacja lewej tętnicy kręgosłupowej, aberacje prawej tętnicy kręgosłupowej oraz wykonany wcześniej by-pass pomiędzy lewą tętnicą piersiową wewnętrzną a tętnicą wieńcową [40].

U jednego z naszych pacjentów zaszła konieczność wykonania rewaskularyzacji LSA. U żadnego z pacjentów nie wystąpiły powikłania neurologiczne.

Infekcja protezy naczyniowej jest groźnym powikłaniem. Najczęściej następuje drogą wewnątrzopodową i spowodowana jest przez drobnoustroje obecne w krwiobiegu. Powikłanie to jest w 100% śmiertelne, ponieważ praktycznie nie ma możliwości usunięcia zakażonej endoprotezy [29].

Najczęstszym powikłaniem po zabiegach endowaskularnych jest zespół poimplantacyjny występujący z częstością 64% wg Shim i wsp. [30]. Zespół ten charakteryzuje się gorączką sięgającą do 39°C i utrzymującą się nawet do około 10 dni, podwyższonym stężeniem CRP, leukocytozą oraz zmniejszeniem ilości płytek. Mechanizm tego zespołu nie został do końca wyjaśniony, prawdopodobnie jest to wynik nieswoistej odpowiedzi zapalnej na obcy materiał wywołanej aktywacją leukocytów (gł. neutrofilii) modyfikowanej przez cytokiny i czynniki chemotaktyczne. Uwalnianie IL-6 przez śródbłonek podczas manipulacji śródoperacyjnych indukuje produkcję CRP oraz stymuluje leukocyty do produkcji TNF α . Dochodzi również do aktywacji płytek krwi w wyniku bezpośredniej stymulacji przez materiał stent-graftu. Niektóre zaburzenia krzepnięcia obserwowane we wczesnym okresie po zabiegach endowaskularnych mogą być związane z tym zjawiskiem [41]. U 3 pacjentów (27,3%) w okresie pooperacyjnym wystąpiła gorączka. U dwóch z nich (18,2%), ze względu na brak uchwytanego źródła zakażenia rozpoznano zespół poimplantacyjny. Zespół ten wśród naszych pacjentów występował trzykrotnie rzadziej w porównaniu do częstości stwierdzonej przez Shima i wsp. [30].

Inne powikłania jak ostra niewydolność nerek (częstość występowania w przypadku zastosowania protezy Talent – 15,7%, Valiant – 25 %; wyższy odsetek powikłań w przypadku Valianta może być spowodowany cięższym stanem pacjentów kwalifikowanych do implantacji tego stent-graftu, Thomson i wsp.) [35], przetoka aortalno-oskrzelowa i aortalno-przełykowa, zawał krezki, pęknięcie aorty, wstrząs septyczny oraz powikłania miejsca dostępu (27% wg Neuhauser) [36] w postaci limfotoku, tętniaka rzekomego oraz uszkodzenia błony wewnętrznej tętnicy biodrowej nie wystąpiły u żadnego z leczonych w naszej klinice pacjentów.

Implantacja protezy wewnątrznaczyniowej może być obiecującą niechirurgiczną strategią leczenia rozwarstwień aorty typu B, co potwierdzają wyniki badań uzyskane w naszej klinice. Technika endowaskularna jako jedyna z dostępnych metod leczniczych ingeruje w podstawowy mechanizm powstawania rozwarstwienia. Poprzez inicjację naturalnego procesu naprawczego (wykrzepienie kanału rzekomego) w wyniku pokrycia proksymalnego entry zapewnia remodeling i stabilizację ściany aorty. Zastosowanie stent-graftów wychodzi naprzeciw ogólnemu dążeniu do minimalizacji rozległości i traumatyzacji zabiegów chirurgicznych, redukcji liczby około- i pooperacyjnych powikłań, skrócenia czasu hospitalizacji i rekonwalescencji. W związku z niewielką liczbą pacjentów z rozwarstwieniem aorty leczonych w naszej klinice z zastosowaniem endoprotez i krótkim okresem ich pooperacyjnej obserwacji dokładna ocena długofalowych wyników leczenia tą metodą wymaga dalszych badań.

Postimplantation syndrome is the most frequent complication after endovascular procedures occurring with 64% frequency reported by Shim et al. [31]. This syndrome is characterized by fever persistent for even 10 days reaching up to 39°C, increased CRP concentration, leukocytosis or decrease of platelet count. The mechanism of postimplantation syndrome has not been explained so far, probably it occurs as a result of nonspecific inflammatory reaction to the foreign material caused by activated leukocyte (mainly neutrophils) modulated by proinflammatory mediators (cytokines) and chemotactic factors (chemokines and complement proteins). IL-6 released by the vascular endothelium during intraoperative manipulations induces the production of CRP and stimulates blood white cells to produce TNF- α . Platelet activation occurs also as a result of direct stimulation by the graft material. Some coagulation disturbances observed early postoperatively after endovascular procedure can be also associated with this phenomenon [42]. In 3 patients (27.3%) fever occurred in postoperative period. In two cases (18.2%) according to the lack of noticeable source of infection the postimplantation syndrome was diagnosed. Among our patients this syndrome appeared with 3-fold less frequency in comparison to Shim et al. results [31].

Other complications, such as acute renal insufficiency (frequency related to Talent stent-graft usage amounts 15.7%, Valiant – 25%; higher complication rate associated with Valiant stent-graft implantation may be caused by more serious patients' condition qualified for this stent-graft implantation, Thomson et al.) [36], aorto-bronchial and aorto-oesophageal fistula, mesenteric artery ischaemia, aortic rupture, septic shock, access – related complications (27% according to Neuhauser) [37] such as lymphorrhoea, pseudoaneurysm and intimal injury of the iliac artery, were not observed in patients treated in our clinic.

Implantation of endoprostheses can be promising non-surgical strategy of aortic dissection type B treatment, that has been confirmed by results obtained in our research. Endovascular technique is the only available method that interferes in the elementary mechanism of the aortic dissection pathogenesis. Through the initiation of natural repair process (thrombosis of the false lumen), as a result of coverage of the primary entry tear, ensures remodeling and stabilization of the aortic wall. Stent-graft application faces up to general aspiration to minimize extension and traumatization of surgical procedures, to reduce peri- and postoperative complications, decrease hospitalization and convalescence period. For the reason of small number of patients with aortic dissection treated in our clinic by endograft implantation and short time of postoperative observation accurate evaluation of long-term results of endovascular treatment requires further investigations.

Piśmiennictwo

- [1] Sorenson HR, Olsen H. Ruptured and dissecting aneurysms of the aorta: incidence and prospects of surgery. *Acta Chir Scand* 1964;128:644-650.
- [2] Pate JW, Richardson RJ, Eastridge CE. Acute aortic dissections. *Ann Surg* 1976; 42:395-404.
- [3] Brunwald E.: *Choroby aorty. Choroby serca*, tom III, Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2007, 1383-1399.
- [4] Dake M.D., Kato N., Mitchell RS, et al. Endovascular stent-graft placement for the treatment of acute dissection *N Engl J Med*. 1999; 340: 1546-1552.
- [5] Nienaber CA, Fattori R, Lund G, et al. Nonsurgical reconstruction of thoracic aortic dissection by stent-graft placement. *N Engl J Med*. 1999; 340:1539-1545
- [6] Czernak BV, Waldenberger P, Fraedrich G, et al. Treatment of Stanford type B aortic dissection with stent-grafts: preliminary results. *Radiology*. 2000;217:544-550.
- [7] Dake MD. Endovascular stent-graft management of thoracic aortic diseases. *Eur J Radiol*. 2001;39:42-49.
- [8] Dieter RS, Transluminal endovascular stentgrafting of aortic dissections and aneurysms: a concise review of the major trials. *Clin Cardiol*. 2001;24:358-363.
- [9] Greenberg R, Harthun N. Endovascular repair of lesions of descending thoracic aorta: aneurysms and dissections. *Curr Opin Cardiol*. 2001;16:225-230.
- [10] Uflacker R, MD, Robinson J, MD. Endovascular Treatment of Abdominal Aortic Aneurysms, *Vascular and Interventional Radiology (RU) and Vascular Surgery (JR)*, Medical University of South Carolina, Charleston, SC
- [11] Brooks M, Loftus I, Morgan R, Thompson M. The Valiant thoracic endograft *J Cardiovasc Surg* 2006;47:269-78
- [12] Nichols F. Observations concerning the body of his late majesty. *Philos Trans R Soc Lond (Biol)* 1761;265-74.
- [13] Gurin D, Bulmer JW, Derby R. Dissection of aneurysm of the aorta. Diagnosis and operative relief of acute arterial obstruction due to this cause. *NY State J Med* 1935;35:1200-2.
- [14] DeBakey ME, Cooley DA, Creech O. Surgical consideration of dissecting aneurysm of the aorta. *Ann Surg* 1955;142:586-612
- [15] Farber A, MD, Wagner WH, MD, Cossmann DV, MD, Cohen JL, MD, Walsh DB, Fillinger MF, MD, Cronenwett, MD, Lauterbach SR, MD, Levin PM, MD. Isolated dissection of the abdominal aorta: Clinical presentation and therapeutic options. *J of Vascular Surg* 2002;36:205-210.
- [16] Dong Xu S, Huang FJ, Du JH, Li Yu, Fan ZM, Yang JF, Yu XY, Zhang ZG. A study of aortic dimension in type B aortic dissection *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery* 2008;1-5
- [17] Trimarchi S, Nienaber ChA, Rampoldi V, Myrmet T, Suzuki T, Bossone E, Tolva V, Deeb GM, Upchurch GR, Cooper Jr JV, Fang J, Issalbacher EM, Sundt TM, 3rd, Eagle KA and on behalf of the IRAD Investigators. Role and Results of Surgery in acute type B aortic dissection: insights from the international registry of acute aortic dissection (IRAD) *Circulation* 2006; 114;I-357-I-364;
- [18] Noszczyk W.: *Wewnątrznaczyniowe leczenie tętniaków aorty. Chirurgia tętnic i żył obwodowych*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2007, 899-909
- [19] Szczeklik A.: *Choroby aorty i tętnic obwodowych. Choroby wewnętrzne*, Medycyna Praktyczna, Kraków 2005, 365-366.
- [20] Plunkett MD, bond LM, Geiss DM: Staged repair of acute type I aortic dissection and coagulation in pregnancy. *An Thorac Surg* 69:1945, 2000
- [21] Da Gama DA. The surgical management of aortic dissection: from uniformity to diversity, a continuous challenge. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 1991;32:141-53.
- [22] Dinsmore RE, Willerson JT, Buckley MJ. Dissecting aneurysm of the aorta: aortographic features affecting prognosis. *Radiology* 1972;105:567-72.

References

- [23] Svensson LG. Natural history of aneurysms of the descending and thoracoabdominal aorta. *J Card Surg* 1997;12:Suppl:279-84
- [24] Anagnostopoulos CE, Prabhaker MJS, Kittle CF. Aortic dissections and dissecting aneurysms. *Am J Cardiol* 1972;30:263-73.
- [25] Kato M, Bai HZ, Sato K, et al. Determining surgical indications for acute type B dissection based on enlargement of aortic diameter during the chronic phase. *Circulation* 1995;92:Suppl II: II-107-II-112
- [26] Criado F.Y., Abdul-Khoudoud O.: Endograft repair of acute aortic dissection. Promises and challenges. *J.Cardiovasc. Surg.*, 2005, 46, 107.
- [27] Szostek M. i wsp.: Zastosowanie stentgraftów w rozwarstwieniach aorty zstępującej. *Pol. Przegl. Chir.*, 2003, 3, 64.
- [28] Pupka A, Pawłowski S, Szyber P, Janczak D, Szyber P. Leczenie operacyjne i wewnątrznaczyniowe tętniaków aorty piersiowo-brzuszej z wykorzystaniem protez naczyniowych. *Polimery w medycynie* 2006;36(1).
- [29] Pupka A, Szyber PP, Janczak D, Pawłowski S, Szyber P. Leczenie tętniaków aorty brzusznej z wykorzystaniem protez wewnątrznaczyniowych i klasycznych. *Polimery w medycynie* 2006;36 (3).
- [30] Shim W-H, Koo B-K, Yoon Young-sup, Choi D, Jang Y, Lee D-Y, Chang B-C. Treatment of Thoracic Aortic Dissection With Stent-Graft. *J Endovasc Ther* 2002;9:817-821
- [31] Chuter TAM, Wendt G, Hopkinson BR, et al. European experience with a system for bifurcated stent-graft insertion. *J Endovasc Surg* 1997;4:13-22.
- [32] Blum U, Woshage G, Beyerdorf F, et al. Twocenter German experience with aortic endografting. *J Endovasc Surg* 1997;4:137-146.
- [33] Hopkinson BR, Commentary: Late failure of early-model endografts: A complication whose time has come? *J Endovasc Surg* 1998;5:273.
- [34] Nowicki Mirosław L., Andziak P, Mazurkiewicz A, Sybilski M, Furmanek M. Śródnaczyniowa implantacja stent-graftów aortalnych – 5 lat doświadczeń. *Pol J Radiol* 2006;71(1):32-38.
- [35] Thompson M, Ivaz S, Cheshire N, Fattori R, Rousseau H, Heijmen R, Beregi J-P, Thony F, Horne G, Morgan R, Loftus I. Early Results of Endovascular Treatment of the Thoracic Aorta Using the Valiant Endograft *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007; 30:1130-1138
- [36] Neuhauser B, Greiner A, Jaschke, Chemelli A, Fraedrich. Serious complications following endovascular thoracic aortic stent-graft repair for type B dissection. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 2008;33:58-63
- [37] Allenberg JR, Schumacher H, Boeckle D, Late aortic wall perforation after successful thoracic endoaortic reconstruction. w: *Unexpected Challenges in Vascular Surgery*. Blackwell Publ., Malden
- [38] Riambau V. i wsp. When to revascularize the subclavian artery in thoracic aortic stenting? *W: Hybrid Vascular Procedures* Blackwell Publ., Malden 2004
- [39] Amabile P, Grisoli D, Giorgi R, Bartoli J-M and Piquet, Incidence and Determinants of Spinal Cord Ischaemia in Stent-graft Repair of the Thoracic Aorta. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2008;1-7.
- [40] Riesenman PJ, Farber MA, Mendes RR, Marston WA, Fulton JJ, Mauro M, Keagy BA. Endovascular repair of lesions involving the descending thoracic aorta. *Journal of Vascular Surgery* 2005;42:1063-1074.
- [41] Gerasimidis T, Sfyroeras G, Trellopoulos G, Skoura L, Papazoglou K, Konstantinidis K, Karamanos D, Filaktou A, Parapanisiou E. Impact of Endograft Material on the Inflammatory Response After Elective Endovascular Abdominal Aortic Aneurysm Repair. *Angiology* 2005;56:743-752.

RESORBOWALNE KOMPOZYTY GRADIENTOWE MODYFIKOWANE DRUTAMI MAGNEZOWYMI

MAGDALENA ZIĄBKA^{1*}, BARBARA SZARANIEC¹,
KATARZYNA KILANOWICZ¹, RAFAŁ KUCHARSKI², JAN CHŁOPEK¹

¹AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KATEDRA BIOMATERIAŁÓW,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLAND

²LEIBNIZ-UST OF HANNOVER,
DEPARTMENT OF MATERIAL SCIENCE,
D-30823 GRABSEN, GERMANY

* E-MAIL: ZIABKAMAGDALENA@OP.PL

Streszczenie

Celem pracy było wytworzenie gradientowych materiałów kompozytowych, które mogłyby znaleźć zastosowanie jako implanty przeznaczone dla kierunkowej regeneracji tkanek. W pracy przeprowadzono ocenę zachowania się w środowisku biologicznym resorbowalnych kompozytów polimerowo-metalicznych o osnowie z poli-L-laktydu (PLLA). Jako wzmocnienie zastosowano druty magnezowe, które wprowadzono bezpośrednio do osnowy. Przeprowadzono analizę mikrostruktury kompozytów (mikrotomografia komputerowa) oraz zbadano ich stopień degradacji stosując jako medium immersyjne wodę i izotoniczny płyn Ringera. Stwierdzono, że szybkość degradacji drutów magnezowych jest znacznie większa niż kompozytu PLLA / Mg (zmiany pH płynów immersyjnych, obserwacje SEM, badania ultradźwiękowe). Dodatkowo wykazano, że wprowadzenie drutów magnezowych jako modyfikatorów dla osnowy polimerowej znacznie poprawia właściwości mechaniczne (badania wytrzymałościowe).

Słowa kluczowe: kompozyty gradientowe, magnez, polimery degradowalne

[Inżynieria Biomateriałów, 75, (2008), 20-24]

Wprowadzenie

Poszukując nowych materiałów na degradowalne implanty medyczne badacze, poza resorbowalnymi polimerami czy ceramiką, biorą pod uwagę również możliwość wykorzystania resorbowalnych metali takich jak np. magnez i jego stopy. Wynika to z faktu, iż parametry mechaniczne polimerów resorbowalnych do wielu zastosowań medycznych są niewystarczające: wytrzymałość jest zbyt niska, a odkształcenie zniszczenia zbyt duże, natomiast ceramika resorbowalna nie posiada wystarczającej odporności na pękanie. Podejmowane próby otrzymania implantów magnezowych nie przynoszą w pełni zadowalających efektów ze względu na ich zbyt szybką resorpcję i towarzyszące jej wydzielanie i gromadzenie wodoru [1,2]. Aby spowolnić degradację magnezu konieczne jest zabezpieczenie go przed działaniem środowiska biologicznego lub ograniczenie jego ilości do minimum. Realizację tej idei mogą stanowić kompozyty o osnowie z polimerów resorbowalnych modyfikowane drutami magnezowymi. Tak zaprojektowany materiał może pozwolić na uzyskanie kompromisu pomiędzy właściwościami mechanicznymi a biogodnością. Dodatkowo, struktura gradientowa kompozytu, wynikająca ze zróżnicowanego rozmieszczenia drutów, w sposób uproszczony będzie naśladować gradientową budowę kości.

RESORBABLE GRADED COMPOSITES MODIFIED WITH MAGNESIUM WIRES

MAGDALENA ZIĄBKA^{1*}, BARBARA SZARANIEC¹,
KATARZYNA KILANOWICZ¹, RAFAŁ KUCHARSKI², JAN CHŁOPEK¹

¹AGH-UST, DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,
30, MICKIEWICZA AV., 30-059 CRACOW, POLAND

²LEIBNIZ-UST OF HANNOVER,
DEPARTMENT OF MATERIAL SCIENCE,
D-30823 GRABSEN, GERMANY

* E-MAIL: ZIABKAMAGDALENA@OP.PL

Abstract

The aim of this study was to obtain graded composites, which may be used as implants for direct tissue regeneration. The work presents an analysis of the resorbable composites behaviour with a poly-L-lactide (PLLA) matrix in the biological solution. Magnesium wires were introduced directly into a polymer matrix as its reinforcement. In this work microstructure analysis of the graded composites was carried out (computer microtomography – μ CT). During the research degradation rate was investigated. As a immersion medium distilled water and Ringer were used. From this point of view it was found that velocity degradation of magnesium wires was considerably higher than for PLLA / Mg composite (pH of the immersion solution, SEM observation and ultrasonic tests). Additionally, it was revealed that introduction of the magnesium wires as a modifying phase for polymer matrix improves mechanical properties (mechanical tests).

Keywords: graded composite, magnesium, polymer degradation

[Engineering of Biomaterials, 75, (2008), 20-24]

Introduction

In a search for new materials designed for degradable medical implants scientists focus on resorbable metals such as magnesium and its alloys which can be surrogate for ceramic and polymer materials. The main reason is the fact that mechanical properties of resorbable polymers are not sufficient enough for medical application - strength is too low, deformation is too high whereas resorbable ceramic materials have not enough fracture toughness. Trials assumed in manufacturing of magnesium implants are not ample because such implants reveal too rapid resorption when hydrogen can be accumulate and release [1,2]. In order to magnesium degradation it is necessary to protect against a biological solution's influence or limit it to the minimum. A good example of such protection is a composite made of resorbable polymers matrix modified with magnesium wires. Such a design may lead to achieving a compromise between good mechanical properties and biocompatibility. In addition diversified wires distribution creates a composite a gradient structure, which may be compared with natural bone graded structure as it's very simple imitation. Because of a high Mg ions concentration it is expected that graded materials for bone tissue reconstruction should stimulate bone cells to higher activity on a bone-implant interphase and gradually undergo a degradation under a rate matching to bone regeneration [3,4].

Oczekuje się, że kompozyty gradientowe przeznaczone do rekonstrukcji tkanki kostnej będą stymulować komórki kostne do zwiększonej aktywności na granicy faz: tkanka-implant, dzięki wysokiej koncentracji jonów magnezowych i stopniowo ulegać degradacji w tempie dopasowanym do regeneracji kości [3,4].

Materiały i metody

Badania przeprowadzono na próbkach kompozytowych w formie kostek o wymiarach 10mm x 10mm x 10mm, których osnowę stanowił resorbowalny polimer L-laktydu (PLLA), wyprodukowany przez firmę Biomer – Niemcy ($d=1,25\text{g/cm}^3$, $T_m=172^\circ\text{C}$). Jako fazy modyfikującej użyto drutów magnezowych o długości 10 mm i średnicy 0,6 mm otrzymanych w procesie obróbki skrawaniem.

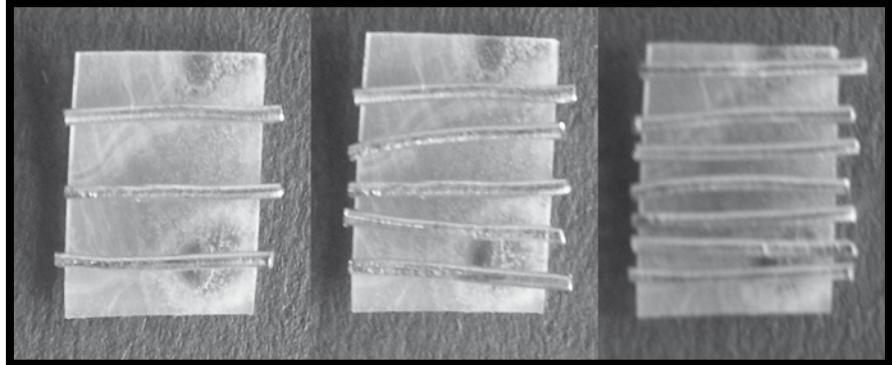
W celu wytworzenia materiałów kompozytowych modyfikowanych drutami magnezowymi wykorzystano folie otrzymane z polimeru PLLA, które kolejno pocięto na kawałki 10 mm x 10 mm. Następnie folie umieszczano w formie metalowej w następującej kolejności: PLLA / 3 druty Mg / PLLA / 5 drutów Mg / PLLA / 7 drutów Mg / PLLA (RYS. 1). Otrzymano w ten sposób kompozytową strukturę gradientową (RYS. 2). Kolejny etap procesu wytwarzania stanowiło prasowanie kompozytu w temperaturze 170°C , pod ciśnieniem 5 MPa. Otrzymane kompozyty w postaci kostek poddano badaniom degradacji w warunkach in vitro: płyn Ringera/ 37°C /6 tygodni oraz woda destylowana/ 37°C /6 tygodni. Stopień degradacji materiałów kontrolowano na podstawie zmian pH płynów immersyjnych (pH-metr Elmetron typ CP – 315). Materiały odniesienia stanowiły kostka wykonana z czystego polimeru PLLA oraz czyste druty magnezowe, które poddawano degradacji w tych samych warunkach, co materiały kompozytowe. Równolegle prowadzono pomiar prędkości fali ultradźwiękowej (miernik ultradźwiękowy Ultrasonic – 895) w celu porównania struktury materiału przed i po procesie inkubacji. Materiały kompozytowe zostały również poddane obserwacjom mikrostrukturalnym: mikrotomograf komputerowy (μCT 80) oraz skaningowy mikroskop elektronowy (SEM 5400 firmy Jeol). Właściwości mechaniczne określono w próbie ściskania przy użyciu uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej (Zwick 7250).

Wyniki i dyskusja

Zdjęcia uzyskane za pomocą mikrotomografii komputerowej pozwoliły na zobrazowanie budowy materiału gradientowego. Badania te umożliwiły wizualizację kompozytu poprzez określenie rozmieszczenia drutów magnezowych w osnowie polimerowej (RYS. 3). Ponadto, jak jest to widoczne na zdjęciu, modyfikatory magnezowe znajdują się dokładnie w tych miejscach gdzie zostały umieszczone przed procesem prasowania. W trakcie prasowania nie uległy one zniszczeniu ani przemieszczeniu. Można, więc stwierdzić, że technologia otrzymywania kompozytów gradientowych nie zmieniła charakteru budowy tychże materiałów, a wytworzony kompozyt odzwierciedla zaprojektowaną strukturę gradientową.

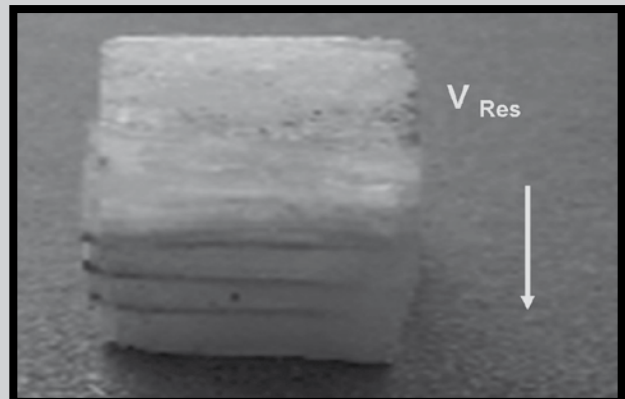
Materials and methods

The investigation was carried out on polymer cubes 10mm x 10mm x 10mm, in which poly-L-lactide (Biomer, Germany, $d=1,25\text{g/cm}^3$, $T_m=172^\circ\text{C}$) matrix was used. As a modifying phase magnesium wires were applied. Wires 10mm x 0,6mm sized were obtain in machining process. For composites PLLA / Mg obtaining polymer foils were used. Foils were cut in to pieces 10mm x 10mm and put in to form in following sequence: PLLA / 3 wires Mg / PLLA / 5 wires Mg / PLLA / 7 wires Mg / PLLA (FIG. 1).



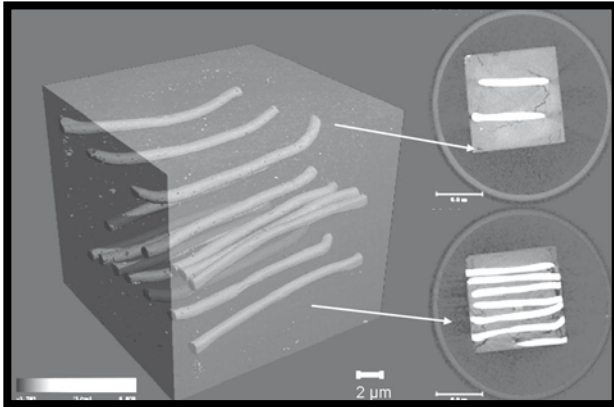
RYS. 1. Rzut „z góry” na kolejne warstwy kompozytu gradientowego PLLA / 3 druty Mg / PLLA / 5 drutów Mg / PLLA / 7 drutów Mg / PLLA .
FIG. 1. Upside view for the following layers of graded composite PLLA / 3 wires Mg / PLLA / 5 wires Mg / PLLA / 7 wires Mg / PLLA .

In that way graded composition was obtained (FIG. 2). Next step of the process was a hot press moulding in temperature 170°C and under 5 MPa pressure. Obtained composites in cubical shape were held for degradation tests - in vitro conditions: Ringer solution and distilled water (37°C , 6 weeks). Degradation rate was controlled by pH changes in immersion solutions (pH-meter Elmetron type CP – 315) and ultrasonic wave velocity changes (Ultrasonic – 895 meter). Reference samples (PLLA cube) and magnesium wires were investigated under the same conditions. Obtained results allowed to compare material structure “before” and “after” incubation. Microstructure of composite materials was observed: computer microtomography (μCT 80) and scanning electron microscopy (SEM 5400 Jeol). The universal testing machine (Zwick 7250) was used to determine mechanical properties (compressing tests).



RYS. 2. Gradientowy kompozyt polimerowo-magnezowy PLLA / 3 druty Mg / PLLA / 5 drutów Mg / PLLA / 7 drutów Mg / PLLA z zaznaczonym kierunkiem szybkości resorpcji.

FIG. 2. Magnesium graded composite PLLA / 3 wires Mg / PLLA / 5 wires Mg / PLLA / 7 wires Mg / PLLA with the indicated resorption direction.



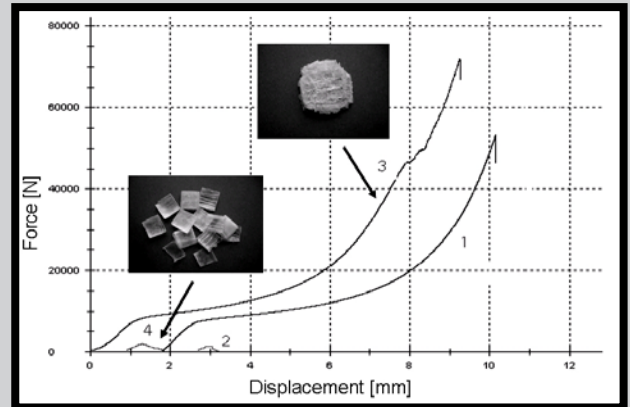
RYS. 3. Obrazy z mikrotomografii komputerowej próbek kompozytowych PLLA / Mg.
FIG. 3. CT images of PLLA / Mg composite samples.

Wyjściowe próbki polimerowe (PLLA) i polimerowo-metaliczne (PLLA / Mg) poddano próbie ściskania. Z analizy wyników (RYS. 4, próbki nr 3 oraz 4) wynika, iż siła potrzebna do zniszczenia kompozytu PLLA / Mg jest o rząd wielkości większa w kierunku prostopadłym do ułożenia drutów, niż w kierunku równoległym. W przypadku prasowania w kierunku równoległym do ułożenia drutów, następuje szybka delaminacja i całkowite zniszczenie kompozytu przy stosunkowo niewielkiej sile ściskającej (RYS. 4, próbka nr 4). Dodatkowo w porównaniu z próbką odniesienia (PLLA) wprowadzenie do polimeru drutów Mg wyraźnie zwiększa siłę potrzebną do zniszczenia takiego kompozytu (TAB. 1).

TABELA 1. Badania wytrzymałościowe kompozytu PLLA / Mg oraz próbki odniesienia PLLA.
TABLE 1. Mechanical tests for PLLA and PLLA / Mg samples.

Materiał / Material	Wielkość próbki Sample height [mm]	Siła zniszczenia Force [kN]
1. PLLA \perp do kierunku prasowania / to pressing direction	10,81 \pm 0,01	54,0
2. PLLA \parallel do kierunku prasowania / to pressing direction	10,10 \pm 0,01	1,0
3. PLLA / Mg \perp do kierunku prasowania / to pressing direction	10,21 \pm 0,01	75,0
4. PLLA / Mg \parallel do kierunku prasowania / to pressing direction	10,22 \pm 0,01	2,0

RYSUNKI 5a i 5b przedstawiają zmianę pH płynu Ringera i wody destylowanej dla próbek odniesienia i kompozytu PLLA / Mg inkubowanych w funkcji czasu. Podczas 6 tygodniowej inkubacji próbek odniesienia (PLLA) zarówno w wodzie destylowanej jak i w płynie Ringera nie zaobserwowano znaczących zmian - pH było stabilne i utrzymywało się w granicach 5,80 - 6,10. Natomiast w przypadku drutów magnezowych nieosłoniętych polimerową osnową zaobserwowano gwałtowny wzrost pH, który świadczy o procesie resorpcji zachodzącym niemalże natychmiastowo w kontakcie ze środowiskiem biologicznym. Takie zachowanie wynika z gwałtownej reakcji magnezu z wodą, na skutek czego powstaje wodorotlenek magnezu $Mg(OH)_2$.



RYS. 4. Wykres zależności siła – przemieszczenie dla kompozytu PLLA / Mg oraz próbki odniesienia PLLA.
FIG. 4. Strength – displacement graph for PLLA and PLLA / Mg samples.

Results and discussion

Microphotographs allowed to create an image of material's graded structure. Three dimensional pictures show wires distribution in a polymer matrix (FIG. 3) and it was found that magnesium modifiers were precisely positioned in the same area where they were placed before a pressing process. During the hot press moulding wires were neither displaced nor destructed. Therefore, it is possible to say that the composites manufacturing technology has no influence on a structure of prepared materials and such a composite meets perfectly the preliminary graded structure design.

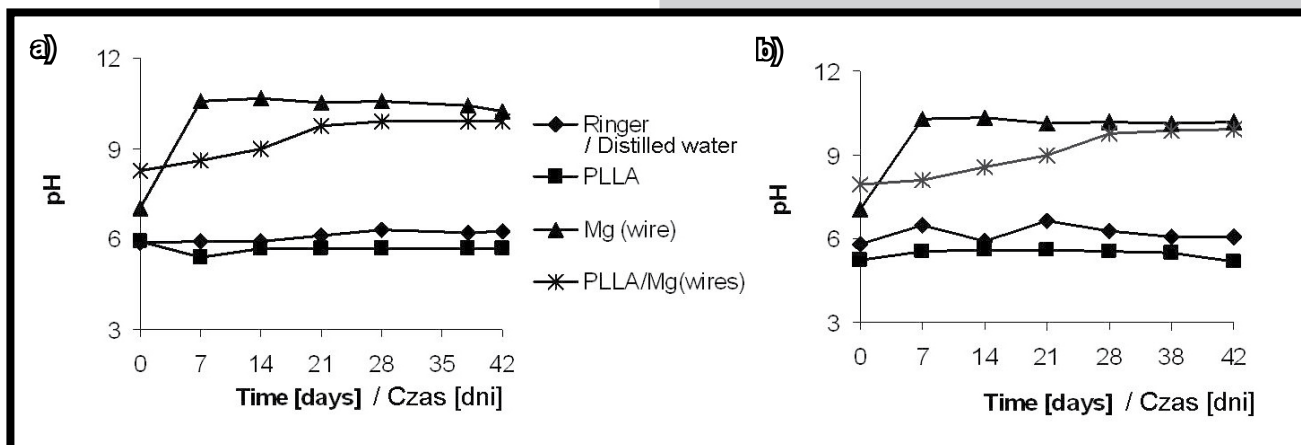
Initial polymer samples (PLLA) and composites (PLLA / Mg) were put to the compression tests. Diagram (FIG. 4, sample 3 and 4) shows that there is a big difference in values of destructing force depending on wires orientation. It is about one grade higher for perpendicular direction than for parallel. When a sample pressed parallel to wires arrangement the delamination reveals quit low force (FIG. 4, sample 4). It leads to a complete destruction of the sample.

Introduction of Mg wires into a polymer matrix in comparison to a reference sample (PLLA) considerably increases destruction force (TAB. 1).

FIGURES 5 shows pH changes of Ringer solution (FIG. 5a) and distilled water (FIG. 5b) observed for reference samples (PLLA and Mg wire) and composite (PLLA / Mg) versus incubation time. During 6 week incubation for a reference (PLLA) no significant pH changes were observed. It varied from 5,80 to 6,10. In case of not covered magnesium wires rapid pH increase was observed. Such behaviour is a result of resorption which proceed immediately in biological solution. Because magnesium reacts with water and causes occurring of magnesium hydroxide $Mg(OH)_2$.

Research carried out on PLLA / Mg composite confirm analogical behaviour of composite instead of pure magnesium sample. However, difference is observed in pH increase, which is more mellow and it may be explained by the partial protection of magnesium. In that case resorption process through polymer matrix is slower. On the basis of investigation it is possible to infer that introduction of magnesium wires into resorbable matrix causes temporary pH stabilization and also retard resorption process.

In order to this behaviour samples were treated with ultrasonic tests. Through the ultrasonic measurement velocity wave in 5 planes: a,b,c,d,e (FIG. 6) was analyzed. Obtained results (before and after incubation in Ringer solution) from reference sample compared to composites modified with magnesium wires.



RYS. 5. a) zmiana pH płynu Ringera w funkcji czasu inkubacji próbek odniesienia i kompozytu PLLA / Mg, b) zmiana pH wody w funkcji czasu inkubacji próbek odniesienia i kompozytu PLLA / Mg.

FIG. 5. a) changes of Ringer versus time function for PLLA and PLLA / Mg samples, b) changes of water versus time function for PLLA and PLLA / Mg samples.

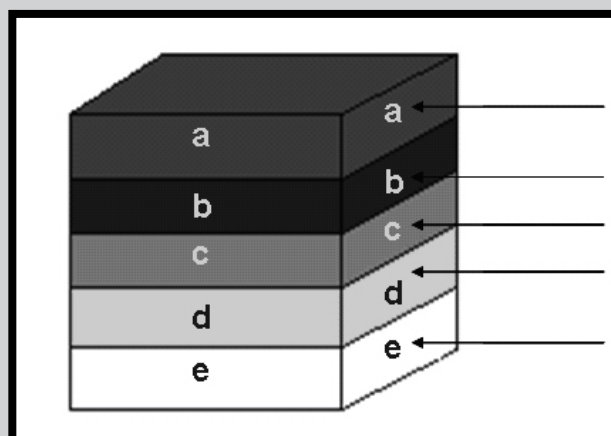
TABELA 2. Zmiany prędkości fali ultradźwiękowych kompozytu PLLA / Mg i próbki odniesienia przed oraz po inkubacji w wodzie destylowanej.

TABLE 2. Changes of ultrasonic velocity waves of composite PLLA / Mg and reference sample PLLA before and after incubation in distilled water.

Material	Miejsce pomiaru	Prędkość fali ultradźwiękowej przed inkubacją w wodzie	Prędkość fali ultradźwiękowej po inkubacji w wodzie
Material	Place of measurement	Ultrasonic wave velocity before incubation in water [m/s]	Ultrasonic wave velocity after incubation in water [m/s]
PLLA / Mg	a	971± 4	881± 4
	b	976± 4	883± 4
	c	976± 4	923± 4
	d	1087± 5	919± 4
	e	1055± 4	910± 4
PLLA	a	927± 4	916± 4
	b	944± 4	917± 4
	c	931± 4	905± 3
	d	920± 4	890± 3
	e	947± 4	894± 3

Badania przeprowadzone dla kompozytu PLLA / Mg potwierdzają analogiczne zachowanie się próbek kompozytowych w porównaniu z czystym magnezem. Różnicę stanowi bardziej łagodny wzrost pH, który można tłumaczyć częściowym zabezpieczeniem szybko resorbującego się magnezu, przez osnowę z poli(L)laktydu. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji można wnioskować, iż wprowadzenie resorbowalnych drutów magnezowych do resorbowalnej matrycy powoduje czasową stabilizację pH środowiska, a także opóźnia proces resorpcji magnezu.

W celu potwierdzenia takiego zachowania próbki poddano badaniom ultradźwiękowym. Poprzez pomiar prędkości fali ultradźwiękowej w pięciu kolejnych warstwach kompozytu: a,b,c,d,e (RYS. 6.) przeprowadzono analizę porównawczą kompozytów modyfikowanych magnezem i próbek odniesienia. Badania przeprowadzono przed i po procesie inkubacji w płynie Ringera. Jak wynika z TABELI 2, w przypadku kostki PLLA prędkości fali ultradźwiękowej różnią się nieznacznie. Takie wahania mogą wynikać z samej technologii otrzymywania kompozytów (odlewanie folii i prasowanie na gorąco).



RYS. 6. Kierunki pomiaru prędkości fali ultradźwiękowej dla materiału PLLA i PLLA / Mg.

FIG. 6. Directions of velocity ultrasonic waves measurement for PLLA and PLLA / Mg samples.

As the TABLE 2 illustrates PLLA cube velocities of ultrasonic waves insignificantly vary. Such variation might be caused by the technological process of composites (foils casting and hot press moulding). In case of composite materials (PLLA / Mg) velocities of ultrasonic waves were higher than for PLLA cube and also its values increased in rising number of magnesium wires. Moreover, incubation does not change gradient structure as well. Higher values of velocities waves are observed in lower part of composite. Besides, after 6 weeks of incubation in Ringer solution values of velocities waves were lower for all samples. It was caused by the quicker material degradation in biological solution, which was evidenced by the defect increasing (pores) inside composite structure. Microscopic observations (SEM) of PLLA / Mg sample confirmed that before and after incubation in biological solution, porosity appearance in composite structure (FIG. 7). There is observed surface defects in area of magnesium wires occurrence what is connected with wires resorption. For reference sample (PLLA) there were any distinctive changes on the composite surface though gradual resorption confirmed by the measurement of pH and ultrasonic waves.

W przypadku materiałów kompozytowych PLLA / Mg prędkości fali ultradźwiękowej były wyższe niż w przypadku kostki PLLA, a także ich wartości rosły wraz ze wzrastającą liczbą drutów magnezowych. Ponadto można również zauważyć, że inkubacja nie zmienia samej struktury gradientowej (wyższe wartości prędkości w dolnej części kompozytu). Dodatkowo po 6 tygodniowej inkubacji w płynie Ringera wartości prędkości fali ultradźwiękowej dla wszystkich próbek znacznie zmalały. Spowodowane to było szybszą degradacją materiałów w środowisku biologicznym, przejawiającą się rosnącą liczbą defektów (porów) wewnątrz struktury kompozytów.

Obserwacje mikroskopowe SEM wykonane po 6 tygodniowej inkubacji w środowisku biologicznym potwierdziły pojawienie się porowatości w strukturze kompozytów PLLA / Mg (RYS. 7). Ponadto w obszarze występowania drutów magnezowych można było zaobserwować powierzchniowe uszkodzenia związane z resorpcją drutu. Natomiast w przypadku próbek odniesienia (PLLA) mimo stopniowej resorpcji potwierdzonej pomiarem pH i fali ultradźwiękowej nie zaobserwowano wyraźnych zmian na powierzchni kompozytu.

Wnioski

Wprowadzenie do osnowy polimerowej drutów magnezowych umożliwia uzyskanie materiałów o większej wytrzymałości i zaplanowanym rozmieszczeniu porów. Jednakże badania *in vitro* wykazały, że pomimo zachowania parametrów mechanicznych kompozyty takie mogą stanowić poważne zagrożenie dla organizmu ludzkiego. Duże wahania pH mogą powodować zaburzenia równowagi w funkcjach komórek i zachodzących w nich reakcjach chemicznych. Dlatego też w celu zmniejszenia ryzyka niepowodzeń związanych z implantacją takich materiałów uzasadnione wydaje się stosowanie zamiast czystego magnezu stopów na bazie magnezu lub wprowadzanie powłok ochronnych zabezpieczających powierzchnię implantów przed zbyt szybko postępującą resorpcją i niekontrolowanym wzrostem pH.

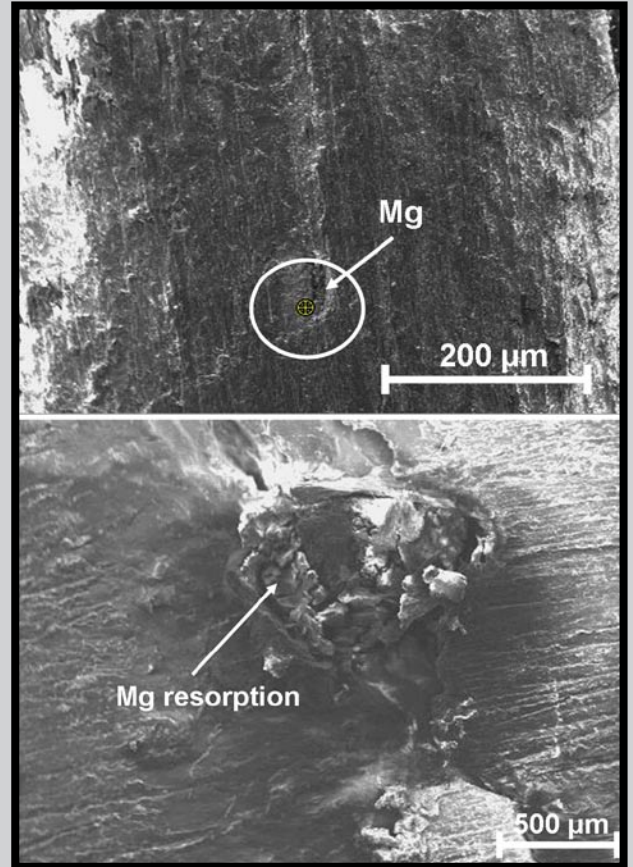
Dodatkowo wiele problemów może przysparzać zastosowana technologia wytwarzania materiałów gradientowych. Poprzez odlewanie folii kompozytowych z następnym ich prasowaniem pod ciśnieniem trudno było otrzymać powtarzalne próbki. Jest to związane z pojawiającymi się defektami, z rozwarstwianiem się złożonych z folii kompozytowych laminatów i w konsekwencji obniżaniem parametrów mechanicznych kompozytów. Dlatego też warto rozważyć inne techniki otrzymywania materiałów kompozytowych takie jak metoda wtrysku czy rapid prototyping.

Podziękowania

Praca finansowana w ramach badań statutowych AGH nr 11.11.160.367.

Piśmiennictwo

- [1] Witte F., Kaese V., Haferkamp H., Switzer E., Meyer-Lindenberg A., Wirth C.J., Windhagen H.: In vivo corrosion of four magnesium alloys and the associated bone response. *Biomaterials* 26 (2005) 3557-3563.
 [2] Bach Fr.-W., Bormann D., Wilk P., Kucharski R.: Production and Properties of foamed Magnesium.; *CellularMetals and Polymers*, Eds, R. F. Singer, c. Korner, V. Altstadt, H. Munstedt, Trans Tech Publications, Zuerich 2005, s. 77-80.



RYS. 7. Obrazy SEM kompozytu PLLA / Mg po 6 tygodniowej inkubacji w płynie Ringera.

FIG. 7. SEM microphotographs of PLLA / Mg composite after 6 weeks of incubation in Ringer.

Conclusions

Introduction of magnesium wires into polymer matrix allows to obtain composites with an intended pores distribution. Besides maintaining of composites mechanical properties *in vitro* tests show that such implants might be dangerous for human. Large pH increase may cause serious cells dysfunction. To reduce this risk it is essential to use magnesium alloys or protective layers despite of pure magnesium, which could protect implants surface before pH raising and too rapid resorption. Additionally technology of composites manufacture might cause a lot of problems. Up to now such methods as foils casting and next hot press moulding quite often lead to structural defects, deterioration of mechanical properties and on the end delamination. Therefore it is worth to consider others technologies such as injection moulding or rapid prototyping.

Acknowledgment

This study was supported by the research program of AGH-UST No. 11.11.160.367.

References

- [3] Bianying Wen, Gang Wu, Jian Yu, A flat polymeric gradient material: preparation, structure and property, *Polymer* 45 (2004) 3359-3365.
 [4] Tony G. van Tienen, J.C. Heijkant, P. Buma, Jacqueline H. de Groot, Albert J. Penning, Rene P.H. Veth, Tissue ingrowth and degradation of two biodegradable porous polymers with different porosities and pore sizes; *Biomaterials* 23 (2002) 1731-1738.