

# I N Z Y N I E R I A

# BIOMATERIAŁÓW

ENGINEERING OF BIOMATERIALS  
CZASOPISMO POLSKIEGO STOWARZYSZENIA BIOMATERIAŁÓW

Numer 30,31,32,33  
Rok VI  
ISSN 1429-7248

PAŹDZIERNIK-  
GRUDZIEŃ 2003

#### WYDAWCA:

Polskie  
Stowarzyszenie  
Biomateriałów  
w Krakowie

#### KOMITET REDAKCYJNY:

Redaktor naczelny  
Stanisław Błazewicz

Sekretarz redakcji,  
Skład komputerowy  
Augustyn Powroźnik

#### RADA NAUKOWA:

Jan Ryszard  
Dąbrowski

Jan Chłopek

Tadeusz Cieślik

Monika Gierzyńska-  
Dolna

Andrzej Górecki

Wojciech Maria Kuś

Jan Marciniak

Stanisław Mazurkiewicz

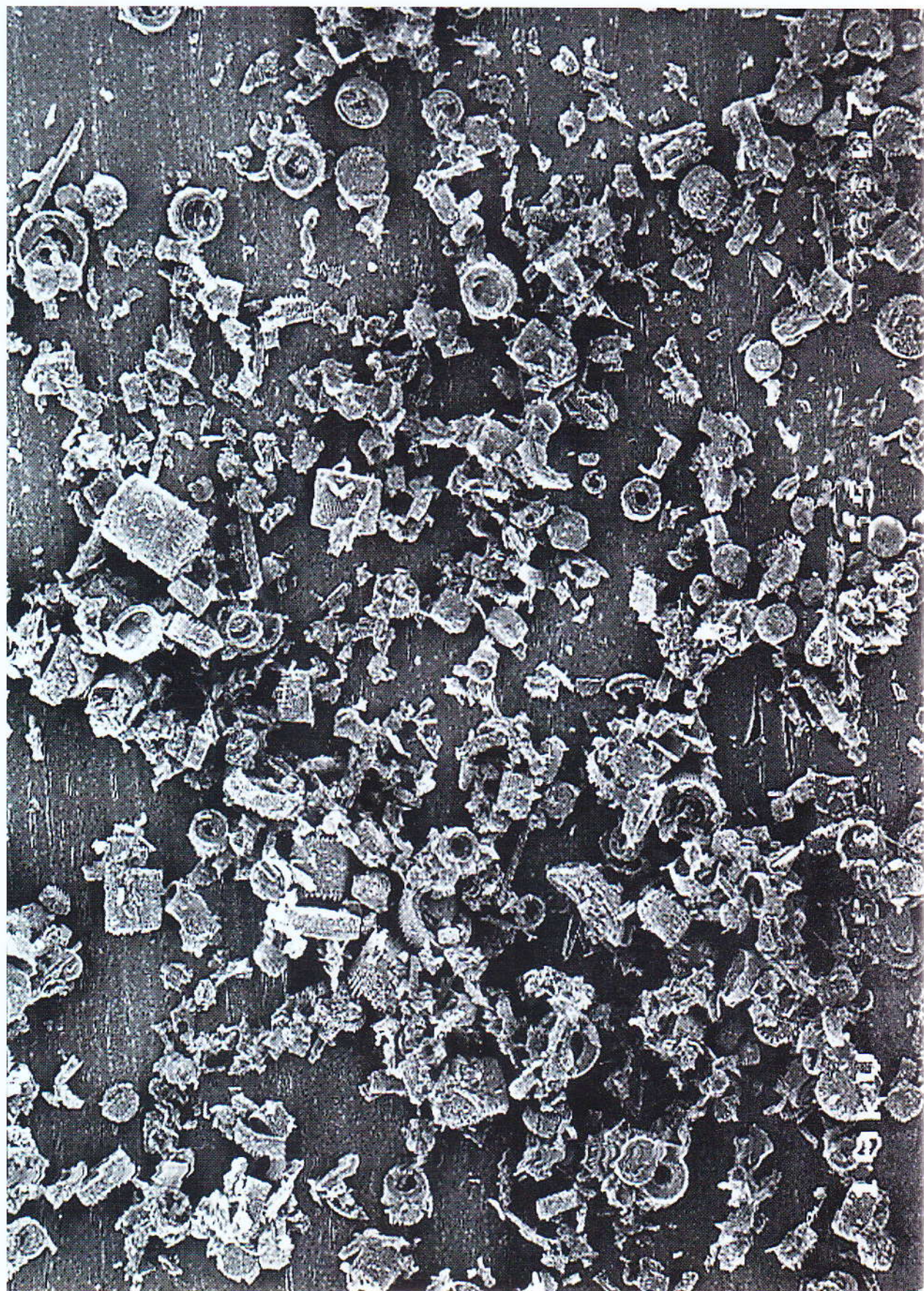
Stanisław Mitura

Roman Pampuch

Bogna Pogorzelska-  
Stronczak

#### ADRES REDAKCJI:

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



## SPIS TREŚCI

ADHESION, DIFFERENTIATION AND IMMUNE  
ACTIVATION OF HUMAN OSTEOGENIC CELLS  
IN CULTURES ON CARBON-FIBRE  
REINFORCED CARBON COMPOSITES 8

L.BAČÁKOVÁ, V.STARÝ, P.GLOGAR, V.LISÁ

VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS IN  
CULTURES ON LACTIDE BASED POLYMERS  
FOR POTENTIAL CONSTRUCTION  
OF ARTIFICIAL VESSEL WALL 9

E.FILOVÁ, L.BAČÁKOVÁ, V.LISÁ, L.MACHOVÁ,  
M.LAPČÍKOVÁ, D.KUBIES, V.PROKS, F.RYPÁČEK

STRUKTURY POROWATE MATERIAŁÓW CERAMICZ-  
NYCH NA NOŚNIKI ŻYWYCH  
KOMÓREK DO STOSOWANIA W INŻYNIERII  
TKANKOWEJ 12

Z.JAEGERMANN, J.KARAŚ, S.MICHAŁOWSKI

ODCZYNY TKANKOWE W MIEJSCU  
WSZCZEPIONIA W ŚCIANĘ TCHAWICY  
IMPLANTÓW Z WŁÓKNINY WĘGLOWEJ 15

W.ŚCIERSKI, D.LANGE, J.NOŻYŃSKI,  
E.ZEMBALA-NOŻYŃSKA, G.NAMYSŁOWSKI,  
M.BŁAŻEWICZ, J.PILCH, G.BAJOR

MORFOMETRYCZNA ANALIZA WCZESNEGO  
OKRESU BIODEGRADACJI IMPLANTÓW  
WŁÓKNINY WĘGLOWEJ WSZCZEPIONYCH  
W ŚCIANĘ TCHAWICY 17

W.ŚCIERSKI, D.LANGE, J.NOŻYŃSKI, E.ZEMBALA-NOŻYŃSKA,  
G.NAMYSŁOWSKI, M.BŁAŻEWICZ, J.PILCH, G.BAJOR

CHARAKTERYSTYKA MORFOMETRYCZNA  
WŁÓKIEN WĘGLOWYCH KOMPOZYTÓW  
WĘGLOWYCH IMPLANTOWANYCH  
ŚRÓDKOSTNIE KRÓLIKOM PO OKRESIE  
22 TYGODNIOWYM 20

G.BAJOR, E.ZEMBALA-NOŻYŃSKA, J.NOŻYŃSKI,  
W.ŚCIERSKI, A.GRZYBOWSKI, D.SABAT

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

## CONTENTS

ADHESION, DIFFERENTIATION AND IMMUNE  
ACTIVATION OF HUMAN OSTEOGENIC CELLS  
IN CULTURES ON CARBON-FIBRE  
REINFORCED CARBON COMPOSITES 8

L.BAČÁKOVÁ, V.STARÝ, P.GLOGAR, V.LISÁ

VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS IN  
CULTURES ON LACTIDE BASED POLYMERS  
FOR POTENTIAL CONSTRUCTION  
OF ARTIFICIAL VESSEL WALL 9

E.FILOVÁ, L.BAČÁKOVÁ, V.LISÁ, L.MACHOVÁ,  
M.LAPČÍKOVÁ, D.KUBIES, V.PROKS, F.RYPÁČEK

POROUS STRUCTURES OF CERAMIC  
MATERIALS USED AS SCAFFOLDS  
FOR LIVING CELLS FOR APPLICATION  
IN TISSUE ENGINEERING 12

Z.JAEGERMANN, J.KARAŚ, S.MICHAŁOWSKI

TISSUE REACTION AFTER THE TRACHEAL  
IMPLANTATION CARBONM CLOTH 15

W.ŚCIERSKI, D.LANGE, J.NOŻYŃSKI,  
E.ZEMBALA-NOŻYŃSKA, G.NAMYSŁOWSKI,  
M.BŁAŻEWICZ, J.PILCH, G.BAJOR

MORPHOMETRIC BIODEGRADATION ANALYSIS  
OF EARLY PERIOD OF CARBON FIBRE  
IMPLANTS INSERTED INTO TRACHEA WALL 17

W.ŚCIERSKI, D.LANGE, J.NOŻYŃSKI, E.ZEMBALA-NOŻYŃSKA,  
G.NAMYSŁOWSKI, M.BŁAŻEWICZ, J.PILCH, G.BAJOR

MORPHOMETRIC PROFILE OF CARBON FIBRE/  
CARBON COMPOSITES IMPLANTED INTO  
BONES IN RABBITS AFTER A PERIOD  
OF 22 WEEKS 20

G.BAJOR, E.ZEMBALA-NOŻYŃSKA, J.NOŻYŃSKI,  
W.ŚCIERSKI, A.GRZYBOWSKI, D.SABAT

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

CHARAKTERYSTYKA MORFOMETRYCZNA  
 WŁÓKIEN WĘGLOWYCH KOMPOZYTÓW  
 WĘGLOWYCH ZAWIERAJĄCYCH PIROWĘGIEL  
 I HYDROKSYAPATYT, IMPLANTOWANYCH  
 ŚRÓDKOSTNIE KRÓLIKOM PO OKRESIE  
 22 TYGODNIOWYM 23

G.BAJOR, J.NOŻYŃSKI, E.ZEMBALA-NOŻYŃSKA,  
 W.ŚCIERSKI, A., T.MĘCIK

OCENA MORFOMETRYCZNA PROCESU  
 BIODEGRADACJI WŁÓKIEN WĘGLOWYCH  
 KOMPOZYTÓW WĘGIEL-WĘGIEL  
 W 22 TYGODNIOWYM OKRESIE OBSERWACJI 26

J.NOŻYŃSKI, E.ZEMBALA-NOŻYŃSKA, G.BAJOR,  
 W.ŚCIERSKI, A.GRZYBOWSKI, T.MĘCIK

OCENA MORFOMETRYCZNA PROCESU  
 BIODEGRADACJI WŁÓKIEN WĘGLOWYCH  
 KOMPOZYTÓW WĘGIEL-OSNOWA  
 EPOKSYDOWA HYDROKSYAPATYT  
 W 22 TYGODNIOWYM OKRESIE OBSERWACJI 29

E.ZEMBALA-NOŻYŃSKA, G.BAJOR, J.NOŻYŃSKI,  
 W.ŚCIERSKI, A.GRZYBOWSKI, D.SABAT

HYDROKSYAPATYT NATURALNY –  
 PREPARATYKA, WŁAŚCIWOŚCI 32

K.HABERKO, M.BUĆKO, M.HABERKO, W.MOZGAWA,  
 A.PYDA, J.ZARĘBSKI

PROBLEMY APLIKACYJNE STENTÓW  
 NACZYNIOWYCH 38

M.KACZMAREK, J.TYRLIK-HELD, J.MARCINIAK

OCENA WPŁYWU WYBRANYCH DODATKÓW  
 MODYFIKUJĄCYCH NA WŁAŚCIWOŚCI  
 TRIBOLOGICZNE KOMPOZYTU NA BAZIE  
 ŻELAZA 41

M.GRĄDZKA-DAHLKE, J.R.DĄBROWSKI

KOMPOZYTY POLISULFON/KRÓTKIE  
 WŁÓKNO WĘGLOWE - BADANIA  
 KOMÓRKOWE 43

B.KONIECZNA, B.CZAJKOWSKA

MORPHOMETRIC PROFILE OF CARBON  
 FIBRES IN CARBON COMPOSITES COVERED  
 WITH PYROCARBON AND HYDROXYAPATITE,  
 IMPLANTED INTO THE BONES/BONE  
 MARROW OF RABBITS, AFTER  
 22 WEEKS 23

G.BAJOR, J.NOŻYŃSKI, E.ZEMBALA-NOŻYŃSKA,  
 W.ŚCIERSKI, A., T.MĘCIK

THE MORPHOMETRIC EVALUATION OF  
 BIODEGRADATION PROCESS OF THE FIBRES  
 OF CARBON-CARBON COMPOSITE IN  
 THE 22ND WEEK OF OBSERVATION 26

J.NOŻYŃSKI, E.ZEMBALA-NOŻYŃSKA, G.BAJOR,  
 W.ŚCIERSKI, A.GRZYBOWSKI, T.MĘCIK

MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF  
 BIODEGRADATION PROCESS OF CARBON  
 COMPOSITES OF THE CARBON- EPOXIDE  
 WRAP AND HYDROXYAPATITE  
 AFTER 22-WEEK OBSERVATION 29

E.ZEMBALA-NOŻYŃSKA, G.BAJOR, J.NOŻYŃSKI,  
 W.ŚCIERSKI, A.GRZYBOWSKI, D.SABAT

NATURAL HYDROXY-APATITE –  
 PREPARATION, PROPERTIES 32

K.HABERKO, M.BUĆKO, M.HABERKO, W.MOZGAWA,  
 A.PYDA, J.ZARĘBSKI

APPLICATION PROBLEMS OF VASCULAR  
 STENTS 38

M.KACZMAREK, J.TYRLIK-HELD, J.MARCINIAK

THE EVALUATION OF THE INFLUENCE  
 OF CHOSEN MODIFYING ADDITIONS  
 ON THE TRIBOLOGICAL PROPERTIES  
 OF IRON BASED COMPOSITE 41

M.GRĄDZKA-DAHLKE, J.R.DĄBROWSKI

POLYSULFONE/SHORT CARBON FIBRES  
 COMPOSITES-CELLULAR INTERACTION  
 STUDIES 43

B.KONIECZNA, B.CZAJKOWSKA

ZMIANA TWARDOŚCI POLIETYLENU  
W IMPLANTOWANYCH PANEWKACH  
ENDOPROTEZ STAWU BIODROWEGO 47

J.OTFINOWSKI, J.KOWAL, A.ŻMIHORSKA-GODFRYD

EKSPERYMENTALNE BADANIA GWOŹDZI  
ŚRÓDSZPIKOWYCH RYGLOWANYCH 50

J.MARCINIAK, R.BĘDZIŃSKI,  
L.J.JANKOWSKI, W.CHRZANOWSKI

BIOMECHANICZNA ANALIZA UKŁADU KOŚĆ  
UDOWA - GWÓDZĖ ŚRÓDSZPIKOWY  
Z WYKORZYSTANIEM METODY ELEMENTÓW  
SKOŃCZONYCH 53

J.MARCINIAK, W.CHRZANOWSKI, M.KACZMAREK

MODYFIKACJA STRUKTURY WARSTWY  
POWIERZCHNIOWEJ STOPU Ti6Al4V ELI 56

J.MARCINIAK, W.CHRZANOWSKI, J.ŻAK

OCENA WPŁYWU STANU CHROPOWATOŚCI  
POWIERZCHNI CERAMIKI KORUNDOWEJ  
NA WYBRANE PARAMETRY KRWI 59

S.PIELKA, M.SZYMONOWICZ, D.PALUCH, Z.LIBRANT,  
J.KARAŚ, H.KARMELITA - BUCZYŃSKA, Z.JEGERMAN

BADANIA ODDZIAŁYWANIA KOMPOZYTÓW  
SIARKOWYCH NA UKŁAD KRZEPNIĘCIA  
I ELEMENTY KOMÓRKOWE KRWI 63

S.PIELKA, M.SZYMONOWICZ, D.PALUCH, J.KARAŚ,  
Z.LIBRANT, H.KARMELITA-BUCZYŃSKA, Z.JEGERMEN

WPŁYW BIOMATERIAŁÓW NA SYNTEZĘ  
CYTOKIN PROZAPALNYCH W LEUKOCYTACH  
LUDZKIEJ KRWI OBWODOWEJ 66

S.PIELKA, A.CZARNY, B.ŻYWICKA, E.ZACZYŃSKA,  
L.SOLSKI, D.PALUCH, J.STANISZEWSKA-KUŚ

NIKTÓRE PROBLEMY WYKORZYSTANIA  
BIOINŻYNIERII W ZAAWANSOWANEJ  
CHIRURGII KRĘGOSŁUPA 70

L.F.CIUPIK

CHANGING HARDNESS OF POLYETHYLENE  
IN ACETABULAR CUPS OF HIP JOINT  
PROSTHESE 47

J.OTFINOWSKI, J.KOWAL, A.ŻMIHORSKA-GODFRYD

EKSPERIMENTAL INVESTIGATION  
ON INTRAMEDULLARY NAIL 50

J. MARCINIAK, R. BĘDZIŃSKI,  
L.J.JANKOWSKI, W.CHRZANOWSKI

BIOMECHANICAL ANALYSIS OF FEMORAL  
BONE - INTRAMEDULLARY NAIL SYSTEM  
WITH THE USE OF FINITE ELEMENTS  
METHOD 53

J.MARCINIAK, W.CHRZANOWSKI, M.KACZMAREK

SURFACE STRUCTURE MODIFICATION  
OF Ti6Al4V ELI ALLOY 56

J.MARCINIAK, W.CHRZANOWSKI, J.ŻAK

ESTIMATION OF THE REACTION  
OF THE STATE OF CORUNDUM  
CERAMICS SURFACE ROUGHNESS  
ON THE CHOSEN BLOOD PARAMETERS 59

S.PIELKA, M.SZYMONOWICZ, D.PALUCH, Z.LIBRANT,  
J.KARAŚ, H.KARMELITA - BUCZYŃSKA, Z.JEGERMAN

INVESTIGATION OF SULPHUR COMPOSITES  
REACTION ON THE COAGULATION SYSTEM  
AND CELLULAR ELEMENTS  
OF BLOOD 63

S.PIELKA, M.SZYMONOWICZ, D.PALUCH, J.KARAŚ,  
Z.LIBRANT, H.KARMELITA-BUCZYŃSKA, Z.JEGERMEN

THE INFLUENCE OF THE BIOMATERIALS  
FOR THE PROINFLAMMATORY CYTOKINES  
SYNTHESIS IN HUMAN LEUKOCYTES  
FROM PERIPHERAL BLOOD 66

S.PIELKA, A.CZARNY, B.ŻYWICKA, E.ZACZYŃSKA,  
L.SOLSKI, D.PALUCH, J.STANISZEWSKA-KUŚ

SOME PROBLEMS  
OF BIOENGINEERING APPLICATION  
IN ADVANCED SPINE SURGERY 70

L.F.CIUPIK

STRUKTURY POLILAKTYDOWE OTRZYMYWANE  
NA DRODZE DIALIZY - NOWE MATERIAŁY  
NA RUSZTOWANIA DO HODOWLI  
KOMÓRKOWYCH 75

M.GADZINOWSKI, S.SOSNOWSKI, S.SŁOMKOWSKI

WYTWARZANIE MAKROKAPSULEK  
POLIMEROWYCH Z PRZEZNACZENIEM  
DO HODOWLI KOMÓREK 77

M.KOZICKI, M.KOŁODZIEJCZYK, K.FILIPCZAK,  
P.ULAŃSKI, I.JANIK, J.M.ROSIK

POROWATE WŁÓKNA WĘGLOWE DLA CELÓW  
MEDYCZNYCH 78

I.PIEKARCZYK, E.MENASZEK,

ZASTOSOWANIE EPR - METODY ZNACZNIKÓW  
SPINOWYCH DO BADANIA WPŁYWU JONÓW ŻELAZA  
I CHROMU NA STRUKTURĘ TKANKI  
OSIERDZIA ŚWINI 82

B.CWALINA, L.DUL, M.JASTRZĘBSKA

WPŁYW PROMIENIOWANIA ULTRAFIOLETOWEGO  
I ŚWIATŁA WIDZIALNEGO NA STRUKTURĘ  
TKANKI OSIERDZIA ŚWINI 85

B.CWALINA, A.TUREK, J.NOŻYŃSKI, M.JASTRZĘBSKA

ANTAGONIZM KADMU I WAPNIA W POWIERZCHNI  
STAWOWEJ GŁOWY KOŚCI UDOWEJ  
MIESZKAŃCÓW WOJEWÓDZTWA ŚLĄSKIEGO 89

A.JURKIEWICZ, D.WIECHUŁA, K.LOSKA, T.BIELECKI,  
T. SZYMON GAŻDZIK

WPŁYW AKTYWNOŚCI RUCHOWEJ I DIETY NA  
GĘSTOŚĆ MINERALNĄ TKANKI KOSTNEJ ORAZ  
ZAWARTOŚĆ WAPNIA W KOŚCI GĄBCZASTEJ  
GŁOWY KOŚCI UDOWEJ U MIESZKAŃCÓW  
WOJEWÓDZTWA ŚLĄSKIEGO 91

A.JURKIEWICZ, D.WIECHUŁA, T.BIELECKI, T.SZYMON GAŻDZIK,  
K.LOSKA

OCENA MECHANICZNEJ WYTRZYMAŁOŚCI  
TKANKI KOSTNEJ GŁOWY KOŚCI UDOWEJ  
Z WYKORZYSTANIEM BADANIA  
DENSYTOTOMETRYCZNEGO  
I HISTOMORFOMETRYCZNEGO 93

A.JURKIEWICZ, D.WIECHUŁA, T.BIELECKI, T.S.GAŻDZIK,  
K. LOSKA

NEW POLY(L,L-LACTIDE) STRUCTURES  
OBTAINED BY DIALYSIS - NEW MATERIAL  
FOR CELL CULTURES 75

M.GADZINOWSKI, S.SOSNOWSKI, S.SŁOMKOWSKI

PREPARATION OF POLYMERIC  
MACROCAPSULES FOR CELL CULTIVATION 77

M.KOZICKI, M.KOŁODZIEJCZYK, K.FILIPCZAK,  
P.ULAŃSKI, I.JANIK, J.M.ROSIK

POROUS CARBON FIBRES FOR MEDICAL  
APPLICATIONS 78

I.PIEKARCZYK, E.MENASZEK

THE USE OF EPR - SPIN LABELING METHOD FOR  
INVESTIGATION THE INFLUENCE OF IRON AND  
CHROMIUM IONS ON THE STRUCTURE OF  
PORCINE PERICARDIUM TISSUE 82

B.CWALINA, L.DUL, M.JASTRZĘBSKA

EFFECT OF ULTRAVIOLET RADIATION AND  
VISIBLE LIGHT ON STRUCTURE OF PORCINE  
PERICARDIUM TISSUE 85

B.CWALINA, A.TUREK, J.NOŻYŃSKI, M.JASTRZĘBSKA

CADM AND CALCIUM ANTAGONISM IN AN  
ARTICULAR SURFACE OF THE FEMUR HEAD  
IN SILESIA INHABITANTS 89

A.JURKIEWICZ, D.WIECHUŁA, K.LOSKA, T.BIELECKI,  
T. SZYMON GAŻDZIK

INFLUENCE OF MOTORAL ACTIVITY AND DIET  
ON MINERAL DENSITY OF BONE TISSUE AND  
CALCIUM CAPACITY OF SPONGY FEMUR HEAD  
IN SILESIA INHABITANTS 91

A.JURKIEWICZ, D.WIECHUŁA, T.BIELECKI, T.SZYMON GAŻDZIK,  
K.LOSKA

ESTIMATION OF FEMUR HEAD MECHANICAL  
RESISTANCE WITH USING DENSITOMETRICAL  
AND HISTOMORPHOMETRICAL  
EXAMINATION 93

A.JURKIEWICZ, D.WIECHUŁA, T.BIELECKI, T.S.GAŻDZIK,  
K. LOSKA

BIORESORBOWLANE POROWATE PODŁOŻA  
DLA INŻYNIERII TKANKOWEJ Z KOPOLIMERU  
GLIKOLIDU Z L-LAKTYDEM: WPŁYW  
MIKROSTRUKTURY NA OSTEUBLASTY  
IN VITRO 95

E.PAMUŁA, M.BŁAŻEWICZ, J.BUCZYŃSKA, B.CZAJKOWSKA,  
P.DOBRZYŃSKI, M.BERO

WPŁYW FOTOCHEMICZNEJ MODYFIKACJI  
POWIERZCHNI POLISULFONU NA REAKCJE  
KOMÓRKOWE IN VITRO 99

B.CZAJKOWSKA, J.KOWAL, M.BŁAŻEWICZ, M.PTAK, M.BOBEK

BIOZGODNE CIENKIE WARSTWY TIN  
WYTWARZANE NA TYTANIE METALICZNYM  
I POLIURETA-NIE METODĄ OSADZANIA  
LASEREM IMPULSOWYM 103

R.MAJOR, R.KUSTOSZ, B.MAJOR

FOTOCHEMICZNA MODYFIKACJA  
POLISULFONU 104

J.KOWAL, B.CZAJKOWSKA, M.BŁAŻEWICZ, C.PALUSZKIEWICZ

WZROST I RÓŻNICOWANIE KOMÓREK  
KOSTNYCH NA MODYFIKOWANYCH  
PODŁOŻACH POLIMEROWYCH 108

B.POLAK, W.FABIANOWSKI, M.LEWANDOWSKA-SZUMIEL

TYPY WSPÓLCZEŚNIE UŻYWANYCH PROTEZ  
STAWÓW SKRONIOWO-ŻUCHWOWYCH 110

M.ADWENT, T.CIEŚLIK

POLISULFON WZMOCNIONY WŁÓKNEM  
WĘGLOWYM JAKO ELEMENT STABILIZUJĄCY  
ZŁAMANIA KOŚCI TWARZY 112

T.CIEŚLIK, J.WRÓBEL, J.CHŁOPEK

ZASTOSOWANIE ŚRUB BIKORTYKALNYCH  
W CHIRURGII ORTOGNATYCZNEJ 115

J.HERMAN, T.CIEŚLIK

BIORESORBABLE POROUS POLY-(GLYCOLIDE-  
CO-L-LACTIDE) SCAFFOLDS FOR TISSUE  
ENGINEERING: THE INFLUENCE OF  
MICROSTRUCTURE ON OSTEUBLASTS  
IN VITRO 95

E.PAMUŁA, M.BŁAŻEWICZ, J.BUCZYŃSKA, B.CZAJKOWSKA,  
P.DOBRZYŃSKI, M.BERO

EFFECT OF PHOTOCHEMICAL MODIFICATION OF  
POLYSULFONE SURFACE ON CELLULAR  
REACTIONS IN VITRO 99

B.CZAJKOWSKA, J.KOWAL, M.BŁAŻEWICZ, M.PTAK, M.BOBEK

BIOCOMPATIBLE THIN LAYERS OF TIN  
FABRICATED ON METALLIC TITANIUM  
AND POLYURETHANE BY PULSED LASER  
DEPOSITION 103

R.MAJOR, R.KUSTOSZ, B.MAJOR

PHOTOCHEMICAL MODIFICATION  
OF POLYSULFONE 104

J.KOWAL, B.CZAJKOWSKA, M.BŁAŻEWICZ, C.PALUSZKIEWICZ

GROWTH AND DIFFERENTIATION OF BONE  
CELLS ON MODIFIED POLYMERIC SURFACES 108

B.POLAK, W.FABIANOWSKI, M.LEWANDOWSKA-SZUMIEL

THE TYPES OF TEMPOROMANDIBULAR JOINT  
PROSTHESIS USED IN TREATMENT 110

M.ADWENT, T.CIEŚLIK

POLYSULPHON REINFORCED WITH CARBON  
FIBRE AS THE STABILIZING ELEMENT  
IN MAXILLOFACIAL SURGERY 112

T.CIEŚLIK, J.WRÓBEL, J.CHŁOPEK

THE APPLICATION OF BICORTICAL SCREWS  
IN ORTHOGNATHIC SURGERY 115

J.HERMAN, T.CIEŚLIK

KOMPOZYTY KOPOLIMERU P(LLA/GLA)  
Z WŁÓKNEM WĘGLOWYM W WARUNKACH  
DOTKANKOWEJ IMPLANATACJI - BADANIA  
WSTĘPNE 117

CIEŚLIK T., ADWENT M., BAJOR G., CHŁOPEK J., SABAT D.,  
BIELECKA A.

OCENA PRZEBIEGU GOJENIA ZŁAMAŃ ŻUCHWY  
ORAZ FORMOWANIA BLIZNY SKÓRNEJ POD WPŁY-  
WEM ZMIENNYCH PÓL MAGNETYCZNYCH O  
NISKICH WARTOŚCIACH INDUKCJI 120

P.JĘDRZEJEWSKI, T.CIEŚLIK, A.SIEROŃ

BADANIA NAD SYNTEZĄ SILIKONO-URETANÓW  
ORAZ WSTĘPNA OCENA ICH WŁAŚCIWOŚCI  
POD KĄTEM ZASTOSOWANIA JAKO  
BIOMATERIAŁÓW 123

J.KOZAKIEWICZ, J.PRZYBYLSKI,  
M.BRZOZOWSKA, E.TULIŃSKA-ŁUKASZEWSKA

LECZENIE PRZETOK AORTALNO-  
DWUNASTNICZYCH PO ZABIEGACH  
REKONSTRUKCYJNYCH NA AORCIE  
BRZUSZNEJ Z UŻYCIEM PROTEZY  
IMPREGNOWANEJ SOLAMI SREBRA 125

A.PUPKA, P.CHUDOBA, S.PAWŁOWSKI, A.RUCIŃSKI, P.SZYBER

POSZUKIWANIE NOWYCH TECHNOLOGII  
I METOD LECZENIA W ORTOPEDII,  
TRAUMATOLOGII I REHABILITACJI 127

B.FRAŃCZUK, I.KOTELA

BIOMECHANICZNE ASPEKTY STOSOWANIA  
IMPLANTÓW 130

R. BĘDZIŃSKI

7  
THE COPOLYMERS P(LLA/GLA) REINFORCED  
WITH CARBON FIBRES IN RABBIT TISSUE -  
PRELIMINARY STUDY 117

CIEŚLIK T., ADWENT M., BAJOR G., CHŁOPEK J., SABAT D.,  
BIELECKA A.

ASSESSMENT OF THE HEALING COURSE OF  
MANDIBLE FRACTURES AND SCARRING AFTER  
TREATMENT WITH MAGNETIC FIELDS OF LOW  
INDUCTION 120

P.JĘDRZEJEWSKI, T.CIEŚLIK, A.SIEROŃ

STUDIES ON SYNTHESIS OF SILICONE-  
URETHANES AND PRELIMINARY EVALUATION  
OF THEIR PROPERTIES IN VIEW  
OF APPLICATION AS BIOMATERIALS 123

J.KOZAKIEWICZ, J.PRZYBYLSKI,  
M.BRZOZOWSKA, E.TULIŃSKA-ŁUKASZEWSKA

THE TREATMENT OF AORTO-DUODENAL  
FISTULAS AFTER RECONSTRUCTIVE  
OPERATIONS OF THE ABDOMINAL AORTA  
WITH THE USE OF SILVER PROSTHESIS 125

A.PUPKA, P.CHUDOBA, S.PAWŁOWSKI, A.RUCIŃSKI, P.SZYBER

NEW TECHNOLOGIES AND TREATMENT  
STRATEGIES IN ORTHOPEDICS,  
TRAUMATOLOGY AND REHABILITATION 127

B.FRAŃCZUK, I.KOTELA

BIOMECHANICAL ASPECTS OF IMPLANT  
USE 130

R. BĘDZIŃSKI

# ADHESION, DIFFERENTIATION AND IMMUNE ACTIVATION OF HUMAN OSTEOGENIC CELLS IN CULTURES ON CARBON-FIBRE REINFORCED CARBON COMPOSITES

LUCIE BAČÁKOVÁ\*, VLADIMÍR STARÝ\*\*, PETR GLOGAR\*\*\*,  
VĚRA LISÁ\*

\*INSTITUTE OF PHYSIOLOGY,  
AS CR, PRAGUE 4, CZECH REPUBLIC

\*\*DEPARTMENT OF MATERIAL ENGINEERING,  
FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING,

CZECH TECHNICAL UNIVERSITY, PRAGUE 2, CZECH REPUBLIC

\*\*\*INSTITUTE OF ROCK STRUCTURE AND MECHANICS, AS CR,  
PRAGUE 8, CZECH REPUBLIC

Carbon fibre-reinforced carbon composites (CFRC) have been considered as promising materials for use in orthopaedic and dental surgery, surgery of the spine as well as veterinary medicine [1-5]. For these applications, the CFRC needs surface modifications, e.g. coating and polishing, in order to optimize their roughness and resistance against the release of carbon microparticles [6-8]. As follows from our earlier studies, coating with pyrolytic graphite combined with grinding and polishing seem to represent a suitable surface treatment of these materials [7, 8]. These modifications improved spreading and subsequent proliferation of human osteoblast-like MG 63 cells on CFRC in vitro and significantly diminished the release of carbon particles from these materials [7, 8]. In the present study, we concentrated on selected molecular markers of adhesion ( $\beta_1$ -integrins, i.e. receptors for collagen, focal adhesion protein vinculin [9]), differentiation (extracellular matrix protein osteocalcin [6, 8]) and potential immunoreactivity (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1 [9]) of osteogenic MG-63 cells on pyrolytic graphite-coated CFRC with different surface roughness obtained by grinding and polishing. In addition, adsorption of collagen, which mediates cell adhesion, was investigated on these samples [10].

Two-dimensionally reinforced CFRC were manufactured in the Institute of Rock Structure and Mechanics, Acad. Sci. CR, Prague, as reported earlier [7, 8]. The following groups of samples (3x3 cm) with gradually decreasing surface roughness were prepared:

#1: control untreated

#2: ground by metallographic paper of 4000 grade

#3: coated with pyrolytic graphite ( $C_4H_{10}$ , 4 Torr, 1900°C, 325 min) in Tesla Vršovice Ltd., Prague, CR

#4: ground and coated with pyrolytic graphite

#5: ground, coated with pyrolytic graphite, then polished with metallographic paper of 4000 grade

#6: ground, coated with pyrolytic graphite, polished with metallographic paper of 4000 grade and diamond paste (PRAMET, Šumperk, CR) of 3/2 grade

#7: ground, coated with pyrolytic graphite, polished with metallographic paper of 4000 grade, diamond paste of 3/2 grade and finally of 1/0 grade

As measured by a Talysurf profilometer, the surface roughness decreased significantly from the group #4 [7, 8].

The CFRC samples were cleaned in distilled and deionized water, sterilized in an autoclave, placed in polystyrene Petri dishes (Gama, České Budějovice, CR, diameter 5 cm; sample "G"). Some of them were exposed for 24 hours at room temperature to  $10 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  of collagen IV, conjugated with fluorescent label Oregon Green 488 (Molecular Probes, Eugene, OR, U.S.A.), and diluted in phosphate-buffered saline. Intensity and distribution of fluorescence on the CFRC surface was evaluated in confocal laser scanning microscope (Bio-Rad MRC600). The remaining samples were seeded with human osteosarcoma-derived MG63 cells (European Collection of Cell Cultures, Salisbury, UK) at the density of 25,000 cells/cm<sup>2</sup>. The cells were cultured in 6 ml of Dulbecco-modified Eagle Minimum Essential Medium (Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.) supplemented with 10% of fetal bovine serum and 40 mg/ml gentamicin. For immunofluorescence staining [9], cells in 3-days-old cultures were fixed with methanol for 5 min at -20°C. For enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) [9], cells on day 7 were harvested by trypsin-EDTA solution (Sigma) and homogenized in Ultrasonic Homogenizer (Cole-Parmer Instrument Co., Chicago, Illinois, U.S.A.). As primary antibodies, rabbit polyclonal anti-human  $\beta_1$ -integrin chain (Chemicon Int. Inc., Temecula, CA, U.S.A.), mouse monoclonal anti-human vinculin (Sigma), anti-bovine Osteocalcin (Chemicon) and anti-human ICAM-1 (Exbio, Prague, CR) were used. The secondary antibodies were represented by goat anti-rabbit and goat anti-mouse IgGs conjugated with FITC or peroxidase (Sigma) [9].

Quantitative data are presented as mean values  $\pm$  SEM from 3 experiments (each performed in triplicates). Statistical significance was evaluated by Student's test for unpaired data.

The MG-63 cells on modified CFRC (samples #6 and #7) contained a significantly higher concentration of  $\beta_1$ -integrins, i.e. a group of integrins involving receptors for collagen, than the cells on unmodified composites (FIG. 1). As suggested by the intensity and distribution of fluores-

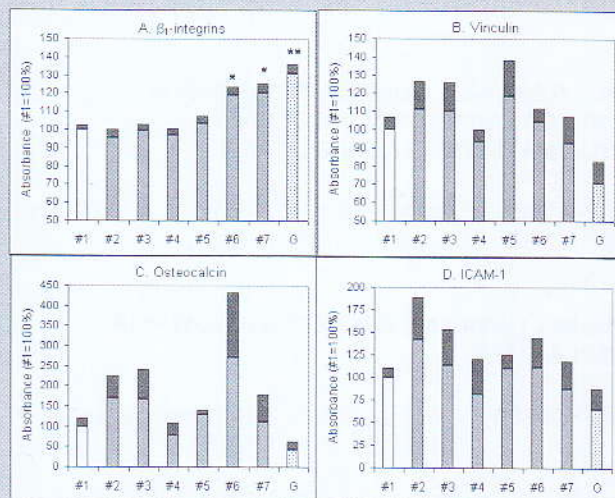
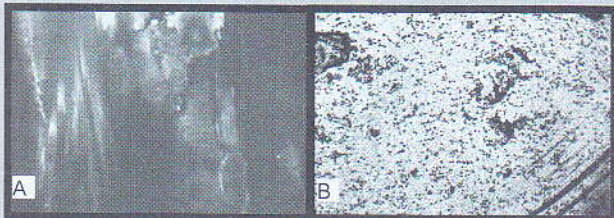


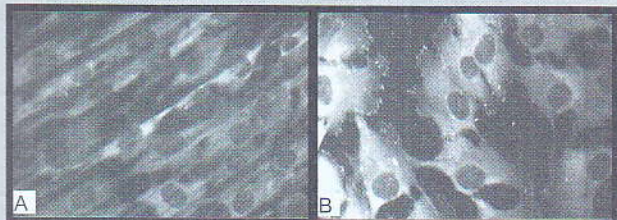
FIG. 1. Concentration of  $\beta_1$ -integrins (A), vinculin (B), osteocalcin (C) and ICAM-1 (D) in MG 63 cells growing on unmodified CFRC or CFRC of groups #1 to #7 and G (see Material and Methods; B). Measured by ELISA (per mg of protein) on day 7 after seeding. Absorbances of cell samples from the surface-modified CFRC are expressed in % of values obtained from control cells on untreated composites. Means  $\pm$  S.E.M. from 3 experiments. Student's t-test for unpaired data, \* $p \leq 0.02$  and \*\* $p \leq 0.01$  compared to the control values in cells on unmodified CFRC.





**FIG. 2.** Adsorption of collagen IV conjugated with Oregon Green 488 on unmodified CFRC (A) or CFRC of group #6 (B; see Material and methods). Confocal laser scanning microscope, obj. 40x.

cence of Oregon Green-conjugated collagen IV (FIG. 2), this finding could be explained by a higher and more homogeneous adsorption of collagen, which can be contained in the serum supplement of the culture media, or secreted by the cells themselves. Immunofluorescence staining of vinculin showed a relatively high formation of focal adhesion plaques in cells on samples #6 (FIG. 3). In these plaques, integrins communicate with a wide spectrum of signaling and cytoskeletal molecules, which control cell viability, growth and differentiation. On unmodified CFRC, a diffuse pattern of vinculin distribution (FIG. 3) indicated a low formation of focal adhesion plaques, which might explain a lower proliferation of MG-63 cells found on these materials in our earlier study [7]. In addition, the cells on modified CFRC, especially on samples #6, showed a tendency to contain more osteocalcin (FIG. 1), a non-collagenous calcium-binding extracellular matrix protein, considered as an important marker of osteoblastic differentiation and bone tissue formation [6, 7]. Concentration of ICAM-1, cell surface adhesion molecule of immunoglobulin type, which bind inflammatory cells [9], was similar in modified and unmodified CFRC; only in cell on samples #2, a slight but non significant tendency to increase was noted. These results suggest that coating the CFRC with pyrolytic graphite, as well as their grinding and polishing with metallographic paper and diamond paste, would not enhance the immunoattractiveness of the cell-material complex.



**FIG. 3.** Immunofluorescence staining of vinculin, a marker of focal adhesion plaques, in MG 63 cells cultured for 3 days on unmodified CFRC (A) or CFRC of group #6 (B; see Material and Methods). Confocal laser scanning microscope, obj. 60x.

## Acknowledgements

This study was supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of CR (COST, Action 527, grant No. OC/PR 00680), and by a research project No. AVOZ 5011922 of the Inst. Physiol., Acad. Sci CR.

We also thank Mrs. Ivana Zajanová for her excellent technical assistance.

## References

- [1] Blazewicz S., Chlopek J., Litak A., Wajler C., Staszko E.: *Biomaterials* 18:437, 1997.
- [2] Pešáková V., Klézl Z., Balík K., Adam M.: *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 11: 793, 2000.
- [3] Balík K., Burešová M., Machovič V., Novotná M., Pešáková V., Sochor M.: *Eng. Biomater. (Inzynieria Biomaterialow)*, IV (17-19): 9, 2001.
- [4] Sterna J.: *Eng. Biomater. (Inzynieria Biomaterialow)*, I (4): 25-30, 1998.
- [5] Klos Z., Degorska B.: *Eng. Biomater. (Inzynieria Biomaterialow)*, IV (17-19): 57-58, 2001.
- [6] Bačáková L., Starý V., Kofroňová O., Lisá V.: *J. Biomed. Mater. Res.* 54: 567-578, 2001 (a)
- [7] Bačáková L., Starý V., Horník J., Glogar P., Lisá V., Kofroňová O.: *Eng. Biomater. (Inzynieria Biomaterialow)* IV: (17-19): 11-12, 2001.
- [8] Starý V., Bačáková L., Glogar P., Horník J., Jirka I., Švorčík V.: *Eng. Biomater. (Inzynieria Biomaterialow)* IV (17-19): 10-11, 2001.
- [9] Bačáková L., Lisá V., Kubínová L., Wilhelm J., Novotná J., Eckhardt A., Herget J.: *Virchow's Arch.*, 440: 50-62, 2002.
- [10] Bačáková L., Walachová K., Švorčík V., Hnatowicz V.: *J. Biomater. Sci.-Polym. Ed.*, 12: 817-834, 2001.

## VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS IN CULTURES ON LACTIDE BASED POLYMERS FOR POTENTIAL CONSTRUCTION OF ARTIFICIAL VESSEL WALL

E. FILOVÁ\*, L. BAČÁKOVÁ\*, V. LISÁ\*, L. MACHOVÁ\*\*, M. LAPČIKOVÁ\*\*, D. KUBIES\*\*\*, V. PROKS\*\*\*, F. RYPÁČEK\*\*

\*INSTITUTE OF PHYSIOLOGY ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC,

VIDEŇSKÁ ST. 1083, 142 00, PRAGUE 4-KRČ, CZECH REPUBLIC

\*\*INSTITUTE OF MACROMOLECULAR CHEMISTRY ACADEMY OF SCIENCES OF THE CZECH REPUBLIC,

HEYROVSKÝ SQ. 2, 162 06 PRAGUE 6, CZECH REPUBLIC

\*\*\*CENTRE FOR CELL THERAPY AND TISSUE REPAIR, 2ND FACULTY OF MEDICINE,

V ÚVALU 84, PRAGUE 5, CZECH REPUBLIC

We focused on polymer-cell reaction, specifically on adhesion and spreading of vascular smooth muscle cells (VSMC) on lactide- and polyethylenoxide (PEO)-based polymers, potential materials for construction of vascular prostheses. On poly(DL-lactic acid), PDLLA, the number and spreading of initially attached rat aortic VSMC were similar as on standard cell culture plastics. However, the copolymer of PDLLA and PEO, MeO-PEO-b-PDLLA, almost disabled the cell adhesion and spreading. Grafting of GRGDSG peptide to the copolymer restored the cell adhesion and spreading almost to the values seen on PDLLA. Surprisingly, the concentration of 5% GRGDSG was more effective than a higher concentration of 20%.

Synthetic polymers can be used for construction of artificial vascular prostheses. Disadvantage of these devices is

excessive growth activation, which can lead to stenosis of prosthesis lumen. We suppose that this excessive VSMC proliferation could be prevented by increase of VSMC adhesion to maximum extent. It is known that the highest cell migration and proliferation are at the intermediate adhesion degree, whereas the maximal adhesion turns down the proliferation of VSMC and starts the differentiation program (Mann and West, 2002). The aim of the present study is to control the adhesion and proliferation of VSMC on bioresorbable lactide- or polyethylenoxide-based polymers, which can be used for construction of vessel wall prostheses. The extent of cell adhesion was regulated by grafting different concentrations of Gly-Arg-Gly-Asp-Ser-Gly (GRGDSSG) sequence, which binds to cellular integrin receptors (Kok et al. 2002, Glukhova and Koteliansky 1995), into antiadhesive background formed by PEO. In addition, grafting of short oligopeptides enables to avoid undesirable immune reactions, often associated with adsorption of whole extracellular matrix molecules.

Preparation of polymers was described in detail by Kubies et al. (2000), Rypáček et al. (2001) and Bačáková et al. (2003). Briefly, homopolymer poly(DL-lactic acid), PDLLA (Mw=630 000), was synthesized by ring-opening polymerisation of D,L-lactide. Polyethylene oxide (MeO-PEO) was prepared by anionic polymerization of ethylene oxide. MeO-PEO-b-PDLLA (referred as PDLLA-PEO), a block copolymer of lactide with a poly(ethylene oxide) segment was synthesized by controlled polymerisation of D,L-lactide and MeO-PEO (final concentration of the PEO phase on the copolymer surface was 33%). The peptide-modified surfaces were cast from mixtures of MeO-PEO-b-PDLLA and GRGDSSG-(N)-PEO-b-PDLLA. Two mixtures were prepared with different ratio (5%, 20% GRGDSSG) of peptide-terminated PEO to neutral MeO-PEO in the film. Films of polymers were deposited by a spin-coating method on silanized glass coverslips (diameter 1 cm; Dispolab, Brno, CR), and inserted into 24-well-Nunc Multidishes (Nalge Nunc Int., Denmark, diameter 1.5 cm). For each experimental group and time interval, two samples were prepared.

VSMC were derived from the intima-media complex of the thoracic aorta of 8-week-old male Wistar SPF rats by explantation method (Bačáková and Kuneš 1995), and used in passages 2 to 20.

Initial adhesion of VSMC on polymers was evaluated 6 and 24 hours after seeding. The cells were fixed with 10% neutral formol and stained with Gill's hematoxylin and eosin (Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.). The number of initially adhering VSMC was counted in 40 randomly selected fields (0.25 mm<sup>2</sup>, objective 20x) homogeneously distributed in each sample using a phase-contrast microscope (Opton, Axioplan, Germany) equipped with a calibrated eye-piece grid. The size of cell spreading area was measured on microphotographs taken by a digital camera (Sony, 5.0 MPxl, Japan) using a software Atlas (Tescan, Czech Republic) in 3-7 microscopic fields for each sample (6-17 cells per field, objective 40x, 0.0625mm<sup>2</sup>). Quantitative data were given as means  $\pm$  SEM and statistically evaluated by Student's t-test for unpaired data, using a 5% error probability criterion.

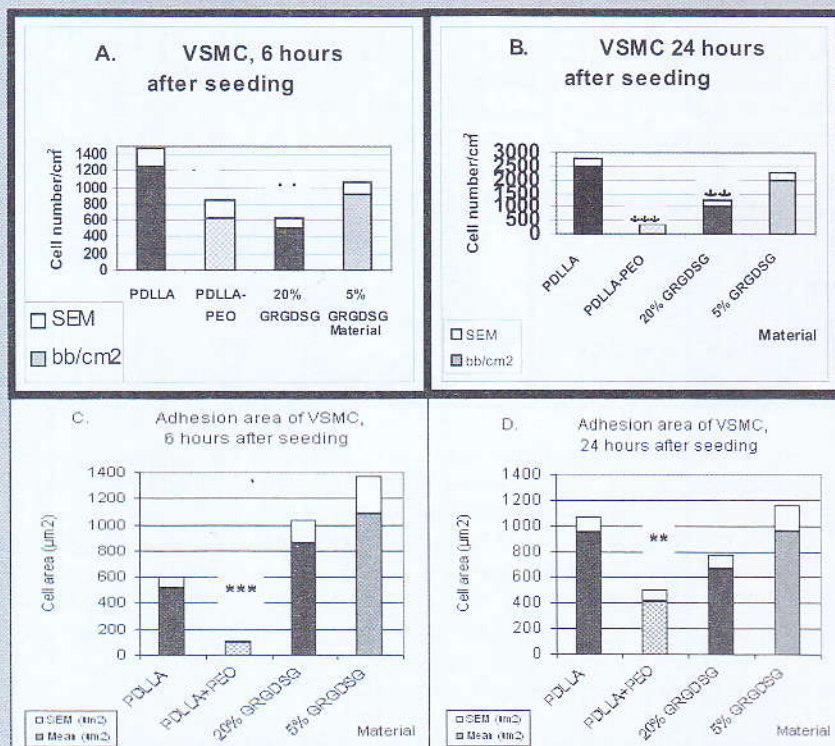
The number of VSMC attached to the PDLLA-PEO copolymer 6 and 24 hours after seeding, was significantly lower (by 49.7 and 86.9%, respectively) than that on control PDLLA surface. On PDLLA-PEO grafted with 5% GRGDSSG, the number of adhered cells markedly increased and became

similar than that on PDLLA (increase by 44.4% and 496.6%, 6 and 24 hours, respectively, in compare with PDLLA-PEO). Surprisingly, the increase of cell population density on the copolymer grafted with a 20% concentration of GRGDSSG was a bit less apparent (by 209%, 24 hours, comparing with PDLLA-PEO), so this density still remained lower than that on PDLLA (by 58.5 and 59.4%, 6 and 24 hours after seeding). Regardless, it was significantly higher compared to that on the PEO-containing copolymer (by 209%, 24 hours, FIG. 1).

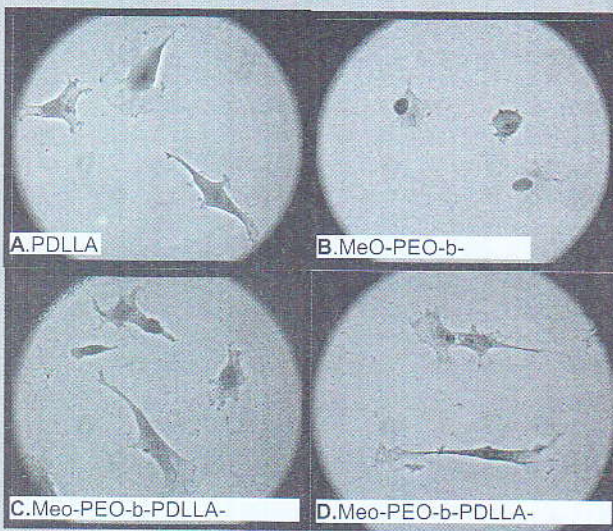
Similarly, the adhesion area of VSMC seeded on antiadhesive PEO-containing copolymer was significantly lower (by 81.4 and 56.3%, 6 and 24 hours) in comparison to PDLLA surface. Addition of GRGDSSG sequences to this copolymer markedly improved the adhesion ability of VSMC. Six hours after seeding, on the PDLLA-PEO with 5% and 20% of GRGDSSG, the cell spreading areas were higher by 1038.2 and 806.4%, respectively, in comparison with non-grafted copolymer, and even higher than on PDLLA (by 68.9% and 112.4%, respectively). On 24 hours after seeding, spreading area of VSMC (polymer with 5 and 20% GRGDSSG) nearly reached the value obtained on PDLLA and was significantly higher than that on PDLLA-PEO copolymer (by 132.6 and 60.9%, respectively).

Hematoxylin-eosin staining of VSMC (24 hours after seeding) on different polymeric surfaces showed polygonal VSMC widely spread on PDLLA surface (Fig. 2 A). However, on the PDLLA-PEO copolymer, the cells were usually not spread, round, floating in the culture media and less viable (FIG. 1 B). Attachment of GRGDSSG peptide, a ligand for cell integrin receptors, to the copolymer surface markedly improved the cell adhesion capacity (FIG. 2 C, D).

PDLLA represents a polymer with a good cell adhesion, similar to that found on conventional cell culture plastics (Bačáková et al. 2003). PEO, is a nonionic, hydrophilic



**FIG. 1.** Population density of VSMC cultivated on different polymeric surfaces on 6 (A) and 24 hours (B) after seeding, adhesion area of VSMC on 6 (C) and 24 hours (D) after seeding. Mean  $\pm$  SEM from 40 independent fields. Statistical sign.: \*  $p \leq 0.05$ , \*\*  $p \leq 0.01$ , \*\*\*  $p \leq 0.001$



**FIG. 2. Morphology of VSMC cultured on different polymeric surfaces. Hematoxylin and eosin staining, 24 hours of cultivation. Phase contrast microscope (Opton, Axioplan, Germany), objective 40x.**

antiadhesive polymer which suppresses adsorption of fibronectin (Sofia et al. 1998), fibrinogens (Kim and Kim 2002) and other proteins, mediating cell adhesion to artificial materials through integrin receptors. Because of its excellent inhibiting effects on platelet adhesion (Park and Bae 2002), this polymer is suitable for construction of blood-contacting devices. Copolymer PDLLA-PEO in the present study almost completely prevented cell attachment and spreading on its surface. The adhesion of VSMC on this material was even worse than that on a copolymer of PDLLA with carboxylated PEO in our earlier study (Bačáková et al. 2003). Grafting the PDLLA-PEO with 5 or 20 % of GRGDSG, an oligopeptide present in integrin-binding sites of natural extracellular matrix molecules (e.g., fibronectin, vitronectin, laminin, collagen, osteopontin; Hynes 1999), significantly increased the number and spreading of attached cells almost to the values found on PDLLA or standard cell culture plastics. It was probably caused by specific interaction between GRGDSG and integrin receptors on cells. Surprisingly, the cell adhesion was slightly better on the copolymer with a lower (i.e., 5%) concentration of GRGDSG. This may be explained by more homogeneous distribution or more advantageous spatial conformation and accessibility of this amino acid sequence by cell integrin receptors, and needs further investigation. Nevertheless, this result suggests that the extent of cell adhesion could be regulated by the concentration and distribution of integrin ligands on the artificial polymer surface, which can be applied in prevention of excessive VSMC proliferation on vascular prosthesis.

It can be concluded, that grafting GRGDSG sequence on antiadhesive surface of MeO-PEO-b-PDLLA copolymer can regulate attachment and spreading of VSMC, which gives possibility for further control of proliferation of this cell type on vascular implants.

## Acknowledgement

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

## References

- [1] Bačáková L., Kuneš J.: *Physiol. Res.* 44: 127-130, 1995.
- [2] Bačáková L., Lapčíková M., Kubies D., Rypáček F.: *Adv. Exp. Med. Biol.*, 534: 179-189, 2003.
- [3] Glukhova M.A., Koteliansky V.E.: In: *The vascular smooth muscle Cell. Molecular and biological responses to the extracellular matrix.* Eds.: S.M. Schwartz, R.P. Mecham, Acad. Press, 1995, pp. 37-79.
- [4] Hynes R.O.: *Trends Cell Biol.* 9: M33-M37, 1999.
- [5] Kim J.H., Kim S.C.: *Biomaterials* 23: 2015-2025, 2002.
- [6] Kok R.J., Schraň A.J., Bos E.J., Moorlag, H.E., Asgeirsdottir S.A., Everts M., Meijer D.K.F., Molema G.: *Bioconjug. Chem.* 13: 128-135, 2002.
- [7] Kubies D., Rypáček F., Kovářová J., Lednický F.: *Biomaterials* 21: 529-536, 2000.
- [8] Mann B.K., West J.L.: *Biomed. Mater. Res.*, 60: 86-93, 2002.
- [9] Park J.H., Bae Y.H.: *Biomaterials* 23: 1797-1808, 2002.
- [10] Rypáček F., Machová L., Kotva R., Škarda V.: *Polym. Mater. Sci. Eng.* 84: 817-818, 2001.
- [11] Sofia S.J., Premnath V.V., Merrill E.W.: *Macromolecules* 31: 5059-5070, 1998.

# STRUKTURY POROWATE MATERIAŁÓW CERAMICZNYCH NA NOŚNIKI ŻYWYCH KOMÓREK DO STOSOWANIA W INŻYNIERII TKANKOWEJ

ZBIGNIEW JAEGERMANN, JOANNA KARAŚ, SŁAWOMIR MICHAŁOWSKI

INSTYTUT SZKŁA I CERAMIKI, WARSZAWA

## Wstęp

Wartość porowatości, wielkość porów i ich struktura są istotnymi czynnikami, które mają wpływ na odżywianie przeszczepionych i odbudowujących się komórek. Szczególnie w przypadku wysoko unaczynionych organów niezbędne jest użycie nośnika o dużej porowatości i wysokim stosunku pola powierzchni do objętości [1]. W takim przypadku nośnik zapewnia odpowiednią przestrzeń do posiania i hodowli komórek, wytwarzania substancji międzykomórkowej i unaczynienia [2]. Aby osiągnąć wysokie pole powierzchni materiału na jednostkę objętości zaleca się użycie nośników o małych średnicach porów, pod warunkiem, że ich rozmiar jest większy od wielkości komórek w zawiesinie. W przypadku odbudowy kości wielkość porów w które najlepiej wrasta tkanka kostna zawiera się pomiędzy 200 a 400  $\mu\text{m}$  [3]. Również szybkość tworzenia się tkanki naczyniowej zależy od wielkości porów nośnika [4]. W odróżnieniu od tworzyw, w których udział porowatości zamkniętej jest znaczny, w nośnikach o otwartej porowatości wzrasta szybkość dyfuzji do i z wnętrza nośnika co ułatwia unaczynianie, a tym samym polepsza utlenianie, odżywianie i odprowadzanie zbędnych produktów przemiany materii [5].

W niniejszej pracy opisano metodę spieniania chemicznego i matrycy organicznej formowania porowatych tworzyw korundowych i kalcytowych, a także zamieszczono wyniki badań właściwości otrzymanych biomateriałów.

## Materiały i metody badań

Do badań użyto tworzywa korundowego o składzie chemicznym:  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - 97,0% wag.,  $\text{MgO}$  - 2,5% wag.,  $\text{CaO}$  - 0,5% wag., oraz tworzywa kalcytowego o składzie:  $\text{CaCO}_3$  - 99% wag. i  $\text{LiF}$  - 1% wag. Matryce organiczne stanowiły strukturalne gąbki poliuretanowe firmy Brösel o gęstościach: 30, 45 i 60 ppi.

Gęstość pozorną tworzyw oznaczano metodą geometryczną, porowatość całkowitą obliczono na podstawie gęstości pozornej i gęstości właściwej, a badania wytrzymałościowe przeprowadzono na maszynie wytrzymałościowej LR10K (Lloyd Instruments). Obserwacje struktur porowatych prowadzono przy pomocy mikroskopu stereoskopowego Stemi 2000-C (Carl Zeiss).

## Metody formowania

Zastosowana metoda spieniania chemicznego tworzywa korundowego polega na odlewaniu kształtek z masy zawierającej drobnopłynisty tlenek glinu, polimer oparty na polilitenochlorku glinu, tlenek magnezu i węglan wapnia.

# POROUS STRUCTURES OF CERAMIC MATERIALS USED AS SCAFFOLDS FOR LIVING CELLS FOR APPLICATION IN TISSUE ENGINEERING

ZBIGNIEW JAEGERMANN, JOANNA KARAŚ, SŁAWOMIR MICHAŁOWSKI

INSTITUTE OF GLASS AND CERAMICS (ISC), WARSAW

## Introduction

Porosity value, the size and structure of the pores, are essential factors that influence the alimentionation of transplanted and regenerated cells. Especially in the case of highly vascularized organs it is necessary to use a highly porous scaffolds with a high proportion of the surface area to its volume [1]. In such case scaffolds provide sufficient space for cell seeding, growth, extracellular matrix production and vascularization [2]. In order to obtain a high rate of the material surface area per unit of volume it is recommended to use scaffolds with small sizes of the pores, as long as their diameters are greater than the sizes of the cells in the suspension. In the case of bone regeneration, there is an optimal pore size for maximum tissue ingrowth ranging from 200 to 400  $\mu\text{m}$  [3]. Also the rate of fibrovascular tissue growth depends on the size of the pores of the scaffold [4]. Differently than in the case of porous structures, in which the proportion of closed porosity is significant, in scaffolds with open porosity the speed of diffusion into and out of the inside parts of the scaffold increases, which facilitates vascularization, thus improving oxygen and nutrient supply and waste removal [5].

The present paper describes a method of chemical foaming and organic matrix formation of porous alumina and calcite materials, and also includes the results of testing the properties of the obtained biomaterials.

## Materials and testing methods

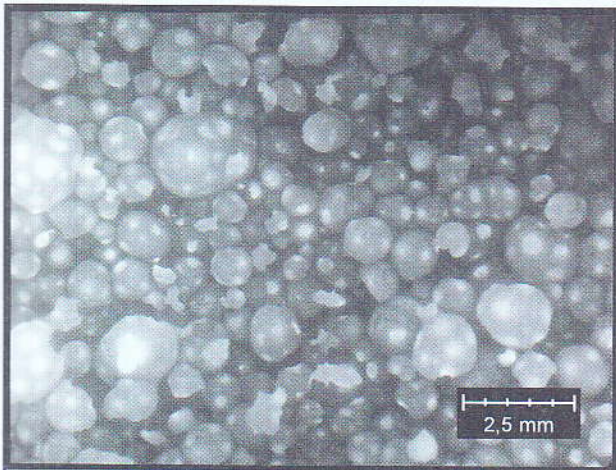
Alumina material used for the research had the following chemical composition:  $\text{Al}_2\text{O}_3$  - 97.0 wt%,  $\text{MgO}$  - 2.5 wt%,  $\text{CaO}$  - 0.5 wt%; and the calcite material was composed as follows:  $\text{CaCO}_3$  - 99 wt% and  $\text{LiF}$  - 1 wt%. The organic matrices consisted of structural polyurethane sponges supplied by the firm Brösel with the following densities: 30, 45 and 60 ppi, as well as ones supplied by the firm Hygan with the density of 90 ppi.

The apparent density of the materials was determined by the geometrical method, total porosity was calculated on the basis of apparent density and specific density, and resistance tests were conducted on a resistance testing machine LR10K (Lloyd Instruments). Observation of the porous structures was conducted using a stereoscopic microscope Stemi 2000-C (Carl Zeiss).

## Forming methods

The applied method of chemical foaming from alumina material consists of casting profiles from compound mate-

Kwaśny roztwór polimeru neutralizowany tlenkiem magnezu i węglanem wapnia przechodzi w żel sklejający ziarna tlenku glinu. Jednoczesny proces rozkładu węglanu wapnia powoduje spienienie tężącej gęstwy korundowej [6]. Drugą obok spieniania chemicznego zastosowaną metodą otrzymywania struktury porowatej jest odwzorowanie tekstury matrycy, którą są poliuretanowe gąbki strukturalne. W stosunku do spieniania chemicznego, metoda odwzorowania tekstury ma szereg istotnych zalet. Między innymi użycie gąbek o określonej gęstości umożliwia otrzymanie materiałów o precyzyjnie przewidzianym udziale objętościowym porów i ich wielkości, a także jednorodnym rozkładzie porowatości. Możliwe jest również wyeliminowanie konieczności stosowania pewnych składników tworzywa pełniących w metodzie chemicznej istotną rolę w procesie jego spieniania. Metoda odwzorowania tekstury z użyciem matrycy organicznej polega na nasączeniu gąbki poliuretanowej gęstwą ceramiczną, odpowiednim jej wyciśnięciu, a następnie wysuszeniu i spieczeniu. W procesie wypalania gąbka poliuretanowa ulega spaleniowi pozostawiając spieczony szkielet ceramiczny.



**RYS. 1. Porowata struktura tworzywa korundowego spienianego chemicznie.**  
**FIG. 1. Porous structure of chemically foamed alumina material.**

## Wyniki badań

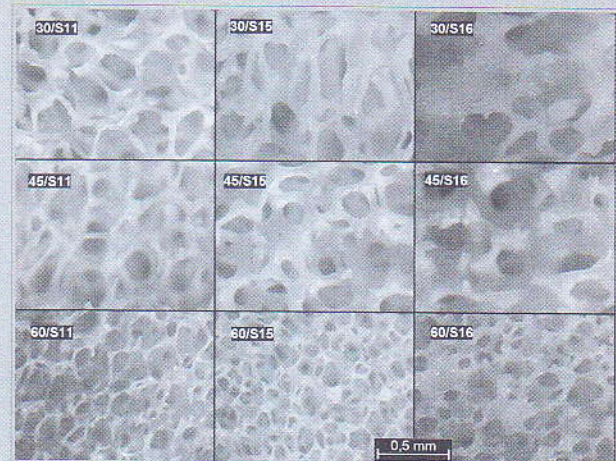
W ramach prac doświadczalnych wykonano spieniane chemicznie porowate tworzywo korundowe, oraz korundowe i kalcytowe pianki bioceramiczne.

Porowate tworzywo korundowe charakteryzuje się porowatością otwartą około 60-70%, a jego struktura porowata jest analogiczna do struktury mineralnej kości gąbczastej. Pory mają kształt sferyczny o wielkości 300-2500  $\mu\text{m}$  i są połączone kanałami o średniej średnicy ok. 150  $\mu\text{m}$  (RYS. 1). W zależności od wielkości porowatości wytrzymałość mechaniczna na ściskanie tworzywa wynosi 20-30 MPa.

W zależności od rodzaju użytej gąbki poliuretanowej, właściwości masy lejnej i zastosowanej techniki wyciskania nadmiaru gęstwy uzyskano pianki korundowe o gęstości pozomej od 0,5 do 0,95  $\text{g}/\text{cm}^3$ , porowatości całkowitej od 68 do 92 % i wytrzymałości mechanicznej na ściskanie od 3,2 do 9,5 MPa. Przykładowe struktury porowate przedstawiono na RYSUNKU 2.

Wstępne próby otrzymywania pianek kalcytowych metodą matrycy organicznej, pozwoliły uzyskać materiał poro-

rial containing fine-grained aluminium oxide, polymer based on aluminium polyoxochloride, magnesium oxide and calcium carbonate. The acid polymer solution neutralised by magnesium oxide and calcium carbonate turns into a gel, which glues together the grains of aluminium oxide. The simultaneous process of decomposition of calcium carbonate causes the foaming of the solidifying alumina slurry [6]. The second applied method of obtaining the porous structure, apart from chemical foaming, is the mapping of the matrix texture consisting of the polyurethane structural sponges. Compared with the chemical foaming approach, the texture mapping method presents a number of significant advantages. Among other things, the use of sponges with a specified density enables to obtain materials with precisely anticipated volumetric proportion of pores and their size, as well as the uniform distribution of porosity. It is also possible to eliminate the necessity of applying certain components of the material, which in the case of the chemical method play a significant role in the process of its foaming. The texture mapping method using an organic matrix consists of soaking a polyurethane sponge with ceramic slurry, its appropriate extrusion, and subsequently drying and sintering. In the process of firing the polyurethane sponge is burnt out leaving the sintered ceramic scaffold.



**RYS. 2. Porowate struktury pianek korundowych.**  
**FIG. 2. Porous structures of alumina foams.**

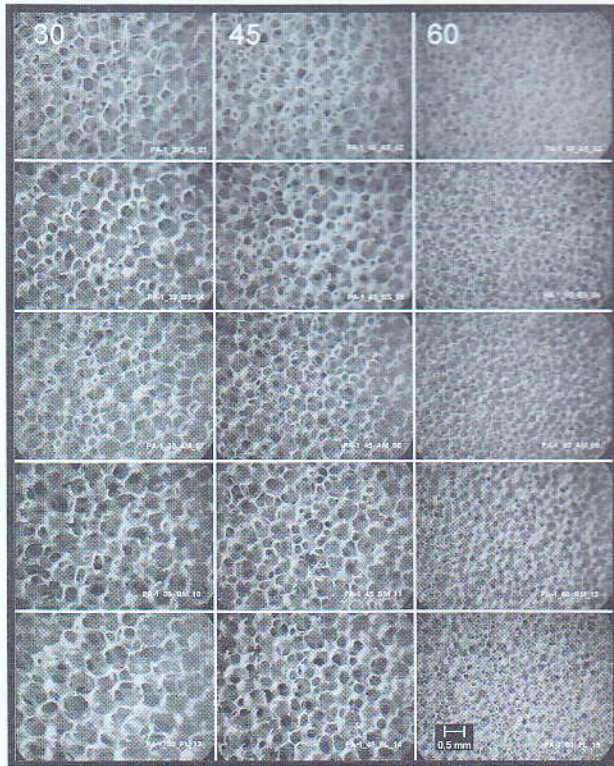
## Research results

As part of the experimental research work chemically foamed porous alumina material was produced, as well as alumina and calcite bioceramic foams.

The porous alumina material is characterised by open porosity of approximately 60-70%, and its porous structure is analogous to the mineral structure of cancellous bone. The pores have spherical shape of 300-2500  $\mu\text{m}$  in size and are linked by ducts with average diameter of approximately 150  $\mu\text{m}$  (FIG. 1). Depending on porosity size the mechanical compression strength of the material amounts to 20-30 MPa.

Depending on the kind of polyurethane sponge used, on the properties of the casting slip and the applied technique of extrusion of the surplus slurry, alumina foams were obtained with apparent densities ranging from 0.5 to 0.95  $\text{g}/\text{cm}^3$ , total porosity from 68 to 92 % and mechanical compression strength of 3.2 to 9.5 MPa. Examples of such porous structures are presented in FIGURE 2.

Preliminary attempts to obtain calcite foams by the or-



RYS. 3. Porowate struktury pianek kalcytowych.  
FIG. 3. Porous structures of calcite foams.

waty o porowatościach od 65 do 90% i wytrzymałościach nieprzekraczających 2,5 MPa, których przykładowe struktury porowate zamieszczono na RYSUNKU 3.

## Podsumowanie

Metoda spieniania chemicznego pozwala na uzyskanie materiału o wystarczającej porowatości i wielkości porów oraz o dużej wytrzymałości mechanicznej, jednakże niewielkie średnice kanałów łączących pory mogą utrudniać odżywianie i rozmnażanie się hodowanych komórek.

Metodą matrycy organicznej uzyskuje się strukturę porowatą o większej porowatości, innej strukturze przestrzennej i o wyraźnie niższej wytrzymałości mechanicznej. Poprzez dobór różnych rodzajów gąbek poliuretanowych oraz odpowiednich technik nasączenia masami lejnymi można otrzymać tą metodą pianki ceramiczne o różnych wartościach porowatości, wielkości porów i zróżnicowanej strukturze porowatej.

## Podziękowania

Prace finansowane przez KBN w ramach projektu badawczego zamawianego Nr 05/PBZ-KBN-082/2002/06.

ganic matrix method resulted in obtaining porous material with porosity ranging from 65 to 90% and compression strength not exceeding 2.5 MPa; examples of such porous structures are presented in FIGURE 3.

## Summary

The chemical foaming method enables to obtain material with sufficient porosity and size of the pores, as well as high mechanical compression strength, but the small diameters of the ducts linking the pores may inhibit the alimentation and reproduction of the cell cultures.

The organic matrix method results in obtaining a porous structure with greater porosity, a different spatial structure and distinctly lower mechanical compression strength. By appropriately selecting different kinds of polyurethane sponges and applying appropriate techniques of soaking with casting slips, it is possible to obtain by that method ceramic foams with different values of porosity, pore sizes and diverse porous structures.

## Acknowledgements

This work was supported by the State Committee of Scientific Research (grant No. 05/PBZ-KBN-082/2002/06).

## Piśmiennictwo

## References

- [1] M. Verte, P. Christel, F. Chabot, J. Leray w: *Macromolecular Biomaterials*, pod red. G.W. Hastings, P. Ducheyne CRC Press Inc, Boca Raton, 1984, 119.
- [2] M. Vert, S. Li, H. Garreau, *J. Control. Res.* 16, 1991, 15.
- [3] I. Engelberg, J. Kohn, *Biomaterials*, 12(3), 1991, 292.
- [4] A.G. Mikos, G. Sarakins, S.M. Leite, J.P. Vacanti, R. Langer, *Biomaterials*, 14, 1993, 323.
- [5] A.G. Mikos, Y. Bao, L.G. Cima, D.E. Ingber, J.P. Vacanti, R. Langer, *J. Biomed. Mater. Res.* 27, 1993, 183.
- [6] J. Bieniek, G. Rosiek, Z. Święcki, Sposób otrzymywania porowatego ceramicznego materiału ortopedycznego - Patent Nr 107161.

# ODCZYNY TKANKOWE W MIEJSCU WSZCZEPIENIA W ŚCIANĘ TCHAWICY IMPLANTÓW Z WŁÓKNINY WĘGLOWEJ

WOJCIECH ŚCIERSKI\*, DARIUSZ LANGE\*\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*\*, EWA ZEMBALA-NOŻYŃSKA\*\*\*\*, GRZEGORZ NAMYSŁOWSKI\*, MARTA BŁAŻEWICZ \*\*\*\*\* , JAN PILCH\*\*\*\*\* , GRZEGORZ BAJOR\*\*\*\*\*

\*KATEDRA I KLINIKA LARYNGOLOGII ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W ZABRZU  
\*\*ZAKŁAD PATOLOGII INSTYTUTU ONKOLOGII, GLIWICE  
\*\*\*ŚLĄSKIE CENTRUM CHORÓB SERCA W ZABRZU  
\*\*\*\*KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII W ZABRZU ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH  
\*\*\*\*\*WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI AKADEMII GÓRNICZO-HUTNICZEJ W KRAKOWIE  
\*\*\*\*\*ZAKŁAD ANATOMII PRAWIDŁOWEJ, AKADEMIA WYCHOWANIA FIZYCZNEGO W KATOWICACH  
\*\*\*\*\*KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII DZIECIĘCEJ ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH

## Wprowadzenie

Zabiegi operacyjne dotyczące tchawicy związane są z ryzykiem powikłanego i długiego procesu gojenia. W miejscu założenia szwów chirurgicznych może dochodzić do uciśnięcia sieci naczyń krwionośnych, niedokrwiennej martwicy zespalanych tkanek oraz powikłań zapalnych. Przedłużający się odczyn zapalny przebiegający z wytworzeniem ziarniny osłabia ścianę tchawicy oraz może doprowadzić do zwężenia jej światła. W zabiegach operacyjnych wszczepiania biomateriału w ścianę tchawicy istnieje duże niebezpieczeństwo pojawienia się nasilonego stanu zapalnego, wytwarzania ziarniny oraz wtórnych zwężeń jej światła. Celem pracy jest ocena wczesnego procesu gojenia ściany tchawicy po wszczepieniu łaty z włókniny węglowej u zwierząt doświadczalnych.

## Materiał i metodyka

Zwierzętom doświadczalnym, wolnym od schorzeń, wszczepiano w znieczuleniu ogólnym włókninę węglową w postaci łaty w miejsce po usunięciu fragmenty tchawicy obejmującego około 70% jej obwodu z pozostawieniem fragmentów chrząstek oraz całej części błoniastej. Po 1, 2, 3 tygodniu zwierzęta poddawano eutanazji, zaś z fragmentów tchawicy i implantu wykonywano preparaty histologiczne, które oceniano pod kątem zmian patologicznych

## Wyniki

We wszystkich przypadkach nie obserwowano rozejścia szwów chirurgicznych łączących implant z tchawicą. W okolicy górnego brzegu zespolenia włókniny węglowej ze ścianą tchawicy obserwowano zarówno w 1 jak i 2 tygodniu obecność wałowatego uniesienia z martwicą tkanki, naciekiem granulocytarnym oraz obecnością nitek grzybni kropidlaka, gdzieśgdzie zauważano obecność metaplastycznego nabłonka wielowarstwowego płaskiego. W trzecim

# TISSUE REACTION AFTER THE TRACHEAL IMPLANTATION CARBONM CLOTH

WOJCIECH ŚCIERSKI\*, DARIUSZ LANGE\*\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*\*, EWA ZEMBALA-NOŻYŃSKA\*\*\*\*, GRZEGORZ NAMYSŁOWSKI\*, MARTA BŁAŻEWICZ \*\*\*\*\* , JAN PILCH\*\*\*\*\* , GRZEGORZ BAJOR\*\*\*\*\*

\*CHAIR AND DEPARTMENT OF OTORHINOLARYNGOLOGY, SILESIA MEDICAL UNIVERSITY IN ZABRZE,  
\*\*DEPARTMENT OF PATHOLOGY, INSTITUTE OF ONCOLOGY, GLIWICE  
\*\*\*SILESIA CENTER FOR HEART DISEASES, ZABRZE, POLAND,  
\*\*\*\*CHAIR AND DEPARTMENT OF PATHOMORPHOLOGY, SILESIA MEDICAL UNIVERSITY IN KATOWICE, ZABRZE, POLAND  
\*\*\*\*\*DEPARTMENT OF ADVANCED CERAMICS, UNIVERSITY OF MINING AND METALLURGY, CRACOW, POLAND  
\*\*\*\*\*CHAIR AND CLINIC OF PEDIATRIC SURGERY, SILESIA MEDICAL UNIVERSITY IN KATOWICE, POLAND

## Introduction

Tracheal surgery is burdened with a risk of complicated and prolonged healing. An ischaemic necrosis of the sutured tissues and inflammatory complications can occur in sites of sutures. A chronic inflammatory reaction with granulation tissue both weakens the trachea wall and can lead to its stenosis. Implantation of biomaterial can be burdened with the same complications. The aim of the study is an evaluation of trachea wall healing process after carbon fiber patch implantation in experimental animals.

## Material and methods

Experimental healthy animals were implanted, under general anesthesia, with carbon fibre in the form of patch after the removal of trachea fragment including 70% of its circumference with the preserved cartilage fragments and the whole membranous part. After 1, 2, 3, weeks, the animals were sacrificed and the trachea with implant fragments were diagnosed histologically.

## Results

No dehiscence of suture connecting an implant with trachea was observed in all cases. A presence of heaped-up elevation with tissue necrosis, granulocytic infiltration and a presence of aspergillus mycelium were observed at the border of the area of the carbon fibre anastomosis with trachea wall, and metaplastic stratified squamous epithelium here and there. In the third week, a proliferation of fibrous connective tissue with perivascular inflammatory infiltrations consisting mainly of plasmatic cells was noticed. A number of granulocytes was growing the closer it was to the trachea lumen, vast fibrosis was also noticed, while granulation with histiocytic cells, and polymorphonuclear inflammatory infiltration, a few giant cells and fibroblasts were located in place of mucous membrane. Inner edge was

tygodniu zaobserwowano rozrost tkanki łącznej włóknistej z okolonaczyniowymi naciekami zapalnymi złożonymi głównie z komórek plazmatycznych. Wraz ze zbliżaniem się do światła tchawicy wzrastała liczba granulocytów, dostrzegano również rozległe włóknienie, zaś w miejscu błony śluzowej znajdowała się ziarnina z komórkami histiocytarnymi, oraz polimorfonuklearnym naciekiem zapalnym, nielicznymi komórkami olbrzymimi i fibroblastami. Brzeg wewnętrzny objęty był martwicą. Wśród martwiczych tkanek widoczne były fragmenty nabłonka migawkowego o zaburzonej architektonice. Uwagę zwracała nasilona pseudowarstwowość nabłonka oraz ogniskowa metaplasja płaskonabłonkowa.

Poprzeczne przekroje tchawicy w pierwszym tygodniu ujawniały błonę śluzową pokrytą pofałdowanym stosunkowo cienkim nabłonkiem rzęskowym z obecnością komórek wydzielających śluz. Bezpośrednio pod nabłonkiem widoczne były również liczne plazmocyty, małe limfocyty oraz granulocyty obojętnochłonne. W głębszych warstwach błony podśluzowej i w błonie mięśniowej nacieki grupowały się wokół naczyń. Z kolei w drugim i trzecim tygodniu błona śluzowa ogniskowo wykazywała cechy metaplasji płaskonabłonkowej. Nacieki zapalne lokalizowały się także w głębszych warstwach podśluzówkowych. Nie zaobserwowano uszkodzenia chrząstek tchawicy.

Włókna węglowe widoczne były w preparatach w postaci prostych czarnych pasm, ogniskowo fragmentowanych.

## Dyskusja

Proces gojenia tkanek tchawicy z wszczepioną włókniną węglową nie różni się zasadniczo we wczesnym okresie od gojenia tchawicy po zabiegach chirurgicznych [1, 2]. Dochodzi do utrzymywania się odpowiedzi zapalnej o charakterze przewlekłym, zaś odpowiedzią na implant węglowy wydaje się być rozrost tkanki łącznej lub obecność komórek resorpcyjnych. Pomimo procesu zapalnego dochodzi jednak do pokrycia okolicy nabłonkiem. Proces włóknienia jest jednak mniej nasilony niż w przypadku implantacji nici węglowej w tkanki łączne innej okolicy ciała. [3, 4]. Wydaje się, że zasadniczym czynnikiem utrudniającym gojenie obrzeża implantu jest infekcja grzybicza, lub aktywna uprzednio istniejąca kolonizacja grzybnia kropidlaka, najczęstsze powikłanie utrudniające gojenie się zespołów tchawicznych [2]. Na podstawie obserwacji wczesnej trudno jest wnosić o odległych wynikach gojenia tchawicznych implantów węglowych, aczkolwiek zwraca uwagę konieczność szerokiej profilaktyki przeciwgrzybiczej w okresie okołoperacyjnym.

encompassed with necrosis. Fragments of ciliated epithelium of disturbed architecture were visible among necrotic tissues. Attention was drawn by intensified epithelium pseudostratification and focal squamous metaplasia.

Transverse trachea cross-sections, in the first week, disclosed mucous membrane covered with wrinkled, relatively thin ciliary epithelium with a presence of cells secreting mucus. Also numerous neutrophils, plasmocytes, small lymphocytes and granulocytes were visible directly under the epithelium. Infiltrations in the deeper layers of mucous membrane and muscular membrane were grouped around vessels. In the second and third week focal mucous membrane showed features of squamous metaplasia. Inflammatory infiltrations were located also in deeper submucous layers. No damages of trachea cartilage were observed.

Carbon fibres were visible in preparations in the form of simple black bands, focally fragmented.

## Discussion

Healing process of trachea tissue with implanted carbon fibre does not differ basically in the early period from the trachea healing after surgery [1, 2]. Chronic inflammatory reaction persists and proliferation of connective tissue or presence of resorptive cells seem to be a typical reaction to carbon implant. However, fibrosis is less intense than in case of carbon thread implantation into connective tissue in other parts of the body [3, 4]. It seems that a basic factor inhibiting implant edge healing is mycotic infection or activation of the already existing colonization by aspergillus, the most common complication preventing healing in trachea sutures [2]. On the basis of early observation it is difficult to establish far-reaching results in trachea carbon implants, however, it is necessary to apply vast antimycotic, prophylaxis in the perioperational period.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Kornaszewska M., Dudek K., Nożyński J.: Chemiczne utrwalone homografy - możliwość rekonstrukcji rozległych ubytków tchawicy. *Adv Clin Exp Med.* (2000), 9, 125-136.
- [2] Wojarski J., Zembala M., Religa Z., Nożyński J.: Prowadzenie chorych po przeszczepieniu płuc z uwzględnieniem powikłań. *Pneumonol. Alergol Pol* (1995), 63, 93-98.
- [3] Dąbrowka K., Szczurek Z., Zembala-Nożyńska E., Nożyński J.: "Biomorfoza blizny łącznotkankowej powstałej po wszczepieniu nici węglowych" *Inżynieria Biomateriałów*, 2002; 21: 10-14.
- [4] Jenkins DHR, Forster IW., McKibbin B., Ralis ZA.: "Induction of tendon and ligament formation by carbon implant" *J Bone Joint Surg* 1977; 59B: 53.



# MORFOMETRYCZNA ANALIZA WCZESNEGO OKRESU BIODEGRADACJI IMPLANTÓW WŁÓKNINY WĘGLOWEJ WSZCZEPIONYCH W ŚCIANĘ TCHAWICY

WOJCIECH ŚCIERSKI\*, DARIUSZ LANGE\*\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*\*,  
EWA ZEMBALA-NOŻYŃSKA\*\*\*\*, GRZEGORZ NAMYSŁOWSKI\*,  
MARTA BŁAŻEWICZ\*\*\*\*\*, JAN PILCH\*\*\*\*\*,  
GRZEGORZ BAJOR\*\*\*\*\*

\*KATEDRA I KLINIKA LARYNGOLOGII  
ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W ZABRZU  
\*\*ZAKŁAD PATOLOGII INSTYTUTU ONKOLOGII, GLIWICE  
\*\*\*ŚLĄSKIE CENTRUM CHOROÓB SERCA W ZABRZU  
\*\*\*\*KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII W ZABRZU  
ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH  
\*\*\*\*\*WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI  
AKADEMII GÓRNICZO-HUTNICZEJ W KRAKOWIE  
\*\*\*\*\*ZAKŁAD ANATOMII PRAWIDŁOWEJ,  
AKADEMIA WYCHOWANIA FIZYCZNEGO W KATOWICACH  
\*\*\*\*\*KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII DZIECIĘCEJ  
ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH

## Wprowadzenie

Zwężenia tchawicy są poważnym problemem klinicznym, do którego może dochodzić w wyniku bądź schorzenia pierwotnego górnych dróg oddechowych lub też powikłań długotrwałej intensywnej terapii oddechowej. Jedną z metod leczenia wydaje się być poszerzenie światła tchawicy poprzez wszczępienie obojętnego biologicznie biomateriału poprawiającego warunki oddechowe. Biozgodny implant powinien ułatwiać zagojenie się ubytku tkankowego, ostatecznie ulegając bądź biodegradacji z wypełnieniem ubytku tkanką biokompatybilną, bądź też skutecznie protezować fragment ściany tchawicy. Celem pracy jest ocena morfometryczna biodegradacji implantu węglowego wszczępionego w ścianę tchawicy zwierząt doświadczalnych, baranów i owiec we wczesnym okresie gojenia.

## Materiał i metodyka

Zwierzętom doświadczalnym, wolnym od schorzeń wszczępiano w znieczuleniu ogólnym włókninę węglową w postaci łaty w miejsce po usunięciu fragmentu tchawicy obejmującego około 70% jej obwodu z pozostawieniem fragmentów chrząstek oraz całej części błoniastej. Po 1, 2, 3 tygodniu zwierzęta poddawano eutanazji, zaś z fragmentów tchawicy i implantu wykonywano preparaty histologiczne, które analizowano wykorzystując system analizy obrazu Quantimet Leica. Oceniono morfometrycznie: 1. wymiar najkrótszy odpowiadający szerokości włókien węglowych, 2. obliczoną szerokość włókien węglowych, 3. współczynnik wypełnienia, 4. średni stopień szarości odzwierciedlający gęstość materiału - gęstość optyczną. Wyniki opracowano statystycznie.

# MORPHOMETRIC BIODEGRADATION ANALYSIS OF EARLY PERIOD OF CARBON FIBRE IMPLANTS INSERTED INTO TRACHEA WALL

WOJCIECH ŚCIERSKI\*, DARIUSZ LANGE\*\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*\*,  
EWA ZEMBALA-NOŻYŃSKA\*\*\*\*, GRZEGORZ NAMYSŁOWSKI\*,  
MARTA BŁAŻEWICZ\*\*\*\*\*, JAN PILCH\*\*\*\*\*,  
GRZEGORZ BAJOR\*\*\*\*\*

\*CHAIR AND DEPARTMENT OF OTORHINOLARYNGOLOGY,  
SILESIA MEDICAL UNIVERSITY IN ZABRZE,  
\*\*DEPARTMENT OF PATHOLOGY, INSTITUTE OF ONCOLOGY,  
GLIWICE  
\*\*\*SILESIA CENTER FOR HEART DISEASES, ZABRZE, POLAND,  
\*\*\*\*CHAIR AND DEPARTMENT OF PATHOMORPHOLOGY, SILESIA  
MEDICAL UNIVERSITY IN KATOWICE, ZABRZE, POLAND  
\*\*\*\*\*DEPARTMENT OF ADVANCED CERAMICS,  
UNIVERSITY OF MINING AND METALLURGY, CRACOW, POLAND  
\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*CHAIR AND CLINIC OF PEDIATRIC SURGERY, SILESIA  
MEDICAL UNIVERSITY IN KATOWICE, POLAND

## Introduction

Tracheal strictures are a serious clinical problem, which can be a result of primary upper airways disease or of complications after long-term intensive respiratory therapy. One of the most often applied treatment methods seems to be trachea lumen dilatation through implantation of biologically neutral biomaterial improving respiratory conditions. Biocompatible implant should enhance healing of tissue defect, finally biodegrading while filling the defect with biocompatible tissue or creating an effective prosthesis of a part of trachea wall.

The aim of the study is morphometric evaluation of carbon implant inserted into trachea wall of the experiment animals, rams and sheep, in the early healing period.

## Material and method

Healthy experimental animals (sheeps), under general anesthesia, were proceed under surgical procedure. After the removal of circa 70% of trachea circumference sparing the whole membranous part and fragments of tracheal cartilages the carbon cloth patch was implanted and sutured. After 1, 2, 3, weeks, the animals were sacrificed under general anaesthesia and the trachea with the implanted carbon cloth fragment were routinely histologically processed for further microscopical image analysis with Quantimet Leica. This analysis included: 1. the breadth responding to the shortest diameter of carbon fibres, 2. curve length of carbon fibres, 3. fullness factor coefficient, 4. mean gray level reflecting density of the material - optic density. The results were analyzed statistically.

tydzień implantacji	Liczba.	Mediana	Minimum	Maksimum	Kwartył dolny	Kwartył górny
Implantation week	Number	Median	Minimum	Maximum	Lower quartile	Upper quartile
Wymiar najkrótszy / Breadth						
1	744	3,782	0,420	58,403	1,538	7,353
2	1320	3,846	0,420	117,692	1,538	9,231
3	2841	4,615	0,420	238,460	1,538	8,462
Obliczona szerokość / Curve width						
1	744	2,521	0,420	16,540	1,261	4,622
2	1320	3,077	0,400	15,385	1,538	6,154
3	2841	3,077	0,400	14,615	1,538	6,154
Współczynnik wypełnienia / Fullness factor						
1	744	0,926	0,304	1,371	0,816	1,041
2	1320	0,919	0,248	1,371	0,733	1,063
3	2841	0,908	0,248	1,371	0,626	1,038
Średni stopień szarości / Mean grey level						
1	744	42,521	0,000	240,071	32,093	88,433
2	1320	33,960	6,416	136,500	27,021	122,500
3	2841	29,867	0,000	238,714	22,543	97,861

TABELA 1. Charakterystyka morfometryczna procesu biodegradacji włókien włókniny węglowej wszczepionych w ścianę tchawicy.  
TABLE 1. Morphometric characteristics of the biodegradation process of the fibres in carbon cloth implanted into the tracheal wall.

Porównywane tygodnie	Wartość			
	Value			
Compared weeks	Wymiar najkrótszy Breadth	Obliczona szerokość Curve width	Współczynnik wypełnienia Fullness factor	Średni stopień szarości Mean grey level
1 tydzień versus 2 tydzień 1 <sup>st</sup> week versus 2 <sup>nd</sup> week	0,0004	0,0001	0,0253	0,0000001
2 tydzień versus 3 tydzień 2 <sup>nd</sup> week versus 3 <sup>rd</sup> week	0,15	0,005	0,00006	0,0000001

TABELA 2. Porównanie wartości morfometrycznych włókien włókniny węglowej wszczepionych w ścianę tchawicy.  
TABLE 2. The comparison of morphometric values of the fibres of carbon cloth implanted into the tracheal wall.

Wymiar najkrótszy Breadth		Obliczona szerokość Curve width		Współczynnik wypełnienia Fullness factor		Średni stopień szarości Mean grey level	
Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
0,668	0,000003	0,092	0,0000001	-0,090	0,0000001	-0,214	0,0000001

TABELA 3. Korelacja czasu obserwacji z wartościami morfometrycznymi włókien włókniny węglowej wszczepionych w ścianę tchawicy.  
TABLE 3. The correlation of the time of implantation with the morphometric values of the fibres of carbon cloth implanted into the tracheal wall.

## Wyniki

Wyniki zestawiono w TAB. 1, zaś wzajemne porównania grup w TAB. 2. Ponadto oceniono korelację parametrów morfometrycznych z czasem obserwacji (TAB. 3).

Wymiar najkrótszy wykazywał istotny wzrost wartości przeciętnej pomimo nieznacznych różnic wartości mediany. Podobnie zachowywała się obliczona szerokość włókien węglowych. Współczynnik wypełnienia istotnie spadał, wskazując na najwyraźniejsze wżery resorpcyjne w 3 tygodniu implantacji. Średni stopień szarości ujawniał postępującą i znamienne spadki wartości przeciętnej. Analiza korelacji wskazywała na najsilniejszą korelację wymiaru najkrótszego z czasem implantacji włókniny węglowej.

## Results

Results are compared in TAB. 1, while the groups are contrasted in TAB. 2. Moreover, a correlation of morphometric parameters with observation time was also evaluated (TAB. 3).

The breadth showed significant increase of mean value despite slight differences in median. The curve length of carbon fibres behaved similarly. The fullness factor decreased significantly showing distinctive resorptive pits in the 3rd week of the implantation. Mean grey level disclose a progressive and significant decrease of mean value. Correlation analysis showed the strongest correlation of the shortest breadth with the time of carbon fibre implantation.

## Dyskusja

Włóknina węglowa implantowana w ścianę tchawicy poddana jest działaniu sił rozciągających, wpływowi wolnych rodników powstających w wyniku procesu zapalnego, działaniu enzymów gojącej się lub rozpadającej tkanki. Wynikiem tego działania jest proces biodegradacji, zachodzący jednakże nieco odmiennie niż w przypadku innych materiałów węglowych poddanych podobnym działaniom. Porównanie z nicią węglową wskazuje na nieco odmienny charakter wczesnej biodegradacji, o ile w przypadku nici wymiary poprzeczne zmniejszały swoją wartość, to w przypadku implantu tchawiczego dochodzi do poszerzenia się włókien węglowych [1]. Towarzyszy temu spadek a nie wzrost współczynnika wypełnienia, co sugeruje obrzmienie włókien węglowych z występowaniem liczniejszych lecz płytszych wżerów resorpcyjnych. Postępujący spadek gęstości optycznej wskazuje na zagęszczenie struktury włókien [2]. Powyższe wyniki mogą wskazywać na wczesne przemiany struktury włókien polegając na skróceniu ich długości przy towarzyszącym poszerzeniu wymiarów poprzecznych, skutkiem czego dochodzić będzie do zmniejszenia wżerów resorpcyjnych i kondensacji struktury. Tłumaczy to także najsilniejsza i dodatnia korelacja czasu biodegradacji z wymiarem najkrótszym włókien węglowych. Nie jest jednak możliwe ocenienie długości włókien węglowych, gdyż podczas sporządzania preparatów histologicznych ulegają one przecięciu. Powyższe zjawisko może odzwierciedlać się w dyskretnym obkurczeniu biomateriału implantowanego w ścianę tchawicy, jak również we wzroście wytrzymałości mechanicznej włókniny.

## Wniosek

Wczesny okres biodegradacji włókniny węglowej implantowanej w ścianę tchawicy przejawia się spęcznieniem i zagęszczeniem struktury włókien węglowych. Zjawisko to może prowadzić do wzrostu jej wytrzymałości lub i nieznacznego skurczenia biomateriału.

## Discussion

Carbon fibre implanted into trachea wall is exposed to strong stretching and to the influence of free radicals arising due to inflammatory process, enzyme reactions of healing or disintegrating issue. A result of these reactions is biodegradation process, however is slightly different from the cases of other carbon materials exposed to similar processes. The comparison with carbon thread indicates slightly dissimilar character of early biodegradation; when the transverse breadth of threads was decreasing, the carbon fibres in trachea implant got widened [1]. It is accompanied by a decrease, not an increase of filling coefficient, which is suggested by carbon fibre swelling with the occurrence of more numerous, however shallower resorptive pits. Progressive fall of optical density indicates a thickening of fibre structure including shortening their length with the accompanying widening of transverse breadth. Therefore, resorptive pits and structure condensation will grow smaller. It can also be explained by the strongest positive correlation of biodegradation time with the shortest breadth of carbon fibres. However, it is not possible to evaluate length of carbon fibres since while making preparations they got cut. The above-mentioned phenomenon can be reflected in slight shrinking of the implanted material into trachea wall, as well as in an increase of the fibre mechanical durability.

## Conclusion

Early biodegradation period of carbon fibre implanted into trachea wall is demonstrated by swelling and thickening of carbon fibre structure. This phenomenon can lead to an increase of its durability or/and slight shrinking of the biomaterial.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Dąbrowka K., Zembala-Nożyńska E., Nożyński J.K., Cieślak T.: "Zachowanie się wartości geometrycznych nici węglowej w procesie biodegradacji" *Inżynieria Biomateriałów*, 2002; 21: 15-22.
- [2] Dąbrowka K., Nożyński J., Zembala-Nożyńska E., Błażewicz S.: Średni stopień szarości - obiektywny parametr biodegradacji włókien węglowych. *Inżynieria Biomateriałów* (2001), 13, 3-8.

# CHARAKTERYSTYKA MORFOMETRYCZNA WŁÓKIEN WĘGLOWYCH KOMPOZYTÓW WĘGLOWYCH IMPLANTOWANYCH ŚRÓDKOSTNIE KRÓLIKOM PO OKRESIE 22 TYGODNIOWYM

GRZEGORZ BAJOR\*, EWA ZEMBALA-NOŻYŃSKA\*\*,  
JERZY NOŻYŃSKI\*\*\*, WOJCIECH ŚCIERSKI\*\*\*\*,  
ADAM GRZYBOWSKI\*\*\*, DANIEL SABAT\*\*

\*KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII DZIECIĘCEJ ŚLĄSKIEJ AKADEMII  
MEDYCZNEJ W KATOWICACH

\*\*KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII W ZABRZU ŚLĄSKIEJ  
AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH

\*\*\*ŚLĄSKIE CENTRUM CHOROÓB SERCA W ZABRZU

\*\*\*\*KATEDRA I KLINIKA OTOLARYNGOLOGII W ZABRZU ŚLĄSKIEJ  
AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH

## Wprowadzenie

Wieloletnie badania nad właściwościami biologicznymi materiałów węglowych wykazały, że charakteryzują się biogodnością. W oparciu o wcześniej prowadzone badania nad kompozytami węglowymi prócz szeregu ich zalet stwierdzono, że mają wady w postaci kruchości, łamliwości. Włókna węglowe modyfikowane powierzchniowo lub wprowadzone do osnowy stanowiącej element wzmacniający tworzą trwalszy materiał kompozytowy.

Z tego powodu jako polimeru tworzącego osnowę użyto żywicy epoksydowej. Dodatkowo poprawę właściwości tego kompozytu uzyskano poprzez pokrycie go materiałem bioaktywnym w postaci hydroksyapatytu czy pirowęgla. Celem badania była ocena procesu biodegradacji włókien węglowych implantowanych w postaci śródszpikowego zespolenia kości długiej w zależności od modyfikacji biomateriału.

## Materiał i metodyka

Wykonano śródszpikową implantację królikom sztyftów będących implantami:

- kompozytu włókna węglowego z osnową epoksydową i hydroksyapatytem (HAP) (C-C-Ep-HAP),
- kompozytu węgiel- węgiel pokryte warstwą hydroksyapatytu (HAP) (C-C-HAP),
- kompozytu węgiel- węgiel-pirowęgiel pokryte warstwą hydroksyapatytu (C-Cp-HAP),
- kompozytu węgiel- węgiel (C-C).

Po 22 tygodniach zwierzęta usypiano, zaś z fragmentów kości i implantu wykonywano preparaty histologiczne które analizowano, wykorzystując system analizy obrazu Quantimet Leica. Oceniono morfometrycznie: 1. wymiar najkrótszy odpowiadający szerokości włókien węglowych, 2. obli-

# MORPHOMETRIC PROFILE OF CARBON FIBRE / CARBON COMPOSITES IMPLANTED INTO BONES IN RABBITS AFTER A PERIOD OF 22 WEEKS

GRZEGORZ BAJOR\*, EWA ZEMBALA-NOŻYŃSKA\*\*,  
JERZY NOŻYŃSKI\*\*\*, WOJCIECH ŚCIERSKI\*\*\*\*,  
ADAM GRZYBOWSKI\*\*\*, DANIEL SABAT\*\*

\*CHAIR AND CLINIC OF PEDIATRIC SURGERY, SILESIA MEDICAL  
UNIVERSITY IN KATOWICE, POLAND

\*\* CHAIR AND DEPARTMENT OF PATHOMORPHOLOGY, SILESIA  
MEDICAL UNIVERSITY IN KATOWICE, ZABRZE, POLAND

\*\*\*SILESIA CENTER FOR HEART DISEASES, ZABRZE, POLAND,

\*\*\*\*CHAIR AND DEPARTMENT OF OTORHINOLARYNGOLOGY,  
SILESIA MEDICAL UNIVERSITY IN KATOWICE, ZABRZE, POLAND

## Introduction

Many studies on the biological properties of carbon materials showed that they are biocompatible. Referring to the earlier studies of carbon composites, it was found that apart from many advantages, they also have faults of being fragile and breakable. Carbon fibres modified superficially or introduced into the wrap being a strengthening element make much more durable composite material. Therefore epoxide resin has been used as a polymer to make a wrap. Additionally, an improvement of composite properties was achieved by covering it with bioactive material in the form of hydroxyapatite or pyrocarbon. The aim of the study was to evaluate a biodegradation process of carbon fibres implanted into bone marrow as an anastomosis in the long bone depending on biomaterial modification.

## Material and method

Implantation of pins into rabbit's bone marrow was performed. The pins were implants of:

- carbon fibre composite with epoxide wrap and hydroxyapatite (HAP) (C-C -Ep- HAP),
- carbon- carbon composite covered with a layer of hydroxyapatite (HAP) (C-C-HAP),
- carbon- carbon- pyrocarbon covered with a layer of hydroxyapatite (C-CpHAP),
- carbon-carbon composite (C-C)

After 22 weeks the animals were sacrificed under general anaesthesia, then bone and implant fragments were routinely histologically processed for further microscopical image analysis with Quantimet Leica. This analysis included: 1. the breadth responding to the shortest diameter of carbon fibres, 2. curve length of carbon fibres, 3. fullness factor coefficient, 4. mean gray level reflecting density of the material - optic density. The results were analyzed statistically.

czoną szerokość włókien węglowych, 3. współczynnik wypełnienia, 4. średni stopień szarości odzwierciedlający gęstość materiału - gęstość optyczną. Wyniki opracowano statystycznie.

Biomateriał	Liczba	Mediana	Minimum	Maksimum	Kwartył dolny	Kwartył górny
Biomaterial	Number	Median	Minimum	Maximum	Lower quartile	Upper quartile
Wymiar najkrótszy / Breadth						
C-C-Ep-HAP	250	1.538	0.385	39.231	0.769	4.231
C-C-HAP	617	1.923	0.385	81.923	1.154	5.385
C-Cp-HAP	193	1.923	0.385	41.154	0.769	5.385
C-C	128	3.462	0.385	75.385	0.769	8.2695
Obliczona szerokość / Curve width						
C-C-Ep-HAP	251	1.154	0.385	10.769	0.769	2.692
C-C-HAP	618	1.538	0.385	13.077	0.769	2.692
C-Cp-HAP	194	1.154	0.385	10.385	0.769	2.692
C-C	129	2.308	0.385	17.692	0.769	5.385
Współczynnik wypełnienia / Fullness factor						
C-C-Ep-HAP	251	0.964	0.533	1.371	0.853	1.087
C-C-HAP	618	0.9555	0.524	1.371	0.854	1.047
C-Cp-HAP	194	0.938	0.604	1.371	0.818	1.061
C-C	129	0.908	0.591	1.25	0.808	1.015
Średni stopień szarości / Mean grey level						
C-C-Ep-HAP	251	44.760	22.000	97.571	40.000	52.500
C-C-HAP	618	46.507	22.555	59.705	39.999	51.000
C-Cp-HAP	194	39.081	19.909	57.943	33.230	43.784
C-C	129	42.555	18.333	54.777	38.865	46.037

TABELA 1. Charakterystyka morfometryczna włókien kompozytów węglowych implantowanych śródkostnie królikom po 22 tygodniach.  
TABLE 1. Morphometrical profile of fibres in carbon composites implanted into bones in rabbits.

## Results

The results are compared in the TABLES (1-3). The breadth and curve width had the shortest range and median value in the group of composites with epoxide wrap, the biggest in the group of carbon-carbon composite. The fullness factor close to 1 showed the lowest number of resorptive (corrosion) irregularities in cases of epoxide wrap, the biggest in cases of carbon-carbon composite. The group with epoxide wrap and HAP and the group with HAP had lower optic density in comparison to C-C or C-Cp-HAP composite. Addition of pyrocarbon in CCp-HAP composite, despite a density increase did not influence the width of fibres. The fullness factor indicated the smallest number of circumference irregularities in the group C-C-Ep-HAP, the smallest in the group C-C, mean gray level reflecting biomaterial density showed significant and strong correlation to fullness only in the groups C-C-E-HAP and C-C. Biomaterial with epoxide wrap had strong positive correlation ( $r = 0.419$ ), while carbon-carbon composite showed strong negative correlation ( $r = 0.734$ ).

Porównywane grupy Compared groups	Wymiar najkrótszy Breadth	Obliczona szerokość Curve width	Współczynnik wypełnienia Fullness factor	Średni stopień szarości Mean grey level
C-C-Ep-HAP versus C-C-HAP	0.15	0.01	0.3	0.8
C-C-Ep-HAP versus C-Cp-HAP	0.62	0.062	0.3	0.000001
C-C-Ep-HAP versus C-C	0.002	0.00021	0.009	0.0001
C-C-HAP versus C-Cp-HAP	0.55	0.065	0.3	0.0001
C-C-HAP versus C-C	0.01	0.009	0.012	0.000002
C-Cp-HAP versus C-C	0.015	0.0006	0.3	0.0003

TABELA 2. Porównanie wartości morfometrycznych włókien kompozytów węglowych implantowanych śródkostnie królikom po 22 tygodniach.  
TABLE 2. The comparison of morphometric values of fibres in carbon composites implanted into bones in rabbits after 22 weeks.

Parametr Parameter	Biomateriał Biomaterial							
	C-C-Ep-HAP		C-C-HAP		C-Cp-HAP		C-C	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
Wymiar najkrótszy Breadth	-0.464	$10^{-9}$	-0.038	0.33	0.064	0.38	-0.015	0.98
Obliczona szerokość Curve width	-0.369	$10^{-6}$	-0.052	0.19	0.083	0.25	-0.580	0.56
Współczynnik wypełnienia Fullness factor	0.419	$10^{-9}$	0.059	0.14	-0.056	0.45	-0.734	0.46

TABELA 3. Korelacja średniego stopnia szarości z wartościami morfometrycznymi włókien kompozytów węglowych implantowanych śródkostnie królikom po 22 tygodniach.  
TABLE 3. Correlation of mean grey level with other morphometric values of fibres in carbon composites implanted into bones in rabbits after 22 weeks.

Wyniki zestawiono w TABELACH(1-3). Wymiar najkrótszy i obliczona szerokość posiadały najmniejszy zakres zmienności i wartość przeciętną (medianę) w grupie kompozytu z osnową epoksydową, największą w grupie kompozytu węgiel-węgiel. Współczynnik wypełnienia bliski jedności wskazywał na najmniej wżerów resorpcyjnych w przypadku zastosowania osnowy epoksydowej, największą zaś w przypadku kompozytu węgiel-węgiel. Grupa z osnową epoksydową i HAP oraz grupa z HAP cechowały się mniejszą gęstością optyczną, w porównaniu z kompozytem C-C lub C-Cp-HAP. Dodatek pirowęgla w kompozycie CCp-HAP pomimo zwiększenia gęstości nie wpływał na szerokość włókien. Współczynnik wypełnienia wskazywał na najmniejszą ilość nieregularności obwodu w grupie C-C-Ep-HAP, największą w grupie C-C. Średni stopień szarości, odzwierciedlający gęstość biomateriału wykazywał istotną i silną korelację z współczynnikiem wypełnienia jedynie w grupach C-C-Ep-HAP oraz C-C. Biomateriały z osnową epoksydową charakteryzowały się korelacją dodatnią ( $r = 0,419$ ), z kolei kompozyt węgiel-węgiel ujawniał silną korelację ujemną ( $r = -0,734$ ).

## Dyskusja

Dwudziestodwutygodniowa obserwacja implantowanych śródszpikowo modyfikowanych biomateriałów węglowych wskazała na podobieństwa jak i różnice w obrębie parametrów morfometrycznych. Zarówno wymiar najkrótszy jak i obliczona szerokość włókien węglowych modyfikowanych warstwa epoksydową i HAP, pirowęgłem i HAP, samym HAP posiadały blisko dwukrotnie mniejszą wartość niż włókna kompozytu niemodyfikowanego (C-C). Podobną zależność wykazywał współczynnik wypełnienia, aczkolwiek podobnie do kompozytu C-C zachowywał się C-C-HAP. Wyniki badań morfometrycznych w znacznej mierze odpowiadają wcześniejszym obserwacjom w mikroskopie skaningowym [1]. Najmniejszą liczbę nierówności, wżerów wykazywał C-C-Ep-HAP, co znajduje odzwierciedlenie w cytowanych badaniach [1] Zwraca uwagę fakt, że stosunkowo "wąskie" włókna węglowe modyfikowanych kompozytów, za wyjątkiem C-Cp-HAP posiadały niższą gęstość optyczną niż włókna szersze, niemodyfikowane kompozytu C-C. W porównaniu z włókniną implantowana w ubytki kości gąbczastej zaobserwowano że wszystkie rodzaje włókien implantowanych śródszpikowo, w oś kości długiej wykazują mniejszą gęstość optyczną [2]. Odpowiada to obserwowanemu wcześniej rozpułchnieniu włókien węglowych [3]. Z kolei wymiar najkrótszy i szerokość włókien implantowanych śródszpikowo wykazują wartości blisko pięciokrotnie mniejsze niż włóknina węglowa implantowana w ubytki kostne w analogicznym okresie czasu.[4] Wyniki poprzednich badań [3] mogą sugerować, że znaczne zmniejszenie szerokości włókien węglowych niezależnie od ich modyfikacji może być skutkiem uciśnięcia przez nowo wytwarzającą się tkankę kostną obrastającą implant, to z kolei może warunkować powstawanie nieregularności obwodu.

## Wniosek

Zastosowanie osnowy epoksydowej kompozytu węgiel-węgiel HAP poprawia charakterystykę jego biodegradacji.

## Discussion

Twenty-two-week observation of the modified carbon biomaterials implanted into bone showed indicated both similarities and differences within morphometric parameters. Both the breadth and curve width of the carbon fibres modified with a thin epoxide wrap and HAP, pyrocarbon and HAP, sole HAP had two times lower value than the fibres of unmodified composite (C-C). Similar relation occurred in filling coefficient, however C-C-HAP behaved similarly to C-C-HAP. The results of morphometric studies respond in great extend to earlier observations in a scanning microscope [1]. The smallest number of irregularities, corrosion pits was present in C-C-Ep-HAP, which is reflected in the quoted studies. [1]. The attention drawing fact was that relatively "narrow" carbon fibres of the modified composites, except for C-Cp-HAP had lower optical density than the broader, unmodified fibres of C-C composite. In comparison with the fibrous material implanted into defects in spongy bone, it was observed that that all kinds of fibres implanted into bone, in the axis of long bone show lower optic density [2]. It answers the earlier observed softening of carbon fibres [3]. Next, the breadth and curve width of the fibres implanted into bone show almost five times smaller values than carbon fibre implanted into experimental bone defects in a similar period of time [4]. The results of previous studies [3] can imply that significant decrease in carbon fibre width irrespective of their modifications can be an effect of compression by newly developed bone tissue growing around the implant, which can create irregularities of the circumference.

## Conclusion

Application of the epoxide wrap of the carbon-carbon HAP composite improves the profile of biodegradation.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Bajor G., Błażewicz M., Bohosiewicz J., Chłopek J., Stoch A.: "Badania powierzchni kompozytów węglowych pokrytych hydroksyapatytem po implantacji" Inżynieria Biomateriałów 1998; 3: 21-27.
- [2] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrowka K., Cieślik T., Szczurek Z.: "Analiza średniego stopnia szarości w procesie biodegradacji włókien węglowych" Inżynieria Biomateriałów 2002; 20: 15-20.
- [3] Bajor G., Paszenda Z., Bohosiewicz J., Marciniak J.: "Badania kompozytu węglowego w mikroskopie skaningowym po wszczepieniu do tkanki kostnej zwierząt". Inżynieria Biomateriałów 1999; 7-8: 37-43.
- [4] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrowka K., Cieślik T., Szczurek Z.: "Statystyczna analiza parametrów geometrycznych włókien węglowych użytych do wypełnień ubytków tkanki kostnej" Inżynieria Biomateriałów 2002; 20: 21-29.

# CHARAKTERYSTYKA MORFOMETRYCZNA WŁÓKIEN WĘGLOWYCH KOMPOZYTÓW WĘGLO- WYCH ZAWIERAJĄCYCH PIROWĘGIEL I HYDRO- KSYAPATYT, IMPLANTO- WANYCH ŚRÓDKOSTNIE KRÓLIKOM PO OKRESIE 22 TYGODNIOWYM

GRZEGORZ BAJOR\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*, EWA ZEMBALA-  
NOŻYŃSKA\*\*\*, WOJCIECH ŚCIERSKI\*\*\*\*, ADAM GRZYBOWSKI\*\*,  
TOMASZ MĘCIK\*\*\*

\*KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII DZIECIĘCEJ ŚLĄSKIEJ AKADEMII  
MEDYCZNEJ W KATOWICACH

\*\*ŚLĄSKIE CENTRUM CHOROÓB SERCA W ZABRZU

\*\*\*KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII W ZABRZU ŚLĄSKIEJ  
AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH

\*\*\*\*KATEDRA I KLINIKA OTOLARYNGOLOGII W ZABRZU ŚLĄSKIEJ  
AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH

## Wprowadzenie

Objawem niepożądanym implantów z metali i ich sto-  
pów jest występowanie metalozy, czyli odczynu osteolitycz-  
nego wokół materiału zespalającego, jak również zjawisk  
tzw. przesztywnienia. Konieczność usuwania materiału ze-  
spalającego po wygojeniu złamania staje się, zwłaszcza w  
traumatologii dziecięcej, elementem inspirującym do dal-  
szych badań i poszukiwań materiału, który mógłby ulec bio-  
degradacji. Celem pracy była ocena degradacji tworzyw  
kompozytowych wzmacnianych włóknami węglowymi i  
pokrywanych hydroksyapatytem i pirowęgłem.

## Materiał i metodyka

Wykonano śródszpikową implantację królikom sztyftów  
będących implantami kompozytów węglowych zawierają-  
cych pirowęgiel i hydroksyapatyt naniesione elektroforetycz-  
nie na powierzchnię włókien. Po 4, 12 i 22 tygodniu zwie-  
rzęta usypiano, zaś z fragmentów kości i implantu wykony-  
wano preparaty histologiczne, które analizowano wykorzy-  
stując system analizy obrazu Quantimet Leica. Oceniono  
morfometrycznie: wymiar najkrótszy odpowiadający szeroko-  
ści włókien węglowych, 2. obliczoną szerokość włókien  
węglowych, 3. współczynnik wypełnienia, 4. średni stopień  
szarości odzwierciedlający gęstość materiału - gęstość  
optyczną. Wyniki opracowano statystycznie.

## Wyniki

Wyniki zestawiono w TAB. 1, zaś wzajemne porównania  
grup w TAB. 2. Dodatkowo oceniono korelację średniego  
stopnia szarości włókien z parametrami morfometrycznymi

# MORPHOMETRIC PROFILE OF CARBON FIBRES IN CARBON COMPOSITES COVERED WITH PYROCARBON AND HYDROXYAPATITE, IMPLANTED INTO THE BONES/BONE MARROW OF RABBITS, AFTER 22 WEEKS

GRZEGORZ BAJOR\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*, EWA ZEMBALA-  
NOŻYŃSKA\*\*\*, WOJCIECH ŚCIERSKI\*\*\*\*, ADAM GRZYBOWSKI\*\*,  
TOMASZ MĘCIK\*\*\*

\*CHAIR AND CLINIC OF PEDIATRIC SURGERY, SILESIA MEDICAL  
UNIVERSITY IN KATOWICE, POLAND

\*\*SILESIA CENTER FOR HEART DISEASES, ZABRZE, POLAND,

\*\*\*CHAIR AND DEPARTMENT OF PATHOMORPHOLOGY, SILESIA  
MEDICAL UNIVERSITY IN KATOWICE, ZABRZE, POLAND

\*\*\*\*CHAIR AND DEPARTMENT OF OTORHINOLARYNGOLOGY,  
SILESIA MEDICAL UNIVERSITY IN KATOWICE, ZABRZE, POLAND

## Introduction

Undesirable symptom of metal and alloy implants is  
metalosis i.e. osteolytic reaction around anastomosing  
material, and also a phenomenon called 'overstiffening'. A  
necessity of anastomosing material removal after recovery  
has become, especially in pediatric surgery, an element  
inspiring to further studies and research for a material which  
would be biodegradable. The aim of the study was an evalu-  
ation of degradation of composite materials reinforced with  
carbon fibres covered with hydroxyapatite and pyrocarbon.

## Material and methods

Implantation of pins into rabbit's bone marrow was per-  
formed. The pins were implants of carbon fibre composite  
covered with pyrocarbon electrolytically with hydroxyapate-  
rite (C-Cp-HAP). After 4, 12, and 22 weeks the animals were  
sacrificed under general anaesthesia, then bone and im-  
plant fragments were routinely histologically processed for  
further microscopical image analysis with Quantimet Leica.  
This analysis included: 1. the breadth responding to the  
shortest diameter of carbon fibres, 2. curve length of car-  
bon fibres, 3. fullness factor coefficient, 4. mean gray level  
reflecting density of the material - optic density. The results  
were analyzed statistically.

## Results

The results are compared in TAB. 1 and the groups are  
contrasted in TAB.2. Additionally, correlation of mean gray  
degree with morphometric parameters and observation time  
are evaluated. (TAB. 3 and 4).

Tydzień implantacji Implantation week	Liczba Number	Mediana Median	Minimum	Maksimum Maximum	Kwartył dolny Lower quartile	Kwartył górny Upper quartile
Wymiar najkrótszy / Breadth						
22	193	1.923	0.385	41.154	0.769	5.385
12	465	3.077	0.385	115	1.154	9.231
4	177	1.923	0.385	72.308	1.154	6.923
Obliczona szerokość / Curve width						
22	194	1.154	0.385	10.385	0.769	2.692
12	466	1.923	0.385	13.846	0.769	5
4	178	1.346	0.385	12.692	0.769	3.462
Współczynnik wypełnienia / Fullness factor						
22	194	0.938	0.604	1.371	0.818	1.061
12	466	0.91	0.526	1.371	0.804	1.034
4	178	0.915	0.424	1.371	0.824	1.057
Średni stopień szarości / Mean grey level						
22	194	39.0805	19.909	57.943	33.23	43.784
12	466	39.6215	20.545	57.4	36.111	44.168
4	178	46.398	28.6	59.9	41.025	51.625

**TABELA 1.** Charakterystyka morfometryczna procesu biodegradacji włókien kompozytów węgiel-węgiel-pirowęgiel-hydroksyapatyt w okresie 22 tygodni.

**TABLE 1.** Morphometric characteristics of the biodegradation process of the fibres in carbon-carbon-pyrcarbon-hydroxyapatite composite in 22 week.

Porównywane tygodnie Compared weeks	Wartość Value			
	Wymiar najkrótszy Breadth	Obliczona szerokość Curve width	Współczynnik wypełnienia Fullness factor	Średni stopień szarości Mean grey level
4 tydzień versus 12 tydzień 4 <sup>th</sup> week versus 12 <sup>th</sup> week	0.067	0.02	0.55	0.000001
12 tydzień versus 22 tydzień 12 <sup>th</sup> week versus 22 <sup>nd</sup> week	0.04	0.001	0.24	0.000001

**TABELA 2.** Porównanie wartości morfometrycznych kompozytu węgiel-węgiel-pirowęgiel - hydroksyapatyt implantowanych śródtkostnie królikom.

**TABLE 2.** The comparison of morphometric values of the fibres of carbon-carbon-pyrcarbon-hydroxyapatite composite implanted into bones in rabbits.

The breadth showed initially significant increase of mean value, then significant decrease of value followed, curve width of carbon fibres behaved in a similar way. Fullness factor indicated a disclosure of the most distinctive resorptive pits, irregularities in the 4th and 12th weeks of implantation, however the fluctuations were statistically significant. Mean gray degree showed progressive and significant decrease of mean value.

Tydzień implantacji Week of implantation	Wartość Value					
	Wymiar najkrótszy Breadth		Obliczona szerokość Curve width		Współczynnik wypełnienia Fullness factor	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
4 tydzień 4 <sup>th</sup> week	-0.293	0.00001	-0.228	0.002	0.319	0.000001
12 tydzień 12 <sup>th</sup> week	-0.202	0.000001	-0.211	0.00004	0.154	0.001
22 tydzień 22 <sup>nd</sup> week	0.235	0.001	0.221	0.001	-0.154	0.03

**TABELA 3.** Korelacja średniego stopnia szarości z wartościami morfometrycznymi włókien kompozytu węgiel-węgiel-pirowęgiel-hydroksyapatyt implantowanych śródtkostnie królikom.

**TABLE 3.** Correlation of the mean grey level with morphometric values of the fibres of carbon-carbon-pyrcarbon-hydroxyapatite composite implanted into bones in rabbits.

i czasem obserwacji (TAB. 3 i 4).

Wymiar najkrótszy wykazywał początkowo istotny wzrost wartości przeciętnej, po czym następował znamieny spadek wartości. Podobnie zachowywała się obliczona szerokość.

## Discussion

Carbon fibre disintegration of the studied composites showed slightly different fluctuations of composite fiber lin-



Wymiar najkrótszy Breadth		Obliczona szerokość Curve width		Współczynnik wypełnienia Fullness factor		Średni stopień szarości Mean grey level	
Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
-0.044	019	-0.069	0.045	0.017	0.62	-0.31	10 <sup>-6</sup>

**TABELA 4. Korelacja czasu obserwacji z wartościami morfometrycznymi włókien kompozytu węgiel-węgiel-pirowęgiel-hydroksyapatyt implantowanych śródkostnie królikom.**

**TABLE 4. The correlation of the time of implantation with the morphometric values of the fibres of carbon-carbon-pyrocarbon-hydroxyapatite composite implanted into bones in rabbits.**

kość włókien węglowych. Współczynnik wypełnienia wskazywał na ujawnianie się najwyraźniejszych wżerów resorpcyjnych w 4 i 12 tygodniu implantacji, aczkolwiek wahania nie były znamienne statystycznie. Średni stopień szarości ujawniał postępujący i znamieny spadek wartości przeciętnej.

## Dyskusja

Rozpad włókien węglowych badanych kompozytów wykazywał nieco odmienne od zaobserwowanych w poprzednich badaniach wahania wymiarów liniowych włókien kompozytu [1, 2, 3]. Wymiar poprzeczny włókien wykazywał wzrost i ostatecznie spadek wymiaru najkrótszego jak również obliczonej szerokości do wartości wyjściowych. Nie obserwowano pojawienia się wyraźnych wżerów resorpcyjnych gdyż współczynnik wypełnienia ujawniał nieistotne wahania. Spadek średniego stopnia szarości sugerował zagęszczanie się struktury włókna. Dochodziło więc do zagęszczenia struktury włókien przy zachowaniu wymiaru poprzecznego oraz nieistotnym spadku liczby wżerów resorpcyjnych. Biodegradacja zbliżonej chemicznie włókniny węglowej pokrytej pirowęgłem i implantowanej w ubytki żuchwy wykazywała w zbliżonych okresach obserwacyjnych postępujący i blisko dwukrotny spadek wymiaru poprzecznego włókien, przy mniejszej nieregularności obwodu jak również przy rozluźnianiu a nie zagęszczaniu struktury włókien - wzroście stopnia szarości czyli spadku gęstości optycznej [2, 3]. Odmienności w szybkości biodegradacji badanego kompozytu od włókniny węglowej pokrytej pirowęgłem ilustruje współczynnik korelacji, wykazujący w przypadku włókniny węglowej korelację dodatnią i blisko dwukrotnie mniejszą wartość bezwzględną podczas gdy w przypadku kompozytu C-Cp-HAP korelacja jest silniejsza i ma charakter ujemny. Być może iż poza czynnikami tkankowymi oraz pracą mechaniczną istotną rolę odgrywa elektrolitycznie naniesiony hydroksyapatyt, przyspieszający uwapnianie tkanki kostnej obrastającej implant.

## Wniosek

Proces biodegradacji włókien węglowych pokrytych pirowęgłem i hydroksyapatytem jest odmienny od innych kompozytów węglowych. Nie powoduje wyraźnego zmniejszenia wymiaru poprzecznego włókien, przy czym dochodzi do zagęszczenia ich struktury wewnętrznej i spadku ilości wżerów. Wydaje się że za powyższe zjawisko odpowiedzialna jest warstwa hydroksyapatytu.

ear dimensions (breadth and curve width) than in the previous studies [1, 2, 3]. Transverse fiber dimension showed an increase and finally a decrease of the breadth and curve width value from the initial values. Distinct resorptive pits were not observed since filling coefficient disclosed insignificant fluctuations. A decrease of mean grey level suggested a densification in fibre structure. So the fibre structure thickened with the preserved transverse breadth and insignificant decrease of number of resorptive pits. Biodegradation of the chemically similar carbon fibre covered with pyrocarbon and the implanted in the mandible showed, in parallel observation periods, progressive and almost double decrease of the transverse fibre dimensions, with the smaller circumference irregularity and with loosening, not thickening, of fibre structure, an increase of grey level, which means a decrease of optical density [2, 3] The differences in biodegradation rate of the studied composite from carbon fibre covered with pyrocarbon are illustrated with correlation coefficient showing in case of carbon fibre positive correlation and absolute value two time smaller, while, in case of C-Cp-HAP composite, correlation is stronger and of negative profile. An electrolytically applied hydroxyapatite, enhancing calcification of newly formed bone tissue growing around an implant, might have an essential role besides tissue factors and mechanical work.

## Conclusion

Biodegradation process of carbon fibres covered with pyrocarbon and hydroxyapatite is different from other carbon composites. It does not cause clear reduction of fibre transverse breadth with their inner structure thickened and a decrease of pit number. It seems that a layer of hydroxyapatite is responsible for this phenomenon.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Bajor G., Paszcenda Z., Bohosiewicz J., Marciniak J.: "Badania kompozytu węglowego w mikroskopie skaningowym po wszczepieniu do tkanki kostnej zwierząt". Inżynieria Biomateriałów 1999; 7-8: 37-43.
- [2] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrowka K., Cieślak T., Szczurek Z.: "Analiza średniego stopnia szarości w procesie biodegradacji włókien węglowych" Inżynieria Biomateriałów 2002; 20: 15-20.
- [3] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrowka K., Cieślak T., Szczurek Z.: "Statystyczna analiza parametrów geometrycznych włókien węglowych użytych do wypełnień ubytków tkanki kostnej" Inżynieria Biomateriałów 2002; 20: 21-29.

# OCENA MORFOMETRYCZNA PROCESU BIODEGRADACJI WŁÓKIEN WĘGLOWYCH KOMPOZYTÓW WĘGIEL-WĘGIEL W 22 TYGODNIOWYM OKRESIE OBSERWACJI

JERZY NOŻYŃSKI\*, EWA ZEMBALA-NOŻYŃSKA\*\*, GRZEGORZ BAJOR\*\*\*, WOJCIECH ŚCIERSKI\*\*\*\*, ADAM GRZYBOWSKI\*, TOMASZ MĘCIK\*\*

\*ŚLĄSKIE CENTRUM CHOROŃ SERCA W ZABRZU

\*\*KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII W ZABRZU ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH

\*\*\*KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII DZIECIĘCEJ ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH

\*\*\*\*KATEDRA I KLINIKA OTOLARYNGOLOGII W ZABRZU ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH

## Wprowadzenie

Rozwój badań doświadczalnych i klinicznych w ortopedii i traumatologii dorosłych nad możliwościami stosowania nowych biomateriałów stworzył perspektywy także dla chirurgii dziecięcej. Pozytywne wyniki doświadczalne dotyczące implantów węglowych zachęcają do stosowania podobnych kompozytów ale o poprawionych właściwościach mechanicznych. Kompozyt węgiel-węgiel (CFRC-carbon fibre reinforced carbon), czyli kompozyt w osnowie węglowej wzmocniony włóknami węglowymi, wyróżnia się licznymi korzystnymi właściwościami fizycznymi i biogodnością. Nadane cechy umożliwiają pokonywanie barier materiałowych w wielu dziedzinach medycyny. Celem badania miało być morfometryczne scharakteryzowanie procesu biodegradacji implantowanego śródszpikowo sztyftu z kompozytu C-C.

## Materiał i metodyka

Wykonano śródszpikowe wszczepienie królikom sztyftów będących implantami kompozytu włókna węglowego (C-C). Po 2, 4, 14, 18, 20 i 22 tygodniu zwierzęta usypiano, zaś z fragmentów kości i implantu wykonywano preparaty histologiczne, które analizowano wykorzystując system analizy obrazu Quantimet Leica. Oceniono morfometrycznie: 1. wymiar najkrótszy odpowiadający szerokości włókien węglowych, 2. obliczoną szerokość włókien węglowych, 3. współczynnik wypełnienia, 4. średni stopień szarości odzwierciedlający gęstość materiału - gęstość optyczną. Wyniki opracowano statystycznie.

## Wyniki

Wyniki zestawiono w TAB. 1-4. Wymiar najkrótszy wykazywał początkowo nieistotny spadek wartości przeciętnej, po czym następował znamieny wzrost a następnie spadek wartości i w kolejnych okresach niezamienny wzrost. Podobnie zachowywała się obliczona szerokość włókien

# THE MORPHOMETRIC EVALUATION OF BIODEGRADATION PROCESS OF THE FIBRES OF CARBON-CARBON COMPOSITE IN THE 22ND WEEK OF OBSERVATION

JERZY NOŻYŃSKI\*, EWA ZEMBALA-NOŻYŃSKA\*\*, GRZEGORZ BAJOR\*\*\*, WOJCIECH ŚCIERSKI\*\*\*\*, ADAM GRZYBOWSKI\*, TOMASZ MĘCIK\*\*

\*SILESIA CENTER FOR HEART DISEASES, ZABRZE, POLAND,

\*\*CHAIR AND DEPARTMENT OF PATHOMORPHOLOGY, SILESIA MEDICAL UNIVERSITY IN KATOWICE, ZABRZE, POLAND

\*\*\*CHAIR AND CLINIC OF PEDIATRIC SURGERY, SILESIA MEDICAL UNIVERSITY IN KATOWICE, POLAND

\*\*\*\*CHAIR AND DEPARTMENT OF OTORHINOLARYNGOLOGY, SILESIA MEDICAL UNIVERSITY IN KATOWICE, ZABRZE, POLAND

## Introduction

Development of experimental and clinical studies in adult orthopedics and traumatology on the possibilities of applying new biomaterials created perspectives for pediatric surgery. Positive experimental results including carbon implants encourage to use similar composites with the improved mechanical properties. Carbon-carbon composite (CFRC-carbon fibre reinforced carbon), i.e. composite in a carbon wrap reinforced with carbon fibres, shows numerous advantageous physical properties and biocompatibility. These features enable to overcome material barriers in many branches of medicine. The aim of the study was to define morphometrically biodegradation process of the pin, made of C-C composite, implanted into bone.

## Materials and methods

Implantation of pins into rabbit's bone marrow was performed. The pins were implants of carbon fibre composite (C-C). After 2, 4, 14, 18, 20 and 22 weeks the animals were sacrificed under general anaesthesia, then bone and implant fragments were routinely histologically processed for further microscopical image analysis with Quantimet Leica. This analysis included: 1. the breadth responding to the shortest diameter of carbon fibres, 2. curve length of carbon fibres, 3. fullness factor coefficient, 4. mean gray level reflecting density of the material - optic density. The results were analyzed statistically.

## Results

The results are compared in TAB. 1-4. The breadth showed initially insignificant decrease of mean value, then significant increase and next decrease of value and in the subsequent periods insignificant increase. The curve width of carbon fibres behaved similarly. Fullness factor indicated a disclosure of the most distinct resorptive pits in the 14th and 22nd week of the implantation, however, fluctuations

Tydzień implantacji	Liczba	Mediana	Minimum	Maksimum	Kwartył dolny	Kwartył górny
Implantation week	Number	Median	Minimum	Maximum	Lower quartile	Upper quartile
Wymiar najkrótszy / Breadth						
22	128	3.462	0.385	75.385	0.769	8.270
20	124	2.308	0.385	42.308	0.769	5.769
18	463	1.538	0.385	83.461	0.769	5.769
14	197	2.308	0.385	50.000	1.154	7.308
4	256	1.538	0.385	64.231	0.769	4.231
2	1316	1.923	0.385	90.385	0.769	4.615
Obliczona szerokość / Curve width						
22	129	2.308	0.385	17.692	0.769	5.385
20	128	1.538	0.385	16.538	0.769	3.077
18	465	1.154	0.385	15.769	0.769	3.077
14	199	1.923	0.385	15.000	0.769	4.231
4	257	1.154	0.385	15.000	0.769	2.308
2	1317	1.538	0.385	29.231	0.769	2.692
Współczynnik wypełnienia / Fullness factor						
22	129	0.908	0.591	1.250	0.808	1.015
20	128	0.918	0.597	1.371	0.821	1.0595
18	465	0.933	0.565	1.371	0.831	1.062
14	199	0.926	0.593	1.371	0.838	1.029
4	257	0.950	0.542	1.371	0.857	1.059
2	1317	0.954	0.505	1.371	0.856	1.059
Średni stopień szarości / Mean grey level						
22	129	42.555	18.333	54.777	38.865	46.037
20	128	47.173	25.500	58.800	42.449	51.979
18	465	39.600	19.250	57.500	35.370	45.318
14	199	43.276	19.500	58.000	38.750	48.222
4	257	43.300	19.600	58.800	39.200	48.217
2	1317	44.551	21.062	62.000	40.130	50.071

TABELA 1. Charakterystyka morfometryczna procesu biodegradacji włókien węglowych kompozytów węgiel-węgiel.

TABLE 1. Morphometric characteristics of the biodegradation process of the fibres of carbon-carbon composite in subsequent weeks.

węglowych. Współczynnik wypełnienia wskazywał na ujawnianie się najwyraźniejszych wizerów resorpcyjnych w 14 i 22 tygodniu implantacji, aczkolwiek wahania nie były istotnie statystycznie. Gęstość optyczna ujawniała stopniowy spadek wartości przeciętnej w 18 tygodniu, po czym następował wyraźny jej wzrost i ostatecznie spadek. Analiza korelacji gęstości optycznej z parametrami morfometrycznymi wykazała istotną korelację ujemną z wymiarem najkrótszym oraz obliczoną szerokością włókien, najsilniejsze począwszy od 14 tygodnia obserwacji. Z kolei współczynnik wypełnienia ujawniał korelację dodatnią, najsilniejszą w 14 i 22 tygodniu. Korelacja mierzonych parametrów z czasem wskazywała na najsilniejszą i ujemną korelację z wymiarem najkrótszym, najsłabszą zaś z współczynnikiem wypełnienia.

## Dyskusja

Biodegradacja kompozytów węgiel-węgiel wykazywała zbliżone do zaobserwowanych w poprzednich badaniach wahania wymiarów liniowych włókien kompozytu [1, 2, 3, 4, 5]. Włókna wykazywały spadek i wzrost wymiaru najkrót-

Porównywane tygodnie Compared weeks	Wartość Value			
	Wymiar najkrótszy Breadth	Obliczona szerokość Curve width	Współczynnik wypełnienia Fullness factor	Średni stopień szarości Mean grey level
2 tygodnie versus 4 tygodnie 2 <sup>nd</sup> week versus 4 <sup>th</sup> week	0.70	0.329	0.61	0.006
4 tygodnie versus 14 tygodni 4 <sup>th</sup> week versus 14 <sup>th</sup> week	0.0046	0.002	0.089	0.67
14 tygodni versus 18 tygodni 14 <sup>th</sup> week versus 18 <sup>th</sup> week	0.015	0.0056	0.33	0.000001
18 tygodni versus 20 tygodni 18 <sup>th</sup> week versus 20 <sup>th</sup> week	0.39	0.26	0.46	0.000001
20 tygodni versus 22 tygodni 20 <sup>th</sup> week versus 22 <sup>nd</sup> week	0.086	0.071	0.52	0.000001

TABELA 2. Porównanie wartości morfometrycznych kompozytu węgiel-węgiel implantowanych śródkostnie królikom.

TABLE 2. The comparison of morphometric values of the fibres of carbon-carbon composite implanted into bones in rabbits.

were not statistically significant. Optical density showed gradual increase and finally, a decrease. Analysis of optical density correlation with morphometric parameters showed significant negative correlation with the shortest breadth and calculated fiber width, the strongest starting from the 14th week of observation. Then, fullness disclosed positive correlation, the strongest in the 14th and 22nd week. Correlation of the measured parameters, with the time, indicated the strongest and negative correlation with the breadth, the weakest with fullness.

## Discussion

Carbon-carbon composite biodegradation showed similar fluctuations, noticed in the previous studies, to the linear breadths of composite fibres [1, 2, 3, 4, 5]. Fibres demonstrated a decrease and increase of both the breadth and the curve width with accompanying decrease of fullness factor. Mean grey level was falling till the 18th week, afterwards its clear increase and then decrease were observed. Therefore irregularities of the fiber circumference in the form of resorptive pits were being created constantly as well as eighteen-week concentration of fiber inner structure despite fluctuations in its width. Similar observations were made

Tydzień implantacji Week of implantation	Wartość Value					
	Wymiar najkrótszy Breadth		Obliczona szerokość Curve width		Współczynnik wypełnienia Fullness factor	
	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
2 tydzień 2 <sup>nd</sup> week	-0.008	0.75	0.012	0.65	0.003	0.90
4 tydzień 4 <sup>th</sup> week	-0.109	0.08	-0.117	0.65	0.08	0.18
14 tydzień 14 <sup>th</sup> week	-0.303	0.000001	-0.312	0.000001	0.256	0.0002
18 tydzień 18 <sup>th</sup> week	-0.307	0.00007	-0.233	0.000001	0.154	0.001
20 tydzień 20 <sup>th</sup> week	-0.246	0.005	-0.221	0.01	0.202	0.02
22 tygodnie 22 <sup>nd</sup> week	-0.293	0.001	-0.286	0.001	0.2776	0.001

**TABELA 3. Korelacja średniego stopnia szarości z wartościami morfometrycznymi włókien kompozytu węgiel-węgiel implantowanych śródmostnie królikom.**  
**TABLE 3. Correlation of the mean grey level with morphometric values of the fibres of carbon-carbon composite implanted into bones in rabbits.**

szego jak również obliczonej szerokości z towarzyszącym postępującym spadkiem współczynnika wypełnienia. Średni stopień szarości malał aż do 18 tygodnia, po czym zaobserwowano wyraźny jego wzrost a następnie spadek. Dochodziło więc do stałego postępu w powstawaniu nieregularności obwodu włókien w postaci wżerów resorpcyjnych, oraz osiemnastotygodniowego zagęszczania struktury wewnętrznej włókien pomimo wahań ich szerokości. Podobne obserwacje poczyniono analizując biodegradację nici węglowej czy włókniny węglowej. [2,3,4,5]. Porównanie wartości geometrycznych włókien kompozytu C-C wskazuje na wartości, wynikające zapewne z uciskiem wrastającej w kompozyt kości i odmiennych biochemicznych warunków lokalnych

## Wniosek

Proces biodegradacji włókien węglowych prowadzi do stopniowego spadku ich grubości, pojawiania się wżerów resorpcyjnych oraz naprzemiennego zagęszczania i rozluźniania ich struktury.

Wymiar najkrótszy Breadth		Obliczona szerokość Curvewidth		Współczynnik wypełnienia Fullness factor		Średni stopień szarości Mean grey level	
Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
-0.164	10 <sup>6</sup>	0.064	10 <sup>3</sup>	0.045	0.02	-0.07	10 <sup>3</sup>

**TABELA 4. Korelacja czasu obserwacji z wartościami morfometrycznymi włókien kompozytu węgiel-węgiel implantowanych śródmostnie królikom.**

**TABLE 4. The correlation of the time of implantation with the morphometric values of the fibres of carbon-carbon composite implanted into bones in rabbits.**

while analyzing carbon thread or carbon fibre biodegradation [2, 3, 4, 5]. Comparison of geometric values of C-C composite fibres indicates the values resulting from the constriction of a bone growing into composite and different biochemical local conditions.

## Conclusion

Biodegradation process of carbon fibres leads to gradual decrease of their thickness; resorptive pits creation and alternating concentration and loosening of their structure.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Bajor G., Paszenda Z., Bohosiewicz J., Marciniak J.: "Badania kompozytu węglowego w mikroskopie skaningowym po wszczepieniu do tkanki kostnej zwierząt". Inżynieria Biomateriałów 1999; 7-8: 37-43.
- [2] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrowka K., Cieślak T., Szczurek Z.: "Analiza średniego stopnia szarości w procesie biodegradacji włókien węglowych" Inżynieria Biomateriałów 2002; 20: 15-20.
- [3] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrowka K., Cieślak T., Szczurek Z.: "Statystyczna analiza parametrów geometrycznych włókien węglowych użytych do wypełnień ubytków tkanki kostnej" Inżynieria Biomateriałów 2002; 20: 21-29.
- [4] Dąbrowka K., Zembala-Nożyńska E., Nożyński J.K., Cieślak T.: "Zachowanie się wartości geometrycznych nici węglowej w procesie biodegradacji" Inżynieria Biomateriałów, 2002; 21: 15-22.
- [5] Dąbrowka K., Nożyński J., Zembala-Nożyńska E., Błażewicz S.: Średni stopień szarości - obiektywny parametr biodegradacji włókien węglowych. Inżynieria Biomateriałów (2001), 13, 3-8.

# OCENA MORFOMETRYCZNA PROCESU BIODEGRADACJI WŁÓKIEN WĘGLOWYCH KOMPOZYTÓW WĘGIEL-OSNOWA EPOKSYDOWA HYDROKSYAPATYT W 22 TYGODNIOWYM OKRESIE OBSERWACJI

EWA ZEMBALA-NOŻYŃSKA\*, GRZEGORZ BAJOR\*\*,  
JERZY NOŻYŃSKI\*\*\*, WOJCIECH ŚCIERSKI\*\*\*\*,  
ADAM GRZYBOWSKI\*\*\*, DANIEL SABAT\*

\*KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII W ZABRZU ŚLĄSKIEJ  
AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH  
\*\*KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII DZIECIĘCEJ ŚLĄSKIEJ AKADEMII  
MEDYCZNEJ W KATOWICACH  
\*\*\*ŚLĄSKIE CENTRUM CHOROÓB SERCA W ZABRZU  
\*\*\*\*KATEDRA I KLINIKA OTOLARYNGOLOGII W ZABRZU ŚLĄSKIEJ  
AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH

## Wprowadzenie

W ostatnich dziesięcioleciach opracowano biomateriały ulegające biodegradacji. Materiały te nie wymagają powtórzonego zabiegu operacyjnego celem usunięcia wykonanych z nich elementów zespalających, w przeciwieństwie do dotychczas stosowanych w chirurgii i traumatologii elementów metalowych. Wcześniej prowadzone badania nad implantacją kompozytów węgiel-węgiel prócz szeregu ich zalet, wykazały także wady w postaci dużej kruchości, łamliwości. Próba pokonania tych cech kompozytu jest wprowadzenie włókien węglowych do odpowiedniej osnowy stanowiącej element wzmacniający. Efektem jest wytworzenie kompozytu włókno węglowe-polimer, posiadające elastyczność i tolerancję w ludzkim organizmie. Polimerem tworzącym osnowę jest żywica epoksydowa należąca do materiałów termoutwardzalnych. Dodatkowe pokrycie takiego implantu hydroksyapatytem odgrywa korzystny wpływ na przyspieszenie zdolności do bezpośredniego łączenia się z tkanką kostną [1]. Celem badania jest morfometryczne prześledzenie biodegradacji w różnych okresach czasu kompozytu węgiel-węgiel-osnowa epoksydowa-hydroksyapatyt implantowanego śródkostnie do jamy szpikowej królikom.

## Material i metodyka

Wykonano śródszpikową implantację królikom sztyftów będących implantami kompozytu włókna węglowego z osnową epoksydową (C-C-Ep-HAP). Po 4, 14, 20 i 22 tygodniu zwierzęta usypiano, zaś z fragmentów kości i implantu wykonywano preparaty histologiczne, które analizowano wykorzystując system analizy obrazu Quantimet Leica. Oceniono morfometrycznie: 1. wymiar najkrótszy odpowiadający szerokości włókien węglowych, 2. obliczoną szerokość włókien węglowych, 3. współczynnik wypełnienia, 4. średni

# MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF BIODEGRADATION PROCESS OF CARBON COMPOSITES OF THE CARBON-EPOXIDE WRAP AND HYDROXYAPATITE AFTER 22-WEEK OBSERVATION

EWA ZEMBALA-NOŻYŃSKA\*, GRZEGORZ BAJOR\*\*,  
JERZY NOŻYŃSKI\*\*\*, WOJCIECH ŚCIERSKI\*\*\*\*,  
ADAM GRZYBOWSKI\*\*\*, DANIEL SABAT\*

\*CHAIR AND DEPARTMENT OF PATHOMORPHOLOGY, SILESIA  
MEDICAL UNIVERSITY IN KATOWICE, ZABRZE, POLAND  
\*\*CHAIR AND CLINIC OF PEDIATRIC SURGERY, SILESIA  
UNIVERSITY IN KATOWICE, POLAND  
\*\*\*SILESIA CENTER FOR HEART DISEASES, ZABRZE, POLAND,  
\*\*\*\*CHAIR AND DEPARTMENT OF OTORHINOLARYNGOLOGY,  
SILESIA MEDICAL UNIVERSITY IN KATOWICE, ZABRZE, POLAND

## Introduction

In the recent decades biodegradable biomaterials have been invented. The material does not need another operation to remove them, as opposed to metal elements used in surgery and traumatology. Earlier studies on carbon-carbon composite implantation apart from many advantages showed that they also have faults of being fragile and breakable. Another attempt to improve composite profile is an introduction of a special reinforcing wrap. The result is a composite consisting of carbon-polymer fibre possessing elasticity in a human body. Polymer that makes a wrap consists of epoxide resin, one of thermohardening materials. Additional covering of the implant by hydroxyapatite has positive influence quicker direct connecting (combining) with bone tissue [1]. The aim of morphometric study is an observation in different time periods of a carbon-carbon, epoxide wrap, hydroxyapatite composite implanted into the bone, in the marrow cavity of rabbits.

## Materials and methods

Implantation of pins into rabbit's bone marrow was performed. The pins were implants of carbon fibre composite with epoxide wrap and hydroxyapatite (HAP) (C-C-Ep-HAP). After 4, 14, 20 and 22 weeks the animals were sacrificed under general anaesthesia, then bone and implant fragments were routinely histologically processed for further microscopical image analysis with Quantimet Leica. This analysis included: 1. the breadth responding to the shortest diameter of carbon fibres, 2. curve length of carbon fibres, 3. fullness factor coefficient, 4. mean gray level reflecting density of the material - optic density. The results were analyzed statistically.

Tydzien obserwacji	Liczba	Mediana	Minimum	Maksimum	Kwartył dolny	Kwartył górny
Observation week	Number	Median	Minimum	Maximum	Lower quartile	Upper quartile
Wymiar najkrótszy / Breadth						
22	251	1.538	0.385	39.231	0.769	4.231
20	558	1.923	0.385	85.385	0.769	5.385
14	544	1.538	0.385	53.461	0.769	4.615
4	164	6.538	0.385	38.077	1.538	8.846
Obliczona szerokość / Curve width						
22	251	1.154	0.385	10.769	0.769	2.692
20	558	1.538	0.385	10.769	0.769	3.462
14	544	1.538	0.385	10.385	0.769	3.462
4	164	4.615	0.385	11.538	1.538	6.538
Współczynnik wypełnienia / Fullness factor						
22	251	0.964	0.533	1.371	0.853	1.087
20	558	0.951	0.575	1.371	0.857	1.057
14	544	0.983	0.447	1.371	0.8845	1.079
4	164	0.931	0.592	1.25	0.8505	0.9735
Średni stopień szarości / Mean grey level						
22	251	44.760	22.000	97.571	40.000	52.500
20	558	44.754	23.900	89.461	39.963	51.506
14	543	44.119	25.777	61.900	39.238	48.500
4	164	43.408	31.250	58.600	40.925	48.434

TABELA 1. Charakterystyka morfometryczna procesu biodegradacji włókien kompozytów węgiel-osnowa epoksydowa-hydroksyapatyt w kolejnych tygodniach.

TABLE 1. Morphometric characteristics of the biodegradation process of the fibres of carbon-epoxide wrap-hydroxyapatite composite in subsequent weeks.

stopień szarości odzwierciedlający gęstość materiału - gęstość optyczną. Wyniki opracowano statystycznie.

Porównywane tygodnie Compared weeks	Wartość Value			
	Wymiar najkrótszy Breadth	Obliczona szerokość Curve width	Współczynnik wypełnienia Fullness factor	Średni stopień szarości Mean grey level
4 tygodnie versus 14 tygodni 4 <sup>th</sup> week versus 14 <sup>th</sup> week	0.000001	0.000001	0.000001	0.57
14 tygodni versus 20 tygodni 14 <sup>th</sup> week versus 20 <sup>th</sup> week	0.32	0.12	0.0021	0.002
20 tygodni versus 22 tygodnie 20 <sup>th</sup> week versus 22 <sup>th</sup> week	0.26	0.005	0.45	0.8

TABELA 2. Porównanie wartości morfometrycznych kompozytu węgiel-osnowa epoksydowa hydroksyapatyt implantowanych śródkostnie królikom.

TABLE 2. The comparison of morphometric values of the fibres of carbon-epoxide wrap-hydroxyapatite composite implanted into bones in rabbits.

## Results

The results are compared in TAB. 1-4. The breadth showed initially a significant decrease of mean value, afterwards insignificant increase and then decrease of value oc-

Tydzień implantacji Week of implantation	Wartość Value					
	Wymiar najkrótszy Breadth		Obliczona szerokość Curve width		Współczynnik wypełnienia Fullness factor	
	Spearman R	p	Spearman R	P	Spearman R	p
4 tygodnie 4 <sup>th</sup> week	-0.311	10 <sup>-3</sup>	-0.307	10 <sup>-3</sup>	0.157	0.044
14 tygodni 14 <sup>th</sup> week	-0.191	10 <sup>-1</sup>	-0.218	10 <sup>-6</sup>	0.219	10 <sup>-6</sup>
20 tygodni 20 <sup>th</sup> week	-0.167	10 <sup>-5</sup>	-0.206	10 <sup>-6</sup>	0.067	0.11
22 tygodnie 22 <sup>th</sup> week	-0.464	10 <sup>-6</sup>	-0.369	10 <sup>-6</sup>	0.419	10 <sup>-6</sup>

TABELA 3. Korelacja średniego stopnia szarości z wartościami morfometrycznymi włókien kompozytu węgiel-osnowa epoksydowa- hydroksyapatyt implantowanych śródkostnie królikom.

TABLE 3. Correlation of the mean grey level with morphometric values of the fibres of carbon-epoxide wrap-hydroxyapatite composite implanted into bones in rabbits.

Wymiar najkrótszy Breadth		Obliczona szerokość Curve width		Współczynnik wypełnienia Fullness factor		Średni stopień szarości Mean grey level	
Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p	Spearman R	p
-0.081	10 <sup>-6</sup>	-0.132	10 <sup>-3</sup>	0.014	0.58	0.467	10 <sup>-13</sup>

**TABELA. 4. Korelacja czasu obserwacji z wartościami morfometrycznymi włókien kompozytu węgiel-osnowa epoksydowa hydroksyapatyt implantowanych śródkrotnie królikom.**

**TABLE 4. The correlation of the time of implantation with the morphometric values of the fibres of carbon-epoxide wrap-hydroxyapatite composite implanted into bones in rabbits.**

## Wyniki

Wyniki zestawiono w TAB. 1-4. Wymiar najkrótszy wykazywał początkowo istotny spadek wartości przeciętnej, po czym następował niezamienny wzrost a następnie spadek wartości. Podobnie zachowywała się obliczona szerokość włókien węglowych. Współczynnik wypełnienia wskazywał na ujawnianie się najwyraźniejszych wżerów resorpcyjnych w 14 i 22 tygodniu implantacji, aczkolwiek wahania nie były znamienne statystycznie. Gęstość optyczna ujawniała stopniowy wzrost wartości przeciętnej do 20 tygodnia. Analiza korelacji gęstości optycznej z parametrami morfometrycznymi wykazała istotną korelację ujemną z wymiarem najkrótszym oraz obliczoną szerokością włókien, najsilniejsze w 4 i 22 tygodniu obserwacji. Z kolei współczynnik wypełnienia ujawniał korelację dodatnią, najsilniejszą w 22 tygodniu. Korelacja mierzonych parametrów z czasem wskazywała na najsilniejszą i dodatnią korelację z gęstością optyczną.

## Dyskusja

Proces biodegradacji wykazywał zaobserwowane w poprzednich badaniach wahania wymiarów liniowych włókien kompozytu [1, 2, 3, 4, 5]. Stosunkowo szerokie włókna wykazywały postępujące scienczenie najlepiej odzwierciedlone w postaci obliczonej szerokości. Wymiar najkrótszy wykazywał wahania, spadek wartości, jej wzrost i spadek. Średni stopień szarości wskazuje na istotne rozluźnienie struktury pomiędzy 14 a 20 tygodniem. Analiza korelacji ujawnia jako najbardziej znamienne rozrzedzenie gęstości optycznej wraz z czasem upływającym od implantacji z towarzyszącym scienzczeniem włókien i pojawieniem się w nim nieregularności w 22 tygodniu. Morfometryczna analiza biodegradacji włókniny węglowej bądź implantowanych nici węglowych była tematem doniesień autorów [2, 3, 4, 5]. Bezpośrednie porównanie wartości liczbowych wskazuje na niższe wartości pomiarów geometrycznych oraz zmienność średniego stopnia szarości w kompozycie C-C-Ep-HAP, co niewątpliwie związane jest z oddziaływaniem wrastającej w kompozyt kości jak i odmiennych warunków tkankowych. Istotne staje się jednak prześledzenie trendów zmian. W przypadku nici węglowej implantowanej podśluzówkowo obserwowano wzrost wymiaru najkrótszego i obliczonej szerokości pomiędzy 4 a 12 tygodniem, oraz spadek współczynnika wypełnienia przy nieznacznych wahaniami średniego stopnia szarości [4, 5]. W zbliżonych okresach obserwacyjnych, pomiędzy 6 a 24 tygodniem implantacji obserwowano stopniowy spadek wymiaru najkrótszego i obliczonej szerokości włókien włóknin węglowych, narastanie

currred. The curve width of carbon fibres behaved in a similar manner. Fullness factor indicated the appearance of resorptive irregularities, pits in the 14th and 22nd week of the implantation, however the fluctuations were not statistically significant. Optical density (mean grey level) disclosed gradual increase of mean value till the 20th week. Analysis of optical density correlation with morphological parameters showed a significant negative correlation with the shortest breadth and the calculated fibre width, strongest in the 4th and 22nd week of observation. Then the fullness factor disclosed a positive correlation, strongest in the 22nd week. The correlation of the measured parameters indicated, after some time, the strongest and positive correlation with optical density

## Discussion

Biodegradation process showed, observed in earlier studies, fluctuations of linear dimensions of composite fibres [1, 2, 3, 4, 5]. Relatively wide fibers indicated progressive 'thinning' reflected best in the curve width. The breadth showed fluctuations, decrease of value, its increase and decrease. Mean value of gray level indicates significant loosening of structure between the 14th and 20th week. The correlation analysis discloses the most significant dilution of optical density with the time after the implantation along with accompanying fibre thinning and irregularities after the 22nd week. Morphometric analysis of carbon fibre biodegradation or implanted carbon threads (sutures) was a subject of numerous studies [2, 3, 4, 5]. Direct comparison of numerical values indicates lower values of geometrical measurements and significance of mean gray level in composite C-C-Ep-HAP, which is undoubtedly connected with an influence of bone ingrowth into the implant and different tissue conditions. To observe trends of changes has become essential. In case of carbon thread implanted into submucosa an increase of the shortest breadth and the calculated width was observed from the 4th to 12th week, and a decrease of fullness factor with minute fluctuations of mean gray level [4, 5]. In the similar observation periods, from the 4th to 24th week of implantation, a gradual decrease of the breadth and fibre width of carbon fibres, raise of fullness, and increase and decrease of mean grey level value [2, 3]. Only calculated width correlated in a similar way with biodegradation time both in cases of carbon thread biodegradation, carbon fibres and C-C-Ep-HAP composite. While mean gray degree correlated the most strongly with biodegradation time in case of C-C-Ep-HAP polymer. It must be mentioned that each biodegradation process occurred in slightly different tissue conditions and under dissimilar mechanical influences, which can impinge on the measured values. Carbon thread was under changing tension during chewing, next, C-C-Ep-HAP composite was squeezed by the regenerating long bone. Therefore morphometric analysis indicates the essential role of all conditions.

## Conclusion

Morphometric profile of implant biodegradation of carbon-epoxide wrap-hydroxyapatite-composites (C-C-Ep-HAP) shows their stability in the early postoperative period and slight changes in optical density. Essential factor influencing morphometric results of biodegradation process seems regional tissue mechanical and biochemical conditions.

współczynnika wypełnienia, oraz wzrost i spadek średniej szarości [2, 3]. Jedynie obliczona szerokość w zbliżony sposób korelowała z czasem biodegradacji zarówno w przypadku biodegradacji nici węglowej, włókien węglowych i kompozytu C-C-Ep-HAP. Z kolei średni stopień szarości najsilniej korelował z czasem biodegradacji w przypadku polimeru C-C-Ep-HAP. Należy nadmienić, że każdy proces biodegradacji przebiegał w nieco odmiennych warunkach tkankowych jak również przy odmiennych wpływach mechanicznych, mogących rzutować na mierzone wartości. Nić węglowa podawana była zmiennym naprężeniem podczas żucia, z kolei kompozyt C-C-Ep-HAP ulegał ściśnięciu przez regenerującą kość długą. Analiza morfometryczna wskazuje więc na istotną rolę warunków tkankowych w procesie biodegradacji.

## Wniosek

Charakterystyka morfometryczna biodegradacji implantów kompozytu węgiel-osnowa epoksydowa-hydroksyapatyt (C-C-Ep-HAP) wskazuje na ich stabilność we wczesnym okresie pooperacyjnym i nieznaczne zmiany gęstości optycznej. Zasadniczym czynnikiem wpływającym na wyniki morfometryczne procesu biodegradacji wydają się być narządowe warunki mechaniczne i biochemiczne.

## HYDROKSYAPATYT NATURALNY – PREPARATYKA, WŁAŚCIWOŚCI

KRZYSZTOF HABERKO, MIROSLAW BUĆKO, MARIA HABERKO,  
WŁODZIMIERZ MOZGAWA, ANNA PYDA, JERZY ZARĘBSKI

WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,  
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA W KRAKOWIE

## Streszczenie

*Opracowano metodę ekstrakcji naturalnego hydroksyapatytu (HAp) z kości zwierzęcych poprzez oddziaływanie na nie gorącym roztworem NaOH. Pozostająca w materiale substancja organiczna ulega utlenieniu w atmosferze powietrza w umiarkowanych temperaturach. W naturalnym hydroksyapatycie występują grupy węglanowe oraz niewielkie udziały magnezu, nieobecne w syntetycznym materiale. Udział grup węglanowych zmniejsza się ze wzrostem temperatury, równocześnie pojawia się wolny CaO. Struktura hydroksyapatytu zostaje jednak zachowana.*

## Wstęp

Hydroksyapatyt, dzięki swojej biozgodności i podobieństwu strukturalnemu do mineralnej części kości zwierzęcych i ludzkich wykazuje właściwości osteoindukcyjne. Po wszczępieniu naturalna kość zastępuje stopniowo implant [1, 2]. Porowaty materiał lepiej spełnia zadanie odtworzenia ubytku kostnego niż materiał lity. Wymienić można dwie

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Bajor G., Paszenda Z., Bohosiewicz J., Marciniak J.: "Badania kompozytu węglowego w mikroskopie skaningowym po wszczępieniu do tkanki kostnej zwierząt". *Inżynieria Biomateriałów* 1999; 7-8: 37-43.
- [2] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrowka K., Cieślik T., Szczurek Z.: "Analiza średniego stopnia szarości w procesie biodegradacji włókien węglowych" *Inżynieria Biomateriałów* 2002; 20: 15-20.
- [3] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrowka K., Cieślik T., Szczurek Z.: "Statystyczna analiza parametrów geometrycznych włókien węglowych użytych do wypełnień ubytków tkanki kostnej" *Inżynieria Biomateriałów* 2002; 20: 21-29.
- [4] Dąbrowka K., Zembala-Nożyńska E., Nożyński J.K., Cieślik T.: "Zachowanie się wartości geometrycznych nici węglowej w procesie biodegradacji" *Inżynieria Biomateriałów*, 2002; 21: 15-22.
- [5] Dąbrowka K., Nożyński J., Zembala-Nożyńska E., Błażewicz S.: Średni stopień szarości - obiektywny parametr biodegradacji włókien węglowych. *Inżynieria Biomateriałów* (2001), 13, 3-8.

## NATURAL HYDROXYAPATITE – PREPARATION, PROPERTIES

KRZYSZTOF HABERKO, MIROSLAW BUĆKO, MARIA HABERKO,  
WŁODZIMIERZ MOZGAWA, ANNA PYDA, JERZY ZARĘBSKI

FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, AGH UNIVERSITY  
OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW, POLAND

## Abstract

*Natural origin hydroxyapatite (HAp) was extracted from the animal bones by their treatment with hot NaOH solution. Remaining organic matter oxidizes in air atmosphere at moderate temperatures. In the material of this kind carbonate groups and small amounts of magnesium were found, not present in the synthetic HAp. Fraction of carbonate groups decreases with temperature and also CaO appears, but structure of hydroxyapatite becomes preserved.*

## Introduction

Hydroxyapatite (HAp) with its high biocompatibility and good bioaffinity, stimulates osteoconduction and is slowly replaced by the host bone after implantation [1, 2]. From this point of view porous material fulfills better its role compared to the dense one. Two kinds of application of hydroxyapatite can be pointed out: i) as a porous material useful in bone surgery and ii) as an additive to organic polymers improving their biofunctionality.



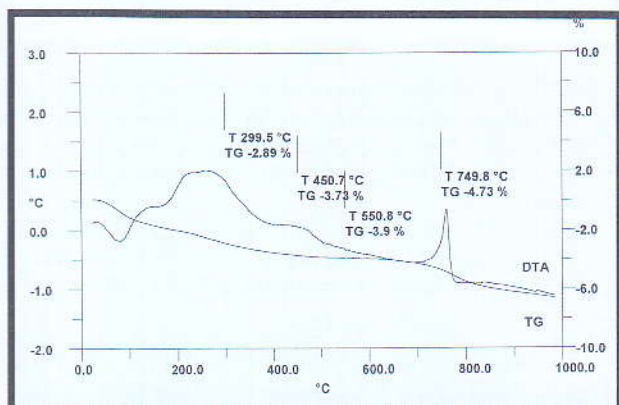
grupy zastosowań hydroksyapatytu: a) jako materiał porowaty, który może znaleźć zastosowanie w chirurgii kostnej oraz b) jako dodatek do polimerów organicznych poprawiający ich biofunkcyjność.

Opracowano kilka technik chemicznej syntezy hydroksyapatytu [3-7]. Natomiast celem prac przedstawionych w tej publikacji było zbadanie możliwości pozyskiwania naturalnego hydroksyapatytu z kości zwierzęcych. Wyniki pracy stały się przedmiotem zgłoszenia paten-towego [8].

## Synteza

Doświadczenia wstępne wykonane z zastosowaniem kości wołowych wykazały, że pozytywny rezultat, polegający na niemal całkowitym usunięciu części organicznych zawartych w wyjściowym materiale, można uzyskać poddając ten materiał działaniu stężonego roztworu zasady sodowej (NaOH).

Wyniki przedstawione poniżej objęły hydroksyapatyt pozyskany z części korowej kości długich wołu i świni. Sposób preparatyki przedstawiał się następująco: porcję ok. 200 g kości zadano w zlewce teflonowej 1 dcm<sup>3</sup> roztworu NaOH o stężeniu 4 M. Zlewkę zaopatrzoną w przykrywkę teflonową wstawiono do suszarki nagrzanej do temperatury 120°C. Po 24 h procesu roztwór NaOH wymieniono na świeży. Preparat przetrzymywano przez kolejne 24h w podanej temperaturze. Uzyskany materiał przemywano wielokrotnie przez dekantację wodą destylowaną na gorąco, aż do uzyskania odczynu (pH), charakterystycznego dla czystej wody destylowanej a następnie wysuszono w temperaturze 120°C w atmosferze powietrza.



RYS. 1. Kość wołowa. Krzywe DTA i TG. Szybkość ogrzewania 10°C/min., atmosfera-powietrze.

FIG. 1. Bovine bone. DTA and TG curves. Rate of temperature increase 10°C/min., air atmosphere.

## Właściwości

### Przemiany zachodzące podczas ogrzewania próbek

Wykresy przedstawione na RYS. 1 i 2 obrazują zmiany masy (TG) i krzywe termicznej analizy różnicowej preparatów otrzymanych w opisany wyżej sposób. Oś rzędnych z lewej strony pokazuje różnicę temperatury (w °C) pomiędzy próbką badaną i wzorcową, zaś z prawej strony - zmiany masy wyrażone w % wyjściowej masy próbki. Na osi odciętych zaznaczono temperaturę. Oznaczenia wykonano posługując się Derivatographem mod. C produkcji MOB Budapest. Szybkość ogrzewania w atmosferze powietrza próbek o masie 0,1g wynosiła 10°C/min.

Several techniques of HAP synthesis were elaborated [3-7]. In the present work we focused on the extraction of the natural HAP from animal bones (Polish patent pending from 2003 [8]).

## Synthesis

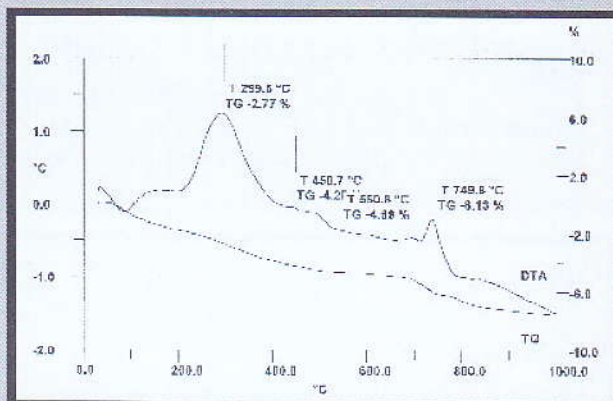
Preliminary experiments have shown that organic matter can be nearly totally removed from the bovine bones by treating them with hot concentrated sodium hydroxide solution. In the present study results of our experiments with the extraction of hydroxyapatite from cortical part of long bovine and pig bones will be shown.

The following preparation route was applied: about 200 g of bones were treated at 120°C for 24h with NaOH water solution of 4M concentration. The treatment was repeated for another 24 h at 120°C with the new NaOH solution of the same concentration. Then the material was washed until pH of distilled water was reached and dried at 120°C in air atmosphere.

## Properties

### Temperature transformation

In FIG. 1 and 2 differential thermal analysis (DTA) and thermogravimetric (TG) curves of the samples are shown. On the Y-axis in the left part of the plot, temperature difference (in °C) between the studied sample and the reference one is indicated. Right Y-axis represents mass change of the sample (in %). Rate of temperature increase of 10°C/min, air atmosphere and 0.1 g samples were applied using thermal analyser Derivatograph C (MOM, Budapest).



RYS. 2. Kość wieprzowa. Krzywe DTA i TG. Szybkość ogrzewania 10°C/min., atmosfera - powietrze.

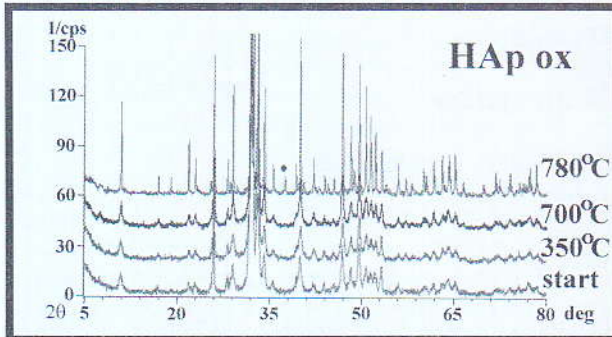
FIG. 2. Pig bone. DTA and TG curves. Rate of temperature increase 10°C/min., air atmosphere.

Similar behaviour of both studied materials is observed. The low temperature endothermic effect should plausibly be attributed to evaporation of water adsorbed on the high surface area of the materials. At higher temperatures two exothermic effects occur. Within the whole temperature range samples lose their mass.

In order to recognize the reason of these effects samples were calcined for 30 min. at the end temperatures of each of the exothermic effects, i.e. at 350°C, 780°C and additionally at 700°C. FIG. 3 and 4 demonstrate X-ray diffraction patterns of the starting samples and the samples calcined at indicated temperatures. In the whole calcination temperature range diffraction patterns correspond to hy-

Oba typy preparatów zachowują się podobnie: w zakresie niskich temperatur obserwuje się efekt endotermiczny, związany prawdopodobnie z desorpcją wody zaadsorbowanej na powierzchni próbek. Następnie pojawia się efekt egzotermiczny. Temperatura szczytu tego efektu jest nieco różna w obu preparatach, po czym w niemal identycznej temperaturze w obu przypadkach (<760°C) występuje kolejny efekt egzotermiczny. W całym zakresie stosowanych temperatur ogrzewania w Derivatographie występują straty masy obu próbek.

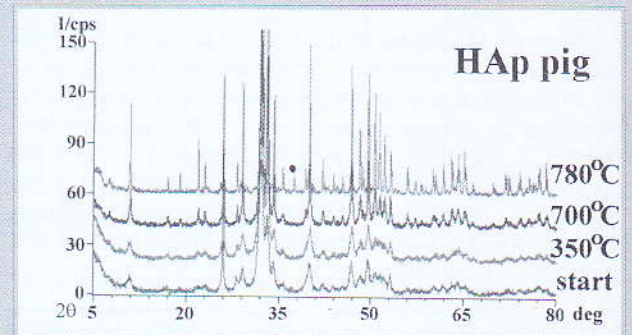
Chcąc rozpoznać naturę opisanych wyżej efektów, opierając się na wynikach tych pomiarów preparaty poddano ogrzewaniu przez 30 min. w temperaturach odpowiadających zakończeniu każdego z efektów egzotermicznych, tj. w 350°C i 780°C oraz dodatkowo w temperaturze 700°C tuż przed początkiem drugiego efektu egzotermicznego. Podobnie jak w pomiarach DTA/TG szybkość wzrostu temperatury wynosiła 10°C/min.



RYS. 3. Dyfraktogram rentgenowski próbki hydroksyapatytu wołowego nie poddanego obróbce cieplnej oraz ogrzewanego we wskazanych temperaturach. Promieniowanie  $\text{CuK}\alpha$ .

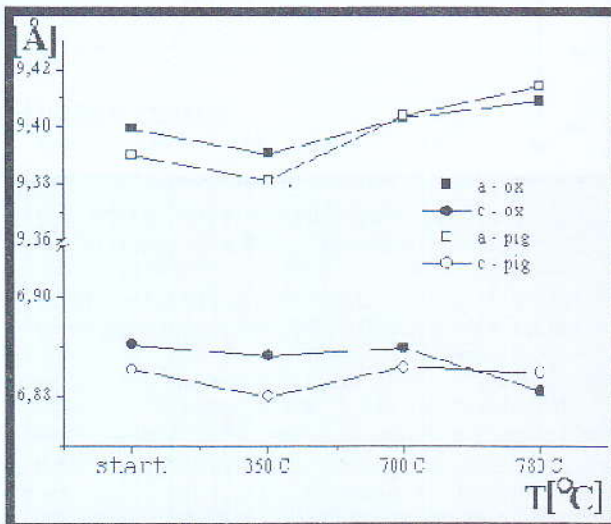
FIG. 3. X-ray diffraction pattern of the bovine hydroxyapatite thermally untreated and heat treated at indicated temperatures.  $\text{CuK}\alpha$  radiation.

droxyapatite. But materials heat treated at 780°C show an additional peak appears (marked by the black point). It can be ascribed to the strongest reflection of CaO. The remaining reflections of this oxide are most probably covered by the reflections of the major phase, i.e. hydroxyapatite. An additional verification of the CaO presence in the calcined samples was obtained by immersing 0.1g of the powder in 100 cm<sup>3</sup> of distilled water and measuring pH of the suspension. The samples were calcined using the DTA/TG equipment and 10°C/min. rate of temperature increase. After reaching the predetermined temperature system was quickly cooled down. Results shown in TABLE 1 demonstrate distinct increase of pH in case of calcination temperature equal to or higher than the second exothermic effect. Qualitative analysis of the suspension filtrate with kalces have shown Ca presence in the solution. So we conclude that the second exothermic effect should be attributed to crystallization of CaO from hydroxyapatite. It is worth to notice that this process neither leads to HAp decomposition (cf FIG. 3 and 4) nor to the visible changes of the HAp lattice parameters, determined by the Rietveld method (FIG. 5).



RYS. 4. Dyfraktogram rentgenowski próbki hydroksyapatytu wieprzowego nie poddanego obróbce cieplnej oraz ogrzewanego we wskazanych temperaturach. Promieniowanie  $\text{CuK}\alpha$ .

FIG. 4. X-ray diffraction pattern of the pig hydroxyapatite thermally untreated and heat treated at indicated temperatures.  $\text{CuK}\alpha$  radiation.



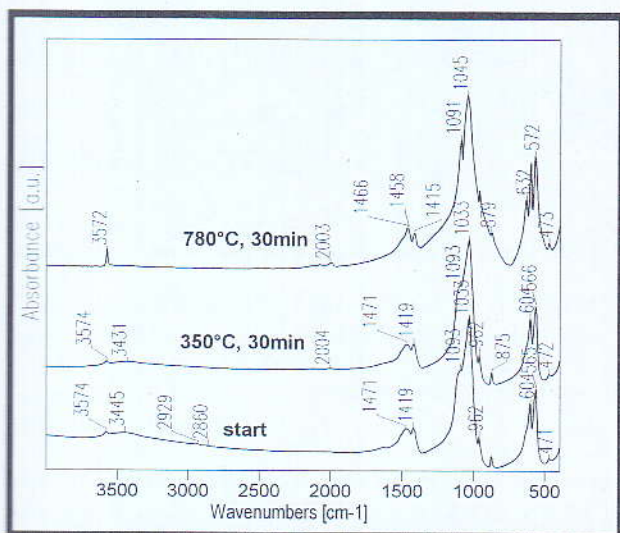
RYS. 5. Parametry sieciowe (a i c) hydroksyapatytu wołowego (ox) i wieprzowego (pig) w zależności od warunków prażenia.

FIG. 5. Lattice parameters (a and c) bovine and pig hydroxyapatite vs. calcination conditions.

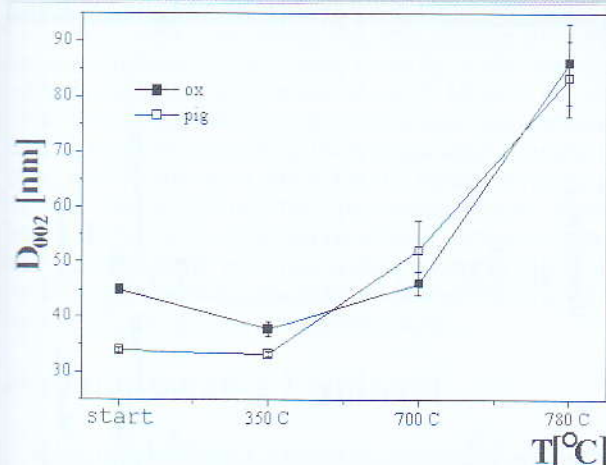
Presence of calcium oxide in materials for medical applications seems to be undesirable. It was found however, that it can be easily removed by washing with water even essentially densified samples.

In FIG. 6 and 7 infrared (IR) spectra of the same samples as in FIG. 3 and 4 are demonstrated. Absorption bands were ascribed to particular bonds according to [9]. Vibrations of the P-O bonds are responsible for the absorption bands within wave number ranges of 471-603 cm<sup>-1</sup> and 992-1091 cm<sup>-1</sup>. Bands of the 1415-1468 cm<sup>-1</sup> range confirm existence of carbonate groups in the natural hydroxyapatite. Absorption bands of 2857 and 2928 cm<sup>-1</sup> correspond to stretching vibrations of the C-H bonds. The remaining bands in the high wave number range result from stretching vibrations of the O-H bonds. They occur both in water adsorbed on the high surface area of the starting powder and in hydroxyl groups in the HAp structure.

Carbonate groups occur in the structure of the natural hydroxyapatite. This is an essential feature of this material. Analysis of the integral intensity of the MIR spectrum band in the 1350-1500 cm<sup>-1</sup> range indicates decrease of the fraction of these groups. In the starting, (uncalcined) pig bone sample, intensity of the carbonate bands equals to 10.9% of all absorption bands. In case of the sample calcined at

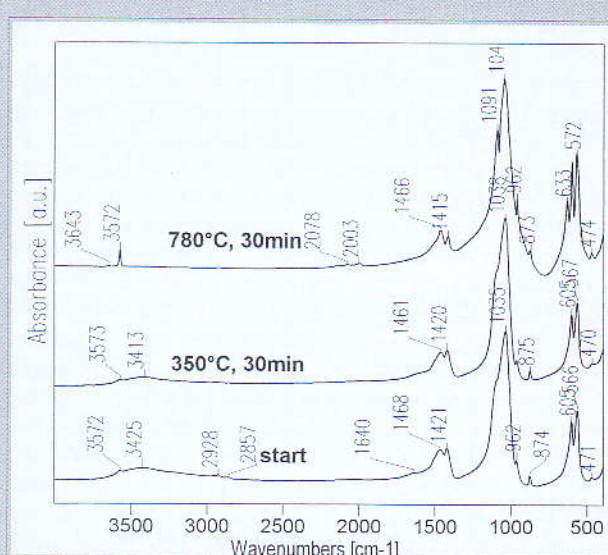


**RYS. 6.** Widma transmisyjne w podczerwieni hydroksyapatytu pochodzącego z kości wołowej. Na rysunku podano warunki prażenia.  
**FIG. 6.** Transmission infrared spectra of bovine hydroxyapatite. Calcination conditions indicated.



**RYS. 8.** Wielkość krystalitów hydroksyapatytu w zależności od temperatury prażenia.  
**FIG. 8.** Crystallite size of hydroxyapatite samples vs. calcination temperature.

Na RYS. 3 i 4 przedstawiono wyniki rentgenowskiej analizy fazowej materiałów wyjściowych i prażonych w podanych temperaturach. W całym zakresie temperatur prażenia obraz dyfrakcyjny odpowiada hydroksyapatytowi. Natomiast w próbkach prażonych w temperaturze 780°C pojawia się dodatkowy refleks oznaczony na wykresach kropką. Można go przyporządkować najsilniejszemu refleksowi tlenku wapnia (CaO). Pozostałe refleksy od tego związku są prawdopodobnie zamaskowane silnymi refleksami większościowej fazy (HAp). Dodatkową weryfikację obecności CaO w próbkach prażonych w temperaturach odpowiadających drugiemu efektowi egzotermicznemu (i wyższych) uzyskano wprowadzając 0,1 g proszku do 100 cm<sup>3</sup> wody destylowanej i mierząc pH zawiesiny. Ogrzewanie próbek z szybkością przyrostu temperatury taką jak podczas pomiaru DTA prowadzono w piecu urządzenia do termicznej analizy różnicowej (Derivatograph). Po osiągnięciu zadanej temperatury



**RYS. 7.** Widma transmisyjne w podczerwieni hydroksyapatytu pochodzącego z kości wieprzowej. Na rysunku podano warunki prażenia.  
**FIG. 7.** Transmission infrared spectra of pig hydroxyapatite. Calcination conditions indicated.

Temperatura prażenia, °C Calcination temperature	20	300	450	550	750	1000
pH zawiesiny HAp w H <sub>2</sub> O pH of HAp in H <sub>2</sub> O suspension	6,0	6,7	6,8	7,2	10,3	10,2

**TABELA 1.** pH zawiesiny HAp w wodzie w zależności od temperatury prażenia.  
**TABLE 1.** pH of the HAp in water suspension vs. calcination temperature.

350°C it decreases to 9.3%. And calcination at 780°C results in the value of 9.0%. Simultaneously shape of the carbonate band in sample calcined at 780°C changes compared to the starting material and to the samples heat treated at lower temperatures. It indicates change of symmetry of these groups. Crystallite sizes, determined on the basis of the X-ray line broadening, are shown in FIG.8. Their increase occurs at moderate temperatures. It is indicative of intensive mass transport at this temperature range and predicts good sintering ability of such powders.

Absorption bands related to the C-H vibrations in the uncalcined samples indicate that not all organic matter is removed by the NaOH treatment. These absorption bands disappear in the materials calcined at 350°C and higher. Basing on this we conclude that the exothermic effect observed at low temperature range (FIG.1 and 2) corresponds to the oxidation of the remaining organic matter.

#### Comparative characteristics of different origin hydroxyapatite materials

FIG. 9 presents infrared spectra of commercial HAp materials produced by Elektromet (Rzeszów, Poland), Mitsubishi (Japan) and Bio-Oss (Geistlich Biomaterials, Switzerland). The Elektromet and Mitsubishi specimens are nearly totally lacking of carbonate groups. But this is not the

układ szybko studzono. Wyniki pomiaru pH w zależności od temperatury prażenia przedstawia TABELA 1.

Jak łatwo zauważyć wyraźny wzrost pH zawiesiny pojawia się w temperaturze odpowiadającej drugiemu efektowi egzotermicznemu i wyższej. W świetle tych obserwacji można przyjąć za udowodnione, że efekt egzotermiczny wiąże się z krystalizacją CaO wydzielającego się z hydroksyapatytu, jednak bez rozkładu tego związku (por. RYS.3 i 4) i zarazem bez istotnych zmian parametrów sieciowych obu preparatów oznaczonych metodą Rietvelde (RYS.5). Tlenek wapnia reagując z wodą tworzy wodorotlenek wapnia alkaliczujący środowisko. Ostateczny dowód na tworzenie się tlenku wapniowego uzyskano analizując przesącz po zadaniu wodą destylowaną próbek prażonych w temperaturze 750°C i 1000°C. Posługując się odczynnikami kalces stwierdzono w przesączu obecność wapnia. Obecność CaO w próbkach do zastosowań medycznych jest niepożądana. Doświadczenia jednak wykazały, iż można tlenek ten usunąć, nawet z częściowo spieczonych próbek, przez ich przemycanie wodą destylowaną.

Kolejne rysunki (RYS. 6, 7) przedstawiają widma absorbcyjne w podczerwieni próbek prażonych w zaznaczonych temperaturach. Przypisanie pasm absorbcyjnych dokonano na podstawie pracy [9]. Pasma w zakresie liczb falowych 471-603  $\text{cm}^{-1}$  oraz 992 -1091  $\text{cm}^{-1}$  odpowiadają drganiom w obrębie wiązań P-O, z kolei pasma w zakresie 1468 -1415  $\text{cm}^{-1}$  wynikają z obecności w hydroksyapatycie naturalnym grup  $\text{CO}_3^{2-}$ , w końcu pasma 2857 i 2928  $\text{cm}^{-1}$  pochodzą od drgań rozciągających wiązania C-H. Pozostałe pasma w zakresie wysokich liczb falowych odpowiadają drganiom rozciągającym O-H i wynikają z obecności w próbce wyjściowej (start) zaadsorbowanej wody oraz z obecności w strukturze hydroksyapatytu grup hydroksylowych.

Istotną cechą naturalnego hydroksyapatytu jest obecność grup węglanowych, przy równoczesnym braku węglanu wapnia. Udział tych grup maleje ze wzrostem temperatury obróbki cieplnej. Oceniono go na podstawie analizy intensywności integralnej pasm widm MIR w zakresie 1350-1500  $\text{cm}^{-1}$ . Zastosowano metodę matematycznej dekompozycji widm na pasma składowe wykorzystując program Win-IR. Intensywność pasm oceniono na podstawie pola powierzchni pasm we wspomnianym zakresie i wyrażono jako udział procentowy powierzchni wspomnianego pasma w stosunku do powierzchni wszystkich pasm (nie tylko węglanowych). W próbce wyjściowej (nieprażonej) intensywność pasm węglanowych wynosiła 10,9%, w próbce poddanej prażeniu w 350°C zmalała do 9,3%, a w próbce prażonej w 780°C do 9,0%. Jednocześnie zmiana kształtu pasm w widmie próbki prażonej w 780°C w stosunku do dwóch pozostałych sugeruje zmianę symetrii grup  $\text{CO}_3^{2-}$ . Natomiast w miarę wzrostu temperatury obróbki cieplnej obserwuje się rozrost krystalitów (RYS. 8). Świadczy to o intensywnym transporcie masy już w zakresie niskich temperatur, co stwarza nadzieje na uzyskiwanie spieczonych tworzyw w umiarkowanych temperaturach.

Obecność w próbkach nie poddanych obróbce cieplnej pasm pochodzących od drgań rozciągających C-H wskazuje, że traktowanie kości roztworem NaOH nie prowadzi do całkowitego usunięcia z nich substancji organicznej. Natomiast pasma te zanikają całkowicie w próbkach wygrzewanych w temperaturze 350°C i wyższych. Na tej podstawie można przyjąć, iż efekt egzotermiczny w zakresie niskich temperatur (RYS. 1, 2) odpowiada utlenianiu resztek substancji organicznej zawartej w obu preparatach.

#### Porównawcza charakterystyka preparatów komercyjnych i uzyskanych w ramach tej pracy

Kolejna ilustracja (RYS. 9) przedstawia widma w podczerwieni komercyjnych preparatów hydroksyapatytowych.

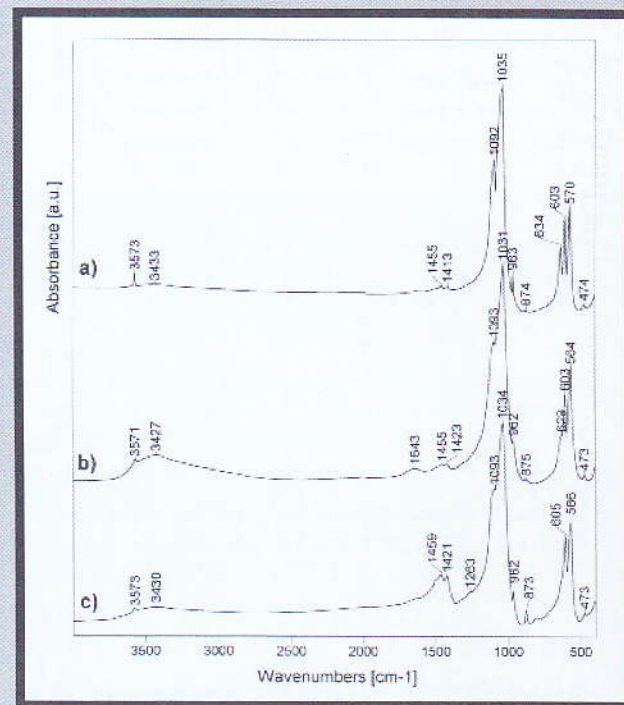
Preparat Sample	Elektromet	Mitsubishi	Bio-Oss	HAp (woł.) HAp (bovine)	HAp (wieprz.) HAp (pig)
Powierzchnia właściwa Specific surface area, $[\text{m}^2/\text{g}]$	0,4	69,8	59,5	79,7	71,4

TABELA 2. Powierzchnia właściwa preparatów hydroksyapatytowych.

TABLE 2. Specific surface area of the hydroxyapatite samples.

case in the Bio-Oss material which is known to be produced of bovine bones. In TABLE 2 specific surface areas of all powders, determined by the nitrogen adsorption, are shown. Except of the Elektromet powder all other show high specific surface area. It allows us to rate them among nanometric powders (cf. FIG.8).

TABLE 3 shows results of chemical analyses the materials. Additional bovine and pig origin bones, coming from different delivery source (marked \*), were also tested in order to gain information on the changeability of these material.



RYS. 9. Widma transmisyjne w podczerwieni komercyjnych proszków hydroksyapatytowych. a-Sp.Elektromet, b-Mitsubishi, c-Bio-Oss.

FIG. 9. Transmission infrared spectra of commercial hydroxyapatites: a-Elektromet, b-Mitsubishi, c-Bio-Oss.

As it was pointed out, the essential difference between synthetic and natural hydroxyapatite lies in that the latter contains carbonate groups. Chemical analyses show another two differences. The Ca/P ratio in case of natural HAP is higher than that of the synthetic ones. The latter is closer to the stoichiometric material. Natural HAP contains Mg which is lacking in the synthetic material.

Preparat Sample	Elektromet	Mitsubishi	Bio-Oss	HAp(wol.) HAp (bovine)	HAp*(wol.) HAp* (bovine)	HAp (wieprz.) HAp (pyg.)	HAp* (wieprz.) HAp* (pyg.)
CaO	55,71	51,65	51,59	51,76	52,25	51,37	52,21
MgO	śl., traces	0,05	0,98	0,55	0,41	0,62	0,47
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	42,74	38,88	38,35	38,37	38,29	37,76	38,71
Ca/P	1,66	1,68	1,70	1,71	1,73	1,72	1,71

Są to: produkt firmy Elektromet (Rzeszów), firmy Mitsubishi (Ja-ponia) oraz Preparat Bio-Oss szwajcarskiej firmy Geistlich Biomaterials. Jak łatwo zauważyć syntetyczne preparaty (a-Elektromet i b-Mitsubishi) pozbawione są niemal całkowicie grup węglanowych. Odróżnia je to od preparatu Bio-Oss, o którym wiadomo, że produkowany jest na bazie kości wołowych. Wyniki pomiarów powierzchni właściwej preparatów otrzymanych w tej pracy i produktów komercyjnych przedstawiono w TABELI 2. Oznaczenia wykonano metodą adsorpcji azotu w temperaturze ciekłego azotu (BET). Za wyjątkiem preparatu firmy Elektromet pozostałe próbki charakteryzują się dużym rozwinięciem powierzchni. Pozwala to, łącznie z pomiarami wielkości kryształitów (RYS.8) zakwalifikować je do klasy proszków nanometrycznych.

TABELA 3 zawiera wyniki analiz chemicznych opisywanych dotychczas preparatów. Ponadto analizie poddano dodatkowe, pochodzące z innej dostawy, próbki naturalnych hydroksyapatytów (oznaczono je \*). Miało to na celu uzyskanie wstępnej informacji o zmienności tego materiału. Jak wspomniano istotna różnica pomiędzy badanymi przez nas preparatami syntetycznymi i naturalnymi polega na obecności w tych ostatnich grup węglanowych. Wyniki analiz chemicznych wskazują na kolejne różnice: naturalne hydroksyapatyty wykazują wyższy stosunek Ca/P niż syntetyczne a ponadto zawierają pewien udział magnezu, nieobecny w materiałach syntetycznych.

## Podsumowanie i wnioski

Przedstawiona w pracy technika pozwala na ekstrakcję hydroksyapatytu z kości zwierzęcych. Nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy materiałem z kości wołowych i wieprzowych. Rozmiar kryształitów naturalnego hydroksyapatytu leży w zakresie setnych części mikrometra. Jest to więc materiał nanometryczny. Naturalny hydroksyapatyt charakteryzuje się obecnością grup węglanowych, nieobecnych w badanych przez nas preparatach syntetycznych, chociaż znana jest metoda syntezy tzw. węglanowego HAp [7]. Kolejną cechą odróżniającą HAp syntetyczny od naturalnego jest obecność w tym ostatnim magnezu. Oba materiały syntetyczne są pozbawione tego pierwiastka. Z próbek pochodzenia zwierzęcego podczas ogrzewania wydzielano się CaO jednak bez rozkładu samego hydroksyapatytu. Z punktu widzenia potencjalnych zastosowań medycznych tlenek wapniowy jest składnikiem szkodliwym. Można go jednak usunąć poprzez przemywanie materiału wodą destylowaną.

## Podziękowania

Pracę tę wykonano w ramach projektu badawczego PBZ-KBN-082/T08/2002 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Informatyzacji.

TABELA 3. Analizy chemiczne preparatów hydroksyapatytowych.

TABLE 3. Chemical analyses of hydroxyapatite samples.

## Summary and conclusions

The presented preparation route allows us to extract hydroxyapatite from the animal bones. No essential difference between bovine and pig bones have been noticed. Crystallite sizes of the natural HAp classify it to be a nanometric material. Natural HAp contains carbonate groups lacking in the studied by us synthetic materials, although it must be emphasized that there are known synthesis routes [7] leading to the so called carbonate HAp. Natural HAp contains small fractions of magnesium which is not present in the synthetic material. Calcium oxide, undesirable in a biomaterial, appears when natural HAp is calcined at higher temperatures. It can easily be removed by washing the material with water.

## Acknowledgements

This work was supported by research grant PBZ-KBN-082/T08/2002.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] B.-S. Chang, C.-K. Lee, K.-S. Hong, H.-J. Youn, H.-S. Ryun, S.S. Chung, K.-W. Park: "Osteoconduction at porous hydroxyapatite with various pore configuration" *Biomaterials* 21 (2000) 1291-1298.
- [2] L.L. Hench: "Biomaterials: from concept to clinic" *J. Am. Ceram. Soc.* 74 (1991) 1487-1510.
- [3] H. Aoki: "Science and medical applications of hydroxyapatite" Japanese Association of Apatite Science, Tokyo 1991.
- [4] W.L. Suchanek, M. Yoshimura: "Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as a hard tissue replacement implants", *J. Mater. Res.* 13 (1998) 94-117.
- [5] W.L. Suchanek, H. Suda, M. Kakihana, M. Yoshimura: "Biocompatible whiskers with controlled morphology and stoichiometry" *J. Mater. Res.* 10 (1995) 521-529.
- [6] A. Ślósarczyk: "Bioceramika hydroksyapatytowa" *Prace Komisji Nauk Ceramicznych PAN, Polski Biuletyn Ceramiczny* Nr 1, Ceramika 51, Kraków 1997.
- [7] W.L. Suchanek, P. Shuk, K. Byrappa, R.E. Riman, K.S. TenHuisen, V.F. Janas: "Mechanochemical-hydrothermal synthesis of carbonated apatite powder at room temperature" *Biomaterials* 23 (2002) 699-710.
- [8] K. Haberko, M. Haberko, W. Pyda, Z. Pedzich, J. Chłopek, W. Mozgawa, M. Bućko, B. Sawicki: "Sposób otrzymywania naturalnego hydroksyapatytu z kości zwierzęcych" projekt wynalazczy P-359960 z mocą od dnia 05.05.2003.
- [9] V.C. Farmer: *The infrared Spectra of minerals*, Mineralogical Society Monograph 4, Mineralogical Society 41 Queen's Gate, London 1974.

# PROBLEMY APLIKACYJNE STENTÓW NACZYNIOWYCH

MARCIN KACZMAREK, JADWIGA TYRLIK - HELD, JAN MARCINIAK

POLITECHNIKA ŚLĄSKA, CENTRUM INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ,  
UL. AKADEMICKA 2A, 44-100 GLIWICE

## Wprowadzenie

Stosowanie stentów stało się przyjętym sposobem leczenia wielu schorzeń powodujących zwężenie narządów o kształcie rurowym w obrębie układów: krążenia, pokarmowego, oddechowego i moczowego. Pomijając naczynia wieńcowe serca dotyczy to:

- zwężeń dużych tętnic i aorty spowodowanych procesem miażdżycowym,
- zwężeń przełyku spowodowanego procesem nowotworowym, bliznowatym lub w sytuacjach wymagających ochrony (w przypadku rozdarcia przełyku),
- zwężeń oskrzela i tchawicy zamykanych przez proces nowotworowy i bliznowaty,
- zwężeń cewki moczowej i moczowodów w wyniku procesu nowotworowego i bliznowatego lub w sytuacjach wymagających ochrony (w przypadku rozdarcia).

## Stenty kardiologiczne

Koncepcję rozszerzenia światła naczyń wprowadził radiolog Charles Dotter. Wprowadził pojęcie transluminalnej angioplastyki polegającej na rozszerzeniu naczyń, a następnie wprowadzenia stentu ze stali austenitycznej. Zastosowanie stentów upowszechniono głównie w chirurgii naczyń i to nie tylko przy zmianach miażdżycowych naczyń wieńcowych, lecz również w leczeniu tętniaków aorty lub zwężeniach innych obwodowych tętnic [1-3]. W grupie stentów kardiologicznych najbardziej popularne i najszerzej stosowane są stenty wieńcowe. Stenty okazały się bowiem znakomitym narzędziem w leczeniu ostrych powikłań PTCA. Ich skuteczność w leczeniu ostrego zamknięcia tętnicy wieńcowej sięga aż 97% [4]. Ogólnie kardiolodzy zgadzają się, iż optymalny stent powinien być elastyczny, łatwy do implantacji, nieprzepuszczający promieniowania oraz nie powodować zakrzepów. Choć charakterystyki stentów są podobne, w istotny sposób różnią się one kształtem. Stenty mogą zostać sklasyfikowane w oparciu o cechy konstrukcyjne oraz użytkowe. Obecnie wyróżnić można następujące rodzaje stentów:

1. siateczkowe (mesh stents)
2. rurkowe z nacięciami (slotted-tube stents),
3. w kształcie zwoju (coil stents),
4. pierścieniowe (ring stents),

Średnica stentów wieńcowych zmienia się z zakresie od 2 do 5 mm, natomiast długość waha się w granicach od 6 do 33 mm. Zdecydowana większość stentów kardiologicznych wykonana jest ze stali Cr-Ni-Mo. Niektóre rodzaje stentów wykonywane są z Nitinolu - stopu z pamięcią kształtu i nadsprężystością. Obecnie w wielu ośrodkach inżynierii biomedycznej na świecie badania skoncentrowane są na pokrywaniu stentów warstwami przeciwdziałającymi zakrzepom oraz zmniejszającym restenozę.

# APPLICATION PROBLEMS OF VASCULAR STENTS

MARCIN KACZMAREK, JADWIGA TYRLIK - HELD, JAN MARCINIAK

SILESIA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,  
BIOMEDICAL ENGINEERING CENTER,  
UL. AKADEMICKA 2A, 44 - 100 GLIWICE

## Introduction

Stents have become an established method for treatment of illness causing narrowing of vascular lumen in cardiovascular, alimentary, respiratory and urinary systems. Except coronary vessels, application of stents is related to:

- artery and aorta stenosis as the effect of an atheromatous process,
- esophagostenosis caused by a cancer or cicatricial process or in situations where protection is needed (esophagus tear),
- bronchial and tracheal strictures caused by a cancer or cicatricial process,
- urethrostenosis and ureteral strictures as the effect of a cancer or cicatricial process or in situations where protection is needed (tear).

## Cardiological stents

The conception of a vascular lumen dilation was worked out by Charles Dotter. He introduced the concept of a transluminal angioplasty consisting in a vessel dilation and than introduction of a stainless steel stent. The application of stents became widespread mostly in a vessel surgery but not only in coronary vessel lesions but also in an aortic aneurysm treatment or other artery stenosis [1-3]. Coronary stents are the most popular and the most widely used in a group of cardiological stents. Stents turned out to be an excellent tool for treatment of acute complications of the PTCA. Their effectiveness in treatment of the acute obstruction of a coronary artery reaches 97%. An increasing number of coronary stents is available or under clinical investigation for use in percutaneous revascularization. Interventional cardiologists generally agree that the optimal stent would be flexible, "trackable," low-profile, radiopaque, and resistant to thrombosis. Although stents share similar characteristics and goals, they differ in fundamental design and composition. Stents may be classified according to their design type and technical features. Currently available and investigational stent designs include:

1. mesh stents
2. slotted-tube stents
3. coil stents
4. ring stents.

The diameter of coronary stents is in the range from 2 mm to 5 mm however their length varies from 6 mm up to 33 mm. An unquestionable majority of stents is made of the Cr-Ni-Mo stainless steel. Some of them are made of the Nitinol which is a superelastic and shape memory alloy. Nowadays in many biomedical engineering centers the research is focused on layers counteracting thrombosis and reducing the restenosis.

## Stenty przełykowe

Podstawowym wskazaniem do zastosowania stentu przełykowego są nieoperacyjne nowotwory przełyku i jego łagodne zwężenia. Technika stentowania jest stosunkowo prosta, nie obciąża nadmierną traumatyzacją stanu ogólnego pacjenta oraz zapewnia natychmiastowy i trwały efekt terapeutyczny. Leczenie w nowotworach musi być brane pod uwagę u 60% chorych z rozpoznaniem raka przełyku. Obecnie zastosowanie znalazły dwa rodzaje stentów: 1) stenty konwencjonalne (polimerowe) - cechą charakterystyczną tej grupy stentów jest konieczność wcześniejszego poszerzenia światła przełyku, gdyż średnica stentu jest stała. Wadą tego typu stentów jest konieczność przeprowadzenia zabiegu w znieczuleniu ogólnym. 2) metalowe stenty samorozprężalne, wytworzone ze stali Cr-Ni-Mo lub stopów z pamięcią kształtu - zaletą w porównaniu z tradycyjnymi polimerowymi jest fakt, że do ich założenia wymagana jest mniejsza średnica wprowadzonego stentu. Dzięki temu nie jest wymagane znaczne poszerzenie miejsca zwężenia, przez co wydatnie redukuje się ryzyko uszkodzenia ściany przełyku. Ponadto mała średnica pozwala na stosunkowo łatwe wprowadzenie stentu w miejsce zwężenia. Skuteczność typu paliatywnego postępowania sięga 90% odnośnie uzyskania drożności i blisko 100% w odniesieniu do przetok przełykowych [5]. Jednakże w grupie stentów samorozprężalnych istnieją dwa zasadnicze problemy związana z ich stosowaniem. Po rozprężeniu stentu niemożliwe jest jego usunięcie lub przemieszczenie. Tak więc w przypadku nieprawidłowego umiejscowienia stentu, w wielu wypadkach niemożliwa jest jego repozycja. Drugą wadą jest możliwość przerastania przez ściany stentu zmian nowotworowych, powodując nawrót zwężenia. W nowej generacji stentów efekt ten został wyeliminowany poprzez pokrycie metalowego szkieletu cienką warstwą silikonu. Jednakże skuteczność leczenia z wykorzystaniem metalowych stentów samorozprężalnych została potwierdzona w wieloletnich badaniach klinicznych [6].

## Stenty tchawicze

Niedrożność górnych dróg oddechowych z powodu łagodnego lub złośliwego procesu nowotworowego jest bardzo częstym i poważnym problemem związanym ze stosunkowo dużą śmiertelnością. Leczenie operacyjne przynosi zadowalający efekt tylko u niewielkiej liczby pacjentów. Leczenie operacyjne jest ponadto możliwe tylko przy dobrym stanie ogólnym pacjenta, a w przypadkach nowotworów złośliwych powinno dawać perspektywę wyleczenia. Istnieją anatomiczne ograniczenia dotyczące długości odcinka tchawicy, który może być usunięty. W tych przypadkach jest rozpatrywane leczenie paliatywne z wykorzystaniem stentów. Upowszechnienie intensywnej terapii z wprowadzeniem przedłużonej intubacji lub tracheotomii stwarza dodatkową, dość liczną grupę pacjentów wymagających leczenia operacyjnego, względnie założenia stentu w miejsce zwężenia pointubacyjnego lub potracheotomijnego.

Najczęściej stosowanym typem stentów są sztywne stenty silikonowe oraz metalowe samorozprężalne, pokrywane silikonem lub poliuretanem o średnicach 8-16 mm i długości 26-49 mm. Hamują one jednak ruch rzęsek, dając zastój wydzieliny drzewa oskrzelowego w ich świetle i postępującą okluzję. Wadą tych stentów jest także ich skłonność do przemieszczania się. Przewaga metalowych stentów samorozprężalnych polega na:

- łatwości ich implantowania w znieczuleniu miejscowym,
- nie upośledzaniu drenażu wydzieliny drzewa oskrzelowego,

## Esophageal stents

A basic indication for esophagus stenting is non-resectable esophagus tumor or benign obstruction. A stenting technique is relatively simple and ensures a direct and lasting therapeutic effect. This method of treatment must be taken into consideration in 60% of patients with an esophagus cancer recognition. Nowadays two types of stents are widely used:

1) conventional stents (plastic) - a characteristic feature of this type of stents is a necessity of a dilation of esophagus lumen because a diameter of a stent is constant. The main disadvantage of this type of stents is that these bulky devices require general anesthesia for placement and have a high complication rate;

2) self-expanding metal stents made of the Cr-Ni-Mo stainless steel or shape memory alloys. The advantage of these stents in comparison to plastic ones is the smaller diameter. Thanks to this a large dilation of the stricture is not required what reduces a risk of the esophagus wall injury. Furthermore, the small diameter makes the stent "trackable". The effectiveness in patency reaches 90% and almost 100% in relation to esophageal fistulas [5]. However there are two basic problems related to the application of self-expanding stents. When the stent is expanded it can not be removed or repositioned. The second disadvantage is the tumor ingrowth causing restenosis. In the new generation of esophageal stents that problem was eliminated by silicon covered stents. However the effectiveness of self-expanding stents was confirmed in long-term clinical examinations [6].

## Tracheal stents

Upper airways obstruction due to either a benign or malignant tumor process is a common and serious clinical problem associated with considerable morbidity and mortality. A surgical treatment can relieve the obstruction only in the minority of patients. However such surgery requires a sufficient level of general condition to be safe, and in malignant tumor cases, prospects (of) a cure. There are anatomical limitations on the length of the trachea that can be resected. In these cases the treatment with the use of stents is considered. The most frequent used types of stents are rigid silicone stents and self-expanding metal stents covered with silicone or polyurethane. Diameters and lengths vary in the range of respectively 8-16 mm and 26 to 49 mm. The main disadvantage of silicon stents is a blocking of ciliary movement causing a secretionstasis of bronchial tree. The another disadvantage is susceptibility to migration. Advantages of metal stents are as follow:

- the ease of implantation in a local anesthesia,
- don't block a secretion drainage of the bronchial tree,
- possibility of ventilation even if another bronchi was covered by the stent,
- flexibility that allows the stent to fit to the bronchi shape,
- good tolerance by patients (direct restoration of airways patency - 85-90%).

## Urologic stents

The concept of using a stent to maintain patency of a urethra (an occlusion caused by a benign overgrowth of a prostate) was first described by Fabian in 1980. Nowadays this method is widely used in treatment of urethral strictures and its efficiency reaches 95% [7]. Benign or malignant tumor strictures of an ureter are another indication for

- możliwości wentylacji nawet w przypadku zakrycia ujścia innego oskrzela stentem,
- elastyczności umożliwiającej dostosowanie stentu do kształtu oskrzela,
- dobrej tolerancji przez pacjentów, dającej zdecydowaną poprawę drożności dróg oddechowych bezpośrednio po implantacji sięgającej 85-90%.

## Stenty urologiczne

Zabieg założenia stentu do cewki moczowej, przy jej okluzji spowodowanej łagodnym przerostem stercza, opisał po raz pierwszy Fabian w 1980 roku. Aktualnie metoda ta znalazła szerokie zastosowanie w leczeniu zwężeń cewki moczowej, a jej skuteczność sięga 95% [7]. Innym wskazaniem do implantacji stentu w urologii są łagodne lub nowotworowe zwężenia moczowodów, zwłaszcza u pacjentów zakwalifikowanych z leczenia operacyjnego. W urologii stenty wykorzystane są zarówno celem zniwelowania zwężeń zarówno cewkowych, jak i moczowodowych. W przeciwieństwie do zwężeń naczyniowych, w zwężeniach cewki moczowej występuje nieelastyczne zbliznowacenie wywołane uszkodzeniem nabłonka dróg moczowych. Zatem zwężenie może mieć różną długość oraz głębokość. Generalną ideą stosowania stentów w zwężeniach cewki moczowej jest umożliwienie szybkiego wynabłonkowania rozciętej blizny przy jednoczesnym zapobieganiu zwężeniu cewki.

Stenty do utrzymania drożności cewki moczowej dzieli się na:

- zakładane na stałe - o konstrukcji siatkowej, metalowe, wytworzone ze stali Cr-Ni-Mo lub stopów z pamięcią kształtu lub poliuretanowe. Implantacja stentu prowadzona jest pod kontrolą fluoroskopową lub endoskopową. Nierozprężony stent zakładany jest na balon, który w miejscu docelowym zostaje napęczniony, powodując rozprężenie stentu. Po założeniu, opróżniony balon wraz z cewnikiem wyciąga się. Śluzówka cewki przerasta stent, powodując jego inkorporację do ścianki cewki. Siła promieniowa rozprężonego stentu redukuje możliwość przemieszczania się wewnątrz cewki, a wrastający nabłonek zapobiega inkrustacji. Odbudowa śródbłonka inicjowana jest w 6 tygodniu po implantacji, a ostateczna odbudowa następuje po 6-12 miesiącach.
- zakładane czasowo - stanowią najczęściej stosowaną grupę. Najpopularniejsze stenty w tej grupie to: Urocoil - wykonany ze stali, o średnicy 26-32 Fr; Prostatkath - śródsterczowa spirala wykonana ze stali pokryta cienką warstwą 24 karatowego złota, zmniejszającego odczynu tkankowe i zapobiegającego inkrustacji. Średnica wynosi 21 Fr, a długość zmienia się w zakresie 45-85 mm,

Stenty wykorzystywane w zwężeniach moczowodowych wykonywane są z tworzyw sztucznych lub stopów metali. Długość tych stentów waha się w granicach 260 - 300 mm, natomiast średnica zmienia się w przedziale od 3 do 8 Fr.

the implantation of the stent especially in patients qualified for the surgical procedure. In urology stents are applied in (used) both urethra and ureter strictures. Unlike vascular lesions, urethral strictures consist of an inelastic scar tissue forming in response to injury of a urothelium. The resultant stricture can vary in length and depth of involvement. The general concept of using stents in urethral strictures is a possibility of a rapid epithelialization of the scar with simultaneous prevention of the urethral stricture. Stents used for urethral strictures are divided into two groups:

- permanent - mesh stents made of the Cr-Ni-Mo stainless steel or shape memory alloys or polyurethane. The implantation of the stent is realized with the use of a fluoroscopic or endoscopic control. The stent is mounted on a balloon which is inflated in the place of the stricture. The expanded stent exerts a radial force to the urethral wall which holds it in place. A mucosa of the urethra overgrows the stent causing its incorporation to the urethral wall. Endothelialization has been shown to begin by 6 weeks, and is complete by 6-12 months.

- temporary - these stents are the most frequently used. The most popular stents in this group are: Urocoil made of the Cr-Ni-Mo stainless steel of diameter 26 - 32 Fr; Prostatkath - an intraprostatic spiral made of the stainless steel covered by 24k gold for increasing tissue acceptance and preventing encrustation. The diameter is 21 Fr, and the length varies in the range 45 - 85 mm.

Stents used for ureteral strictures are made of plastics or metal alloys. The length of these stents is 260 - 300 mm however their diameter vary in the range of 3 Fr to 8 Fr.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Kim H.: Stenting therapy for stenosing airway diseases. *Respirology* 1998, 3(4), pp. 221-28.
- [2] Martin E.C., Katzen B.T., Swarten D.E., et al.: Multicenter trial of the Wallstent. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 1994, 17, p. 557.
- [3] Palmaz J.C., Laborde J.C., Rivera F.J. et al.: Stenting of the iliac arteries with the Palmaz stent: experience from a multicenter trial. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 1992, 15, pp. 291-97.
- [4] George B.S., Voorhees W. D., Roubin G.S. et al.: Multicenter investigation of coronary stenting to treat acute or threatened closure after percutaneous transluminal coronary angioplasty: clinical and angiographic outcomes. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1993, 22: 135-43.
- [5] Weigert N., Neuhaus H., Rosch T., Hoffmann W., Dittler H.J., Classen M.: Treatment of esophagorespiratory fistulas with silicone-coated self-expanding metal stents. *Gastrointest. Endosc.* 1995,41(5), pp. 490-496.
- [6] Kim JH, Yoo BM, Lee KJ, et al. Self-expanding coil stent with a long delivery system for palliation of unresectable malignant gastric outlet obstruction: a prospective study. *Endoscopy.* 2001;33: 838-842.
- [7] Anjum M.I., Chari R., Shetty A., Keen M., Palmer J.H.: Long term clinical results and quality of life after insertion of a self-expanding flexible endourethral prosthesis. *Br.J.Urol.*, 1997, 80(6), pp. 885-888.



# OCENA WPŁYWU WYBRANYCH DODATKÓW MODYFIKUJĄCYCH NA WŁAŚCIWOŚCI TRIBO- LOGICZNE KOMPOZYTU NA BAZIE ŻELAZA

MAŁGORZATA GRĄDZKA-DAHLKE, JAN R. DĄBROWSKI

WYDZIAŁ MECHANICZNY  
POLITECHNIKA BIAŁOSTOCKA W BIAŁYMSTOKU

## Wprowadzenie

Rozwój alloplastyki stawów uwarunkowany jest otrzymaniem materiałów, spełniających wysokie wymagania, dotyczące biotolerancji, odporności korozyjnej oraz odpowiednich właściwości mechanicznych wszczepów. Pomimo znaczących sukcesów w tej dziedzinie, nadal prowadzone są badania biomateriałów celem zapewnienia większej trwałości endoprotez. Istotnym zagadnieniem jest dobór materiałów na elementy węzła tarcowego, pozwalających na zminimalizowanie oporów ruchu i zużycia podczas tarcia. Interesującym rozwiązaniem jest zastosowanie metody metalurgii proszków (MP) do otrzymania przedstawionych w niniejszej pracy materiałów kompozytowych o nowych właściwościach tribologicznych [3,4,6]. Poprzez zastosowanie odpowiednich dodatków modyfikujących można uzyskać zmniejszenie współczynnika tarcia oraz zmniejszenie zużycia. Wybór modyfikatorów może być prowadzony w dwóch kierunkach:

- przez dodatek materiałów miękkich o własnościach smarowych, powodujących zmniejszenie współczynnika tarcia (np. azotek boru BN, grafit),
- dzięki zastosowaniu materiałów bardzo twardych, których dodatek zwiększa odporność na ścieranie spieków (np. hydroksyapatyt HAP, azotek krzemu  $Si_3N_4$ ).

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki modelowych badań materiałów kompozytowych na bazie proszków żelaza. W charakterze dodatków modyfikujących przyjęto heksagonalny BN oraz HAP. Azotek boru o sieci heksagonalnej pod względem budowy strukturalnej, właściwości termodynamicznych i mechanicznych przypomina grafit, dlatego też nazywany jest białym grafitem. Ze względu na swoje właściwości stosowany jest jako dodatek smarowy [1, 5]. Hydroksyapatyt jest materiałem o sprawdzonej biogodności, stosowanym od szeregu lat w wielu dziedzinach medycyny, m.in. w ortopedii, chirurgii szczękowej, chirurgii plastycznej jako materiał zastępczy kości [2].

## Materiały i metodyka badań

Badano materiały kompozytowe na bazie spieków z proszków żelaza ASC z 5, 10 i 15% objętościowym udziałem modyfikatorów: HAP i BNh. Materiały wykonano metodą MP. Proces technologiczny obejmował etapy prasowania i spiekania wstępnego oraz doprasowania i spiekania końcowego. Wartości nacisków przy prasowaniu wstępnym wynosiły 600 MPa, przy doprasowywaniu - 900 MPa. Spiekanie prowadzono w temp. 1150°C w atmosferze wodoru.

Badano wpływ dodatków na zagęszczalność i strukturę

# THE EVALUATION OF THE INFLUENCE OF CHOSEN MODIFYING ADDITIONS ON THE TRIBOLOGICAL PROPERTIES OF IRON BASED COMPOSITE

41

MAŁGORZATA GRĄDZKA-DAHLKE, JAN R. DĄBROWSKI

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING  
BIAŁYSTOK TECHNICAL UNIVERSITY

## Introduction

The development of joint alloplastics is conditioned by the acquisition of materials, which fulfill high demands of biotechnology, concerning biotolerancy, corrosion resistance and suitable properties of mechanical implants. Despite significant successes in this field, research concerning biomaterials aiming to ensure higher endoprosthesis endurance are still carried out. A choice of materials for friction pair elements allowing minimizing movement resistance and wear during friction is an important issue. The usage of powder metallurgy method (MP) to obtain composite materials of new tribological properties is an interesting solution described in this paper [3,4,6]. Through the use of adequate modifying additions it is possible to achieve the decrease of friction coefficient as well as the decrease of wear.

The choice of modifiers can be led in two directions:

- through the addition of soft materials of lubricant properties which cause the decrease of friction coefficient (e.g. boron nitride BN, graphite);
- through the usage of very hard materials, the addition of which increases the resistance to rubbing the sintered alloys off (e.g. hydroxiapatite HAP,  $Si_3N_4$ ).

In this paper the results of model research of composite materials based on iron powders were shown. In the capacity as modifying additions hexagonal BN and HAP were accepted. Boron nitride of hexagonal cell, when the structural build is taken into consideration, with its thermodynamical and mechanical properties reminds graphite, therefore it is called white graphite. Due to its properties it is used as lubricating additive [1, 5]. Hydroxyapatite is a material which biocompatibility has been confirmed and which has been used for many years as a replacement of bone material in many fields of medicine, e.g. orthopedic, jaw surgery, plastic surgery [2].

## Materials and research methods

Composite materials based on iron powder sinters ASC with 5, 10 and 15% volume contribution of modifiers: HAP and BNh were researched. Materials were produced with the usage of MP.

The technological process comprised ironing and initial sintering stages as well as final ironing and sintering. The pressure value during the initial ironing was 600 MPa, while during the final ironing - 900 MPa. The sintering was conducted in the temperature of 1150°C in the hydrogen atmosphere.

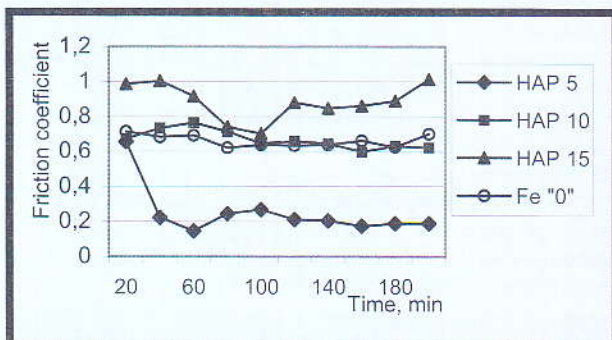
The influence of additions on condensation and the struc-

uzyskanych materiałów oraz na ich właściwości tribologiczne. Gęstość względną materiałów kompozytowych określało metodą wagową. Mikrotwardość oceniano metodą Hannemana na mikroskopie Neophot 10.

Badania tribologiczne przeprowadzono na symulatorze tarcia stawu biodrowego w Katedrze Materiałoznawstwa Politechniki Białostockiej [3]. Umożliwia on odwzorowanie dynamiki obciążeń, jakim poddawane są materiały w elementach trących sztucznych stawów (ruch cyklicznie zmienny z małymi prędkościami oraz zmienne naciski). Badano skorżenie: pierścień-tarcza przy ruchu obrotowo-rewersyjnym. Częstotliwość ruchu wynosiła 1 Hz, maksymalna prędkość poślizgu -  $v_{p\ max} = 0,018$  m/s. Obciążenie zadawane było w sposób sinusoidalny. Przeciwpółka w kształcie pierścienia wykonana była ze stali 4H13. Badania przeprowadzono w środowisku wody destylowanej w temperaturze pokojowej. Czas trwania pojedynczego pomiaru wynosił 180 min.

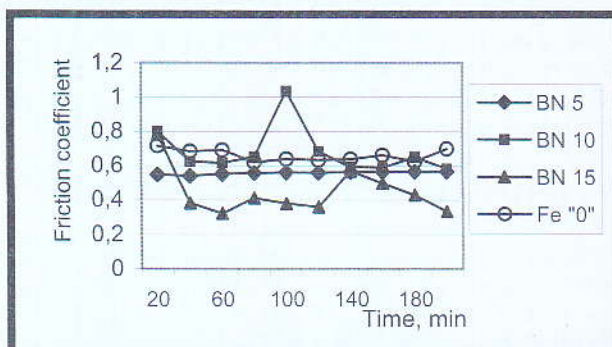
## Wyniki badań i dyskusja

Analiza uzyskanych wyników pokazuje, iż oba dodatki modyfikujące korzystnie wpływają na zagęszczenie spieków. Otrzymano materiały o gęstości względnej ok. 90-95%. Badania mikrostruktury i mikrotwardości materiałów wzdłuż osi próbek nie wykazują anizotropii struktury, jedynie tuż pod powierzchnią można zaobserwować nieznaczne zmniejszenie porowatości i wzrost mikrotwardości materiału.



RYS. 2. Wpływ hydroksyapatytu na właściwości tribologiczne kompozytu tribologiczne kompozytu.

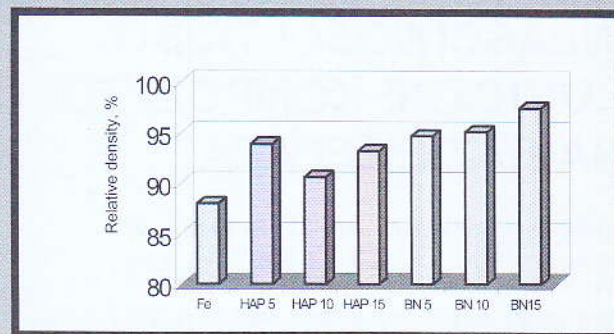
FIG. 2. The influence of hydroxyapatite on tribological properties of composite tribological properties of composite.



RYS. 2. Wpływ BN na właściwości tribologiczne kompozytu tribologiczne kompozytu.

FIG. 2. The influence of BN on tribological properties of composite tribological properties of composite.

ture of acquired materials as well as their tribological properties were researched. The relative density of composite materials was described through the usage of weight method. Microhardness was evaluated by the usage of Hanneman method on the microscopy Neophot 10.



RYS. 1. Wpływ dodatków modyfikujących na zagęszczalność spieków z proszków żelaza.

FIG. 1. The influence of modifying additions on compactibility of iron based composite.

## The results of research and discussion

The analysis of achieved results shows that both modifying additions have an advantageous influence on sinters condensation. Materials of relative density of 90-95% were obtained. Research of microstructure and microhardness of materials along the axis of the samples does not demonstrate the anisotropy of the structure, only just under the surface a minimal decrease of porosity and the increase of material microhardness can be observed.

On the basis of friction results analysis it can be stated that the influence of used additions on the tribological properties of sintered alloys varies. The best results were achieved for the composite with 5% addition of HAP: the friction coefficient was decreased 3 times in comparison to the non-modified material. The increase of HAP volume contribution caused the worsening of friction conditions. In the case of 10% content of HAP friction coefficients are comparable with non-modified material; for the composite with 15% content of HAP these are even higher. The research of the proportions of material used and the analysis of friction traces were confirmed by these results. On the sample containing 5% of HAP measurable wear was not observed, the friction trace was smoothed, the wear products filled pores of the sinter. In the case of higher proportion of modifier the wear was greater compared to the non-modified material. On the surface of friction traces of adhesive and fatigue wear were visible.

The application of BN as a modifier did not advantageously influence the tribological properties of the composite material. The value of friction and wear coefficients was comparable with the ones obtained for sintered alloys without any additions. What is more, the surfaces of samples did not demonstrate any quality changes of friction conditions, which may lead to the decrease of resistance movements.

## Conclusion

Powder metallurgy offers interesting technological solutions in the range of new implant materials acquiring. The

Na podstawie analizy wyników badań tarcowych można stwierdzić, że wpływ zastosowanych dodatków na właściwości tribologiczne spieków jest zróżnicowany. Najlepsze wyniki uzyskano dla kompozytu z 5% dodatkiem HAP: 3-krotne obniżenie współczynników tarcia w porównaniu z materiałem niemodyfikowanym. Wzrost udziału objętościowego HAP spowodował pogorszenie warunków tarcia. W przypadku 10% zawartości HAP współczynniki tarcia są porównywalne z materiałem niemodyfikowanym, dla kompozytu z 15% zawartością HAP - są jeszcze wyższe. Wyniki te potwierdziły badania wielkości zużycia materiału i analiza śladów tarcia. Na próbkę z 5% dodatkiem HAP nie zaobserwowano mierzalnego zużycia, ślad tarcia był wygładzony, produkty zużycia zapełniały pory spieku. W przypadku większej zawartości modyfikatora zużycie było większe w porównaniu z materiałem niemodyfikowanym, na powierzchniach tarcia widoczne były ślady zużycia adhezyjnego i zmęczeniowego.

Zastosowanie BN jako modyfikatora nie wpłynęło korzystnie na właściwości tribologiczne materiału kompozytowego. Wartości współczynników tarcia i zużycia były porównywalne z uzyskanymi dla spieku bez dodatków. Również obserwacje powierzchni próbek nie wskazywały na jakościowe zmiany warunków tarcia, prowadzące do obniżenia oporów ruchu.

## Wnioski

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

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że spośród badanych materiałów najlepsze właściwości wykazuje spiek z 5% dodatkiem hydroksyapatytu, zapewniając dobrą zagęszczalność materiału oraz znaczącą poprawę właściwości tribologicznych w porównaniu z materiałem niemodyfikowanym.

Dalsze badania powinny być przeprowadzone dla proszków materiałów implantacyjnych celem określenia optymalnego składu i parametrów technologicznych.

## Podziękowania

Praca wykonana w ramach projektu badawczego Nr PZ/WM/1/03.

controlled porosity and the possibility of constructing practically any new composite materials determine the basic advantages of this manufacturing technique, also important in the context of biofunctionality demands put to bone implants.

On the ground of obtained results it can be declared that the sintered alloy with 5% addition of hydroxyapatite has the best properties among materials researched, which ensures good material condensation as well as significant improvement of tribological properties in comparison with non-modified material

Further research should be conducted for the powders of implant materials in order to evaluate the optimal tribological composition and parameters.

## Acknowledgements

The work was a part of research project PZ/WM/1/03 from the Bialystok Technical University.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Baazi T., Knystautas E.J., Fiset M.: Tribomechanical properties of ion-implantation-synthesized BN films and their dependence on Ti-6Al-4V substrate hardness, *Surface and Coatings Technology*, vol. 72, Issue 1-2, (1995), pp. 120-127.
- [2] Cautier H., Hayakawa T., Naert I., Van Der W J.P.C.M., Wolke J.G.C., Jansen J.A.: Animal study on the bone behaviour of Ca-P-coated implants: Influence of implant location, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol.8, no 9, (1997), pp. 531-536.
- [3] Dąbrowski J.R., Dudarew A., Sajewicz E., Popko J.: Symulator tarcia w stawie biodrowym człowieka, III Sympozjum "Mechanika w Medycynie", Rzeszów 1996, s. 241-244.
- [4] Dąbrowski J.R., Oksiuta Z.: Porowaty materiał implantacyjny z proszku stopu typu Vitalium, *Inżynieria Materiałowa 2000*, nr 4, s. 174-179.
- [5] Faran E., Gotman I., Gutmanas E.Y.: Coating of BN via state reaction with Ti powder, *Material Letters* vol. 43, Issue 4 (2000), pp. 192-196.
- [6] Grądzka-Dahlke M.: The modification of tribological properties of an implant alloys by thin wear-resistant coatings, *Acta Mechanica Slovaca*, R.6, nr 2 (2002), s. 239-244.

## KOMPOZYTY POLISULFON / KRÓTKIE WŁÓKNO WĘGLOWE - BADANIA KOMÓRKOWE

BOŻENA KONIECZNA\*, BARBARA CZAJKOWSKA\*\*

\*AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,  
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,  
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW, KRAKÓW

\*\*UNIwersytet Jagielloński,  
KATEDRA IMMUNOLOGII COLLEGIUM MEDICUM, KRAKÓW

## POLYSULFONE / SHORT CARBON FIBRES COMPOSITES - CELLULAR INTERACTION STUDIES

BOŻENA KONIECZNA\*, BARBARA CZAJKOWSKA\*\*

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

\*\*JAGIELLONIAN UNIVERSITY COLLEGIUM MEDICUM, DEPARTMENT  
OF IMMUNOLOGY, KRAKOW, POLAND

Przedstawiona praca dotyczy badań biouzgodności polisulfonu oraz jego kompozytów z krótkimi włóknami węglowymi różniącymi się obecnością powierzchniowych aktywnych grup funkcyjnych. Wytworzone próbki kompozytowe kontaktowano z komórkami ludzkich fibroblastów i osteoblastów. Wykonano oznaczenia żywotności komórek metodą MTT oraz stężenia produkowanego kolagenu Typ I testem ELISA. Przeprowadzone badania wykazały różnicę odpowiedzi komórkowej w zależności od rodzaju badanego materiału.

**Słowa kluczowe:** polisulfon, włókna węglowe, kompozyty

## Wprowadzenie

Problemy zdrowotne związane z różnymi typami dysfunkcji oraz urazami towarzyszą pacjentom w każdym wieku. Dotyczą one zarówno uszkodzeń tkanek skóry, organów wewnętrznych, jak i narządów ruchu. We wszystkich przypadkach, gdy następuje ingerencja chirurga, do leczenia wykorzystywane są środki medyczne. Szczególne miejsce wśród nich zajmują biomateriały, których podstawowym komponentem są różnego typu polimery.

Do bardziej znanych i wielokrotnie badanych polimerów należy polisulfon. Posiada on wiele korzystnych cech, jak odporność na utlenianie i hydrolizę, odporność na działanie środowiska nieorganicznych roztworów kwasów, zasad i soli oraz wykazuje stabilność swojej masy cząsteczkowej [1]. Jego zaletą jest także inertność, dzięki której stosowany jest do produkcji butelek medycznych, aparatów oddechowych, a także elementów dializatorów, w tym membran do dializy [2, 3, 4]. Polisulfon dzięki swojej potwierdzonej biouzgodności i korzystnym oddziaływaniu w środowisku żywego organizmu, w połączeniu z włóknami węglowymi, których korzystny wpływ na żywy organizm był wielokrotnie opisywany w literaturze [5, 6], wykorzystywany jest do wytwarzania materiałów kompozytowych stosowanych w płytach, śrubach, protezach stawów oraz implantach kości [1, 7, 8, 9]. W projektowaniu takich materiałów dąży się w większości przypadków do uzyskania wysokich wartości wytrzymałości i modułu Younga. Jednakże wykorzystanie znanych polimerów, jakim jest polisulfon i wprowadzenie włókien węglowych różniących się typem i postacią, pozwala także na otrzymanie materiałów charakteryzujących się modułem Younga, wytrzymałością, a przede wszystkim odkształceniem zbliżonym do tkanek. Jest to szczególnie ważne w zastępowaniu tkanek miękkich i chrzęstnych, ale także i kostnych. Inną istotną cechą materiałów kompozytowych jest zmiana mikrostruktury oraz stanu powierzchni wynikająca z umieszczenia w polimerowej osnowie włókien węglowych różniących się ilością i charakterem grup powierzchniowych. Zespół wszystkich cech jakimi charakteryzują się polimerowe materiały kompozytowe wpływa także na ich właściwości biologiczne.

Celem pracy były badania biouzgodności w warunkach *in vitro* polisulfonu oraz jego dwóch kompozytów z krótkimi włóknami węglowymi.

## Materiały i metody

W badaniach zastosowano polisulfon (PSU) o wzorze ogólnym przedstawionym na RYS. 1. (Polisulfon, Aldrich Chemical Company Inc., Mw 26 000, nr kat. 37,429-6) rozpuszczony w chlorku metylenu (POCH S.A., Gliwice, kat.

## Abstract

The work deals with polysulfone biocompatibility investigation and its composites with short carbon fibres differ with surface active functional groups. The human fibroblast and osteoblasts cells were contacted with surfaces of composite samples. An MTT assay and Type I collagen concentration (ELISA) tests were carried out. Differences in cell response depending on the type of investigated materials have been presented.

**Keywords:** polysulfone, carbon fibres, composites

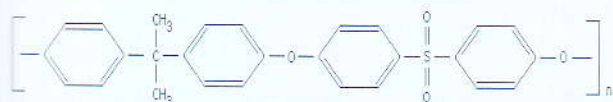
## Introduction

Healthcare problems related to various tissue damages, internal organ dysfunction and walking problems attend patients of all ages. In all cases, when surgical assistance is necessary, different medical aids are used to cure. Most of these are polymer-based materials intending a special group of biomaterials. One of the most well-known and widely investigated polymer is polysulfone, which possesses many favourable properties, like resistance to oxidation, hydrolysis, molecular weight changes as well as excellent stability in aqueous inorganic acids, alkalies and saline solutions. Further outstanding property is its inertness in living body, enabling its use as in medical bottles, respiratory sets and dialysis membranes [2, 3 and 4]. Due to confirmed biocompatibility and good living body interaction of polysulfone, its fastening with carbon fibres, which advantageous influence on living body were presented in literature data [5, 6], polysulfone composite materials have been used as plates, screws, joint replacements and bone implants [1, 7, 8, 9]. Designing of such biomaterials is mostly oriented towards obtaining of high-strength materials possessing Young's modulus, though it is not the only goal. However, using of well-known polymers as well as polysulfone, and placing carbon fibres differ with type and form, makes it possible to obtain implantable materials with controlled Young's modulus, strength and most of deformability fitted to surrounding tissue. This is important not only in curing soft and cartilage tissue but also on bone implants. The other important property of composite materials make it possible to microstructure change and surface properties modify due to place carbon fibres in polymer matrix differ with amount and kind of surface functional groups. The feature of polymer composite materials influence on their biological properties.

The aim of this work was to investigate the polysulfone biocompatibility and its two composites with short carbon fibres.

## Materials and methods

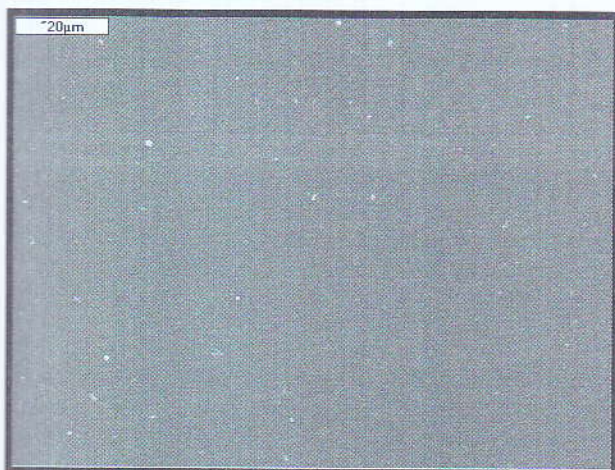
Polysulfone (PSU, Aldrich Chemical Company Inc., USA, Mw 26 000, cat. no. 37,429-6) solution in dichloromethane (POCH S.A., Gliwice, Poland, cat. no. 62841014) has been used in experiments. Structural formula of PSU is shown in FIG. 1. Two types of carbon fibres, namely: FT-300 (no sizing, Soficar, France) and carbon fibres manufactured in AGH-UST, Department of Biomaterials (PAN carbonized at 1250°C, oxidized for 1 h in concentrated nitric acid), differing with surface active functional groups have been used in experiments. Composite samples with 4 wt. % of ground carbon fibres in polysulfone have been obtained using the PSU solution. Solvent evaporation from Petri's dishes (freely and in vacuum) has been done. Two kinds of composite



**RYS. 1. Wzór strukturalny PSU.**  
**FIG. 1. Structural formula of PSU.**

nr 62841014).

Wykorzystano dwa rodzaje włókien węglowych: FT-300 (bez preparacji, Soficar, Francja) oraz włókna węglowe otrzymane w Katedrze Biomateriałów AGH (PAN zwęglany w temperaturze 1250°C, godzinna obróbka w stężonym kwasie azotowym) różniące się obecnością powierzchniowych aktywnych grup funkcyjnych. Mielone włókna węglowe w ilości 4% wagowych łączono z roztworem polimeru. Odparowanie rozpuszczalnika (swobodne i próżniowe) następowało na szalce Petriego. Dalszym badaniom poddano próbki materiałów kompozytowych oznaczonych jako KF (z włóknami FT-300) oraz KAGH (z włóknami AGH). Próbką odniesienia był czysty polisulfon (PSU). Badania powierzchni wykonano za pomocą mikroskopu elektronowego SEM. Krążki wycięte z otrzymanych materiałów poddano badaniom komórkowym. Materiały kontaktowano z komórkami ludzkiej linii fibroblastycznej HS-5 oraz linii osteoblastycznej hFOB 1.19. Przeprowadzono oznaczenie żywotności metodą MTT obu typów komórek oraz stężenia kolagenu typ I testem ELISA po czasie 7 dni.



**RYS. 2. Mikrofotografia SEM, powierzchnia PSU, pow. 1000 x.**  
**FIG. 2. SEM micrograph, surface of PSU, 1000 x.**

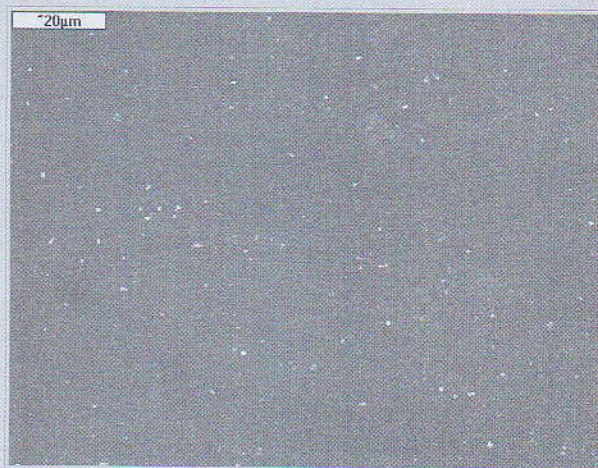
## Wyniki i dyskusja

Mikrofotografie SEM powierzchni polimeru oraz kompozytów przedstawiono na RYSUNKACH 2, 3 oraz 4. Wyniki badań biologicznych in vitro przedstawiono na RYS. 5 i 6.

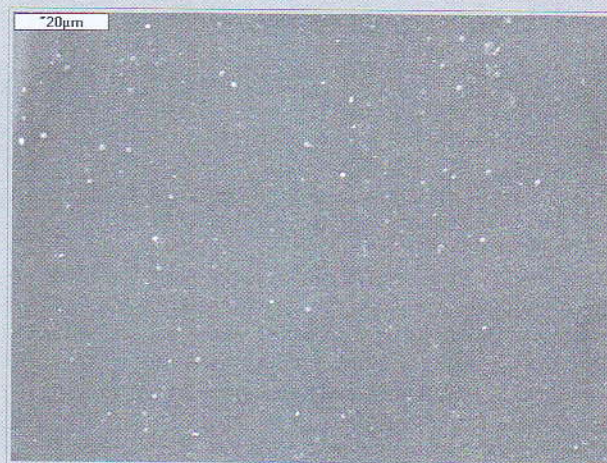
Wykresy przedstawiają procentową ilość przeżywających komórek i wyprodukowanego przez nie kolagenu, przyjmując 100% dla komórek kontroli. Dopuszczalny błąd pomiaru wynosi 5%.

Badane powierzchnie polisulfonu oraz dwóch jego kompozytów z krótkim włóknem węglowym nie różnią się od siebie. Pomiędzy materiałami brak jest istotnych różnic w obrazach mikrostruktury. Natomiast wyniki badań biologicznych wskazują na różnice w odpowiedzi komórkowej, a tym samym na inną biogodność z różnymi komórkami. Przeżywalności fibroblastów jak i osteoblastów różnią się, w za-

samples based on carbon fibres and polysulfone, namely: KF (with FT-300 fibres) and KAGH (with AGH fibres) have been obtained. The pure cast polysulfone has been used as the reference sample. Surface investigations have been done by scanning electron microscope. Cell tests of manufactured composite samples in the shape of disc have been investigated. MTT assays were carried out in the presence of hFOB-1.19-line human osteoblasts and HS-5-line human fibroblasts. The level of collagen produced after 7 days by both types of cells by ELISA test has been determined.



**RYS. 3. Mikrofotografia SEM, powierzchnia kompozytu KF, pow. 1000 x.**  
**FIG. 3. SEM micrograph, surface of KF composite, 1000 x.**

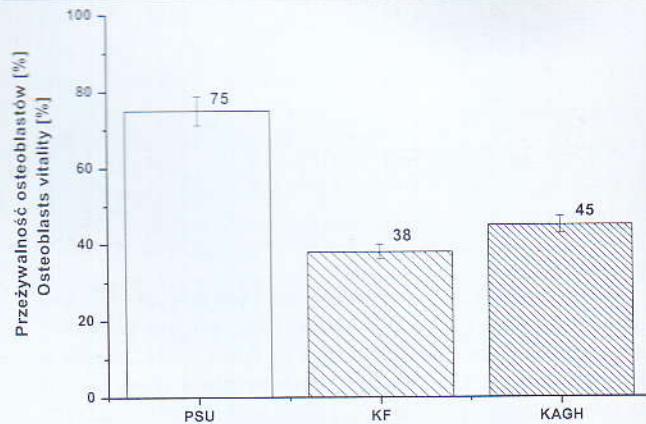
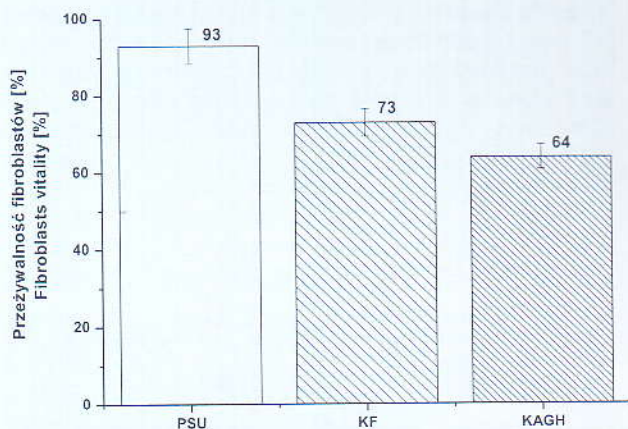


**RYS. 4. Mikrofotografia SEM, powierzchnia kompozytu KAGH, pow. 1000 x.**  
**FIG. 4. SEM micrograph, surface of KAGH composite, 1000 x.**

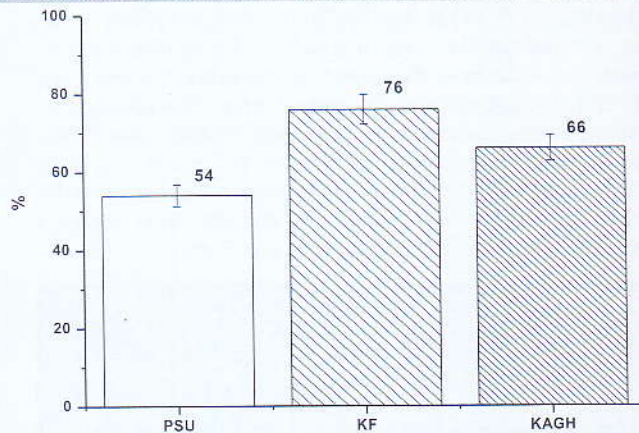
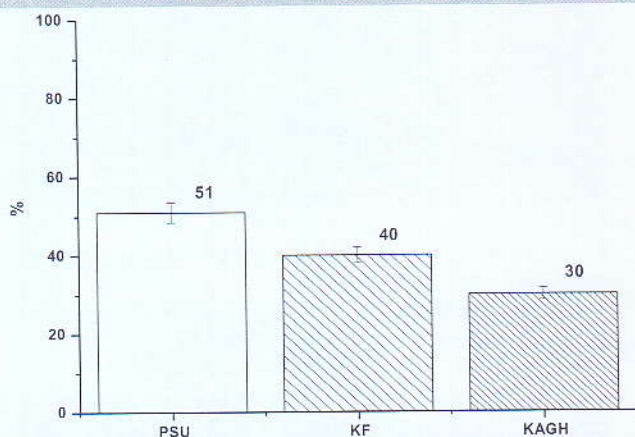
## Results and discussion

SEM micrographs of polymer and composite surfaces are shown in FIGURES 2, 3 and 4. Results of in vitro studies are presented in FIG. 5 and 6. Bars represent percentage values of cells vitality and level of collagen produced by these cells, assuming 100% for control cells surviving. Acceptable test error is 5%.

Investigated surfaces of polysulfone and its two composites with short carbon fibres are not differ from each other. The important differences between samples are not visible



RYS. 5. Przeżywalność fibroblastów i osteoblastów w kontakcie z badanymi materiałami.  
FIG. 5. Vitality of fibroblasts and osteoblasts on the surfaces of investigated materials.



RYS. 6. Poziom kolagenu (%) wydzielonego przez fibroblasty i osteoblasty hodowane na powierzchni badanych materiałów w odniesieniu do ilości wyprodukowanej przez komórki kontroli.  
FIG. 6. The level of the collagen (%), produced by fibroblasts and osteoblasts on the investigated materials surfaces normalized relevant to the level of control.

leżności od rodzaju materiału. Wyższa przeżywalność komórek obserwowana jest w kontakcie z fibroblastami, jednakże poziom wyprodukowanego przez nie kolagenu jest dużo niższy niż dla osteoblastów. Wyniki te wskazują na selektywne oddziaływanie materiałów kompozytowych z komórkami osteoblastów.

Przeprowadzone badania pokazują, że pomimo braku istotnych różnic w obrazach powierzchni, istnieją czynniki, które wpływają na charakter odpowiedzi komórkowej. Jednym

z nich jest wprowadzenie włókien węglowych do biodegradablego polimeru. Zastosowanie mikroskopii elektronowej SEM nie pozwoliło na wytłumaczenie różnic biodegradacji badanych materiałów. Jednakże badania powinny być kontynuowane na poziomie struktury materiałów przy wykorzystaniu zaawansowanych metod analizujących stan powierzchni.

## Podziękowania

Praca finansowana z grantu nr PBZ/KBN/082/T08/2002.

in the SEM micrographs. However, results of biological investigation exhibit differences in cell response. It means that materials have not the same biocompatibility after interaction with different cells. Vitality of fibroblasts and osteoblasts differ with type of materials. Higher vitality is observed after interaction with fibroblasts, but the level of collagen produced by these cells is lower, in comparison with osteoblasts. Results presented in the work indicate selective influence of composite materials on osteoblasts cells.

The studies have shown lack of significant differences in microstructure, however factors, which influence on sort of cell response exist. One of them is addition of carbon fibres to biocompatible polymer. Using of electron microscope technique not provide to explanation differences in biocompatibility of investigated materials. However, research should be continued on the level of materials structure by means of advanced methods of surface analyses.

## Acknowledgements

The work was supported by KBN grant No PBZ/KBN/082/T08/2002.

## Piśmiennictwo

- [1] Min Wang, "Developing bioactive composite materials for tissue replacement", *Biomaterials*, Volume: 24, (2003), pp. 2133-2151.
- [2] Nishimura T., "Polymer materials for blood purification", Tsuruta T., Hyashi T., Kataoka K., Ishihara K., Kimura Y., (Ed.) *Biomedical application of polymeric materials*, (1993), pp. 191-218 CRC Press, Boca Raton, FL.
- [3] Zhao C.S., Liu T., Lu Z.P., Chen L.P., Huang J., "Evaluation of polyethersulfone hollow fiber plasma separator by animal experiments", *Artif Organs*, Volume: 25, (2001), pp. 60-63.
- [4] Changsheng Zhao, Xiangdong Liu, Motoyoshi Nomizu, Norio Nishi, "Blood compatible aspects of DNA-modified polysulfone membrane-protein adsorption and platelet adhesion", *Biomaterials*, Volume: 24, (2003), pp. 3747-3755.
- [5] Pampuch R., Błażewicz S., Chłopek J., Powroźnik A., Wajler

- C., Pamuła E., "Włókniste i kompozytowe materiały węglowe", *Inżynieria Materiałowa*, Volume 5, (1993), pp. 116-118.
- [6] Błażewicz M., *Węgiel jako biomateriał*, Prace komisji Ceramicznej PAN, Ceramika 63, 2001.
- [7] Teoh S.H., Tang Z.G., Hastings G.W., "Thermoplastic polymers in biomedical applications - structures, properties and processing", Black J., Hastings G., (Ed.) *Handbook of biomaterial properties*, (1998), Chapman & Hall, London.
- [8] Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J., Lemons J.E., editors "Biomaterials science: an introduction to materials in medicine", San Diego: Academic Press, 1996.
- [9] Ramakrishna S., Mayer J., Wintermantel E., Kam W. Leong, "Biomedical applications of polymer-composite materials: a review", *Composites Science and Technology*, Volume: 61, (2001), pp. 1189-1224.

## ZMIANA TWARDOŚCI POLIETYLENU W IMPLANTOWANYCH PANEWKACH ENDOPROTEZ STAWU BIODROWEGO

JANUSZ OTFINOWSKI\*, JOANNA KOWAL\*\*, ANNA ŻMIHORSKA-GODFRYD\*\*\*

\*KLINIKA REHABILITACJI,  
COLLEGIUM MEDICUM UNIwersYTETU JagIELLOŃSKIEGO.  
\*\*ZAKŁAD CHEMII FIZYCZNEJ I ELEKTROCHEMII  
WYDZIAŁU CHEMII UNIwersYTETU JagIELLOŃSKIEGO.  
\*\*\*ZAKŁAD TECHNOLOGII TWORZYW SZTUCZNYCH,  
WYDZIAŁ CHEMICZNY, POLITECHNIKA RZESZOWSKA, RZESZÓW

### Streszczenie

*Autorzy przedstawili w pracy wyniki badania twardości próbek polietylenu pochodzącego z panewek endoprotez stawu biodrowego, usuniętych od chorych podczas operacji rewizyjnych, wykonanych po różnie długich okresach implantacji. Stwierdzono wyraźny spadek twardości materiału po jego implantacji do organizmu. Nie stwierdzono natomiast prostej zależności pomiędzy stopniem utraty twardości a czasem eksploatacji endoprotezy.*

Stosowane w chirurgii ortopedycznej biomateriały musi cechować wyjątkowo duża wytrzymałość mechaniczna. Dotyczy to zwłaszcza materiałów używanych do produkcji endoprotez stawów, które poddawane są w trakcie ich eksploatacji dużym obciążeniami zarówno statycznym, jak i dynamicznym. Powszechnie stosowanym materiałem implantacyjnym w chirurgii ortopedycznej jest polietylen stanowiący integralną składową większości stosowanych protez stawów. Z licznych już publikacji wiadomo, że materiał ten podlega w trakcie eksploatacji w organizmie znacznym zmianom fizykochemicznym dotyczącym jego struktury krystalicznej, jak również składu chemicznego [1, 3, 4, 5].

Powstaje pytanie, czy obserwowanym zmianom składu i struktury implantowanego polietylenu towarzyszą także zmiany jego własności mechanicznych. Aby odpowiedzieć

## CHANGING HARDNESS OF POLYETHYLENE IN ACETABULAR CUPS OF HIP JOINT PROSTHESES

JANUSZ OTFINOWSKI\*, JOANNA KOWAL\*\*, ANNA ŻMIHORSKA-GODFRYD\*\*\*

\*KLINIKA REHABILITACJI,  
COLLEGIUM MEDICUM UNIwersYTETU JagIELLOŃSKIEGO.  
\*\*ZAKŁAD CHEMII FIZYCZNEJ I ELEKTROCHEMII  
WYDZIAŁU CHEMII UNIwersYTETU JagIELLOŃSKIEGO.  
\*\*\*ZAKŁAD TECHNOLOGII TWORZYW SZTUCZNYCH,  
WYDZIAŁ CHEMICZNY, POLITECHNIKA RZESZOWSKA, RZESZÓW

### Abstract

*The authors presented results of hardness tests on polyethylene samples taken from the acetabular cups of hip prostheses. The polyethylene cups were removed from patients at the time of hip revision surgery performed after different periods of prostheses exploitation. The results showed significant decrease of hardness of implanted polyethylene in comparison with new one but there was no direct dependence between the level of decrease and duration of prosthesis implantation.*

Biomaterials used in orthopaedic surgery must be characterized by exceptionally high mechanical strength. This is particularly crucial for materials used to produce joint endoprostheses, which are exposed to high static and dynamic load during the period of use. A commonly used implantation material in orthopaedic surgery is polyethylene, being an integral constituent of most joint prostheses. Many publications have demonstrated that, being implanted in the human organism, this material is exposed to significant physical and chemical changes both in its crystalline structure and chemical composition [1, 3, 4, 5].

A question arises whether the observed changes in the implanted polyethylene composition and structure are also accompanied by changes in its mechanical properties. In

na to pytanie przeprowadziliśmy badania twardości próbek polietylenu, pochodzących z używanych panewek endoprotez stawu biodrowego, usuniętych od chorych w trakcie operacji rewizyjnych.

## Materiał i metodyka

Do badań użyto 8 próbek polietylenu o wysokiej masie cząsteczkowej UHMWPE (Ultra High Molecular Weight Polyethylene) pochodzącego z panewek endoprotez stawu biodrowego tego samego typu endoprotezy. Jedna próbka, oznaczona numerem 0, pochodziła z nowej, nie używanej panewki, natomiast pozostałe 7 pochodziło z panewek używanych, usuniętych od chorych po różnie długich okresach implantacji, wynoszących od 14 do 96 miesięcy. Przygotowane próbki miały kształt płaskich pierścieni grubości 4 mm, o gładkich równoległych powierzchniach. Pomiar twardości UHMWPE wykonano w oparciu o PN-93/C-89030/01 metodą wciskania kulki przy pomocy aparatu Brinella [2]. Twardość -H- wg tej metody jest definiowana jako iloraz obciążenia i powierzchni odcisku spowodowanego przez kulkę po określonym czasie działania tego obciążenia [2,6].

$$H = \frac{F}{\pi Dh}$$

gdzie:

H - twardość, [N/mm<sup>2</sup>]

D - średnica kulki, 5 mm

h - głębokość odcisku, [mm]

F - obciążenie, [N].

Nr próbki	Czas eksploatacji [miesiące]	Twardość [MPa]
0	0	24,56
1	14	16,58
2	24	13,46
3	24	10,59
4	36	12,21
5	60	16,06
6	72	12,55
7	96	14,59

TABELA 1. Twardość panewek polietylenowych wyznaczona metodą wciskania kulki przy pomocy aparatu Brinella.

## Wyniki

Uzyskane wyniki dla próbek pochodzących z endoprotez nie używanych i używanych zestawiono w TABELI 1 oraz na RYSUNKU 1.

## Omówienie

Liczne publikowane dotąd dane wykazały, że implantowany do organizmu ludzkiego polietylen zmienia z czasem swoje właściwości fizykochemiczne. Wykazano, że zmia-

order to answer this question, we have conducted hardness tests on polyethylene samples taken from used acetabular cups of hip joint prosthesis removed from patients during revision operations.

## Material and methodology

8 high molecular weight polyethylene samples (UHMWPE - Ultra High Molecular Weight Polyethylene) taken from the same type of hip joint prosthesis were used for the tests. One sample, marked by 0, came from a new, not used polyethylene cup, while the remaining 7 came from used cups, removed from patients after different periods of implantation, ranging from 14 to 96 months. The prepared samples had a shape of 4 mm thick flat rings, with smooth parallel surfaces. UHMWPE hardness test was made on the basis of PN-93/C-89030/01 using the method of ball impressing with a Brinell apparatus (2). According to this method, hardness -H- is defined as a quotient of load and surface of the ball impression after a specific time of impressing [2,6].

$$H = \frac{F}{\pi Dh}$$

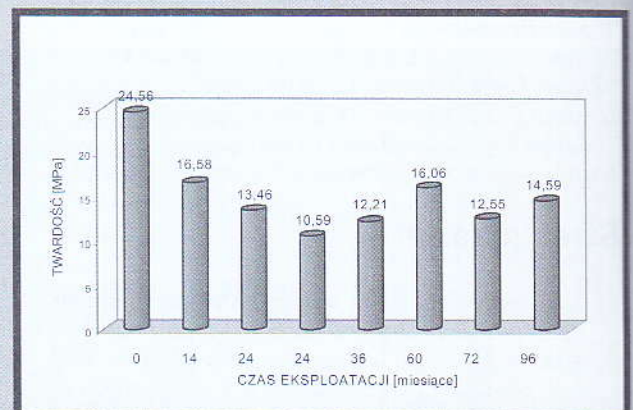
where:

H - hardness, [N/mm<sup>2</sup>]

D - diameter of the ball, 5 mm

h - depth of impression, [mm]

F - load, [N].



RYS. 1. Zależność twardości polietylenu od czasu eksploatacji endoprotez.

## Results

The results of hardness tests on polyethylene taken from new and used cups are presented on TABLE 1 and FIGURE 1.

## Discussion

Many past publications have proved that polyethylene implanted in the human organism changes its physical and chemical properties with time. It has been proved that its



nie ulega jego struktura krystaliczna, a także skład chemiczny [4,5]. Przedstawione powyżej wyniki przeprowadzonych przez nas pomiarów wykazują, że zmianie ulega również twardość implantowanego materiału. Z zestawienia w TABLE 1 wyraźnie widać, że w trakcie eksploatacji endoprotez stawu biodrowego twardość polietylenu tworzącego panewki ulega wyraźnemu obniżeniu. Stwierdzenie tego faktu ma istotne znaczenie, gdyż twardość materiału, zwłaszcza w przypadku endoprotezy stawu biodrowego, ma decydujący wpływ na jego właściwości eksploatacyjne i trwałość wyniku przeprowadzonej operacji. Nieuniknionym następstwem obniżenia twardości polietylenu będzie bowiem większa podatność panewki na odkształcanie. W tej sytuacji ucisk metalowej główki protezy może spowodować trwałą deformację polietylenowej panewki powodując inkongruencję implantowanego stawu. Może to spowodować nierównomierny rozkład obciążeń prowadzący do szybszego zużycia polietylenu w miejscach nadmiernie obciążanych. Efektem tego będzie nadmierne szybkie zużycie materiału powodujące uwalnianie dużej ilości ściieranego materiału do otaczających tkanek. Wyzwalacz to może miejscowe reakcje zapalne prowadzące do szybszego obłuzowania wszczepionej endoprotezy stawu biodrowego [7].

Analiza przedstawionych wyników wykazuje wyraźny brak korelacji pomiędzy stopniem utraty twardości a czasem eksploatacji polietylenu w organizmie - RYS.1. Wynika z tego, że, podobnie jak zmiany chemiczne, tak i zmiany właściwości mechanicznych polietylenu przebiegają w sposób przypadkowy i nieuporządkowany. Świadczy to o niedoskonałości polietylenu jako materiału implantacyjnego, zwłaszcza w przypadkach, gdy ma być poddawany dużym obciążeniom mechanicznym, jak to ma miejsce endoprotezach stawu biodrowego.

## Wnioski

1. Twardość polietylenu ulega wyraźnemu zmniejszeniu po jego implantacji do organizmu ludzkiego.
2. Nie stwierdzono prostej korelacji pomiędzy twardością materiału a czasem implantacji.

## Piśmiennictwo

- [1] Balcerowiak W., Otfinowski J., Pawelec A. Analiza przyczyn przedwczesnego zużycia polietylenowych panewek endoprotez stawu biodrowego. *Inżynieria Biomateriałów*. 2000, Nr. 9, 14-17.
- [2] Broniewski T., Kapko J., Płaczek W., Thomalla J.: Metody badań i ocena właściwości tworzyw sztucznych, wyd. II zmienione, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa, 2000.
- [3] Otfinowski J., Pawelec A.: Wady polietylenu jako przyczyny niepowodzeń w alloplastyce stawu biodrowego. *Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol.*, 1997, 6, 505-510.
- [4] Otfinowski J., Pawelec A.: Changing crystallinity of polyethylene in the acetabular cups of Weller hip prosthesis. *J. Bone Joint Surg.*, 1995, 77-B, 802-805.

crystalline structure and chemical composition change [4,5]. The aforementioned results of our tests prove that the implanted material hardness is also subject to change. Data in TABLE 1 and FIGURE 1 clearly show that during the period of use of hip joint endoprosthesis, the hardness of polyethylene gets significantly reduced. This fact is of great importance, as material hardness, especially in the case of hip joint endoprosthesis, has a principal effect on its operating properties and durability of the operation. An inevitable effect of reduced polyethylene hardness will be greater acetabular cup susceptibility to deformation. In this situation, the pressure of metal prosthesis head may lead to permanent polyethylene cup deformation, resulting in implanted joint incongruence. This may cause unequal load balance, leading to faster polyethylene wear in places of excessive load. An effect will be too fast material wear, making great quantities of abraded material be released to the neighbouring tissues. This may cause local inflammatory reactions leading to faster loosening of the implanted hip joint prosthesis [7].

The analysis of the results presented above shows a significant lack of correlation between the degree of hardness loss and the time of polyethylene implantation in the organism. This prompts a conclusion that changes in polyethylene mechanical properties, like the chemical changes, have an accidental and unordered character. This proves imperfection of polyethylene as an implantation material, especially in situations when it is exposed to high mechanical load, as in the case of hip joint prosthesis.

## Conclusions

1. There is significant reduction in hardness of polyethylene in implanted hip prosthesis.
2. There is significant lack of correlation between the degree of hardness decrease and duration of prosthesis implantation.

## References

- [5] J. Otfinowski, J. Kowal, B. Czajkowska, A. Więcek, A. Pawelec, B. Frańczuk. - Zmiany struktury chemicznej wysokocząsteczkowego polietylenu - UHMWPE -w implantowanych endoprotezach stawu biodrowego. *Inżynieria Biomateriałów*. 2001, Nr 14, str: 7-9
- [6] Polski Komitet Normalizacji, Miar i Jakości: PN-93/C-89030/01 Tworzywa sztuczne. Oznaczanie twardości metodą wciskania kulki, Wydawnictwa Normalizacyjne "ALFA", Warszawa, 1993.
- [7] Z. Rudzki, J. Otfinowski, J. Stachura - The histological appearance of the periprosthetic capsule in failed total hip arthroplasty differs depending on the presence of polyethylene acetabulum damage, Iliac bone injury and presence of infection. *Patologia Polska*, 1996, 47, 1, 19-25.

# EKSPERYMENTALNE BADANIA GWOŹDZI ŚRÓDSZPIKOWYCH RYGLOWANYCH

J. MARCINIAK\*, R. BĘDZIŃSKI\*\*,  
L. J. JANKOWSKI\*\*, W. CHRZANOWSKI\*

\*CENTRUM INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ,  
UL. AKADEMICKA 2A, 44-100 GLIWICE

\*\*POLITECHNIKA WROCŁAWSKA, UL. ŁUKASIEWICZA 7/9, 50-371  
WROCŁAW

## Wstęp

W grupie metod leczenia złamań i zaburzeń zrostu kości długich obok zespołów płytkowych najczęściej stosowana jest osteosynteza śródspikowa. Z biomechanicznego punktu widzenia [1] gwoździowanie śródspikowe wykazuje wiele zalet [2]. Popularność gwoździowania śródspikowego ryglowanego wynika z faktu dużego obszaru jego stosowania oraz pozytywnych wyników leczenia [2].

Dominującą rolę w procesach naprawczych tkanki kostnej spełniają mikroruchy w szczelinie złamania. Odpowiednio dobrana podatność zespolenia zapewnia występowanie względnych, niewielkich ruchów odłamów. Przemieszczenia w kierunku poosiowym nie powinny przekroczyć wartości 0,8 mm [3], natomiast w kierunku poprzecznym powinny być bliskie zera, aby nie doprowadzić do ścinania tworzącego się regeneratu kostnego. Gwoździe śródspikowe, ze względu na umiejscowienie dokładnie w anatomicznej osi kości oraz dobre osadzenie w jamie szpikowej, zapewniają występowanie mikroruchów w szczelinie złamania, sprzyjając tym samym procesom naprawczym.

W pracy przedstawiono analizę wpływu sposobu ryglowania na wartość przemieszczeń odłamów kostnych oraz elementów systemu gwoździowania.

## Metodyka badań

Badania prowadzono na modelach kości udowej firmy Sawbone o własnościach mechanicznych:  $E=18600$  MPa,  $\nu=0.3$  [4]. W pierwszym etapie analizie poddano sam model kości. Następnie model został przecięty, co symulowało złamanie, a do kanału szpikowego wprowadzono gwoździe śródspikowe produkcji B.H.H. Mikromed o wymiarach 360x11. Badaniom poddano modele o zróżnicowanym sposobie ryglowania - RYS. 1. Dodatkowo, na końcach śrub ryglujących umieszczono znaczniki w postaci tarcz, w celu wyznaczenia przemieszczeń śrub ryglujących w układzie kość-gwoździe.

W celu przeprowadzenia badań eksperymentalnych na fizycznym modelu kości zbudowano stanowisko badawcze, które umożliwiło realizację obciążenia modelu trzema grupami sił (wypadkowa na główce R, reakcja sił mięśniowych gluteusów M, pasmo biodrowo piszczelowe T) - RYS. 2, 3. Wartości przemieszczeń układu kość-udowa-gwoździe śródspikowe mierzono metodą fotografii plamkowej. Stosując technikę dwuekspozycyjną, rejestrowano obrazy plamkowe, powstałe w wyniku oświetlenia dyfuzyjnej powierzchni badanego obiektu, przed i po jej przemieszczeniu (wywołanym obciążeniem). Uzyskane w ten sposób plamkogramy poddano analizie punktowej oraz polowej. Pomiary prze-

# EKSPERIMENTAL INVESTIGATION ON INTRAMEDULLARY NAIL

J. MARCINIAK\*, R. BĘDZIŃSKI\*\*,  
L. J. JANKOWSKI\*\*, W. CHRZANOWSKI\*

\*SILESIA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, BIOMEDICAL ENGINEERING  
CENTRE, UL. AKADEMICKA 2A, 44-100 GLIWICE

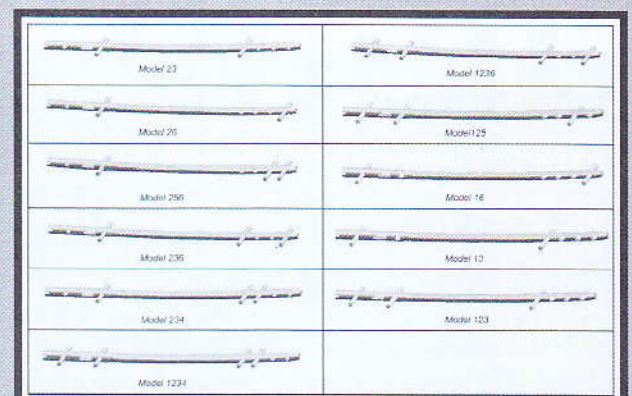
\*\*WROCLAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, UL. ŁUKASIEWICZA 7/9,  
50-371 WROCŁAW

## Introduction

In the treatment methods of a bone fracture and trouble in union of fractured bone besides of a plate fixation, an intramedullary nailing is the most often used. From the biomechanical point of view intramedullary locked nailing has a lot of advantages [1,2]. The popularity of the nailing comes from the wide range of using it and positive results of the treatment [2].

A dominant role in the healing process of fractured bone has micromovements in the fracture gap. Adequately matched elasticity of the implant ensures relative, small movements of the bone fragments. The displacement in the axial direction should not be higher than 0,8 mm [3], whereas in the transverse direction should be close to zero, not to cut down forming new osseous tissue. Placing intramedullary nail exactly in the anatomical axis of the bone ensures micromovements' occurrence that favors repair processes in the fractured bone.

The paper presents the analysis of the influence of the locking way on the displacement value of the bone fragments and the nail system.

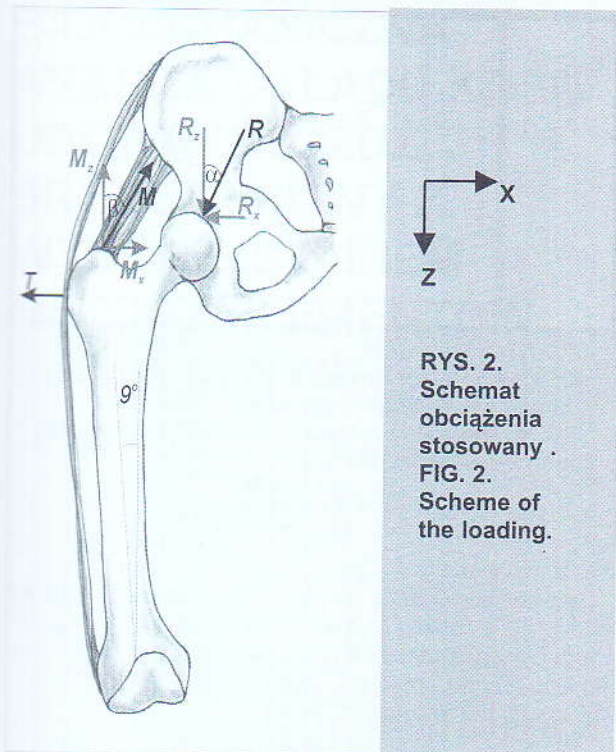


RYS. 1. Schematy ryglowania badane doświadczalnie.

FIG. 1. Analysed locking version.

## Methods

The investigations were carried out on the Sawbone's femoral bone that has following properties:  $E=18600$  MPa,  $\nu=0,3$  [4]. In the first stage the bone model was analyzed. Then the bone was cut that simulated the fracture. The nail 360x11 produced by B.H.H. Mikromed was put into the



RYS. 2.  
Schemat  
obciążenia  
stosowany .  
FIG. 2.  
Scheme of  
the loading.

prowadzono przy obciążeniu wstępnym  $G=200$  N), stosując przyrost obciążenia między ekspozycjami wynoszący 20 N.

## Wyniki badań

W wyniku przeprowadzonych badań wyznaczono wielkości przemieszczeń układu kość udowa-gwóźdź śródszpikowy w kierunkach osiowym (Z) oraz poprzecznym do kości (X).

Wyniki pomiarów przemieszczeń dla różnych sposobów ryglowania zestawiono w TABELI 1.

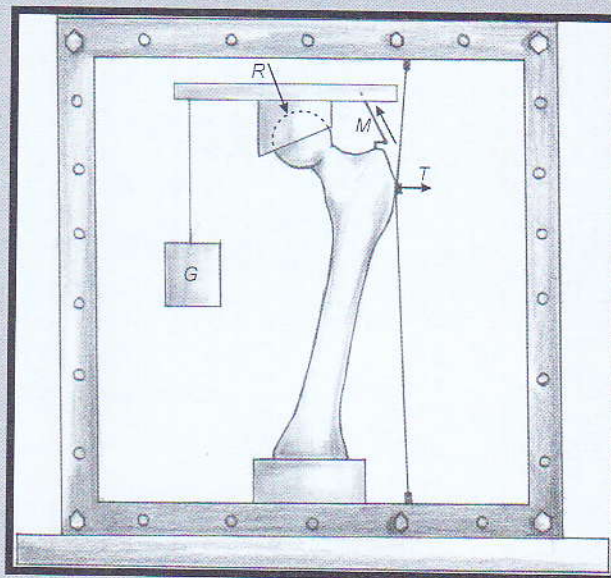
Z przeprowadzonych analiz wynika, że dla poszczególnych par układów ryglowania 23-123, 234-1234, 26-256 przemieszczenia są zbliżone co wskazuje, iż wprowadzenie dodatkowego rygla do odłamu dalszego lub bliższego nie wpływa znacząco na wielkości przemieszczeń.

Dodatkowo stwierdzono, że zwiększenie odległości wprowadzenia rygla od szczeliny złamania wpływa na zmniejszenie przemieszczeń w kierunku poprzecznym. Pomiar przemieszczeń śrub ryglujących wskazuje na ich uginanie się podczas przenoszenia obciążeń, dotyczy to w szczególności śrub znajdujących się w pierwszych zaryglowanych otworach w odłamie bliższym i dalszym.

## Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonej analizy można sformułować następujące uogólnienia: sposób ryglowania wpływa na wielkości przemieszczeń odłamów kostnych w układzie kość udowa-gwóźdź śródszpikowy, zwiększenie liczby śrub ryglujących w jednym z odłamów nie wpływa w znaczący sposób na zmniejszenie przemieszczeń w szczelinie złamania, zwiększenie odległości śrub ryglujących od szczeliny złamania zmniejsza przemieszczenia poprzeczne w szczelinie złamania.

Ponadto stwierdzono, że śruby ryglujące znajdują się w złożonym stanie obciążenia wywołanym współpracą z gwóź-



RYS. 3. Schemat stanowiska do badań podczas badań eksperymentalnych.  
FIG. 3. Scheme of test stand .

medullary canal. The models with the different locking way were examined - FIG. 1. Additionally, at ends of the locks, markers were placed to identify displacement of the locks. The experimental test on physical model were carried out on the specially constructed test stand. The stand enable to load the model by the three group of force: resultant force on femoral head  $R$ , force reaction of gluteus muscle  $M$  and tractus iliottibialis reaction  $T$  - FIG. 2, 3.

Displacements of the femoral bone-intamedullary nail system were measured with the use of speckle photography. The dual exposure technique was used. The speckle photographs were recorded as a result of illumination of the area before and after displacement generated after loading. Obtained speckegrams were local and polar analyzed. The measurement were initially lead of 200 N and the increment of 20 N was used between the exposures.

## Results

Displacements in axial (Z) and transverse (X) direction were measured. Results of the examination were put together in TABLE 1.

The analyses have shown that for particular pair of models: 23-123, 234-1234, 26-256 the displacement of the bone fragments are close in each pair. It can be assumed that the additional lock on the distal or proximal nail's end of the nail has no significant influence strongly on transverse displacements reduction. The measurements of the locks' movements pointed that the locks are bent during the loading. It is referred especially to the locks placed in first locked holes in both ends of the nail.

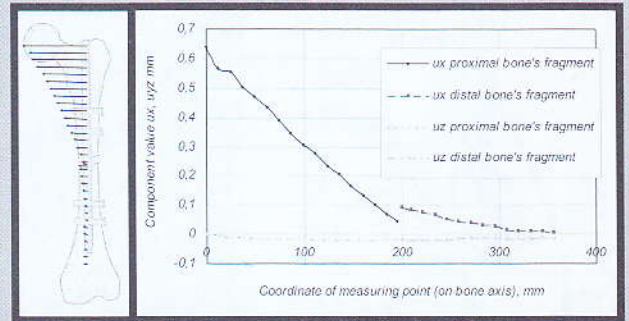
## Summary

On the bases of the analysis the following generalization can be formulate: the locking way influents on displacement value of the bone fragments in the femoral bone-intamedullary nail system, the increase of locks number in one of the bone fragments does not impact on the displacement decrease in the fracture gap, the distance extension of the locks from the fracture reduces the transverse dis-

Nazwa modelu Name of model	Maksymalne Przemieszczenie w okolicy kręgarza większego, Max. displacement in the greater trochanter area, [mm]	Przemieszczenie Displacement	
		UX	UZ
Kość	0,3795	-	-
Model 1234	0,6405	0,000367	0,0496
Model 234	0,6308	0,0044	0,048
Model 23	0,3362	0,0089	0,0096
Model 123	0,5999	0,005	0,039
Model 1236	0,3077	0,002	0,0058
Model 236	0,2831	0,0059	0,0063
Model 26	0,3539	0,0104	0,012
Model 256	0,6357	0,0082	0,056
Model 125	0,7165	0,0044	0,057
Model 15	0,6611	0,0053	0,0519

TABELA 1. Wyniki analizy eksperymentalnej.  
TABLE 1. Results of experimental analysis.

dziem oraz kością korową. Oddziaływania te wywołują lokalne deformacje wokół rygli (w skali mikro) oraz przemieszczają się wraz z gwoździem (skala makro). Przeprowadzone badania stanowią wstępną analizę wykonaną na jednym modelu kości. Wyniki badań, ze względu na złożoność obiektu pomiarowego oraz systemu obciążającego, wymagają dalszej weryfikacji i przeprowadzenia analiz na kolejnych modelach. Przeprowadzone badania pozwalają stwierdzić, że zastosowana metodyka pomiaru (z wykorzystaniem metody fotografii plamkowej) jest przydatna w badaniach służących optymalizowaniu sposobu ryglowania gwoździa śródszpikowego, umożliwiając analizę wartości przemieszczeń w układzie kość udowa-gwóźdź śródszpikowy ryglowany.



RYS. 4. Przemieszczenia koci udowej ze złamaniem - wersja ryglowania 12-34.

FIG. 4. The displacement of the fractured femoral bone - locking version 1234.

placement in the gap.

Additionally it was stated that the locks are in complex loading state caused by the lock collaborating with the nail and a cortical bone. This interactions caused local deformations around the locks (micro scale) and locks' movements with the nail (macro scale).

The investigations are a preliminary analysis made on one bone model. Due to the complexity of the measurement object and loading system a further verification and analysis on new models is needed.

The study allows to stated that the measurement method (with the use of spackle photography) is useful and suitable for optimization investigations of the locking way. It enables to analyze the displacement in the femoral bone-intramedullary nail system.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Kempf I., Leung K. S.: Practice of Intramedullary Locked Nails. Scientific Basis and Standard Techniques. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2002.
- [2] Gaździk T. S.: Gwoździowanie śródszpikowe. a-medica press, Bielsko Biala 2000.
- [3] Wolf S., Janousek A., Veith W., Haas F., Duda D., Cleas L.: The effects of external mechanical stimulation on the healing of diaphyseal fixed by flexible external fixation. Clinical Biomechanics 1988, 13, ss. 359-364.
- [4] Katalog: Sawbone 2003.

# BIOMECHANICZNA ANALIZA UKŁADU KOŚĆ UDOWA-GWÓZDŹ ŚRÓDSZPIKOWY Z WYKORZYSTANIEM METODY ELEMENTÓW SKOŃCZONYCH

J. MARCINIAK, W. CHRZANOWSKI, M. KACZMAREK

POLITECHNIKA ŚLĄSKA, CENTRUM INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ,  
UL. AKADEMICKA 2A, 44-100 GLIWICE

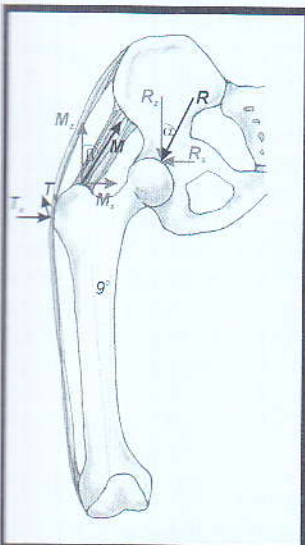
## Wstęp

Z użyciem gwoździ śródszpikowych do zespalania kości długich związanych jest wiele zalet. Umieszczenie gwoźdźcia w kanale szpikowym (w osi anatomicznej kości) daje dobrą fiksację oraz nie generuje powstania naprężeniowej strefy ochronnej (stress-shilding) [1]. Podstawowym zadaniem gwoźdźcia śródszpikowego jest przenoszenie obciążeń ściskających i skrętnych podczas gdy naprężenia zginające, proporcjonalne do odległości pomiędzy implantem a osią kości, są minimalne. Celem pracy było określenie wielkości przemieszczeń i naprężeń w układzie kość udowa-gwoźdź śródszpikowy ryglowany.

## Metodyka badań

Biomechaniczną analizę układu kość udowa-gwoźdź śródszpikowy ryglowany przeprowadzono metodą elementów skończonych przy użyciu programu Ansys 5.7. Na podstawie modelu geometrycznego kości udowej opracowanego w Instituto of Rizzoli [2] wykonano model numeryczny kości z zaimplantowanym gwoździem śródszpikowym ryglowanym. Implantom przypisano własności stopu Ti6Al4VELI ( $E=10e^4\text{MPa}$ ,  $\nu=0.33$ ) oraz stali 316 L ( $E=20e^4\text{MPa}$ ,  $\nu=0.33$ ), kości natomiast  $E=18600\text{ Pa}$  i  $\nu=0.3$ . Do analizy przyjęto schemat odpowiadający obciążeniu jednej nogi z uwzględnieniem: siły działającej na głowę kości udowej  $R$ , oddziaływania pasma gluteusów  $M$  oraz pasma biodrowo-piszczelowego - RYS.1. Wartości sił przyjęte w obliczeniach zestawiono w TABELI 1. W modelu zasymulowano złamanie krótkoskośne w okolicy 1 trzonu kości udowej.

W badaniach przeanalizowano cztery warianty ryglowania: jeden rygiel dystal-



RYS. 1. Schemat układu obciążającego.  
FIG. 1. Scheme of loading.

# BIOMECHANICAL ANALYSIS OF FEMORAL BONE- INTRAMEDULLARY NAIL SYSTEM WITH THE USE OF FINITE ELEMENTS METHOD

J. MARCINIAK, W. CHRZANOWSKI, M. KACZMAREK

SILESIA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, BIOMEDICAL ENGINEERING  
CENTRE, UL. AKADEMICKA 2A, 44-100 GLIWICE

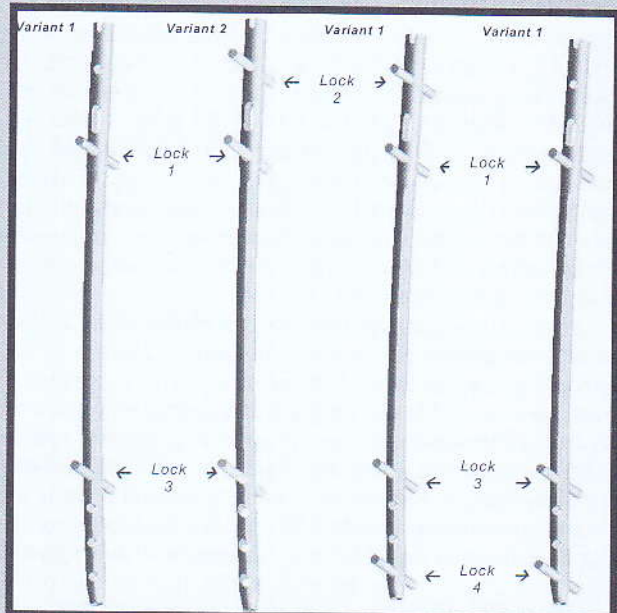
## Introduction

There are many advantages in using an intramedullary nails. Placing the nail in the medullary canal ( in anatomical axis of the bone) provides good fixation and protection from the stress-shielding effect [1]. Principal task of the intramedullary nail is the transferring of compressive and torsion forces while bending stresses proportional to the distance between implant and bone axis, are minimal.

The aim of the work was to determine a displacement value and stress state in the femoral bone- locked intramedullary nail system.

## Methods

Biomechanical analysis of the femoral bone-the nail system was realized with the model use of FEM method. The ANSYS 5.7 program was applied. On the basis of the geometrical of a femur model worked out in Istituti Ortopedici Rizzoli [2] a numerical model of the bone with the nail was prepared. The implants' properties were as follows:  $E=10e^4\text{MPa}$ ,  $\nu=0.33$  (Ti6Al4VELI) and  $E=20e^4\text{MPa}$ ,  $\nu=0.3$  (steel 316



RYS. 2. Analizowane sposoby ryglowania.  
FIG. 2. Analysed locking version.

$R_x$ , N	$R_z$ , N	$M_x$ , N	$M_z$ , N	$T_x$ , N	$T_y$ , N
494	1824	-494	1208	-54	-21

TABELA 1. Wartości składowych sił przyjętych w obliczeniach.

TABLE 1. The Force value used during the analysis.

Model Model	Material Materials	Maksymalne naprężenia w gwoździu, Maximum stress in the nail, [MPa]	Maksymalne przemieszczenia w kierunku poprzecznym, Maximum displacement in transverse direction, [mm]	Maksymalne przemieszczenia osiowe, Maximum displacement in axial direction [mm]
Wariant 1	Ti6Al4VELI	1398	0,67	1,92
	316 L	1788	0,51	1,47
Wariant 2	Ti6Al4VELI	1392	0,66	1,91
	316 L	1782	0,51	1,47
Wariant 3	Ti6Al4VELI	1124	0,66	1,89
	316 L	1384	0,50	1,45
Wariant 4	Ti6Al4VELI	937	0,57	1,65
	316 L	1163	0,50	1,46

TABELA 2. Wyniki analizy numerycznej.

TABLE 2. Results of the numerical analysis.

ny i jeden proksymalny - wariant 1, dwa rygle proksymalne i jeden dystalny - wariant 2, dwa rygle dystalne i dwa proksymalne - wariant 3, jeden rygiel proksymalny i dwa rygle dystalne - wariant 4 - RYS.2. Dla wyznaczenia charakterystyk biomechanicznych analizowanych modeli określono wielkości naprężeń występujących w gwoździu oraz względne przemieszczenia odłamów kostnych w szczelinie złamania.

## Wyniki badań

Wyniki biomechanicznej analizy numerycznej zestawiono w TABELI 2. Dla analizowanych modeli naprężenia nie przekraczały wartości 560 MPa. Jedynie lokalnie w okolicach rygla 1 oraz 2 (RYS.1), w zależności od sposobu ryglowania i materiału gwoźdźcia, obserwowano wzrost naprężeń do wartości z zakresu 927 ÷ 1788 MPa - TABELA 2. Naprężenia generowane w kości z zasymulowanym złamaniem stabilizowanym gwoździem zbliżone są do naprężeń w kości niezłamanej. Lokalnie w miejscu styku odłamów, w przyśrodkowej części kości naprężenia przekraczają wartość 200 MPa, przyjmowaną jako granicę wytrzymałości kości na ściskanie - RYS. 4.

Z danych literaturowych wynika, iż przemieszczenia odłamów w szczelinie złamania nie powinny przekraczać 0,8 mm w kierunku osiowym natomiast w kierunku poprzecznym powinny być bliskie zero [7]. Z przeprowadzonych analiz wynika, że przemieszczenia odłamów w środkowej części szczeliny złamania w kierunku osiowym spełniają to kryterium i wynoszą maksymalnie 0,2 mm natomiast w kierunku poprzecznym maksymalnie 0,05 mm. Wartości takie sprzyjają powstawaniu tkanki kostnej. Jednakże, w zewnętrznej części szczeliny gdzie dochodzi do jej rozwierania przemieszczenia przekraczają kryterialną wartość 0,8 mm (sprzyjającą tworzeniu się kostniny) - TABELA 2.

L), and the bone  $E=18600$  MPa,  $\nu=0,3$  [3,4,5]. In the analysis a scheme representing standing on one leg was used. The scheme comprised: a force on the femoral head (R), muscle reaction (M) and tractus ilioltibialis (T)-FIG.1. A short slanting fracture in the half length on the bone was simulated. In the work four interlocking variants were analysed:

- Variant 1- one proximal and one distal lock,
- Variant 2- two proximal and one distal lock,
- Variant 3- two proximal and two distal locks,
- Variant 4- one proximal and two distal locks.

Stresses in the nail and relative displacement of the bone

fragments in the fracture gap were estimated.

## Results

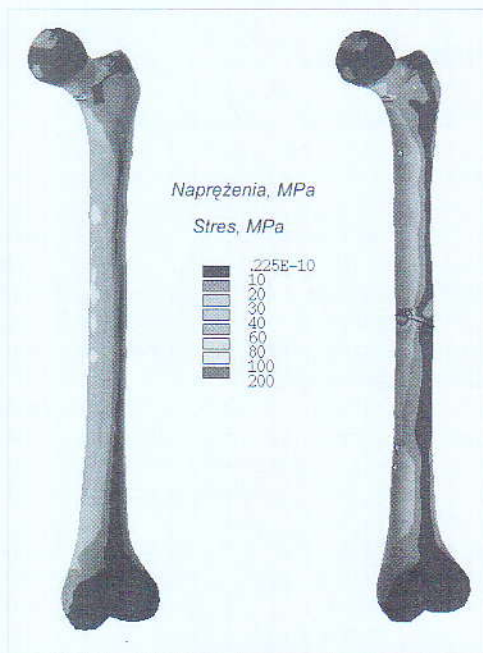
Results of the numerical analysis are compiled in TABLE 2. Stresses for the analyzed models did not exceed 560 MPa. Only locally in the area surrounded a whole of the first, second and third lock, stresses increased to the value of 927 ÷ 1788 MPa - TABLE 2, FIG.3. The increase was contingent upon locking way and nail's material properties. Stresses generated in the fractured bone stabilized by the interlocking nail were similar to the stress in the health bone. Nevertheless, locally in the contact area of the bone fragments (in the fracture) stress exceeded 200 MPa, that is the ultimate compressive strength of a bone. Displacement of the bone fragments in the fracture gap should not exceed 0,8 mm in the axial direction and should be close to zero in the transverse direction. The analysis has shown that displacements of the fragments in the mid-part of the fracture are below 0,2 mm in axial direction and 0,05 in transverse direction. However, in the external part of the gap where the gap is opened out (pull apart) displacements exceeded the critical value 0,8 mm in the axial direction and were far from zero in the transverse direction - TABLE 2.

## Summary

Biomechanical analysis has shown that during the loading (weight bearing) (standing on a one leg) generated stresses are not higher than yield point for both proposed materials. However, locally in the area surrounded the holes of the first, second and the third lock stresses exceeded tensile strength of the materials - TABLE 2. It can lead to cracking of the nails in that area. Additionally, stresses in the contact place of the bone's fragments exceeded compressive strength of the bone. Analysis of the displacements in the mid-part of the fracture showed that

## Podsumowanie

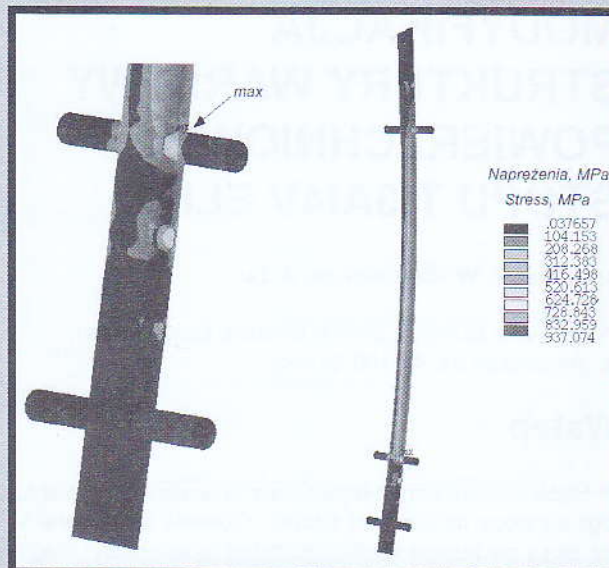
Z przeprowadzonej analizy biomechanicznej wynika, że podczas obciążania (stanie na jednej nodze) generowane naprężenia dla obu proponowanych materiałów nie przekraczają granicy plastyczności. Lokalnie jednakże w okolicach otworów wokół rygli nr 1, 2 oraz 3 obserwuje się naprężenie przekraczające wytrzymałość na rozciąganie analizowanych tworzyw metalicznych - TABELA 2. Efektem tego może być pękanie materiału w tych obszarach. Dodatkowo naprężenia w okolicy styku odłamów kostnych przekraczały wytrzymałość tkanki kostnej na ściskanie.



RYS. 4. Naprężenia generowane w kości a) niezłamanej, b) złamanej z gwoździem.

FIG. 4. Stress generated in the bone a) non-fractured, b) fractured with the nail.

Przeprowadzona analiza przemieszczeń w części środkowej szczeliny złamania wykazała, iż mieszczą się one w zakresie przemieszczeń wymaganych do prawidłowego przebiegu zrostu kostnego. Jednakże, analiza przemieszczeń osiowych i poprzecznych w zewnętrznej części szczeliny złamania, gdzie dochodziło do jej rozwierzenia, wykazała, że wartości te przekraczają wartość kryterialną - TABELA 2. Dlatego też wydaje się być celowym przeprowadzenia dalszych badań nad optymalizacją cech geometrycznych i materiałowych gwoździ śródszpikowych jak również sposobu ich ryglowania w celu wyeliminowania niekorzystnego z punktu widzenia zrostu kostnego zbyt dużego przemieszczania się odłamów oraz generowania zbyt dużych naprężeń w gwoździach i ryglach.



RYS. 3. Naprężenia generowanych w gwoździu ze stopu Ti6Al4VEL.

FIG. 3. Stress generated in the nail made of Ti6Al4VELI.

the displacements are in the range that is required to correct adhesion process. But the analysis of the axial and transverse displacements in the external part of the fracture showed that the critical value was exceeded. On that basis of that it is purposeful to make further investigation to optimize geometry, material properties of the nail and the locking way.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Kempf I., Leung K. S.: Practice of Intramedullary Locked Nails. Scientific Basis and Standard Techniques. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2002.
- [2] The ISB Finite Element Repository, Istituti Rizzoli, 1997  
[www.cineca.it/hosted/LTM/back2net/ISB\\_mesh/](http://www.cineca.it/hosted/LTM/back2net/ISB_mesh/)
- [3] Będziński R.: Biomechanika inżynierska. Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 1997
- [4] Mariniak J.: Biomateriały. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 2002.
- [5] Brunette D. M., Tengvall P., Textor M., Thomsen P.: Titanium in Medicine. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2001.
- [6] Goodship A. E., Kenwright J.: Controlled mechanical stimulation in the treatment of tibial fractures. Clinical Biomechanics 1989, 241, pp. 36-47.
- [7] Wolf S., Janousek A., Veith W., Haas F., Duda D., Cleas L.: The effects of external mechanical stimulation on the healing of diaphyseal fixed by flexible external fixation. Clinical Biomechanics 1988, 13, ss. 359-364.

# MODYFIKACJA STRUKTURY WARSTWY POWIERZCHNIOWEJ STOPU Ti6Al4V ELI

J. MARCINIAK, W. CHRZANOWSKI, J. ŻAK

POLITECHNIKA ŚLĄSKA, CENTRUM INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ,  
UL. AKADEMICKA 2A, 44-100 GLIWICE

## Wstęp

Materiałami o perspektywnym znaczeniu w implantologii są stopy na osnowie tytanu. Obecnie stosowane są już stopy cechujące się bardzo dobrą biotoleracją i małym modulem Young'a, który zgodnie z lansowanymi poglądami powinien być dla materiałów implantacyjnych zbliżony do modułu kości. Pomimo bardzo dobrych własności stopy nowej generacji nie są stosowane na szeroką skalę ze względu na bardzo wysoki ich koszt.

Tytan i jego stopy są biomateriałami o bardzo dobrej odporności korozyjnej i charakteryzują się szerokim zakresem pasywnym [1]. Wartości potencjałów przebicia tych stopów są większe, aniżeli wartości potencjałów membranowych tkanek w organizmach żywych ( $0,2 \pm 0,45$  V)[2]. Należy więc założyć, że utrata pasywności w układach elektrochemicznych płynów i tkanek jest raczej niemożliwa. Jednakże, warstwa pasywna może ulec mechanicznemu lub chemicznemu uszkodzeniu. Dochodzi wówczas do odsłonięcia powierzchni metalowej i inicjowania procesów korozyjnych. Na tym tle celowym wydaje się być wytwarzanie warstw zabezpieczających biomateriał o dobrej i trwałej odporności korozyjnej w okresie użytkowania. Osiągnięcie tych celów wymaga zmiany składu chemicznego i fazowego biomateriału oraz jakości warstwy powierzchniowej. Aktualnie prowadzone badania koncentrują się na modyfikacji warstw powierzchniowych w celu zwiększenia odporności korozyjnej implantów z tych stopów. Należy podkreślić, iż implanty poddawane są trwałym odkształceniom plastycznym. Z tego powodu wytworzona warstwa powinna charakteryzować się również podatnością do odkształceń. Celem pracy było opracowanie warunków wytwarzania warstw pasywnych na powierzchni stopu Ti6Al4V ELI i ocena ich odporności korozyjnej oraz podatności do odkształceń plastycznych.

## Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły próbki wykonane ze stopu Ti6Al4V ELI. Próbki poddano następującym obróbkom powierzchniowym: szlifowaniu, polerowaniu elektrochemicznemu, utlenianiu anodowemu (pasywacji elektrochemicznej).

Odporność korozyjną wytworzonych warstw oceniono metodą potencjodynamiczną w roztworze fizjologicznym Tyrode'a o temperaturze  $36,6 \pm 1^\circ\text{C}$  i pH z przedziału 6,9,7,5. Podatność do odkształceń plastycznych wytworzonych warstw pasywnych oceniono na podstawie badań potencjodynamicznych próbek zginanych o kąty przegięcia:  $10^\circ$ ,  $45^\circ$  oraz  $90^\circ$ .

Topografię powierzchni próbek w stanie nieodkształconym oceniono w mikroskopie sił atomowych (AFM).

# SURFACE STRUCTURE MODIFICATION OF Ti6Al4V ELI ALLOY

J. MARCINIAK, W. CHRZANOWSKI, J. ŻAK

SILESIA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, BIOMEDICAL ENGINEERING  
CENTRE, UL. AKADEMICKA 2A, 44-100 GLIWICE

## Introduction

Titanium alloys are perspective materials in the implantology. Nowadays alloys characterized by good biotolerancy and low Young's module are used. The module according to promote theory should be close to a bone's module. In spite of the good properties a new generation alloys are not used in the wide range due to their costs. A titanium and its alloys are corrosion resistive biomaterials which are characterized by a wide passive range [1,2,3]. The breakdown potentials are higher than membrane potentials of tissue in a living body ( $0,2-0,45$ V)[4]. It should be assumed that the loss of passivity in the electrochemical fluids and tissue system is rather impossible. However, a passive layer can be mechanically or chemically damaged. Metallic surface is then uncovered and corrosion processes are initiated. A fabrication of coating that protects the biomaterial from the corrosion in the working life seems to be purposeful. To achieve that aim changes of the chemical and phase composition of biomaterials and surface layer are necessary. Currently the scientific research is focused on surface layer modification techniques in order to increase the corrosion resistance of implants. It should be said that implants undergo a plastic deformation. For this reason prepared layers should be characterized by the plastic deformation ability. The aim of the work was to work out creation conditions of producing passive layers on Ti6Al4V ELI alloy surface and the evaluation on of the corrosion resistance and flexibility properties.

## Methods

Ti6Al4V ELI was used in the research. Chemical composition and mechanical properties met the ASTM standard [5]. Surface preparation involved: grinding, electrochemical polishing, anodic oxidation. The corrosion resistance of the passive layers was evaluated by potentiodynamic method in the Tyrode's solution ( $36,6 \pm 1^\circ\text{C}$  and  $\text{pH}=6,9,7,5$ ). Non-deformed and deformed in transverse bend test ( $10^\circ$ ,  $45^\circ$  and  $90^\circ$ ) passive layers were evaluated.

Topography of the non-deformed specimen's surface was evaluated with the use of an AFM method.

## Results

Results of the pitting corrosion tests are compiled in the TABLE 1. Ti6Al4V ELI alloy with grinded surface had the corrosion potential in the range of  $E_{\text{cor}} = +50 \pm 59$  mV, the breakdown potential was in the range of  $E_B = +1540 \pm 1980$  mV. Electrochemical polishing caused the increase of the corrosion potential to  $E_{\text{cor}} = +112 \pm 125$  mV and breakdown potential to  $E_B = +2240 \pm 2410$  mV. For the polished and



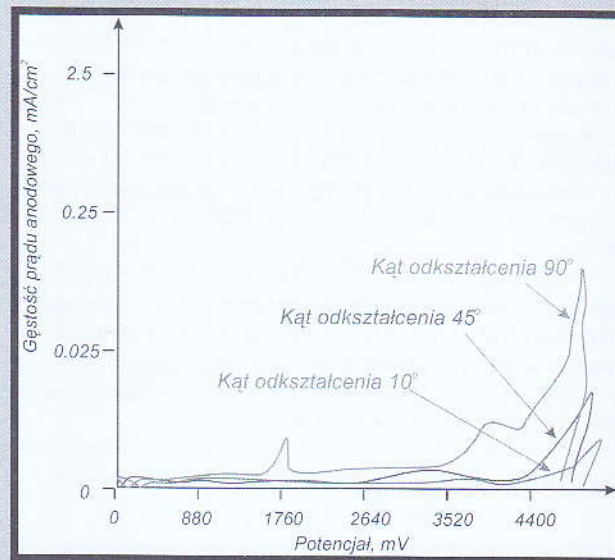
Rodzaj obróbki Specimens	Kąt odkształcenia Angle [°]	Potencjał korozyjny Corrosion potential $E_{kor}$ , [mV]	Potencjał transpasywacji $E_{p}$ Breakdown potential, $E_B$ , [mV]
Szlifowanie Girding	0	50÷59	1540÷1980
Polerowane Polished electrochemically	0	112÷125	2240÷2410
Polerowanie elektrolityczne i pasywowanie Polished electrochemically and passivated	0	342÷402	-
Polerowanie elektrolityczne i pasywacja Polished electrochemically and passivated	10°	211÷273	4710÷4920
	45°	70÷78	4300÷4910
	90°	25÷35	3750÷4280

TABELA 1. Wyniki badań potencjodynamicznych.  
TABLE 1. Results of potentiodynamic investigation.

## Wyniki

Wyniki badań odporności na korozję wżerową zestawiono w TABELI 1. Wartości potencjału korozyjnego stopu Ti6Al4V ELI o powierzchni szlifowanej mieściły się w przedziale  $E_{kor}=+50\div+59$  mV, natomiast potencjały przebicia w przedziale  $E_p=+1540\div+1980$  mV. Zastosowanie polerowania spowodowało wzrost potencjału korozyjnego do wartości z przedziału  $E_{kor}=+112\div+125$  mV i potencjału przebicia do  $E_p=+2240\div+2410$  mV. Dla próbek polerowanych z wytworzoną warstwą pasywną w warunkach opracowywania w pracy uzyskano potencjały korozyjne z zakresu  $E_{kor}=+342\div+402$  mV. W całym badanym zakresie (do 5 V) nie obserwowano wzrostu gęstości prądu anodowego, co świadczy o dobrych właściwościach ochronnych wytworzonej warstwy.

W dalszej kolejności oceniano podatność wytworzonej warstwy do odkształceń plastycznych w próbie zginania w zakresie kąta  $0\div90^\circ$ . Dla kąta  $10^\circ$  obserwowano zmniejszenie się potencjału korozyjnego w stosunku do próbek



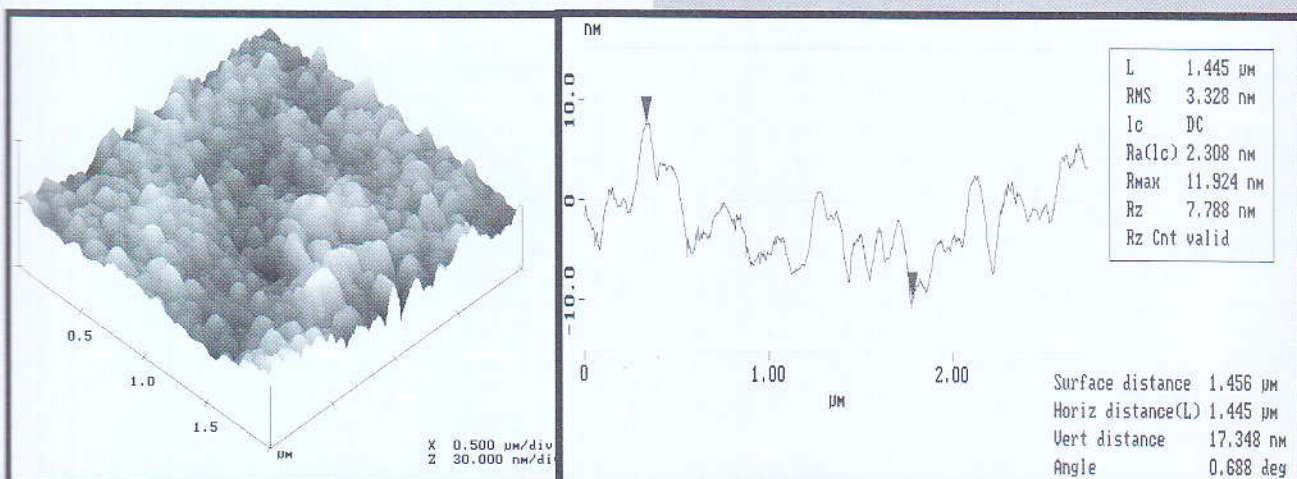
RYS. 1. Krzywe polaryzacji anodowej dla próbek ze stopu Ti6Al4V: szlifowanych, polerowanych i pasywowanych w dwóch wariantach.

FIG. 1. Potentiodynamic curves for Ti6Al4V ELI specimens with passive film, deformed in different deformation angle.

passivated electrochemically specimens the corrosion potential increased to  $E_{kor}=+342\div+402$  mV. The increase of anodic current density in the investigation range up to +5V was not observed for the passivated specimens.

Passivated samples were then deformed in transverse bend test ( $0\div90^\circ$ ). The decrease of the corrosion potential to  $E_{kor}=+211\div+273$  mV was observed for the specimens deformed about  $10^\circ$ . The breakdown potential was in the range of  $E_B=+4710\div+4920$  mV. The increase of the deformation angle to  $45^\circ$  caused further decrease of the corrosion and breakdown potentials to the value of  $E_{kor}=+70\div+78$  mV and  $E_B=+4300\div+4918$  mV. For the deformation angle  $90^\circ$  assigned potentials were:  $E_{kor}=+25\div+35$ ,  $E_B=+3750\div+4280$  mV - TABLE 1, FIG. 1.

Investigation of topography with the use of the AFM method did not reveal any damages of the passive layer. Roughness of the layer did not exceed  $R_a=27$  nm.



RYS. 2. Topografia warstwy pasywnej na stopie Ti6Al4V ELI.  
FIG. 2. Topography of the passive film on Ti6Al4V ELI alloy.

nieodkształconych do wartości  $E_{kor} = +211 \pm 273$  mV, potencjał przebicia mieścił się w zakresie  $E_p = +4710 \pm 4920$  mV. Zwiększenie kąta odkształcenia spowodowało dalszy spadek potencjału korozyjnego do wartości  $E_{kor} = +70 \pm 78$  mV i potencjału przebicia do wartości  $E_p = +4300 \pm 4918$  mV. Dla kąta odkształcenia  $90^\circ$  wyznaczony potencjał korozyjny mieścił się w przedziale  $E_{kor} = +25, +35$  natomiast potencjał przebicia w zakresie  $E_p = +3750, +4280$  mV - TABELA 1, RYS.1.

Topografię powierzchni próbek z warstwami pasywnymi oceniono w badaniach z wykorzystaniem mikroskopu sił atomowych (AFM). Przeprowadzone obserwacje wykazały ciągłość warstwy wytworzonej w warunkach opracowanych w pracy - RYS.2. Dodatkowo określono jej chropowatość, która nie przekraczała  $R_a = 27$  nm.

## Podsumowanie

W pracy opracowano warunki elektrochemicznego polerowania i pasywacji stopu Ti6Al4V ELI. Przeprowadzone badania wykazały, iż warstwa pasywna jest ciągła i zapewnia dobrą odpornością na korozję wżerową badanego stopu. W odniesieniu do stanu szlifowanego charakteryzującego się potencjałem korozyjnym z przedziału  $E_{kor} = +50 \pm 59$  mV i potencjałem potencjału przebicia  $E_p = +1540 \pm 1980$  mV (TABELA 1) dla próbek polerowanych i pasywowanych obserwuje się znaczny wzrost potencjału korozyjnego do wartości  $E_{kor} = +342 \pm 402$  mV natomiast w całym badanym zakresie do 5V nie obserwowano wzrostu gęstości prądu anodowego, co świadczy o dobrych własnościach ochronnych wytworzonych warstw - TABELA 1.

Z uwagi na zastosowanie tego stopu na implanty, które poddawane są odkształcaniu podczas implantowania oraz w trakcie użytkowania istotna też jest podatność do odkształceń plastycznych warstw uszlachetniających powierzchnię biomateriału. Dodatkowo przeprowadzone badania odporności korozyjnej próbek zgiętych wykazały podatność do odkształceń warstwy pasywnej. Próbki odkształcone nawet o kąt  $90^\circ$  charakteryzowały się wyższym potencjałem przebicia ( $E_p = +3750 \pm 4280$  mV - TABELA 1, RYS.1) od próbek polerowanych ( $E_p = +2240 \pm 2410$  mV - TABELA 1).

## Summary

In the work electrochemical polishing and passivation technology for Ti6Al4V ELI alloy was elaborated. The test revealed that the passive film is uniform (FIG. 2) and ensure the pitting corrosion of the analyzed alloy. In refer to the girding surface of specimens that has corrosion potential  $E_{cor} = +50 \pm 59$  mV and breakdown potential of  $EB = +1540 \pm 1980$  mV (TABLE 1), for polished of and passivated specimens the increase of the corrosion potential up to  $E_{cor} = +342 \pm 402$  mV was observed. In the measuring range to 5V the increase of anodic current density was not observed - TABLE 1.

The alloy is often used as biomaterial, that is deformed during the implantation and the working life so, flexibility of the surface layer is essential. Additionally the corrosion resistance tests carried out on deformed specimens proved flexible properties of the layer. The specimens deformed even up to  $90^\circ$  had the higher breakdown potential ( $EB = +3750 \pm 4280$  mV - TABLE 1, FIG.1) then polished ones ( $EB = +2240 \pm 2410$  mV - TABLE 1).

## Pismienictwo

## References

- [1] J. P. Simpson: Electrochemical behavior of titanium and titanium alloys with respect to their use as surgical implant materials. In: Christel P., Meunier A., Lee A. J. C.: Biomedical and Biomechanical Performance of Biomaterials. Elsevier, Amsterdam 1986, p. 63-68.
- [2] U. Zwicker: Titan and Titanlegierungen. (Springer, Berlin Heidelberg New York 1974, ISBN 3-540-05233).
- [3] J. Marciniak: Biomaterials. (Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Poland, Gliwice 2002).
- [4] J. Wirz, F. Schmidli, S. Steinmann, R. Wall: Aufbrennlegierungen im Spaltkorrosionstest. (Swieitz. Monatsschr. Zahnmedizin 97, 1987).
- [5] ASTM-F136 -84 (1984, USA).

# OCENA WPŁYWU STANU CHROPOWATOŚCI POWIERZCHNI CERAMIKI KORUNDOWEJ NA WYBRANE PARAMETRY KRWI

STANISŁAW PIELKA\*, MARIA SZYMONOWICZ\*, DANUTA PALUCH\*,  
ZDZISŁAW LIBRANT\*\*, JOANNA KARAS\*\*\*, HENRYKA KARMELITA -  
BUCZYŃSKA\*\*\*\*, ZBIGNIEW JEGERMAN\*\*\*

\*ZAKŁAD CHIRURGII EKSPERYMENTALNEJ I BADANIA BIOMATERIAŁÓW  
AKADEMII MEDYCZNEJ WE WROCŁAWIU

\*\*INSTYTUT TECHNOLOGII MATERIAŁÓW ELEKTRONICZNYCH W  
WARSZAWIE,

\*\*\* INSTYTUT SZKŁA I CERAMIKI W WARSZAWIE

\*\*\*\* LABORATORIUM ANALITYCZNE AKADEMICKIEGO SZPITALA  
KLINICZNEGO WE WROCŁAWIU

## Wstęp

Pozytywne doświadczenia z zastosowaniem wyrobów z ceramiki korundowej do protezowania dróg żółciowych, zachęcają do podjęcia prób zastosowania tego materiału do protezowania naczyń krwionośnych lub tworzenia urządzeń mających bezpośredni kontakt z krwią. Korzystną cechą tego biomateriału jest możliwość wykorzystania go jako nośnika antybiotyków, o przedłużonym czasie uwalnianiu leku [1]. Klasyczna proteza naczyń krwionośnych, dziana lub tkana, może ulec zakażeniu, zwłaszcza w środowisku gorszego ukrwienia tkanek i wymagać wymiany, albo może być konieczne protezowanie naczyń krwionośnych w środowisku pierwotnie niejałowym [2]. W środowisku zakażonym drobnoustrojami, protezowanie naczyń krwionośnego materiałem z właściwościami bakteriobójczymi, byłoby szczególnie pożądane.

Dotychczasowe doświadczenia kliniczne z zastosowaniem protez naczyniowych impregnowanych antybiotykami lub solami srebra, są zachęcające [3, 4, 5, 6]. Niejednokrotnie dzięki takim protezom możliwe jest uratowanie kończyny lub życia chorego. Wadą tego rodzaju protez jest zbyt szybkie uwalnianie antybiotyku z protezy dakronowej lub poliestrowej i toksyczne oddziaływanie soli srebra na elementy morfotyczne krwi, i na tkanki otaczające wszczep [6, 7]. Zbudowanie protezy naczyniowej z materiału nie zaburzającego układu krzepnięcia i nie uszkadzającego elementów morfotycznych krwi, którą można by przywrócić przepływ krwi, chociaż na krótki okres, i która jednocześnie mogłaby być nośnikiem substancji bakteriobójczych, stanowiłoby istotny postęp w chirurgii naczyniowej [8, 9, 10]. Celem pracy była ocena wpływu ceramiki korundowej o różnym stopniu chropowatości powierzchni na hemolizę, proces krzepnięcia i elementy morfotyczne krwi w warunkach in vitro, w układzie statycznym.

## Materiał

W Instytucie Technologii Materiałów Elektronicznych w Warszawie wytworzono monolityczną ceramikę korundową, z której otrzymano próbki w postaci płytek i kostek sześciennych o różnym stanie chropowatości:

# ESTIMATION OF THE REACTION OF THE STATE OF CORUNDUM CERAMICS SURFACE ROUGHNESS ON THE CHOSEN BLOOD PARAMETERS

STANISŁAW PIELKA\*, MARIA SZYMONOWICZ\*, DANUTA PALUCH\*,  
ZDZISŁAW LIBRANT\*\*, JOANNA KARAS\*\*\*, HENRYKA KARMELITA -  
BUCZYŃSKA\*\*\*\*, ZBIGNIEW JEGERMAN\*\*\*

\*DEPARTMENT OF EXPERIMENTAL SURGERY AND BIOMATERIAL RESEARCH, WROCLAW MEDICAL UNIVERSITY

\*\*INSTITUTE OF ELECTRONICAL MATERIALS TECHNOLOGY IN WARSAW

\*\*\*INSTITUTE OF GLASS AND CERAMICS IN WARSAW

\*\*\*\*ANALYTICAL LABORATORY ASK IN WROCLAW

## Introduction

Positive experiences in applying products from corundum ceramics encourage to take attempts of applying this material in prosthesing blood vessels or in producing devices having direct contact with blood. An advantage of this biomaterial is the possibility of its application as an antibiotic carrier with a prolonged time of medicament release [1]. The classical blood vessels prosthesis - knit or woven - can become infected, particularly in an environment of worse blood supply of tissues and it can require an exchange or prosthesing in blood vessels in an originally non-sterile environment can be necessary [2]. In an environment infected with microorganisms, prosthesing of a blood vessel with material having bacteriocidal properties would be particularly wanted.

The clinical experiences in application of vascular prostheses impregnated with antibiotics or silver salts we have made hitherto are encouraging [3, 4, 5, 6]. It is possible to save the patient's limb or life many times thanks to such prostheses. The disadvantage of this kind of prostheses is too quick releasing of antibiotics from a dacron or polyester prosthesis and toxic reaction of silver salt on morphotic elements of blood and on the tissues surrounding the implant [6, 7]. Production of a vascular prosthesis from material not

disturbing the clotting system and not damaging the morphotic elements of blood and which could restore the blood flow, for at least a short period, and which at the same time could be a carrier of bacteriocidal substances, would constitute an essential progress in vascular surgery [8, 9, 10]. The purpose of the study was the estimation of the influence of corundum ceramics with various degrees of surface roughness on hemolysis, clotting process and the morphotic elements of blood in vitro conditions in the static system].

## Material

In the Institute of Electronical Materials Technology in Warsaw monolithic corundum ceramics was produced, from

1. ceramikę zwartą, bez porowatości otwartej, o chropowatości powierzchni  $R_a = 0,8 - 1,2 \mu\text{m}$ ,
2. ceramikę z powierzchnią szlifowaną, z chropowatością powierzchni  $R_a = 0,3 - 0,4 \mu\text{m}$ ,
3. ceramikę z powierzchnią polerowaną, o chropowatości  $R_a = < 0,16 \mu\text{m}$ .

Stan powierzchni ceramiki przyjęto jako parametr funkcjonalny dla kontaktu z krwią. Wszystkie próbki przeznaczone do badań były poddane sterylizacji radiacyjnej.

Rodzaj materiału Kind of material	Czas Time [h]	Hb [mg/dl]
Tworzywo korundowe Corundum material	4	31,41 ± 3,09
	24	37,26 ± 3,36
Tworzywo korundowe szlifowane Ground corundum material	4	32,68 ± 3,44
	24	39,99 ± 5,32
Tworzywo korundowe polerowane Polished corundum material	4	33,26 ± 1,41
	24	37,99 ± 2,93
Kontrola Control	4	27,02 ± 3,61
	24	35,55 ± 1,01

## Metody i wyniki

Badania w kontakcie z krwią wykonano w Zakładzie Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów Akademii Medycznej we Wrocławiu.

Do badań użyto krwi O Rh+, pobranej na płyn konserwujący CPD (citrate-phosphate-dextrose). Zmiany we krwi po inkubacji w temperaturze 37°C z próbkami ceramiki korundowej oraz we krwi kontrolnej określano po 4 godz. i po 24 godz. [11, 12, 13, 14] Stężenie hemoglobiny pozakrwinkowej w osoczu oznaczono metodą cyjanometemoglobinową [15,16]. Oceny morfologicznej komórek krwi dokonano w rozmazach barwionych metodą MMG, w powiększeniu immersyjnym mikroskopu świetlnego [15, 17].

Stężenie wolnej hemoglobiny w osoczu, otrzymanym z krwi po 4 i 24 godzinnym kontakcie z badanymi materiałami, było w zakresie wartości stwierdzonych dla krwi kontrolnej (TAB. 1). W barwionych rozmazach krwi nie stwierdzono zmian morfologicznych krwinek czerwonych, białych (granulocyty, monocyty, limfocyty) i krwinek płytkowych. Próbki ceramiki korundowej o różnym stopniu chropowatości, po czasowym kontakcie z krwią, nie uległy deformacji lub innym zmianom. Krew z powierzchni próbek łatwo zmywała się.

Wpływ ceramiki korundowej na krzepnięcie krwi określono poprzez oznaczenie czasu rekalcynacji [15]. Oznaczenie wykonano dla krwi po inkubacji z materiałem przez 2 i 4 godz. w temp 37°C. Czas krzepnięcia krwi po uwapnieniu, stwierdzony dla ocenianych próbek z ceramiki korundowej porównano z czasem krzepnięcia w probówkach polistyrenowych (PS) jak i do czasu krzepnięcia w szkle.

Dla ceramiki korundowej zwartej oraz korundowej szlifowanej stwierdzono skrócenie czasu krzepnięcia średnio o 44% w porównaniu do czasu w kontroli PS. Wartości czasu krzepnięcia dla tych materiałów były porównywalne.

Czas krzepnięcia stwierdzony dla tworzywa korundowego polerowanego był wydłużony o 23% w porównaniu do zwartego korundu szlifowanego, ale skrócony średnio o 29% w stosunku do kontroli PS (TAB. 2).

Obserwację procesu formowania skrzepu oraz pomiar czasu rekalcynacji wykonano na próbkach w postaci płytek. Na powierzchnię płytek nanoszono pełną krew cytrynianową i obserwowano jej kształt. Następnie dodano równą objętość chlorku wapniowego i mierzono czas krzepnięcia. Pomiar zakończono w momencie pojawienia się

which samples in the shape of plates and cubes with various roughness degrees were obtained.

1. dense ceramics without open porosity with surface roughness  $R_a = 0,8-1,2 \mu\text{m}$ ,
2. ceramics with ground surface, with surface roughness  $R_a = 0,3-0,4 \mu\text{m}$
3. ceramics with polished surface, with roughness  $R_a = < 0,16 \mu\text{m}$ .

The state of the ceramics surface was accepted as a functional parameter for contact with blood. All the samples designed for tests underwent radiation sterilization.

**TABELA 1. Stężenie hemoglobiny pozakrwinkowej w osoczu kontrolnym i po kontakcie z ceramiką korundową.**

**TABLE 1. Extracellular hemoglobin concentration in control plasma and after contact with corundum ceramics.**

## Methods and results

The tests were made in contact with blood in Department of Experimental Surgery and Biomaterial Investigation of Academy of Medicine in Wrocław.

Blood O Rh+ taken for preserving liquid CPD (citrate-phosphate-dextrose) was used in the tests. The changes in blood after incubation in temperature 37°C with samples from corundum ceramics and in control blood were determined after 4 and 24 hours [11, 12, 13, 14]. Extracellular concentration of hemoglobin in plasma was determined with cyjanometemoglobin method [15,16]. Morphological estimation of blood cells was made in smears stained with MMG method in immersive magnification in a light microscope [15, 17].

Hemoglobin concentration in plasma obtained from blood after 4 and 24 hour contact with the tested materials was within values determined for the control blood (TAB. 1). In the stained smears there were no morphological changes of red, white blood cells (granulocytes, monocytes, lymphocytes) and platelets.

The samples of corundum ceramics with various roughness degrees did not undergo deformation or other changes after a temporal contact with blood. Blood from the samples' surfaces was removed easily.

The influence of corundum ceramics on blood clotting was determined by stating calcium clotting time. Determining was made for blood after incubation with the material for 2 and 4 hours in temp. 37°C. The blood clotting time after calcification determined for the tested samples from corundum ceramics was compared with the clotting time in polystyrene (PS) test-tubes and with the clotting time in glass. For dense and ground corundum ceramics, shortening of the clotting time was stated by 44% on an average in comparison with the time in control PS. The clotting time values for these materials were comparable. The clotting time determined for polished corundum ceramics was prolonged by 23% on an average in comparison with dense corundum and after grinding but it was shortened in relation to the control PS (TAB. 2).

Observation of the process of clot formation and measurement of calcium clotting time was made on the samples in the form of plates. Whole citrated blood was put on the plates surface and its shape was observed. Next an equal

Rodzaj materiału Kind of material	Czas kontaktu Contact time [min]	Czas krzepnięcia Clotting time [s]	Skrócenie czasu krzepnięcia w stosunku do kontroli Shortening of clotting time in relation to control		Wydłużenie czasu krzepnięcia w stosunku do kontroli Prolongation of clotting time in relation to control	
			szkło % glass %	PS % PS %	szkło % glass %	PS % PS %
Ceramika korundowa Corundum ceramics	120	144 ± 4,54	3	47	--	--
	240	158 ± 12,75	--	42	6	--
Ceramika korundowa szlifowana Ground corundum ceramics	120	148 ± 1,89	--	6	--	--
	240	166 ± 0,85	--	40	12	--
Ceramika korundowa polerowana Polished corundum ceramics	120	198 ± 6,94	--	7	33	--
	240	191 ± 10,08	--	30	28	--
PS Kontrola / PS Control Szkło / Glass	--	273 ± 18,50	--	--	84	--
	--	148 ± 16,45	--	46	--	--

TABELA 2. Czas krzepnięcia krwi cytrynianowej po kontakcie z ceramiką korundową mierzony w probówce.  
TABLE 2. Clotting time of citrate blood after contact with corundum ceramics measured in a test-tube.

pierwszej nitki łączącej haczyk bagietki z badaną mieszaniną.

Na powierzchni szklanej kropla krwi była rozplaszczona, a tworzenie się skrzepu wystąpiło szybciej w porównaniu do powierzchni PS.

Na powierzchni ceramiki korundowej, chropowatej, kropla krwi miała kształt elipsy. Czas krzepnięcia był skrócony o 16% w porównaniu do szkła, a o 58% do powierzchni PS.

W stosunku do korundu szlifowanego skrócenie czasu wynosiło 27%, a do korundu polerowanego - 39%.

Na powierzchni ceramiki korundowej szlifowanej kropla krwi była rozplaszczona i miała kształt elipsy. Czas krzepnięcia był wydłużony w porównaniu do szkła o 15%, a do ceramiki korundowej o 36%, natomiast w stosunku do PS był skrócony o 43%, a do korundu polerowanego o 2%.

Na powierzchni ceramiki korundowej polerowanej kropla krwi szybko i równomiernie się rozplaszczala i miała kształt kulisty. Czas krzepnięcia był skrócony o 42% w porównaniu do PS, a wydłużony o 17% w stosunku do szkła i 39% do ceramiki korundowej (TAB. 3).

Podsumowując wyniki badań można stwierdzić, że ceramika korundowa nie wywołuje działania hemolitycznego, natomiast skraca czas krzepnięcia krwi. Czasowy kontakt krwi z ceramiką korundową, o różnej chropowatości powierzchni nie spowodował zwiększenia stężenia hemoglobiny pozakrwinkowej w osoczu oraz zmian w obrazie morfologicznym krwinek czerwonych, białych i płytkowych. Ocenił ceramiki korundowe przyspieszają proces krzepnięcia krwi. Skrócenie czasu krzepnięcia stwierdzono zarówno dla próbek w postaci sześcianów jak i płytek.

volume of calcium chloride was added and the clotting time was measured. The measurement was finished at the moment of appearing of a thread connecting the hook of the glass rod with the tested mixture.

On the surface of rough corundum ceramics the blood drop was ellipse-shaped. The clotting time was shortened by 16 in comparison with the glass and by 58% in comparison with the PS surface. In comparison with ground corundum ceramics the shortening of time was by 27% and with polished corundum - by 39%.

On the surface of ground corundum ceramics the blood drop was flattened and ellipse-shaped. The clotting time was prolonged in comparison with glass by 15% and with corundum ceramics by 36%, but in relation to PS it was shortened by 43% and to polished corundum by 2%.

On the surface of polished corundum ceramics the blood drop flattened quickly and regularly and was ball-shaped. The clotting time was shortened by 42% in comparison with PS and prolonged by 17% in relation to glass and by 39% - to corundum ceramics (TAB. 3).

Summarizing the investigation results we can state that corundum ceramics does not cause hemolytic action, however it shortens the blood clotting time.

Temporal contact of blood with corundum ceramics with differentiated surface roughness did not cause increase in extracellular hemoglobin concentration in plasma nor changes in the morphological picture of red, white blood cells and platelets. The estimated corundum ceramics precipitate the blood clotting process. Shortening of the clotting time was observed both for cube-shaped and plate-shaped samples.

Rodzaj materiału Kind of material	Czas kontaktu Contact time [s]	Czas krzepnięcia Clotting time [s]	Skrócenie czasu krzepnięcia w stosunku do kontroli Shortening of clotting time in relation to control		Wydłużenie czasu krzepnięcia w stosunku do kontroli Prolongation of clotting time in relation to control	
			szkło % glass %	PS % PS %	szkło % glass %	PS % PS %
Ceramika korundowa Corundum ceramics	120	156 ± 18,76	16	58	--	--
Ceramika korundowa szlifowana ground corundum ceramics	120	213 ± 16,74	--	43	5	--
Ceramika korundowa polerowana 2,0x2,0x2,0 Polished corundum ceramics	120	217 ± 15,88	--	42	17	--
PS Kontrola / PS Control Szkło / Glass	120	403 ± 62,57	--	--	119	--
	120	184 ± 11,21	--	148	--	--

TABELA 3. Czas krzepnięcia krwi cytrynianowej na powierzchni tworzywa korundowego.  
TABLE 3. Clotting time of citrate blood on the corundum material surface.

1. Ceramika korundowa, korundowa szlifowana i korundowa polerowana, nie wykazują działania toksycznego na składniki morfotyczne krwi.
2. Ceramika korundowa, korundowa szlifowana i korundowa polerowana, aktywują proces krzepnięcia krwi.
3. Ceramika korundowa polerowana wywołuje najmniejsze zmiany badanych parametrów krwi.

## Podziękowanie

Praca finansowana przez grant KBN Nr 7 T08D 016 18.

## Piśmiennictwo

- [1] Lewandowski R., Grzybowski J., Karaś J., Jaegermann Z., Polesiński Z.: Kinetyka uwalniania antybiotyków z implantów ceramicznych. W druku: Polim. w Med.
- [2] Gutowski P., Birkenefeld B., Cnotliwy M.: Ocena przydatności badania znakowanymi Tc99m-HM-PAO leukocytami w diagnostyce zakażenia protezy naczyniowej. Polski Przeg. Chir. 1997, 6, 620-624.
- [3] Pupka A., Skóra J., Janczak D., Ruciński A., Korta K., Barć P., Stępiński P., Szyber P.: Leczenie masywnego zakażenia w chirurgii naczyniowej przy użyciu protezy dakronowej, uszczelnionej kolagenem i impregnowanej solami srebra. Polim. Med. 2003, 1-2, 41-45.
- [4] Goeau-Brissoniere O. A., Fabre D., Leflon-Guibout V.: Comparison of the resistance to infection of rifampin-bonded gelatin-sealed and silver/collagen-coated polyester prosthese. J. Vasc. Surg., 2002, 35, 1260-1263.
- [5] Darouiche R. O.: Anti-infective efficacy of silver-coated medical prostheses. Clin. Infect. Naukowe PWN Warszawa 1998
- [6] Schierholz J. M., Lucas L. J., Rump A., Pulverer G.: Efficacy of silver-coated medical devices. J. Hosp. Infect. 1998, 40, 257-262.
- [7] Kinney E. V., Bandyk D. F., Seabrook G. A. et al.: Antibiotic-bonded PTFE vascular grafts: the effect of silver antibiotic on bioactivity following implantation. J. Surg. Res. 1991, 50, 430-435.
- [8] Paluch D., Szymonowicz M., Pielka S., Majda J.: Wpływ materiałów o różnym stopniu zwilżalności na wybrane parametry układu krzepnięcia" Polim. w Med., 31, 1-2, 2001, 27-32.

## Conclusions

1. Corundum, corundum ground and corundum polished ceramics do not show toxic action on the morphotic elements of blood.
2. Corundum, corundum ground and corundum polished ceramics activate the blood clotting process.
3. Corundum ground ceramics causes the smallest changes of tested blood parameters.

## Acknowledgement

This study was supported by the Grant KBN No 7 T08D 016 18.

## References

- [9] Paluch D., Szymonowicz M., Pielka S., Rutowski R.: Badania in vitro wpływu materiałów poliestrowych o różnym stopniu zwilżalności powierzchni na parametry hematologiczne krwi oraz na parametry układu krzepnięcia i fibrynolizy. Polim. w Med. 32, 1-2, 41-64.
- [10] Paluch D., Szymonowicz M., Rutowski R., Milewski A., Pielka S., Sołski L., Raczyński K.: Badania śródoperacyjne i badania zmian wybranych parametrów krzepnięcia i fibrynolizy, po implantacji protez poliestrowych DALLON H o zwiększonej zwilżalności powierzchni. Polim. w Med. 32, 1-2, 65-79.
- [11] PN-EN ISO 10993-12:2002 Biologiczna ocena wyrobów medycznych. Część 12: Przygotowanie próbek i materiałów odniesienia.
- [12] PN-EN ISO 10993-1:2001 Biologiczna ocena wyrobów medycznych - Ocena i badania. [13], PN-EN ISO 30993-4:2002 Biologiczna ocena wyrobów medycznych - część 4 Wybór badań interakcji z krwią.
- [14] Szymonowicz M., Łowkis B.: In vitro testing method of polymers candidate destined for contact with blood. Polimery w Medycynie 1990, 20, 1-4, 43-54.
- [15] Bomski H.: Podstawowe badania hematologiczne. WL PZWL Warszawa 1995.
- [16] Dąbrowski Z.: Fizjologia krwi. Wybrane zagadnienia cz. 1. 2. Wydawnictwo Naukowe PWN Warszawa 1998
- [17] Krzemińska - Ławkowiczowa I Maj S.: Atlas hematologii klinicznej. WL PZWL Warszawa 1993.

# BADANIA ODDZIAŁY- WANIA KOMPOZYTÓW SIARKOWYCH NA UKŁAD KRZEPNIĘCIA I ELEMENTY KOMÓRKOWE KRWI

STANISŁAW PIELKA\*, MARIA SZYMONOWICZ\*, DANUTA PALUCH\*,  
JOANNA KARAS\*\*, ZDZISŁAW LIBRANT\*\*\*,  
HENRYKA KARMELITA-BUCZYŃSKA\*\*\*\*, ZBIGNIEW JEGERMEN\*\*

\*ZAKŁAD CHIRURGII EKSPERYMENTALNEJ I BADANIA BIOMATERIA-  
LÓW AKADEMII MEDYCZNEJ WE WROCŁAWIU,

\*\* INSTYTUT TECHNOLOGII MATERIAŁÓW ELEKTRONICZNYCH W  
WARSZAWIE,

\*\*\* INSTYTUT SZKŁA I CERAMIKI W WARSZAWIE,

\*\*\*\* LABORATORIUM ANALITYCZNE AKADEMICKIEGO SZPITALA  
KLINICZNEGO WE WROCŁAWIU

Tworzywa siarkowe typu spoiw są kompozytami, w któ-  
rych siarka stanowi matrycę, a rozdrobniona część (cera-  
mika, piasek kwarcowy) stanowi fazę rozproszoną. Tworzywa te stosowane są między innymi do łączenia części  
metalowych z ceramicznymi. Odpowiednio modyfikowane  
tworzywo siarkowe, zastosowane jako warstwa ochronna  
na wszczepach, może poprawić biogodność wszczepów  
wobec tkanek. Charakterystyczną cechą tych tworzyw jest  
ich hydrofobowość, co jest korzystne w przypadku materia-  
łów mających kontakt z krwią [1, 2, 3, 4, 5, 6].

Celem badań było określenie wpływu tworzyw siarko-  
wych na pełną krew. Badania wykonano w Zakładzie Chi-  
rurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów Akademii  
Medycznej we Wrocławiu. Badania dotyczyły:

1. oddziaływania hemolitycznego tworzyw siarkowych przez  
oznaczenie stężenia hemoglobiny pozakrwinkowej po kon-  
tacie z próbkami,
2. wpływu wyżej wymienionych tworzyw na elementy mor-  
fotyczne krwi i,
3. na czas krzepnięcia krwi.

## Material

Próbki do badań, przygotowane w Instytucie Technologii  
Materiałów Elektronicznych, stanowiły płytki i kostki sze-  
ściennie, o następującym składzie:

1. tworzywo siarkowe SK o zawartości: S - 82,5%, SiO<sub>2</sub> -  
2,5%, CaCO<sub>3</sub> - 15%,
2. tworzywo siarkowe SW o zawartości: S - 94%, SiO<sub>2</sub> -  
3%, C - 3,0%.

Próbki do badań biologicznych poddano sterylizacji radia-  
cyjnej.

## Metody i wyniki

Do badań użyto krwi O Rh+, pobranej na płyn konser-  
wujący CPD. Tworzywa siarkowe inkubowano z krwią w  
temperaturze 37°C. Zmiany we krwi oraz wygląd makrosko-  
powy badanych próbek oceniono po 2 godz. i po 24 godz.  
[7, 8, 9, 10].

Stężenie hemoglobiny pozakrwinkowej w osoczu krwi  
oznaczono metodą cyjanomethemoglobinową [11, 12]. Oce-

# INVESTIGATION OF SULPHUR COMPOSITES REACTION ON THE COAGULATION SYSTEM AND CELLULAR ELEMENTS OF BLOOD

STANISŁAW PIELKA\*, MARIA SZYMONOWICZ\*, DANUTA PALUCH\*,  
JOANNA KARAS\*\*, ZDZISŁAW LIBRANT\*\*\*,  
HENRYKA KARMELITA-BUCZYŃSKA\*\*\*\*, ZBIGNIEW JEGERMEN\*\*

\*THE DEPARTMENT OF EXPERIMENTAL SURGERY AND BIOMATE-  
RIALS RESEARCH OF WROCLAW MEDICAL UNIVERSITY,

\*\*INSTITUTE OF ELECTRONICAL MATERIALS TECHNOLOGY IN  
WARSAW,

\*\*\*INSTITUTE OF GLASS AND CERAMICS IN WARSAW,

\*\*\*\*ANALYTICAL LABORATORY ASK IN WROCLAW

Sulphur materials of binder - type are composites in which  
sulphur constitutes the matrix and the broken-up part (ce-  
ramics, quartz sand) constitute the scattered phase. These  
materials are used, among others, for connecting metallic  
with ceramic parts. Properly modified sulphur material used  
as a protective layer on implants can improve implant  
biocompatibility with the tissue. The characteristic feature of  
these materials is its hydrophoby and it is beneficial in the  
case of materials having contact with blood [1, 2, 3, 4, 5, 6].

The aim of the investigations was the influence of sul-  
phur materials on whole blood. The investigations were  
made in The Department of Experimental Surgery and  
Biomaterials Research of Wrocław Medical University. The  
investigations dealt with:

1. haemolytic reaction of sulphur materials by determina-  
tion of extracellular haemoglobin concentration after con-  
tact with the samples,
2. influence of the above mentioned materials on the mor-  
photic blood elements and,
3. on the blood coagulation time.

## Material

The samples for the tests prepared in Institute of  
Electronical Materials Technology were made up of plates  
and cubes with the following structure:

1. Sulphur material SK with the contents: S - 82,5%, SiO<sub>2</sub> -  
2,5%, CaCO<sub>3</sub> - 15%,
2. Sulphur material SW with the contents: S - 94%, SiO<sub>2</sub> -  
3%, C - 3,0%

The samples underwent radiation sterilization for biological  
investigations.

## Methods and results

Blood ORh+ taken for preservative CPD was used in the  
investigations. The sulphur materials were incubated in  
blood at temperature 37°C. The changes in blood and mi-  
croscopic appearances of the tested samples were esti-  
mated after 2 and 24 hours [7, 8, 9, 10].

Extracellular haemoglobin concentration was determined  
with the cyanomethemoglobin method [11, 12]. Morpho-  
logical estimation of morphotic blood elements was made

Rodzaj materiału Kind of material	Czas Time [h]	Hb [mg/dl]
Tworzywo siarkowe SK Sulphur material SK	4 24	40,91±1,92 69,30±6,22
Tworzywo siarkowe SW Sulphur material SW	4 24	49,67±3,47 55,85±1,55
Kontrola Control	4 24	27,02± 3,61 35,55± 1,01

**TABELA 1. Stężenie hemoglobiny pozakrwinkowej w osoczu kontrolnym i po kontakcie z tworzywem siarkowym**

**TABLE 1. Extracellular haemoglobin concentration in control plasma and after contact with sulphur material**

ny morfologicznej składników morfotycznych krwi dokonano w barwionych preparatach krwi metodą MGG w powiększeniu imersyjnym mikroskopu świetlnego [11, 13].

Stężenie hemoglobiny pozakrwinkowej w osoczu otrzymanym po kontakcie z tworzywem siarkowym SK oraz SW było zwiększone w porównaniu do wartości we krwi kontrolnej. Stwierdzone wartości hemoglobiny dla tworzywa SW były zmniejszone w porównaniu do tworzywa SK (TAB. 1). W obrazie mikroskopowym krwi cytrynianowej stwierdzono prawidłowy kształt krwinek czerwonych i białych oraz płytek krwi. Natomiast po 24 godz. obserwowano krwinki czerwone typu akantocyta. W barwionych rozmazach krwi po kontakcie z tworzywem siarkowym SK stwierdzono krwinki czerwone typu akantocyta oraz rulonizację krwinek. Zmiany w kształcie krwinek były bardziej widoczne po 24 godz. kontaktu z tworzywem. W obrazie białokrwińkowym oraz krwinek płytkowych nie obserwowano zmian. We krwi po kontakcie z tworzywem siarkowym SW stwierdzono akantocyty i rulonizację krwinek czerwonych. Wydłużenie czasu kontaktu materiału z krwią wywołało większe zmiany w kształcie krwinek czerwonych i białych.

Próbki z tworzywa siarkowego SK po czasowym kontakcie z krwią różniły się swoim wyglądem od próbek siarkowych SW. Wokół próbek SK stwierdzono utworzony skrzep czerwonekrwińkowy. Wielkość i przyczepność skrzepu do ścianek próbek była związana z gładkością, powierzchni materiału oraz zależna od czasu kontaktu z krwią.

Wpływ tworzyw siarkowych na krzepnięcie krwi określono poprzez oznaczenie czasu rekalcynacji [11]. Oznaczenie wykonano dla krwi po kontakcie z materiałem przez 2

in stained preparations with MGG method in immersive magnification in a light microscope [11, 13].

Extracellular haemoglobin concentration in plasma obtained after contact with sulphur material SK and SW was increased in comparison with the value in control blood. The observed haemoglobin values for material SW were decreased in comparison with material SK (TAB. 1). In the macroscopic picture of citrate blood the correct shape of red and white cells and platelets was observed. However, after 24 hours red cells of acanthocyte -type were observed. In the stained blood smears after contact with sulphur material SK red cells of acanthocyte - type and rouleau formation of blood cells were observed. The changes in the cells shape were not visible after 24 hour contact with the material. In the picture of white cells and platelets changes were not observed. In blood after contact with sulphur material SW acanthocytes and rouleau formation of red cells were observed. Prolongation of the contact time of the material with blood caused larger changes in the shape of red and white cells.

The samples from sulphur material SK after a temporal contact with blood were different in appearance from the sulphur samples SW. A red-cellular clot formation was observed around the samples SK. The size and clot adhesiveness to the sample walls were linked with the material surface smoothness and depended on the contact time with blood.

The influence of sulphur materials on blood coagulation was established by determining the calcium coagulation time. The determination was made for blood after contact with the material after 2 and 4 hours in temp. 37 C. The coagulation time after calcification observed for sulphur materials was compared with the coagulation time on the PS and glass surface.

Shortening of the coagulation time by mean 44% for sulphur material SK was observed in comparison with the control PS and with sulphur material SW. The coagulation time was similar to the value observed on the glass surface. The coagulation time for sulphur material SW was prolonged with relation to the sulphur material SK and comparable with the value observed for the PS surface (TABLE 2).

Observation of the clot formation and measurement of the coagulation time was made on the samples in the shape of plates. Whole blood was inserted on the samples surface and its shape was observed. Next, calcium coagulation time was measured.

On the surface of smooth polished sulphur material SK the blood drop was ball - shaped. Blood coagulation was

Rodzaj materiału Kind of material	Czas kontaktu Contact time [min.]	Czas krzepnięcia Coagulation time [s]	Skrócenie czasu krzepnięcia w stosunku do kontroli Shortening of coagulation time in relation to control		Wydłużenie czasu krzepnięcia w stosunku do kontroli Prolongation of coagulation time in relation to control	
			szkło % glass %	PS % PS %	szkło % glass %	PS % PS %
			Tworzywo siarkowe SK Sulphur material SK	120 240	147 ± 1,70 144 ± 4,25	1 3
Tworzywo siarkowe SW Sulphur material SW	120 240	264 ± 4,12 305 ± 5,26	-- --	-- --	78 106	-- --
PS Kontrola / PS Control Szkło / glass	-- --	273 ± 18,50 148 ± 16,45	-- --	46 --	-- 84	-- --

**TABELA 2. Czas krzepnięcia krwi cytrynianowej po kontakcie z tworzywem siarkowym mierzony w probówce.**

**TABLE 2. Citrate blood coagulation time after contact with sulphur material measured in a test - tube.**

slow. The coagulation time was shortened by 7% in comparison with the PS surface. On the surface of smooth polished sulphur material the blood drop was also ball - shaped. The coagulation time was prolonged by 19% in relation to PS, by 29% in comparison with material SK and by 162% - with the glass surface (TABLE 3).

On the basis of the obtained results of the investigations, it was observed that sulphur material, depending on the



Rodzaj materiału Kind of the material	Czas kontaktu Contact Time [s]	Czas krzepnięcia Coagulation time [s]	Skrócenie czasu krzepnięcia w stosunku do kontroli Shortening of coagulation time in relation to control		Wydłużenie czasu krzepnięcia w stosunku do kontroli Prolongation of coagulation time in relation to control	
			szkło % glass %	PS % PS %	szkło % glass %	PS % PS %
			Tworzywo siarkowe SK Sulphur material SK	120	373 ± 46,78	--
Tworzywo siarkowe SW Sulphur material SW	120	483 ± 90,23	--	--	162	19
PS kontrola / PS control Szkło / Glass	120	403 ± 62,57	--	--	119	--
	120	184 ± 11,21	--	148	--	--

**TABELA 3. Czas krzepnięcia krwi na powierzchni tworzywa siarkowego.**  
**TABLE 3. Blood coagulation time on the sulphur material surface.**

godz. i 4 godz. w temp. 37°C. Czas krzepnięcia krwi po uwapnieniu, stwierdzony dla tworzyw siarkowych porównano z czasem krzepnięcia na powierzchni PS oraz szklanej.

Dla tworzywa siarkowego SK stwierdzono skrócenie czasu krzepnięcia średnio o 44% w porównaniu do kontroli PS oraz do tworzywa siarkowego SW. Czas krzepnięcia był zbliżony do wartości stwierdzonej na powierzchni szklanej.

Dla tworzywa siarkowego SW czas krzepnięcia krwi był wydłużony w stosunku do tworzywa siarkowego SK oraz porównywalny do wartości stwierdzonej dla powierzchni PS (TAB. 2).

Obserwację formowania się skrzepu oraz pomiar czasu krzepnięcia wykonano na próbkach w postaci płytek. Na powierzchnię próbek nanoszono pełną krew i obserwowano jej kształt. Następnie mierzono czas rekalcynacji krwi.

Na powierzchni tworzywa siarkowego SK gładkiej, polerowanej, kropla krwi miała kształt kulisty. Krzepnięcie krwi zachodziło powoli. Czas krzepnięcia był skrócony o 7% w porównaniu do powierzchni PS, a wydłużony o 102% w stosunku do powierzchni szklanej. Na powierzchni tworzywa siarkowego SW gładkiej, polerowanej kropla krwi miała również kształt kulisty. Czas krzepnięcia krwi był wydłużony o 19% w stosunku do PS, o 29% w porównaniu do tworzywa SK, a o 162% do powierzchni szklanej (TAB.3).

Na podstawie otrzymanych wyników badań stwierdzono, że tworzywo siarkowe w zależności od składu i rodzaju przygotowanych próbek wykazywało zróżnicowane oddziaływanie na elementy morfotyczne krwi i krzepnięcia krwi.

Działanie hemolityczne tworzywa siarkowego SK znalazło potwierdzenie w ocenie morfologicznej krwinek czerwonych oraz w zwiększonym stężeniu pozakrwinkowej hemoglobiny w osoczu krwi. Próbkę siarkowych SK w postaci sześcianów, które były całe zanurzone w krwi, wywołały aktywację procesu krzepnięcia. Potwierdzeniem tego procesu był utworzony skrzep wokół próbki. Na powierzchni próbek w postaci płytek, formowanie się skrzepu następowało powoli. Proces krzepnięcia krwi był wydłużony. Tworzywo siarkowe SW przy dłuższym kontakcie z krwią powodowało wzrost stężenia hemoglobiny w osoczu jak i zmiany morfologiczne komórek krwi. Czas krzepnięcia krwi mierzony po pełnym zanurzeniu w niej próbek i czasowym kontakcie jak i na powierzchni był wydłużony w porównaniu do tworzywa siarkowego SW.

## Wnioski

1. Tworzywo siarkowe SK (siarka, krzemionka, kalcyt) w postaci kostek sześciennych wykazuje toksyczne działanie na składniki morfotyczne krwi oraz powoduje skrócenie czasu krzepnięcia krwi.

composition and the kind of the prepared samples, showed differentiated reaction on the morphotic elements and coagulation of blood.

Haemolytic reaction of sulphur material SK was confirmed in morphological evaluation of red cells and in increased haemoglobin concentration in plasma. Sulphur samples SK in the shape of cubes completely immersed in blood caused the activation of coagulation process. The clot formed around the sample was the confirmation of this process. On the surface of the plate - shaped samples the clot formation was slow. The blood coagulation process was prolonged. Sulphur material SW caused increase of haemoglobin concentration and morphological changes of blood cells during a longer contact with blood. The blood coagulation time measured at complete immersing of the samples in blood and a temporal contact as well as on the surface was prolonged in comparison with sulphur material SW.

## Conclusions

1. Sulphur material SK (sulphur, silica, calcite) in the shape of cubes showed toxic reaction on the morphotic components of blood causes shortening of the coagulation time.
2. The surface of the plates of sulphur material SK prolongs the process of blood coagulation.
3. Sulphur material SW (sulphur, silica, coal - soot) during prolonged contact with blood shows toxic reaction on the blood components.
4. Sulphur material SW prolongs the blood coagulation process.

## Acknowledgement

*This study was supported by the Grant KBN No 7 T08D 016 18.*

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Luboz M. P.: Experimental device for the evaluation of blood compatibility of various materials. W: Vincenzini P.: Ceramics in Surgery. Elsevier Sci. Pub. Co., 1983.
- [2] Basmandjan D., Sefton M., V., Baldwin S.A.: Coagulation on biomaterials in flowing blood: some theoretical considerations. 1997, 18, 1511-1522.
- [3] Yayapour N., Nygren H.: Interactions between whole blood and hydrophilic or hydrophobic glass surfaces: kinetics of cell adhesion, colloids and surfaces. Biointerfaces, 1999, 15, 127-138.
- [4] Delignani D.D.: Effect of surface roughness of hydroxyapatite on human bone marrow cell adhesion, proliferation, differentiation and detachment strength. Biomaterials, 2001, 22, 87-96.
- [5] Paluch D., Szymonowicz M., Pielka S., Majda J.: Wpływ materiałów o różnym stopniu zwilżalności na wybrane parametry układu krzepnięcia. Polim. Med., 31, 1-2, 2001, 27-32.
- [6] Paluch D., Szymonowicz M., Pielka S., Rutowski R.: Badania in vitro wpływu materiałów poliestrowych o różnym stopniu zwil-

2. Powierzchnia płytek twórczywa siarkowego SK wydłuża proces krzepnięcia krwi.
3. Twórczywo siarkowe SW ( siarka, krzemionka, węgiel-sadza ), przy dłuższym kontakcie z krwią, wykazuje działanie toksyczne na składniki krwi.
4. Twórczywo siarkowe SW, wydłuża proces krzepnięcia krwi.

## Podziękowanie

Praca finansowana w ramach grantu KBN Nr 7 TO8D 016 18.

żalności na parametry układu krzepnięcia i fibrylizacji. Polim. w Med., 32,1-2, 41-64.

[7] PN-EN ISO 10993-12:2002 Biologiczna ocena wyrobów medycznych. Część 12 : Przygotowanie próbek i materiałów odniesienia.

[8] PN-EN ISO 10993-1:2001 Biologiczna ocena wyrobów medycznych - Ocena i badania.

[9] PN-EN ISO 30993-4:2002 Biologiczna ocena wyrobów medycznych - część 4 Wybór badań interakcji z krwią.

[10] Szymonowicz M., Łowkis B: In vitro testing method of polymers candidate destined for contact with blood. Polimery w Medycynie 1990, 20, 1-4, 43- 54.

[11] Bomski H: Podstawowe badania hematologiczne. WL PZWL Warszawa 1995.

[12] Dąbrowski Z.: Fiziologia krwi. Wybrane zagadnienia cz. 1. 2. Wydawnictwo Naukowe PWN Warszawa 1998.

[13] Krzemińska - Ławkowiczowa I Maj S.: Atlas hematologii klinicznej. WL PZWL Warszawa 1993.

## WPŁYW BIOMATERIAŁÓW NA SYNTEZĘ CYTOKIN PROZAPALNYCH W LEUKOCYTACH LUDZKIEJ KRWI OBWODOWEJ

STANISŁAW PIELKA\*, ANNA CZARNY\*\*, BOGUSŁAWA ŻYWICKA\*,  
EWA ZACZYŃSKA\*\*, LESZEK SOLSKI\*, DANUTA PALUCH\*,  
JOLANTA STANISZEWSKA-KUŚ\*

\*ZAKŁAD CHIRURGII EKSPERYMENTALNEJ I BADANIA BIOMATERIAŁÓW  
AKADEMII MEDYCZNEJ WE WROCŁAWIU

\*\* INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ PAN WE  
WROCŁAWIU

### Wprowadzenie

Materiały biomedyczne o wysokim stopniu biogodności, i produkty ich biodegradacji, nie powinny wywierać wpływu na układ immunologiczny organizmu, bowiem pobudzenie układu immunologicznego może nasilać procesy zapalne, a także wyzwolić reakcje alergiczne. Są to zjawiska niekorzystne zarówno w przypadku krótkotrwałego kontaktu biomateriału z tkankami, ale przede wszystkim dla długotrwałego utrzymania wszczepu w organizmie. Dotychczas nie w pełni poznany zjawiskiem jest wpływ biomateriałów na produkcję i uwalnianie mediatorów zapalenia, takich jak: czynnika martwicy guza (TNF- $\alpha$ ) najwcześniej występującego w ognisku zapalnym, a także interferonów (IFN) aktywujących makrofagi i fagocytozę. Obecność cytokin prozapalnych powoduje wzrost poziomu NO, który w małych ilościach pełni funkcje ochronną, natomiast w wysokim stężeniu wywiera działanie cytotoksyczne na komórki. Prześledzenie stymulacji tych mediatorów (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , NO) może udzielić odpowiedzi o potencjalnej wczesnej i późnej reakcji tkankowej na nowe biomateriały i okazać się ciekawym testem do praktycznej selekcji materiałów.

## THE INFLUENCE OF THE BIOMATERIALS FOR THE PROINFLAMMATORY CYTOKINES SYNTHESIS IN HUMAN LEUKOCYTES FROM PERIPHERAL BLOOD

STANISŁAW PIELKA\*, ANNA CZARNY\*\*, BOGUSŁAWA ŻYWICKA\*,  
EWA ZACZYŃSKA\*\*, LESZEK SOLSKI\*, DANUTA PALUCH\*,  
JOLANTA STANISZEWSKA-KUŚ\*

\*MEDICAL ACADEMY IN WROCLAW, INSTITUTE OF EXPERIMENTAL  
SURGERY AND BIOMATERIALS RESEARCH, WROCLAW, POLAND,

\*\*INSTITUTE OF IMMUNOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPY, POLISH  
ACADEMY OF SCIENCES, WROCLAW, POLAND

### Introduction

Medical materials of the high level biocompatibility and products of their biodegradation should not have any influence on the immunological system of organism, because such stimulation may cause the increase of inflammatory reactions as well as to provoke the allergic reactions. Such reaction are unfavourable in both cases, for short-time contact biomaterials but specially for all implanted materials, which stayed for long time in the body. As for today we do not know too much about the influence of biomaterials on the production and releasing of inflammatory mediators, such as tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), which are present in inflammatory site during the early stage, and such as interferons which activates macrophags and phagocytosis. The presence of pro-inflammatory cytokines caused the increase of nitric oxide, which itself in small quantities has the protective function, but in higher concentrations has the cytotoxic effect on the cells. The monitoring of the stimulation of these mediators could give us the answer about the potential, early and late tissue reaction for the new biomaterials and it could prove to be the sensitive test for practical selection of materials.

Badano dwie grupy biomateriałów, przeznaczonych:

- do czasowego kontaktu z tkankami - silikonowe cewniki pęcherzowe i dreny
- do stałego kontaktu z tkankami - poliestrowe dzianiny (hydrofilową- I i hydrofobową - II), hydroksyapatytowe implanty dokostne (HAP i HAP/TCP)

Do doświadczeń użyto próbek o jednakowej wadze.

### Ciągłe linie komórkowe

Do badań użyto linii komórkowych oznaczonych L929 i A549

- L929-linia komórkowa otrzymana z podskórnej tkanki tłuszczowej myszy C3H, fibroblastopodobna (ATCC CCL 1).

Hodowlę komórek L929 prowadzono w płynie hodowlanym Eagle'a (MEM) z dodatkiem 10% inaktywowanej (30min., 56°C) surowicy cielęcej (CS), 100 j/ml penicyliny, 100 µg/ml streptomycyny i 2 mM L-glutaminy. Komórki przeszczepiano co 48 godz.

- A549 - linia komórkowa ludzka raka płuc, nabłonkowa (ATCC CCL)

Hodowlę pasażowano w w płynie hodowlanym Dulbecco (DMEM) wzbogaconym L-glutaminą (2mM) i surowica (2% lub 10%) inaktywowana w temp 56°C przez 30 min oraz 100µg/ml streptomycyny.

### Wirus

Namnażanie i oznaczanie aktywności Encephalomyocarditis virus (EMCV) szczepu Col MM (Picornaviridae) prowadzono na linii komórkowej L929.

### Metoda izolacji leukocytów z ludzkiej krwi obwodowej i indukcja cytokin

Krew pobierano na heparynę w stosunku 1:10, leukocyty izolowano przez wirowanie w gradiencie gęstości z użyciem Gradisolu Aqua-Medica (1ml krwi na 0,6 gradisolu). Płukano dwukrotnie w medium hodowlanym RPMI1640 z dodatkami. Na płytkę 24 dołkową firmy Costar nanoszono po 1 ml zawiesiny leukocytów o gęstości  $1 \cdot 10^6$  /ml. Do tak przygotowanych komórek dodawano jałowe próbki badanych biomateriałów o wadze 10 mg, następnie inkubowano w temp. 37°C w wilgotnej atmosferze z 5% CO<sub>2</sub>. Supernatant z nad komórek i biomateriałów zbierano po 24 godzinach inkubacji i zamrażano w -70°C do czasu oznaczeń. W supernatantach z nad komórek i biomateriałów oznaczano poziom cytokin i NO.

### Metoda oznaczania IFN

Poziom interferonu oznaczano mikrometryczną metodą zahamowania efektu cytopatycznego (CPE) wirusa EMC w komórkach hodowli A549. Miareczkowanie interferonu wykonywano na 96 dołkowych płaskodennych płytkach plastikowych. Na płytce zakładano hodowlę A549 o gęstości  $2 \cdot 10^5$ /ml i inkubowano 24h (37°C, 5% CO<sub>2</sub>). Na dodatkowej płytce przygotowano odpowiednie rozcieńczenia badanego materiału w DMEM z dodatkami. Następnie płyn z nad hodowli A549 usuwano i nanoszono przygotowane rozcieńczenia badanego materiału.

Po 24h inkubacji (37°C, 5% CO<sub>2</sub>) hodowlę zakażano EMCV o mianie 102 TCID<sub>50</sub>/ml. Zawiesinę wirusa przygotowano w płynie hodowlanym DMEM z 2% surowicy cielęcej. Na płytce pozostawiono kontrolę wirusa (EMCV) w hodowli, kontrolę referencyjnego interferonu i nie zakażoną kontrolę hodowli komórek A549. Po 24h inkubacji odczytywano efekt cytopatyczny w mikroskopie odwróconym. W przypadku obecności interferonu w materiałach, obserwowano ochronę komórek przed cytopatycznym działaniem wirusa. Rozcieńczenia interferonu, przy którym obserwowano ochronę przed efektem cytopatycznym w 50% komórek, przyjmowano za 1j. IFN. Wyniki odnoszono do miana standardowego IFN-γ (Pharmigen,USA).

There were two groups of biomaterials tested:

- short-time contact: silicone drains and catheters;
- long-time (permanent) contact: polyester knittings (hydrophobic I and hydrophilic II), hydroxyapatite bone implants (HAP and HAP/TCP).

For the assessment the samples of the same weight were used.

### The continuous cell culture lines

In experiments we used of lung adenocarcinoma A549 cell line ATCC CCL 185 and L 929 fibroblastic mouse cells CCL 1. The cells A549 were grown in Dulbecco, Minimum Essential Medium (DMEM) (Gibco), L929 cell line in Eagle culture medium (Gibco), supplemented with 10% calf serum (Gibco), 2mM L-glutamine (Sigma), streptomycin and penicillin (100 µg/ml) (Polfa), and incubated at 37°C in humidified atmosphere with 5% CO<sub>2</sub>. after 48 hours, cells were harvested using trypsin-EDTA (Sigma), and washed two times in Dulbecco or Eagle medium.

### Viruses

The multiplication of viruses Encephalomyocarditis virus (EMCV) of the strain Col MM (Picornaviridae) and assessment of their activity were conducted on L929 cell culture line.

### The human leukocytes sampling and cytokines induction.

The leukocytes used for the assessment were extracted from the peripheral blood of healthy volunteers, which was collected for heparin after centrifugation at the density gradient of Gradisol Aqua-Medica (1ml of blood for 0,6 ml of gradisol). For the purpose of this assessment, a leukocyte suspension in the RPMI medium with 2% fetal calf of serum, 100 v/ml of penicillin, 100 mg/ml of streptomycin.

On a plate with 24 wells (Costar Ltd.) 1 ml of the leukocyte suspension of  $1 \times 10^6$  cells/ml in the culture liquid RPMI with 2% calf serum was deposited into each well. Samples of the tested biomaterials in amount of 10 mg of each were added to prepared cells, which were then incubated for 24h at 37°C and 5% CO<sub>2</sub> and then were frozen at -70°C until the time of tests. The activities of TNF-α, IFN-γ, and nitric oxide were assessed in the supernatants.

### IFN activity

The interferon level was assessed by the micro-method of inhibition of the cytopathological effect (CPE) of EMC virus in the A549 cell culture of human lung adenocarcinoma.

The interferon titration was conducted on plastic 96-well plates. An A549 cell culture of the  $2 \times 10^5$  /ml density was established on each plate and incubated for 24h at 37°C and 5% CO<sub>2</sub>. The proper dilutions of the tested materials in the Dulbecco medium with 10% calf fetal of serum were prepared on the additional plate. The supernatant from above cell cultures was removed and prepared dilutions were deposited. After 24h of incubation (at 37°C and 5% CO<sub>2</sub>) the culture was infected with the titre 102 TCID<sub>50</sub>/ml of EMCV virus. The virus suspension was prepared in the liquid culture medium DMEM with 2% calf fetal serum. The control EMCV virus in the culture, the control-referenced interferon and non-infected A549 cell culture were left on the plate. The cytopathological effect was observed in the reverse microscope after 48h incubation. The presence of interferon resulted in the protection of the cells against cytopathological effects of the virus. The dilution of the interferon, which protected 50% of the cells, was adopted as one unit of IFNs. All results were corrected to the standard titre of IFN-s.

## Metoda oznaczania aktywności czynnika martwicy nowotworów

Miano TNF- $\alpha$  oznaczano metodą biologiczną na plastikowych płytkach 96 dołkowych. Na płytce zakładano hodowlę komórek L929 o gęstości  $4 \cdot 10^5$ /ml i inkubowano 24h ( $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ ). Na osobnej płytce przygotowano odpowiednie rozcieńczenia badanego materiału w MEM z 10% surowicą cielęcą i aktynomycyną D (2,5mg/ml). Następnie płyn z nad hodowli L929 usuwano i наносono przygotowane rozcieńczenia. Po 24h inkubacji ( $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ ), obserwowano degenerację komórek wywołaną przez TNF- $\alpha$ . Jednocześnie pozostawiono kontrolę hodowli komórek L929 (bez aktynomycyny), z aktynomycyną i kontrolę standardowego rHu TNF- $\alpha$ . Rozcieńczenie TNF- $\alpha$  wywołujące efekt toksyczny w 50% komórek, odpowiada 1 jednostce aktywności TNF- $\alpha$ . Wyniki odnoszono do miana standardowego rHu TNF- $\alpha$  (Pharmigen, USA).

### Oznaczanie poziomu tlenu azotu

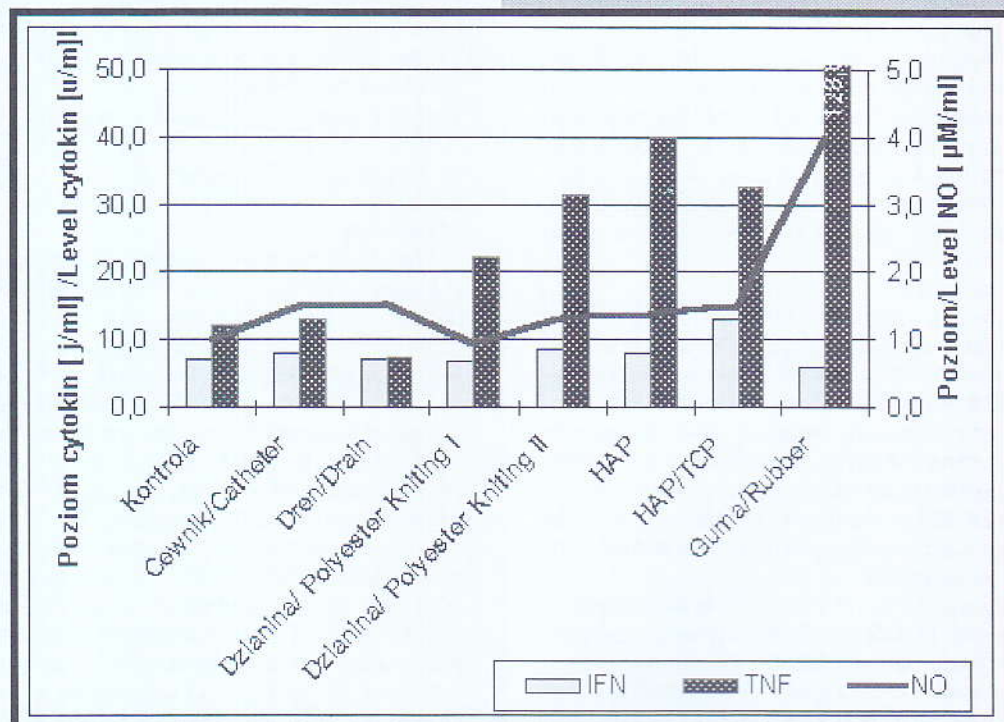
Stężenie  $\text{NO}_2$  w nadsączach z nad hodowli leukocytów mierzono wykorzystując metodę kolorymetryczną wg. Dinga i współr. (1988). Na plastikową płytkę 96 dołkową (Nunc) наносono badane supernatanty w ilości 100ml/dołek dodawano po 100ml odczynnika Griessa (0,1% dichlorowodorek naftylenodiaminy w  $\text{H}_2\text{O}$  i 1% sulfanilamidu w 5%  $\text{H}_3\text{PO}_4$  w stosunku 1:1). Płytkę inkubowano w temperaturze pokojowej przez 12min. Po tym czasie oznaczano absorbancję na czytniku Stat Fax 2100 (Awarenes, Technology inc) przy długości 540 nm. Stężenie  $\text{NO}_2$  obliczano korzystając z krzywej standardowej  $\text{NaNO}_2$ .

### TNF- $\alpha$ level

The level of TNF- $\alpha$  was determined by biological method on 96-well plates on which the L929 cell cultures of mouse fibroblasts were established with the density  $2 \cdot 10^5$ /ml and incubated for 24h ( $37^\circ\text{C}$  and 5%  $\text{CO}_2$ ). The proper dilutions of the supernatant from above leukocyte cultures in the Eeagle medium containing 10% calf fetal of serum and actinomycine D (Sigma) (2,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) were prepared on a separate plate. Then the liquid from above the L929 cultures was removed and the proper previously prepared dilutions were deposited on these cultures. The degeneration of the cells caused by TNF was observed in the inverted microscope after 24h and 72h incubation (at  $37^\circ\text{C}$  and 5%  $\text{CO}_2$ ). In parallel L929 cultures in the Eeagle medium a without actinomycine, with the actinomycine and the standard control of rHu TNF- $\alpha$  were also established for comparison.

### Nitric oxide level

The concentration of nitric oxide ( $\text{NO}_2$ ) was measured in the supernatant from above leukocyte cultures using the colorimeter method according to Ding et all. 100  $\mu\text{l}$  of Griess reagent (i.e. 0,1% dihydrochloride naphthylenediamine in  $\text{H}_2\text{O}$  and 1% sulfanilamide in 5%  $\text{H}_3\text{PO}_4$  in the ratio 1:1) was added to 100  $\mu\text{l}$  of the tested material for one well. Then the plate was incubated at room temperature for only 12 minutes and optical density was measured in the Stat Fax 2100 counter (Awareness Technology Inc.) at the wavelength of 540 nm. The concentration of  $\text{NO}_2$  was calculated in relation to the standard curve of  $\text{NaNO}_2$  prepared within concentrations from 1  $\mu\text{M}/\text{ml}$  to 100  $\mu\text{M}/\text{ml}$ .



RYS. 1. Pozim cytokin prozapalnych TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  i tlenu azotu w nadsączach hodowli leukocytów krwi ludzkiej po stymulacji próbkami biomateriałów.

FIG. 1. The cytokines levels of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and nitric oxide in the supernatant of human peripheral blood after stimulation by the samples of different biomaterials.

## Wyniki Omówienie

Badane silikonowe dreny i cewniki nie stymulowały leukocytów ludzkich do zwiększonej syntezy TNF i IFN oraz wzrostu poziomu tlenków azotu, a otrzymane wyniki były porównywalne ze spontaniczną produkcją tych czynników przez komórki nie traktowane biomateriałami (RYS. 1).

Biomateriały przeznaczone do bezpośredniego kontaktu z krwią (poliestrowe dzianiny) i na wszczepy kostne (hydroksyapatyt, hydroksyapatyt-TCP), wywoływały umiarkowaną indukcję badanych mediatorów reakcji zapalnej (RYS. 1). Produkcja TNF- $\alpha$ , najważniejszego i charakterystycznego czynnika reakcji zapalnej, przez leukocyty stymulowane próbkami gumy technicznej stanowiła kontrolę pozytywną (TNF-128j/ml).

## Wnioski

1. Badane biomateriały przeznaczone:

- do czasowego kontaktu z tkankami - silikonowe dreny i cewniki nie powodują wzrostu syntezy cytokin TNF, INF i tlenków azotu w leukocytach ludzkich.
- do stałego kontaktu (wszczepy)- poliestrowe dzianiny i hydroksyapatytowe materiały dokostne charakteryzują się umiarkowanymi właściwościami immunomodulacyjnymi.

2. Prześledzenie stymulacji mediatorów zapalenia TNF, IFN, NO może udzielić odpowiedzi o potencjalnej wczesnej i późnej reakcji tkankowej na nowe biomateriały.

## Podziękowanie

Praca wykonana została w projekcie badawczym nr 552 w ramach badań własnych Uczelni.

## Piśmiennictwo

- [1] Czarny A., Witkowska D., Mulczyk M.: Induction of Tumor Necrosis Factor and Interleukin6 by Outer Membrane Proteins of Shigella in Spleen Cells and Macrophages of Mice. Arch. Immun. et Therapiae Exper. 1993, 41, 153-157.
- [2] Żywicka B., Paluch D., Staniszevska -Kuś J., Solski L., Szymonowicz M., Biocompatibility evaluation of high strength aramid fibres. Inżynieria Biomateriałów 1998, 1, 3, 12-16.
- [3] Misterka S., Paluch D., Staniszevska -Kuś J., Żywicka B., Pobiedzińska J.; Zmiany w poziomie interleukiny -1B i interleukiny-6 po implantacji wybranych materiałów medycznych. Doniesienie wstępne. Polim. Med. 1998, T XXVIII, No 1-2, 15-24.

## Results Discussion

The tested silicone drains and catheters did not stimulate human leukocytes for higher synthesis of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  neither to the increase of nitric oxide level. The obtained results were all comparable with the spontaneous production of these factors by the control cells not treated with the tested biomaterials (FIG. 1).

Biomaterials intended to use in direct contact with blood (e.g. polyester knittings) or as bone implants (hydroksyapatite, hydroksyapatite-TCP), caused the moderate induction of the tested pro-inflammatory mediators (FIG. 1). Production of TNF- $\alpha$ , the most important and characteristic of all the inflammatory reaction factors, by the human leukocytes stimulated by the samples of technical rubber served as the positive control (TNF-128u/ml).

## Conclusions

1. The tested biomaterials intended to use:

- short-time contact with tissues (silicone drain and catheters) do not cause the increase of the synthesis of cytokines TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  and nitric oxide (NO) in human leukocytes.
  - long-time (permanent) contact (implants) - such as polyester knittings and hydroxyapatite bone implants are characterized by moderate immuno-modulative properties.
2. The monitoring of the stimulation of these mediators could give us the answer about the potential, early and late tissue reaction for the new biomaterials.

## Acknowledgement

The work has been done as the part of Medical Academy grant no 552.

## References

- [4] Zaczyńska E., Pielka S., Staniszevska -Kuś J., Czarny A., Żywicka B., Dawidowicz A.: Influence of hydroxyapatite implants (HAP/TCP and HAP) on TNF level in rat's blood and local soft response. XI Polish Society for Immunology Congress, Olsztyn, Poland, 18-21 September 2002. Centr. Europ. J. of Immunol. Vol 27, suplement. 1
- [5] Czajkowska B., Otfinowski J., Ptak M., Pawelec A., Lekki J.: Different Reactions of macrophages cultured with the samples of new and polyethylene cups of the hip prosthesis. Inżynieria Biomateriałów 2000, 11, 8-10.
- [6] Zaczyńska E., Pielka S., Staniszevska -Kuś J., Czarny A., Żywicka B., Paluch D., Dawidowicz A.: Badania porównawcze indukcji TNF- $\alpha$  in vitro i miejscowej reakcji tkanek po implantacji HAP i HAP/TCP, Polim. Med. 2003, T. XXXIII, No.1-2.

# NIEKTÓRE PROBLEMY WYKORZYSTANIA BIOINŻYNIERII W ZAAWANSOWANEJ CHIRURGII KRĘGOSŁUPA

L. F. CIUPIK

LFC, INSTYTUT BIOMEDYCZNEJ TECHNOLOGII I INŻYNIERII,  
(LFCoIBMTE) ZIELONA GÓRA, POLSKA

## Streszczenie

*Więcej niż 25% populacji europejskiej ma zwyrodnienia, zniekształcenia, problemy onkologiczne, bóle pleców i inne neuro-ortopedyczne upośledzenia układu kostno-mięśniowo-kostnego człowieka. Dzisiaj w leczeniu chirurgicznym używa się zbyt dużo "sztywnego" metalu, który ogranicza ruchomość pacjenta i powoduje wzrost ryzyka komplikacji pooperacyjnej.*

*Zastosowanie nowego bio-nano-materiału i biotechnologii pozwala na stworzenie nowej generacji wielofunkcyjnego implantu, który mniej obciąża pacjenta i zachowuje jego ruchomość; "from arthrodesis to arthroplasty". Procedura implantacji będzie dostosowana do mikroinwazyjnej chirurgii. Wsparcie leczenia naprawą komórki i substytutem kości przedłuża okres aktywności życiowej pacjenta i zdrowe starzenie się społeczeństwa.*

## Wprowadzenie

Niesprawność kręgosłupa ludzkiego wynika z następujących grup schorzeń: deformacyjnych, traumatologicznych, infekcyjnych, onkologicznych, neurologicznych i innych -kazuistycznych przypadków lub związana jest z normalnym procesem starzenia się człowieka. Niesprawność ta objawia się bólem ograniczającym ruch człowieka lub/i zmianami deformacyjnymi kręgosłupa często połączonymi z patologią. Niekiedy niesprawność jest tak duża, że wymaga wsparcia mechanicznego stabilizatorami (implantami), chirurgicznego doprowadzenia do powstania układu bio-mechanicznego, by w niektórych przypadkach "biologia" samodzielnie przejęła ponownie swe funkcje mechaniczne (bez stabilizatora) lub we współdziałaniu ze stabilizatorem. W większości postępowań leczniczych dąży się, by stabilizator nie będący protezą pełnił funkcję "czasowo".

## Czasowa funkcja stabilizatora

Najbardziej znanym od lat sześćdziesiątych poprzedniego wieku, do leczenia skolioz, jest tzw. stabilizator Harringtona. Metoda leczenia polegała na dystrakcji krzywej części kręgosłupa przy pomocy dwóch haków i pręta. Przez pewien czas, do powstania zrостu kostnego w zakresie korygowanej krzywizny kręgosłupa, elementem przenoszącym obciążenie był "pręt" Harringtona. Obciążenie pręta kończyło się, gdy ponownie "biologia" przejęła obciążenie, jak na RYS. 1.

Ogólnie procedura leczenia kręgosłupa wspomagana implantami polega na dystrakcji (odbarczeniu) i ustabilizo-

# SOME PROBLEMS OF BIOENGINEERING APPLICATION IN ADVANCED SPINE SURGERY

L. F. CIUPIK

LFC, INSTITUTE OF BIOMEDICAL TECHNOLOGY & ENGINEERING,  
(LFCoIBMTE), ZIELONA GÓRA, POLAND

## Abstract

*More than 25% of the European population suffers from arthritis, deformities, oncological problems, pain in the back or other neuro-orthopedic impairments of musculoskeletal system. Today, in surgical treatment with implants, too much of rigid metal is applied, which in consequence limits the movability of the patient and raises serious risk of complication in the patient's post-operational life. Application of new bio-nano-materials and bio-nano-technologies permits to create a new generation of multifunctional implants, which are less burdening for the patient, increasing patient's mobility; "from arthrodesis to arthroplasty". The procedure for implantation especially for spine will be adapted to minimally-invasive surgery. A parallel support by means of tissue repair and bone substitutes prolongs the patient's life-activity as well as healthy aging of the society.*

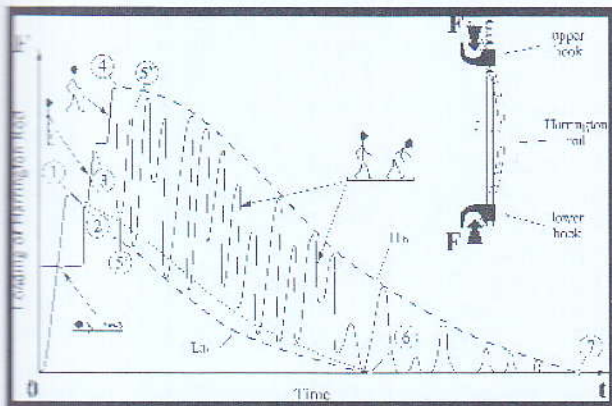
## Introduction

The disfunctioning of human spine takes its results from illnesses that can be grouped as: deformative, traumatic, infectious, oncological, neurological, and other casuistic cases or ones related to the ordinary process of human aging. The disfunctioning causes pain, which in consequence hinders body movements, and reveals deformation to the spine, often accompanied by pathology. In certain cases, the disfunctioning is so advanced that it requires mechanical support by stabilizers (implants), surgical intervention for the creation of bio-mechanical system, so that nature could take over its mechanical activeness, with or without the aid of a stabilizer. For most treatment procedures, the stabilizer, which is not regarded as a prosthesis, is intended for "temporary" use.

## Temporary function of a stabilizer

Since the nineteen sixties, the most widely known stabilizer for the treatment of scoliosis, has been the so-called Harrington stabilizer. The curing method involved the distraction of the curved section of the spine by means of two hooks and a rod. For a limited period of time, until a bone joint was formed at the corrected spinal curve, it was the Harrington "rod" that became the load-bearing component. The rod ceased to play that role as soon as "biology" could handle the load, as illustrated on FIG. 1.

In general, the procedure for curing the spine with the aid of implants involves the distraction (relief) and settlement, with total or partial shifting of the load, until surgically

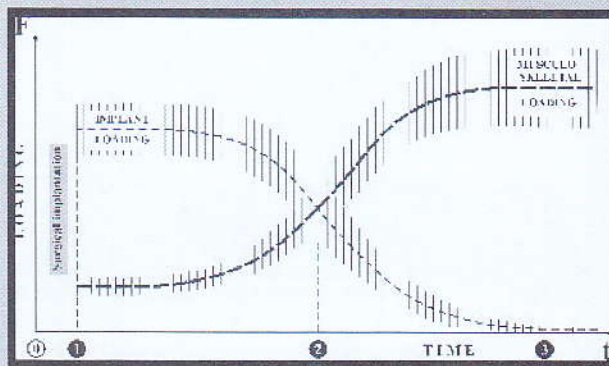


RYS. 1. Schemat zmiany obciążenia dystraktora Harringtona F wszczepionego pacjentowi w funkcji czasu  $t$  po operacji:

0-1 dystrakcja operacyjna,  
1-2 odciążenie relaksacyjne,  
2-3 obciążenie w wyniku pionizacji,  
3-4 obciążenie dynamiczne spowodowane poruszaniem,  
4-5 cykliczna zmiana obciążenia wynikająca z czynności życiowych,  
6 początek zanikania obciążenia,  
7 odciążenie całkowite.

FIG. 1. Scheme of Harrington rod loading "F" implanted in spine vs. time after surgery "t":

0-1 surgical distraction of spine,  
1-2 post-op. relaxation,  
2-3 loading after patient verticalisation,  
3-4 loading caused by moving,  
4-5 cyclic loading as effect of life activities,  
6 decaying of loading,  
7 unloading of rod.

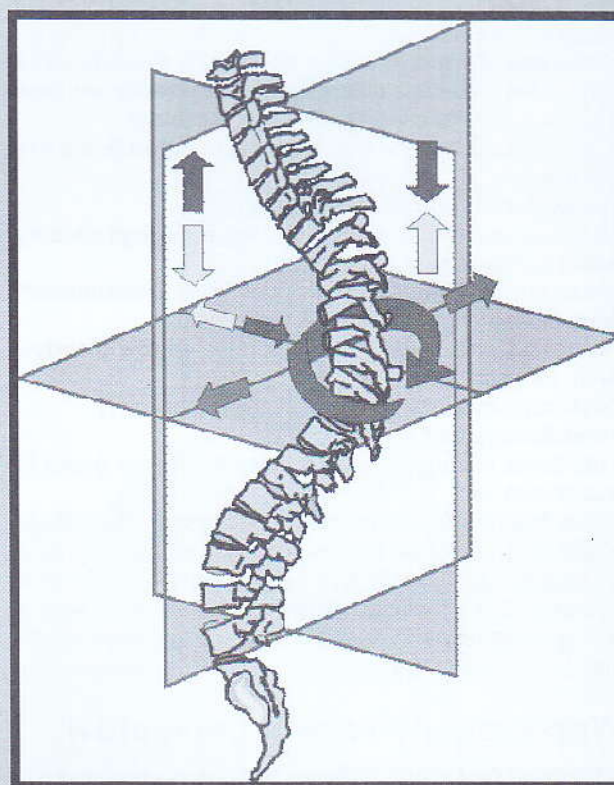


RYS. 2. Obciążenia układu kostno-szkieletowego oraz implantu podczas procesu leczenia.

1-przejęcie obciążeń niestabilnego układu kostno-mięśniowego przez implant,  
2-równy udział w przenoszeniu obciążeń przez układ kostno-mięśniowy oraz implant,  
3-całkowite przejęcie obciążenia przez układ kostno-mięśniowy

FIG. 2. Loading changes of biomechanical system: implant-musculoskeletal after surgery of patient.

1-temporary take over by implant of the loading of unstable musculoskeletal system,  
2-balancing of the loading for musculoskeletal-implant system,  
3-total take over of the loading by "biology"



RYS. 3. Liniowa, dwupłaszczyznowa i trójpłaszczyznowa korekcja kręgosłupa.

FIG. 3. Linear, 2D&3D correction of spine.

triggered bone joint has been formed.

The process of curing is an exceptional "race" between the life of a stabilizer, which bears recurring loads, and nature which steadily takes over that load by synostosis.

FIG. 2 illustrates the areas of load changing held after a

waniu z całkowitym lub częściowym przenoszeniem obciążenia do powstania zrostu kostnego spowodowanego chirurgią.

Leczenie to "swoisty wyścig" między żywotnością stabilizatora przenoszącego cykliczne obciążenia, a przejmującą to obciążenie biologią (zrostem kostnym).

Na RYS. 2 podano pola zmian obciążenia przenoszonych po operacji chirurgicznej odpowiednio przez wszczepiony fixator (krzywa opadająca) oraz przez układ mięśniowo-kostny (krzywa wznosząca). Biomechaniczna rola implantu kończy się po "biologicznym odciążeniu" implantu.

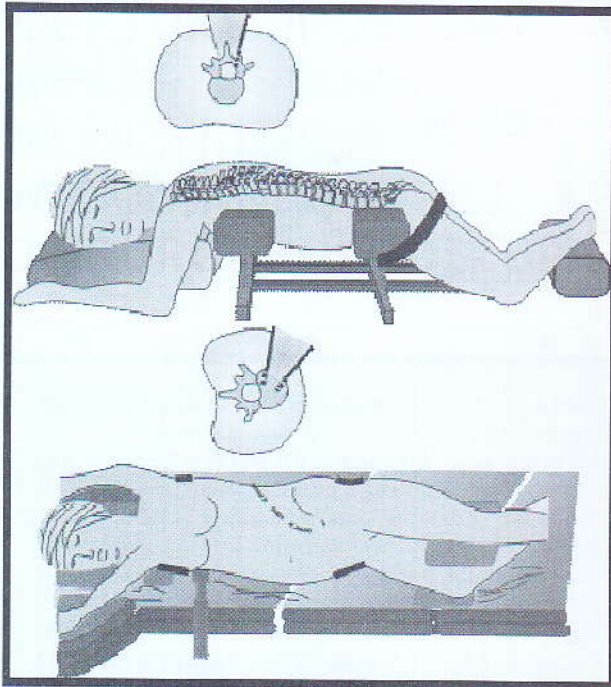
Biologiczne odciążenie stabilizatora kręgosłupowego w przypadku stabilizacji długoodcinkowej (skolioza) następuje po około 8÷18 miesiącach i zależy od schorzenia, rodzaju stabilizatora, procedury chirurgicznej implantacji, aktywności pooperacyjnej pacjenta i jego cech osobistych.

Kręgosłup jako układ o największej ruchomości wymaga trójpłaszczyznowej korekcji (3D) i końcowej stabilizacji (RYS. 3).

Korekcję kręgosłupa dokonuje się mechanicznie z dostępu chirurgicznego tylnego (przez plecy) i przednio-bocznego (przez brzuch, klatkę piersiową); RYS.4.

## Wyzwania we wspomaganie systemu mięśniowo-szkieletowego

Wieloletnie obserwacje pacjentów leczonych implanta- mi, postęp medycyny, nowe oczekiwania medycyny, ko-



**RYS. 4. Tylny i przednio-boczny dostęp chirurgiczny do kręgosłupa.**  
**FIG. 4 Posterior and anterior-lateral surgical approach to the spine.**

nieczność wspomagania coraz większej liczby schorzeń neuroortopedycznych, postęp techniczny, nowe bio-materiały, nowe biotechnologie sprawiły, że pojawiły się nowe wyzwania stawiane współczesnej implantologii.

W zakresie implantologii kręgosłupa oczekuje się między innymi:

- podwyższona biotolerancja implantu,
- zmniejszenia udziału metalu i ograniczenia jego oddziaływania na tkanki okołaimplantowe,
- nowych, biokompatybilnych materiałów implantowych: nano-bio-materiały, nano-bio-warstwy, etc.
- wprowadzenia substytutów kości, materiałów bioaktywnych, biowchłaniających, ...
- wykorzystania inżynierii komórkowej i tkankowej,
- wielofunkcyjności implantu,
- obniżenia chirurgicznego obciążenia pacjenta (niska inwazyjność), etc.

Ogólnie, w zakresie neuro-ortopedycznym, dąży się do najefektywniejszego leczenia niesprawności pacjenta, szczególnie zachowania jego funkcji ruchowych: "from arthrodesis to arthroplasty", przedłużenia aktywności życiowej społeczeństwa i zapewnienia tzw. "zdrowego starzenia".

## Współczesny rozwój implantów kręgosłupowych

Obecnie obserwuje się dwa kierunki rozwoju implantów kręgosłupowych:

- 1<sup>o</sup> - w zakresie stabilizacji: wielofunkcyjność stabilizatorów, małowazyjność, adaptacji stabilizatora do zmian pooperacyjnych, etc.
- 2<sup>o</sup> - zachowanie jak największej ruchomości kręgosłupa: sztuczne stawy, dyski, więzadła, etc.
- 3<sup>o</sup> - wprowadzenie nowych, bio-funkcyjnych materiałów.

W zakresie pierwszym do nowoczesnej praktyki klinicz-

surgical operation respectively by an implanted fixator (falling curve) and the musculoskeletal system (rising curve). The biomechanical role played by an implant comes to an end when it has been biologically relieved from that load. In the cases of long spondylosis (scoliosis) the biological relief of spine stabilizer takes place after 8-18 months and depends on a spine disorder, a design of stabilizer, operative procedure, post operative activities of the patient and its personal features.

The spine as the most mobile system requires a three dimensional correction (3d) (FIG. 3).

Surgical mechanical correction of the spine is executed by posterior and anterior approach (via abdomen, thoracic cage); FIG. 4.

## Challenges in supporting the musculoskeletal system

Due to such factors as long-term follow-up of patients cured with the aid of implants, progress in modern medicine, increasing demand for treating neuroorthopedic disorders, technological development and new bio-materials and biotechnologies, modern implantology now faces uncompromising challenges.

As far as spinal implantology is concerned, it is generally expected:

- to achieve higher biocompatibility of the implant with the human body,
- to lower the content of metal and limit its influence on tissues surrounding the implant,
- to develop new, biocompatible implanting materials: biomaterials, bilayers, etc
- to introduce material substitutes for bones as well as bioactive and bioabsorbable materials,
- to utilize cell and tissue engineering,
- to ensure multifunctionality of an implant,
- to lower the surgical impact on patient (low invasiveness), etc.

Generally, within the scope of neuroorthopedy, the trends incline to the most effective treatment of the patient, especially sustaining their bodily movement functions: "from arthrodesis to arthroplasty", extending the period of active life within society and achieving so called "healthy ageing."

## Modern development of spinal implants

There are two clearly recognized directions for the development of spinal implants.

1<sup>o</sup> - with regard to stabilization: multifunctionality of stabilizers, low invasiveness, adaptability to post-operative changes, etc.

2<sup>o</sup> - ensuring the greatest mobility of the spine: artificial joints, discs, ligaments, etc.

3<sup>o</sup> - introducing new biofunctional materials.

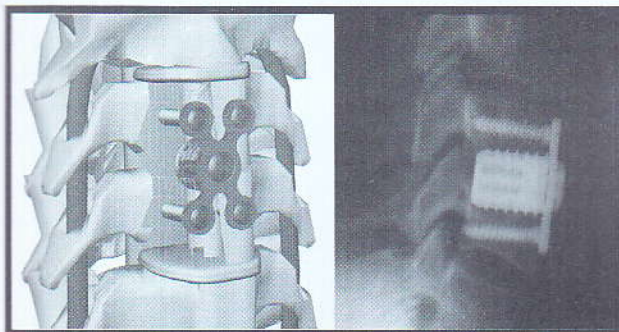
Regarding the first, the modern clinical practice has been introduced with multifunctional implants, providing for the possibility to remove, by operational procedures, the spinal disfunction (core and root pains, abnormal bone reconstruction, cancer, etc), to replace bone defects with implants, and to ensure the distraction/decompression, stabilization with regard to physiological post operative adjustment with its accompanying subsidence, accelerating of biological processes, etc.

An example of a modern solution is the introduction of originally Polish method named the "Double Functional Method"



nej wprowadzono implanty wielofunkcyjne, dające w procedurze śródoperacyjnej możliwość usunięcia dysfunkcji kręgosłupa (ból korzeniowo-rzeniowy, nienormalna przebudowa kości, rak, etc.), wypełnienia implantem ubytków kostnych, zapewnienia dystrakcji/odbarczania, ustabilizowania z uwzględnieniem fizjologicznego dopasowania pooperacyjnego z towarzyszącym mu osiadaniami (subsidence), przyspieszenia procesów biologicznych, etc.

Przykładem nowoczesnego rozwiązania jest wprowadzenie polskiej, oryginalnej metody nazwanej "Double Functional Method" (DoFunoM) do stabilizacji natrzonowo-międzytrzonowej kręgosłupa w odcinku szyjnym stabilizatorem płytkowo-czopowym np. typu DoFunoCoE (RYS.5). Konstrukcja powstała w 1996 r., badania biomechaniczne i testy na zwierzętach zakończono w 1999 r. Uzyskane wyniki zostały 3 lata później potwierdzone w niezależnych badaniach J.C. Le Huec, M. Liu, W. Skalli, L. Josse opublikowanych w "EurSpine J." (2002) 11: 130+136. Obecnie, po trzech latach obserwacji klinicznych, metodę charakteryzuje niezwykle wysoka efektywność leczenia, metoda ta skraca czas operacji, hospitalizacji i koszty leczenia o blisko 50 procent. Rozwiązanie układu biomechanicznego stabilizacji wspomagane analizą komputerową pozwoliło na zaprojektowa-



**RYS. 5. DoFunoM: Double Functional Method; oryginalna polska metoda jednoczesnej stabilizacji szyi: międzytrzonowo czopem (cage) i natrzonowo płytką szyjną (wersja z 1999 r. z walcowym "czopem" gwintowanym).**

**FIG. 5. DoFunoM: Double Functional Method; originally Polish method for simultaneous stabilization of cervical spine: inter-vertebral body by means of cage and on-vertebral body by means of cervical plate (model of 1999 with a cylindrical, threaded cage).**

nie najłżejszego stabilizatora płytkowego -spośród dotychczas znanych- płytki szyjnej o masie o ~50 procent mniejszej (stop tytanu) od powszechnie stosowanych.

Innym przykładem jest unikatowa stabilizacja jedno- i wielosegmentowa z dostępu chirurgicznego przedniego pierświowo-łędźwiowego odcinka kręgosłupa. W stabilizacji tej zamiast tradycyjnych śrub kręgosłupowych zastosowano gwintowane, drażnione czopy, które ze względu na miejsce utwierdzenia nazwano IntraoInteroVertebrabodyoCage: IoloVoC; rys.6. Czopy te osadzone są dotrzonowo bądź międzytrzonowo i wraz z łączącym je prętem/belką nośną stanowią skuteczny stabilizator wszczepiany tradycyjną chirurgią lub endoskopowo, chirurgią małoinwazyjną.

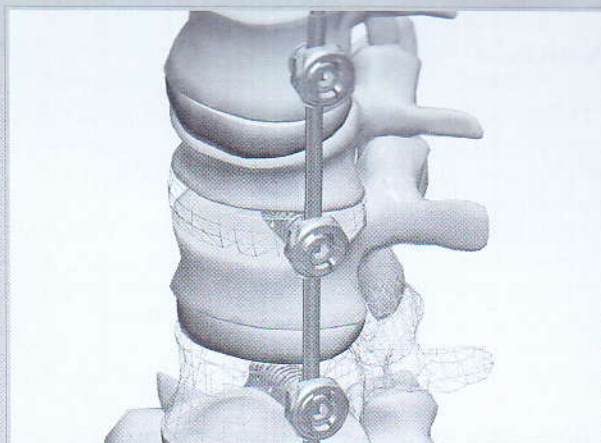
Dla przypadków schorzeń wymagających międzytrzonowego zespolenia zaprojektowano nową, wielofunkcyjną metodę nazwaną R-PLIF (lub R-ALIF). Ważną dla procesu leczenia dystrakcję przestrzeni międzytrzonowej wykonuje się poprzez rotację specjalnie ukształtowanego prostokątnego

(DoFunoM) for on-vertebral body and inter-vertebral body spine stabilization in the cervical section by means of a plate and cage stabilizer, e.g. the DoFunoCoE (see FIG.5). The structure was invented in 1996, and the biomechanical tests as well as tests on animals were completed in 1999. Those achieved results were also confirmed 3 years later by investigations of J.C Le Huec, et al. published in Eur Spine J. (2002)11: 130-136. It has now been clinically observed for three years and the results feature exceptional curing effectiveness, shortening the time of operation, patient's stay at hospital, and reducing the cost of treatment and recovery by nearly 50%.

Owing to the biomechanical stabilization solution assisted by computer analyses, it was possible to design and develop the lightest known cervical plate, whose mass is 50% lower (with the use of titanium alloy).

Another example is a unique stabilization incorporating a single or multiple segments from anterior surgical approach to the thoraco-lumbar spine. In this stabilization, the traditional spinal screws have been replaced by threaded, hollow cages, which due to its fixing location were named "IntraoInteroVertebrabodyoCage": IoloVoC; FIG. 6. These cages are fixed on-vertebral body or inter-vertebral body and, together with their connector rod/supporting beam, make an efficient stabilizer which is implanted either by means of traditional surgery or by means of the endoscope method, which is minimally invasive.

In cases demanding interbody fusion have been designed a new multifunctional method so-called R-PLIF (or R-ALIF). In process of treatment a distraction of interbody space is carried out by rotation of special designed rectangular cages (FIG.7).

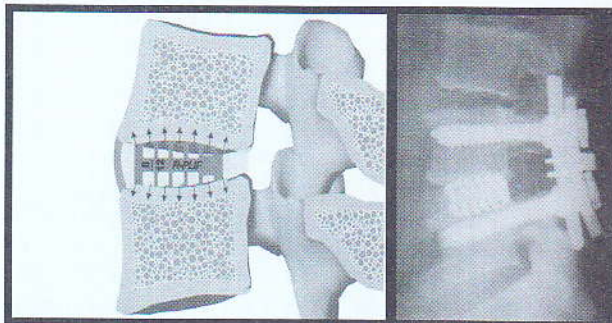


**RYS. 6. Zastosowanie czopów IoloVoC osadzonych do- i międzytrzonowo w miejsce śrub kręgosłupowych zwiększyło pewność biomechaniczną stabilizacji i umożliwiło stosowanie chirurgii małoinwazyjnej; oryginalna polska metoda.**

**FIG. 6. The use of cages IoloVoC fixed on-vertebral body or inter-vertebral body, where spinal screws had previously been used, ensured greater reliability of biomechanical stabilization and enable the use of minimally invasive surgery; an originally Polish method.**

As for spinal arthroplasty, recently, a significant r+d research has been started concerning the development of an artificial disc. FIG. 8 illustrates an example of an artificial disc.

Nevertheless, it has been impossible until now to point at any single solution which would satisfactorily fulfill the



**RYS. 7.** Czop rotacyjno-dystrakcyjny do zespolenia międzytrzonowego według metody R-PLIF/ALIF oraz przykład zastosowania klinicznego.

**FIG. 7.** The rotation cage for interbody fusion according to R-PLIF/ R-ALIF method and examples of its clinical using.

czopa (RYS.7).

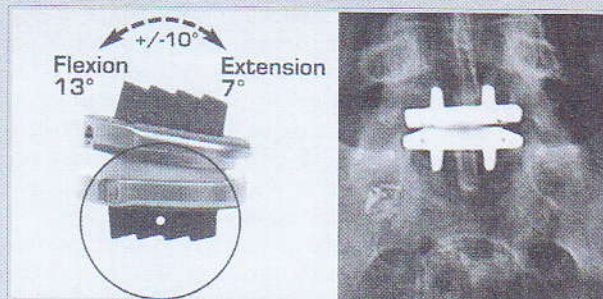
W zakresie artroplastyki kręgosłupa trwają obecnie bardzo intensywne prace b+r dotyczące sztucznego dysku. Na RYS.8 przedstawiono przykład sztucznego dysku.

Nie można jednak do tej pory wskazać na rozwiązanie, które w sposób zadawalający spełniało by podstawowe funkcje dysku kręgosłupowego, tj. 1- zapewniało ruchomość segmentu, 2- było "pochlaniaczem" wstrząsów, 3- zapewniało spójność sąsiednich kręgów.

Niemniej śmiało i wielokierunkowo prowadzone prace badawcze zwiastują rychłe rozwiązanie.

## Wnioski

1. Dzisiaj, w leczeniu chirurgicznym kręgosłupa ze wspomaganie implantami używa się zbyt dużo metalu, który w konsekwencji ogranicza ruch pacjenta i powoduje niedogodności pooperacyjne u pacjenta.
2. Zastosowanie nowych bio-nano-materiałów i bionanotechnologii pozwala tworzyć nową generację wielofunkcyjnych implantów, które mniej obciążają pacjenta, zwiększając jego ruchliwość; "od artrodezy do artroplastyki".
3. Procedura implantacji, szczególnie w przypadku implantów kręgosłupowych będzie dostosowana do chirurgii małoinwazyjnej.
4. Równoległe wsparcie leczenia chirurgicznego naprawą komórki i substytucja kości stwarza szanse na przedłużenie aktywności życiowej pacjenta i zdrowe starzenie się społeczeństwa.



**RYS. 8.** Sztuczny dysk typu "prodisc": widok ogólny i rtg w przestrzeni międzytrzonowej kręgosłupa.

**FIG. 8.** Artificial disc named "prodisc": general view and an X-ray in the inter-vertebral body spinal section.

behavior of a spinal disc, i.e. 1 - provide for segment mobility, 2 - be a good "shock absorber", 3 - ensure the cohesion of adjacent vertebrae, etc.

Equally bold and multidirectional research development implies an emerging solution in the near future.

## Conclusions

1. Today, in surgical treatment with implants, too much of rigid metal is applied, with in consequence limits the mobility of the patient and raises serious risk of complication in patient's post-operational life.
2. Application of new bio-nano-materials and bio-nano-technologies permits to create a new generation of multifunctional implants, which are less burdening for the patient, increasing patient's mobility; "from arthrodesis to arthroplasty".
3. The implantation procedures especially for spine should be adapted to minimally - invasive surgery.
4. A parallel support by means of tissue repair and bone substitutes prolongs the patient's life-activity as well as healthy aging of our society.

# STRUKTURY POLILAKTYDOWE OTRZYMYWANE NA DRODZE DIALIZY – NOWE MATERIAŁY NA RUSZTOWANIA DO HODOWLI KOMÓRKOWYCH

MARIUSZ GADZINOWSKI, STANISŁAW SOSNOWSKI, STANISŁAW SŁOMKOWSKI

CENTRUM BADAŃ MOLEKULARNYCH I MAKROMOLEKULARNYCH PAN UL. SIENKIEWICZA 112, 90-363 ŁÓDŹ

Alifatyczne, biodegradowalne poliestry kwasów karboksylowych (polilaktyd, poliglikolid, poli( $\epsilon$ -kaprolakton), poli-hydroksymaślan i pochodne kopolimery) są stosowane jako materiały do otrzymywania rusztowań do hodowli komórkowych. Na przydatność poliestrów do wspomnianych powyżej celów wpływa nie tylko ich budowa chemiczna lecz również struktura w skali submilimetrowej. Najbardziej dogodnie wydają się być rusztowania o budowie porowatej zawierającej nie tylko pory o szerokościach przekraczających kilkanaście mikrometrów (w których mogą wzrastać komórki) lecz i pory mniejsze umożliwiające dogodny transport środków odżywczych do komórek i usuwanie produktów ich metabolizmu. Jednym ze sposobów wytwarzania takich rusztowań może być ich budowa z mikrocząstek polimerowych o odpowiedniej wielkości i kształtach. W pracy zaproponowano sposób otrzymywania cząstek z biodegradowalnego polimeru-poli(L,L-laktydu) metodą dializy, roztworu polimeru w rozpuszczalnikach organicznych, podczas której następuje wymiana rozpuszczalnika na wodę i stopniowe wytrącanie polimeru w postaci cząstek. Jako stabilizatora zawiesiny użyto terpolimeru blokowego poli(glikol etylenowy)-b-poliglicydol-b-poli(L,L-laktyd). Optymalizacja procesu umożliwiła otrzymanie cząstek charakteryzujących się wysoką porowatością, cechą zazwyczaj pożądaną w wypadku podłoża do hodowli komórkowych.

**Poli(L,L-laktyd)** otrzymano metodą polimeryzacji pseudoanionowej z użyciem triizopropoksyglinu  $Al(O-Pr)_3$  jako inicjatora i 1,4-dioksanu jako rozpuszczalnika [1, 2]. Średni ciężar cząsteczkowy ( $M_n$ ) poli(L,L-laktydu), oznaczony metodą GPC, wynosił 20 000.

**Stabilizator (terpolimer blokowy poli(glikol etylenowy)-b-poliglicydol-b-poli(L,L-laktyd).** Stabilizator zsyntetyzowano metodą żyjącej polimeryzacji anionowej według następującego schematu [3] pokazanego obok.

**Otrzymywanie mikrocząstek:** Poli(L,L-laktyd) rozpuszczono w następujących rozpuszczalnikach: THF, acetonitryl, DMSO, DMF, 1,4-dioksan. W każdym przypadku stężenie poli(L,L-laktydu) było równe 1,0%. Do roztworów dodano w charakterze stabilizatora terpolimer blokowy: poli(glikol etylenowy)-b-poliglicydol-b-poli(L,L-laktyd). Roztwory poddano dializie wobec wody w workach dializacyjnych SERVA SpectraPor, MWCO=1000. Cząstki otrzymywane na drodze dializy wydzielano wykorzystując ich sedymentację w polu grawitacyjnym. Obrazy mikrocząstek rejestrowano stosując skaningowy mikroskop elektronowy Jeol 35C.

Zbadano zależność wielkości i kształtu otrzymanych cząstek od rodzaju użytego rozpuszczalnika i stężenia terpoli-

# NEW POLY(L,L-LACTIDE) STRUCTURES OBTAINED BY DIALYSIS – NEW MATERIAL FOR CELL CULTURES

75

MARIUSZ GADZINOWSKI, STANISŁAW SOSNOWSKI, STANISŁAW SOSNOWSKI

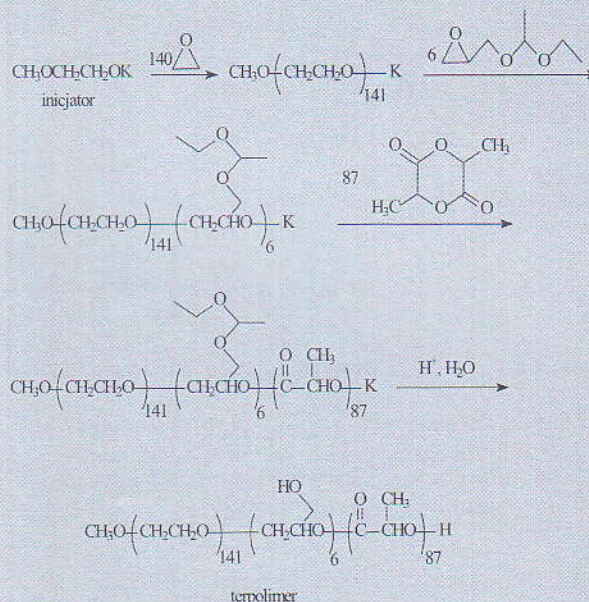
CENTER OF MOLECULAR AND MACROMOLECULAR STUDIES, POLISH ACADEMY OF SCIENCES SIENKIEWICZA 112, 90-363 ŁÓDŹ, POLAND

Aliphatic, biodegradable polyesters of carboxylic acids (polylactides, polyglycolide, poly( $\epsilon$ -caprolactone), polyhydroxybutyrate and related copolymers) have been used as materials for tissue engineering. Suitability of polymers for the mentioned above purposes depends not only on their chemical nature but also on their structure on submillimeter level. The best scaffolds are made from porous materials containing not only pores larger than several micrometers (pores in which cells could grow) but also smaller pores enabling transportation of nutrients and removal of metabolites. In this paper we propose a new method for obtaining poly(L,L-lactide) particles by dialysis of polymer solution in organic solvents against water. During this process particles are formed by polymer precipitation. Poly(ethylene glycol)-b-polyglycidol-b-poly(L,L-lactide) block terpolymer has been used as a stabilizer particle dispersions. Proper selection of solvent and adjustment of polymer concentration allowed obtaining microporous particles, potentially useful as scaffolds for cell cultures.

**Poly(L,L-lactide)** was synthesized by pseudoanionic polymerization using aluminium triisopropoxide  $Al(O-Pr)_3$  as an initiator and 1,4-dioxane as a solvent [1, 2]. Number averaged molecular weight ( $M_n$ ) of synthesized poly(L,L-lactide), determined by GPC, was equal 20000.

**Stabilizer (block terpolymer poly(ethylene glycol)-b-polyglycidol-b-poly(L,L-lactide)** was synthesized by living anionic polymerization as described below:

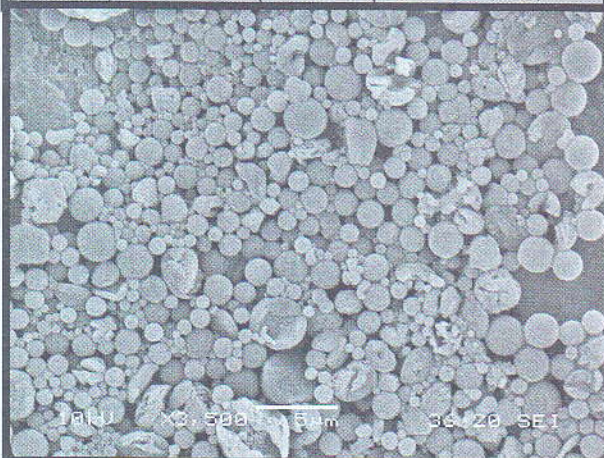
**Formation of microparticles:** Poly(L,L-lactide) was dis-



meru:

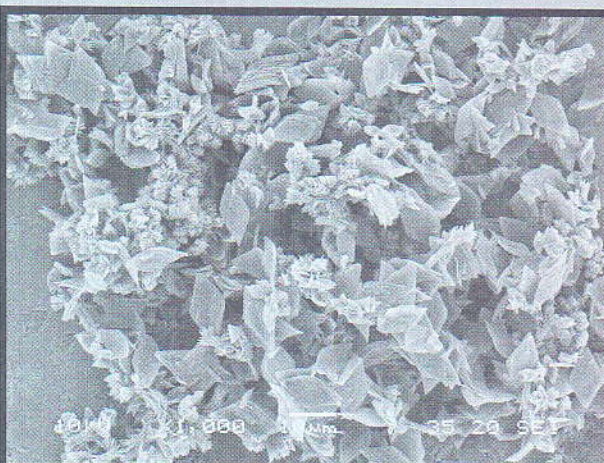
1. Wpływ stężenia terpolimeru na wielkość sferycznych cząstek otrzymanych z roztworu w 1,4-dioksanie. Jedynie z roztworów w 1,4-dioksanie otrzymywano sferyczne cząstki.
2. Wpływ rodzaju rozpuszczalnika na wielkość i kształt otrzymanych cząstek przy stałym stężeniu terpolimeru równym

Symbol próbki Sample code	Stężenie Concentration Poly(L,L-lactide) [%]	Stężenie terpolimeru Stabilizer concentration [%]	Średnica cząstek $D_n$ (wskaznik polidispersyjności $D_w/D_n$ ) Particle size $D_n$ (polydispersity $D_w/D_n$ ) [ $\mu\text{m}$ ]
M1	1.0	0.01	1.30 (2.39)
M2		0.02	0.99 (2.72)
M3		0.05	1.35 (1.97)
M4		0.10	1.27 (3.12)
M5		0.20	1.22 (2.41)
M18		1.0	1.27 (1.99)



Przykładowe zdjęcie cząstek (próbka M18) otrzymanych w wyniku dializy z roztworu polimeru w 1,4-dioksanie. Stężenie terpolimeru 1,0%.

SEM micrograph of microparticles (sample M18) obtained from 1,4-dioxane solution. Concentration of terpolymer 1.0%.



Zdjęcie cząstek otrzymanych w wyniku dializy z acetonitrylu. Stężenie terpolimeru 1,0%.

SEM micrograph of microparticles obtained from acetonitrile. Concentration of terpolymer 1.0%.

solved in THF, acetonitrile, DMSO, DMF and 1,4-dioxane. In each sample concentration of poly(L,L-lactide) was equal 1.0%. Poly(ethylene glycol)-b-polyglycidol-b-poly(L,L-lactide) block terpolymer, used as a stabilizer, was added to each sample. Samples were placed into dialysis tubes (SERVA SpectraPor, MWCO=1000). Obtained particles were isolated by sedimentation. SEM microphotographs of microparticles were recorded using a Jeol 35C apparatus. Relations between size and shape of microparticles and the nature of solvent and polymer concentration were investigated.

1. Relation between diameters of spherical particles and concentration of terpolymer in 1,4-dioxane. Only from solution in 1,4-dioxane the spherical particles were obtained.
2. Relation between shapes of particles and nature of the solvent. Concentration of stabilizer was equal 0.1% (studies for THF, acetonitrile, DMSO, and DMF solvents).

It has been found that morphology of obtained particles strongly depends on the nature of solvent but does not depend on concentration of terpolymer used as a stabilizer. Particles obtained from solutions in 1,4-dioxane were spherical. Dialysis from THF, acetonitrile, DMSO, and DMF yielded crystalline microparticles with partially exfoliated lamellar structures. Poly(L,L-lactide) microparticles have been



Zdjęcie cząstek otrzymanych w wyniku dializy z acetonitrylu. Stężenie terpolimeru 0,1%.

SEM micrograph of microparticles obtained from acetonitrile. Concentration of terpolymer 0.1%.



Zdjęcie cząstek otrzymanych w wyniku dializy z acetonitrylu. Stężenie terpolimeru 0%

SEM micrograph of microparticles obtained from acetonitrile. Concentration of terpolymer

0.1% (zależność badana w THF, acetonitrylu, DMSO, DMF). Stwierdzono wyraźną zależność morfologii otrzymanych cząstek od rodzaju rozpuszczalnika, natomiast wpływ stężenia użytego stabilizatora był znacznie słabszy. Cząstki utrzymywane na drodze dializy z roztworów w 1,4-dioksanie miały kształt kulisty. Dializa z roztworów w THF, acetonitrylu, DMSO, DMF prowadziła do powstawania cząstek pod postacią krystalitów rozwarstwiających się na pojedyncze lamele. Poli(L,L-laktyd)owe mikrocząstki o nieregularnych kształtach stanowiły materiał wyjściowy do otrzymywania rusztkowań na drodze tabletkowania w kontrolowanych warunkach.

## Podziękowania

Praca była finansowana ze środków KBN, grant 05/PBZ-KBN-082/2002/06.

# WYTWARZANIE MAKROKAPSULEK POLIMEROWYCH Z PRZEZNACZENIEM DO HODOWLI KOMÓREK

MAREK KOZICKI\*, MAREK KOŁODZIEJCZYK\*\*,  
KATARZYNA FILIPCZAK\*, PIOTR ULAŃSKI\*, IRENEUSZ JANIK\*,  
JANUSZ MARIAN ROSIAK\*

\*INSTYTUT TECHNIKI RADIACYJNEJ, POLITECHNIKA ŁÓDZKA,  
UL. WRÓBLEWSKIEGO 15, 93-590 ŁÓDŹ

\*\*KLINIKA CHIRURGII OGÓLNEJ I TRANSPLANTOLOGICZNEJ,  
AKADEMIA MEDYCZNA W WARSZAWIE, UL. NOWOGRODZKA 59

Z chwilą opublikowania pracy na temat wytwarzania hybridowych struktur, tj. enkapsulacji wysepek Langerhansa w matrycach alginianowych pokrytych poli(L-izyną) (Lim i Sun, 1980), nastąpił wzrost zainteresowania alternatywnymi metodami leczenia uszkodzonych gruczołów dokrewnych poprzez, np. wszczepianie takich hybridowych układów. Opublikowano wiele metod wytwarzania hybridowych struktur zarówno w oparciu o naturalne jak i syntetyczne polimery. W większości przypadków skupiono się na wytwarzaniu hybridowych mikrokapsulek, makrokapsulek oraz urządzeń typu hollow-fiber.

W naszym zespole opracowane zostały metody wytwarzania struktur zaliczanych do kategorii mikro- i makrokapsulek. Metody te oparte są na konstruowaniu kapsulek poprzez sieciowanie naturalnego polimeru, alginianu sodu, jonami metali dwuwartościowych, przeważnie jonami Ca<sup>++</sup>. Powierzchnia kapsulek może być dodatkowo modyfikowana poprzez pokrywanie polimerami i sieciowanie chemicznie. W innym podejściu stosujemy otaczanie kapsulek dodatkową otoczką alginianową o regulowanej grubości. Wytwarzane otoczki stanowią zarówno wzmocnienie kapsulek jak i regulują transport masy z i do kapsulek. Opracowaliśmy również przyjazną dla komórek metodę pokrywania kapsulek alginianowych niebiodegradowalnymi polimerami w celu stworzenia struktur trwałych w kontakcie z płynami

used as starting material for preliminary studies on scaffolds formation by pelleting microparticles under controlled pressure.

## Acknowledgements

This work was supported by the State Committee of Scientific Research, grant No. 05/PBZ-KBN-082/2002/06.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] A. Kowalski, A. Duda, S. Penczek, *Macromolecules* 31, 2114-2122 (1998)
- [2] A. Duda, S. Penczek *Mechanism of aliphatic polyester formation in Biopolymers, Vol 3b: Polyesters II - Properties and Chemical Synthesis*, ed. A. Steinbüchel, Y. Doi, Wiley-VCH, Weinheim 2002, chapter 12, pp 371-430.
- [3] M. Gadzinowski, S. Sosnowski, *J. Polym. Sci, Part A*, in press.

# PREPARATION OF POLYMERIC MACROCAPSULES FOR CELL CULTIVATION

MAREK KOZICKI\*, MAREK KOŁODZIEJCZYK\*\*,  
KATARZYNA FILIPCZAK\*, PIOTR ULAŃSKI\*, IRENEUSZ JANIK\*,  
JANUSZ MARIAN ROSIAK\*

\*INSTITUTE OF APPLIED RADIATION CHEMISTRY, TECHNICAL  
UNIVERSITY OF LODZ,

WRÓBLEWSKIEGO 15 ST, 93-590 LODZ, POLAND

\*\*KLINIKA CHIRURGII OGÓLNEJ I TRANSPLANTOLOGICZNEJ,  
AKADEMIA MEDYCZNA W WARSZAWIE,  
UL. NOWOGRODZKA 59, WARSAW, POLAND

Since Lim and Sun published their results on hybrid structures preparation i.e. the pancreatic islet encapsulation in the way of crosslinking of sodium alginate and its complexation by poly(L-lysine) (Lim and Sun, 1980), the increased interest in alternative methods of damaged endocrine glands treatment, e.g. by implantation of hybrid structures, has been observed. There have been some methods of the hybrid structures manufacture described basing both on natural and synthetic polymers application. Most of them aim at construction of hybrid microcapsules, macrocapsules and hollow-fibre type devices.

In our group the methods of manufacture of structures that are categorised to micro- and macrocapsules have been developed. These methods are based on crosslinking of natural polymer, sodium alginate, by divalent cations, usually Ca<sup>++</sup>. The surface of capsules can additionally be modified by covering it with the other polymers chemically crosslinked. Another approach is to support the capsules with an alginate cover, which thickness can easily be regulated. The covers are designed to strengthen the fragile capsules and regulate mass transport to and from the capsules. We have also developed cell-friendly method of manufacture of synthetic nonbiodegradable cover of cap-

ustrojowymi.

Z przeprowadzonych prac wynika, że wytwarzane struktury są przyjazne dla różnego typu komórek jak np. komórek tarczycy, krwinek czerwonych, fibroblastów czy *Sacharomyces Cerevisae*. Z powyższych względów struktury te uważamy również za interesujące do wytwarzania matryc do zasiedlania komórkami w konstruowaniu szkieletów kostnych.

## Podziękowania

Praca była finansowana ze środków KBN, grant 05/PBZ-KBN-082/2002/06

## POROWATE WŁÓKNA WĘGLOWE DLA CELÓW MEDYCZNYCH

IZABELLA PIEKARCZYK\*, ELŻBIETA MENASZEK\*\*,  
LUCYNA ZAMORSKA\*\*, MARIA ŻOLNIEREK\*\*

\*AKADEMIA GÓRNICZO - HUTNICZA,  
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW, KRAKÓW

\*\*WYDZIAŁ CYTOBIOLOGII I HISTOCHEMII, COLLEGIUM MEDICUM,  
UNIwersytet Jagielloński, KRAKÓW.

### Streszczenie

Praca prezentuje wyniki badań nad otrzymywaniem włókniny węglowej, zbudowanej z porowatych włókien. W literaturze opisywane są liczne próby stosowania włókien węglowych w medycynie. Przedmiotem badań były włókna węglowe, różniące się stopniem krystaliczności, ilością heteroatomów, właściwościami mechanicznymi, jednakże wszystkie z tych włókien były materiałami nieporowatymi. Włókna węglowe, pomimo biogodności, nie posiadają, w zadawalającym stopniu cech, które stymulowałyby regenerację tkanki chrzęstnej. Z doniesień literaturowych wynika, że proces odbudowy chrząstki w obecności implantu węglowego trwa wiele miesięcy [1, 2]. Porowata włóknina węglowa stosowana jako implant do regeneracji tkanek mogłaby jednocześnie być nośnikiem różnego rodzaju leków lub aktywnych biologicznych cząstek przyspieszających odbudowę tkanki. W pracy przedstawiono analizę mikrostruktury włókien węglowych oraz wyniki badań biogodności w warunkach *in vivo*. Wykazano, że biogodność włókien porowatych jest lepsza w porównaniu z włóknami nieporowatymi.

### Wprowadzenie

Największą zaletą włókien węglowych, z punktu widzenia inżynierii biomateriałów jest możliwość modyfikowania w szerokim zakresie ich własności. Najbardziej rozpowszechnione jest pokrywanie włókien powłokami lub war-

sule that is supposed to be resistant to body fluids.

The research we carried out confirms usefulness of the structures for encapsulation of various types of cells, e.g. thyroid cells, blood corpuscles, fibroblasts or *Sacharomyces Cerevisae*. This also impelled us to examine the possibility of preparation of such the matrix for cell support in construction of bone scaffolds.

## Acknowledgements

This work was supported by the State Committee of Scientific Research, grant No. 05/PBZ-KBN-082/2002/06.

## Piśmiennictwo

## References

Lim F., Sun A.M. (1980) Microencapsulated Islets as Bioartificial Endocrine Pancreas, *Science*, 210, 908-910

## POROUS CARBON FIBRES FOR MEDICAL APPLICATIONS

IZABELLA PIEKARCZYK\*, ELŻBIETA MENASZEK\*\*,  
LUCYNA ZAMORSKA\*\*, MARIA ŻOLNIEREK\*\*

\*AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY  
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, CRACOW, POLAND

\*\*JAGIELLONIAN UNIVERSITY, COLLEGIUM MEDICUM,  
DEPARTMENT OF CYTOBIOLOGY, CRACOW, POLAND

### Abstract

The work describes the preparation of carbon fabrics composed of porous fibres. In the literature a number of studies devoted to the applications of carbon fibres in medicine can be found. They deal with fibres which differ in the degree of crystallinity, the number of heteroatoms, mechanical properties but all of them have been the nonporous materials. In spite of their biocompatibility, carbon fibres do not exhibit satisfactory features which would stimulate the regeneration of cartilage tissue. From literature data it follows that in the presence of a carbon implant tissue growth is a long-lasting process [1,2]. Porous carbon fabrics used as an implant for tissues regeneration could simultaneously serve as a support for delivery of drugs or biologically active agents which would stimulate the tissue growth. In the work the microstructure of carbon fibres as well as the results of *in vivo* biocompatibility studies are presented. It is shown that biocompatibility of porous fibres is higher than that of nonporous ones.

### Introduction

Possibility to modify their properties in the wide range is the most important advantage of carbon fibres from the biomaterials engineering point of view. Covering the fibres with coatings or layers, ion exchange or alteration of their chemical composition at the precursor level are the most popular methods of modification. Application of carbon fab-

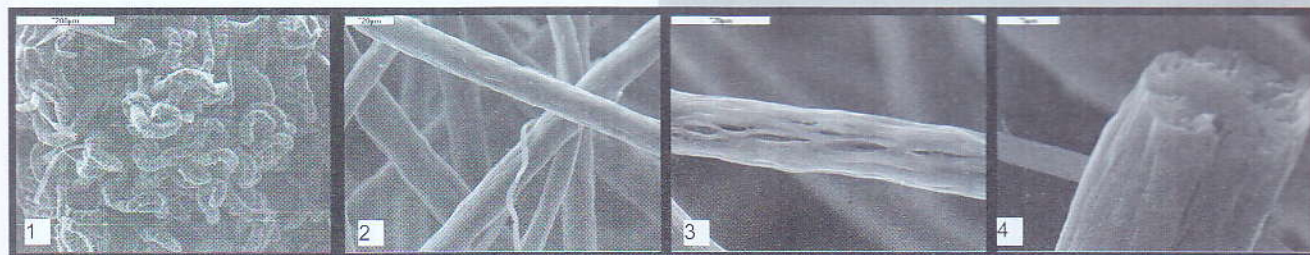
stwami, wymiana jonowa lub modyfikacja składu chemicznego materiału na poziomie prekursora. Zastosowanie włókniiny węglowej zbudowanej z porowatych włókien pozwoliłoby na jej późniejszą modyfikację bez konieczności rezygnacji ze specyficznych własności powierzchni, jakie posiadają materiały węglowe [1, 2]. Właściwości włókien węglowych zależą od rodzaju prekursora oraz od parametrów procesu wytwarzania, stabilizacji i karbonizacji.

Jednym z podstawowych etapów otrzymywania włókien węglowych z prekursora poliakrylonitrylowego jest etap utleniania (zwany etapem stabilizacji). Efekt procesu utleniania zależy od czasu i temperatury utleniania, szybkości ogrzewania, środowiska utleniającego, składu chemicznego prekursora i naprężeń mechanicznych zapobiegających kurczeniu się włókna [3-9].

Celem pracy było opracowanie sposobu przetwarzania prekursora poliakrylonitrylowego (PAN) we włókninę węglową o porowatych włóknach oraz ocena jej zachowania się w środowisku biologicznym.

## Materiały i metody

Prekursorem włókniiny węglowej była włóknina poliakrylonitrylowa opracowana przez KWS WliiMT Politechniki Łódzkiej, o zawartości: 93-94% wagowych merów akrylonitrylu, 5-6% wagowych merów metakrylanumetylu i 1% wagowy merów alilosulfonianu sodowego. Mikrostrukturę wyjściowego materiału przedstawiono na RYS.1.



RYS. 1. Obraz mikroskopowy (SEM) włókniny poliakrylonitrylowej (PAN).

FIG. 1. Microscope image (SEM) of polyacrylonitrile fabrics (PAN).

RYS. 2-4. Obrazy mikroskopowe (SEM) włókniny węglowej.

FIGS. 2-4. Microscope images (SEM) of carbon fabrics.

Włókninę wykorzystaną do dalszych badań stabilizowano w temperaturze najpierw 150°C, 200°C przez jedną godzinę, potem 220°C przez 4 godziny, a następnie 240°C przez 2 godziny. Tak przygotowaną próbkę karbonizowano w temperaturze 1000°C przez 15 minut w atmosferze argonu, przy postępie temperatury 50 C/min. Mikrostrukturę porowatych włókien węglowych scharakteryzowano przy użyciu mikroskopii skaningowej, stosując mikroskop Jeol- 5400 (RYS. 2-4), porowatość wyznaczono w oparciu o metodę porozymetrii rtęciowej (Carlo - Erba 2000), zaś powierzchnię rozwinięcia elementarnych włókien oznaczano metodą BET (TAB. 1).

W badaniach in vivo wykorzystano dwa rodzaje włókniiny węglowej różniące się mikrostrukturą. Pierwszy rodzaj implantowanego materiału stanowiła opisana wcześniej włóknina posiadająca porowate włókna, (oznaczana dalej jako PAN P). Dla porównania drugą próbkę stanowiła włóknina węglowa otrzymywana również z prekursora poliakrylonitrylowego, jednakże posiadająca włókna nieporowate (PAN).

Obydwie próbki sterylizowano i następnie wszczepiono w mięsień szkieletowy szczurów.

Badania obejmowały mikroskopowe obserwacje strefy wlgajania implantów, zwłaszcza kontakt implantu z tkanką

rics composed of porous fibres would allow its further modification without the loss of specific properties of carbon material surfaces [1, 2]. Properties of carbon fibres depend on the type of precursor as well as the parameters of their preparation, stabilization and carbonization processes.

Oxidation (also called stabilization) is one of the main steps in the preparation of carbon fibres from the polyacrylonitrile precursor. Its results depend on the duration and temperature of oxidation, heating rate, oxidizing medium, chemical composition of the precursor and mechanical stress which prevents the fibre from contraction [3-9].

The aim of the work was to fabricate porous carbon fabrics using polyacrylonitrile (PAN) precursor as well as to establish its performance in the biological environment.

## Materials and methods

Polyacrylonitrile fabrics prepared by KWS WliiMT of Technical University of Łódź containing 93-94% wt. of acrylonitrile repeat units, 5-6% wt. of methyl methacrylate repeat units and 1% wt. of sodium allylsulfate repeat units was used as the carbon fabrics precursor. Microstructure of the starting material is presented in FIG. 1.

Polyacrylonitrile in the form of fabrics used in further studies was stabilized first at the temperature of 150°C, 200°C for 1 hour, then at 220°C for 4 hours, and finally at 240°C for 2 hours. The sample prepared in such a way was then carbonized at 1000°C for 15 minutes in an argon atmos-

Powierzchnia właściwa BET BET surface area [m <sup>2</sup> /g]	Objętość mezoporów Volume of mesopores [x10 <sup>-3</sup> cm <sup>3</sup> /g]	Średni promień porów Average pore diameter [nm]
3,7	11,9	6,4

TABELA 1. Wyniki porowatości otrzymane metodami BET i BJH.

TABLE 1. Porosity of the materials studied determined using BET and BJH methods.

phere at the heating rate 50 C/min. Microstructure of porous carbon fibres was characterized using a Jeol - 5400 scanning microscope (FIG. 2-4), porosity was determined by mercury porosimetry (Carlo - Erba 2000), surface area of the elementary fibres was studied using BET method (TABLE 1).

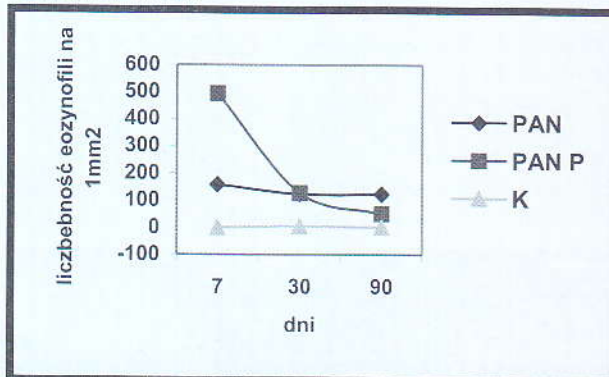
Two types of carbon fabrics which differed in microstructure were applied in the in vivo studies. The described above fabrics composed of porous fibres (further on denoted as PAN P) constituted the first type of the implant material. For comparison, fabrics containing the non-porous fibres also

[10, 11]. Przeprowadzono je dla implantów po 7,30 i 90 dniach od ich wszczepienia. W oparciu o preparaty mikroskopowe przeprowadzono ocenę ilościową mastocytów, eozynofili a także zbadano zawartość kolagenu w obrębie wszczepu (RYS. 5-9).

## Wyniki i dyskusja

Z badań mikroskopowych wynika, że na powierzchni włókien karbonizowanych występują podłużne pory o zróżnicowanej wielkości, natomiast analiza przekroju włókna wskazuje, że pory występują przede wszystkim w zewnętrznej warstwie włókien i tworzą nieregularne kanaliki biegnące wzdłuż osi włókien (RYS. 2-4).

Analizę porowatości prowadzono w ten sposób, że wyznaczano w pierwszej kolejności porowatość całej włókniny a dopiero potem wykonano doświadczenia, w których wyznaczono porowatość samych włókien. Porowatość całej włókniny oceniono na ok. 90% natomiast porowatość włókien na ok. 5%.



RYS. 5. Liczebność eozynofili w 1 mm<sup>2</sup> przekroju w miejscach wszczepów biomateriału w grupach PAN i PAN P oraz w miejscu rozcięcia mięśnia (grupa K) bez wprowadzania wszczepów.

FIG. 5. The amount of eosinophils on 1 mm<sup>2</sup> of the cross-section in the implanted PAN i PAN P biomaterial areas as well as in the area of the muscle without the implant section (group K).

Powierzchnia właściwa porowatej włókniny węglowej charakteryzuje się wysoką wartością, która znacznie przekracza wartości tego parametru dla typowych włókien węglowych. Badania metodą adsorpcji BET wykazały, że badane materiały posiadają również pory o średniej wielkości ok. 6nm, których oznaczenie było niemożliwe przy zastosowaniu porozymetrii rtęciowej.

Jak wykazały badania biologiczne, implanty węglowe PAN i PAN P wszczepione do mięśnia szkieletowego szczerów ulegały fragmentacji (głównie włóknina węglowa PAN P). Zjawisko to obserwowano zwłaszcza w pierwszych dniach doświadczenia. Mogło to być przyczyną znacznie większego napływu eozynofili (RYS. 5). Liczebność mastocytów była największa w seriach 30-dniowych dla obu włókien węglowych. Oznacza to, że etap 30-dniowej regeneracji może być krytycznym okresem w procesie gojenia mięśnia szkieletowego. W seriach 90-dniowych ilość mastocytów znacznie zmniejszyła się (RYS. 6). Ponadto zaobserwowano rozwój tkanki łącznej i wzrost ilości włókien kolagenowych, zwłaszcza w mięśniach z wszczepionym biomateriałem PAN P (RYS. 7-9). Porównując wyniki doświadczenia wszczepienia do mięśnia szkieletowego szczerów włókniny węglowej PAN oraz PAN P stwierdzono, że drugi materiał dzięki swej znacznej porowatości pozwala na szyb-

prepared from polyacrylonitrile precursor (denoted as PAN) was the second type.

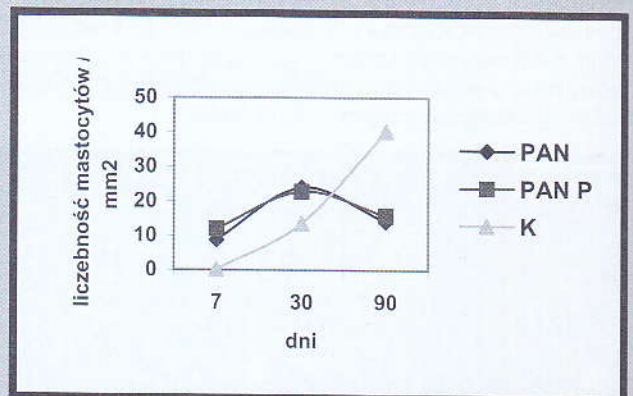
Both samples were sterilized and then implanted into the skeletal muscle of rats.

The studies involved microscopic observations of the implant healing site, particularly the tissue - implant interface [10, 11]. These studies were carried out on the 7th, 30th and 90th day from the the implant introduction into the rat body. Based on the microscopic images the numbers of mastocytes and eosinophils was determined as well as the collagen content within the implant was studied (FIG. 5 - 9).

## Results and discussion

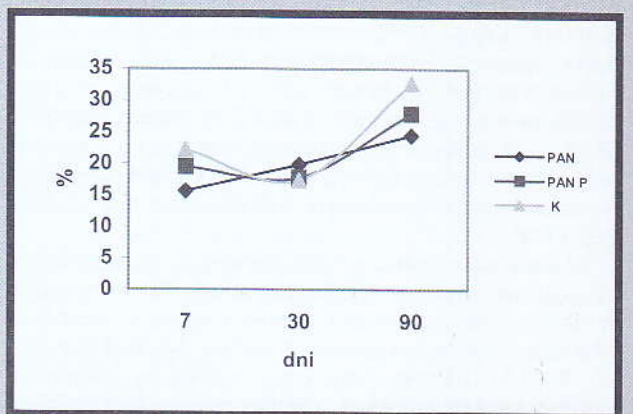
From the microscopic studies it follows that prolonged pores of various sizes exist on the carbonized fibres, whereas the analysis of the fibre cross-section area shows that the pores occur at the outer layer of the fibres and form irregular channels along the fibre axis. (FIG. 2-4).

In the porosity measurements, porosity of the whole fabrics has been determined first. In the following experiments porosity of the fibres has been established. They have been equal to ca. 90% and ca. 5%, respectively.



RYS. 6. Liczebność mastocytów w 1 mm<sup>2</sup> przekroju w miejscach wszczepów biomateriału w grupach PAN i PAN P oraz w miejscu rozcięcia mięśnia (grupa K) bez wprowadzania wszczepów.

FIG. 6. The amount of mastocytes on 1 mm<sup>2</sup> of the cross-section in the implanted PAN i PAN P biomaterial areas as well as in the area of the muscle without the implant section (group K).



RYS. 7. Procentowa zawartość kolagenu w 1 mm<sup>2</sup> przekroju poprzecznego wszczepu biomateriału.

FIG. 7. Content of collagen (in %) on 1 mm<sup>2</sup> of the cross-section of the implanted biomaterial.

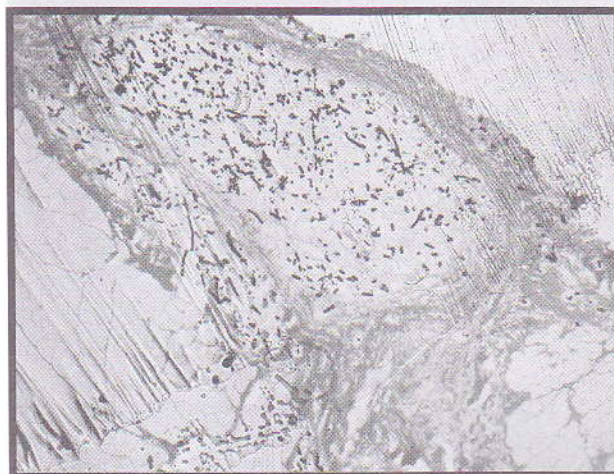


sze wnikanie elementów komórkowych i przerastanie tkanką łączną. Struktura tego biomateriału przyspiesza regenerację tkanki. Badania świadczą o wysokiej biogodności porowatych włókien węglowych oraz o ich stymulującym działaniu na wzrost tkanki łącznej nawet w przypadku, gdy nie są one modyfikowane aktywnymi biocząstkami..



**RYS. 8.** Fragment przekroju miejsca wszczepu porowatej włókniny węglowej, w mięśniu szkieletowym szczura w 30 dniu od momentu operacji. Powiększenie 4x.

**FIG. 8.** Part of the cross-section of the porous carbon fabrics implanted into the rat skeletal muscle on the 30th day from the operation. Magnification 4x.



**RYS. 9.** Fragment przekroju miejsca wszczepu materiału węglowego typu PAN P w mięśniu szkieletowym szczura w 90 dniu od momentu operacji.

**FIG. 9.** Part of the cross-section of the PAN P implanted into the rat skeletal muscle on the 90th day from the operation.

## Podziękowania

Praca została dofinansowana z grantu nr. PBZ - KBN - 082 - T08 / 2002.

Surface area of the porous carbon fabrics is high and significantly exceeds the values of typical carbon fibres. BET adsorption studies have shown that the pores of average diameter equal to ca. 6nm, whose determination using mercury porosimetry is impossible, are also present in these materials.

Biological studies have shown that PANI and PAN P implanted into skeletal muscle of rats undergoes fragmentation (this concerns mainly PAN P fabrics). This phenomenon has been particularly pronounced on the first days of the experiment. This could be the reason for the increased number of eosinophils (FIG. 5). For both types of fabrics the highest amount of mastocytes has been recorded in the 30 day series. This means that the 30 day regeneration may be the critical period in the skeletal muscle healing. In the 90 day series the number of mastocytes significantly decreased (FIG. 6). Additionally, development of the connective tissue and the increased amount of collagen fibres, especially in the muscles with the implant PAN P material have been observed (FIG. 7-9). When the results obtained for PAN and PAN P implants introduced into the rat skeletal muscle are compared it becomes evident that owing to its significant porosity the latter material allows for faster inclusion of cell components and thus it stimulates the connective tissue growth. Structure of this biomaterial promotes tissue regeneration. Studies prove high biocompatibility of the porous carbon fabrics as well as their stimulating influence on the connective tissue growth even without modification with bioactive substances.

## Acknowledgements

The investigation was partly financed from the grant no.: PBZ-KBN-082-T08/2002.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] M. Błażewicz "Węgiel jako biomateriał" Vol. 63, 2001.
- [2] R. Pampuch, S. Błażewicz, J. Chłopek, A. Górecki, W. Kuś "Nowe materiały węglowe w technice i medycynie".
- [3] S. Błażewicz "Otrzymywanie i modyfikacja fizyczno - chemicznych właściwości włókien węglowych" Ceramika Vol. 60, 1991.
- [4]. pod red. R. Pampuch "Włókna Węglowe" wyd. AGH, Kraków 1986.
- [5]. E. Fitzer, W. Frohs, M. Heine "Optimization of stabilization and carbonization treatment of PAN fibres and structural characterization of the resulting carbon fibres" Carbon Vol. 24, No. 4, (1986) s. 387-395.
- [6]. A. Gupta, I.R. Harrison "New aspects in the oxidative stabilization of PAN-based carbon fibers" Carbon Vol. 34, No. 11, (1996) s. 1427-1445.
- [7]. A. Gupta, I.R. Harrison "New aspects in the oxidative stabilization of PAN-based carbon fibers: II" Carbon Vol. 35, No. 6, (1997) s. 809-818.
- [8] U. Zielke, K.J. Huttinger, W.P.Hoffman "Surface-oxidized carbon fibres: I. Surface structure and chemistry" Carbon Vol. 34, No. 8, (1996) s. 983-998.
- [9] J.S. Lee, T.J. Kang "Changes in physico - chemical and morphological properties of carbon fiber by surface treatment" Carbon Vol. 35, No. 2, (1997) s. 209-216.
- [10]. L. Stryer Biochemia. PWN W-wa 2000.
- [11] J.A. Kiernan "Histological and histochemical methods. Theory and practice. 271-272, 1992.

# ZASTOSOWANIE EPR - METODY ZNACZNIKÓW SPINOWYCH DO BADANIA WPŁYWU JONÓW ŻELAZA I CHROMU NA STRUKTURĘ TKANKI OSIERDZIA ŚWINI

BEATA C WALINA, LECHOSŁAW DUL, MARIA JASTRZEBSKA

KATEDRA BIOFIZYKI, ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA, OSTROGÓRSKA 30, 41-200 SOSNOWIEC

## Streszczenie

Badano zmiany struktury tkanek osierdzia świni, poddanych działaniu soli chromu i żelaza: szczawianu chromowo(III)-potasowego, siarczanu żelaza(II) i siarczanu żelaza(III), z zastosowaniem spektroskopii EPR - metody znaczników spinowych (znacznik spinowy: 4-izotiocyjaniano-Tempo; ITCTO). Wykazano, że tkanka osierdzia świni ulega modyfikacji pod wpływem jonów Cr(III), Fe(II) oraz Fe(III). Na podstawie badań makroskopowych oraz wyników badań EPR stwierdzono, że spośród zastosowanych substancji chemicznych, najbardziej efektywnym odczynnikiem sieciującym był siarczan żelaza (III). Ponadto wyniki badań EPR - metody znaczników spinowych sugerują, że szczawian chromowo(III)-potasowy modyfikuje tkankę osierdzia na innej drodze, niż związki żelaza. Wyjaśnienie tego mechanizmu wymaga dalszych badań.

**Słowa kluczowe:** tkanka, osierdzie świńskie, sieciowanie, jony żelaza i chromu, EPR, znakowanie spinowe.

## Wprowadzenie

Sieciowanie jest efektywną metodą modyfikacji materiałów kolagenowych, w tym tkanek bogatych w kolagen [1, 2]. Proces ten powoduje zwiększenie odporności tkanek na trawienie enzymatyczne, uzyskanie optymalnych właściwości mechanicznych (bio)materiału, a także zadawalającej zgodności biologicznej [2, 3]. Do modyfikacji materiałów tkankowych wykorzystuje się najczęściej aldehyd glutarowy [4]. Wiązania sieciujące w kolagenie mogą powstawać także w wyniku reakcji tego białka z jonami metali przejściowych, takimi jak Cr(III) i Fe(III). Reakcje te prowadzą do wytworzenia w strukturze kolagenu bardzo trwałych, sieciujących wiązań koordynacyjnych między jodem metalu i grupami karboksylowymi cząsteczek białka. Efekty te są wykorzystywane w procesach garbowania skór [5].

Celem tej pracy było badanie zmian struktury tkanek osierdzia świni, poddanych działaniu soli chromu i żelaza: szczawianu chromowo(III) potasowego, siarczanu żelaza(II) i siarczanu żelaza(III), z zastosowaniem spektroskopii EPR - metody znaczników spinowych [6].

# THE USE OF EPR - SPIN LABELING METHOD FOR INVESTIGATION THE INFLUENCE OF IRON AND CHROMIUM IONS ON THE STRUCTURE OF PORCINE PERICARDIUM TISSUE

BEATA C WALINA, LECHOSŁAW DUL, MARIA JASTRZEBSKA

DEPARTMENT OF BIOPHYSICS, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, OSTROGÓRSKA 30, 41-200 SOSNOWIEC

## Abstract

Investigated were changes in the structure of porcine pericardium tissues treated with the chromium and ferro-salts: chromium(III)-potassium oxalate, ferro(II) sulphate and ferro(III) sulphate, using the EPR spectroscopy - spin labeling method (spin label: 4-isothiocyanato-Tempo; ITCTO). It has been demonstrated that the porcine pericardium tissue undergoes modification under the action of Cr(III), Fe(II) and Fe(III) ions. Based on the macroscopic examinations and results of EPR studies one ascertained that from among used chemical substances, the most effective crosslinking reagent was the ferro(III) sulphate. Besides, results of the EPR investigations - spin labeling method suggest that the chromium(III)-potassium oxalate modifies the pericardium tissue on other way, than the ferro compounds. Explanation of this mechanism requires further researches.

**Key words:** tissue, porcine pericardium, crosslinking, ferro and chromium ions, EPR, spin labeling.

## Introduction

Crosslinking is an effective method of the modification of collagenous materials, including the collagen-rich tissues [1, 2]. This process causes an increase in the tissues resistance to enzymatic digestion, the obtaining of optimal mechanical properties and also satisfactory biocompatibility [2, 3]. Glutaraldehyde is the substance most often used for modification of tissue materials [4]. Cross-links in the collagen may also be a result of this protein reaction with transition metal ions such as Cr(III) and Fe(III). These reaction leads to producing in the collagen structure of very stable, crosslinking coordinate bonds between the metal ion and carboxylic groups in proteins molecules. These effects are used in processes of the leathers tanning [5].

The aim of this work was to investigate changes in the porcine pericardium tissues treated with the chromium and ferro salts: chromium(III)-potassium oxalate, ferro(II) sulphate and ferro(III) sulphate, with the use of the EPR spectroscopy - spin labeling method [6].

Badano tkanki osierdzia świni pobrane w rzeźni bezpośrednio po uboju zwierząt. Tkanki umieszczano w pojemniku ze schłodzonym roztworem solanki buforowanej fosforanami (PBS; phosphate buffered saline, pH 6,5) i transportowano do Katedry Biofizyki w Sosnowcu, gdzie ostrożnie je oczyszczano i usuwano tłuszcz oraz wszelkiego rodzaju zgrubienia. Następnie tkanki cięto na kawałki, które umieszczano w probówkach z roztworami (w PBS) soli zawierających jony: Fe(II) - 0,5% roztwór siarczanu żelaza(II), Fe(III) - 0,5% roztwór siarczanu żelaza(III) i Cr(III) - 1,5% roztwór szczawianu chromowo(III)-potasowego. Po 0,5 h lub 2 h inkubacji tkanek z jonami metali, przeprowadzono badania z użyciem spektrometru EPR [6-8]. Próbkę tkanek natywnych i modyfikowanych zalewano roztworem znacznika spinowego 4-izotiocyaniano-Tempo (ITCTO) i inkubowano w 4°C przez 24 h. Po tym czasie nadmiar znacznika odmywano 10-krotnie, stosując wirowanie (6000 obr/min). Pomiedzy każdym wirowaniem próbkę płukano roztworem PBS. Następnie materiał umieszczano w kapilarze o średnicy 1mm i wykonywano pomiary z użyciem spektrometru EPR firmy Radiopan-Poznań. Widma próbek rejestrowano za pomocą spektrometru EPR typ SE/X 2542, z rezonatorem cylindrycznym  $TM_{110}$ . Stosowano moc mikrofalową ok. 100 mW z modulacją częstotliwości 100 kHz, amplitudę modulacji 0,08 mT oraz czas rejestracji 16 min. ze stałą czasową 1s. Pomiary prowadzono w temperaturze pokojowej.

## Wyniki i dyskusja

Makroskopowe badania tkanek natywnych i modyfikowanych jonami metali wykazały różnice w ich strukturze. Stwierdzono charakterystyczne pogrubienie tkanek i zwiększenie ich twardości, będące efektem procesu sieciowania.

Otrzymane wyniki pokazują zróżnicowany wpływ wybranych jonów metali przejściowych, tj. Fe(II), Fe(III) oraz Cr(III), na proces modyfikacji tkanki osierdzia świni (FIG. 1).

Inkubacja tkanki osierdziaowej ze szczawianem chromowo(III)-potasowym spowodowała zmiany w widmach EPR znacznika spinowego 4-izotiocyaniano-Tempo związanego z grupami  $\epsilon$ -aminowymi lizyny kolagenu tkankowego. Dla tkanek modyfikowanych, stosunek S/W uległ zmniejszeniu w porównaniu z tkankami natywnymi.

Podobny efekt stwierdzono w przypadku tkanek modyfikowanych za pomocą siarczanu żelaza(II). Obserwowane nieznaczne zmniejszenie składowej S w porównaniu do W może wskazywać na większą zwartość włókien kolagenowych, a tym samym mniejszą swobodę ruchu cząsteczek tropokolagenu. Prawdopodobnie może to wpływać także na oddziaływania innych grup funkcyjnych tego białka. Nie obserwowano przy tym wyraźnych zmian cech zewnętrznych tkanek poddanych modyfikacji za pomocą siarczanu żelaza(II).

Wyraźne zmiany tych cech stwierdzono natomiast po zastosowaniu siarczanu żelaza(III) do modyfikacji tkanki osierdzia świni. Powierzchnia tkanki stała się szklista. Zwiększyła się również twardość tkanki i jej wytrzymałość na cięcie. Obserwowane zmiany morfologiczne modyfikowanej tkanki odzwierciedlały się w zmianach widm EPR znacznika spinowego 4-izotiocyaniano-Tempo (ITCTO) związanego z tą tkanką (RYS.1). Spektra EPR znacznika ITCTO związanego z tkanką inkubowaną w roztworze siarczanu żelaza(III) bardzo wyraźnie różnią się od widm uzyskanych dla tkanki natywnej. Intensywność wąskiej linii niskopolo-

Investigated were porcine pericardium tissues sampled directly after slaughtering of animals. Tissues were placed in the container with cooled solution of the phosphate buffered saline (PBS; pH 6,5) and transported to the Department of Biophysics in Sosnowiec, where they were cleaned carefully and the fat and heavy vasculatures were removed. Then the tissues were cut on pieces, which have been placed in test-tubes with the solutions (in PBS) of salts containing ions: Fe(II) - 0,5% solution of ferro(II) sulphate, Fe(III) - 0,5% solution of ferro(III) sulphate and Cr(III) - 1,5% solution of the chromium(III)-potassium oxalate. After 0,5 h or 2 h of the tissues incubation with metal ions, investigations have been carried out using the EPR-spectrometer [6-8]. Native and modified samples have been flooded with solution of spin label 4-isothiocyanato-Tempo and incubated at 4°C for 24 h. After this time, an excess of the label has been washed 10 times using centrifugation (6000 r.p.m.). Between each of centrifugations, the sample was rinsed with PBS. Afterwards the material has been placed into capillary vessel of 0,8 mm diameter and measurements have been carried out using the EPR spectrometer (Radiopan-Poznań). The samples' spectra have been recorded by means of EPR spectrometer type SE/X 2542 with cylindrical  $TM_{110}$  resonator. The microwave power nearly 100 mW with modulation frequency 100 kHz, modulation amplitude 0,08 mT, and scan time 16 min with time constant 1 s have been used. Measurements have been carried out at room temperature.

## Results and discussion

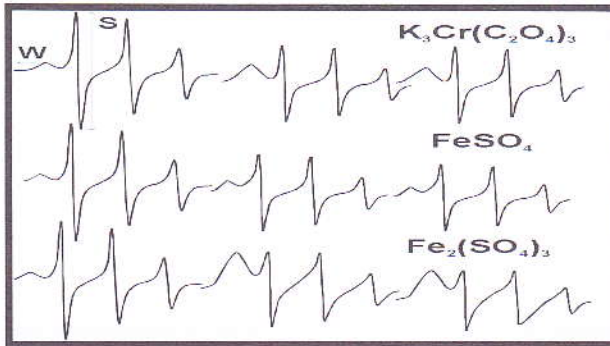
Macroscopic studies of tissues native and modified with metal ions showed differences in their structure. One ascertained characteristic thickening of tissues and the increase of their hardness, being the effect of the crosslinking process.

Obtained results show the diverse influence of chosen transition metal ions, i.e. Fe(II), Fe(III) and Cr(III), on the process of the porcine pericardium tissue modification (FIG. 1).

The pericardial tissue incubation with the chromium(III)-potassium oxalate caused changes in EPR-spectra of the spin label 4-isothiocyanato-Tempo connected with  $\epsilon$ -amino groups of the lysine in tissue collagen. For modified tissues, the S/W ratio was decreased as compared with the native tissues.

Similar effect was ascertained in the case of tissues modified by means of ferro(II) sulphate. Observed slight diminution of the S-component as compared with W may point to the greater compactness of collagenous fibers, and consequently the less freedom of tropocollagen-particles movement. Probably it may influence also on interactions of other functional groups of this protein. They were not observed changes in the external features of tissues underwent modification with ferro(II) sulphate.

Distinct changes in these features were observed after using of ferro(III) sulphate for the porcine pericardium tissue modification. The tissue surface became glassy. The tissue hardness and its endurance on the cut were higher. Observed morphological changes of modified tissue were reflected by changes in the EPR-spectra of the spin label 4-isothiocyanato-Tempo (ITCTO) connected with this tissue (FIG. 1). The EPR-spectra of ITCTO connected with the tissue incubated in solution of ferro(III) sulphate were very different from spectra obtained for native tissue. Intensity of



**RYS. 1.** Widma EPR znacznika spinowego 4-izotiocyaniano-Tempo związanego z próbkami natywnymi (N) i usieciowanymi za pomocą siarczanu żelaza(II), siarczanu żelaza(III) i szczawianu chromowo(III) potasowego, w czasie 0,5 h lub 2 h; W i S - składowe widma odpowiadające znacznikowi o odpowiednio małej i dużej ruchliwości.

**FIG. 1.** EPR spectra of the spin label 4-isothiocyanato-Tempo connected with native samples (N) and samples cross-linked with ferro(II) sulfate, ferro(III) sulfate and chromium(III)-potassium oxalate, during 0,5 h or 2 h; W and S - spectrum-components related to the low and great-mobility label, respectively.

wej S jest znacznie większa, niż składowej W, - w porównaniu z tkanką niemodyfikowaną, a stosunek S/W uległ istotnemu zmniejszeniu.

Ponieważ rodnik nitroksylowy ITCTO wiąże się z grupami  $\epsilon$ -aminowymi lizyny [6], natomiast siarczany żelaza(III) powoduje sieciowanie tkanki w wyniku reakcji jonu metalu z grupami karboksylowymi kolagenu [5] (i być może innych białek), mniejsza intensywność składowej S nie może być interpretowana jako skutek zmniejszenia liczby  $\epsilon$ -aminowych grup lizyny. Obserwowane efekty mogą być skutkiem sieciowania kolagenu oraz innych białek posiadających aktywne grupy COOH, czego następstwem była zmiana struktury przestrzennej zarówno cząsteczek kolagenu, jak i całej tkanki. Mogło to spowodować zmniejszenie ruchliwości znacznika spinowego, który uległ związaniu ze zmodyfikowaną tkanką osierdzia świni.

## Podsumowanie

W rezultacie przeprowadzonych badań wykazano, że tkanka osierdzia świni ulega modyfikacji pod wpływem jonów Cr(III), Fe(II) oraz Fe(III). Na podstawie badań makroskopowych oraz wyników badań EPR stwierdzono, że spośród zastosowanych substancji modyfikujących strukturę tkanki, największą efektywność sieciowania wykazuje siarczany żelaza (III).

Ponadto wyniki badań EPR - metody znaczników spinowych sugerują, że szczawian chromowo(III)-potasowy modyfikuje tkankę osierdzia świni na innej drodze, niż związki żelaza, jednak wyjaśnienie tego mechanizmu wymaga dalszych badań.

## Podziękowania

Praca finansowana przez Śląską Akademię Medyczną. Pomiary EPR prowadzono w Katedrze Biologii Molekularnej, Biochemii i Biofarmacji ŚAM, kierowanej przez Prof. Tadeusza Wilczoka.

the narrow low-field line S is considerably greater than of the line W - as compared with non-modified tissue, and the S/W ratio was essentially decreased.

As the nitroxyl radical ITCTO forms bonds with  $\epsilon$ -amino groups of the lysine [6], whereas the ferro(III) sulphate causes the tissue crosslinking as a result of the metal ion reaction with carboxylic groups of the collagen [5] (and probably also with other proteins), the less intensity of the S component should not be interpreted as a result of the lysine  $\epsilon$ -amino groups diminution. Observed effects can be result of crosslinking of collagen and other proteins possessing active COOH- groups, followed by changes in spatial structure both particles of the collagen and all the tissue. This might cause decrease in the mobility of spin label connected with the modified porcine pericardium tissue.

## Summary

As a result of investigations carried out, it has been showed that the porcine pericardium tissue undergoes modification under the action of selected metal ions: Cr(III), Fe(II) and Fe(III). Based on the macroscopic examinations and results of EPR-investigations, it was ascertained that from among substances used for the tissue modification, the highest crosslinking efficiency showed the ferro (III) sulphate.

Besides, results of the EPR investigations - method of spin labeling suggest that the chromium(III)-potassium oxalate modifies the porcine pericardium tissue on other way, than the ferro compounds. Explanation of this mechanism requires further researches.

## Acknowledgements

*This work was financially supported by Medical University of Silesia. EPR-measurements have been carried out in Department of Molecular Biology, Biochemistry and Biopharmacy (Medical University of Silesia) headed by Prof. Tadeusz Wilczok.*

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Friess W. Collagen - biomaterial for drug delivery. Eur. J. Pharm. Biopharm. 1998; 45:113-136.
- [2] Khor E. Method for the treatments of collagenous tissue for bio-prostheses. Biomaterials, 1997; 18: 95-105.
- [3] Sung HW, Chang Y, Chiu CT, Chen CN, Liang HC. Crosslinking characteristics and mechanical properties of bovine pericardium fixed with a naturally occurring crosslinking agent. J. Biomed. Mater. Res. 1999; 47: 116-126.
- [4] Cheung D.T., Perelman N., Ko E. C., Nimni M.E. Mechanism of crosslinking of proteins by glutaraldehyde. III. Reaction with collagen in tissues. Connect Tissue. Res. 1985; 13:109-115.
- [5] Lasek W. Kolagen. Chemia i wykorzystanie. Wydawnictwo Naukowe - Techniczne, Warszawa 1978.
- [6] Cwalina B., Dul L. Porcine pericardium crosslinking-effects investigated by EPR spectroscopy - spin labeling method. Engineering of Biomaterials. 2002; 23-25: 57-61.
- [7] Berliner L.J. Spin labeling. Theory and applications. Acad. Press. New York-San Francisco-London, 1976 (tłum. ros. 1979)
- [8] Surewicz K.W. Metody interpretacji widm EPR znakowanych spinowo błon biologicznych. Zagadnienia Biofizyki Współczesnej. 1978; 3:21-44.

# WPŁYW PROMIENIOWANIA ULTRAFIOLETOWEGO I ŚWIATŁA WIDZIALNEGO NA STRUKTURĘ TKANKI OSIERDZIA ŚWINI

BEATA C WALINA\*, ARTUR TUREK\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*, MARIA JASTRZĘBSKA\*

\*KATEDRA BIOFIZYKI, ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA, OSTROGÓRSKA 30, 41-200 SOSNOWIEC

\*\*FUNDACJA ROZWOJU KARDIOCHIRURGII, WOLNOŚCI 345, 41-800 ZABRZE

## Streszczenie

*Analizowano wpływ promieniowania ultrafioletowego (UV) i światła widzialnego (VIS) na strukturę tkanek osierdžia świńskiego, wykorzystując badania profili elektroforetycznych białek uwalnianych z tkanek i histologiczne badania struktury tkanek. Wykazano, że tkanki osierdžia poddane naświetlaniu UV lub VIS w czasie 1 h lub dłuższym mogą ulegać procesowi fotodegradacji.*

**Słowa kluczowe:** tkanka, osierdzie świńskie, struktura, naświetlanie, UV, VIS, elektroforeza białek, histologia.

## Wprowadzenie

Działanie na tkanki łączne zarówno promieniowania UV, jak i światła widzialnego może powodować sieciowanie białek tkankowych [1-3]. Efekt ten wykorzystano w metodzie fotooksydacji w obecności barwnika, która jest stosowana do wytwarzania bioprotez [4, 5]. Obecność barwnika powoduje zwiększenie dynamiki procesu sieciowania. Jest to jedna z bardziej obiecujących technik preparowania zastawek biologicznych. Uzyskany biomateriał zachowuje fizyczne właściwości tkanki naturalnej: jest stabilny, biologicznie zgodny i nie immunogenny, nie ulega zwapnieniu. Ponadto taki biomateriał wykazuje chemiczną i enzymatyczną stabilność in vivo [6-8].

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu promieniowania ultrafioletowego (UV) i światła widzialnego (VIS) na strukturę bogatych w kolagen tkanek osierdžia świni.

## Materiały i metody

Materiałem poddawanym badaniom były tkanki osierdžia włóknistego świni, pobierane bezpośrednio po uboju zwierząt. Tkanki były natychmiast płukane w schłodzonym (4°C) roztworze solanki buforowanej fosforanami (phosphate-buffered saline; PBS; pH 6,5) i następnie umieszczone w butelkach zawierających ten sam bufor. Butelki umieszczano w pojemniku chłodzonym lodem, wykorzystywanym do transportu. Z każdego worka osierdziowego oddzielano mechanicznie osierdzie włókniste, z którego usuwano ostrożnie tkankę tłuszczową. Oczyszczone kawałki tkanki osierdžia naświetlano promieniowaniem UV lub VIS w czasie 1, 2 i 3 h, w temperaturze 15°C. Zmiany w strukturze tkanek oceniano na podstawie badania ekstrakcji białek i badań histologicznych. W tym celu oznaczano masy cza-

# EFFECT OF ULTRAVIOLET RADIATION AND VISIBLE LIGHT ON STRUCTURE OF PORCINE PERICARDIUM TISSUE

BEATA C WALINA\*, ARTUR TUREK\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*, MARIA JASTRZĘBSKA\*

\*DEPARTMENT OF BIOPHYSICS, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, OSTROGÓRSKA 30, 41-200 SOSNOWIEC

\*\*FOUNDATION FOR DEVELOPMENT OF CARDIAC SURGERY, WOLNOŚCI 345, 41-800 ZABRZE

## Abstract

*Analysed was an effect of ultraviolet radiation (UV) and visible light (VIS) on structure of porcine pericardium tissue, by means of investigations of electrophoretic profiles of proteins extracted from tissues as well as histological examinations of the tissue structure. It has been demonstrated that the pericardium tissues treated with UV or VIS-radiation for 1 h or longer may undergo the photodegradation process.*

**Key words:** tissue, porcine pericardium, structure, irradiation, UV, VIS, proteins, electrophoresis, histology.

## Introduction

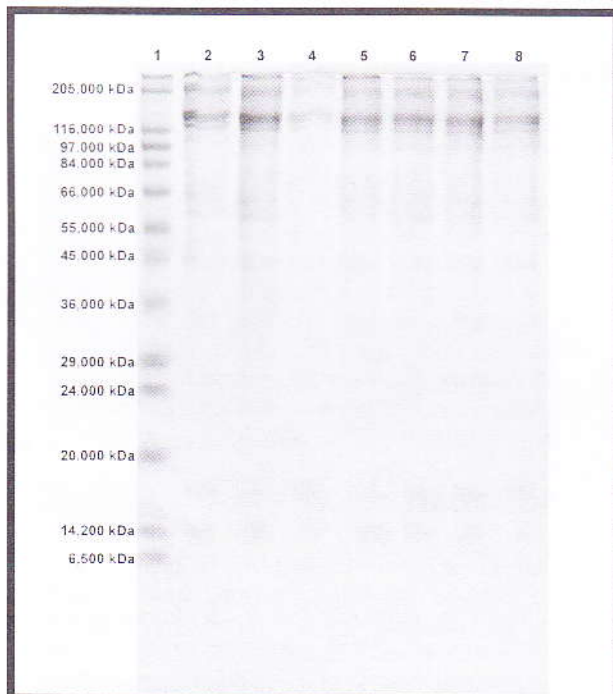
Treating of the connective tissue both with the ultraviolet radiation (UV) and visible light (VIS) may cause crosslinking of tissular proteins [1-3]. This effect has been employed in the dye-mediated photooxidation method, which is used to producing bioprostheses [4, 5]. The presence of the dye causes the higher dynamics of the crosslinking process, being one of more promising methods of biological valves preparing. Obtained biomaterial keeps physical properties of the natural tissue: is stable, biologically adequate and not immunogenic, does not undergo calcifying. Besides, such biomaterial indicates chemical and enzymatic stability in vivo [6-8].

The aim of the present work was to investigate the influence of the ultraviolet radiation (UV) and the visible light (VIS) on the structure of collagen-rich porcine pericardium.

## Materials and methods

The material being investigated were the fibrous porcine pericardium tissues sampled directly after slaughtering of animals. Tissues were immediately rinsed in cooled (4°C) solution of phosphate-buffered saline (PBS; pH 6,5) and then placed in bottles containing this same buffer. The bottles were put in ice-cooled container used for transportation. The fibrous pericardium was mechanically separated from each pericardial sac and the fatty tissue was carefully removed. The cleaned pericardium-tissue pieces were UV or VIS-irradiated for 1, 2 and 3 h, at temperature 15°C. Changes in the tissue structure were evaluated based on protein extraction assays and histological examinations. For this purpose, the molecular weights of proteins released from the native and modified tissues were determined. Iso-

steczkowe białek uwalnianych z tkanek natywnych i modyfikowanych. Izolowanie białek i analizy elektroforetyczne prowadzono z zastosowaniem procedury Laemmli [9]. Białka rozdzielano z użyciem metody elektroforezy w żelu poliakrylamidowym (polyacrylamide gel electrophoresis; PAGE) w obecności dodecyl-siarczanu sodowego (sodium dodecyl sulphate; SDS), powszechnie znanej jako metoda SDS-PAGE. Detekcję białek wewnątrz żelu poliakrylamidowego prowadzono stosując metodę barwienia błękitem Coomassie. Dokumentację żeli wykonywano z zastosowaniem systemu Biotec Fischer. Badania histologiczne prowadzono w Fundacji Rozwoju Kardiochirurgii w Zabrze. Próbkę tkanek barwiono hematoksyliną Harrisa, z podbarwieniem tła 1% roztworem erytrozyny. Obserwację preparatów prowadzono w mikroskopie świetlnym Polyvar 2 (Leica) przy powiększeniu 200×. Dokumentację preparatów wykonano z zastosowaniem systemu Quantimet 500 Plus.



**RYS. 1.** Rozdziały elektroforetyczne białek ekstrahowanych z próbek tkanki osierdzia świni. Ścieżki: 1 - wzorzec mas cząsteczkowych; 2 - tkanka natywna; 3-5 - tkanki naświetlane UV odpowiednio w czasie 1, 2 lub 3h; 6-8 - tkanki naświetlane VIS odpowiednio w czasie 1, 2 lub 3h.

**FIG. 1.** Electrophoretic profiles of proteins extracted from the pericardium pericardium tissues. Lines: 1 - standard of molecular weights; 2 - native tissue; 3-5 - tissues irradiated with UV for 1, 2 or 3h, respectively; 6-8 - tissues irradiated with VIS for 1, 2 or 3h, respectively.

## Wyniki

Wpływ naświetlania tkanek osierdzia światłem widzialnym lub ultrafioletowym na profile elektroforetyczne białek ekstrahowanych z badanych tkanek (barwionych kumazyną) uwidocznił na RYS. 1.

W TABELI 1 przedstawiono zmiany mas cząsteczkowych białek ekstrahowanych z tkanki natywnych i tkanek naświetlanych (UV lub VIS).

lation of the proteins and electrophoretic analyses were carried out using the Laemmli procedure [9]. The proteins have been separated using polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) in the presence of sodium dodecyl sulphate (SDS), commonly known as SDS-PAGE method. Proteins-detection within polyacrylamide gel has been carried out using the Coomassie blue staining method. The gel-documentation has been performed using Biotec Fischer System. Histological investigations have been carried out in Foundation for Development of Cardiac Surgery in Zabrze. The tissue samples were stained with Harris hematoxylin, using ground-tinting with 1% erythrosine solution. Observation of preparations has been carried out in light-microscope Polyvar 2 (Leica) under magnification 200×. The preparations-documentation has been performed using Quantimet 500 Plus system.

Tkanka Tissue	Masy cząsteczkowe białek ekstrahowanych z osierdzia świni [kDa] Molecular weights of proteins extracted from porcine pericardium											
N	213	148	130		65	60	45	35	32	29	16	
UV-1	209	150	132		65	60	44	35		25	17	
UV-2	205	158	130			60	44			27	14	
UV-3	221	154	132		65	60	44	34			14	
VIS-1	223	158	134	108	65	60	44	34	31		17	
VIS-2	223	154	130		65	60	44	34			17	
VIS-3	227	156	132		64	60	44				17	

**TABELA 1.** Masy cząsteczkowe białek ekstrahowanych z tkanek osierdzia: natywnej (N), naświetlanych UV w czasie 1, 2 lub 3 h (UV-1, UV-2, UV-3), naświetlanej VIS w czasie 1, 2 lub 3 h (VIS-1, VIS-2, VIS-3).

**TABLE 1.** Molecular weights of proteins extracted from the pericardium tissues: native (N), irradiated with the UV-radiation during 1, 2 or 3 h (UV-1, UV-2, UV-3), irradiated with the visible light (VIS) during 1, 2 or 3 h (VIS-1, VIS-2, VIS-3).

## Results

The influence of the pericardium tissues irradiating with the ultraviolet (UV) or visible light (VIS) on electrophoretic profiles of proteins extracted from examined tissues (stained with the coomasin) has been shown in the FIG. 1.

Changes in molecular weights of proteins extracted from the native tissue and tissues irradiated with UV or VIS have been presented in TABLE 1.

Histological images of investigated tissues: native and treated with UV or VIS-radiation during 1, 2 or 3h, together with descriptions of tissue preparations have been presented in TABLE 2.

## Discussion

Suh et al. [3] investigated the collagen crosslinking-degree in the porcine heart valve under the ultraviolet radiation (UV) in dependence on the exposition time. They demonstrated that the longer the irradiation time the higher the efficiency of the tissue crosslinking. The best results were obtained for 24 hours of the exposition on the UV radiation [3]. It has been stated that the UV treatment improves mechanical properties of the porcine aortal valve. It may be a

Obrazy histologiczne badanych tkanek: natywnej i poddanych działaniu promieniowania UV lub VIS w czasie 1,2 lub 3h, wraz z opisami preparatów tkankowych przedstawiono w TABELI 2.

result of crosslinking of the collagen present in tissues.

In the present work one ascertained that the same proteins were extracted from all investigated pericardium tissues - both native and treated with the ultraviolet radiation (UV) or with the visible light (VIS) (FIG. 1, TABLE 1). The


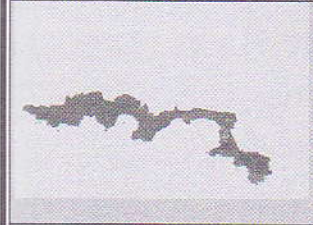
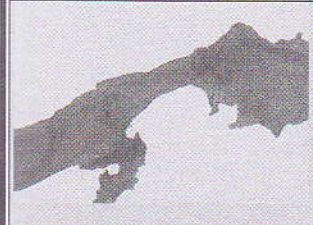

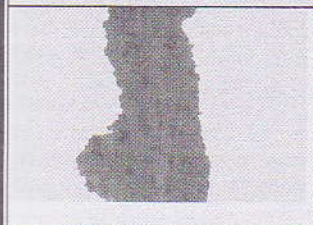
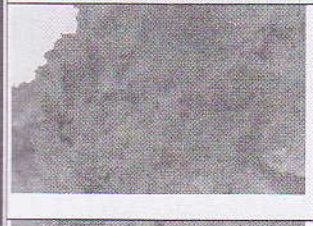

Obrazy histologiczne tkanek Histological images of tissues	Opisy preparatów tkankowych Descriptions of the tissue preparations
	<p>Tkanka natywna (N). Zwarta struktura tkankowa. Drobne szczeliny istoty pozakomórkowej. Obecne fibroblasty.</p> <p>The tissue native (N). The compact tissue structure. Small crevices of the extracellular matrix. Present fibroblasts.</p>
	<p>Tkanka traktowana światłem ultrafioletowym w czasie 1 h (UV-1h). Pojedyncze fragmenty włókien łącznotkankowych. Brak fibroblastów.</p> <p>The tissue treated with the ultraviolet light during 1 h (UV-1h). Single fragments of connective tissue fibres. The lack of fibroblasts.</p>
	<p>Tkanka traktowana światłem ultrafioletowym w czasie 2 h (UV-2h). Pojedyncze bezpostaciowe włókna tkanki łącznej o wzmożonej zasadochłonności. Brak fibroblastów.</p> <p>The tissue treated with the ultraviolet light during 2 h (UV-2h). Single amorphous fibres of the connective tissue with the intensive basophilia. The lack of fibroblasts.</p>
	<p>Tkanka traktowana światłem ultrafioletowym w czasie 3 h (UV-3h). Pojedyncze bezpostaciowe włókna tkanki łącznej o wzmożonej zasadochłonności.</p> <p>The tissue treated with the ultraviolet light during 3 h (UV-3h). Single amorphous fibres of the connective tissue with the intensive basophilia.</p>
	<p>Tkanka traktowana światłem widzialnym w czasie 1 h (VIS-1h). Zwarta struktura tkankowa. Zachowana komórkowość.</p> <p>The tissue treated with the visible light during 1 h (VIS-1h). The compact tissue structure. Kept cellularity.</p>
	<p>Tkanka traktowana światłem widzialnym w czasie 2 h (VIS-2h). Zachowana struktura tkanki. Rozpadające się fibroblasty. Wzrost zasadochłonności.</p> <p>The tissue treated with the visible light during 2 h (VIS-2h). Kept structure of the tissue. Breaking up fibroblasts. The growth of the basophilia.</p>
	<p>Tkanka traktowana światłem widzialnym w czasie 3 h (VIS-3h). Zachowana struktura tkanki. Rozpadające się fibroblasty. Wzrost zasadochłonności.</p> <p>The tissue treated with the visible light during 3 h (VIS-3h). Kept structure of the tissue. Breaking up fibroblasts. The height of the basophilia.</p>

TABELA 2. Obrazy histologiczne i opisy preparatów tkankowych.

TABLE 2. Histological images and descriptions of the tissue preparations.

Suh i wsp. [3] badali stopień usieciowania kolagenu w świńskiej zastawce serca pod wpływem promieniowania ultrafioletowego (UV) w zależności od czasu naświetlania. Wykazali oni, że im dłuższy był czas naświetlania, tym większa była efektywność sieciowania tkanki. Najlepsze wyniki uzyskano po 24 godzinach ekspozycji na promieniowanie UV [3]. Stwierdzono, że działanie promieniowania UV poprawia właściwości mechaniczne świńskiej zastawki aortalnej, co może być wynikiem sieciowania kolagenu zawartego w tkankach.

W niniejszej pracy wykazano, że po naświetlaniu tkanek osierdzia świni promieniowaniem ultrafioletowym (UV) lub światłem widzialnym (VIS) następowała ekstrakcja z nich takich samych białek, co z tkanki natywnej (RYS. 1, TABELA 1). Łatwość ekstrakcji białek przez roztwór lizujący Laemmli [9] można wiązać z procesem ich fotodegradacji.

W obrazie histologicznym, próbki naświetlane promieniowaniem UV wykazywały zanik struktury tkankowej, przy wzmożonej zasadochłonności (TABELA 2). Podobne efekty obserwowano w przypadku próbek naświetlanych światłem widzialnym (VIS) w czasie 2 h lub dłużej. W obrazach tych obserwowano również zanik komórkowości, z rozpadającymi się fibroblastami. Wydłużeniu czasu naświetlania towarzyszyło zmniejszenie komórkowości i rozluźnienie struktury tkanki (TABELA 2). Wszystkie te zmiany wskazują na fotodegradację tkanek naświetlanych bez ochronnego działania pewnych barwników.

W konkluzji można stwierdzić, że tkanki osierdzia świńskiego poddane działaniu promieniowania ultrafioletowego (UV) lub światła widzialnego (VIS) w czasie 1 h lub dłuższym mogą ulegać procesowi fotodegradacji.

## Podziękowania

Praca finansowana przez Śląską Akademię Medyczną.

ease of the proteins extraction by the Laemmli [9] lizing-solution may be connected with the tissue photodegradation.

In the histological images, the UV-irradiated samples showed the disappearance of tissue structure and the intensive basophilia (TABLE 2). Similar effects have been observed in the case of the VIS-treated samples, irradiated for 2 h or longer. In these images we observed also the cellularity disappearance, with breaking up of fibroblasts. Prolongation of the irradiation time was followed by the cellularity reduction and the looseness of the tissue structure (TABLE 2).

All these changes point to the process of the tissue photodegradation during its irradiation without the protective action of some dyes.

In conclusion it may be stated that the porcine pericardium tissues treated with the ultraviolet radiation (UV) or with the visible light (VIS) for 1 h and longer may undergo the photodegradation process.

## Acknowledgements

*This work was financially supported by Medical University of Silesia.*

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Weadock K. S., Miller E. J., Keuffel E. L., Dunn M. G. (1996) Effect of physical crosslinking methods on collagen-fiber durability in proteolytic solution. *J. Biomed. Mater. Res.* 32: 221-226.
- [2] Suh H., Park J. Ch., Lee K. W., Cho B. K. (1998) Mechanical properties of the UV irradiated porcine valves. *Biomater. Res.* 2 (3): 95-99.
- [3] Suh H., Lee W. K., Park J-Ch., Bum K. B. (1999) Evaluation of the cross-linking in UV irradiated porcine valves. *Yonsei Med. J.* 40 (2): 159-165.
- [4] Moore M. A. (1997) Pericardial tissue stabilized by dye-mediated photooxidation: a review article. *J. Heart Valve Dis.* 6: 521-526
- [5] Khor E. (1997) Methods for the treatment of collagenous tissues for bioprostheses. *Biomaterials*, 18: 95-105.
- [6] Westaby S., Bianco R., Katsumata T., Termin P. (1999) The Carbomedix "Oxford" Photofix Stentless Valve (PSV). *Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 11 (4): 206-209.
- [7] Svendsen Ch. A., Kreykes N. S., Butany J., Bianco R. W. (2000) In vivo assessment of a photofixed bovine pericardial valve. *J. Heart Valve Dis.* 9: 813-821.
- [8] Flameng W., Ozaki S., Meuris B., Herijgers P., Yperman J., Van Lommel A., Verbeken (2001) Antimineralization treatments in stentless porcine bioprostheses: an experimental study. *J. Heart Valve Dis.* 10: 489-494.
- [9] Laemmli U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.



# ANTAGONIZM KADMU I WAPNIA W POWIERZCHNI STAWOWEJ GŁOWY KOŚCI UDOWEJ MIESZKAŃCÓW WOJEWÓDZTWA ŚLĄSKIEGO

ANDRZEJ JURKIEWICZ\*, DANUTA WIECHUŁA\*\*, KRZYSZTOF LOSKA\*\*\*, TOMASZ BIELECKI\*, TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK\*

\*KATEDRA I ODDZIAŁ KLINICZNY ORTOPEDII, ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA

\*\*KATEDRA I ZAKŁAD TOKSYKOLOGII, ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA

\*\*\*INSTYTUT INŻYNIERII WODY I ŚCIEKÓW, POLITECHNIKA ŚLĄSKA

## Wprowadzenie

Kadm zdeponowany w tkance osteoidu wpływa na kalcyfikację, dekalcyfikację i remodelling kości, a uwalnianie wapnia z kości pod wpływem kadmu występuje wcześniej niż efekt nerkowy [1]. Toksyczne działanie kadmu na tkankę kostną wynika również z hamującego wpływu jonów tego metalu na absorpcję wapnia z jelit, zakłócania stymulowanej parathormonem aktywacji witaminy D w nerkach, redukcji aktywności hydroksylacji 25-hydrokalciferolu do 1, 25-dihydrokalciferolu, zakłócania w budowywania wapnia do komórek kości oraz produkcji kolagenu w komórkach kości [2-3]. Działanie to może prowadzić do osteopenii, osteomalacji i jest jednym z czynników ryzyka osteoporozy [4-5].

Celem naszych badań była ocena zależności występujących między zawartością kadmu i wapnia w powierzchni stawowej głowy kości udowej mieszkańców Górnego Śląska.

## Materiał i metodyka

Materiałem do badań była powierzchnia stawowa głowa kości udowej uzyskana śródoperacyjnie w trakcie endoprotezoplastyki od pacjentów leczonych w Wojewódzkim Szpitalu nr 5 w Sosnowcu. Próbkę pobrano jesienią 1999 r. Wśród 45 badanych osób były 34 kobiety i 11 mężczyzn. Średnia wieku badanych osób wynosiła  $63,9 \pm 14,4$  lat, średnia wieku kobiet  $64,8 \pm 13,4$  lat, średnia wieku mężczyzn  $61,0 \pm 17,5$  lat. Żadna z badanych osób nie była zawodowo narażona na kadm, z badanej grupy 23 osoby paliły papierosy.

Wysuszone w temp.  $60^\circ\text{C}$  do stałej masy próbki rozdrabniano w moździerzu. 0,2-0,3 g kości roztwarzano za pomocą stężonego  $\text{HNO}_3$  metodą mineralizacji mikrofalowej. Zawartość kadmu oznaczano metodą bezpłomieniową, a zawartość wapnia metodą płomieniową atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej. Poprawność metody sprawdzano przy użyciu materiału referencyjnego NIST-SRM 1486 (bone meal).

W opracowaniu wyników zastosowano program statystyczny Statistica for Windows ver. 5,5pl. Ze względu na asymetryczność uzyskanych rozkładów (test W Shapiro-Wilka) w omówieniu wyników posłużono się wartością mediany. Testowanie znamienności statystycznej różnic mię-

# CADM AND CALCIUM ANTAGONISM IN AN ARTICULAR SURFACE OF THE FEMUR HEAD IN SILESIA INHABITANTS

89

ANDRZEJ JURKIEWICZ\*, DANUTA WIECHUŁA\*\*, KRZYSZTOF LOSKA\*\*\*, TOMASZ BIELECKI\*, TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK\*1

\*DEPARTMENT AND CLINIC OF ORTHOPAEDIC, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA

\*\*DEPARTMENT OF TOXICOLOGY, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA

\*\*\*INSTITUTE OF ENGINEERY WATER AND SEWERS, POLYTECHNIC OF SILESIA

## Introduction

Cadm is deposited in an osteoid tissue and influences on calcification, decalcification and bone remodeling and releasing calcium from the bone under cadm influence, appears earlier than renal effect [1]. Cadm toxic activity on a bone tissue results also from inhibitive influence ions of this metal on calcium absorption from intestines, disturbance activity vitamin D in kidneys, which is stimulated by parathormone, reduction hydroxylation 25-hydrocalciferol to 1,25-dihydrocalciferol activity, disturbance of including calcium into bone cells and collagen production in bone cells [2-3]. This activity can cause osteopenia, osteomalacia and is one of the osteoporosis risk factors [4-5].

The aim of this experiment was estimation dependences between cadm and calcium content in articular surface of the femur head in Silesian inhabitants.

## Materials and methods

Material in this experiment was articular surface of the femur obtained intraoperatively during edoprosthesis in patients treated in Hospital nr.5 in Sosnowiec. Specimens were collected in autumn 1999. Among 45 examined persons there were 34 women and 11 men. The average age of examined people amount to  $63,9 \pm 14,4$ , women  $64,8 \pm 13,4$ , men  $61,0 \pm 17,5$ . None of these people was not professionally exposed to Cadm, 23 people were smoking cigarettes.

Dried specimens in  $60^\circ\text{C}$  temperature to the constant mass were divided. 0,2-0,3 g bone were soluted by concentrated  $\text{HNO}_3$  by microwaves mineralization method. Cadm contents were signed by flame method absorptive atomic spectrophotometry. Correction of this method was checked with usement NIST-SRM material (bone meal).

In results elaborating these was statistical programe: Statistica for Windows ver. 5,5pl used. Because of the asymmetry of receiving decompositions (Shapiro-Wilk test) in results discussion the average value was used. Testing statistical significance between groups and metal was done by U Mann-Witney, R Spearman correlation test.

dzy grupami oraz zależności między zawartością metali przeprowadzono w oparciu o testy nieparametryczne (test U Manna-Whitneya, korelacja R Spearman'a).

## Omówienie wyników

Przeciętna zawartość kadmu w powierzchni stawowej głowy kości udowej wynosiła 0,06 µg/g i była jednakowa u kobiet i mężczyzn - TABELA 1. Osoby palące papierosy miały większą zawartość kadmu w kościach w porównaniu z osobami nie palącymi, lecz różnica ta nie była istotna statystycznie. W piśmiennictwie nie występują dane dotyczące zawartości kadmu w powierzchni stawowej. Otrzymane wyniki były zbliżone do zawartości kadmu w kościach Japończyków i Hiszpan nie narażonych zawodowo [6-7].

Zawartość wapnia wynosiła średnio 16%, nieistotnie większa zawartość wapnia występowała w powierzchni stawowej głowy kości udowej mężczyzn w porównaniu z kobietami, a także osób palących w porównaniu z nie palącymi - TABELA 1.

Grupa Group	Zakres Range	Mediana Median	Zakres Range	Mediana Median
	Cd [µg/g]		Ca [%]	
Ogółem Total	0,02±0,53	0,06	7,67±21,39	16,03
Kobiety Women	0,02±0,53	0,06	7,67±21,39	15,88
Mężczyźni Men	0,03±0,23	0,06	12,46±21,09	17,16
Nie palący No smoking	0,02±0,53	0,05	10,08±21,39	15,88
Palący Smoking	0,02±0,23	0,07	7,67±21,09	16,43

**TABELA 1. Zawartość kadmu i wapnia w powierzchni stawowej głowy kości udowej.**  
**TABLE 1. The occurrence of cadmium and calcium in joint surface of femur head.**

Zawartość wapnia w powierzchni stawowej głowy kości udowej zmniejszała się w funkcji wieku. Zależność ta, zgodna z danymi literaturowymi, była istotna statystycznie ( $p < 0,01$ ). Wzrost zawartości kadmu w funkcji wieku był nieistotny statystycznie.

Wzrost zawartości kadmu w powierzchni stawowej głowy kości udowej powodował spadek zawartości wapnia. Zależność tę opisywał istotny współczynnik korelacji  $r = -0,48$  ( $p < 0,001$ ). Dla grupy kobiet zależność między zawartością obu badanych pierwiastków w kości również była istotna i wynosiła  $r = -0,55$  ( $p < 0,001$ ). Wśród osób palących papierosy współczynnik korelacji między zawartością kadmu i wapnia wynosił  $-0,50$ , a w grupie osób nie palących  $-0,48$ . Zależność ta była nieistotna jedynie w grupie badanych mężczyzn.

## Podsumowanie

Uzyskane wyniki wskazują wyraźnie na zależność między zawartością wapnia i kadmu w powierzchni stawowej głowy kości udowej. Ujemna wartość współczynników korelacji wskazuje na antagonistyczny charakter interakcji między zawartością tych metali i potwierdza fakt, że narażenie środowiskowe na kadm może wpływać na obniżenie zawartości wapnia w kościach.

## Discussion of results

The average content on articular surface of the femur head amounted to 0,06 mg/g and was the same in men and women - TABLE 1. Smoking people were higher Cadm content in bone in comparison with non smoking people, but this difference was not statistically important. These results were similar with Japanese and Spanish ones in people without professional exhibition [6-7]. Average calcium content amounted to 16%, not essentially higher calcium content occurred on articular surface of the femur head in men in comparison with women and in smoking people in comparison with non smoking - TABLE 1. Calcium content on articular surface of the femur head is getting smaller in age function. This dependence in harmony with literature was statistically important ( $p < 0,001$ ). Growth of the cadm content in age function was not statistically important. Growth cadm content in articular surface of the femur head caused decrease of the calcium content. This dependence pointed correlation coefficient  $r = -0,48$  ( $p < 0,001$ ). For women dependence between Cadm and calcium content in bone was also important and amounted to  $r = -0,55$  ( $p < 0,001$ ). Among smoking people correlation between cadm and calcium content amounted to  $-0,50$  and in non smoking to  $-0,48$ . This dependence was not statistical important in men.

## Summary

Obtained results point on dependence between calcium and cadm content on articular surface of the femur. Negative value of correlation indicate an antagonistic character of the interaction between calcium and cadm content and approve that an environmental cadm exhibition can cause calcium bone decrease.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Bhattacharyya M.H., Wilson A.K., Silbergeld E.K., Watson L., Jeffrey E. Metal-induced osteotoxicities. W: Metal Toxicology. Wyd.: Goyer R.A., Klaassen C.D., Waalkes M.P., San Diego: Academic, 1995, 1, 465-510.
- [2] Kjellstöm T., Effects on bone, on vitamin D, and calcium metabolism. W: Cadmium and Health, tom II. Effects and Response. Wyd.: Friberg L., Elinder C.-G., Kjellstöm T., Nordberg G.F., Boca Raton, FL., CRC Press, 1986, 111-158.
- [3] Nogawa K., Tsuritani I., Kido T., Honda R. Mechanism for bone disease found in inhabitants environmentally exposed to cadmium: decreased serum 1,25 dihydroxyvitamin D level. Int. Arch. Occup. Environ. Health., 1987, 59, 21-30.
- [4] Alfvén T., Elinder C.G., Carlsson M.D., Grubb A., Hellström L., Persson B., Pettersson C., Spang G., Schutz A., Jarup L. Low-level cadmium exposure and osteoporosis. J. Bone Miner. Res., 2000, 15 (8), 1579-1586.
- [5] Staessen J.A., Roels H.A., Emelianov D., Kuznetsova T., Thijs L., Vangronsveld J., Fagard R. Environmental exposure to cadmium, forearm bone density, and risk of fractures: prospective population study. Lancet, 1999, 353, 1140-1144.
- [6] Yoshinaga J., Suzuki T., Morita M. Sex and age-related variation in elemental concentrations of contemporary Japanese ribs. Sci. Total Environ., 1989, 79, 209-211.
- [7] Llobet J.M., Granero S., Schuhmacher M., Corbella J., Domingo J.L. Biological monitoring of environmental pollution and human exposure to metal in Tarragona, Spain. II. Levels in autopsy tissues. Tr. Elem. Electrolyt., 1998, 15, 1, 44-49.

# WPŁYW AKTYWNOŚCI RUCHOWEJ I DIETY NA GĘSTOŚĆ MINERALNĄ TKANKI KOSTNEJ ORAZ ZAWARTOŚĆ WAPNIA W KOŚCI GĄBCZASTEJ GŁOWY KOŚCI UDOWEJ U MIESZKAŃCÓW WOJEWÓDZTWA ŚLĄSKIEGO

ANDRZEJ JURKIEWICZ\*, DANUTA WIECHUŁA\*\*, TOMASZ BIELECKI\*,  
TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK\*, KRZYSZTOF LOSKA\*\*\*

\*KATEDRA I ODDZIAŁ KLINICZNY ORTOPEDII,  
ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA

\*\*KATEDRA I ZAKŁAD TOKSYKOLOGII, ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA

\*\*\*INSTYTUT INŻYNIERII WODY I ŚCIEKÓW, POLITECHNIKA ŚLĄSKA

Badania prowadzone przez ostatnie kilkanaście lat, potwierdzają wysoką korelację masy kostnej z odpornością mechaniczną szkieletu, wskazując, że zmniejszenie masy kostnej (osteopenia) poprzedza wystąpienie osteoporozy i zwiększone ryzyko wystąpienia złamań. Ocena masy kostnej przeprowadza się za pomocą badań densytometrycznych. Zaletą tego badania jest nieinwazyjność i niewielka dawka napromieniowania badanego, nie przekraczająca ok. 1/30 dawki otrzymywanej przy wykonywaniu normalnego zdjęcia rentgenowskiego.

Celem naszych badań było oszacowanie wpływu aktywności ruchowej oraz diety na gęstość mineralną i zawartość wapnia w kościach na przykładzie głowy kości udowej.

Materiałem do badań była kość gąbczasta głowy kości udowej uzyskana śródoperacyjnie w trakcie endoprotezoplastyki od pacjentów leczonych w Wojewódzkim Szpitalu nr 5 w Sosnowcu. Próbkę pobrano jesienią 1999 r. Wśród 43 badanych osób były 32 kobiety i 11 mężczyzn. Średnia wieku badanych osób wynosiła  $63,9 \pm 14,4$  lat, średnia wieku kobiet  $64,8 \pm 13,4$  lat, średnia wieku mężczyzn  $61,0 \pm 17,5$  lat.

Ocenę wpływu diety i aktywności ruchowej na zawartość wapnia w głowie kości udowej oraz wartość BMD analizowano w oparciu o dane zawarte w ankietach. Od badanych osób zebrano informacje na temat aktywności fizycznej i ilości wypijanego dziennie mleka. Na podstawie uzyskanych informacji wyróżniono grupę osób prowadzących domowy, nieruchliwy tryb życia ( $n=9$ ) oraz osób deklarujących różne rodzaje aktywności fizycznej (pracę fizyczną, uprawianie sportu, codzienną gimnastykę itp.) ( $n=34$ ). Wyróżniono także cztery grupy osób: bardzo rzadko pijące mleko ( $n=12$ ), wypijające 1 szklankę mleka w ciągu tygodnia ( $n=12$ ), 1 szklankę mleka dziennie ( $n=15$ ) oraz więcej niż 1 szklankę mleka dziennie ( $n=4$ ).

Do badania densytometrycznego pobrano z części gąbczastej głów kości udowych próbki w postaci prostopadłościanu o wymiarach  $15 \times 15 \times 20$  mm. Próbkę wycinano z dokładnością  $\pm 1$  mm. Pobrany fragment do badania pochodził ze środka głowy kości udowej. Do badań dobrano frag-

# INFLUENCE OF MOTORIAL ACTIVITY AND DIET ON MINERAL DENSITY OF BONE TISSUE AND CALCIUM CAPACITY OF SPONGY FEMUR HEAD IN SILESIAN INHABITANTS

ANDRZEJ JURKIEWICZ\*, DANUTA WIECHUŁA\*\*, TOMASZ BIELECKI\*,  
TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK\*, KRZYSZTOF LOSKA\*\*\*

\*DEPARTMENT AND CLINIC OF ORTHOPAEDIC,  
MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA

\*\*DEPARTMENT OF TOXICOLOGY, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA

\*\*\*INSTITUTE OF ENGINEERY WATER AND SEWERS,  
POLYTECHNIC OF SILESIA

Last few years examinations confirm high correlation with mechanical immunity of skeleton, indicates that decrease of bone mass (osteopenia) precedes osteoporosis occurrence and enhances fractures risk. Estimation of bone mass is making by densitometer. It is non invasive and there is a small dose of radiation for the patient which does not exceed about 1/30 dose receiving during X-ray.

The aim of our studies was estimation influence of motorial activity and diet on mineral density and calcium capacity in bones for example femur head.

Material to this experiment was spongy bone from femur head received during hip replacements from patients from Hospital No 5 in Sosnowiec. Samples were collected in autumn 1999. In group 43 patients were 32 women and 11 men. The average age of examined people was  $63,9 \pm 14,4$ , men  $61 \pm 17,5$ , women  $64,8 \pm 13,4$ .

Analysis diet influence and motorial activity on calcium capacity in femur head and BMD value were estimated on a base of dates from questionnaires. From examined patients informations about physical activity and drinking milk were collected. On a base of these informations group people with quiet way of life ( $n=9$ ) and people with different kinds of physical activity (physical work, sport training, everyday gym) were chosen ( $n=34$ ). Patients were divided into 4 groups: drinking milk very rare ( $n=12$ ), drinking one glass of milk per week ( $n=12$ ), drinking one glass of milk once a day ( $n=15$ ) and drinking more than one glass of milk per day ( $n=4$ ).

For densitometrical examination there were collected samples from femur spongy head sized  $15 \times 15 \times 20$  mm. Samples were cut with accuracy  $\pm 1$  mm. Collected fragments were deprived degenerative changes like cysties or bone growths. Densitometrical estimation was performed by p DEXA apparatus Norlan Stratec firm.

Calcium capacity was estimated by atomic flame absorptional spectrophotometry method after microvaves mineralisation with concentrated  $HNO_3$ . Correction of this method was checked with using NIST-SRM 1486 material (bone meal).

ment tak, aby był pozbawiony zmian zwyrodnieniowych w formie cyst czy narośli kostnych. Ocena densytometryczną przeprowadzono aparatem p DEXA firmy Norlan Stratec.

Zawartość wapnia oznaczano metodą płomieniową atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej po mineralizacji mikrofalowej za pomocą stęż.  $\text{HNO}_3$ . Poprawność metody sprawdzano przy użyciu materiału referencyjnego NIST-SRM 1486 (bone meal).

Oznaczoną wartość BMD zestawiono w TABELI 1. Przeciętna wartość dla całej grupy wynosiła 0,29. Średnia wartość wyznaczona dla mężczyzn była nieistotnie większa od wartości wyznaczonej dla kobiet.

Między zawartością wapnia a wartością BMD nie obserwowano zależności. Wartość BMD i zawartość wapnia w głowie kości udowej była mniejsza u osób, u których w ostatnim czasie dochodziło do złamań, niż u osób, które nie zgłaszały takich przypadków, choć różnica ta nie była znamienna statystycznie.

Osteoporoza, której istotą jest niska masa kostna i zaburzenia struktury kostnej, prowadzi do zwiększonej podatności na złamania, stanowiąc przez to duży problem zdrowotny i społeczny [1-2]. Lepsze zrozumienie patofizjologii osteoporozy doprowadziło do opracowania licznych metod leczenia farmakologicznego, lecz jednak najważniejszym celem terapii osteoporozy jest profilaktyka złamań, a jednym z czynników wpływających na zawartość składników mineralnych w kościach jest dieta.

W kości gąbczastej stwierdzono brak zależności między ilością wypijanego dziennie mleka a zawartością wapnia w kości. Zależność tę opisywał nieistotny współczynnik korelacji, a zawartość wapnia była najmniejsza w grupie osób wypijających ponad 1 szklankę mleka dziennie - RYS. 1. Zależność tę analizowano również osobno dla grupy mężczyzn i kobiet. W grupie kobiet występowała dodatnia statystycznie nieistotna korelacja między zawartością wapnia w kości gąbczastej a ilością wypijanego dziennie mleka ( $r = 0,26$ ), w grupie mężczyzn zależność między tymi parametrami miała wartość ujemną. Natomiast u osób wypijających ponad 1 szklankę mleka dziennie stwierdzono większą niż w pozostałych grupach wartość BMD - RYS. 1.

Na mineralizację kości ma wpływ również aktywność fizyczna, która powoduje zwiększenie masy kostnej. Na podstawie przedstawionych w ankietach informacji o trybie

		Zakres Range	Mediana Median
BMD	Ogółem / Total	0,12 - 0,90	0,29
	Kobiety / Women	0,12 - 0,90	0,27
	Mężczyźni / Men	0,13 - 0,81	0,30
Ca [%]	Ogółem / Total	9,51 - 22,40	15,49
	Kobiety / Women	11,26 - 22,23	15,83
	Mężczyźni / Men	9,51 - 22,40	13,63

**TABELA 1. Wartość BMD oraz zawartość wapnia w kości gąbczastej głowy kości udowej badanych osób**

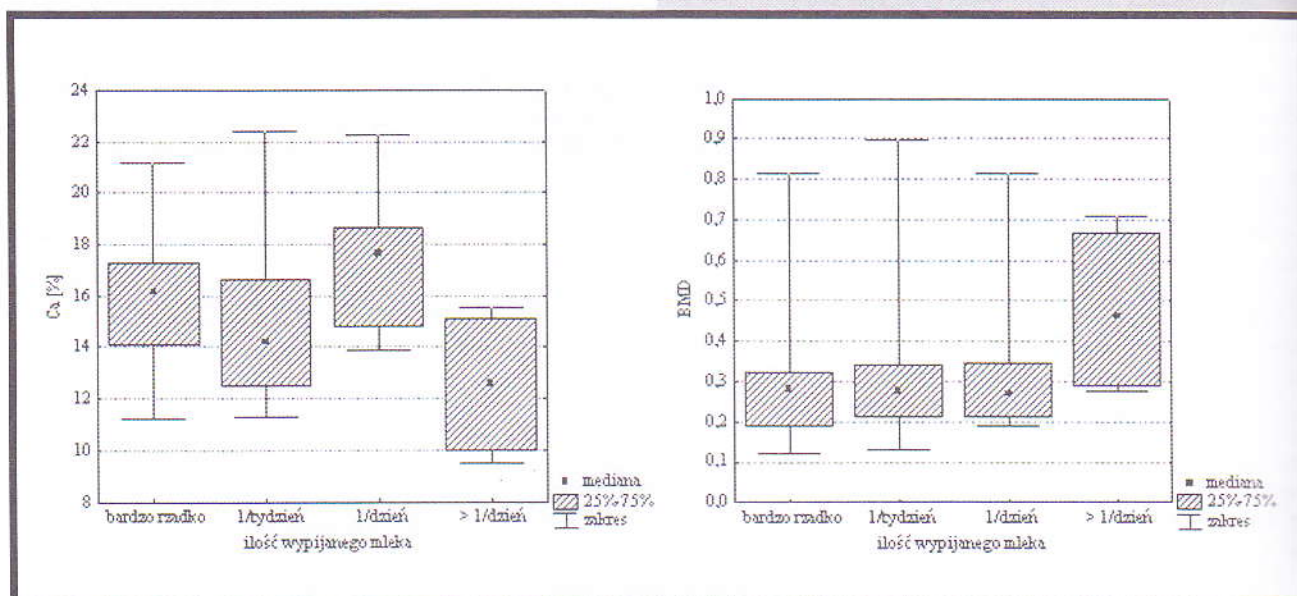
**TABLE 1. BMD value and the occurrence of calcium in spongy bone of femoral head**

BMD values are shown in TABLE 1. The average value for entire group was 0,29 and for men was not essentially higher from women.

Between calcium capacity and BMD value was no dependence. BMD value and calcium capacity in femur head was smaller in people with fractures appearing in last years [1-2]. The most important for osteoporosis therapy is fractures prophylaxis and one of the factors that have an influence on capacity mineral substances in bone is diet.

In spongy bone there was no dependence between quantity daily drinking milk people and calcium capacity in bones. This dependence was described by non essential correlation factor and calcium capacity was the smallest in patients group drinking over one glass of milk per day - FIG. 1. In women group was positive non essential statistically correlation between calcium capacity in spongy bone and quantity drinking milk per day ( $r=0,26$ ), in men dependence between these values was negative. In people drinking over one glass of milk per day was higher value BMD - FIG. 1.

On bone mineralization has also physical activity influence which causes bone mass increase. There was no dependence between way of life and calcium capacity in femur head. In spongy bone of the femur head calcium capacity was even higher in people with quiet way of life than in physically active people.



**RYS. 1. Zależność zawartości Ca w głowie kości udowej i wartości BMD od ilości wypijanego dziennie mleka.**  
**FIG. 1. Drinking milk dependence of calcium occurrence in femoral head and BMD value.**

życia szukano zależności między zawartością wapnia w poszczególnych częściach głowy kości udowej a aktywnością fizyczną badanych osób.

Dla całej grupy stwierdzono brak zależności między trybem życia a zawartością wapnia w głowie kości udowej. W kości gąbczastej głowy kości udowej zawartość wapnia była nawet nieznacznie większa u osób prowadzących domowy, nieruchliwy tryb życia, niż u osób deklarujących różny rodzaj aktywności fizycznej. Identyczne zależności stwierdzono w grupie kobiet i mężczyzn rozpatrywanych osobno.

## OCENA MECHANICZNEJ WYTRZYMAŁOŚCI TKANKI KOSTNEJ GŁOWY KOŚCI UDOWEJ Z WYKORZYSTANIEM BADANIA DENSYTOMETRYCZNEGO I HISTOMORFOMETRYCZNEGO

ANDRZEJ JURKIEWICZ\*, DANUTA WIECHUŁA\*\*, TOMASZ BIELECKI\*,  
TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK\*, KRZYSZTOF LOSKA\*\*\*

\*KATEDRA I ODDZIAŁ KLINICZNY ORTOPEDII,  
ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA

\*\*KATEDRA I ZAKŁAD TOKSYKOLOGII, ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA

\*\*\*INSTYTUT INŻYNIERII WODY I ŚCIEKÓW, POLITECHNIKA ŚLĄSKA

Metody densytometryczne, dzięki swojej czułości i swoistości, są obecnie najczęściej stosowane do diagnostyki i leczenia chorób metabolicznych kości. Nowa generacja aparatów densytometrycznych umożliwia uzyskanie wyników o wysokiej rozdzielczości, powtarzalności i odtwarzalności prowadzonych oznaczeń. Pomiar masy kostnej wykonany jest z dokładnością poniżej 3% i błędem powtarzalności poniżej 1%.

Z kolei badania morfometryczne w diagnostyce klinicznej, w związku z ich inwazyjnością, mogą być wykonane tylko z istotnych wskazań [1]. Wskazaniem do biopsji kości są uogólnione schorzenia układu kostnego bądź schorzenia zlokalizowane, jeśli ognisko dotyczy kości płaskich. Standardowym miejscem do pobierania wycinków kostnych w diagnostyce zaburzeń metabolicznych jest talerz kości biodrowej, ale jest to z kolei część szkieletu nieprzydatna do oceny struktury radiologicznej. Histomorfometria pozwala ocenić zmiany tkankowe i komórkowe na poziomie pośredniej organizacji kości, tj. osteonu w kości korowej lub pakietu kości bełeczkowej w kości gąbczastej.

Celem naszych badań była ocena mechanicznej wytrzymałości tkanki kostnej głowy kości udowej przy wykorzystaniu obu tych metod.

Grupę badaną stanowili pacjenci Oddziału Ortopedii Szpitala Wojewódzkiego nr 5 w Sosnowcu. Materiałem do badań była głowa kości udowej uzyskana śródoperacyjnie w trakcie endoprotezoplastyki. Próbkę pobrano jesienią 1999 r. Wśród 45 badanych osób były 34 kobiety i 11 mężczyzn. Średnia wieku badanych osób wynosiła  $63,9 \pm 14,4$  lat, średnia wieku kobiet  $64,8 \pm 13,4$  lat, średnia wieku mężczyzn  $61,0 \pm 17,5$  lat.

## Piśmiennictwo

## References ..93...

[1] Consensus Development Conference Diagnosis, Prophylaxis, and Treatment of Osteoporosis, June 1993. The American Journal of Medicine. Vol. 94.

[2] Melton L.J., Chrischilles E.A., Cooper C. How many women have osteoporosis. J. Bone Miner. Res., 1992, 7, 1005-1010.

## ESTIMATION OF FEMUR HEAD MECHANICAL RESISTANCE WITH USING DENSITOMETRICAL AND HISTOMORPHOMETRICAL EXAMINATION

ANDRZEJ JURKIEWICZ\*, DANUTA WIECHUŁA\*\*, TOMASZ BIELECKI\*,  
TADEUSZ SZYMON GAŹDZIK\*, KRZYSZTOF LOSKA\*\*\*

\*DEPARTMENT AND CLINIC OF ORTHOPAEDIC,  
MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA

\*\*DEPARTMENT OF TOXICOLOGY, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA

\*\*\*INSTITUTE OF ENGINEERY WATER AND SEWERS,  
POLYTECHNIC OF SILESIA

Densitometrical methods thanks to sensitivity and specificity are nowadays the most often used for bone metabolic diseases diagnostics and treatment. The new generation of densitometers enables getting high distributance results, recurrence and reproduction of determinations. Measurement of the bone mass is making with accuracy below 3% and with recurrence error below 1%.

Morphometrical examinations in clinical diagnosis because of invasiveness can be performed with important therapeutic indications [1]. Indications for doing bone biopsy are generalized bone diseases or localized diseases if focus is connected with flat bone. The standard place for collecting bone specimens in diagnostics of metabolic diseases is ala ossis ilii, but from the other hand this part of the skeleton is useless for X-ray estimation. Histomorphometrical examination allows for estimation tissue and cells changes on level intermediate bone organization: osteon in cortical bone or trabecular bone packet in spongy bone.

The aim of our studies was estimation of mechanical resistance femur head with using these methods.

Experimental group established patients from Orthopaedic Ward Hospital No 5 in Sosnowiec. Material to these experiments was femur head obtained intraoperayive during endoprothesoplastics. Specimens were collected in autumn 1999. Among them there were 34 women and 11 men. The average age was  $63,9 \pm 14,4$ , women  $64,8 \pm 13,4$ , men  $61,0 \pm 17,5$ .

To densitometrical examinations were collected specimens  $15 \times 15 \times 20$  mm dimension, from spongy part of ala ossis ilii. Specimens were cut with precision  $\pm 1$  mm. Collected fragments were deprived degenerative changes like: cysties or bone growths. Densitometrical examination was performed

Do badania densytometrycznego pobrano próbki w postaci prostopadłościanu o wymiarach  $15 \times 15 \times 20$  mm z części gąbczastej głów kości udowych. Próbki wycinano z dokładnością  $\pm 1$  mm. Pobrany fragment do badania pochodził ze środka głowy kości udowej. Do badań dobrano fragment tak, aby był pozbawiony zmian zwyrodnieniowych w formie cyst czy narośli kostnych. Ocenę densytometryczną przeprowadzono aparatem p DEXA firmy Norlan Stratec.

Do badań morfometrycznych były przeznaczone fragmenty głowy kości udowej w kształcie trójkąta patrzącego podstawą w kierunku na krętarz mniejszy. W trakcie zabiegu operacyjnego, po usunięciu głowy kości udowej ze stawu, głowę dzielono i utrwalano w 10% roztworze formaliny. Następnie rutynowo odwadniano i zatapiano w mieszaninie metakrylanów. Boczki metakrylanowe krojono na mikrotomie kostnym JUNG na skrawki grubości  $5 \mu$ . Barwiono hematoksylina-eozyną wg metody Goldnera. Oceny dokonywano w mikroskopie świetlnym, a pomiary morfometryczne wykonano stosując system analizy obrazu VIDAS IV.

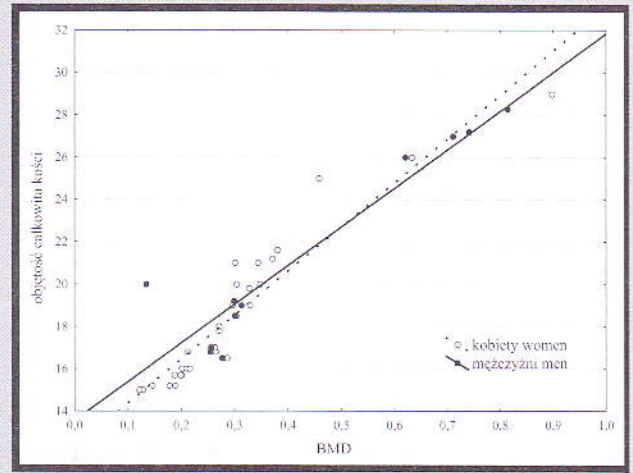
Średnia wartość objętości całkowitej kości dla całej grupy wynosiła 19,4%. Objętość całkowita kości u kobiet (18,7%) różniła się istotnie od objętości całkowitej kości u mężczyzn (20,7%). Uzyskane wartości objętości były zbliżone do podawanych w piśmiennictwie dla kości biodrowej [2-3].

Średnia wartość BMD dla całej grupy wynosiła 0,29; wartość BMD dla mężczyzn była nieistotnie większa od wartości wyznaczonej dla kobiet.

Między wartością objętości całkowitej kości a wartością BMD stwierdzono istotną zależność ( $r = 0,92$ ,  $p < 0,001$ ). Istotna zależność występowała także w grupie kobiet i mężczyzn - RYS. 1.

Istotny statystycznie spadek wartości BMD oraz objętości całkowitej kości z wiekiem obserwowany w całej grupie opisywał współczynnik korelacji wynoszący odpowiednio  $r = -0,55$  i  $r = -0,62$ . Znamienne statystycznie zmniejszenie wartości BMD i objętości całkowitej kości z wiekiem występowało również w grupie kobiet - RYS. 2. Natomiast u mężczyzn zależności te nie były istotne statystycznie, co może być związane z faktem, że mężczyźni mają większą masę szczytową kości niż kobiety, stąd też zmniejszanie się gęstości kości z wiekiem jest mniej widoczne.

Na podstawie otrzymanych wyników podjęto próbę określenia prognozy ryzyka wystąpienia złamania. Wartość BMD u



RYS. 1. Zależność objętości całkowitej kości i wartości BMD w głowie kości udowej kobiet i mężczyzn

FIG. 1. Dependence of bone total volume and BMD value in femoral head in women and men

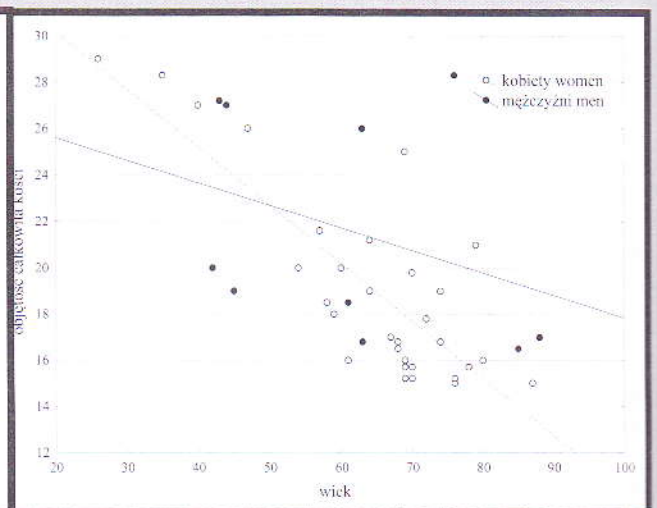
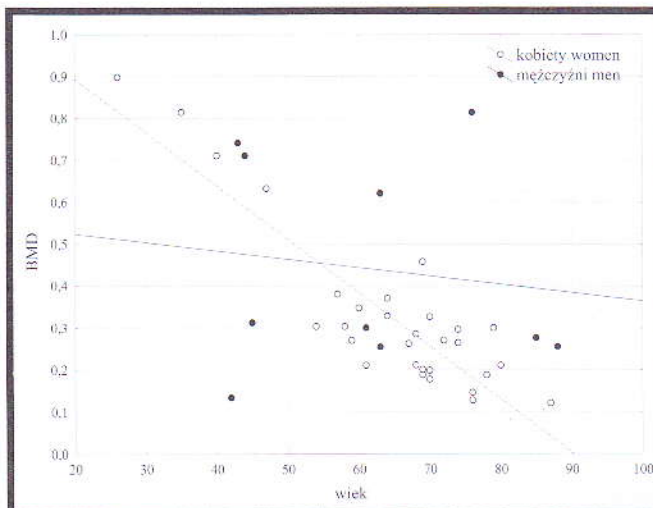
by p DEXA apparatus Norlan Stratec firm.

To morphometrical examinations specimens femur head were triangle shape with base in direction lesser trochanter. During operation, after removing femur head from the article it was divided and fixed in 10% formalin solution. Next specimens were dehydrated and embedded in metacrylans mixture. Metacrylans were cut by bone microtome JUNG on fragments 5m thickness. It was stained by hematoxylin-eosin Goldner method. It was estimated in light microscope and morphometrical measurements were made with picture analysis system VIDAS IV.

The average size of entire bone volume for whole group was 19,4%. In women - 18,7% and was different than in men - 20,7%. Obtained volume values were similar with literature for iliac bone [2-3].

Average value BMD for entire group was 0,29, for men was not importantly higher than in women.

Between entire bone volume value and BMD value there is important dependence ( $r=0,92$ ,  $p<0,001$ ). Important dependence was also in men and women group - FIG. 1.



RYS. 2. Zależność wartości BMD i objętości całkowitej kości w głowie kości udowej od wieku kobiet i mężczyzn.

FIG. 2. Age of dependence of BMD value and bone total volume in femoral head in women and men.

pacjentów, którzy zgłaszali złamania, nie przekraczała 0,27, a objętość całkowita kości - 17%. Wartości w grupie osób, u których nie występowało złamanie, wynosiły odpowiednio 0,30 i 19%. Stwierdzono, że na spadek własności mechanicznych kości decydujący wpływ mają dwa efekty. Pierwszy to zmniejszenie grubości beleczek kostnych, które nie jest jednorodne. Drugi to przerwanie beleczek kostnych oraz ogólne zmniejszenie ich liczby, co w konsekwencji wpływa na obniżenie zdolności do przenoszenia obciążeń.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Galus K., Jaworski Z. Choroby metaboliczne kości. PZWL, Warszawa, 1982.  
 [2] Boivini G. Morphometric analysis of fluorotic bone tissue. W: Fluoride and bone, red. B. Courvoisier. Wyd. Medecine et hygiene, Geneve, 1978.  
 [3] Weinstein R., Huston M.S. Decreased trabecular width and increased trabecular spacing contribute to bone loss with aging. Bone, 1987, 8, 137-142.

# BIORESORBOWLANE POROWATE PODŁOŻA DLA INŻYNIERII TKANKOWEJ Z KOPOLIMERU GLIKOLIDU Z L-LAKTY-DEM: WPŁYW MIKRO-STRUKTURY NA OSTEOBLASTY IN VITRO

ELŻBIETA PAMUŁA\*, MARTA BŁAŻEWICZ\*, JOANNA BUCZYŃSKA\*,  
BARBARA CZAJKOWSKA\*\*, PIOTR DOBRZYŃSKI\*\*\*,  
MACIEJ BERO\*\*\*

\*AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,  
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,  
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW, KRAKÓW, POLSKA

\*\*UNIwersytet Jagielloński, Collegium Medicum,  
KATEDRA IMMUNOLOGII, KRAKÓW, POLSKA

\*\*\*POLSKA AKADEMIA NAUK, CENTRUM CHEMII POLIMERÓW,  
ZABRZE, POLSKA

## Streszczenie

Opracowano trzy rodzaje bioresorbowalnych gąbek dla inżynierii tkankowej. Gąbki te miały taką samą chemiczną budowę powierzchni i udział objętościowy porów, ale różny rozmiar porów: około 600  $\mu\text{m}$ , 200  $\mu\text{m}$  i 40  $\mu\text{m}$ . Badania komórkowe (przeżywalność, synteza kolagenu) wykazały, że gąbka o największym rozmiarze porów jest najkorzystniejsza dla hodowli osteoblastów in vitro.

Statistically essential decrease of BMD value and entire bone volume with age was observed in whole group and was described by correlation coefficient raising  $r=0,55$  and  $r=0,62$ . Statistically significant decrease of BMD value and entire bone volume was also in women group - fig.2. In men these dependences were not statistically significant, what can be associate with fact that men have higher bone apical mass than women, that is why decrease of bone density with age is less evident.

On a base of obtained results it was taken the trial for determine risk fracture appearance. BMD value in patients with fractures was not higher than 0,27 and entire bone volume was -17%. Values in patients without fractures were 0,30 and 19%. On decrease of mechanical bone values main influence have two effects. The first one is decrease of bone trabecula thickness, which is not homogenous. The second one is trabecula interrupting bone and decrease of number, what influences on decrease ability to removing encumbrance.

# BIORESORBABLE POROUS POLY- (GLYCOLIDE-CO-L- LACTIDE) SCAFFOLDS FOR TISSUE ENGINEERING: THE INFLUENCE OF MICROSTRUCTURE ON OSTEOBLASTS IN VITRO

ELŻBIETA PAMUŁA\*, MARTA BŁAŻEWICZ\*, JOANNA BUCZYŃSKA\*,  
BARBARA CZAJKOWSKA\*\*, PIOTR DOBRZYŃSKI\*\*\*,  
MACIEJ BERO\*\*\*

\*AGH - UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,  
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,  
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, KRAKÓW, POLAND

\*\*JAGIELLONIAN UNIVERSITY, COLLEGIUM MEDICUM,  
DEPARTMENT OF IMMUNOLOGY, KRAKÓW, POLAND

\*\*\*POLISH ACADEMY OF SCIENCES, CENTRE OF POLYMER  
CHEMISTRY, ZABRZE, POLAND

## Abstract

Three types of bioresorbable foams for bone tissue engineering proposes have been elaborated. The foams have identical surface chemistry and volume fraction of pores but different pore sizes: about 600  $\mu\text{m}$ , 200  $\mu\text{m}$  and 40  $\mu\text{m}$ , respectively. The results of in vitro osteoblasts study (viability and collagen synthesis) indicate that the best is the foam having the biggest size of pores.

Inżynieria tkankowa wymaga opracowania trójwymiarowych porowatych podłoży komórkowych dla hodowli tkanek w warunkach *in vitro*. Podłoża takie należy wytwarzać z materiałów bioresorbowalnych i wysoce biogodnych. Obecnie poliestry alifatyczne takie jak polilaktydy, poliglikolid, poli- $\epsilon$ -kaprolakton i ich kopolimery są najczęściej badane jako potencjalne materiały dla inżynierii tkankowej [1].

Właściwości fizyczno-chemiczne polimerów wykorzystywanych do produkcji podłoży komórkowych muszą być starannie kontrolowane, ponieważ struktura chemiczna, zwilżalność, chropowatość, ładunek powierzchniowy odgrywają kluczową rolę w zachowaniu komórek [2]. Ponadto, regeneracja określonych tkanek zależy od mikrostruktury materiału stanowiącego rusztowanie dla komórek (udział objętościowy i rozmiar porów, porowatość otwarta) [3]. Celem pracy było określenie jak mikrostruktura porowatego podłoża wpływa na zachowanie osteoblastów w warunkach *in vitro* (przeżywalność, produkcja kolagenu). Bioresorbowlane gąbki o różnym rozmiarze porów z kopolimeru glikolidu z L-laktydem, zsyntezowanego w oparciu o związek cyrkonu, otrzymano metodą odlewania z roztworu i wypłukiwania cząsteczek.

## Materiały

### Synteza kopolimeru

Glikolid i L-laktyd (Purac, Holandia) były oczyszczone poprzez rekrytalizację z suchego octanu etylu i suszone w suszarce próżniowej w temperaturze pokojowej;  $Zr(acac)_4$  użyto w postaci handlowej.

Kopolimeryzację prowadzono w masie w 100°C z inicjatorem  $Zr(acac)_4$  w stosunku molowym  $1.2 \times 10^{-3}$  wykorzystując konwencjonalną linię próżniową do odgazowania i zatapania ampul według wcześniej opisanej metody [4]. Otrzymany kopolimer był mielony i płukany w alkoholu metylowym w celu usunięcia nieprzereagowanych monomerów i suszony pod próżnią w 50°C.

### Otrzymywanie gąbek

Gąbki otrzymano metodą odlewania z roztworu / wypłukiwania cząsteczek w oparciu o metodę opisaną uprzednio [5]. Jako porogeny wykorzystano trzy odczynniki o różnej wielkości ziaren: cytrynian sodu, chlorek sodu i glukozę (POCH, Gliwice, Polska). Udział objętościowy porogenów wynosił 85%. Otrzymano trzy gąbki: gąbka 1 (przy użyciu cytrynianu sodu), gąbka 2 (przy użyciu chlorku sodu) i gąbka 3 (przy użyciu glukozy).

## Metody

### Charakterystyka kopolimeru i gąbek

Skład kopolimeru określono za pomocą  $^1H$  i  $^{13}C$  NMR (spektrometr Varian Unity Inowa). Ciężar cząsteczkowy i współczynnik polidispersji określono chromatografią żelową za pomocą chromatografu Physics SP 8800.

Skład chemiczny powierzchni kopolimeru w postaci folii i gąbek badano za pomocą XPS (SSI X-Probe spektrometr, Surface Science Instruments, Mountain View, CA, USA) według sposobu opisanego poprzednio [6]. Kąt zwilżania kopolimeru wyznaczono metodą kropli za pomocą automatycznego systemu DSA 10 (Kruss, Niemcy) jako uśrednienie 10 pomiarów.

Porowatość i nasiąkliwość gąbek wyliczono z masy suchych gąbek i gąbek nasączonych wodą. Próbki zanurzono w wodzie destylowanej na 10 min. Następnie wyjęto je,

## Introduction

Tissue engineering requires three-dimensional (3D) cell scaffolds for *in vitro* tissue construction. Ideally the scaffolds should be fabricated from highly biocompatible and bioresorbable materials. Currently, aliphatic polyesters such as polylactides, polyglycolide, poly- $\epsilon$ -caprolactone and their copolymers are the most widely studied as potential scaffolds [1].

The physicochemical properties of polymers used for scaffolds' preparation must be carefully controlled, because it was shown that chemical structure, wettability, roughness, charge of the surface are key factors in cell behaviour [2]. Moreover, regeneration of specific tissues aided by synthetic materials is strongly dependent on microstructure of the scaffold (pore fraction, pore size, continuity of pores within a synthetic matrix) [3].

The aim of this study was to determine how the microstructure of porous scaffolds influences behaviour of osteoblasts in culture (viability, production of collagen). The scaffolds with different microstructure were produced from poly(L-lactide-co-glycolide), synthesized with zirconium compound, by solvent casting / particulate leaching technique.

## Materials

### Synthesis of copolymer

Glycolide and L-lactide (Purac, Holland) were purified by re-crystallization from dry ethyl acetate and dried in a vacuum oven at room temperature;  $Zr(acac)_4$  was used as received.

Copolymerization was performed in bulk with a  $Zr(acac)_4$  / molar ratio of  $1.2 \times 10^{-3}$  at 100°C by a conventional method using a vacuum line for degassing and sealing of the ampoules according to the method described previously [4]. The obtained copolymer was ground and shaken with methyl alcohol in order to remove unreacted monomers and then dried in vacuum at 50°C.

### Preparation of foams

The foams were produced by solvent casting / particulate leaching technique, according to a method described previously [5]. Three chemicals differing in particle sizes were used as porogens: sodium citrate, sodium chloride and glucose (POCH, Gliwice, Poland). The porogen volume fraction was 85%. Three foams were produced: foam 1 (with the use of sodium citrate), foam 2 (with the use of sodium chloride) and foam 3 (with the use of glucose).

## Methods

### Characterization of copolymer and foams

The copolymer composition was determined by  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR measurements (Varian Unity Inowa spectrometer). The molecular weight and polydispersity index were determined by gel permeation chromatography with the Physics SP 8800 chromatograph.

The surface composition of copolymer and foams were analysed by X-ray photoelectron spectroscopy (SSI X-Probe spectrometer from Surface Science Instruments, Mountain View, CA, USA) according to a method described previously [6]. The contact angle of copolymer was measured by sessile drop method by an automatic system DSA 10 from Kruss, Germany. The result was obtained by averaging of 10 measurements.

The porosity and water uptake of foams were calculated from the weight of dry samples and samples soaked with



wytarto mokrą tkaniną w celu usunięcia wody z obu powierzchni i zważono ( $m_{wet}$ ). Następnie próbki wysuszono w suszarce próżniowej przez 24h i ponownie zważono ( $m_{dry}$ ). Nasiąkliwość wyliczono z następującego wzoru:

$$\text{nasiąkliwość (\%)} = 100 (m_{wet} - m_{dry}) / m_{dry}$$

Mikrostrukturę gąbek badano za pomocą mikroskopu skaningowego JSM 5400 JEOL przy powiększeniu 50 razy. Przed analizą próbki napyłono ciekłą warstwą węgla w celu nadania im właściwości przewodzących.

### Charakterystyka porogenów

Rozmiar ziaren porogenów wyznaczono za pomocą mikroskopu optycznego wyposażonego w okular z podziałką mikrometryczną. Wykonano pomiary 200 pojedynczych ziaren każdego porogenu.

### Badania komórkowe in vitro

Gąbki o wymiarach 20 mm średnicy i grubość 2 mm, wyjalowiono z obu stron za pomocą promieniowania UV przez 30 min. Do badań użyto ludzką linię osteoblastów hFOB 1,19. Hodowle prowadzono w inkubatorze w atmosferze 5% CO<sub>2</sub> / 95% powietrza, w 34°C przez 7 dni. Kontrolę stanowił polistyren do celów hodowli komórkowych (TCPS). Przeżywalność komórek oznaczano rutynowo za pomocą barwnika (błękitu trypanowego). Produkcję kolagenu oznaczano metodą ELISA.

## Wyniki i dyskusja

Analiza NMR wykazała, że stosunek molowy glikolidu do L-laktidu w kopolimerze PGLA wynosił 18:82. Badania chromatografii żelowej wykazały, że liczbowo średnia masa cząsteczkowa ( $M_n$ ) kopolimeru wynosiła 34000D, a współ-

	C <sub>tot</sub> , mole%	O <sub>tot</sub> , mole%
Foam 1 / Gąbka 1	60	40
Foam 2 / Gąbka 2	59	41
Foil / Folia	58	42
PGLA 18:82 (theory)	58	42

TABELA 1. Analiza chemiczna powierzchni za pomocą XPS kopolimeru w postaci gąbek i folii z w porównaniu z wartościami teoretycznymi.  
TABLE 1. XPS Surface composition copolymer in the form of foams, foil in comparison with calculated theoretical values.

	Diameter of particles / Rozmiar cząsteczek	Porosity / Porowatość	Water uptake / Nasiąkliwość
	[ $\mu$ m]	[%]	[%]
Foam 1 / Gąbka 1	600 (+/- 100)	88 (+/- 2)	630 (+/- 50)
Foam 2 / Gąbka 2	200 (+/- 40)	88.3 (+/- 2)	580 (+/- 20)
Foam 3 / Gąbka 3	40 (+/- 10)	87.7 (+/- 1.5)	550 (+/- 30)

TABELA 2. Właściwości porogenów i gąbek, w nawiasach przedział ufności,  $\alpha = 0.95$ .  
TABLE 2. Properties of porogens and foams; confidence interval in brackets,  $\alpha = 0.95$ .

water. The samples were immersed in distilled water for 10 minutes. After both surfaces of the foams were wiped with a wet tissue to remove water from the surfaces and foams were weighed ( $m_{wet}$ ). Finally, the samples were dried in vacuum oven at 35°C for 24h and weighed once again ( $m_{dry}$ ). Water uptake was calculated using the formula:

$$\text{water uptake (\%)} = 100 (m_{wet} - m_{dry}) / m_{dry}$$

The microstructure of foams was studied by JSM 5400 scanning microscope from JEOL, Japan at magnification of 50 times. Before analysis the samples were coated by a thin carbon layer in order to make them conductive.

### Characterization of porogens

The size of porogens' particles was measured by optical microscope equipped with a micrometric eyepiece. The measurements of 200 individual particles for each porogen were done.

### In vitro cell studies

Both sites of the scaffolds in a form of circles, 20 mm in diameter and 2 mm in height, were sterilised by Ultraviolet light for 30 min at each site. Human osteoblast line hFOB 1,19 was used. The cells were seeded at a density of 20 000 cells/cm<sup>2</sup> in 2 ml culture medium. The cell culture was kept in an incubator with a mixture of 5% CO<sub>2</sub> / 95% air, at 34°C for 7 days. TCPS was used as a control. Viability of cells was routinely monitored by cellular exclusion of trypan blue. The production of collagen was measured by ELISA.

## Results and discussion

A molar ratio of glycolide to L-lactide in copolymer poly(glycolide-co-L-lactide-) (PGLA) was 18:82, as shown by NMR. GPC measurements showed that number-average molecular weight ( $M_n$ ) of copolymer was 34000D and a polydispersity index,  $d = 2.5$ . The studies of degradation process of this copolymer are the objective of other paper [7].

The XPS results, presented in TABLE 1, demonstrate that the surface composition of copolymer in the forms of foil and foams are almost the same and they are very close to theoretical values. Moreover, any other elements than C and O were detected on the surface of foams obtained with the use of sodium chloride and sodium citrate, suggesting that all salt was leached out.

Properties of porogens and PGLA foams obtained with the use of porogens are gathered in TABLE 2. The size of sodium citrate particles was 600 nm ( $\pm 100 \mu$ m), sodium chloride 200  $\mu$ m ( $\pm 40 \mu$ m) and glucose 40  $\mu$ m ( $\pm 10 \mu$ m). Porosity of the PGLA foams was about 88% and did not vary depending on the porogens used. The porosity values were slightly higher than the value assumed in the stage of foams designing,  $V_p = 85\%$ . The foams had also a high water uptake of about 600%, despite the fact that the copolymer was quite hydrophobic. The contact angle of copolymer foil was  $87 \pm 2^\circ$  as measured by sessile drop. The high porosity and water uptake of spongy scaffolds are desirable for cell attachment and growth, easy diffusion of nutrients and waste products from the implant and for the vascularization processes [1, 3].

The SEM analysis of PGLA foams shows interconnected pores of sizes varying depending on the porogens used in production process. FIGURES 1 a, b, c demonstrate representative microstructures of foams. The sizes of pores in foams are close to the sizes of porogen particles.

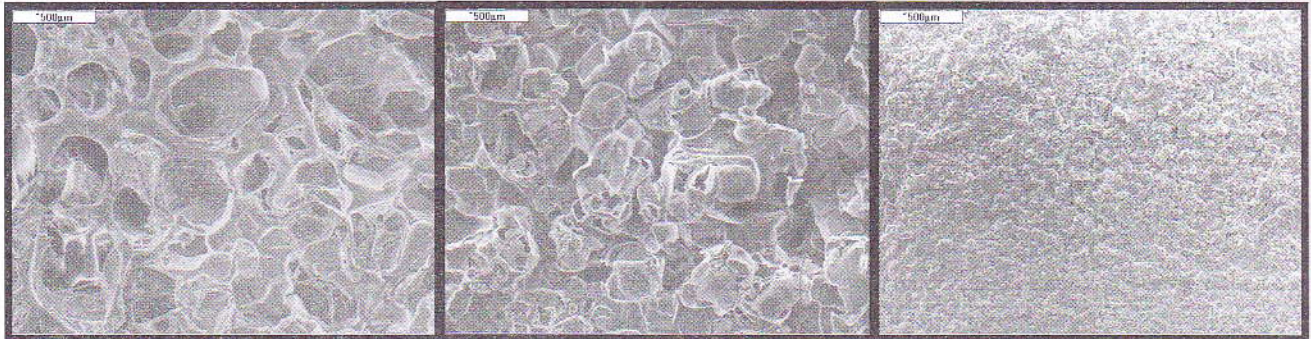
Thus, it can be concluded that the foams produced in this experiment have very similar surface chemistry and porosity but different size of pores.

czynnik polidispersji,  $d = 2.5$ . Badania nad procesem degradacji tego polimeru są przedmiotem innego naszego artykułu [7].

Wyniki XPS przedstawione w TABELI 1 pokazują, że składy chemiczne powierzchni kopolimeru w postaci folii i gąbek są niemalże takie same i bardzo zbliżone do wartości teoretycznych. Ponadto nie stwierdzono obecności innych pierwiastków niż węgiel i tlen na powierzchni gąbek otrzymanych z użyciem cytrynianu i chlorku sodu, co świadczy, że porogeny zostały w całości wypłukane z gąbek.

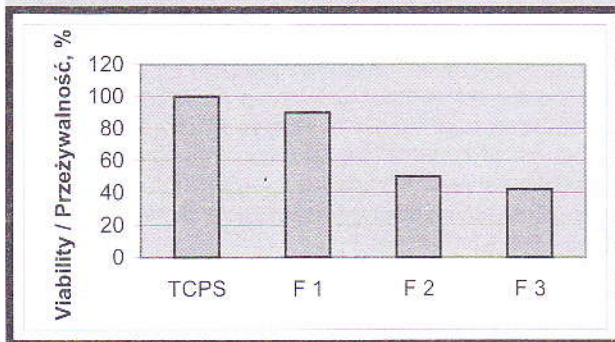
W TABELI 2 przedstawiono właściwości porogenów i gąbek otrzymanych za ich pomocą. Rozmiar ziaren cytrynianu sodu wynosił  $600 \mu\text{m}$  ( $\pm 100 \mu\text{m}$ ), chlorku sodu  $200 \mu\text{m}$  ( $\pm 40 \mu\text{m}$ ) i glukozy  $40 \mu\text{m}$  ( $\pm 10 \mu\text{m}$ ). Porowatość otrzymanych gąbek wynosiła natomiast około 88% i praktycznie nie zależała od rodzaju użytego porogenu. Uzyskana porowatość była nieco wyższa od założonej na etapie projektowania gąbek,  $V_p = 85\%$ . Gąbki charakteryzowały się ponadto wysoką nasiąkliwością, około 600%, pomimo że kopolimer ma właściwości hydrofobowe. Badania metodą kropli wy-

FIGURE 2 presents viability of osteoblasts seeded on the foams in comparison with TCPS, while FIGURE 3 presents synthesis of collagen by osteoblasts. It is apparent, that the highest viability and the highest synthesis of collagen by osteoblasts, comparable with the control, were measured for foam 1, with the highest pore size, about  $600 \mu\text{m}$ . On the contrary, the lowest viability and synthesis of collagen was observed for the foam 3 with the pores of about  $40 \mu\text{m}$ . The foam 2, with the pores of about  $200 \mu\text{m}$ , shows the intermediate values of viability and synthesis of collagen. These results can be compared with the investigations of the effect of implant microstructure on bone regeneration [8]. It was shown, that the optimum pore size for bone regeneration was in the range of  $100\text{-}350 \mu\text{m}$ . Our studies show however, that larger pores are more suitable for osteoblasts in vitro.

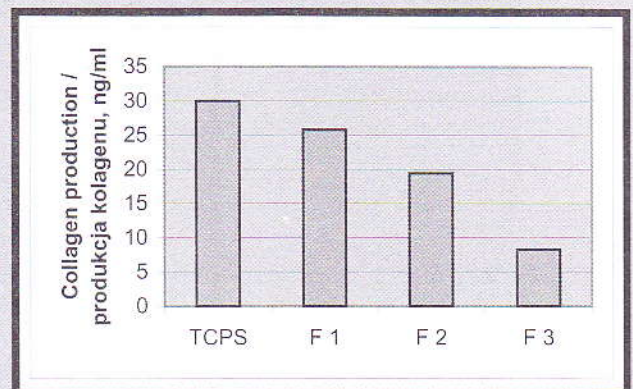


RYS. 1. Obrazy SEM gąbki 1(a), gąbki 2(b), gąbki 3 (c), powiększenie 50x.

FIG. 1. SEM micrographs of foam 1 (a), foam 2 (b) and foam 3 (c), magnification 50x.



RYS. 2. Przeżywalność osteoblastów na gąbce 1 (F1), gąbce 2(F2), gąbce 3 (F3) i polistyrenie dla kultur komórkowych (TCPS) po 7 dniach hodowli  
FIG. 2. Viability of osteoblasts seeded on foam 1 (F1), foam 2 (F2), foam 3 (F3) and tissue-cultured polystyrene (TCPS) after 7 days of culture.



RYS. 3. Ilość kolagenu wyprodukowanego przez osteoblasty na gąbce 1 (F1), gąbce 2(F2), gąbce 3 (F3) i polistyrenie dla kultur komórkowych (TCPS) po 7 dniach hodowli.

FIG. 3. Values of collagen production by osteoblasts seeded on foam 1 (F1), foam 2 (F2), foam 3 (F3) and tissue-cultured polystyrene (TCPS) after 7 days of culture.

kazały, że kąt zwilżania folii kopolimerowej wynosił  $87^{\circ} \pm 2^{\circ}$ . Wysoka porowatość i nasiąkliwość materiałów podłożowych są niezbędne w celu uzyskania odpowiedniej adhezji i wzrostu komórek, łatwej dyfuzji składników odżywczych i produktów przemiany materii a także procesów unaczynienia implantu [1, 3].

Analiza gąbek za pomocą mikroskopu skaningowego wykazała, że rozmiar zależy od rodzaju porogenów wykorzystanych do produkcji gąbek. Reprezentacyjne mikrostruktury gąbek przedstawiono na RYSUNKU 1 a, b, c. Rozmiar

porów jest zbliżony do średniego rozmiaru cząsteczek porogenów.

Tak więc można stwierdzić, że otrzymane gąbki mają taką samą budowę chemiczną powierzchni i udział objętościowy porów; różnią się natomiast rozmiarem porów.

RYSUNKI 2 i 3 przedstawiają odpowiednio przeżywalność osteoblastów i produkcję kolagenu przez osteoblasty w obecności badanych gąbek w porównaniu z TCPS. Z badań wynika, że najlepszą przeżywalność i najwyższą produkcję kolagenu, porównywalną z kontrolą, uzyskano w przypadku gąbki 1 o największym rozmiarze porów, około 600  $\mu\text{m}$ . Najniższą przeżywalność i produkcję kolagenu otrzymano w przypadku gąbki 3 o porach o rozmiarze około 40  $\mu\text{m}$ . Gąbka 2 o porach około 200  $\mu\text{m}$  wykazywała pośrednie wartości przeżywalności i produkcji kolagenu przez osteoblasty. Wyniki te mogą być porównane z danymi literaturowymi dotyczącymi wpływu mikrostruktury na odbudowę kości [8], w których stwierdzono, że optymalny rozmiar porów dla regeneracji tkanki kostnej mieści się w zakresie 100-350  $\mu\text{m}$ . Badania nasze pokazują jednak, że gąbki polimerowe o większych porach są bardziej odpowiednie dla hodowli osteoblastów in vitro.

## Podziękowania

Autorzy dziękują Panu Prof. P.G. Rouxhet za użycie XPS i Pani Mgr B. Trybalskiej za badania SEM. Badania były finansowane z projektu KBN 'Nowe materiały i technologie dla inżynierii biomedycznej (Nr PBZ-KBN-082/T08/2002).

## WPŁYW FOTOCHEMICZNEJ MODYFIKACJI POWIERZCHNI POLISULFONU NA REAKCJE KOMÓRKOWE IN VITRO

BARBARA CZAJKOWSKA\*, JOANNA KOWAL\*\*, MARTA BŁĄŻEWICZ\*\*\*, MARIA PTAK\*, MAŁGORZATA BOBEK\*

\*KATEDRA IMMUNOLOGII COL.MED.U.J.

\*\*WYDZIAŁ CHEMII U.J.

\*\*\*WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIALOWEJ I CERAMIKI AGH

Polisulfon (PSU) jest amorficznym polimerem termoplastycznym charakteryzującym się wysokimi temperaturami przemian fazowych i dużą energią wiązań między atomami w łańcuchach, co nadaje mu doskonałe własności użytkowe w szerokim zakresie temperatur. W medycynie znajduje zastosowanie zarówno do produkcji sprzętu (butelki, błony dializacyjne części aparatów oddechowych) jak i in vivo w postaci różnego rodzaju implantów. Powszechnie uznany jest za materiał biozgodny, łatwy do sterylizacji a także przydatny do wytwarzania materiałów kompozytowych np. z włóknami węglowymi. Powierzchnia nie modyfikowanego polisulfonu ma charakter hydrofobowy wynikający z jego budowy chemicznej. Powierzchnie takie mają zdolność silnego i nieodwrotnego wiązania różnego rodzaju białek. Z drugiej strony komórki w kontakcie z takimi materiałami

## Acknowledgements

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

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Hutmacher D.W., *Biomaterials* 21, 2000, 2529-2543.
- [2] Ponsonnet L., Reybier K., Jaffrezic N., Comte V., Lagneau C., Lissac M., Martelet C., *Materials Science and Engineering C* 23, 2003, 551-560.
- [3] Yang S., Leong K.-F., Du Z., and Chua C.-K., *Tissue Engineering* 7, 2001, 679-689.
- [4] Dobrzyński P., Kasperczak J., Janeczek H., Bero M., *Macrololecules*, 2001, 5090-5098.
- [5] Pamuła E., Simon S., Dobrzyński P., *Engineering of Biomaterials (Inżynieria Biomateriałów)*, 2003, submitted.
- [6] Pamuła E., Rouxhet P.G. *Carbon* 41, 2003, 1905-1915.
- [7] Pamuła E., Błażewicz M., Czajkowska B., Dobrzyński P., Bero M., Kasperczyk J., *E-MRS - Proceedings, Warsaw Fall Meeting*, 2003.
- [8] Whang K., Healy E., Elenz D.R., *Tissue Engineering* 5, 1999, 35-45.

## EFFECT OF PHOTOCHEMICAL MODIFICATION OF POLYSULFONE SURFACE ON CELLULAR REACTIONS IN VITRO

BARBARA CZAJKOWSKA\*, JOANNA KOWAL\*\*, MARTA BŁĄŻEWICZ\*\*\*, MARIA PTAK\*, MAŁGORZATA BOBEK\*

\*CHAIR OF IMMUNOLOGY, COLL. MED., JAGIELLONIAN UNIVERSITY,

\*\*FACULTY OF CHEMISTRY, J. U.,

\*\*\*FACULTY OF MATERIAL ENGINEERING AND CERAMICS, AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

Polysulfone (PSU) is an amorphous thermoplastic polymer, of high phase transition temperatures and high energy of bonding between the atoms in a chain, which makes it perfectly applicable in a wide range of temperatures. In the field of medicine it is used in both manufacture of equipment (bottles, dialysis films of respirator elements) and in vivo as implants of various types. It is commonly recognised as a biocompatible material, easy to sterilise, also useful in the production of composite materials with, for instance, carbon fibres. Due to its chemical composition the surface of non-modified polysulfone is hydrophobic. Such surfaces are capable of strong and irreversible bonding of various kinds of proteins. However, in contact with such materials cells have low adhesive capacity, which may un-

wykazują niską zdolność adhezji co może być niekorzystne dla zaadoptowania się implantu z hydrofobową powierzchnią w żywym organizmie. W warunkach in vivo problem wzajemnych oddziaływań komplikuje się, ponieważ zastosowany materiał najczęściej najpierw kontaktuje się z endogennymi białkami znajdującymi się w różnych płynach ustrojowych a dopiero potem z komórkami. W efekcie oddziaływanie między materiałem a komórkami zachodzi poprzez białka zaadsorbowane na powierzchni materiału. Proces taki wymaga pewnego czasu, podczas którego komórki rozpoznają samą powierzchnię materiału a białka ustrojowe współzawodniczą o powierzchnię do zaadsorbowania. W naszej pracy badaliśmy jak reagują in vitro wybrane rodzaje komórek na subtelne zmiany charakteru powierzchni polisulfonu, związane z pojawianiem się grup karboksylowych i fenolowych powstałych na skutek naświetlania promieniowaniem U.V

Prowadziliśmy hodowle 7 i 14 dniowe, zakładając że w pierwszych dniach komórki kontaktują się z materiałem a potem ustala się stan równowagi pomiędzy zaadsorbowanymi białkami i komórkami. Oddziaływanie komórek z powierzchnią polisulfonu (PSU) i polisulfonu naświetlanego (PSUN) oceniano na podstawie żywotności makrofagów, fibroblastów i osteoblastów. Stopień aktywacji komórek oceniano poprzez oznaczenie ilości wydzielanego przez fibroblasty i osteoblasty kolagenu I, IL-6 przez fibroblasty i osteokalcyny przez osteoblasty.

## Materiał i metody

Folie polisulfonowe uzyskiwano przez rozpuszczenie 0,2g PSU (Aldrich Chemical Comp. Inc.) w 10cm<sup>3</sup> dichlormetanu, wylanie na płytkę szklaną o wymiarach 10x10cm i następnie wysuszenie. Z wysuszonej folii wycinano krążki o średnicy 20 mm.

Naświetlanie folii - krążki z folii PSU naświetlano promieniowaniem o długości  $\lambda=254$  nm lampą rtęciową średniociśnieniową ASH-400 przez kolejne okresy 3h, 5h, 10h.

Jałowienie materiałów - krążki folii PSU jałowiono pod lampą U.V po 3min z każdej strony. Stosowano lampę o następujących parametrach:

$\lambda=254$  nm moc 1,896 mW/cm<sup>2</sup>

$\lambda=312$  nm moc 0,065 mW/cm<sup>2</sup>

$\lambda=365$  nm moc 0,019 mW/cm<sup>2</sup>

Komórki

ludzka linia osteoblastyczna hFOB 1.19

ludzka linia fibroblastyczna HS-5

ludzka linia makrofagowa KMA

Hodowle komórkowe - prowadzono w 12 - dołkowych płytkach hodowlanych, w których na dnie umieszczano badane folie i dodawano zawiesinę komórek w odpowiednim medium hodowlanym. Hodowle prowadzono w inkubatorze w atmosferze 5%CO<sub>2</sub>/95% powietrza w temperaturze 37°C (makrofagi i fibroblasty) lub 34°C (osteoblasty) przez 7 i 14 dni.

Żywotność komórek - oznaczano zaadoptowaną do potrzeb oznaczania metodą wykorzystującą metabolizm barwika MTT w mitochondriach żywych komórek. Oznaczenia wykonywano po 7 i 14 dniach hodowli.

Oznaczenie stężenia kolagenu typ I, IL-6 i osteokalcyny - wykonano przy użyciu testów ELISA

## Wyniki i dyskusja

Wyniki oznaczenia żywotności makrofagów fibroblastów i osteoblastów na foliach PSU przedstawiono na RYSUNKACH 1,2, i 3.

*favourably affect implant adaptation to the hydrophobic surface in a living organism. In vivo the problem of the interaction gets complicated because the material applied first gets in contact with endogenous proteins present in different body fluids, next with the cells. Consequently the interaction between the material and the cells takes place via the proteins adsorbed on the material surface. Such process requires certain time in which the cells recognise the material surface itself, and the organism's proteins compete for the surface to be adsorbed. In our research we tested how certain types of cells react in vitro to subtle changes of polysulfone surface, changes caused by the occurrence of carboxyl and phenol groups formed due to UV irradiation. We have run seven and fourteen-day cultures, assuming that in the first days the cells contact the materials first and next an equilibrium state between the adsorbed proteins and cells settles. The effect of the cells with polysulfone (PSU) and irradiated polysulfone (PSUN) surfaces was evaluated on the basis of the vitality of macrophages, fibroblasts and osteoblasts. The level of cells activation was estimated by the determination of the amount of collagen type I secreted by fibroblasts and osteoblasts, IL-6 by fibroblasts and osteocalcine by osteoblasts.*

## Material and methods

Polysulfone foils were obtained by the dissolution of 0.2g PSU (Aldrich Chemical Comp. Inc.) in 10 cm<sup>3</sup> of dichloromethane, pouring it on a glass plate 10x10 cm in size followed by drying. From the dried foil discs 20 mm in diameter were cut out.

Foil irradiation - the PSU foil discs were exposed to radiation of  $\lambda = 254$  nm length by a mean pressure mercury discharge lamp ASH-400 over the subsequent periods of 3 h, 5 h and 10 h.

Material sterilisation - the PSU foil discs were sterilised under a UV lamp 3 min each side. The parameters of the lamp were:

$\lambda=254$  nm power 1,896 mW/cm<sup>2</sup>

$\lambda=312$  nm power 0,065 mW/cm<sup>2</sup>

$\lambda=365$  nm power 0,019 mW/cm<sup>2</sup>

Cells

human osteoblastic line hFOB 1.19

human fibroblastic line HS-5

human macrophagous line KMA

Cell cultures - were run in 12-well plates at the bottom of which the tested foils were placed and the suspension of cells in an adequate culture medium was added. The cultures were run in an incubator in the atmosphere of 5%CO<sub>2</sub>/95% air at the temperature of 37°C (macrophages and fibroblasts) or 34°C (osteoblasts) over seven and fourteen days.

Cell viability - was determined by a method, adapted for the present research, in which the metabolism of a dye MTT in living cells mitochondria is used. The determination was done after seven and fourteen days of culture.

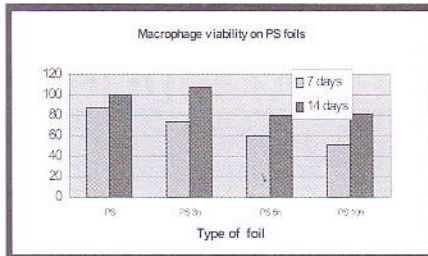
Determination of concentration of collagen I, IL-6 and osteocalcine - was performed by means of ELISA tests.

## Results and discussion

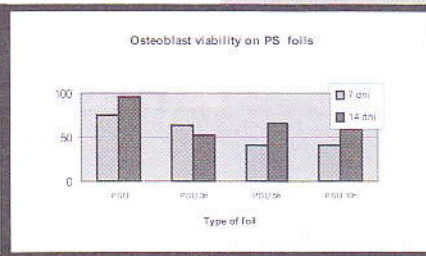
The results of determination of macrophage, fibroblast and osteoblast viability on PSU foils have been presented in FIGURES 1, 2 and 3.

Po 7 dniach hodowli żywotność wszystkich rodzajów badanych komórek maleje wraz ze wzrostem czasu naświetlania folii. Po 14 dniach hodowli żywotność wszystkich komórek jest wyższa niż po 7 dniach, nie stwierdza się też wyraźnych różnic w żywotności komórek w zależności od

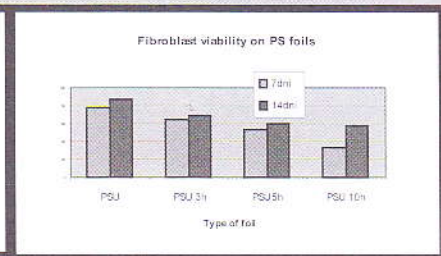
After seven-day culture the viability of all the types of tested cells decreases with the increase of foil irradiation time. After fourteen-day culture the viability of all the cells is higher than after seven days and no significant differences in cell viability dependent on PSU foil exposure are found.



RYS. 1.  
FIG. 1.



RYS. 2.  
FIG. 2.



RYS. 3.  
FIG. 3.

czasu naświetlania folii PSU. Wynik ten wskazuje na to, że modyfikacja powierzchni PSU związana z tworzeniem grup karboksylowych i fenolowych nie sprzyja żywotności makrofagów, fibroblastów i osteoblastów. Trudno na tym etapie badań stwierdzić czy związane jest to z bezpośrednim oddziaływaniem komórek z powierzchnią PSU czy też z faktem obniżonej adsorpcji białek na powierzchniach naświetlonych czyli hydrofilowych. Zwiększona żywotności po 14 dniach nie wnosi już informacji na temat bezpośredniego oddziaływania komórek z badanym materiałem, ponieważ po tym czasie folie pokryte są warstwą zaadsorbowanych białek i zadherowanych komórek maskujących powierzchnię materiału. Należy jednak pamiętać że w warunkach in vivo takie sytuacje mogą polepszać biogodność stosowanych materiałów.

Fibroblasty i osteoblasty mają zdolność wytwarzania kolagenu typ I i wydzielania go do środowiska hodowlanego. Oznaczano stężenie kolagenu w supernatantach z siedmiodniowych hodowli na foliach PSU i foliach naświetlanych 5h promieniowaniem U.V. (PSUN) Wyniki (RYS.4) przedstawiono jako % ilości kolagenu wyprodukowanego przez komórki hodowane na PSU i PSUN w odniesieniu do komórek kontrolnych.

W TABELI 1 i 2 przedstawiono wyniki produkcji kolagenu w porównaniu z żywotnością produkujących go komórek.

Material	Żywotność	Kolagen
Material	Vitality	Collagen
	[%]	[%]
PSU	76	90
PSUN	63	57

TABELA 2. Zależność między żywotnością osteoblastów a wyprodukowanym kolagenem po 7 dniach hodowli na PSU i PSUN.

TABLE 2. Dependence between osteoblast vitality and collagen production after seven-day PSU and PSUN culture.

Jak widać, nie naświetlane folie PSU wzmagają syntezę kolagenu typ I w fibroblastach i osteoblastach, natomiast folie naświetlane tracą tę zdolność i żywe komórki produkują kolagen w takiej samej ilości jak komórki kontrolne. Podobne wyniki uzyskano dla IL-6. (RYS.5.i TABELA 3)

Osteocalcyna jest markerem osteoblastów o wysokiej swoistości. Chociaż jest najistotniejszym białkiem niekolagenowym w macierzy kości jej funkcjonalna rola nie jest w

This result points to the fact that PSU surface modification due to carboxyl and phenol groups formation is not conducive to the viability of macrophages, fibroblasts and osteoblasts. At this stage of research it is difficult to state whether it is connected with the direct interaction of cells and PSU surface or with the reduced adsorption of proteins on the exposed or hydrophilic surfaces. The increased viability after fourteen days does not give information on the direct interaction of the cells and the tested material because after this period of time the foils are covered with a layer of adsorbed proteins and adherent cells masking the material surface. However, it should be remembered that in vivo such conditions may improve the biocompatibility of the materials used.

Fibroblasts and osteoblasts have the capacity to produce collagen I and secrete it to the culture environment. Collagen concentration was determined in the supernatant liquids from above the seven-day cultures on PSU foils and foils exposed to 5 h UV radiation (PSUN). The results (Fig. 4) have been presented as percentage of collagen produced by PSU and PSUN culture cells referred to reference cells.

TABLES 1 and 2 present the results of collagen production compared with the vitality of cells producing it.

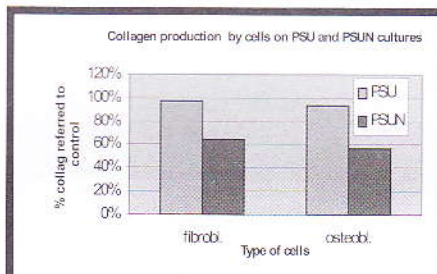
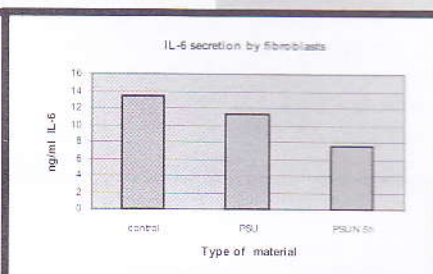
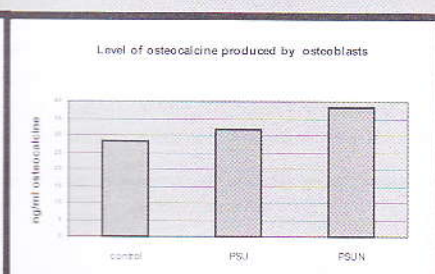
Material	Żywotność	Kolagen
Material	Vitality	Collagen
	[%]	[%]
PSU	78	97
PSUN	65	65

TABELA 1. Zależność między żywotnością fibroblastów a wyprodukowanym kolagenem po 7 dniach hodowli na PSU i PSUN.

TABLE 1. Dependence between fibroblast vitality and collagen production after seven-day PSU and PSUN culture.

As can be seen, the non-exposed PSU foils increase the synthesis of collagen type I in fibroblasts and osteoblasts, while the exposed foils lose this capacity and the living cells produce the same amount of collagen as the control cells. Similar results have been obtained for IL-6 (FIG. 5 and TABLE 3).

Osteocalcine is a marker of osteoblasts of high specificity. Although it is the essential non-collagen protein in bone matrix, its functional role is not quite clear. Besides its contribution in osteogenesis, it has also been proved to partici-

RYS. 4.  
FIG. 4.RYS. 5.  
FIG. 5.RYS. 6.  
FIG. 6.

pełni jasna. Oprócz udziału w kościotworzeniu istnieją dowody na jej rolę w resorpcji kości, polegającą na chemotaktycznym działaniu na prekursorzy osteoklastów. Stosowane w naszych badaniach osteoblasty (hFOB1,19...) wytwarzają różne ilości osteokalcyny w zależności od materiału na którym są hodowane. (RYS.6)

Biorąc pod uwagę że żywotność osteoblastów na PSU wynosi 76% a na PSUN 42%, uzyskane wyniki wskazują na wzmoczoną syntezę osteokalcyny pod wpływem folii PSU a szczególnie folii PSUN. Wynik ten jest trudny do zinterpretowania, ponieważ w prowadzonych badaniach brak jest naturalnego odbiorcy osteokalcyny jakim jest w warunkach in vivo, hydroksyapatyt, wskazuje jednak że osteoblasty odmiennie reagują na naświetloną i nie naświetloną powierzchnię polisulfonu.

Przeprowadzone badania wykazały, że komórki linii makrofagowej, fibroblastycznej i osteoblastycznej rozróżniają hydrofobową i hydrofilową powierzchnię polisulfonu.

Na powierzchni hydrofobowej żywotność komórek jest wyższa, powierzchnia ta również indukuje wzmoczoną produkcję kolagenu. Naświetlana, hydrofilowa powierzchnia obniża żywotność komórek, nie wpływa na syntezę kolagenu i indukuje wzmoczoną syntezę osteokalcyny. Fotochemiczna modyfikacja powierzchni polisulfonu zmienia charakter powierzchni z hydrofobowej na hydrofilową i powoduje istotne zmiany w zachowaniu komórek, co można wykorzystać przy projektowaniu materiałów do różnych zastosowań.

Material	Żywotność Vitality I [%]	IL-6 P[%]
PSU	78	84
PSUN	54	55

TABELA 3. Zależność między żywotnością fibroblastów a produkcją IL-6.

TABLE 3. Dependence between fibroblast vitality and IL-6 production.

pate in bone resorption by chemotactic effect on osteoclast precursors. The osteoblasts used in our tests (hFOB1, 19) produce different quantities of osteocalcine depending on the culture material (FIG.6).

Considering the fact that the osteoblast viability on PSU is 76% and on PSUN 42%, the obtained results point to the intensified synthesis of osteocalcine due to PSU foil effect, and PSUN foil in particular. The result is difficult to interpret because in the presented research there is no natural receiver of osteocalcine, which in vivo is hydroxyapatite. However, it shows that osteoblasts react differently to the exposed and non-exposed surface of polysulfone.

The tests have proved that the cells of macrophagous, fibroblastic and osteoblastic lines differentiate the hydrophobic and hydrophilic surfaces of polysulfone. Cell viability is higher on the hydrophobic surface, which also induces intensified production of collagen. An exposed hydrophilic surface decreases cell viability, does not affect collagen synthesis and induces intensified synthesis of osteocalcine. Photochemical modification of polysulfone surface changes the surface from hydrophobic into hydrophilic and causes significant changes in cell behaviour, which can be used in material design for a wide range of applications.

# BIOZGODNE CIENKIE WARSTWY TIN WYTWARZANE NA TYTANIE METALICZNYM I POLIURETANIE METODĄ OSADZANIA LASEREM IMPULSOWYM

ROMAN MAJOR\*, ROMAN KUSTOSZ\*\*, BOGUSŁAW MAJOR\*

\*INSTYTUT METALURGII I INŻYNIERII MATERIALOWEJ  
POLSKIEJ AKADEMII NAUK W KRAKOWIE

\*\*FUNDACJA ROZWOJU KARDIOCHIRURGII ;  
INSTYTUT PROTEZ SERCA W ZABRZU

**Słowa kluczowe:** osadzanie laserem impulsowym, azotek tytanu, biozgodność

Pomyślne użycie tytanu i jego stopów w medycynie wynika z ich obiecujących efektów w leczeniu urazów, ze względu na biozgodność i odporność na korozję. Azotek tytanu (TiN) jest traktowany jako potencjalny biomateriał do elementów bezpośrednio kontaktujących się z krwią.

Cienkie warstwy azotku tytanu wytworzono metodą osadzania laserem impulsowym (PLD) przy zastosowaniu lasera Nd:YAG. Dwa rodzaje biomateriałów zostały użyte jako podkłady: metaliczny tytan i poliuretan. Stwierdzono formowanie się jednorodnej, gładkiej powierzchni osadzonej warstwy na obydwu podłożach. Badania przekroju poprzecznego metodą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) wykazały formowanie warstwy dyfuzyjnej z ciągłym przejściem z osadzonej warstwy do podłoża. Badania transmisyjnym mikroskopem elektronowym (TEM), wykonane na cienkich foliach przygotowanych z przekroju poprzecznego próbek metalicznego tytanu pokrytego warstwą azotku tytanu (TiN), potwierdziły dyfuzyjny charakter osadzonej warstwy, która posiadała drobnoziarnistą strukturę. Badanie tekstury prowadzono dla osadzonej warstwy TiN, jak również dla podłoża tytanowego. Zastosowanie detektora pozycyjnosczonego w badaniach tekstury, pozwoliło na wykreślenie figur biegunowych rozkładu naprężeń własnych. Metoda  $\sin^2\psi$  zastosowana przy użyciu dyfrakcji promieni rentgenowskich umożliwiła określenie wartości naprężeń w warstwie na poziomie -8 do -10 GPa dla warstw naniesionych na metalicznym tytanie i -4 do -5 GPa dla podłoża poliuretanowego. Morfologia powierzchni osadzonej warstwy była badana przy użyciu mikroskopu sił atomowych (AFM). Wyniki ujawniły wpływ parametrów osadzania, jak również grubości warstwy, na wielkość krystalitów i średnicę pionową. Badanie transmisyjnym mikroskopem elektronowym, przeprowadzone na cienkich foliach z przekroju poprzecznego warstw TiN osadzonych na metalicznym tytanie, wykazało rozmycie pomiędzy warstwą a podłożem (RYS.1). Pierścieniowy charakter dyfrakcji elektronowej dowodził wytworzenia nanostruktury w osadzonej warstwie TiN.

# BIOCOMPATIBLE THIN LAYERS OF TIN FABRICATED ON METALLIC TITANIUM AND POLYURETHANE BY PULSED LASER DEPOSITION

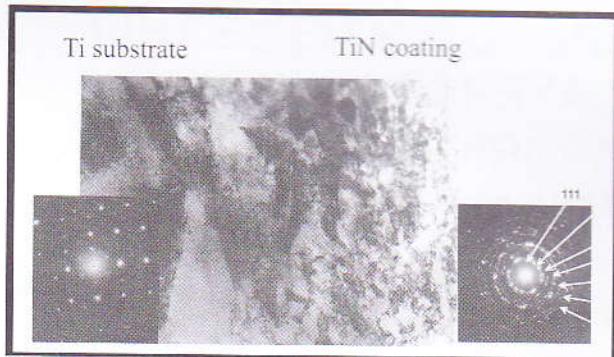
ROMAN MAJOR\*, ROMAN KUSTOSZ\*\*, BOGUSŁAW MAJOR\*

\*INSTITUTE OF METALLURGY AND MATERIALS SCIENCES, POLISH  
ACADEMY OF SCIENCES

\*\*FOUNDATION CARDIAL SURGARY DEVELOPMENT; INSTITUTE OF  
HEART PROSTHESES, ZABRZE

**Keywords:** pulsed laser deposition, titanium nitride, biocompatibility

Successful use of titanium and its alloys in medicine arises from its promising effects in trauma treatments due to biocompatibility and corrosion resistance. Titanium nitride (TiN) is regarded as a potential biomaterial for blood-contact applications. Titanium nitride thin layers were fabricated by pulsed laser deposition (PLD) using a Nd:YAG laser on two types of biomaterials like: metallic titanium and polyurethane. Formation of the uniform smooth surface was stated in both cases. Application of scanning electron microscopy (SEM) for examination of the cross-section of the materials revealed the form of diffusion layers with continuous transfer from the deposited film to the substrate. Transmission electron microscopy (TEM) examinations performed on the thin foils prepared from the cross-section of the metallic titanium covered with the TiN confirmed the diffusion character of the deposited layer, moreover presenting a fine grained microstructure of the deposited TiN phase. Texture examinations were carried out for the deposited TiN as well as for the titanium substrate. Application of the pseudo-position sensitive detector in texture examination allow to draw the pole figures of residual stresses, while using the X-ray diffraction method for residual stress measurement ( $\sin^2\psi$ ) made possible to measure their values which were for the TiN phase in the range -8 to -10 GPa for films fabricated on the metallic titanium substrate and of order of -4 to -5 GPa for the polyurethane substrate. Morphology of the surface of the deposited layers was examined by application of atomic force microscopy (AFM). The results revealed contribution of the deposition parameters as well as the thickness of the layer to the crystallite sizes and vertical diameter. TEM analysis performed on the thin foil prepared from the cross-section of the TiN layers deposited on metallic titanium substrate showed that the boundary between the layer and the substrate was diffusive (FIG. 1). Ring shape of the electron diffraction pattern proved nanostructure in the deposited TiN layer.



**RYS. 1.** Zdjęcie z mikroskopu transmisyjnego warstwy TiN osadzonej na metalicznym tytanie.  
**FIG. 1.** TEM micrograph of the cross-section of the TiN film deposited on metallic titanium.

## Podsumowanie

Blisko stechiometryczne cienkie warstwy azotku tytanu (TiN) zostały pomyslnie osadzone na metalicznym tytanie (Ti) i podłożu niemetalicznym-poliuretanie (PU) w temperaturze pokojowej przy użyciu wielowiązkowego osadzania laserem impulsowym (PLD) dla zastosowań przemysłowych. Tekstura metalicznego podłoża ma wpływ na teksturę osadzonej warstwy i rozkład naprężeń w warstwie. Naprężenia własne mierzone w warstwie TiN były związane z typem podłoża ich wartości dla warstwy na podłożu metalicznym były prawie dwa razy wyższe niż dla warstw TiN osadzonych na podłożu PU. Dyfuzyjny charakter obszaru przejściowego pomiędzy warstwą TiN a podłożem metalicznym i niemetalicznym świadczy o dobrej adhezji i w porównaniu z jednorodną i gładką powierzchnią daje możliwość naniesienia warstw o wysokiej jakości metodą PLD.

## Podziękowanie

Praca finansowana z projektów: PB2-KBN-082/T08/2002/11; EUREKA E! decisions No. 62/E-88/SPB/Eureka/T-08D2 348/2002-2004 and 410/E-410/SPB/Eureka/T08/D2-318/2002-2004

## FOTOCHEMICZNA MODYFIKACJA POLISULFONU

JOANNA KOWAL\*, BARBARA CZAJKOWSKA\*\*,  
MARTA BŁĄŻEWICZ\*\*\*, CELINA PALUSZKIEWICZ\*\*\*\*

\*WYDZIAŁ CHEMII, UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI, KRAKÓW,  
\*\*COLLEGIUM MEDIUM, UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI, KRAKÓW,  
\*\*\*WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,  
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW,  
\*\*\*\*ŚRODOWISKOWE LABORATORIUM ANALIZ FIZYKOCHEMICZNYCH  
FIZYKOCHEMICZNYCH BADAŃ STRUKTURALNYCH, UNIWERSYTET  
JAGIELLOŃSKI, KRAKÓW

## Concluding remarks

Nearly stoichiometric titanium nitride (TiN) thin films were successfully deposited on metallic (Ti) and non metallic (PU) substrates at room temperature using a multispot pulsed laser deposition (PLD) system for industrial applications. Texture of the metallic substrate has an influence on the texture of deposited layer and the stress distribution in the layer. Residual stress measured in the TiN film were related to the type of substrate and the values for the metallic film substrate were of about two times higher than measured in the TiN deposited on PU. Diffusive character of the interphase between the TiN deposited film and the metallic and non-metallic substrate suggest a good adhesion and in comparison with a uniform and smooth surface make it possible to produce high quality layers by means of the PLD technologies.

## Acknowledgment

Parts of the work were supported by the state committee for scientific Research of Poland under projects: PB2-KBN-082/T08/2002/11; EUREKA E! decisions No. 62/E-88/SPB/Eureka/T-08D2 348/2002-2004 and 410/E-410/SPB/Eureka/T08/D2-318/2002-2004

## Piśmiennictwo

## References

- [1] J. Huaxia, P.M. Marquis: *Biomaterials*: 14 (1993) 64.
- [2] K. Bordij, J.Y. Jouzeau et al.: *Biomaterials*: 17 (1996) 92.
- [3] E. Czarnawska, T. Wierzchoń, et al.: *J of Mat. Sci.: Materials in medicine* 11 (2000) 73.
- [4] J.L. Woodman, J.J. Jacobs, J.O. Galante and R.M. Urban: *J. Orthop. Res.* 1 (1984) 421.

## PHOTOCHEMICAL MODIFICATION OF POLYSULFONE

JOANNA KOWAL\*, BARBARA CZAJKOWSKA\*\*,  
MARTA BŁĄŻEWICZ\*\*\*, CELINA PALUSZKIEWICZ\*\*\*\*

\*Faculty of Chemistry, Jagiellonian University, Kraków,  
\*\* Collegium Medicum, Jagiellonian University, Kraków,  
\*\*\*Faculty of Materials Engineering and Ceramics,  
University of Science and Technology Kraków,  
\*\*\*\*Regional Laboratory of Physical Analyses and Structural Research, Jagiellonian University, Kraków



Badano zmiany związane z fotochemiczną modyfikacją polisulfonu w oparciu o analizę spektralną naświetlanych próbek. Stwierdzono tworzenie połączeń karbonylowych, grup hydroksylowych a także obniżenie ilości grup eterowych i sulfonowych, które związane jest z degradacją polimeru. Obserwowany wzrost absorpcji w zakresie długofalowej części zakresu UV ( $\lambda > 290$  nm) przypisano tworzeniu się sprzężonych struktur polifenylowych.

**Słowa kluczowe:** polisulfon, modyfikacja fotochemiczna, analiza spektralna

## Wstęp

Polisulfon (PSU) ze względu na swoją stabilność termiczną, i chemiczną a także z uwagi na łatwość sterylizacji jest często stosowanym materiałem do produkcji sprzętu medycznego, także implantów, oraz membran filtracyjnych do hemodializy [1-7]. Hydrofobowy charakter polisulfonu powoduje jednak, że membrany z PSU ulegają łatwo zanieczyszczeniu, które związane jest głównie z odkładaniem się białek na powierzchni [2]. Proces adsorpcji białek może zostać zahamowany w wyniku modyfikacji powierzchni nadającej jej charakter hydrofilowy. Badano różnorodne metody tego typu modyfikacji polisulfonu [1-7].

Wiadomo, że polisulfon jest podatny na działanie promieniowania UV - pierwotnym procesem fotochemicznym zachodzącym w PSU jest dysocjacja wiązań C-O-C, C-SO<sub>2</sub>, C-CH<sub>3</sub>, H-CH<sub>2</sub> [9-11], prowadząca do powstania wolnych rodników. W dalszych etapach reakcji powstają sprzężone układy polifenylowe, struktury fenolowe i połączenia karbonylowe (aromatyczne i alifatyczne ketony, kwasy karboksylowe).

W niniejszej pracy dokonano próby zmiany charakteru powierzchni filmu polisulfonowego na drodze fotochemicznej. Zbadano wpływ naświetlania polisulfonu promieniowaniem absorbowanym przez polimer.

## Materiały i metody

Polisulfon (PSU) - (Aldrich, M<sub>n</sub> = 16000, melt index 15-20). Badano próbki w postaci homogenicznych filmów i roztworów w CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Widma filmów polisulfonowych i roztworów rejestrowano za pomocą spektrofotometrów: 8452A Hewlett Packard (UV-VIS), EQUIUNOX 55, Bruker (FTIR), FTIR Excalibur (ATR) i Renishaw 2000 (RS).

Próbki naświetlano promieniowaniem absorbowanym przez polimer stosując średniociśnieniową lampę rtęciową ASH 400. Intensywność promieniowania padającego o długości fali  $\lambda = 254$  nm oznaczono za pomocą radiometru VLX-3W z sensorem C-254 (Vilber Lourmat, France).

## Wyniki i dyskusja

W celu zmodyfikowania powierzchni filmów polisulfonowych poddano je długotrwałemu naświetlaniu. Naświetlania prowadzono w powietrzu pod ciśnieniem atmosferycznym promieniowaniem o długości fali 254 nm; intensywność promieniowania padającego wynosiła  $2 \times 10^{-9}$  mol fotonów  $\cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Próbki polisulfonu po różnych czasach naświetlania zanalizowano według danych spektralnych [11-13] zebranych w TABELI 1.

Przykładowe widma UV oraz IR naświetlonych próbek

The changes resulting from the photochemical modification of polysulfone were examined with the use of spectroscopic analysis of irradiated samples. The formation of carbonyl and hydroxyl groups in irradiated films and the reduction of the amount of ether and sulfone groups, connected with the degradation of the polymer were observed. The increase of the long wave UV absorption ( $\lambda > 290$  nm) was attributed to the formation of polyphenyl conjugated structures.

**Key words:** polysulfone, photochemical modification spectral analysis

## Introduction

Polysulfone (PSU) due to its mechanical, thermal and chemical stability as well as the ease of sterilization is frequently used as material for production of medical equipment, including implants, and filtration membranes for haemodialysis [1-7]. The hydrophobic nature of polysulfone results in fouling originating mainly from proteins deposited onto membrane surface [2]. The process of adsorption can be diminished by modifying a hydrophobic membrane surface into hydrophilic. Various methods of polysulfone modification have been investigated [1-7].

It is known that polysulfone is photosensitive to UV radiation and the primary photochemical processes are the scissions of C-O-C, C-SO<sub>2</sub>, C-CH<sub>3</sub>, H-CH<sub>2</sub> bonds [9-11]. The cleavage of these bonds, resulting in free radicals, is followed by the formation of conjugated polyphenyl systems, phenolic structures and carbonyl compounds (aromatic and aliphatic ketones, carboxylic acids).

In this paper we tried to change the surface of the polymer film by the photochemical treatment. The effect of the irradiation of polysulfone with the light absorbed by the polymer was studied.

## Materials and methods

Polisulfone (PSU) - (Aldrich, M<sub>n</sub> = 16000, melt index 15-20). The samples were prepared in the form of homogeneous films or solutions in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

The spectra of polymer films and polymer solutions were recorded with 8452A Hewlett Packard spectrophotometer (UV-VIS), EQUIUNOX 55, Bruker (FTIR), FTIR Excalibur (ATR) and Renishaw 2000 (RS) spectrophotometers.

The samples were irradiated with the light absorbed by the polymer with the aid of medium pressure mercury lamp ASH 400. The intensity of incident radiation at  $\lambda = 254$  nm was determined by the use of VLX-3W radiometer with C-254 sensor (Vilber Lourmat, France).

## Results and discussion

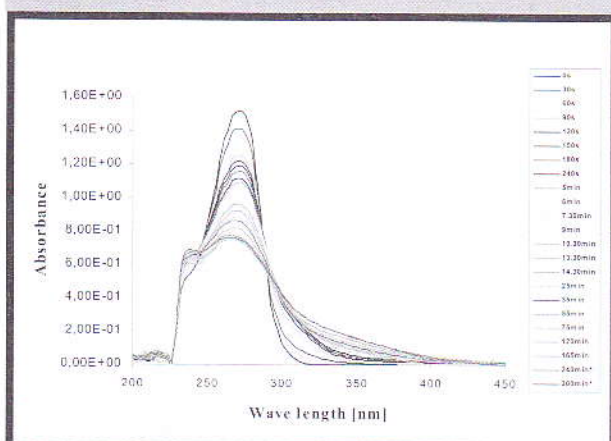
In order to modify the surface of polysulfone the polymer films were subjected to a prolonged irradiation in a photochemical stand. The irradiation was carried out in air at atmospheric pressure with light at  $\lambda = 254$  nm, extracted from the spectrum of an ASH400 medium pressure mercury lamp. The incident radiation intensity was  $2 \times 10^{-9}$  mole of photons  $\times \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ .

The samples of polysulfone after various times of irradiation were subjected to spectral analysis according to the data [11-13] collected in TABLE 1.

Grupa / Group	UV-VIS [nm]	IR [cm <sup>-1</sup> ]	ATR [cm <sup>-1</sup> ]	RS [cm <sup>-1</sup> ]
Metylowa / Methyl (-CH <sub>3</sub> )	-	2967, 1504, 1488	1504, 1485	-
Fenylowa / Phenyl (-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )	272	2967, 1586, 1000 - 1100, 650 - 900	1584, 1000 - 1100, 650 - 900	-
Sprężona polifenylowa / Poliphenyl conjugated ((-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ) <sub>n</sub> )	300 - 400	-	-	-
Eterowa / Ether (-C-O-C-)	-	1245, 1079	1229, 1101	-
Sulfonowa / Sulfone (-SO <sub>2</sub> -)	-	1342, 1285, 1170, 1152	1321, 1294, 1167, 1144	791
Hydroksylowa / Hydroxyl (-OH)	-	3400 - 3500		

TABELA 1. Dane spektralne do przeprowadzenia analizy strukturalnej.

TABLE 1. Spectral data used in structural analysis.

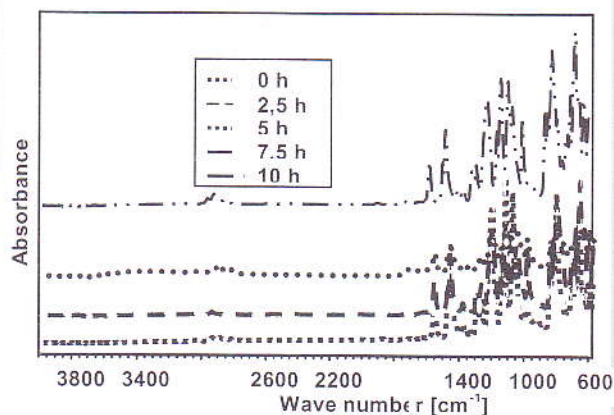


RYS. 1. Widma absorpcyjne UV roztworu polisulfonu w dichlorometanie po różnych czasach naświetlania promieniowaniem absorbowanym przez polimer.

FIG. 1. UV absorption spectra of polysulfone solution in dichloromethane after irradiation with light absorbed by the polymer.

polisulfonu przedstawiono na RYS. 1 i 2.

Zaobserwowano obniżanie absorpcji w zakresie charakterystycznym dla grupy fenylowej ( $\lambda_{\max} = 272$  nm) i równoległy wzrost absorpcji w obszarze 300 - 400 nm, przypisany tworzeniu sprzężonych struktur polifenylowych. W początkowym okresie naświetlania (do ok. 2 godzin) obserwuje się zachowanie punktu izoabsorbpcyjnego. Absorbancja rozciągająca się w kierunku długofalowej części widma jest odpowiedzialna za żółknięcie naświetlanych próbek. Wyniki analizy widm IR przedstawiono na RYS. 3 i 4. Na podstawie analizy widm absorpcyjnych i odbiciowych FTIR stwierdzono stopniowy spadek absorpcji związanej z obecnością grup eterowych i sulfonowych. Widma Ramana naświetlonego filmu PSU potwierdziły obniżenie absorpcji odpowiadającej grupie eterowej (791 cm<sup>-1</sup>). Zmianom tym towarzyszy wzrost absorpcji w zakresie charakterystycznym dla grup karbonylowych (~1700 cm<sup>-1</sup>) i hydroksylowych (~3500 cm<sup>-1</sup>), który uwidacznia się silniej dla dłuższych czasów naświetlania (powyżej ok. 2 godzin).



RYS. 2. Widma FTIR ATR filmów polisulfonowych naświetlanych przez 2,5, 5, 7,5 i 10 godzin promieniowaniem absorbowanym przez polimer.

FIG. 2. FTIR ATR spectra of films irradiated for 2.5, 5, 7.5 and 10 h with light absorbed by the polymer.

The exemplary UV and IR spectra of irradiated polysulfone are presented in FIG. 1 and 2.

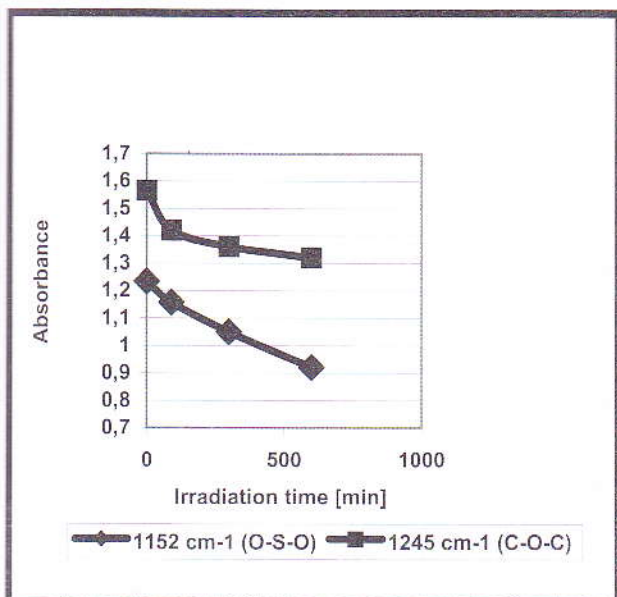
The decrease of the absorption characteristic for phenyl group with  $\lambda_{\max} = 272$  nm and the corresponding increase of the absorption in the range 300 - 400 nm, attributed to the formation of conjugated poliphenyl systems, can be observed. For the initial period of irradiation (up to c.a. 2 h) the isoabsorption point was retained. The absorption extending into the long wave range of the spectrum is responsible for the yellowing of the samples.

The results of the analysis of the IR spectra are presented in FIG. 3 and 4.

The gradual decrease of the absorbance connected with the presence of ether and sulfone groups was found by the analysis of the absorption and reflection FTIR spectra. RS spectra of irradiated PSU film confirmed the diminishing of the ether group absorbance at 791 cm<sup>-1</sup>. These changes are accompanied by the increase in the absorbance characteristic for carbonyl compounds (~1700 cm<sup>-1</sup>) and OH groups (~3500 cm<sup>-1</sup>), which is more pronounced after longer irradiation time (above c.a. 2 h).

## Conclusions

Taking into account the presented results one can conclude that the irradiation of polysulfone films with the light

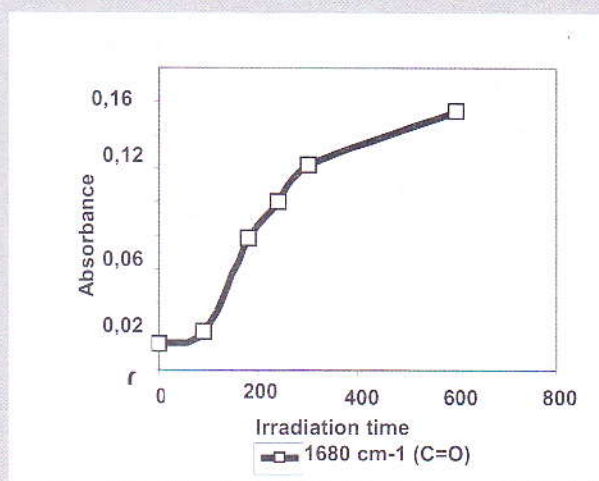


RYS. 3. Zależność absorbancji przy 1152  $\text{cm}^{-1}$  (grupa eterowa) i 1245  $\text{cm}^{-1}$  (grupa sulfonowa) od czasu naświetlania filmu polisulfonowego.

FIG.3. The dependences of absorbance at 1152  $\text{cm}^{-1}$  (ether group) and 1245  $\text{cm}^{-1}$  (sulfone group) on the time of irradiation of a polysulfone film.

## Wnioski

Na podstawie przedstawionych wyników można stwierdzić, że naświetlanie folii polisulfonowych promieniowaniem absorbowanym przez polimer w obecności tlenu może być jedną z metod zmiany charakteru powierzchni. Modyfikacja fotochemiczna prowadzi do tworzenia polarnych grup karbonylowych i hydroksylowych w naświetlanych filmach, a tym samym do zmiany charakteru powierzchni na bardziej hydrofilowy. Obserwuje się też redukcję ilości grup eterowych i sulfonowych, co związane jest z degradacją polimeru. Wzrost absorbancji w zakresie długofalowego UV ( $\lambda > 290 \text{ nm}$ ) przypisano tworzeniu sprzężonych struktur polifenylowych.



RYS. 4. Zależność absorbancji przy 1680  $\text{cm}^{-1}$  (grupa karbonylowa) od czasu naświetlania filmu polisulfonowego.

FIG. 4. The dependence of absorbance at 1680  $\text{cm}^{-1}$  (carbonyl group) on the time of irradiation of a polysulfone film.

absorbed by the polymer in the presence of atmospheric oxygen can be one of the methods of changing the character of the polymer surface. Photochemical modification leads to the formation of polar carbonyl and hydroxyl groups in irradiated films making the polymer surface more hydrophilic. The reduction of the amount of ether and sulfone groups, connected with the degradation of the polymer is also observed. The increase of the long UV absorption ( $\lambda > 290 \text{ nm}$ ) was attributed to the formation of polyphenyl conjugated structures.

## References

- [1] Pixton, M. R., Paul D. R., *Polymer*, 36, (1995) 3165.
- [2] Kim K. S., Lee K. H., Cho K., Park C. E., *J. membrane Sci.*, 199 (2002) 135.
- [3] Gancarz I., Poźniak G., Bryjak M., *Europ. Polym. J.*, 35 (1999) 1419.
- [4] Seguchi T., Yagi T., Ishikawa S., Sano Y., *Radiat. Phys. Chem.*, 63 (2002) 35.
- [5] Yamagishi H., Crivell J. V., Belfort G., *J. Membrane Sci.*, 105 (1995) 237.
- [6] Higuchi A., Shirano K., Harashima M., Yoon B. O., Hara M., Hattori M., Imamura K., *Biomaterials* 23 (2002) 2659.
- [7] Summers G. J., Ndawuni M. P., Summers C. A., *Polymer* 42 (2001) 397-402.
- [8] Rivaton A., Gardette J. L., *Polym. Degr. Stab.* 66 (1999) 385.
- [9] Allen N. S., McKellar J. F., *J. App. Polym. Sci.*, 21 (1977) 1129.
- [10] Kuroda S.-I., Nagura A., Horie K., Mita I., *Europ. Polym. J.*, 25 (1989) 621.
- [11] Rao C. N. R., "Ultra - Violet and Visible spectroscopy. Chemical applications"; Butterworths, London 1967.
- [12] Szymański H. A., "IR theory and practice of infrared spectroscopy"; Plenum Press, New York 1964.
- [13] Bellamy L. J., "Infra - red spectra of complex molecules"; John Wiley and Sons, New York 1975.

# WZROST I RÓŻNICOWANIE KOMÓREK KOSTNYCH NA MODYFIKOWANYCH PODŁOŻACH POLIMEROWYCH

B. POLAK\*, W. FABIANOWSKI\*, M. LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ\*\*

\*WYDZIAŁ CHEMICZNY, POLITECHNIKA WARSZAWSKA, NOAKOWSKIEGO 3; 00 664 WARSZAWA

\*\*ZAKŁAD BIOFIZYKI I FIZJOLOGII CZŁOWIEKA, AKADEMIA MEDYCZNA W WARSZAWIE, CHAŁUBIŃSKIEGO 5; 02 004 WARSZAWA

## Wstęp

Przyleganie i adhezja komórek do biomateriałów odpowiadają za właściwy wzrost, proliferacja i różnicowanie komórek. Ze względu na istotną rolę mechanizmów warunkujących odpowiednie zachowanie się komórek na różnych podłożach (np. implanty polimerowe do zastosowań w inżynierii tkankowej) prowadzone są liczne badania w zakresie zrozumienia i wpływania na proces adhezji komórek [1-5]. Ważną rolę odgrywają tu zatem modyfikacje powierzchniowe biomateriałów, mające za zadanie polepszenie adhezji, co z kolei zapewniłoby lepszy wzrost i różnicowanie komórek osteogennych.

W niniejszej pracy przeprowadzono serię doświadczeń, których celem było sprawdzenie odpowiedzi komórkowej na podłoża modyfikowane za pomocą wybranych substancji.

## Materiały i metody

Do przeprowadzonych modyfikacji zostały użyte związki o charakterze hydrofobowym (związki polisiloksanowe) oraz hydrofilowym (poli(kwas akrylowy) (PAA), poli(tlenek etylenu), poli( $\epsilon$ -kapolakton), poli(metakrylan-2-hydroksyetylowy), poli(N-izopropylakrylamid), kopolimery poliuretanowo-polisiloksanowe, modyfikowane poliuretany, dekstran i jego modyfikacje poli(kwasem akrylowym) oraz solami wapnia oraz lekami) a także za pomocą warstw z protein (kolagen, albumina ludzka i bydłęca, fibronektyna), fosfolipidów (lecytyna i lizolecytyna) oraz naprzemiennie ułożonych multitarstw hybrydowych PAA-bentonit, PAA-bemite lub PAA-hydroksyapatyt. Sprawdzono również wpływ zastosowanych rozpuszczalników (woda, heksan, metanol, chlorek metylenu) na osteoblasty ludzkie w hodowli.

Wszystkie modyfikacje przeprowadzono w standardowych 96-studzienkowych płytkach polistyrenowych do hodowli komórkowej. Tak przygotowane płytki PS zostały podane sterylizacji radiacyjnej (Instytut Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie, dawka 25 kGy). Na każdej płytce pozostawiono jedną niemodyfikowaną kolumnę odniesienia i jedną naświetloną promieniowaniem UV ( $\lambda=365\text{nm}$ ) jako kolumnę kontrolną, co pozwoliło na porównanie otrzymanych wyników. Każdą modyfikację powtórzono sześciokrotnie. Zostały przeprowadzone pomiary wartości kąta zwilżania modyfikowanych powierzchni za pomocą dwóch cieczy zwilżających: wody i roztworu DMEM (Dulbecco's Modified

# GROWTH AND DIFFERENTIATION OF BONE CELLS ON MODIFIED POLYMERIC SURFACES

B. POLAK\*, W. FABIANOWSKI\*, M. LEWANDOWSKA-SZUMIEŁ\*\*

\*Department of Chemistry, Warsaw University of Technology, Noakowskiego 3; 00 664 Warsaw

\*\*Department of Biophysics and Human Physiology, Medical University of Warsaw, Chałubińskiego 5; 02 004 Warsaw

## Introduction

Both adherence and adhesion of cells to the biomaterials are responsible for proper growth, proliferation and differentiation of cells. Considering an essential role of mechanisms required for suitable cell behaviour at the interfaces of the different biomaterials (e.g. polymeric implants for tissue engineering applications) there are numerous works dedicated to understanding and promoting the cells adhesion process. Surface modifications play an important role here as a possibility for improvement of cells adhesion, which would assure better growth and differentiation of osteogenic cells.

We have performed several sets of experiments which main aim was to check the cells answer cultured on the modified polymeric surfaces.

## Materials and methods

We used for modifications hydrophobic substances (polisiloxanes); hydrophilic (poly(acrylic acid), poly(ethylene oxide), poly( $\epsilon$ -caprolactone), poly(2-hydroxyethyl methacrylate), poly(N-isopropylacrylamide)); modified polyurethanes with carbonate bones; dextran and modified dextran with poly(acrylic acid) (PAA), calcium salt and drugs; films of proteins (collagen, human and bovine albumin, fibronectin); phospholipids (lecithin and lysolecithin) and multilayer polyelectrolyte films made from poly(acrylic acid)/bentonite, poly(acrylic acid)/hydroxyapatite and poly(acrylic acid)/bemite sublayers. An influence of used solvents (water, hexane, methanol, methylene chloride) on human osteoblast cells in culture was also examined.

All modifications were prepared in standard polystyrene, 96-wells plates for cell culture. Next all PS plates were sterilized (Institute of Nuclear Chemistry and Technology, Warsaw, dose 25kGy). In every plate there was one column left untreated - as a reference - and also one only UV treated ( $\lambda=365\text{nm}$ , distance 5cm) - as a control - in each PS plate. This enabled us to make comparisons between obtained results. Each modification was repeated six times. There were measured values of contact angle (CA) using two wetting liquids: water and DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium). CA values were measured before and after sterilization. Human bone cells were seeded on modified surfaces (Medical University of Warsaw) in standard conditions (37°C, 5% CO<sub>2</sub>, in humidified 96% RH air environment). DMEM modified with 10% fetal bovine serum (FBS), L-glutamine (2mM), antibiotic (1%) was used as a culture medium.

Eagle Medium). Wartości kąta zwilżania zostały zmierzone zarówno przed jak i po procesie sterylizacji radiacyjnej. Następnie na modyfikowanych podłożach założono hodowlę komórkową (Akademia Medyczna w Warszawie). Wykorzystano w tym celu wyizolowane z tkanki kostnej osteoblasty ludzkie. Komórki hodowane były w inkubatorze zapewniającym stałą temperaturę (37°C), wysoką wilgotność (96%), atmosferę 5% CO<sub>2</sub>. Jako pożywkę hodowlaną użyto roztwór DMEM, modyfikowany dodatkowo 10% płodową surowicą bydlęcą (FBS), L-glutaminą (2mM) i antybiotykiem (1%).

Zostały przeprowadzone obserwacje mikroskopowe morfologii komórek (mikroskop Nikon TS 100). Komórki wybarwiono fioletem krystalicznym i zmierzono gęstość optyczną (spektrofotometr Multiscan RC,  $\lambda=540\text{nm}$ ). Przeprowadzono również dwa testy: test XTT oceniający żywotność komórek w hodowli oraz test ALP oceniający aktywność fosfatazy alkalicznej (spektrofotometr Multiscan RC, czytnik ELISA,  $\lambda=405\text{nm}$ ). Na tej podstawie oszacowano średnie wielkości populacji komórek w hodowli (za 100% przyjęto wielkość populacji komórek hodowanych na niemodyfikowanych podłożach). Oceniono również jakość modyfikowanych powierzchni pod kątem przylegania do nich osteoblastów a także ich wzrostu i różnicowania na różnych podłożach. Wytypowano również modyfikacje do badań porowatych nośników komórek kostnych do zastosowań w inżynierii tkankowej.

## Wyniki

Na hydrofilowych powierzchniach modyfikowanych za pomocą: dekstranu z dodatkiem poli(kwasu akrylowego) uzyskano następujące wyniki: 89% w teście XTT i 163% w teście ALP; na podłożach modyfikowanych dekstranem z dodatkiem poli(kwasu akrylowego) i jonów wapnia otrzymano: 104% w teście XTT i 148% w teście ALP; na podłożach modyfikowanych samym poli(kwasem akrylowym) uzyskano - 126% w teście XTT oraz 107% w teście ALP; równie wysokie wyniki otrzymano na skutek modyfikacji przy użyciu warstw polielektrolitowych takich jak: PAA/hydroksyapatyt - 99% (XTT), 166% (ALP); PAA/bentonit - 103% (XTT), 119% (ALP); PAA/bentonit/poli(kwas akrylowy) - 113% (XTT), 141 (141%), PAA/bemite - 103% (XTT), 126% ALP. Najniższe wyniki po hodowli komórkowej otrzymano w przypadku podłoży poliuretanowych (rzędu ok. 20% komórek hodowanych na podłożach kontrolnych), co może być związane z warunkami prowadzenia syntezy (np. toksyczny wpływ na komórki zastosowanego rozpuszczalnika). Również niskie wyniki ilościowe po testach XTT i ALP otrzymano na hydrofobowych podłożach polisiloksanowych (oktadecylotrichlorosilan, polidimetylosiloksan, trimetoksywinylosilan).

## Dyskusja

Komórki kostne wykazują dużą wrażliwość na podłoże, na którym mają wzrastać i różnicować się. Wysokie wyniki w teście XTT (wyższe niż w kontroli) świadczą o dobrej przeżywalności komórek kostnych w hodowli na powierzchniach modyfikowanych za pomocą omawianych powyżej związków hydrofilowych, szczególnie na bazie dekstranu. Z kolei wysokie wyniki testu ALP świadczą o obecności dużej ilości komórek osteogennych na tych samych powierzchniach.

## Wnioski

Omawiane w niniejszej pracy powierzchnie o charakterze hydrofobowym nie mogą zostać wykorzystane do modyfikacji powierzchniowych mających na celu polepszenie pro-

Cells morphology was observed on microscope (Nikon TS 100). We also measured an optical density after cells staining with crystal violet (Multiscan RC spectrophotometer,  $\lambda=540\text{ nm}$ ). Two tests: XTT test which determines viability of cells in culture and ALP test that specifies activity of alkaline phosphatase were carried out (Multiscan RC spectrophotometer, in ELISA reader,  $\lambda=540\text{ nm}$ ). We estimated the average cells population on modified surfaces assuming as 100% the average osteoblast cells population from unmodified wells. The quality of cells cultures developed on modified surfaces was also evaluated. Some modifications were selected for further investigation as porous scaffolds - cell carriers in the tissue engineering applications.

## Results

After treatment of PS surfaces with hydrophilic polymers: dextran modified with PAA we obtained following results: 89% in XTT test and 163% in ALP test; dextran modified with PAA and calcium ions - 104% in XTT test and 148% in ALP test; PAA - 126% (XTT), 107% (ALP); multilayer polyelectrolyte films from PAA/hydroxyapatite - 99% (XTT), 166% (ALP), PAA/bentonite - 103% (XTT), 119% (ALP), PAA/bentonite/poly(acrylic acid) - 113% (XTT), 141% (ALP), PAA/bemite - 103% (XTT), 126% (ALP). The lowest results of XTT test (about 20%) obtained for surfaces modified with polyurethanes. This can be caused by the unfavourable synthesis conditions (e.g. toxicity of used solvents). The results received for hydrophobic surfaces modified with polysiloxanes (octadecyltrichlorosilane, polydimethylsiloxane, vinyltrimethylsiloxane) were also low in the XTT and ALP tests.

## Discussion

Bone cells are highly sensitive to the polymeric support on which they should growth and differentiate. High results of XTT tests (higher than control) prove good bone cells viability on discussed hydrophilic dextran modified surfaces. The high values of ALP test confirmed that there are numerous osteogenic cells on examined surfaces.

## Conclusions

Hydrophobic surfaces discussed in this work cannot be applied as surface modifications which aim is an improvement the bone cells adhesion process on different supports. However, polysiloxane modifications can be applied in control deposition of cells as a protection preventing cells growth. A significant improvement of bone cells adherence was observed on examined hydrophilic surfaces, which might be taken as base surface modifications for bone cells carriers.

## Acknowledgements

The authors would like to thank Ms. Agnieszka Jurkowska (WAM) for assistance with cell cultures and microscopy measurements.

This work was supported by KBN grant 4 TO8E 01824.

cesu adhezji komórek kostnych do podłoża. Jednakże modyfikacje polisiloksanowe mogą znaleźć zastosowanie w kontrolowanym osadzaniu komórek w celu zabezpieczenia przed ich adhezją do podłoża. Z kolei przedstawione modyfikacje o charakterze hydrofilowym, które znacznie poprawiają adhezję osteoblastów mogą być wzięte pod uwagę jako modyfikatory powierzchniowe nośników komórek kostnych.

## Podziękowania

*Serdecznie dziękujemy Pani Agnieszce Jurkowskiej za pomoc przy hodowlach komórkowych i pomiarach mikroskopowych.*

*Niniejsza praca została zrealizowana z grantu KBN 4 TO8E 01824.*

## TYPY WSPÓŁCZEŚNIE UŻYWANYCH PROTEZ STAWÓW SKRONIOWO-ŻUCHWOWYCH

MAREK ADWENT, TADEUSZ CIEŚLIK

I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ WYDZIAŁU LEKARSKIEGO W ZABRZU  
ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH,  
UL. BUCHENWALDCZYKÓW 19, 41-800 ZABRZE.

Protezy stawów skroniowo-żuchwowych są stosowane w klinice człowieka od czwartej dekady XX wieku. Jednakże w odróżnieniu od protez stawów biodrowego, łokciowego czy kolanowego nie są one powszechne. Wynika to z wielu czynników, które odróżniają staw skroniowo-żuchwowy od pozostałych stawów. Brak jest ogólnie przyjętych światowych standardów, które określałyby jakie warunki powinny zostać spełnione aby implantacja protezy stawu skroniowo-żuchwowego zakończyła się powodzeniem [2]. Staw skroniowo-żuchwowy ma skomplikowaną budowę anatomiczną, a co za tym idzie złożoną funkcję. Jest dwupiętrowym stawem parzystym, w którym odbywają się ruchy rotacyjne i saneczkowe. Sąsiedztwo ważnych struktur anatomicznych jak naczynia krwionośne, nerwy, narząd słuchu, mózg oraz stosunkowo delikatna budowa kości panewki stawowej i niewielki rozmiar stawu sprawiają, że chirurgiczne leczenie schorzeń stawu skroniowo-żuchwowego za pomocą endoprotez jest niezwykle skomplikowane.

Całkowite protezy stawu skroniowo-żuchwowego składają się z protezy panewki stawowej i protezy wyrostka kłykciowego. Proteza wyrostka kłykciowego jest mocowana do zewnętrznej powierzchni gałęzi żuchwy za pomocą kilku śrub, po wcześniejszym odcięciu wyrostka kłykciowego. Stosowane są w przypadkach, w których konieczna jest częściowa resekcja żuchwy obejmująca jej gałąź wraz z wyrostkiem kłykciowym. Tyczy się to zazwyczaj schorzeń o podłożu nowotworowym. Zastosowanie częściowej protezy stawu skroniowo-żuchwowego jest nieco ograniczone. Siły jakimi proteza głowy stawowej oddziałuje na kość panewki stawowej są tak duże, że mogą doprowadzić do jej pęknięcia, na skutek braku amortyzacji, jaką zapewnia krążek stawowy.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] L.G. Griffith, *Acta materialia*, 48 (2000) 263.
- [2] B.L. Seal, T.C. Otero, A. Panitch, *Materials Science and Engineering*, R34 (2001) 147.
- [3] K. Burg, S. Porter, J. Kellam, *Biomaterials*, 21 (2000) 2347.
- [4] K. T. Nguyen, J. L. West, *Biomaterials*, 23 (2002) 4307.
- [5] D. Castner, B. Ratner, *Surface Science*, 500 (2002) 28.
- [6] J. Morgan, *Intern. Biotechn. Lab.*, June (2003) 12.
- [7] X. Yang, K. Zhao, G. Chen, *Biomaterials*, 23 (2002) 1391.
- [8] Y.B. Polak\*, W. Fabianowski\*, M. Lewandowska-Szumieł\*\*, An, S. Woolf, R. Friedman, *Biomaterials*, 21 (2000) 2635.
- [9] K. Anselme, *Biomaterials*, 21 (2000) 667.
- [10] M. Hasenbein, T. Andersen, R. Bizios, *Biomaterials*, 23 (2002) 3937.
- [11] B. Polak, MSc Thesis, Department of Chemistry, Warsaw University of Technology (2003).

## THE TYPES OF TEMPOROMANDIBULAR JOINT PROSTHESIS USED IN TREATMENT

MAREK ADWENT, TADEUSZ CIEŚLIK

I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ WYDZIAŁU LEKARSKIEGO W ZABRZU  
ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH,  
UL. BUCHENWALDCZYKÓW 19, 41-800 ZABRZE.

The temporomandibular joint (TMJ) prosthesis are being used since 4th decade of XX-th century. However despite of for example hip joint or knee joint endoprosthesis are not very common. This situation results from some factors that differ the TMJ from other human joints. There are no general standards which would define the conditions that are necessary to make the TMJ implantation successful [2]. The TMJ is complicated anatomical and functional structure. It is double compartment even joint in which sliding and rotating movements take place. Proximity of important anatomical structures such as blood vessels, nerves, brain as well as gentle structure of bone and small size of joint are the reasons that cause surgical treatment of TMJ very difficult.

Total TMJ prosthesis consist of fossa eminence prosthesis (FEP) and condylar prosthesis (CP). The condylar prosthesis is attach to the lateral surface of mandible ramus with screws after resection of condylar process. This device is usually used in cases where resection of mandible ramus with condylar process is necessary, because of tumor presence. The usage of condylar prosthesis is limited. It is because of poor amortization and high forces which can damage the skull basis bone.

The solution to this problem was introduction of fossa eminence prosthesis which protect skull basis from damage. The total TMJ prosthesis have been used since forties and for years different solutions were proposed by scientist, what was connected with mentioned difficulties.

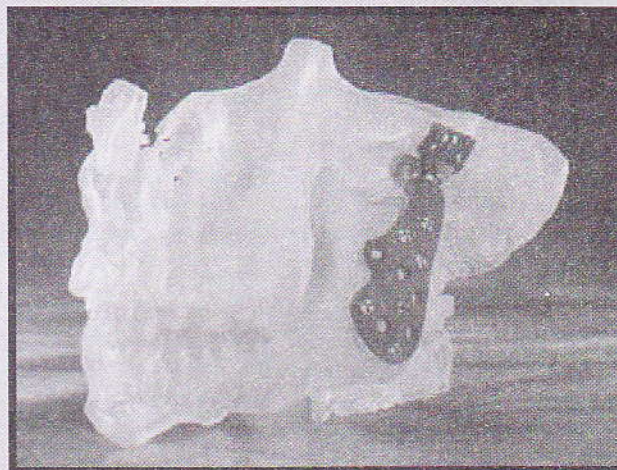
The main problem is exact fitting of FEP to the bone. The close fitting provides better fixation of prosthesis. The prosthesis contacts to the bone in three points. In normal

Problem ten został rozwiązany przez wprowadzenie protezy panewki stawowej, która osłania kość przed działaniem nadmiernych sił. Całkowite protezy stawów skroniowo-żuchwowych stosowane są od 40 lat, jednak rozwiązania proponowane przez ich projektantów różnią się znacznie od siebie. Ma to związek z wcześniej wymienionymi trudnościami. Znaczącym problemem jest dopasowanie protezy panewki stawowej do podłoża kostnego. Im bardziej dokładnie dopasowana jest proteza tym jest mniej podatna na działanie sił wyważających. Proteza metalowa na podłożu kostnym ma trzypunktowe podparcie. W zdrowej kości na skutek nadmiernego nacisku na punkty podparcia dochodzi do przebudowy kości i z czasem osiąga się całkowite przyleganie. Trudno natomiast przewidzieć czy taki sam proces przebudowy kości zajdzie w przypadku toczących się w stawie procesów patologicznych, w wyniku których protezowanie jest konieczne. Chirurgzy na przestrzeni lat różnie starali się rozwiązać ten problem. Stosowano cement z polimetakrylanu metylu, Proplast-Teflon, lecz niepowodzenia w zastosowaniu klinicznym tych materiałów wykluczyły je z dalszego użytku [2]. Dużym, bo ponad czterdziestoletnim doświadczeniem w stosowaniu całkowitych protez stawów skroniowo-żuchwowych dysponuje Christensen. Jego protezy zmieniały się na przestrzeni lat, by w końcu osiągnąć optymalne, wydawałoby się, rozwiązanie. Protezę panewki stawowej wykonuje się jest całkowicie ze stopu kobaltowo-chromowego (Co-Cr) grubości 0,5 mm, natomiast protezę wyrostka kłykiowego całkowicie ze stopu Co-Cr lub z głową z polimetakrylanu metylu (RYS. 1). Obejmuje ona dołek stawowy wraz z guzowatością stawową i mocowana jest do bocznej powierzchni łuku jarzmowego za pomocą 3-4 śrub. Aby osiągnąć jak najlepsze dopasowanie protezy do kości Christensen stworzył 88 panewek stawowych różnego kształtu i wielkości. Rozmiary panewek stawowych zostały określone na podstawie wieloletnich badań klinicznych dotyczących kształtu i wielkości panewek stawu skroniowo-żuchwowego. Na każdą ze stron przypadają 44 elementy. Aby ułatwić dopasowanie w komplecie znajduje się 88 perforowanych panewek wzorcowych, które umożliwiają śródoperacyjną ocenę stopnia ich przylegania do kości i dobranie najwłaściwszej [1].

Naukowcy z uniwersytetu w Groningen skonstruowali uniwersalną protezę o znacznie mniejszej liczbie elementów bo zaledwie 8. Jednak redukcja ta została okupiona znacznie bardziej skomplikowaną konstrukcją protezy. 8 odpowiednio dobranych elementów redukcyjnych pozwala na dopasowanie ich do panewki stawowej każdego kształtu [3].

Kolejnym rozwiązaniem jest wytwarzanie indywidualnych protez stawu skroniowo-żuchwowego na modelach plastikowych, które są konstruowane na podstawie obrazu tomografii komputerowej. Metoda ta jest w miarę precyzyjna jednak nie jest pozbawiona niedokładności. Skany TK są wykonywane co 0,5 mm, więc modele nie odwzorowują idealnie kształtu struktur stawowych u pacjenta [3]. Poza tym może zająć konieczność remodelowania kości podczas zabiegu operacyjnego. W takich przypadkach pojawiają się kolejne niedokładności.

Pozytywne wyniki leczenia z zastosowaniem endoprotez stawów skroniowo-żuchwowych zachęcają do ich stosowania. Szczególnie dobre efekty uzyskuje się u wielokrotnie operowanych pacjentów, u których nie uzyskano poprawy pomimo wielokrotnych zabiegów operacyjnych. Niestety wybór typu protezy często zależy od możliwości finansowych. Pomimo wieloletnich doświadczeń wielu ośrodków naukowych z protezami stawów temat nadal jest otwarty. Możliwe jest wprowadzenie nowych elementów, które spopularyzowałyby protezy stawów skroniowo-żuchwowych i upowszechniły tą metodę leczenia.



**RYS. 1. Całkowita proteza stawu skroniowo-żuchwowego Christensena.**

**FIG. 1. The total TMJ Christensen prosthesis.**

bone rebuilding processes leads to full contact after some time. But it is hard to anticipate what will happen in affected bone that is destroyed by pathological processes. To improve close fitting of FEP to the bone surgeons applied different techniques for example PMMA cement, Proplast-Teflon, but failures in clinical usage of these materials excluded them from surgical application [2]. Christensen have an over 40 years experience with TMJ prosthesis. His prosthesis changed over years and seemed that finally get an optimal solution. The TMJ prosthesis is made of 0,5 mm thin cobalt-chromium alloy, and condylar prosthesis is composed entirely of Co-Cr alloy or with PMMA head (FIG. 1). The FEP prosthesis covers articulating surface and is fixate to the zygomatic arch with Co-Cr screws. To improve close fitting Christensen create 88 FEP prosthesis different sizes and shapes, 44 on one side. The system has perforated trial sizing templates that correspond in size and shape to the available prosthesis and allows to determine the exact fit during surgery [1].

The scientists from Groningen university have constructed TMJ prosthesis, consists of 8 parts. Construction of prosthesis is complicated but allows exact fitting of prosthesis [3].

Another solution are patient specified prosthesis, constructed on plastic skull model that is made on the basis of CT scans. This method provides precise fitting of prosthesis to the skull but inaccuracy results from 0,5 mm gap in CT scans and necessity of bone reshaping during surgery [3].

Good treatment results with TMJ prosthesis encourage to this method. Specially good effect can be achieved in multiply operated patients where conventional surgery failed. Unfortunately very often treatment costs play an important role in prosthesis choice. Years of experience with TMJ prosthesis results with good solutions but that problem is not solve yet and introduction of new projects would improve TMJ device and popularized this treatment method.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Gerard D.A., Hudson J.W. The Christensen temporomandibular joint prosthesis system. *Oral and Maxillofac. Surg. Clinics of North America*, 2000, 1, 61-72.
- [2] Van Loon J.P., De Bond L., Boering G. Evaluation of temporomandibular joint prosthesis: review literature from 1946-1994 and

## POLISULFON WZMOCNIONY WŁÓK- NEM WĘGLOWYM JAKO ELEMENT STABILIZUJĄ- CY ZŁAMANIA KOŚCI TWARZY

TADEUSZ CIEŚLIK\*, JACEK WRÓBEL\*, JAN CHŁOPEK\*\*

\*I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ  
ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH

\*\*KATEDRA BIOMATERIAŁÓW AKADEMII GÓRNICZO-HUTNICZEJ  
W KRAKOWIE

### Streszczenie

*Celem niniejszego opracowania było wykazanie przydatności polisulfonu z włóknami węglowymi w zespalaniu kości twarzy. Wchłanialne płytki i śruby zostały zastosowane u 3 pacjentów operowanych z powodu złamań żuchwy. Nie stwierdzono powikłań pooperacyjnych. Procesowi gojenia nie towarzyszył stan zapalny. Nie zaobserwowano przemieszczenia odłamów. Stwierdzono, że płytki i śruby z polisulfonu wzmocnionego włóknami węglowymi pozwalają uzyskać stabilne zespolenie kości części twarzowej czaszki.*

### Wstęp

Rozwój komunikacji, wzrastające tempo życia oraz rosnąca agresja w stosunkach międzyludzkich skutkują rosnącą ilością urazów głowy wśród których, znaczną część stanowią złamania w obrębie części twarzowej czaszki [5, 6]. Leczenie zachowawczo-ortopedyczne tej grupy złamań charakteryzuje się dużą ilością powikłań zapalnych, ograniczoną możliwością precyzyjnego, anatomicznego ustalenia odłamów kostnych oraz licznymi niedogodnościami, utrudniającymi codzienne funkcjonowanie pacjentów, jak na przykład utrudniona artykulacja mowy oraz przyjmowanie pokarmów. Nie bez znaczenia jest także czas leczenia, obejmujący najczęściej od 4 do 6 tygodni [1, 5, 6, 8]. Od czasu zastosowania stabilnej osteosyntezy płytkowej w chirurgii szczękowo-twarzowej przez Wintera i Thomę w 1943 roku, metoda ta była coraz szerzej akceptowana przez chirurgów szczękowych, a obecnie stała się podstawowym sposobem leczenia złamań kości. Mimo niekwestionowanych zalet stabilna osteosynteza płytkowa ma też pewne wady wynikające z zastosowania metalowych elementów zespalających. Metaliczny element zespalający znajdujący się w środowisku żywego organizmu może wywołać sze-

implications for further prosthesis designs. J. Oral Maxillofac. Surg. 1995, 53, 984-996.

[3] Van Loon J.P., De Bond L., Stegenga B., Verkerke G.J. Fitting the temporomandibular joint prosthesis to the skull. Journal of Oral Rehabilitation, 2000, 27, 853-859.

## POLYSULPHON REINFORCED WITH CARBON FIBRE AS THE STABILIZING ELEMENT IN MAXILLOFACIAL SURGERY

TADEUSZ CIEŚLIK\*, JACEK WRÓBEL\*, JAN CHŁOPEK\*\*

\*I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ  
ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ W KATOWICACH

\*\*KATEDRA BIOMATERIAŁÓW AKADEMII GÓRNICZO-HUTNICZEJ  
W KRAKOWIE

### Abstract

*The purpose of this study was to evaluate the usefulness of the polysulphon with carbon fibres osteosynthesis system in maxillofacial surgery. Bioabsorbables miniplates and screws were used clinically on 3 patients without any postoperative complications. The healing process was satisfying without infections and obvious displacements of bone segments. The polysulphon with carbon fibres miniplates and screws provided effective osteosynthesis of the maxillofacial skeleton.*

### Introduction

The development of means of transport, the increase of speed of life and growing aggression in interpersonal relations results in a raising number of head injuries, which most include maxillofacial injuries [5, 6]. Preservative and orthopedic treatment of those injuries includes many inflammatory complications, limited possibility of a precise, anatomical bone fragments positioning and numerous inconveniences in everyday functions such as speaking or eating. The time of treatment, most often from 4 to 6 weeks, plays also an important part [1, 5, 6, 8]. Since the introduction of the stable plate osteosynthesis in maxillofacial surgery by Winter and Thoma in 1943, this method has been widely accepted by maxillofacial surgeons and now has become a basic method of bone fracture treatment. Despite unquestionable advantages, rigid plate osteosynthesis has also some disadvantages resulting from the use of metal elements. Metal plates placed in a live organism can induce several unfavorable reactions connected with its corrosion, electric and magnetic activity, and also with a difference between mechanical parameters of a bone and a metal [5, 6, 10].

Corrosion caused by metal ions merging into the tissue



reg niekorzystnych reakcji związanych z jego korozją, oraz aktywnością elektryczną i magnetyczną a także różnicą parametrów mechanicznych między kością a metalem [5,6,10].

Korozja spowodowana przenikaniem jonów metalu do płynów tkankowych może indukować procesy nowotworowe lub reakcje alergiczne. Ingerencje wszczepu w naturalny układ elektryczny w okolicy złamania może upośledzać procesy osteogenezy, co skutkuje zaburzeniami zrostu kostnego. Ponadto wywoływane przez metal różnice potencjałów sprzyjają agregacji krwinek i wywoływaniu zakrzepów [5, 10].

Działanie zewnętrznych pól elektromagnetycznych na organizm żywy zawierający element metalowy może być destrukcyjne [10]. Powoduje to pewne ograniczenie w procesie diagnostycznym na przykład wyklucza badanie MRI. Różnice sprężystości pomiędzy metalem a kością powodują, że stosowane elementy zespalające powodują zbyt sztywne zespolenie odłamów, utrudniające powstawanie kostniny zewnętrznej [4, 5, 6, 10].

Wymienione mankamenty powodują, że wielu autorów wskazuje na konieczność usunięcia metalowych elementów zespalających po uzyskaniu zrostu kostnego [1, 4, 7, 8]. Wynika z tego faktu konieczność przeprowadzenia powtórnego zabiegu operacyjnego, co stanowi kolejne obciążenie dla pacjenta.

Powyższe obserwacje dały bodziec badaniom naukowym mającym na celu uzyskanie materiału o dużej biogodności, porównywalnych do metalu parametrach mechanicznych nie wywołującego odczynów alergicznych i toksycznych oraz ulegającego biodegradacji. Najbliższymi spełnieniami tych wymagań są elementy zespalające wykonane z polimerów kwasu mlekowego (PLLA), kompozytów węglowych i polisulfonu [1, 4, 5, 6, 8, 9, 12]. Prace technologiczne pozwalają na otrzymanie materiałów o ściśle określonych właściwościach, co umożliwiło zastosowanie ich w wielu dziedzinach medycyny, jak na przykład w okulistyce, urologii, laryngologii czy ortopedii [2, 3, 9, 11, 12]. Najczęściej z kompozytów węglowych wykonuje się elementy różnych protez oraz elementy zespalające. Pewnym ograniczeniem stosowania kompozytów węglowych była ich kruchość. Dla poprawy właściwości mechanicznych kompozytu podjęto próby połączenia go z innymi materiałami. Wyjątkowo korzystne efekty uzyskano stosując biogodny i termoplastyczny polisulfon, co pozwoliło uzyskać dobry materiał implantacyjny o sprężystości zbliżonej do tkanki kostnej i właściwościach mechanicznych porównywalnych ze stopami metalicznymi [4,5,6,10].

## Zastosowanie kliniczne

Zachęcające wyniki badań na zwierzętach pozwoliły na zastosowanie elementów zespalających z polisulfonu wzmocnionego włóknami węglowymi do stabilizacji złamań kości twarzy.

Dotychczas wyżej wymienione elementy zastosowano w I Klinice Chirurgii Szcękowo-Twarzowej w Zabrze u 3 pacjentów operowanych z powodu złamania żuchwy. U dwóch wykonano osteosyntezę w obrębie trzonu żuchwy i kąta żuchwy, a u jednego pacjenta w obrębie trzonu i wyrostka kłykciowego żuchwy.

We wszystkich przypadkach uzyskano stabilne anatomiczne zespolenie odłamów, a w okresie pooperacyjnym nie odnotowano powikłanego gojenia rany. Zastosowanie elementów zespalających z polisulfonu z włóknem węglowym nie wpłynęło na wydłużenie procesu zrostu kostnego.

Na wykonanych radiogramach kontrolnych zastosowane elementy nie były widoczne, a o ich obecności świadczyły jedynie dostrzegalne kanały kostne dla śrub oraz ana-

fluid can induce neoplastic processes and allergic reactions. Intrusion of an implant into natural electric system at the site of a fracture can destroy osteogenetic processes, which results in synostosis disturbances. Moreover, the potential differences stimulated by the metal are conducive to blood cells aggregation and thromboses [5, 10].

The influence of external electromagnetic fields on a live organism including a metal element can be destructive [10]. It creates some limitations in a diagnostic process; for example, MRI is not possible. Differences in resilience between a metal and a bone make the connecting elements produce anastomosis too stiff to produce enough external callus [4, 5, 6, 10].

The above listed disadvantages make many authors indicate a necessity of removing metal anastomosing elements after bone junction [1, 4, 7, 8]. It means that another operation would be necessary, which means another burden for a patient.

The above-described observations were an incentive for a research study on a material of big biocompatibility, comparable to a metal of mechanical parameters which do not provoke allergic and toxic reactions and undergo biodegradation. Fixation elements made of lactic acid polymers (PLLA), carbon and polysulphon composites [1, 4, 5, 6, 8, 9, 12] are the closest to fulfill those requirements. Some technologies produce materials of precisely defined properties, which could be used in different medical fields; for example, in ophthalmology, urology, laryngology, and orthopedics [2, 3, 9, 11, 12]. Carbon composites are most often used to produce prostheses and fixating elements. One limitation of using composites was their fragility. To improve mechanical properties of the composite, it was mixed with other materials. Very favorable results were obtained with biocompatible and thermoplastic polysulphon, which resulted in a very good implantation material of resilience similar to bone tissue and mechanical properties comparable to metallic alloys [4, 5, 6, 10].

## Clinical use

Encouraging results of the studies on animals enabled the application of fixating elements made of polysulphon reinforced with carbon fibres to stabilize facial bone fractures.

So far such elements were used in Maxillofacial University Hospital in Zabrze in 3 patients operated due to mandible fractures. Two patients had the osteosynthesis within the corpus and angle of the mandible, and another one within the body and condylar process of the mandible.

Rigid anatomic fixation of the bone fragments was received in all patients. No postoperative complications in wound healing were noted. Application of the fixating elements made of polysulphon with carbon fibre did not prolong the process of bone junction.

The control radiograms did not show the applied elements. Their presence was certified only by bone canals for the screws and anatomic position of the bone fragments. However, fracture fissures were visible along the whole radiograms.

## Discussion

Widely preferred treatment of facial fractures consisting of rigid plate osteosynthesis of bone fragments has only used metal fixating elements. Introduction into medicine such plastic materials as lactic acid polymers or carbon materials enabled working out systems of plates and screws with mechanical parameters similar to metal elements and also

## Dyskusja

Preferowany obecnie sposób leczenia złamań części twarzowej czaszki, polegający na stabilnej osteosyntezie płytkowej odłamów, stosowany był dotychczas wyłącznie w oparciu o metalowe elementy zespajające. Wprowadzenie do medycyny takich tworzyw sztucznych jak polimery kwasu mlekowego czy węglowe materiały złożone pozwoliło na opracowanie systemów płytek i śrub mających zbliżone do elementów metalowych parametry mechaniczne, a ponadto ulegających biodegradacji [1, 4, 5, 6, 8, 10, 12].

Według niektórych autorów metalowe elementy zespajające mimo swych niezaprzeczalnych zalet mogą powodować w żywym organizmie szereg niekorzystnych zjawisk, dlatego wymagają usunięcia po uzyskaniu kostnozrostu [1, 4, 5, 6, 10]. Z kolei Van Loon uważa, że produkty rozpadu elementów biowchłaniających mogą niekorzystnie zmieniać pH w okolicy złamania, co może opóźnić osteogenezę [5, 10]. Nie znajduje to potwierdzenia w naszych badaniach, gdyż u wszystkich pacjentów proces gojenia przebiegał bez powikłań, a po sześciu tygodniach uzyskano całkowity zrost odłamów.

Część autorów uważa, że mniejsza wytrzymałość wchłanianych płytek i śrub ogranicza ich zastosowanie jedynie do okolic, które nie podlegają dużym obciążeniom. Jednak dobre wyniki uzyskane przez innych naukowców nie potwierdzają tych obserwacji [4, 5, 12]. Niektórzy autorzy podkreślają, że dzięki swej małej gęstości elementy niemetalo- we nie przesłaniają szczeliny złamania w badaniu rentgenowskim, co pozwala na ocenę procesu gojenia [1, 4, 6, 8]. Cecha ta jednak może uniemożliwiać rozpoznanie uszkodzeń płytek lub śrub w okresie pooperacyjnym. Znacznie ważniejszą zaletą tak zwanej radioprzejrzystości jest możliwość dokładnego obliczenia dawki promieniowania u chorych onkologicznych w czasie radioterapii [5, 6, 7]. Wykonanie rekonstrukcji niektórych okolic twarzoczaszki, jak oczodół, wyrostek kłykciowy żuchwy czy przednia ściana zatoki szczękowej wymaga zastosowania znacznie zminiaturyzowanych elementów zespajających. W takich przypadkach przewagę zyskują elementy tytanowe, dające się ponadto łatwo kształtować i dostosowywać do naturalnych krzywizn. Znaczna grubość płytek i śrub z kompozytów i polimerów ogranicza ich zastosowanie w wymienionych okolicach [1, 8]. Z kolei za stosowaniem tych elementów w trudnodostępnych miejscach przemawia ich najistotniejsza zaleta - biodegradacja pozwalająca na uniknięcie kolejnego zabiegu operacyjnego, co jest znacznym obciążeniem dla pacjenta i podnosi koszty leczenia.

## Podsumowanie

Zastosowanie płytek i śrub z kompozytu węglowego wzmocnionego polisulfonem do zespajania odłamów żuchwy pozwoliło na uzyskanie dobrych wyników leczniczych porównywalnych z zastosowaniem elementów metalowych. Wskazuje to, iż użyte elementy spełniają wymagania stawiane stabilnej osteosyntezie płytkowej i w przyszłości będą stanowić alternatywę dla systemów tytanowych.

biodegradable. [1, 4, 5, 6, 8, 10, 12].

According to some authors, metal fixing elements, despite their unquestionable advantages, can cause numerous unfavorable processes, therefore they need to be removed after bone junction [1, 4, 5, 6, 10]. While Van Loon thinks that the products of bioabsorbable elements degradation can change pH unfavorably, which can delay osteogenesis [5, 10]. It was not confirmed in our study, since the healing process in all patients was without any complications and the complete bone healing was obtained after six weeks.

Some authors think that the lower durability of the absorbed plates and screws restricts their application to the areas that do not undergo heavy loads. However, favorable results obtained by other authors did not confirm those observations [4, 5, 12]. Some authors emphasize that due to their low density, non-metal elements do not shade the fracture fissure in radiograms which allows an evaluation of the healing process [1, 4, 6, 8]. On the other hand, this feature can prevent recognizing damages to plates and screws in the post-operative period. The more important advantage of the so-called radiotransparency is a possibility to calculate as precise radiation dose in case of patients with cancers for their radiotherapy [5, 6, 7]. Reconstruction of some areas of the facial skeleton, such as orbital cavity, condylar process of the mandible or front wall of maxillary sinus requires fairly miniaturized fixation elements. In those cases, titanium elements are superior, since they are easy to shape and to adapt to natural curves. Considerable thickness of composite and polymer plates and screws limits their application in the above-mentioned areas [1, 8]. While, biodegradation not requiring another operation, which is a burden for the patient and raises treatment costs, is the most essential advantage in applying those elements in areas difficult to access.

## Conclusion

The application of the carbon fibre plates and screws reinforced with polysulphon provided good treatment results in comparison with the application of metal elements. It means that the applied elements fulfill the requirements of a stable plate osteosynthesis and will be an alternative for titanium systems in the future.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Bessho K., Iizuka T., Murakami K-I.: A Bioabsorbable Poly-L-Lactide Miniplate and Screw System for Osteosynthesis in Oral and Maxillofacial Surgery. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1997, 55, 941-945.
- [2] Błażewicz S., Pamuła E., Bielecki I., Pilch J., Gierek T., Maliński M.: Węglowo-polimerowy warstwowy kompozyt dla kraniowo-tchawicznej rekonstrukcji- doniesienie wstępne. *Inż. Biomater.* 2000, 3 (10), 18-22.
- [3] Błażewicz M., Błażewicz S., Konieczna B., Pamuła E.: Nowy materiał dla laryngologii. *Inż. Biomater.* 2001, 4 (14), 21-26.
- [4] Bołtuć W., Kotecka I., Bryła A.: Możliwości zastosowania płytki z kompozytu polisulfon- włókno węglowe w leczeniu złamań kości. III Sympozjum Inżynieria Ortopedyczna i Protetyczna, IOP 2001, 23-28.
- [5] Cieślak T.: Płytki i śruby z kompozytu węgiel- węgiel do zespolenia odłamów żuchwy. Badania doświadczalne i kliniczne. Rozprawa habilitacyjna ŚAM Katowice 1993.
- [6] Cieślak T., Pogorzelska - Stronczak B.: Kliniczna ocena płytek i śrub z materiału złożonego węgiel- węgiel stosowanych do zespolenia złamanej żuchwy. *Czas. Stomat.* XLIX, 1996, 559-562.

[7] Cieślík T., Pogorzelska - Stroncak B., Szczurek Z., Skowronek J., Koszowski R., Sabat D., Zajęcki W.: Odpowiedź tkankowa na wszczep z materiału złożonego z włókien węglowych i polisulfonu. *Biomateriały w medycynie i weterynarii*, Rytro 1996, 21-24.

[8] Haidemann W., Gerlach K. L.: Anwendung eines resorbierbaren Osteosynthesystems aus Poly (D, L) Laktid In der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 2002, 1, 50-53.

[9] Kinoshita Y., Kobayashi M., Hidaka T.: Reconstruction of Mandibular Continuity Defects in Dogs Using Poly (L-Lactide) Mesh and Autogenic Particulate Cancellous Bone and Marrow. *Preliminary Report. J. Oral Maxillofac. Surg.* 1997, 55, 718-723.

[10] Marciniak J. *Biomateriały w chirurgii kostnej*. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 1992.

[11] Pisarev V. B., Mukhaev B. B., Brel A. K.: Ispolovanie poristogo polisulfona v kachestve novogo materiala dlia implantatsii v orbitu. *Biul. Eksp. Biol. Med.* 1996 Jun. 121, 6, 707-710.

[12] Suuronen R., Pohjonen T., Vasenius J., Vainionpaa S.: Comparison of Absorbable Self-Reinforced Multilayer Poly-L-Lactide and Metallic Plates for the Fixation of Mandibular Body Osteotomies. *An Experimental Study in Sheep. J. Oral Maxillofac. Surg.* 1992, 50, 255-262.

## ZASTOSOWANIE ŚRUB BIKORTYKALNYCH W CHIRURGII ORTOGNATYCZNEJ

JOANNA HERMAN, TADEUSZ CIEŚLIK

I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ

### Wstęp

Chirurgia ortognatyczna jest gałęzią chirurgii szczękowo-twarzowej zajmującą się korygowaniem wrodzonych i nabytych wad zębowo-twarzowych, a w szczególności dysproporcji pomiędzy wyrostkami zębodołowymi szczęki i żuchwy oraz związanych z nimi kości. Obecnie rozwój technik operacyjnych pozwolił na efektywne korygowanie niemal wszystkich takich wad. Jedną z najczęściej operowanych wad jest prognia, czyli nadmierny rozwój żuchwy ku przodowi. Procedury chirurgiczne niwelujące taką deformację kostną były opisane już na początku XX wieku, lecz osteotomia korygująca prognie nie była wykonywana rutynowo do 1950 r. Obecnie najpopularniejszym zabiegiem stała się tzw. strzałkowa osteotomia rozszczepiająca gałąź żuchwy. Po raz pierwszy została ona zastosowana przez Obwegesera w 1965 r. Od tego czasu sposób i technika operacyjna zostały odpowiednio zmodyfikowane, wprowadzono nowe metody nastawienia i sztywnego zespolenia odcinków kostnych, chociaż główna koncepcja i zalety procedury pozostają takie same. Stosuje się dwie metody sztywnej fiksacji: śruby bikortykałne oraz płytki monokortykałne wykonane z czystego tytanu bądź z nierdzewnej stali chromowo-niklowo-molibdenowej o niskiej zawartości węgla. Obecnie sztywna wewnętrzna fiksacja powszechnie zastępuje osteosyntezę wykonywaną drutem, co zmniejsza lub zupełnie eliminuje potrzebę fiksacji szczękowo-żuchwowej w utrzymaniu stabilności efektu chirurgicznego [3, 4].

### Materiał i metoda

W I Klinice Chirurgii Szczękowo-Twarzowej Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze wykonuje się zabiegi obustronnej strzałkowej osteotomii rozszczepiającej gałąź żuchwy, korygujące jej wrodzone zaburzenie rozwojowe w postaci prognii. W okresie od października 2002 do stycznia 2003 roku przyjęto do naszej kliniki 3 pacjentów: mężczyznę oraz kobietę w wieku lat 20 z rozpoznaną prognie

## THE APPLICATION OF BICORTICAL SCREWS IN ORTHOGNATHIC SURGERY

JOANNA HERMAN, TADEUSZ CIEŚLIK

I DEPARTMENT AND CLINIC OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY OF SILESIA MEDICAL ACADEMY

### Introduction

The orthognathic surgery is the part of the maxillofacial surgery focusing on the correction of congenital and acquired dentofacial deformities particularly disproportions between alveolar processes and associated bones. Nowadays almost all these defects can be effectively treated thanks to the development of new surgical procedures. The mandibular prognathism is one of the most frequently corrected malformations. The surgical procedures correcting this bone deformation have already been described at the beginning of XX century, but the osteotomy in corrective treatment of the prognia hasn't been largely performed up till 1950. Recently the mandibular bilateral sagittal split osteotomy has become the most popular technique. This osteotomy was performed for the first time in 1965 by Obwegeser. Then it has been developed gradually and adequately modified. New methods of repositioning and rigid fixation of bone fragments were introduced but the main conception and benefits of this procedure are still the same. Two methods of rigid fixation are used: bicortical screws and monortical plates made of pure titanium or stainless chromium-nickel-molybdenum steel with low carbon content. The rigid fixation has largely replaced the wire osteosynthesis and reduces or eliminates the requirements for maxillo-mandibular fixation while preserving the stability of the surgical result [3, 4].

### Material and method

In the I Department and Clinic of Oral and Maxillofacial Surgery of Silesian Medical Academy in Zabrze the mandibular prognathism is corrected by bilateral sagittal split osteotomy. From October 2002 to January 2003 three patients were admitted to our clinic: one man and one woman at the age of 20 with diagnosed prognia and one man at the age of 22 with diagnosed prognia, laterognia and retrognathia.

oraz mężczyznę w wieku lat 22 z rozpoznaną progną, laterogenią oraz retrognatią wymagających korekty chirurgicznej.

U wszystkich pacjentów wykonano zabieg operacyjny obustronnej strzałkowej osteotomii rozszczepiającej gałąź żuchwy. Do stabilizacji powstałych fragmentów kostnych zastosowano pozycyjne śruby bikortyczne systemu AESCULAP®. Śruby te są wykonane z czystego tytanu zgodnie z normami ISO-5832-2 dla materiałów implantologicznych oraz pokryte zabarwionym tlenkiem. Zastosowane śruby posiadały wymiary 2,0 x 16,0 mm. Śruby przed zastosowaniem podlegają sterylizacji parowej w temp. 134 st.C i pod ciśnieniem 2 bar.



RYS. 1.  
FIG. 1.

Zabieg operacyjny był poprzedzony dokładnym przygotowaniem ortodontycznym pacjenta z wykonaniem pełnej diagnostyki radiologicznej (RYS.1), analizy cefalometrycznej oraz modeli gipsowych w wyjściowym i pozabiegowym ustawieniu zgryzowym. Zabiegi wykonywano w znieczuleniu ogólnym dotchawicznym. Po odwarstwieniu tkanek miękkich odsłaniano trzon i gałąź żuchwy. Obustronnie wykonywano osteotomię w płaszczyźnie strzałkowej i uruchamiano centralny odcinek, co umożliwiło ustawienie łuków zębowych w zaplanowanym zgryzie. Następnie wykonywano zespolenie z użyciem opisanych wcześniej śrub bikortycznych. Stosowano jedną śrubę po każdej stronie, jako alternatywę stabilizacji drutem (RYS. 2). Wszystkim pacjentom po zabiegu zakładano sztywny wyciąg międzyszczękowy na okres 6 tygodni, który później zastępowano wyciągiem elastycznym.

## Wyniki

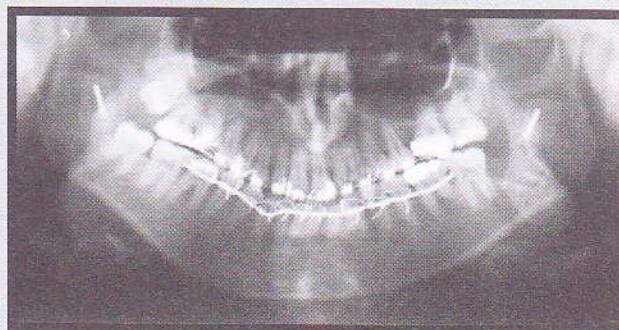
U wszystkich pacjentów bezpośrednio po zabiegu uzyskano pożądaną korektę zgryzu. U pacjentów z rozpoznaną wyłącznie progną nie stwierdzono żadnych przemieszczeń fragmentów kostnych ani ich ruchomości. U pacjenta ze złożoną wadą obejmującą prognę, laterogenię oraz retrognatię w okresie kontroli pozabiegowych stwierdzono zgryz prosty w odcinku przednim. W okresie popoperacyjnym u 2 pacjentów wystąpiło przejściowe zaburzenie czucia w obrębie nerwu bródkowego. U żadnego z pacjentów nie stwierdzono cech zakażenia ani zaburzeń ze strony stawów skroniowo-żuchwowych.

## Dyskusja

Zastosowany przez nas zabieg strzałkowej osteotomii rozszczepiającej gałąź żuchwy posiada wiele zalet, do któ-

The procedure of bilateral sagittal split osteotomy (BSSO) was performed in all 3 patients. The bicortical position screws of Aesculap's system were used for stabilisation of obtained bone segments. These screws are made of pure titanium in compliance with ISO 5832-2 for implant materials and coated with a coloured oxide. The size of screws was 2,0 x 16,0 mm. Before application the screws were sterilised in steam of 134°C/2 bar.

The surgery was preceded by accurate preoperative orthodontic treatment with radiological diagnosis (FIG.1), cephalographic analysis and diagnostic plaster models in primary and planned occlusal positions. All surgical procedures have been performed under intratracheal anaesthesia. The soft tissues' preparation preceded the exposure of the body and ramus of the mandible. The osteotomies were performed bilaterally in sagittal plane and the central bone segment was set in motion. Thanks to this the dental arches could be set in the planned occlusal position. Then the bone fixation was performed with the previously described bicortical screws. One screw has been applied on each side as the alternative of wire osteosynthesis (FIG. 2). In all patients we also used maxillo-mandibular fixation for 6 weeks which was later replaced by elastic one.



RYS. 2.  
FIG. 2.

## Results

In all patients the right occlusal correction was obtained postoperatively. In two patients with prognathism neither displacements nor movements of bone segments were observed. In one patient with complicated deformity including prognathism, laterognathism and retrognathism edge-to-edge occlusion was diagnosed in control studies. Postoperatively two patients had transient neurosensory disturbances of the mental nerve. Neither infections nor temporomandibular joint disorders were found in any patients.

## Discussion

The procedure of bilateral sagittal split osteotomy (BSSO) we used in our patients has many benefits like: great flexibility of replacing distal dentulous fragment, large surface of bone contact after reposition and minimal position change of masseter muscles and anatomical structures of temporomandibular joint. These benefits are intensified by the use of bicortical screws fixation that is the guarantee of better stability and bone healing.

The researches on bone fixation stability confirmed no differences between wire and bicortical osteosynthesis [1, 2] and no statistical differences in comparison to miniplate osteosynthesis [5]. We suggested the use of titanium bicortical screws in our clinic because of better material biocompatibility,

rych należą: duża elastyczność w przemieszczaniu dalszego, uzębionego fragmentu, duża powierzchnia nakładania (przylegania) odłamów po repozycji żuchwy oraz minimalna zmiana pozycji mięśni żwaczowych i elementów anatomicznych stawu skroniowo - żuchwowego. Zalety te są dodatkowo potęgowane przez zastosowanie fiksacji z użyciem śrub bikortykałnych, które gwarantują większą stabilność oraz poprawiają wzrost kostny.

W badaniach nad stabilnością połączenia kostnego po zastosowaniu śrub bikortykałnych nie odnotowywano różnic w stosunku do osteosyntezy z wykorzystaniem drutu [1,2], podobnie nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stosunku do osteosyntezy z wykorzystaniem miniplatek [5]. Należy jednak zauważyć różnice pomiędzy biogodnością materiałów, z jakich zostały wykonane tytanowe śruby bikortykałne i stalowy drut, którymi sugerowano się w naszej klinice. Tytan, jako najbardziej biokompatybilny metal, zmniejsza ryzyko odrzucenia elementu obcego przez organizm i infekcji pooperacyjnych.

W badaniach Paulusa i wsp. [4] opartych na grupie 221 pacjentów leczonych operacyjnie z powodu progenii stwierdzono mniejszy odsetek przemieszczeń w grupie, u której zastosowano śruby bikortykałne niż w grupie z osteosyntezą drutem. W pierwszej grupie stwierdzono większy odsetek powikłań dotyczących nerwu żuchwowego. Wśród 3 pacjentów leczonych tą metodą w naszej klinice odnotowano u dwóch przejściowe zaburzenia czucia ze strony nerwu bródkowego. Spowodowane jest to mniejszą kontrolą śródoperacyjną położenia kanału żuchwy podczas wprowadzania śrub bikortykałnych. W badaniach Paulusa w obu grupach nie stwierdzono powikłań ze strony stawów skroniowo-żuchwowych.

less risk of rejections and postoperative infections.

Paulus et al. [4] studied the group of 221 patients who had had the surgical treatment of the progenia and confirmed less relapse tendency in cases in which bicortical screws were applied than in wire osteosynthesis group. On the other hand in the first group slightly more alterations in the mandibular nerve were found. Three patients treated surgically in our department manifested transient neurosensory disturbances of the mental nerve. It is caused by limited possibilities of controlling the localisation of the mandibular canal during surgery. In Paulus et al. study there were no signs of an increase in temporomandibular joint problems in both groups of patients.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Choi BH, Min YS, Yi CK, Lee WY.: A comparison of the stability of miniplate with bicortical screw fixation after sagittal split setback. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000 Oct;90(4):416-9.
- [2] Dolce C, Hatch JP, Van Sickels JE, Rugh JD.: Rigid versus wire fixation for mandibular advancement: skeletal and dental changes after 5 years. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2002 Jun;121 (6): 610-9.
- [3] Schwartz HC, Relle RJ.: Bicortical-monocortical fixation of the sagittal mandibular osteotomy. *J Oral Maxillofac Surg.* 1996 Feb;54(2):234-5.
- [4] Paulus GW, Steinhauser EW.: A comparative study of wire osteosynthesis versus bone screws in the treatment of mandibular prognathism. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1982 Jul; 54(1): 2-6.
- [5] Tharanon W.: Comparison between the rigidity of bicortical screws and a miniplate for fixation of a mandibular setback after a simulated bilateral sagittal split osteotomy. *J Oral Maxillofac Surg.* 1998 Sep; 56(9): 1055-8.

## KOMPOZYTY KOPOLIMERU P(LLA/GLA) Z WŁÓKNEM WĘGLOWYM W WARTUNKACH DOTKANKOWEJ IMPLANATACJI – BADANIA WSTĘPNE

CIEŚLIK T.\*, ADWENT M.\*, BAJOR G.\*\*\*, CHŁOPEK J.\*\*\*, SABAT D.\*\*\*\*, BIELECKA A.\*

\*I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ ŚLAM, ZABRZE

\*\* KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII DZIECIĘCEJ ŚLAM, KATOWICE

\*\*\* WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI AGH, KRAKÓW

\*\*\*\*KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII ŚLAM, ZABRZE

Kopolimery polilaktydu i poliglikolidu znajdują szerokie zastosowanie w medycynie. Wytwarza się z nich między innymi elementy do zespalania złamanych kości w postaci klamer, gwoździ, płytek i śrub. Polimery ulegają biodegradacji w organizmach żywych, co jest ich niewątpliwą zaletą. Zastosowanie tych materiałów w ortopedii i traumatolo-

## THE COPOLYMERS P(LLA/GLA) REINFORCED WITH CARBON FIBRES IN RABBIT TISSUE – PRELIMINARY STUDY

CIEŚLIK T.\*, ADWENT M.\*, BAJOR G.\*\*\*, CHŁOPEK J.\*\*\*, SABAT D.\*\*\*\*, BIELECKA A.\*

\*I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ ŚLAM, ZABRZE

\*\* KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII DZIECIĘCEJ ŚLAM, KATOWICE

\*\*\* WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI AGH, KRAKÓW

\*\*\*\*KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII ŚLAM, ZABRZE

The P(LLA/GLA) copolymers are widely used in medical application. In traumatic surgery fixating elements such as clamps, nails, screws and plates are made of the polylactide/glycolide copolymers. The great advantage of the copolymers are biodegradation properties in living organisms. It means, that when the bone junction is con-

gii do zespalania złamanych kości wyklucza konieczność powtórnego zabiegu w celu ich usunięcia po uzyskaniu zrostu kostnego [4]. Dodatkową zaletą polimerów jest możliwość wytwarzania z nich termoplastycznych elementów zespalających [3]. Jednakże wadą, która wyklucza te materiały z szerokiego zastosowania jest ich mała wytrzymałość mechaniczna w stosunku do elementów metalowych. W chirurgii szczękowo-twarzowej elementy zespalające wykonane z polimerów służą do stabilizacji złamań środkowego i górnego piętra twarzy, gdzie siły działające na odłamy kostne są znacznie mniejsze niż w przypadku żuchwy. Sposobem na zwiększenie wytrzymałości mechanicznej elementów zespalających jest stworzenie kompozytu z włóknami węglowymi [1]. Przydatność włókniny węglowej jako biomateriału została potwierdzona licznymi badaniami [2]. Celem przeprowadzonych badań była ocena kompozytów kopolimerów polilaktyd/poliglikolid z włóknem węglowym w warunkach dotkankowej implantacji.

## Material i metody

Badania doświadczalne przeprowadzono na grupie 30 królików nowozelandzkich różnej płci i wadze 3500-4000 g. Wszystkie zabiegi przeprowadzono w Centralnej Zwierzętarzni Śląskiej Akademii Medycznej. Zwierzęta otrzymywały premedykację z atropiny i xylazyny, a następnie były usypiane przez dożylnie podanie ketaminy. Dodatkowo tkanki w okolicy operowanej ostrzykiwano roztworem lignokainy. W pierwszym etapie zabiegu nacinano skórę w rzucie lewej kości udowej. Preparując tkanki docierano do nasady dalszej lewej kości udowej. Wykonywano otwór w kości wiertłem o średnicy 3,2 mm. W tak przygotowany kanał wprowadzano wszczep wykonany z kompozytu polilaktyd/poliglikolid + włókno węglowe P(LLA/GLA+C) o średnicy 3,2 mm i wysokości odpowiadającej głębokości wykonanego otworu. Ranę zaszywano warstwowo. Następnie nacinano skórę w okolicy podżuchwowej po stronie lewej i po preparacji tkanek docierano do kości trzonu żuchwy po stronie lewej. Wykonywano otwór w dolnej krawędzi żuchwy wiertłem o średnicy 3,2 mm, w który wprowadzano walec z kompozytu P(LLA/GLA +C) o średnicy 3,2 mm i wysokości odpowiadającej grubości kości żuchwy. Ranę zaszywano. W kolejnym etapie zabiegu nacinano skórę na grzbiecie w linii pośrodkowej. Po przecięciu powięzi wykonywano kieszeń w mięśniu prosty grzbietu w którą wprowadzano badany wszczep. Kieszeń zaszywano szwem materacowym. Następnie wykonywano kieszeń w tkance podskórej. Wprowadzano w nią badany kompozyt i stabilizowano go szwem materacowym. Ranę zaszywano. Wszystkie rany zabezpieczano neomycyną i alusprayem. Zwierzęta przez cały okres pooperacyjny aż do likwidacji przebywały w Centralnej Zwierzętarzni Śląskiej Akademii Medycznej. Zwierzęta podzielono na 7 grup po 4 sztuki różnej płci w każdej. Okresy kontrolne wyznaczono po 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 tygodniu. Przeprowadzano badanie kliniczne zwierząt i badania laboratoryjne krwi. Po likwidacji zwierząt w danym okresie kontrolnym wypreparowywano lewą kość udową, trzon żuchwy po stronie lewej, pobierano fragment skóry z tkanką podskórną zawierającą badany wszczep oraz fragment mięśnia prostego grzbietu również zawierający badany kompozyt. Dodatkowo pobierano fragment wątroby i nerki.

## Wyniki

W grupie D1 po okresie 1 tygodnia badaniem klinicznym stwierdzono gojenie się ran przez rychłozrost. Nie stwierdzono obrzęku ani patologicznej wydzieliny z rany. Bada-

firmied, the polymers fixating elements do not have to be removed during another surgery [4]. The additional advantage of the copolymers are thermoplastic properties [3]. Unfortunately mechanical resistance of the polymers is low, compared with metallic fixating elements, so its application in traumatic surgery is limited. In the maxillofacial surgery the polylactide/glycolide palates and screws are used in middle and high levels of facial fractures, where mechanical loads are not very high comparing with mandible. Reinforcement of the copolymers with the carbon fibres is the way to improve mechanical endurance of fixating elements [1]. Usefulness of the carbon fibres as the biomaterials was confirmed with numerous studies [3]. The aim of this study was the evaluation of the P(LLA/GLA)+C copolymers in rabbit tissues environment.

## Materials and methods

The experimental study was performed on 30 New Zealand white rabbits both sex and weight between 3500-4000g. All animals received atropine and xylazine premedication, and then were anaesthetized with ketamine. Additionally tissues surrounding operation area were injected with lidocaine. In the first stage of surgery after incision over the left femoral bone, further base of the femur was exposed. The canal in the bone was made with 3,2 mm diameter bur. The size of P(LLA/GLA)+C implants was 3,2 mm in diameter and high corresponding with depth of prepared canal. Implants were placed in prepared canals. The wound was then sutured. In the second stage of surgery incision over left mandible corpus was made and the bone was exposed. The hole in the low mandible margin was made with the same techniques as in the femur. In the next stages implants were placed in the pockets made in subcutaneous tissues and in the muscles of the back. All the wounds were secured with neomycin and aluspray. The animals were divided into 7 groups. In every group were 4 animals, 2 males and 2 females. The control period were marked after 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 weeks, where clinical examination and laboratory tests were performed. After the rabbits were euthanized, left femur, left mandible corpus and ramus, skin with subcutaneous tissue and muscles were taken to radiological and histopathological evaluation. Fragments of kidney and liver were taken also.

## Results

In D1 group, after 1 week period, all wounds were healed primarily, without pathological secretion. Radiological study of mandible revealed round bone defect, diameter about 3mm, with osteosclerotic framing. The same showed femur radiograms. The histopathological evaluation showed in both femur and mandible young fibrous tissue covering prepared canal, with sign of bone osteogenetic activity. In the subcutaneous tissue implant was surrounded with fibrous capsule with presence of light inflammatory response. In the muscles young fibrous tissue with rich net of capillary blood vessels surrounded tested implants.

The two weeks period group D2 showed completely healed wounds without signs of infection. The mandible radiograms showed sharply boarded round bone defect, without osteosclerotic frame. The femoral radiograms showed presence of round bright interval with small traces of shading on circuit suggesting the atrophy of osteosclerotic frame. The implant canal in mandible was covered with fibrous tissue on the contrary of femur, were young sponge bone was visible. In the muscles and subcutaneous tissue fibrous

nie radiologiczne kości żuchwy wykazało obecność okrągłego przejaśnienia o średnicy około 3 mm wokół którego można było stwierdzić cienkie obramowanie świadczące o obecności otoczki osteosklerotycznej. Rtg kości udowej wykazało obecność przejaśnienia obramowanego otoczką osteosklerotyczną. Badania histopatologiczne uwidoczniły w żuchwy i kości udowej młodą tkankę łączną włóknistą pokrywającą wytworzony kanał, z cechami aktywnej odbudowy kostnej. Wszczep w tkance podskórnej otoczony był torebką łącznotkankową z obecnością skąpego wysięku zapalnego. W mięśniach wokół wszczepu znajdowała się tkanka łączna włóknista z bogatą siecią włosowatych naczyń krwionośnych.

Zwierzęta z dwutygodniowej grupy D2 miały całkowicie wygojone rany pooperacyjne bez widocznych cech infekcji. Radiologicznie w żuchwie widoczne było okrągłe przejaśnienie, ostro odgraniczone od kości lecz bez obecności otoczki osteosklerotycznej. Rtg kości udowej wykazało obecność okrągłego przejaśnienia i z niewielkimi śladami zacieńnienia na obwodzie świadczącymi o zaniku otoczki osteosklerotycznej. W żuchwie kanał wszczepu nadal pokryty był tkanką łączną włóknistą, natomiast w kości udowej obecna była młoda kość gąbczasta. W tkance podskórnej badanie histopatologiczne ujawniło wokół wszczepu pogrubiałą torebkę łącznotkankową z obecnością pojedynczych ziarniników typu około ciała obcego wokół fragmentów włókien węglowych. Podobne nieliczne ziarniniki stwierdzono w mięśniach, obok dojrzałej bliznowaciejącej tkanki łącznej włóknistej.

Po 3 tygodniach doświadczenia w grupie D3 badaniem klinicznym stwierdzono obecność blizn skórnych bez obecności zmian patologicznych. Badania radiologiczne żuchwy i kości udowej uwidoczniły ubytek kostny bez widocznych cech odczynu obronnego ze strony kości. W żuchwie wokół wszczepu nadal stwierdzono obecność tkanki łącznej włóknistej, w odróżnieniu od kości udowej, gdzie widoczna była warstwa kości zbitej i gąbczastej. Badanie histopatologiczne tkanki podskórnej wykazało obecność torebki łącznotkankowej zbudowanej z włókien kolagenowych i nielicznych makrofagów. W mięśniach obok torebki łącznotkankowej stwierdzano fibroblasty.

Badania histopatologiczne wątroby i nerek nie uwidoczniły w nich zmian patologicznych.

## Wnioski

Wstępne wyniki badań wykazują, że badane wszczepy we wczesnym okresie obserwacji nie wywołały odczynów zapalnych. Proces gojenia kompozytów P(LLA/GLA)+C w kości był odmienny w zależności od jej budowy. W kości płaskiej przebiegał na bazie tkanki łącznej, natomiast w kościach długich doszło do bezpośredniego połączenia się wszczepu z kością.

capsule with presence of few granulomas around the carbon fibres was revealed.

During 3 weeks examination in group D3 cutaneous scar was visible, without pathological secretions from wounds. Radiograms showed presence of bone defects, without signs of inflammatory processes. In the mandible fibrous tissue was covering bone defect. In the femur P(LLA/GLA) +C implant was directly jointed with bone without presence of fibrous tissue. In the subcutaneous area implant was covered with fibrous tissue, with presence of macrophages. In the muscles fibrous capsule with fibroblasts was visible. The histopathological evaluation of kidney and liver did not demonstrated any pathological changes.

## Conclusion

The results of preliminary study did not revealed any pathological changes in the tissues that could have been call out by presence of tested copolymers. The healing processes in the bone differed and depended of the bone structure. In the flat bones fibrous tissue was present but in the long bones full osteointegration could have been observed.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Chłopek J., Kmita G., Dobrzyński P., Bero M. Właściwości zmęczenia śrub z kopolimeru P(LLA/GLA) oraz kopolimeru wzmocnianego włóknami węglowymi. Inżynieria biomateriałów 2002, 23,24,25, 88-90.
- [2] Cieślak T., Pogorzelska-Stronczak B., Szczurek Z., Łaskawiec J., Zajęcki W. Ocena własności biologicznych płytek i śrub z materiału złożonego węgiel-węgiel (C-C). Czas. Stomatol. 1996, 7, 499-503.
- [3] Konieczna B., Pamuła E. Polimery termoplastyczne wzmocniane włóknami węglowymi do zastosowań medycznych. Inżynieria biomateriałów 2001, 17, 18, 19, 77-79.
- [4] Lajtai G., Humer K., Aitzetmuller G., Unger F., Noszian I., Orthner E. Serial magnetic resonance imaging evaluation of a bioabsorbable interference screw and the adjacent bone. Arthroscopy. 1999,15,481-488.

# OCENA PRZEBIEGU GOJENIA ZŁAMAŃ ŻUCHWY ORAZ FORMO- WANIA BLIZNY SKÓRNEJ POD WPŁYWEM ZMIEN- NYCH PÓL MAGNETYCZ- NYCH O NISKICH WARTOŚCIACH INDUKCJI

PIOTR JĘDRZEJEWSKI\*, TADEUSZ CIEŚLIK\*,  
ALEKSANDER SIEROŃ\*\*

\*I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ ŚAM W  
ZABRZU

\*\*KATEDRA I ODDZIAŁ KLINICZNY CHOROBY WEWNĘTRZNYCH I  
MEDYCYNY FIZYKALNEJ ŚAM W BYTOMIU

## Wstęp

W procesie gojenia ran i złamań wyróżniamy wiele faz [1]. Właściwe postępowanie chirurgiczne, często powiązane z fizykoterapią, zapewnia prawidłowy przebieg formowania blizny skórnej i kostnej oraz pełne przywrócenie funkcji narządu.

Celem oceny dynamiki przebudowy kostnej, oprócz diagnostyki radiologicznej, stosuje się metody biochemiczne. Wykonuje się pomiary enzymów specyficznych dla czynności komórek kościotwórczych oraz pomiary stężeń składników macierzy kostnej uwalnianych do krwi podczas jej przebudowy. Do najbardziej specyficznych czułych markerów tworzenia kości zaliczamy- kostną fosfatazę zasadową, osteokalcynę oraz C-końcowy propeptyd prokolagenu typu I [2, 3, 4].

W leczeniu urazów pomocniczą rolę spełnia leczenie fizykalne, które wykorzystuje różne rodzaje energii- cieplną, promienistą, elektryczną, elektromagnetyczną i mechaniczną oraz może się przyczynić do skrócenia okresu zdrowienia. W ostatnich latach dużą wagę skupiono na praktycznym wykorzystaniu pól magnetycznych w terapii wielu jednostek chorobowych [5, 6, 7, 8].

## Material i metodyka

Badaniem objęto 49 pacjentów z rozpoznaniem złamaniem trzonu żuchwy, leczonych w I Klinice Chirurgii Szczękowo-Twarzowej w Zabrze. Złamania zespalano z dojsca przezskórnego przy pomocy miniplatek tytanowych do osteosyntezy stabilnej. Po zespoleniu złamania ranę skórną sztyto warstwowo.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Biologicznej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach.

Pacjentów podzielono losowo na 3 grupy. Grupa I obejmowała 16 chorych, 3 kobiety i 13 mężczyzn w wieku 27-59 lat, grupa II złożona była z 16 pacjentów, 2 kobiet i 14 mężczyzn w wieku 25-54 lata, grupa III obejmowała 17 chorych, 2 kobiety i 15 mężczyzn w wieku 28-50 lat.

Grupę I poddano serii 20 zabiegów zmiennym polem magnetycznym o niskich wartościach indukcji, przy pomocy aparatu Viofor JPS. Zabiegi przeprowadzano przez 10 dni

# ASSESSMENT OF THE HEALING COURSE OF MANDIBLE FRACTURES AND SCARRING AFTER TREATMENT WITH MAGNETIC FIELDS OF LOW INDUCTION

PIOTR JĘDRZEJEWSKI\*, TADEUSZ CIEŚLIK\*,  
ALEKSANDER SIEROŃ\*\*

\* I DEPARTMENT OF MAXILLOFACIAL SURGERY, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, ZABRZE

\*\* DEPARTMENT OF INTERNAL DISEASES AND PHYSICAL MEDICINE, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, BYTOM

## Introduction

The process of fracture and skin wound healing consist of many stages. Appropriate surgical procedures, often combined with physiotherapy, ensures proper scarring of skin and bone, as well as full restitution of organ functions [1].

Beside radiological diagnosis, biochemical methods are often used to assess the rate of bone restructuring. Measurements of enzymes specific for cementoblast activities are carried out, as well as measurements of bone matrix components released to blood during the restructuring process. The most specific and sensitive markers of bone formation consist of the following: bone alkaline phosphatase, osteocalcine and C-ending propeptide of type I procollagen [2, 3, 4].

In injury treatment a supporting role is played by physical therapy aided by different kinds of energy- thermal energy, electrical energy, electromagnetic and mechanical energy, which can contribute to making the healing process faster. In recent years a great importance has been assigned to practical application of magnetic fields in treatment of many disease entities [5, 6].

## Material and method

The examination included 49 patients with diagnosed fracture of mandible shaft treated at the I Department of Maxillofacial Surgery in Zabrze. The fracture was anastomosed through transdermal inlet with the use of titanium miniplates for stabile osteosynthesis. After fracture anastomosis, the skin wound was sewed by layers.

The permit for the examination was issued by the Bioethical Committee of Medical University of Silesia in Katowice.

The patients were divide at random into 3 groups. Group 1 included 16 patients, 3 female and 13 male aged 27-59 years, group 2 comprised 16 patients, 2 female and 14 male aged 25-54 years and group 3 consisted of 17 patients, 2 female and 15 male aged 28-50 years.

Group 1 underwent a series of 20 treatment procedures with pulsed magnetic field generated by the Viofor JPS unit. The procedures were carried out for 10 days, starting the



od pierwszej doby po zabiegu, dwa razy dziennie, z 8 godzinną przerwą. W grupie II wykonano 14 zabiegów w czasie 14 dni, między 15 a 28 dniem od zabiegu operacyjnego, jeden raz dziennie. Grupę III potraktowano jako kontrolną, gdzie leczenia nie wspomagano działaniem zmiennego pola magnetycznego.

Diagnostyką radiologiczną wykonywano w pierwszej dobie przed zabiegiem, w 14 dobie po zabiegu i w 42 dobie po zabiegu. Badania laboratoryjne obejmowały morfologię krwi, badania poziomu wapnia i fosforu, fosfatazy zasadowej oraz frakcji kostnej fosfatazy zasadowej. Przeprowadzono także badania poziomu osteokalcyny i C-końcowego propeptydu prokolagenu typu I w osoczu. Powyższe badania przeprowadzono w dniu zabiegu, w 14 oraz 42 dobie od zabiegu. Po okresie 6 miesięcy przeprowadzono kolejny zabieg, podczas którego usunięto elementy zespalające kość. W trakcie zabiegu usuwano stara bliznę pooperacyjną, którą poddano ocenie morfologicznej i morfometrycznej. W każdym preparacie ocenie poddano 10 losowo wybranych pól. Oceniano włókna kolagenowe, komórki tkanki łącznej oraz naczyń krwionośne.

## Wyniki

W obrazie radiologicznym, w 14 dobie od zabiegu operacyjnego, w grupie I szpara złamania była wyraźnie widoczna lecz, w porównaniu do grupy II i III, obserwowano nasilenie odnowy kostnej. W 42 dobie, w grupie I, stwierdzono wyraźne cechy zrostu kostnego z wytworzeniem obfitej kostniny, w grupie II także widoczny był zaawansowany proces kostnienia. W grupie III obraz odpowiadał postępującemu procesowi kostnienia jednak w obrębie bliżniej zaobserwować można było mniejsze wysycenie solami wapnia i fosforu w stosunku do obrazu w grupie I i II.

Analizując wyniki badań stężenia osteokalcyny stwierdzono we wszystkich grupach jej systematyczny wzrost w 14 i 42 dobie od zabiegu operacyjnego. W grupie I, poddanej zabiegom magnetostymulacji od pierwszej doby po interwencji chirurgicznej, stwierdzono w 14 dobie znamienne statystycznie wzrost poziomu osteokalcyny w porównaniu z grupą II i III, utrzymujący się do 42 doby. W 42 dobie w grupie II i III stężenia osteokalcyny kształtowały się na podobnym poziomie.

Badając stężenie C-końcowego propeptydu prokolagenu typu I we wszystkich grupach stwierdzono wzrost jego poziomu w 14 dobie, a następnie w 42 dobie spadek. Jednak poziom tego markera w grupie I, w porównaniu z grupą II i III, w 14 dobie był znacznie wyższy.

W ocenie wyników poziomu stężeń frakcji kostnej fosfatazy zasadowej stwierdzono we wszystkich grupach wzrost poziomu w 14 dobie, a następnie w 42 dobie spadek. Jednak w grupie I, w 14 i 42 dobie od zabiegu, poziom kostnej fosfatazy zasadowej był wyższy niż w grupie II i III. W 14 dobie, w grupie I wzrost poziomu frakcji kostnej fosfatazy zasadowej był znamienne statystycznie.

Stężenie fosforu w grupie I również utrzymywało się na wyższym poziomie niż w grupie II i III, zarówno w 14 dobie, gdzie wzrost ten był statystycznie znamienne, jak i 42 dobie leczenia.

Stężenie wapnia we wszystkich grupach ulegało systematycznemu spadkowi w 14 i 42 dobie. W 14 dobie największy spadek poziomu wapnia, znamienne statystycznie, obserwowano w grupie I. W 42 dobie w grupie II spadek poziomu wapnia był również statystycznie istotny i porównywalny z grupą I, lecz bardziej widoczny niż w grupie III - kontrolnej.

W badaniach obrazu krwi obejmujących poziom krwinek czerwonych, hemoglobiny, hematokryt, poziom krwinek bia-

first day after surgery, twice a day with 8-hour break in between. Group 2 underwent 14 treatment procedures for 14 days, starting between 15 and 28 days after surgery, once a day. Group 3 was the control group whose treatment was not aided pulsed magnetic fields procedures.

The radiological diagnosis was carried out one day before surgery, 14 days after surgery and 41 days after surgery. Laboratory tests included blood cell count, calcium and phosphorus levels, alkaline phosphatase and bone fraction of alkaline phosphatase. Also, examination of osteocalcine level and C-ending propeptide of type I procollagen in plasma. All the above tests were carried out on the day of surgery, to be repeated 14 days and 42 days after surgery. After the period of 6 months another surgery was carried out to remove bone uniting parts. During the surgery the old postoperative scar was removed and put to morphological and morphometric assessment. In each sin each sample 10 halves picked at random were assessed. The analysis included fibres, cells of connective tissue and blood vessels.

## Results

In the x-ray image on the 14 day after surgery the fracture space was distinctly visible in group 1, but a greater increase of bone restitution was observed when compared with group 2 or group 3. on the 42 day distinct qualities of bone synostosis were detected together with abundant production of callus. In group 2 an advanced ossification process was discovered. The X-ray image of patient in group 3 reflected the advancing process, but the scar area revealed lower saturation with calcium and phosphorus salts than in patients in group 1 or 2.

Analyzing the osteocalcine level, all three groups revealed its steady increase on the 14 and 42 day after surgery. Patients in group 1, subjected to magnetostimulation from the first day after surgery on, revealed statistically significant increase of osteocalcine level on day 14 after surgery continuing until day 42, when compared with patients in group 2 and 3. on day 42 after surgery osteocalcine in group 2 and 3 remained at similar levels.

Examining saturation of C-ending propeptide of type I procollagen, all three groups revealed its increase on day 14 to decrease on day 42. However, the level of the marker in group 1 was much higher on day 14 compared with groups 2 and 3.

Assessing the saturation level of bone fraction of alkaline phosphatase, all three groups revealed its increase on day 14, and decrease on day 42. However, on days 14 and 42 after surgery the saturation level of bone fraction of alkaline phosphatase in group 1 was much higher than in the other two groups. On day 14 the increased level of bone fraction of alkaline phosphatase was statistically significant.

The phosphorus saturation in group 1 also remained at a higher level than in group 2 and 3, both on day 14, when the increase was statistically significant and on day 42.

The calcium saturation in all three groups was steadily decreasing on days 14 and 42. On day 14 the most considerable statistically relevant decrease in calcium level was detected in group 1. On day 42 a statistically relevant decrease in calcium level comparable to group 1 was detected in group 2. It was at the same time more visible than in the control group 3.

In the examination of blood image comprising levels of red blood cells, haemoglobin, haematocrit and white blood cells, all the results remained within laboratory standards and did not reveal significant differences between particular groups.

tych wszystkie wyniki mieściły się w przyjętych granicach norm laboratoryjnych i nie wykazywały istotnych różnic międzygrupowych.

W analizie histopatologicznej blizny skórnej, w grupie I włókna kolagenowe w przeważającej większości miały dość regularny przebieg i liczba ich była większa niż w grupie II i III. Liczba komórek tkanki łącznej (fibroblastów i fibrocytów) była nieco mniejsza niż w grupie III. Wyraźnie większa w tej grupie była liczba naczyń włosowatych zarówno w stosunku do grupy II, a zwłaszcza III.

W grupie II, w obrębie łącznotkankowej blizny włókna kolagenowe w przeważającej większości miały dość regularny przebieg i było ich mniej niż w grupie I, lecz więcej niż w grupie III. Liczba komórek tkanki łącznej była mniejsza niż w grupie I i III. Liczba naczyń włosowatych była mniejsza niż w grupie I, a większa niż w grupie III.

W obrębie łącznotkankowej blizny w grupie III włókna kolagenowe miały mniej regularny przebieg niż w grupie I i II, jak również ich liczba była mniejsza. Znacznie więcej było komórek tkanki łącznej, które grupowały się głównie wokół naczyń krwionośnych. Liczba naczyń krwionośnych była znacznie mniejsza niż w grupie I i II.

## Wnioski

1. Zmienne pole magnetyczne o niskich wartościach indukcji wpływa korzystnie na przebieg gojenia złamań żuchwy, co objawia się przyspieszeniem procesu kościotworzenia w ocenie radiologicznej.
2. Terapia zmiennym polem magnetycznym wpływa na wzrost poziomu markerów tworzenia tkanki kostnej. Świadczy to o nasileniu procesu formowania blizny kostnej.
3. Zastosowanie zmiennego pola magnetycznego o niskich wartościach indukcji w ranach skórnych modyfikuje proces gojenia, w wyniku czego dochodzi do wzrostu liczby naczyń krwionośnych włosowatych oraz zwiększenia ilości i ukierunkowania włókien kolagenowych.

The histopathological analysis of skin scar the collagen fibres in group 1 revealed mostly a regular pattern and their number was higher than in groups 2 and 3. the number of connective tissue cells (fibroblasts and fibrocytes) was slightly lower than in group 3. A considerably larger number of capillary vessels was discovered in group 3 when compared with group 2, and particularly group 3.

In group 2 the collagen fibres within the connective tissue scar revealed mostly a regular pattern. There were fewer of them than in group 1, but more than in group 3. The number of connective tissue cells was lower than in group 1 or 3. The number of capillary vessels was lower than in group 1, but higher than in group 3.

Within the connective tissue scar in group 3 the collagen fibres revealed somewhat less regular pattern than in group 1 or 2, and there was also fewer of them. There was more connective tissue cells, mainly grouped around the blood vessels. The number of blood vessels was considerably lower than in groups 1 or 2.

## Conclusions

1. Magnetic field of low induction has a positive effect on the healing course of mandible fractures, which is revealed in acceleration of bone formation process in radiological analysis.
2. Treatment with magnetic field results in increase of levels of bone formation markers. This is revealed by intensification of bone scar formation.
3. Application of magnetic field of low induction for skin wound treatment modifies the healing process, which results in increase in capillary blood vessels number, as well as increase in quantity and direction of collagen fibres.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Grabowska S.Z.: Współczesna koncepcja gojenia złamań kości. Czas. Stomat., 1994, XLVII, 9.
- [2] Brudnicki J., Niedźwiedzki T.: Monitorowanie wczesnych faz zrostu kostnego na podstawie zmian poziomu osteokalcyny w surowicy krwi. Chir. Narz. Ruchu Orto-P. Pol., 2002, 67 (1), 33-39.
- [3] Emani A., Larsson., Petren-Mallmin M., Larsson S.: Serum bone markers after intramedullary fixed tibial fractures. Clin. Orthop., 1999, 368, 220-229.
- [4] Grabowska S.Z., Rogowski F., Citko A.: Wybrane markery biochemiczne procesu przebudowy tkanki kostnej. Czas. Stomat., 1996, XLIX, 6.
- [5] Glinka M., Sieroń A., Birkner E., Grzybek H.: The influence of magnetic fields on the primary healing of incisional wounds in rats. Electromagnetic Biology and Medicine, 2002, 21, 2, 169-184.
- [6] Sieroń A., Glinka M.: Wpływ pól magnetycznych o zakresach terapeutycznych na proces gojenia się skóry i tkanek miękkich. Chir. Pol., 2002, 4, 4, 153-158.
- [7] Sieroń A., Sieroń-Stożny K., Mrugała-Przybyła B.: Aktualne spojrzenie na stosowanie pól magnetycznych w medycynie. Acta Bio-Optica Inform. Med., 2001, 7, 147-148.
- [8] Sadlonova J., Korpas J.: Personal experience in the use of magnetotherapy in diseases of the musculoskeletal system. Bratisl. Lek. Listy, 1999, 100 (12), 678-681.

# BADANIA NAD SYNTEZĄ SILIKONO-URETANÓW ORAZ WSTĘPNA OCENA ICH WŁAŚCIWOŚCI POD KĄTEM ZASTOSOWANIA JAKO BIOMATERIAŁÓW

JANUSZ KOZAKIEWICZ, JAROSŁAW PRZYBYLSKI,  
MAGDALENA BRZOZOWSKA, EWA TULIŃSKA-ŁUKASZEWSKA

INSTYTUT CHEMII PRZEMYSŁOWEJ,  
01-793 WARSZAWA, RYDYGIERA 8

Zarówno silikon, jak i poliuretany charakteryzują się wyjątkową biogodnością i są w związku z tym powszechnie stosowane jako materiały biomedyczne. Dodatkowe zalety poliuretanów, istotne w przypadku zastosowań biomedycznych, to duża wytrzymałość mechaniczna i odporność na ścieranie połączona z wysoką elastycznością. Silikony charakteryzują się natomiast doskonałą odpornością na wodę i wyjątkowymi właściwościami powierzchni. Powiązanie cech obu tych polimerów w jednym materiale - silikon-uretan - umożliwi uzyskanie tworzywa o wyjątkowych cechach z punktu widzenia zastosowania w technice transplantacyjnej. Potwierdzają to wyniki dotychczasowych badań nad syntezą i właściwościami silikon-uretanów prowadzonych w Instytucie Chemii Przemysłowej (IChP) [1]. Badania te wykazały, że nowe silikon-uretany otrzymane w IChP mają cechy materiałów hybrydowych, łączących w sobie cechy poliuretanów (znakomite właściwości mechaniczne) i silikonów (charakterystyczne właściwości powierzchni). Stwierdzono też niezwykle właściwości transportowe tych materiałów (zdolność zatrzymywania niektórych zanieczyszczeń organicznych w wodzie przez wykonane z nich membrany) [2]. Dzięki obecności segmentów siloksanowych w strukturze silikon-uretanów są one częściowo przepuszczalne dla gazów ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ , para wodna). Sprawia to że wykonane z nich elementy wykazują zdolność do "oddychania", co jest bardzo ważne w przypadku ich zastosowania jako ruszto- wań dla żywych komórek. Ponadto, materiały te otrzymuje się w formie ciekłej, praktycznej w stosowaniu (możliwość odlewania na zimno wyrobów o dowolnym kształcie i uzyskiwania powłok na innych materiałach), co dodatkowo wskazuje na możliwość ich zastosowania jako materiałów biomedycznych.

W badaniach prowadzonych nad silikon-uretanami w ramach PBZ-KBN-082-T08/2002 "Nowe materiały - Nanomateriały do zastosowań w technice i medycynie" przewidyje się sprawdzenie przydatności silikon-uretanów jako materiałów stanowiących podłoże dla namnażania się komórek i nadających się do stosowania w nowoczesnej transplantologii. Celem poznawczym jest określenie zależności między budową chemiczną i strukturą nadcząsteczkową (zwłaszcza nanostrukturą powierzchni) otrzymanych produktów z ich właściwościami istotnymi z punktu widzenia zastosowania w transplantologii.

W ramach etapu realizowanego w 2003 r. zaprogramo- wano syntezę próbek elastomerów silikonowo-uretanowych

# STUDIES ON SYNTHESIS OF SILICONE- URETHANES AND PRELIMINARY EVALUATION OF THEIR PROPERTIES IN VIEW OF APPLICATION AS BIOMATERIALS

JANUSZ KOZAKIEWICZ, JAROSŁAW PRZYBYLSKI,  
MAGDALENA BRZOZOWSKA, EWA TULIŃSKA-ŁUKASZEWSKA

INDUSTRIAL CHEMISTRY RESEARCH INSTITUTE,  
01-793 WARSZAWA, RYDYGIERA 8

Both silicones and polyurethanes are known as biocompatible materials and therefore are commonly used in medical applications. Additional advantages of polyurethanes which are quite relevant in medical applications include high mechanical strength and abrasion resistance combined with high elasticity. Silicones, from the other hand, are characterised by excellent resistance to water and specific surface properties. Combination of those features in a single material - silicone-urethane - allows to obtain product of exceptional characteristics from the point of view of transplantation technique. This has been confirmed by the results of investigations on synthesis and properties of silicone-urethanes carried out in Industrial Chemistry research Institute [1]. Those investigations have shown that new silicone-urethanes have characteristics typical for hybrid materials and really combine the features of polyurethanes (excellent mechanical properties) and silicones (specific surface properties). It has been also found that they have unusual transport properties (ability of membranes made from those materials to stop certain organic impurities contained in water has been proved) [2]. Due to the presence of siloxane segments in their structure, silicone-urethanes obtained in ICRI are partly transparent for gases ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ , water vapour). This imparts the unique "breathing" ability to the elements made from them, what is very important for their possible application as scaffolds. Moreover, those materials are obtained in a liquid form which facilitates practical application - cold casting of elements of any shape as well as coating of other materials is possible. This further indicates the possibility of using those materials in biomedical applications.

In the study carried out on silicone-urethanes in the framework of the PBZ-KBN-082-T08/2002 Project "New materials - Nanomaterials for use in technology and medicine" it is foreseen to check the applicability of silicone-urethanes as materials to be used as carriers for cells proliferation in modern transplantology. The scientific aim of the study is to determine the relationship between chemical structure and supramolecular structure (specifically nanostructure of the surface) of the obtained materials, and their properties relevant from the point of view of application in transplantology.

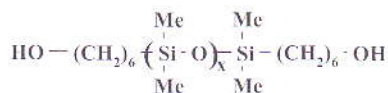
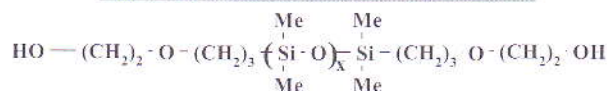
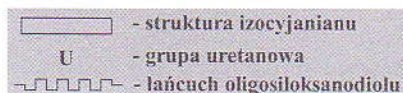
In the framework of the first step of the study carried out in 2003, synthesis of silicone-urethane elastomer samples in view of their application as biomaterials and their preliminary characteristics, as well as testing the possibility of ob-

pod kątem zastosowania jako biomateriały i ich wstępną charakterystykę, a także sprawdzenie możliwości otrzymania tych materiałów w postaci porowatej, niezbędnej dla ich zastosowania jako rusztowania dla żywych komórek.

Zsyntezowano ciekłe prepolimery silikonowo-uretanowe (polisiloksanouretany) o łańcuchach zakończonych reaktywnymi grupami NCO (I) stosując jako surowce wyjściowe oligosiloksanodiolu (II) o różnej strukturze łańcucha alifatycznego związanego z grupą hydroksylową i różnej długości łańcucha siloksanowego oraz diizocyjanian cykloalifatyczny (izoforonodiiizocyjanian) (III).



**Struktura (I), gdzie:**  
**Structures (I), where:**



**Struktury (II)**  
**Structures (II)**

Z tak otrzymanych prepolimerów uzyskiwano po utwardzeniu wilgocią z powietrza elastyczne folie, które następnie poddawano badaniom przed i po sterylizacji radiacyjnej, która była prowadzona w Instytucie Chemii i Techniki Radiacyjnej. Badano ich właściwości mechaniczne i właściwości powierzchni (kąąt zwilżania), a także strukturę (badanie widm w podczerwieni). Celem tych badań było sprawdzenie stopnia odporności silikonu-uretanów na sterylizację radiacyjną, która będzie musiała zostać przeprowadzona przed ich zastosowaniem jako biomateriałów. Technikę sterylizacji radiacyjnej wybrano na podstawie danych literaturowych dotyczących wpływu różnych metod sterylizacji na właściwości poliuretanów i silikonów [3], które wskazywały, że inne techniki sterylizacji (parą wodną lub tlenkiem etylenu) mogą powodować niekorzystne zmiany w strukturze tych materiałów. Wyniki tych badań przedstawiono szczegółowo na konferencji EMRS [4]. Przy pomocy metody EPR stwierdzono, że sterylizacja radiacyjna promieniowaniem gamma wywołuje powstawanie w silikonu-uretanach wolnych rodników, jednak nie powoduje to wyraźnych zmian w strukturze materiału, gdyż rodniki te są nietrwałe i rekombinują natychmiast ich po utworzeniu. Tym niemniej dla większości próbek stwierdzono zmiany zwilżalności powierzchni po napromieniowaniu.

Dla otrzymanych folii zbadano też wyciągi wodne (24 i 48 godzin, 70°C) pod kątem występowania w nich zanieczyszczeń, które mogłyby być wymywane przez płyny ustrojowe. Stwierdzono, że pH wyciągów wodnych nie ulega zmianie po tym okresie wygrzewania, a zawartość wymytych z próbek substancji organicznych jest minimalna (wartość absorpcji UV w określonych zakresach długości fali mieszczą się w granicach określonych w wymaganiach dla materiałów biomedycznych).

taining of those materials in a cellular form, which is needed if scaffold applications are concerned.

Liquid silicone-urethane prepolymers (polisiloxane-urethanes) terminated with reactive NCO groups were then synthesised from oligosiloxane diols (II) of different structure of aliphatic chain connected to hydroxyl group and different length of siloxane chain, and cycloaliphatic diisocyanate (isoforone diisocyanate) (III).

After moisture-curing of such prepolymers, the elastic films were obtained which were then characterised both before and after sterilisation that was carried out in the Institute of Nuclear Chemistry and Technology. Mechanical properties and surface properties (contact angle) as well as chemical structure (IR spectra) were studied. The aim of those investigations was to check to what extent the silicone-urethanes are resistant to sterilisation by irradiation which will have to be applied to all samples before their use as biomaterials. This particular sterilisation technique was se-



**Struktura (III)**  
**Structure (III)**

lected based on literature data concerning the effect of different sterilisation methods on the properties of polyurethanes and silicones [3]. These data showed that other sterilisation techniques (steam or ethylene oxide treatment) may result in adverse effects changing the structure of silicone-urethanes. Detailed results of those investigations were presented at the EMRS Conference [4]. Using EPR method it was found that sterilisation by gamma irradiation resulted in formation of free radicals in silicone-urethanes, but this did not lead to distinct changes in their structure since those radicals were not stable and recombined immediately after being formed. However, changes in surface wettability were observed for majority of samples.

Water extracts (24 and 48 hrs) of the films were tested for presence of impurities, which could be eluted by the body fluids. It was found that pH of the extracts did not change and the concentration of the organic substances eluted from the samples was minimal (UV absorption at specific wavelength ranges conformed to the requirements set up for biomedical materials).

Selected samples of silicone-urethanes were submitted to the Medical Academy in Warsaw for preliminary testing of the ability of cells to grow on such substrate.

Regardless of the synthesis of cast silicone-urethane elastomers, preliminary investigations aiming at obtaining those materials in the cellular form were carried out. Using the prepolymer of (I) structure as substantial starting material it was possible to obtain porous silicone-urethane of good mechanical properties. Further studies of such materials will be carried out in the next steps of the Project based on the results of preliminary evaluation of applicability of cast silicone-urethane elastomers as substrates for cell cultures.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] J. Kozakiewicz: Advances in moisture-curable siloxane-urethane polymers, Rozdział w "Advances in urethane science and technology", vol. 14, ed. K.C. Frisch i D. Klempner, Technomic Publ. Co., Lancaster-Basel, 2000, str. 97-149.  
[2] W. Czerwiński, B. Ostrowska-Gumkowska, J. Kozakiewicz, W.

Wybrane próbki silikonu-uretanów przekazano do AM w Warszawie do wstępnych badań zdolności wzrostu hodowli komórkowych na takim podłożu.

Niezależnie od syntezy litych elastomerycznych silikonu-uretanów przeprowadzono wstępne próby otrzymania tych materiałów w postaci tworzyw porowatych. Stosując jako podstawowy surowiec prepolimer o strukturze (I) udało się otrzymać silikonowo-poliuretanowy materiał porowaty o dobrych właściwościach mechanicznych. Dalsze badania nad takimi materiałami będą prowadzone w kolejnych etapach projektu w oparciu o wyniki wstępnej oceny przydatności litych silikonu-uretanów jako podłoża do wzrostu hodowli komórkowych.

Kujawski, A. Warszawski : Polysiloxaneurethanes - new materials for membrane separation processes, (przyjęte do druku w "Desalination").

[3] Y.Z. Zhang, L.M. Bjursten, C.Freij-Larsson, M. Kober, B. Wesslen : Tissue response to commercial silicone and polyurethane elastomers after different sterilization procedures, *Biomaterials* 17 (1996), 2265-2272.

[4] J. Kozakiewicz, I. Legocka, J. Sadło, M. Brzozowska, M. Celuch, J. Przybylski : Effect of polysiloxaneurethaneurea elastomer structure on free radical formation in sterilisation by E-beam/gamma irradiation, referat na EMRS Fall Meeting, Symposium E, Warszawa, 15-19.09. 2003.

## LECZENIE PRZETOK AORTALNO- DWUNASTNICZYCH PO ZABIEGACH REKONSTRUKCYJNYCH NA AORCIE BRZUSZNEJ Z UŻYCIEM PROTEZY IMPREGNOWANEJ SOLAMI SREBRA

ARTUR PUPKA, PAWEŁ CHUDOBA, STANISŁAW PAWŁOWSKI,  
ARTUR RUCIŃSKI, PIOTR SZYBER

KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII NACZYNIOWEJ, OGÓLNEJ I TRANS-  
PLANTACYJNEJ AM WE WROCŁAWIU

**Słowa kluczowe:** wtórna przetoka aortalno-dwu-  
nastnicza, zakażenie protezy naczyniowej, homograff  
tętniczy, proteza impregnowana srebrem

### Wstęp

Wtórna przetoka aortalno-jelitowa stanowi najczęściej obserwowaną postać przetoki między aortą i przewodem pokarmowym [1, 2]. Przetoka taka łączy najczęściej protezę naczyniową z przylegającym odcinkiem dwunastnicy [1, 2, 3]. Wtórne przetoki jelitowe powstają najczęściej w wyniku infekcji protezy naczyniowej zastosowanej w odcinku aortalnym i aortalno-biodrowo-udowym [3, 4].

### Materiał i metoda

W Katedrze i Klinice Chirurgii Naczyniowej, Ogólnej i Transplantacyjnej we Wrocławiu operowano w latach 1999 - 2002 4 chorych (mężczyźni) w wieku od 42 do 68 lat z zakażeniem protezy naczyniowej, powikłanym przetoką aortalno-jelitową. Wskazaniami do pierwotnego zabiegu naczyniowego był u wszystkich chorych tętniak aorty brzusznej i/lub tętnic biodrowych.

U wszystkich chorych wykonywano badanie ultrasono-  
graficzne Duplex-Doppler, tomografię komputerową jamy

## THE TREATMENT OF AORTO-DUODENAL FISTULAS AFTER RECONSTRUCTIVE OPERATIONS OF THE ABDOMINAL AORTA WITH THE USE OF SILVER PROSTHESIS

ARTUR PUPKA, PAWEŁ CHUDOBA, STANISŁAW PAWŁOWSKI,  
ARTUR RUCIŃSKI, PIOTR SZYBER

DEPARTMENT OF VASCULAR, GENERAL AND TRANSPLANTOLOGICAL  
SURGERY WROCLAW UNIVERSITY OF MEDICINE

**Key words:** secondary aorto-duodenal fistula, vas-  
cular graft infection, arterial homograff, silver-coated  
prosthesis.

### Introduction

The secondary aorto-duodenal fistula is the most frequently observed type of anastomosis between the aorta and the digestive tube [1, 2]. Such fistula usually connects the vascular prosthesis with the adherent part of the duodenum [1, 2, 3]. The secondary intestinal fistulas are usually the result of infection of the vascular graft in aortal or aorto-ilio-femoral segment [3, 4].

### Material and methods

In 1999-2002 in Department of Vascular, General and Transplantological Surgery at Medical University of Wrocław 4 patients (men) at 42-68 years of age were operated upon for vascular graft infection complicated by the aorto-intestinal fistula. The indications to the primary surgery were atherosclerosis of the aorta and/or iliac arteries in all cases.

In all patients Duplex Doppler ultrasound, abdominal CT, the scintigraphy with use of Technetium-labeled leukocytes, endoscopy of the upper gastrointestinal tract, bacteriologi-

brzuszej, badanie scyntygraficzne z użyciem leukocytów znakowanych technetem-99, endoskopię górnego odcinka przewodu pokarmowego, badania mikrobiologiczne oraz badanie poziomu białka ostrej fazy w surowicy krwi.

Zabieg operacyjny polegał na usunięciu zakażonej dakronowej protezy naczyniowej, odtworzeniu krążenia krwi i likwidacji przetoki dwunastniczej. U wszystkich chorych zastosowano protezę naczyniową impregnowaną solami srebra i uszczelnianą kolagenem.

## Wyniki

We wszystkich analizowanych przypadkach stwierdzono objawy krwawienia z górnego odcinka przewodu pokarmowego. Wszystkich chorych leczono operacyjnie. U 2 chorych stwierdzono ropienie protezy naczyniowej z przetokami w pachwinach. Do objawów septycznych należał wzrost poziomu CRP powyżej 45 mg/l u wszystkich pacjentów. W badaniu USG i TK jamy brzusznej wykazano obecność tętniaka rzekomego w okolicy górnego zespolenia protezy naczyniowej z aortą i naciek tkankowy i zapalny tej okolicy. W każdym przypadku potwierdzono zakażenie protezy naczyniowej badaniem scyntygraficznym z użyciem leukocytów znakowanymi technetem-99 migrujących do całej protezy naczyniowej (2 chorych) lub do jej dogłowego odcinka (2 chorych), co potwierdzono badaniem mikrobiologicznym. W duodenoskopii stwierdzano świeżą krew w świetle jelita.

We wszystkich przypadkach potwierdzenie obecności przetoki aortalno-jelitowej uzyskano śródoperacyjnie. W każdym przypadku stwierdzono obecność przetoki jelitowej w obrębie poziomej części dwunastnicy. Posiew z tkanek okolicy operowanej wykazał zakażenie szczepem MRSA i *Staphylococcus epidermidis*.

Wszystkich chorych leczono wymianą zakażonej protezy dakronowej na protezę impregnowaną solami srebra i uszczelnianą kolagenem (w 2 przypadkach prostą i w 2 rozwidloną aortalno-dwuodową). U tych chorych przetokę dwunastnicy zaopatrzono zeszywając ścianę jelita z użyciem sieci większej. Dwunastnicę szynowano również sondą dojelitową przeprowadzoną poniżej miejsca zeszywania przetoki.

W jednym przypadku w 14 dobie pooperacyjnej doszło do zgonu chorego z powodu zacieku treści dwunastniczej.

## Omówienie

Wtórna przetoka aortalno-jelitowa jest rzadkim, ale najcięższym powikłaniem zakażenia protezy naczyniowej, które z powodu krwotoków do przewodu pokarmowego prowadzi do śmierci chorego [1, 4-6]. Krwawienie do przewodu pokarmowego u chorych z protezą naczyniową aorty wskazuje na możliwość istnienia przetoki aortalno-jelitowej [4-6]. Pomimo stosowania całego wachlarza badań diagnostycznych trudno jest potwierdzić obiektywnie obecność przetoki bez weryfikacji śródoperacyjnej [2, 4]. Podstawą leczenia przetoki aortalno-dwunastniczej jest usunięcie zakażonej protezy i rekonstrukcja naczyniowa oraz przewodu pokarmowego [3, 7, 8]. Usunięcie zainfekowanej protezy naczyniowej jest warunkiem wygojenia przetoki [3, 4]. Obecnie najlepszym materiałem do odtworzenia krążenia krwi wydaje się być materiał tkankowy homo- lub autologiczny [8, 9]. Jako zabieg ratujący życie, przy braku homografitów tętnicznych, należy traktować użycie protezy impregnowanej solami srebra i uszczelnianej kolagenem [10]. Jest to proteza o zwiększonej oporności na zakażenie przydatna w leczeniu infekcji protez naczyniowych [10]. Ze względu na krótki okres obserwacji trudno jest nam jednoznacznie

cal examinations and the estimation of the C-reactive protein level performed.

Surgical treatment consisted of the complete removal of the infected dacron prosthesis with closure of the fistula and was followed by the restoration of blood flow. The infected vascular prosthesis was replaced with silver/collagen-coated prosthesis in all patients.

## Results

In all analysed cases the symptoms of the upper gastrointestinal hemorrhage were noted. All patients were surgically treated. In all cases the examination revealed prosthesis infection with purulent fistulas in inguinal regions. The patients developed also septic symptoms such as increased level of C-reactive protein (CRP) above 45mg/l. Abdominal CT and ultrasound examination revealed false aneurysm of the upper aortoprosthetic anastomosis or inflammatory infiltration of the tissues in this region. In all cases the scintigraphy displaying Technetium99m-labeled leukocytes migration to the aorto-bifemoral prosthetic (4 patients) and to the proximal aortoprosthetic anastomosis (6 patients) and microbiological examination confirmed the infection of prosthesis. The duodenoscopy revealed the fresh blood in the lumen of the intestine.

The bacteriological examination of the fistula region disclosed Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Staphylococcus epidermidis*.

In 4 patients treated with the replacement of the infected dacron graft with silver/collagen-coated prosthesis the duodenal fistula closure with two layers of stitches and with use of the greater omentum was performed. Intestinal catheter was conducted through the lumen of the duodenum below the sutures of fistula. One case of death 14 days after surgery because of leakage of the intestinal contents occurred among them.

## Discussion

The secondary aorto-intestinal fistula is a rare complication of the vascular prosthesis infection but it is the most serious one due to the intestinal hemorrhage that leads to the patient's death [1, 4-6]. The aorto-intestinal fistula should be suspected in patients after prosthesis implantation if they developed gastrointestinal hemorrhage with hematemesis, fecal occult or fresh blood or even hypovolemic shock [4-6]. It is difficult to confirm the enteroprosthetic fistula before surgery despite of use of many specialistic diagnostic studies [2, 4]. The treatment of the aorto-duodenal fistula consists of complete removal of the infected graft followed by vascular and intestinal reconstructive surgery [3, 7, 8]. The remove of infected prosthetic determinate of healing of fistula [3, 4]. In our opinion now the best material used to restore the blood flow is homologous or autologous tissue material [8, 9]. When there is no possibility of use of the arterial homograft, silver/collagen-coated prosthesis could be also used, but it should be limited to the critical states [10]. This is kind of the prosthetic graft more resistant to infection than normal dacron or PTFE grafts [10]. Because such prostheses are used for a short time it is difficult to judge explicitly positively their usefulness in the treatment of aortoduodenal fistulas.

The stitch of duodenal fistula with protection of pedicled fragment of the greater omentum is the lesser of the operation range but this method is load of the most of the risk of the leakage of the duodenal contents [7].

pozytywnie ocenić ich przydatność w leczeniu przetok aortalno-dwunastniczych.

Zaopatrzenie przetoki dwunastnicy przez jej zeszytanie i zabezpieczenie płatem sieci większej jest mniej obciążającym zabiegiem dla chorego, ale obciążonym większym ryzykiem zacieku żółciowego [7].

### Wnioski

1. Wtórna przetoka aortalno-dwunastnicza jest najpoważniejszym powikłaniem infekcji protezy naczyniowej wymagającym bezwzględnie szybkiej interwencji chirurgicznej.
2. Polecamy stosowanie protez naczyniowych impregnowanych solami srebra w leczeniu przetok aortalno-dwunastniczych.

### Piśmiennictwo

[1] Pipions II, Car JA, Haithcock BE, Anagnostopoulos PV, Dossa ChD, Reddy DJ.: Secondary aortoenteric fistula. *Ann Vasc Surg* (2000), 6, 688-696.

[2] Bastounis E, Papalambros E, Meringas V, Maltezos C, Diamantis T, Balas P.: Secondary aortoduodenal fistulae. *J Cardiovasc Surg* (1997), 38, 457-464.

[3] Ziaja K, Zaniewski M., Majewski E, Urbanek T, Krupowies A.: Przetoka protezowo-dwunastnicza: rozmiar zakażenia przestrzeni zewnątrzotrzewnowej a optymalny wybór metody operacyjnej. W: Wybrane zagadnienia z chirurgii naczyń. Pod red. W. Witkiewicza. Wrocław 1996, s. 39-43, 26 Zjazd Sekcji Chir. Kl. Piersiowej, Serca i Naczyń TChP Wrocław 1996.

[4] Pupka A, Skóra J, Szyber P.: Przetoki aortalno-dwunastnicze w materiale własnym. *Chir Pol* (2000), 2, N-76, 115.

[5] Mołski S, Jundziłł W, Mackiewicz Z.: Taktyka operacyjna we wtórnych przetokach aortalno-jelitowych. W: Wybrane zagadnienia z chirurgii naczyń. Pod red. W. Witkiewicza. Wrocław (1996), s. 51-55, 26 Zjazd Sekcji Chir. Kl. Piersiowej, Serca i Naczyń TChP Wrocław 1996.

### Conclusions

1. The secondary aorto-duodenal fistula is the most severe complication of the vascular prosthesis infection and it requires immediately surgical intervention.
2. In our opinion the use of silver coated prosthesis in the treatment of aorto-duodenal fistulas is recommendable since.

### References

[6] Gutowski P, Butkiewicz J, Cnotliwy M., Szumilowicz G.: Przetoki pomiędzy protezą aorty a jelitem. *Pol Przegl Chir* (1996), 68, 584-588.

[7] Friedrich J, Erhard J, Eigler FW.: Aorto-duodenal fistula - direct suture and pedicled omentum flap-plasty. *Zentralbl Chir* (1997), 122, 565-568.

[8] Chiesa R, Astore D, Frigerio S., Garriboli L, Piccolo G, Castellano R, i wsp.: Vascular prosthetic graft infection: epidemiology, bacteriology, pathogenesis and treatment. *Acta Chir Belg* 2002, 102, 238-247.

[9] Locati P, Novali C, Socrate AM, Costantini E, Morlacchi E, Piazalunga G, i wsp.: The use of arterial allografts in aortic graft infections. A three year experience on eighteen patients. *J Cardiovasc Surg* (1998), 39, 735-741.

[10] Pupka A, Skóra J, Janczak D, Ruciński A, Korta K, Barć P, i wsp.: Leczenie masywnego zakażenia w chirurgii naczyniowej przy użyciu protezy dakronowej, uszczelnianej kolagenem i impregnowanej solami srebra. *Polim Med* (2003), 23, 41-46.

## POSZUKIWANIE NOWYCH TECHNOLOGII I METOD LECZENIA W ORTOPEDII, TRAUMATOLOGII I REHABILITACJI

BOGUSŁAW FRANĆZUK\*, IRENEUSZ KOTELA\*\*

\*KLINIKA CHIRURGII URAZOWEJ, ORTOPEDII I REHABILITACJI COLLEGIUM MEDICUM UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO, KRAKÓW  
\*\*ODDZIAŁ CHIRURGII URAZOWO-ORTOPEDYCZNEJ I REHABILITACJI, SP ZOZ, DĄBROWA TARNOWSKA

Ostatnie lata przynoszą istotny postęp w chirurgii narządu ruchu i naukach pokrewnych. Obserwować można stopniowe przemieszczanie punktu ciężkości badań z rozważań nad mechaniką endoprotez, stanowiących bez wątpienia istotne osiągnięcie w leczeniu zaawansowanych zmian zwyrodnieniowych, na poszukiwania rozwiązań opierających się na wykorzystaniu biologicznych własności komórek i tkanek. Podejście to widać zarówno w badaniu odpowiedzi tkankowej na wszczepę, jak i w badaniach nad inżynierią

## NEW TECHNOLOGIES AND TREATMENT STRATEGIES IN ORTHOPEDICS, TRAUMATOLOGY AND REHABILITATION

BOGUSŁAW FRANĆZUK\*, IRENEUSZ KOTELA\*\*

\*KLINIKA CHIRURGII URAZOWEJ, ORTOPEDII I REHABILITACJI COLLEGIUM MEDICUM UNIWERSYTETU JAGIELLOŃSKIEGO, KRAKÓW  
\*\*ODDZIAŁ CHIRURGII URAZOWO-ORTOPEDYCZNEJ I REHABILITACJI, SP ZOZ, DĄBROWA TARNOWSKA

The substantial progress in the orthopedic surgery as well as in the related scientific disciplines has been done during last years. The researchers translocated their interests from the considerations of endoprostheses mechanics (which were the mile stone in the treatment of advanced arthritic changes), to the strategies based on the usage of the tissues' and cells' natural characteristics. This attitude

tkankową kości i chrząstki czy poszukiwaniu biologicznych markerów schorzeń tkanki kostnej [8].

Jednym z węzłowych problemów ortopedii jest zjawisko osteolizy, występującej wokół endoprotez, wywołanej obecnością mikrocząstek materiałów i stanowiącą podstawową przyczynę aseptycznego obłuzowania wszczepów. Zjawiska osteolizy w takich przypadkach wywołane są stymulacją proliferacji i różnicowania prekursorów osteoklastów w komórki dojrzałe. Zachodzi to pod wpływem cytokin powstających w nadmiarze w wyniku fagocytozy produktów zużycia przez makrofagi. Ostatnio udało się zidentyfikować pojedyncze cytokiny, biorące udział w tym procesie, należące do układu OPG/RANKL/RANK. Wykazano, że pobudzenie receptora RANK na powierzchni komórek prowadzi do ich przekształcenia w aktywne osteoklasty; w wyniku dochodzi do nasilenia resorpcji kości. Znaczącą rolę przypisuje się tu również TNF- $\alpha$ . Określenia tych mechanizmów może w sposób istotny wpłynąć na koncepcję leczenia aseptycznego obłuzowania endoprotez - rozważa się tu zastosowanie leków hamujących działanie TNF- $\alpha$ , takich jak etanercept, wykorzystywany w leczeniu schorzeń reumatoidalnych. Inną możliwością jest stosowanie leków z grupy bifosfonianów, w szczególności alendronatu, którego działanie potwierdzone zostało w badaniach przedklinicznych i klinicznych [4].

Innym ważnym kierunkiem rozwoju ortopedii są nadal badania nad współpracującymi powierzchniami biomateriałów. Badania te obejmują między innymi próby kontrolowanego sieciowania polietylenu o wysokiej gęstości, najpopularniejszego obecnie materiału do wytwarzania panewek endoprotez stawowych. Taka modyfikacja materiału miałaby przynieść znaczne zmniejszenie zużycia powierzchni współpracujących, ocenianego obecnie na 0,1 do 0,2 mm na rok. Dotychczasowe badania *in vitro* potwierdzają 85% spadek zużycia powierzchni panewki z tak modyfikowanego materiału, jednakże niektóre obserwacje kliniczne, dotyczące polietylenu o firmowej nazwie Hylamer™, wykazują jego zwiększoną kruchość i podatność na pęknięcia. Inne badania nad konstrukcjami endoprotez obejmują również ocenę alternatywnych materiałów i konstrukcji, takich jak metal-metal (modyfikacje klasycznego implantu McKee-Farrar), ceramika-polietylen, czy ceramika-ceramika. Oprócz ceramiki aluminiowej proponowane jest również stosowanie ceramiki cyrkonowej do wytwarzania głów endoprotez stawu biodrowego. Pewne nadzieje wiązać można z dalszym rozwojem technologii materiałów supertwardych, takich jak azotek boru (borazon), różne postacie krystaliczne węgla krzemowego, czy azotek krzemu oraz azotek i węgiel boru [7].

Ważnym zakresem badań biologicznych jest zagadnienie inżynierii tkankowej, szczególnie istotne w leczeniu zmian chrząstki stawowej. Dzięki rozwojowi mało inwazyjnych metod oceny stanu powierzchni stawowej, do których zaliczyć można artroskopowe optyczne lub mechaniczne badanie podatności chrząstki, coraz więcej zmian chrzęstnych jest obecnie wykrywanych na wczesnym etapie rozwoju. W części przypadków odpowiednie leczenie może zapobiec powiększaniu się ubytków chrzęstnych, jednak w wielu przypadkach konieczne staje się biologiczne odtworzenie powierzchni stawowej. Zastosowanie wszczepów chondrocytów w substytucji macierzy chrzęstnej, mającej własności mechaniczne zbliżone do zdrowych tkanek, może stać się w takich przypadkach metodą z wyboru. Podobne rozwiązania proponowane są również w leczeniu ubytków kostnych. Do rozwiązania pozostaje jednak problem interakcji komórek z otaczającą je syntetyczną substancją międzykomórkową do momentu wytworzenia okołokomórkowej warstwy macierzy chrzęstnej lub kostnej. Zagadnienie to wiąże się ściśle ze stosowaniem w leczeniu *in vivo* oraz w inżynierii tkankowej czynników wzrostu takich jak białka

is seen in researches devoted to tissue reaction for grafts as well as in tissue engineering experiments or in searching biological markers of bone tissue disorders [8].

One of the key issue in today's orthopedics is the osteolysis phenomenon, which happens around the prostheses and is caused by the presence of the graft's debris. This results in aseptic loosening of the endoprostheses. The stimulation of the proliferation and differentiation of the osteoclast's precursors into mature cells cause this type of osteolysis.

The process is affected by cytokines, which are produced as a result of macrophage's fagocytosis of debris. The specific OPG/RANKL/RANK scheme of the cytokines involved in this process has been lately identified. It has been shown that the RANK receptor's stimulation results in the cells transformation into active osteoclasts and in bone resorption's increase, in consequence. TNF alpha plays important role in this process. The designation of these relations may influence the strategy of the treatment of the aseptic loosening. The usage of TNF blockers is considered, etanercept used in RA treatment for example. The usage of bisphosphonians, especially alendronate the efficacy of which was proven in phase II and III studies, is also considered [4].

The researches on bearing surfaces of the biomaterials are still another key issue in today's orthopedics. These researches comprise the trail of the controlled crystallization of HDPE which is the most popular material for acetabular components. This modification should result in decrease of the bearing surfaces wearing which is estimated for traditional materials for 0.1-0.2 mm per year. *In vitro* studies which have been conducted up till now confirm decrease of the wearing process in components made from modified HDPE, although some clinical observations have showed durability decrease of the Hylamer™ HDPE. Other trials concerning endoprostheses' construction comprise also the assessment of alternative materials' concepts such as metal-metal (modification of the classic McKee-Farrar's implant), ceramics-polyethylene, or ceramics-ceramics. Zirconium ceramics was proposed as the material for head components of hip implants besides aluminium's ceramics. There are some new possibilities due to further development of super hard materials such as boron nitride, different crystalline forms of silicon carbide or silicone nitride as well as boron carbide [7].

The tissue engineering is another important field of biological researches especially these dedicated to the treatment of the articular cartilage disorders.

The mini invasive diagnostic techniques (arthroscopic optical or mechanical assessment of the compliance of the cartilage) allows for early detection of cartilage's disorders. Although the accurate treatment may prevent the progress in cartilage devastation in some cases, the biological reconstruction of the articular surface is often necessary. The first choice method is implantation of chondrocytes suspended in an artificial cartilage matrix. This complex reveals mechanical features similar to the healthy tissue. The similar strategy is suggested also for the bone deficiency treatment. The problem of the interaction between the cells and surrounding synthetics matrix until the time of producing pericellular layer of natural cartilage or bone matrix is still unresolved. This issue is reflected in *in vivo* test usage of tissue growth factors such as MBP, FGF, PDGF, CGF. These factors are produced in genetic engineering processes by expressing of relevant genes in tissue cultures, so they are used as endogenous material. *In vivo* and *ex vivo* gene therapy is alternative strategy based on the incorporation of the necessary gene into treated organism by the specific vectors. This method used experimentally in some



morfogenetyczne kości, czynniki wzrostu fibroblastów czy płytkopochodne czynniki wzrostu i czynniki wzrostu chrząstki. Czynniki te mogą być stosowane jako zewnątrzpochodne, obecnie najczęściej otrzymywane metodami inżynierii genetycznej poprzez ekspresję odpowiednich genów w hodowlach komórkowych. Alternatywą wydaje się terapia genowa *in vivo* lub *ex vivo*, gdzie niezbędne geny są inkorporowane do organizmu chorego przy pomocy odpowiednich nośników. Metoda ta, stosowana eksperymentalnie w wybranych schorzeniach (przerzuty nowotworowe, mukowiscydoza) może mieć zastosowanie w leczeniu urazów i schorzeń narządu ruchu.

W podspecjalnościach ortopedii największy postęp obserwuje się w traumatologii, w tym w traumatologii sportowej. Jak w latach poprzednich w centrum uwagi znajduje się zagadnienie sportowych uszkodzeń więzadeł krzyżowych kolana. Ciekawą obserwacją epidemiologiczną jest fakt, że do uszkodzenia ACL u kobiet dochodzi najczęściej w 10-14 dniu cyklu miesięczkowego, to jest w okresie owulacji. W związku z tą obserwacją niektórzy autorzy sugerują ochronną rolę doustnych środków antykoncepcyjnych w sporcie kobiecym.

W przypadkach uszkodzeń PCL w kilku pracach rozważana jest alternatywna do odtworzenia więzadła metoda osteotomii nasady bliższej piszczeli, mająca zapewnić poprawę stabilności kolana w wyniku przemieszczenia biernych stabilizatorów kostnych stawu [1, 5, 10].

Interesujące wydają się również spostrzeżenia grupy badaczy z Ontario, gdzie w ocenie 14391 chorych u których wykonano artroskopowe oczyszczenie stawu kolanowego (debridement), obserwowano istotne pogorszenie wyników w grupie powyżej 50 roku życia. Autorzy sugerują dokładniejszą kwalifikację do zabiegów w przypadkach gonartrozy w tej grupie wiekowej [9].

W postępie traumatologii ogólnej zwracają uwagę prace dotyczące złamań kłykci piszczeli w wyniku urazów o niskiej i średniej energii. Proponowana jest dalsza redukcja rozległości zabiegu operacyjnego, uzyskiwana dzięki zamkniętej repozycji przemieszczenia powierzchni stawowej pod kontrolą artroskopii i wykorzystaniu substytutów przeszczepów kostnych - na przykład cementów wapniowo-fosforanowych. Jednak najważniejszym czynnikiem wpływającym na dobry wynik leczenia pozostaje wiek - powyżej 40 roku życia odsetek wyników niezadowolających znacząco wzrasta.

Jako przełom w leczeniu wieloodłamowych złamań dalszej nasady kości udowej i bliższej nasady piszczeli wprowadzana jest minimalnie inwazyjna osteosynteza płytkowa LISS (Less Invasive Stabilization System). W stosunkowo niewielkiej grupie chorych, u których zastosowano tę metodę, wyniki były bardzo dobre. Bardzo dobre wyniki uzyskano również w leczeniu operacyjnym bliższego końca kości piszczelowej, w którym jako materiału zespalającego użyto kompozytowych klamer węglowych. Konieczne wydają się jednak dalsze badania kliniczne [6].

Dążenie do minimalizacji zabiegu operacyjnego występuje również w chirurgii kręgosłupa. Do stosowanej od wielu lat minimalnej dyscektomii, wykonywanej metodami chemicznymi (enzymatycznymi), fizycznymi (laser) i mechanicznymi, dołączono zabiegi endoskopowe przedniej stabilizacji międzyztrzonowej w złamaniach i zmianach zwyrodnieniowych kręgosłupa. W chirurgii kręgosłupa zastosowanie znajdują również metody trójwymiarowej nawigacji chirurgicznej, które mogą być wstępem do robotyzacji niektórych zabiegów ortopedycznych. Podobna możliwość rysuje się w dziedzinie endoprotezoplastyki stawów biodrowych, jednak prace nad porównaniem wyników zabiegów wykonywanych ze wspomaganiami nawigacją z wykonanymi me-

diseases (neoplastic metastases, cystic fibrosis) might be useful in treatment of injuries and orthopedic disorders.

Spectacular progress is observed in general and sport traumatology. Researchers' interests are focused on the sport injuries of the crucial ligaments. It was noticed that ACL injuries in women are observed between 10 and 14 day of menstrual cycle, it means during ovulation period. That is way some authors suggest the preventive role of oral contraceptive against injuries in women's sports.

The high tibial osteotomy is considered alternative for ligament reconstruction in cases of PCL injuries. This method should improve stability of the knee as a result of transferring of the passive knee stabilizers [1, 5, 10].

The researchers from Ontario reported a group of 14391 patients underwent arthroscopic knee debridement. The authors have observed significantly poorer outcomes among the patients above 50 year of life. The authors suggest more accurate qualification for the surgery in the case of patients in this group of age [9].

The publications devoted to tibial condylar fractures caused by injuries of low and moderate energy are one of the key issues, while discussing progress in general traumatology. The minimalization of the surgery is strongly suggested. It is achievable by the arthroscopic closed reduction. Usage of bone graft substitutes (e.g. calcic-phosphoric cement) is recommended. Nevertheless patients' age is still the most important prognostic factor. The percentage of unsatisfactory outcomes increases significantly among patients above 40 year of life.

The Less Invasive Stabilization System is a mile stone in the treatment of the multifragmentaric fractures of the distal femur and the proximal tibia. There were very good outcomes observed, in rather small group of patients treated that way. There were also similar, satisfactory outcomes observed among patients with the proximal tibia fractures treated with the carbon-composite braces used for the fixation. Further studies for these methods are necessary [6].

The minimalization of the surgical procedures is also a challenge in spondylar surgery. The endoscopic anterior spondylodesis in fractures and spondyloarthrosis is a novel method in the group of miniinvasive discectomy techniques including chemical/enzymatic and laser discectomy. The three dimensional navigation techniques are already widely used in spondylar surgery. It may lead to the robotization of some surgical procedures. The similar opportunities are also present in total knee and hip arthroplasties. The observations of the large groups of patients with long follow-up are necessary for the outcomes' comparisons after classical and navigation assisted techniques.

The postoperative treatment after a hip and elbow surgery is the main issue in rehabilitation. The luxation of the endoprosthesis is still an essential problem after the THR. Some authors report an increase of the frequency of endoprostheses' luxations by 0.2% yearly, up to 7% after 25 years of follow-up. It was also noticed that the luxation happens extremely rarely while patient is lying, so the value of the abducens pillow is doubtful. There are also no difference in frequency of luxations after different rehabilitation's regimens [2].

The satisfactory range of the movement spreading from 30 to 130 degrees is the goal for the rehabilitation after an elbow arthroplasty. The immobilization in the full extension is necessary directly after the surgery. The specific braces are recommended during the nights for 6 weeks postoperatively. In addition all the physical exercises are performed with the forearm in the full pronation during 4 weeks postoperatively, for the stabilization of the articulation. The braces are recommended up to 12 weeks

...130...  
 tołą klasyczną wymagają wieloletniej obserwacji dużych grup chorych.

W rehabilitacji narządu ruchu na pierwszy plan wysuwają się zagadnienia postępowania pooperacyjnego w chirurgii biodra i stawu łokciowego. W endoprotezoplastyce stawu biodrowego najistotniejszy wydaje się problemem zwknięć sztucznego stawu. W jednej z prac stwierdzono wzrost częstości takich przypadków o 0,2% rocznie, dochodzący do 7% po 25 latach obserwacji. Stwierdzono również, że praktycznie nie dochodzi do zwknięć protezy w łóżku, co podaje w wątpliwość wartość stosowania poduszek odwozdających. Nie stwierdzono również związku częstości zwknięć z różnymi programami rehabilitacji [2].

W rehabilitacji po endoprotezoplastyce stawu łokciowego dąży się do uzyskania użytecznego zakresu ruchów, to jest zgięcia od 30 do 130 stopni. Jednak bezpośrednio po zabiegu kończyna wymaga unieruchomienia w pełnym wyproście, a odpowiednio ortozy są stosowane na noc przez 6 tygodni po zabiegu. Dodatkowo wszelkie ćwiczenia ruchowe prowadzone są przez pierwsze 4 tygodnie w pełnym pronacyjnym ustawieniu przedramienia, dla zachowania stabilności stawu. Odpowiednie ortozy stosuje się do 12 tygodni od operacji w przypadku protez związanych i do czasu osiągnięcia stabilności w protezach niezwiązanych. Opracowanie taktyki i techniki usprawniania stawu łokciowego po zabiegu endoprotezoplastyki przyniosło znaczne zmniejszenie wczesnych powikłań związanych z niestabilnością stawu [3].

Powyższa praca nie pretenduje do kompletnego przedstawienia trendów rozwojowych w najszerzej pojętej współczesnej chirurgii narządu ruchu. Niemniej ukazuje ona kilka z najistotniejszych kierunków dalszego rozwoju, zarówno w dziedzinie nauk podstawowych, jak i codziennej pracy klinicznej.

Wysokonakładowe badania podstawowe pozostaną bez wątplenia domeną niewielu ośrodków o światowej renomie. Jednakże prowadzenie badań klinicznych i wyciąganie wniosków z obserwacji chorych możliwe jest w każdym prawie warunkach, co więcej, taka dywersyfikacja kierunków badań jest jednym z warunków harmonijnego rozwoju każdej dziedziny nauki.

postoperatively after an elbow arthroplasty with the hinged prosthesis. In cases of the unhinged prostheses, bracing is recommended until full stability of the joint. The designation of the rehabilitation's tactics and techniques after an elbow arthroplasty results in the significant decrease of early complications' rate leading to joint's instability [3].

This paper is not a complete review of all novel trends in widely understood today's orthopedic surgery. Even though it shows some progress' directions in the basic sciences as well as in everyday clinical practice. The expensive, basic researches will remain the domain of the highly specialized, worldwide known centers. Nevertheless the clinical observations and the proper conclusions' process are all ways possible despite the circumstances.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Annual Meeting of the American Orthopaedic Society for Sports Medicine. Keystone 2001.
- [2] Botte MJ, Ezzet KA, Pacelli LL i wsp.: What's new in orthopaedic rehabilitation. J Bone Joint Surg 2002;84-A(12):2312-20.
- [3] Dunning CE, Zarzour ZD, Patterson SD i wsp.: Muscle forces and pronation stabilize the lateral ligament deficient elbow. Clin Orthop 2002;388:118-24.
- [4] Fox D.: Cytokine blockade as a new strategy to treat rheumatoid arthritis: inhibition of tumor necrosis factor. Arch Intern Med. 2000;160(4):437-44.
- [5] Harner CD, Vogtrin TM.: What's new in sports medicine. J Bone Joint Surg 2002;84-A(6):1095-9.
- [6] Kotela I., Chłopek J., Bołtuć W., Bednarenko M.: Kompozytowe klamry węglowe w leczeniu deformacji bliższego końca kości piszczeli. XXXIV Zjazd Naukowy PTOiTR Bydgoszcz 2002, 320-322.
- [7] McKellop HA.: Bearing surfaces in total hip replacements: state of the art. And future developments. Instr Course Lect 2001;50:165-79.
- [8] Silva MJ, Sandell LJ.: What's new in orthopaedic research. J Bone Joint Surg 2002;84-A(8):1490-6.
- [9] Wai EK, Kreder HJ, Williams JL.: Arthroscopic debridement of the knee for osteoarthritis in patients fifty years of age or older: utilization and outcomes in the province of Ontario. J Bone Joint Surg 2002;84-A(1):17-22.
- [10] Wiss DA.: What's new in orthopaedic trauma. J Bone Joint Surg 2002;84-A(11):2111-9.

## BIOMECHANICZNE ASPEKTY STOSOWANIA IMPLANTÓW

ROMUALD BĘDZIŃSKI

POLITECHNIKA WROCLAWSKA  
 INSTYTUT KONSTRUKCJI I EKSPLOATACJI MASZYN  
 ZAKŁAD INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ I MECHANIKI EKSPERYMENTALNEJ

Motto:

"Stworzony przez nas świat jest rezultatem naszego dotychczasowego myślenia.

Problemy, które ten świat generuje nie mogą być jednak rozwiązywane bez zmiany naszego obecnego sposobu myślenia."

Albert Einstein

## BIOMECHANICAL ASPECTS OF IMPLANT USE

ROMUALD BĘDZIŃSKI

WROCLAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY  
 INSTITUTE OF MACHINE DESIGN AND OPERATION  
 EXPERIMENTAL MECHANICS AND BIOMECHANICS DIVISION

Motto:

"The world we created is the result of our hitherto thinking.

Problems generated by this world cannot be solved, however, without a change in our current way of thinking."

Albert Einstei

Biomechanika inżynierska jest nauką o ludzkich i zwierzęcych komórkach, tkankach, organach, implantach oraz systemach ich funkcjonowania, wykorzystującą zasady oraz metody mechaniki teoretycznej i eksperymentalnej. Nauka ta opiera swoje podstawy na takich dyscyplinach jak mechanika z jednej strony, oraz biologii i medycynie natomiast z drugiej strony.

Jednym z bardziej istotnych zagadnień biomechaniki jest analiza ruchu oraz związanych z nim obciążeń i ich skutkach, a także mechanizmach ruchu ten wywołujących, ze szczególnym uwzględnieniem człowieka i zwierząt.

W zasadzie biomechanikę można podzielić na ogólną, inżynierską, medyczną, rehabilitacyjną oraz sportu. Podział ten jest praktycznie umowny, ponieważ w trakcie badań, nauczania, czy też bezpośrednich zastosowań, jego granice się zacierają [1].

Zakres zainteresowań BioMechaniki obejmuje:

- BioStatykę,
- BioKinematykę,
- BioKinetykę,
- BioMechanikę ośrodków ciągłych.

W rozwiązywaniu zagadnień związanych z szeroko pojętą biomechaniką stosuje się równania konstytutywne, równowagi oraz warunki zgodności [3].

Analizując bardziej szczegółowo, można wyodrębnić następujące zakresy zainteresowań biomechaniki inżynierskiej:

- Analiza ruchu segmentów ciała ludzkiego lub zwierzęcego,
- Mechanika funkcjonowania tkanek kostnych oraz miękkich,
- Mechanika wymiany płynów ustrojowych,
- Analiza (w tym) pomiary skutków oddziaływania obciążeń zewnętrznych i wewnętrznych na elementy ciała ludzkiego podczas ruchu.
- Rozwój mechanistycznej teorii budowy oraz procesów przebudowy tkanek biologicznych,
- Rozwój nowych konstrukcji oraz technik wytwarzania implantów i urządzeń zastępujących utracone narządy, organy lub segmenty ludzkiego ciała,
- Rozwój i wdrażanie nowych biomateriałów,
- Opracowywanie metod i urządzeń rehabilitacyjnych.

Biomechanika ma już swoją bardzo długą historię. Prehistoryczny człowiek intuicyjnie stosował zasady biomechaniki w tworzeniu narzędzi oraz broni, aby móc przeżyć we wrogo usposobionym i konkurencyjnym środowisku.

Pierwsze opisy ruchu człowieka można znaleźć w pracach Leonardo da Vinci (1452-1519) "Notes on the Human Body". W publikacjach okresu Odrodzenia, Galileusz oraz Newton określili eksperymentalne oraz teoretyczne podstawy analizy ruchu. Niestety należy to również podkreślić, do znacznego postępu w dziedzinie biomechaniki, przyczyniły się kolejne i liczne wojny. Przykładowo można tu wymienić; wytwarzanie protez, systemów i urządzeń rehabilitacyjnych, doskonalenie wszelkiego rodzaju broni [11].

Obecnie w dziedzinie biomechaniki inżynierskiej najlepiej zaawansowane są badania dotyczące najbardziej obciążonych elementów człowieka, takich jak kręgosłup, staw biodrowy i kończyny dolne. Spora liczba zespołów badawczych prowadzi, z dużym powodzeniem, również prace w zakresie identyfikacji oraz rozwoju systemów wymiany płynów ustrojowych (opracowanie; sztucznych i biologicznych zastawek serca, protez naczyniowych, stentów).

Engineering biomechanics deals with human and animal cells, tissues, organs, implants and their systems of functioning, it applies the principles and methods of theoretical and experimental. The basis of this science is formed on such disciplines as mechanics on one hand and biology as well as medicine on the other hand.

One of the most significant questions in biomechanics is motion analysis and the related loads and their effects as well as mechanisms which generate motion with special regard to man and animals.

Usually biomechanics is divided into general, engineering, medical, rehabilitation and sport biomechanics. Practically the division is conventional because in research, teaching or in direct application the limits of this division are hard to establish [1].

The scope of BioMechanics encompasses:

- BioStatics,
- BioKinematics,
- BioKinetics,
- BioMechanics of continuous media

The questions of widely understood biomechanics are solved by constitutive and equilibrium equations as well as consistency conditions [3].

In a more detailed analysis of the scope of engineering biomechanics we can distinguish:

- Motion analysis of human and animal body segments,
- Mechanics of bone and soft tissue functioning,
- Mechanics of systemic fluids exchange,
- Analysis of external and internal loads effects (including their measurements) on human body elements in motion.
- Development of mechanistic theory of the structure and the process of restructuring of biological tissues,
- Development of new constructions and new techniques of implant construction or any other appliances substituting lost organs or segments of a human body,
- Development and implementation of new biomaterials,
- Development of rehabilitation methods and equipment.

The history of biomechanics is already very long. Prehistoric man applied the principles of biomechanics intuitively when making new tools and weapons to survive in hostile and competitive environment.

First descriptions of human motion can be found in the work by Leonardo da Vinci (1452-1519) "Notes on the Human Body". In Renaissance publications Galileo and Newton defined experimental and theoretical basis of motion analysis. Unfortunately it should be noted that the progressive development of biomechanics was stimulated by numerous wars. Only to give an example we can mention making all sorts of artificial limbs, rehabilitation systems and appliances, improving all sorts of weapons [11].

In current engineering biomechanics the research of the most loaded elements of a human body such as the spine, the hip joint and lower limbs are the most advanced. A large number of research teams conducts very successful research on the identification and the development of systemic fluids exchange systems (the development of: artificial and biological valves, vessel prostheses and stents).

## Implant-tissue relations

The knowledge of mechanical and structural soft and bone tissue properties is the basic, preliminary condition to any theoretical, numerical or experimental approximations in the analysis of physiological functions of a man. All organ damages depend on the properties of the material of both

Wiedza związana ze znajomością własności mechanicznych i strukturalnych tkanek miękkich oraz kostnych jest podstawowym warunkiem wstępnym do jakichkolwiek teoretycznych, numerycznych lub eksperymentalnych przybliżeń w analizie fizjologicznych funkcji człowieka. Wszelkie uszkodzenia narządów zależą od właściwości materiałów zarówno kości, jak i tkanek miękkich. Dotyczy to zarówno urazów, jak i zmian chorobowych wynikających z patologii.

Kość tworząca szkielet organizmów jest najbardziej zadziwiającym materiałem z którym zetknęła się nauka nie tylko ze względu na jej własności wytrzymałościowe. Posiada ona swoistą zdolność wyczuwania zmieniających się warunków i adaptowania się do nich tak aby optymalnie spełnić swoją funkcję. Ponadto zniszczenia jakie w niej zachodzą pod wpływem zużycia są sukcesywnie naprawiane. Takich własności nie ma żaden z wytwarzanych przez człowieka materiałów [1, 4, 6, 10]. Wiele ośrodków naukowych na świecie prowadzi badania mające na celu określenie właściwości mechanicznych tkanki kostnej. Badania tego typu są szczególnie ważne ze względu na wzrastającą liczbę dysfunkcji układu kostno-stawowego, a także liczbę przeprowadzanych zabiegów implantacji.

Oprócz dobrze dobranych i opisanych właściwości materiałowych i biologicznych w relacji kość-implant niezbędne jest także uwzględnienie charakterystyk mechanicznych. Istotnym jest, czy powierzchnia implantu współpracuje bezpośrednio z kością czy też występuje dodatkowa warstwa pośrednia [10]. Między innymi z taką sytuacją mamy do czynienia w przypadku implantów wprowadzanych z warstwą cementu kostnego (np. endoprotezy stawu biodrowego, kolanowego). Z uwagi na różnicowane charakterystyki odkształceniowe i wytrzymałościowe tych trzech warstw na granicy między nimi, często pojawiają się mikropęknięcia cementu kostnego a także i kości [12, 13, 15].

Wzajemne oddziaływanie pomiędzy kością i biomateriałem jest zbliżone do oddziaływań matrycy (struktury) mineralizacji lub substancji międzykomórkowej. Można powiedzieć, że jest to jeden ze słabszych ogniw w implantacji. Analizując właściwości mechaniczne różnych biomateriałów można stwierdzić, że zawsze wartości naprężeń w warstwie wzajemnego oddziaływania tkanka-implant są znacznie niższe niż graniczna wytrzymałość materiałów stosowanych w implantacji. Wyjątek mogą tu stanowić materiały biodegradowalne, gdzie charakterystyki mechaniczne często są porównywalne do charakterystyk kości, najczęściej zbitej [4]. Innym nie mniej istotnym czynnikiem mającym wpływ na przebieg osteointegracji są wartości mikroruchów pomiędzy kością i implantem. Najczęściej są one spowodowane znaczną różnicą odkształcalności implantu i kości. W szczególności ta ostaną uwaga dotyczy biomateriałów metalicznych i ceramicznych. W aktualnych pracach można określić że wartość tych mikroruchów nie powinna przekraczać ok. 100 mikrometrów (Szmukler-Moders i in.), za D.A. Puelo [13]. Nadmierne mikroruchy mają w szczególności, duże znaczenie w okresie wczesnym po implantacji i są przyczyną niszczenia sieci włókien oraz nowych naczyń krwionośnych. Mimo wielu zrealizowanych badań, dotyczących wzajemnych oddziaływań tkanka implant nadal nie ma w miarę realnego opisu zjawisk tam występujących. Badania takie były prowadzone zarówno "in vitro" jak "in vivo". Należy nadmienić że badania były realizowane z reguły na bardzo uproszczonych modelach. Jest to wynikiem złożoności badanego układu jak i procesów tam zachodzących.

Obecnie jednym z podstawowych zadań bioinżynierów, biologów jest wyjaśnienie funkcji biomolekuł w sterowaniu

bones and soft tissues. This relates to both injuries and pathological changes.

Bone constituting the skeleton of organisms is the most amazing material science has ever dealt with not only due to its strength properties but also its resistance. It has a very special ability to sense the changing conditions and adapt to them in order to exercise its function optimally. Moreover any damage caused in bone because of its wear is repaired successively. No other man created material can boast of such properties [1, 4, 10]. Many scientific centres in the world carry out research which aims to define the mechanical properties of bone tissue. This type of research is especially important now when the number of bone-joint system dysfunctions is growing and there are more and more implantation operations.

Except for well-selected and described material and biological properties in the bone-implant relation, it is indispensable to take into account the mechanical characteristics. It is essential whether the implant surface directly cooperates with bone or whether there is an additional indirect layer. An example of such situation is the case of implants introduced with a layer of bone cement (e.g. endoprosthesis of hip or knee joints) [10]. Due to different deformation and strength characteristics of the three layers on the border between them, microfractures of bone cement and bone often occur [1, 6, 9, 10, 15].

The interaction between bone and biomaterial is close to the interaction of matrix (structure) of mineralisation or intercellular substance. We can say that this is one of the weakest elements in implantation. Analysing the mechanical properties of various biomaterials one can say that the values of stress in the layer of tissue-implant interaction are considerably lower than the limit strength of materials used for implantation. Another essential factor influencing the course of osteointegration is the value of micromotions between bone and an implant. Most often they are caused by a large difference between the deformation ability of implant and bone. The above comment especially refers to metallic and ceramic biomaterials. In current works we can state that the value of these micromotions should not exceed about 100 micrometers, Szmukler-Moders and others, as D.A. Puelo [13]. Excessive micromotions are especially important in the early post-implantation period and they are the reason of the damage of fibre net and new blood vessels. Regardless of substantial research related to tissue-implant interaction, we do not have a relatively realistic description of the phenomenon. The research was conducted both in vitro and in vivo. It should be mentioned that usually the research was conducted on very simplified models. This results from the complexity of the system in question as well as processes taking place there.

Currently one of the basic tasks for bioengineers and biologists is the explanation of biomolecules function in the control of differentiation and cell and tissue restructuring processes [1, 6, 13].

The first remarks are connected with the special ability of bone to adapt its structure to exerted force appeared along with the observations by Karl Culman and Herman von Meyer in 1867. It was then that Culman, who developed graphic methods in statics, and Meyer, an anatomist, made the famous comparison of the trabecular structure of the part closer to a thighbone and main stress trajectories in a girder similar to a thighbone. However, the theory resulting from these observations was described a few years later by Julius Wolff. Currently it is known as Wolff's law which states that the trabecular structure of bone adjusts to the directions of main stresses which result from load conditions. Since that time numerous similar theories have been de-

procesami różnicowania oraz przebudowy komórek i tkanek [1, 6, 13].

Pierwsze wzmianki o zdolności kości do dostosowania swojej struktury do obciążających ją sił pojawiły się wraz z obserwacjami Karla Culmana i Hermana von Meyera w 1867 roku. Wtedy to Culman, który rozwinął metody graficzne w statyce, oraz Meyer, anatom, dokonali słynnego porównania struktury trabekularnej części bliższej kości udowej oraz trajektorii naprężeń głównych w podobnym do niej dźwigarze. Niemniej jednak, teoria wynikająca z tych obserwacji została opisana w kilka lat później przez Juliusza Wolffa. Obecnie znana jest jako prawo Wolffa, które stanowi, że struktura trabekularna kości dostosowuje się do kierunków naprężeń głównych jakie wynikają z warunków obciążeń. Od tego czasu wiele pokrewnych teorii zostało stworzonych przez biologów, klinicystów, fizyków i biomechaników. Ich wysiłki skupiały się na opisanu praw rządzących przebudową kości.

Teoria sprężystości adaptacyjnej, podana przez Cowina w 1976 roku, była pierwszą historycznie teorią opisującą proces przebudowy za pomocą równań. Jakkolwiek, liczba tych równań 10 oraz niewiadome w nich występujące uniemożliwiają stosowanie ich w praktyce. Inaczej jest z modelem mechanicznym zaproponowanym przez Tanakę w 1999 roku. Operuje on łatwo mierzalnymi parametrami, jak gęstość kości, co pozwala na weryfikację eksperymentalną. Bodźcem prowadzącym do przebudowy jest w tym przypadku wielkość zależna od naprężenia, prędkości odkształcenia oraz aktualnej gęstości kości. Inaczej jest w modelu piezoelektrycznym, w którym bodźcem jest zjawisko piezoelektryczne. Zjawisko to jest bezpośrednio związane z tensorem naprężeń a tym samym odkształceń. Niestety model ten nie został zweryfikowany eksperymentalnie. Model mechanobiologiczny zakłada, że czynniki mechaniczne wywierają bezpośredni wpływ na działanie systemu biologicznego. Dlatego też możliwe jest stworzenie schematu, opartego na sprzężeniu zwrotnym, wiążącego reakcją komórek kostnych zarówno na czynniki biologiczne (hormony, czynniki wzrostu itp.) oraz mechaniczne (mechaniczny bodziec przebudowy) [1, 6, 9].

## Zastosowanie metody elementów skończonych symulacji adaptacji funkcjonalnej tkanki kostnej

Symulację procesów adaptacji funkcjonalnej tkanki kostnej prowadzono przy użyciu modeli (RYS. 1). Dane dotyczące geometrii modeli oraz ich obciążenia zaczerpnięto z poprzednich obliczeń, prowadzonych na modelach trójwymiarowych [14]. Do budowy siatki elementów skończonych użyto elementów płaskich czworobocznych o ośmiu węzłach i dwóch stopniach swobody w każdym węźle.

Na tak przygotowanych modelach przeprowadzono symulacje przebiegu zmian adaptacyjnych tkanki kostnej wg następującego algorytmu:

1. obliczenia stanu naprężeń i odkształceń dla wszystkich przypadków obciążenia modelu,
2. obliczenia wartości naprężeń efektywnych dla każdego elementu skończonego w modelu wg zależności:

$$\sigma_i = \sqrt{2EU} \quad (1)$$

gdzie: E - wartość modułu Younga dla danego elementu

U - wartość gęstości energii odkształcenia

3. obliczenia rozkładu bodźca mechanicznego przebudowy wg zależności [4]:

veloped by biologists, clinicians, physicists and biomechanists. Their effort concentrated on the description of laws governing bone restructuring.

The theory of adaptation elasticity, developed by Cowin in 1976, historically was the first theory describing the restructuring process by means of equations. However the number of these equations (10) and the unknown in them make it impossible to apply the equations in practice. It is quite the opposite with the mechanical model proposed by Tanaka in 1999. He operates easily measurable parameters, such as bone density, which allows for experimental verification. The stimulus leading to reconstruction in this case is a value dependent on stress, deformation velocity and current bone density. It is quite the opposite in piezoelectrical model in which the stimulus is the piezoelectrical phenomenon. This is directly related to stress tensor and thus deformation. Unfortunately this model has not been verified experimentally. The mechanobiological model assumes that mechanical factors exert direct influence on the activity of biological system. As a result it is possible to develop a scheme based on feedback which connects the bone cell reaction to both biological factors (hormones, growth factor, etc.) and mechanical ones (mechanical restructuring stimulus).

## FEM models allowing simulate functional adaptation processes

The functional adaptation of bone tissue was simulated by means of FEM models (FIG. 1). Data on the geometry of the models and their loading were taken from the three-dimensional model computations [14]. Flat quadrilateral elements, each with eight nodes and two degrees of freedom at each node, were used to create a FE mesh.

The models were used for the simulation of adaptations of bone tissue according to the following algorithm:

1. compute the state of stress and strain for all the model loading cases;
2. compute the effective stress for each finite element in the model according to this relation:

$$\sigma_i = \sqrt{2EU} \quad (1)$$

where: E - Young's modulus for a given element,

U - an strain energy density value;

3. compute the distribution of the mechanical, remodelling stimulus from this relation [14]:

$$\varphi = \sum_i (nm\sqrt{\sigma_i})^m \quad (2)$$

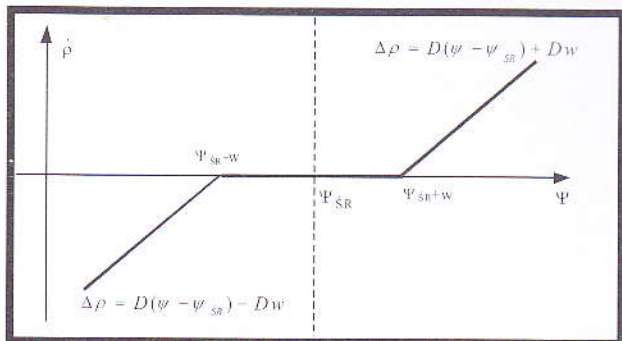
where: i - another case of loading,

n - a number of cycles for the i-th case of loading,

m - an experimentally determined coefficient [1];

4. compute the change in bone tissue density for each finite element according to the linear model of functional adaptation. The adaptation model assumes a certain value of the mechanical stimulus corresponding to the state of equilibrium of bone tissue sorption and adsorption. It is also assumed that if a mechanical stimulus value within a certain interval above and below the value corresponding to the state of equilibrium is generated, this will not lead to any change. Only if the limits of this interval are exceeded, bone tissue absorption or sorption will result, with the bone density change value being proportional to the mechanical stimulus value (FIG. 2);

5. compute the change in the modulus of elasticity for each finite element in the model according to this relation (3):



RYS. 1. Schemat przebiegu przebudowy kości.  
FIG. 1. Computational model of bone tissue functional adaptation.

$$\varphi = \sum_i (nm\sqrt{\sigma_i})^m \quad (2)$$

gdzie:  $i$  - kolejny przypadek obciążenia,

$n$  - ilość cykli dla  $i$ -tego przypadku obciążenia,

$m$  - współczynnik wyznaczany doświadczalnie;

4. obliczenie wartości zmiany gęstości tkanki kostnej dla każdego elementu skończonego wg liniowego modelu adaptacji funkcjonalnej. Model ten zakłada istnienie pewnej określonej wartości bodźca mechanicznego, który odpowiada stanowi równowagi, dla którego zjawiska absorpcji i resorpcji tkanki kostnej wzajemnie się równoważą. Zakłada się również, że wygenerowanie bodźca mechanicznego o wartości z pewnego przedziału powyżej i poniżej wartości odpowiadającej stanowi równowagi, również nie spowoduje zmian w budowie kości. Dopiero przekroczenie granic tego przedziału powoduje absorpcję lub resorpcję tkanki kostnej, przy czym wartość zmiany gęstości kości jest wprost proporcjonalna do wartości bodźca mechanicznego (RYS. 2):

5. Obliczenie wartości zmian modułu sprężystości dla każdego elementu skończonego w modelu wg zależności:

$$E = A\rho^B \quad (3)$$

gdzie:  $r$  - wartość gęstości tkanki kostnej,

$A, B$  - współczynniki wyznaczone doświadczalnie.

6. Zmiana wartości modułu sprężystości w każdym elemencie skończonym modelu na wartość uzyskaną w wyniku obliczeń.

7. Zakończenie obróbki modelu i przejście do kolejnego kroku iteracji.

Zakończenie obliczeń następuje po uzyskaniu takiego rozkładu własności mechanicznych tkanki kostnej, dla którego kolejne iteracje nie powodują zmian w rozkładzie modułu sprężystości kości. Aby symulacja przebiegała prawidłowo konieczne było opracowanie specjalnej procedury umożliwiającej automatyczne sprawdzenie w każdym kroku iteracji wartości modułu sprężystości i gęstości w danym elemencie skończonym oraz zmianę tych wartości przed kolejnym krokiem iteracji. Opracowano specjalnego programu w postaci pliku wsadowego wykorzystującego komendy języka APDL (wewnętrznego języka programowania pakietu Ansys).

W modelu kości piszczelowej zdrowej przebudowa tkanki kostnej rozpoczyna się gwałtownie już po kilku iteracjach po stronie bocznej kości.

Kość korowa zaczyna się tworzyć poczynając od miejsca utwierdzenia w górę wzdłuż krawędzi kości do rejonu przynasady kości. Po stronie przyśrodkowej proces formo-

$$E = A\rho^B \quad (3)$$

where:  $r$  - a bone tissue density value,

$A, B$  - experimentally determined coefficients;

6. substitute the computed value for the elasticity modulus value in each model finite element;

7. end processing the model and go to the next iteration step.

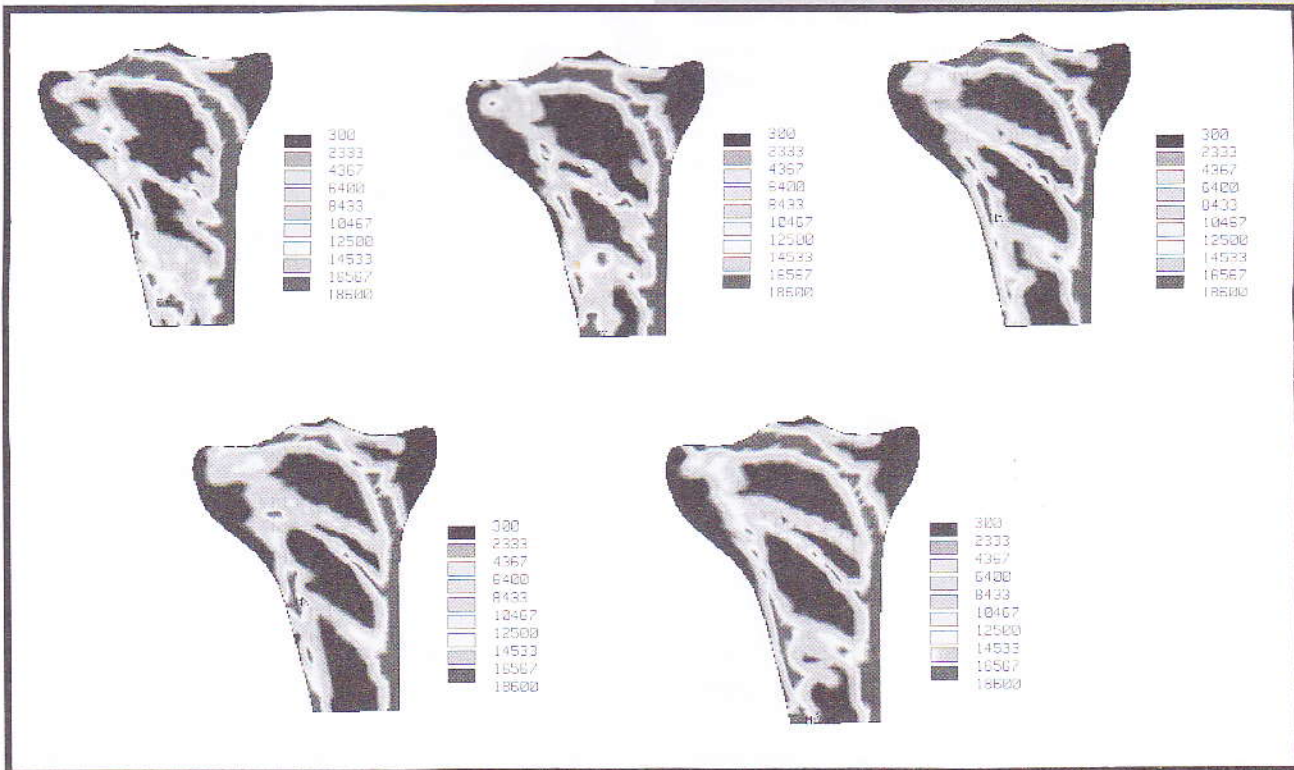
The computing ends when a pattern of mechanical, bone tissue properties for which further iterations do not result in any change in the distribution of the bone elasticity modulus is obtained. It was necessary to develop a special procedure enabling the automatic checking of the elasticity modulus and density values in a given finite element and the change of these values before each iteration step to ensure the proper running of the simulation. A special program in the form of a batch file using ADPL language (the internal Ansys package program language) commands was developed.

Simulation of bone remodelling were done using two-dimensional FEM models.

In the model of intact tibia bone remodelling of bone tissue starts rapidly after several iterations in the region of lateral edge of bone model. Cortical bone layer starts forming from the fixation point up to the region of articular surfaces. In the medial side of bone it is possible to observe some points in which cortical bone tissue starts forming, but the continuous layer like in the lateral side don't appears (Fig. 3). Visible parts of bone with high density and mechanical properties are visible also in the region of medial articular surface and intracondylar part of bone. Some parts of bone tissue on the lines (arcs) connecting fixation points on the lateral side and medial articular surface have also higher values of density and stiffness.

Simulation realised using model of varus bone shown that the change of shape and load of the articular surfaces results in the completely different distribution of density and elasticity modulus of bone tissue. Effect of bone tissue layer on the lateral side of bone intensify, new layer has larger thickness, but the upper end of this is located in lower accordingly to the model of normal bone. It is result of decreasing of bone tissue properties in all lateral condyle. In the medial side cortical bone forms as a group of several sources of calcification non-connected in continuous layer. The arc connecting lateral side and medial articular surface is better developed, has larger thickness, rest of arcs disappears. In the part lower to the medial articular surface area of high density and elasticity modulus is larger - it is result of lateral compartment overloading. In the clinical practice higher density regions are observed on X-ray exposures as the result of medial compartment of knee joint overload and intensive remodelling. In the lateral condyle we can observe successive disappearing of bone tissue.

After correction using high tibial osteotomy ("plus" technique) we can observe so layer of cortical bone tissue on the lateral side is almost the same size like in the normal bone model. This continues layer going up to the level of medial edge of bone wedge placed in the gap of osteotomy. In the medial side we still can observe several sources of osteointegration, but in the upper region (above the wedge) its become to be more developed specially in the region of upper medial corner of model (in that area bone wasn't good developed in the model of normal bone). All part of bone above wedge has increased values of bone density and mechanical properties - it is result of higher than in intact case values of strain in this part of bone. Arcs connecting lateral and medial part of bone have changed shape com-



**RYS. 2. Wyniki symulacji przebudowy kości piszczelowej [6].**

**FIG. 2 Example of result of the numerical simulation of remodelling of the tibia bone.**

wania się tkanki korowej przebiega inaczej, można zauważyć kilka ognisk w których następuje zagęszczenie tkanki kostnej, jednakże nie występuje wyraźna warstwa korowa kości jak po stronie bocznej (RYS. 3).

Warstwa kości o podwyższonej gęstości i własnościach wytrzymałościowych występuje jednak również od punktu mocowania do przynasady kości po stronie przyśrodkowej. Dodatkowo można również zauważyć formowanie się łuków łączących boczną warstwę korową kości z powierzchnią kłykcia przyśrodkowego, zbudowanych z tkanki kostnej o wyższych własnościach mechanicznych i gęstości.

Symulacja prowadzona na modelu kości szpotawej wykazała, że zmiana położenia oraz obciążenia nasady bliższej kości piszczelowej spowodowały powstanie zupełnie odmiennego rozkładu gęstości oraz modułu sprężystości tkanki kostnej. Efekt formowania się tkanki kostnej po stronie bocznej ulega zintensyfikowaniu, tworząca się warstwa korowa ma wyraźnie większą grubość, osiąga ona jednak punkt położony niżej na krawędzi przynasady o stronie bocznej kości, co jest związane ze znacznym spadkiem gęstości i własności mechanicznych tkanki kostnej w odciążonym kłykciu bocznym. Po stronie przyśrodkowej tkanka korowa tworzy się podobnie jak w modelu kości zdrowej w postaci wielu rozdzielonych ognisk zagęszczenia tkanki kostnej. Łuk łączący kłykieć przyśrodkowy z warstwą korową po stronie zewnętrznej jest w tym przypadku bardziej rozbudowany, jego grubość jest większa, zanikowi ulegają natomiast pozostałe łuki łączące stronę przyśrodkową i boczną kości. Po stronie przyśrodkowej w warstwie podchrzęstnej kłykcia można zaobserwować znaczne rozbudowanie warstwy kości o wysokich własnościach wytrzymałościowych i gęstości co jest spowodowane podwyższonym obciążeniem kłykcia przyśrodkowego. W praktyce klinicznej zagęszczenie tkanki kostnej pod powierzchnią kły-

paring to previous cases, also bone weakening effect on the lateral side isn't exist. (FIG. 3).

Simulation of adaptive changes in bone after high tibial "minus" type osteotomy shown lack of changes in osteointegration in the lower part of epiphysis on the lateral and medial side (comparing to intact case). In the part of bone upper to the osteotomy gap bone tissue is characterised by higher values of density and mechanical properties on the lateral and medial side. Distribution characteristic for intact bone isn't the same but decreasing of bone density and stiffness on the lateral side doesn't appear. In the part of bone in the region of lateral edge of osteotomy gap (region of rapid change of bone cross section dimensions) it can be observed distortions of distributions of elasticity modulus and density - it is result of non-physiological strain distribution in that region. Also directions of arcs connecting lateral and medial side are different than in intact case. (FIG. 3).

After total arthroplasty of knee joint we can observe completely different distribution of elasticity modulus and density of bone tissue. Almost all medial part of bone is stress shielded by stiff metallic implant. We can observe only some osteointegration line from fixation point to end of implant stem. (FIG. 3).

## Problems in implantation

One of the main problems in implantation there are to obtain enough good durability. On the FIG. 4 are presented of the failure change hip endoprosthesis on the limit time[12].

Regardless of purely clinical aspects (errors in operation), the most common reasons for failure from the point of view of biomechanics in further effects of implantation we can mention the following:

- Defects of materials (FIG. 5).
- Badly planned and performed procedure of implantation (FIG. 6),
- Lack of biocompatibility between the implant and bone structure,

cia przyśrodkowego obserwowane na zdjęciach rtg jest najczęstszym objawem zmian adaptacyjnych charakterystycznych dla deformacji szpotawej stawu kolanowego. Podobnie, charakterystyczny objaw można zaobserwować po stronie bocznej, gdzie widoczny jest bardzo wyraźny spadek gęstości kości związany z całkowitym odciążeniem kłykcia bocznego

Symulacja przebiegu zmian adaptacyjnych w kości po zabiegu korekcyjnym przy użyciu osteotomii podkolanowej "plus" wykazała że kość korowa po stronie bocznej podobnie jak poprzednio formuje się w postaci jednorodnej warstwy. Warstwa ta osiąga poziom zewnętrznej krawędzi klina kostnego umieszczonego w szparze przecięcia kości. Po stronie przyśrodkowej warstwa ta tworzy się podobnie jak poprzednio w postaci wielu ognisk osteointegracji, lecz w części górnej w pobliżu krawędzi klina kostnego efekt zmiany obciążenia związany z wprowadzeniem dodatkowego elementu o wysokiej sztywności jest wyraźnie widoczny. Warstwa tkanki korowej jest tu bardziej wyraźna i jednorodna. Cała część powyżej klina kostnego posiada zwiększoną gęstość oraz własności wytrzymałościowe co jest związane z podwyższeniem wartości odkształceń tkanki kostnej w całym tym obszarze. Łuki łączące tkankę korową po stronie bocznej i przyśrodkowej mają inny kształt, zniwelowany został natomiast efekt obniżenia własności wytrzymałościowych kości po stronie bocznej (RYS. 3).

Symulacja przebiegu zmian adaptacyjnych w kości po zabiegu korekcyjnym przy użyciu osteotomii podkolanowej "minus" nie wykazała zmian w formowaniu się kości w części dalszej nasady zarówno po stronie bocznej jak i przyśrodkowej w stosunku do modelu kości zdrowej. W części powyżej szpary przecięcia kości można zaobserwować, że zarówno w warstwie podchrzęstnej kłykcia przyśrodkowego jak i bocznego tkanka kostna ma podwyższone własności mechaniczne jak i gęstość, nie uzyskano co prawda stanu charakterystycznego dla kości zdrowej, jednakże zniwelowany został przez korekcję, w znacznym stopniu efekt zaniku tkanki kostnej po stronie bocznej nasady kości. W części kości znajdującej się bezpośrednio w pobliżu bocznej krawędzi przecięcia, w rejonie charakterystycznej zmiany grubości nasady kości można zaobserwować charakterystyczne zaburzenia w rozkładzie modułu sprężystości oraz gęstości kości spowodowane nie-fizjologicznym rozkładem odkształceń tkanki kostnej w tym rejonie. Podobnie zaburzeniu uległy w stosunku do modelu kości zdrowej przebiegi łuków łączących stronę przyśrodkową i boczną kości (RYS. 3).

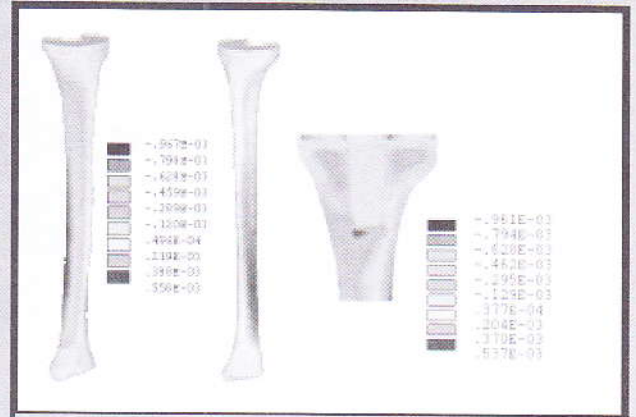
W modelu kości po zabiegu alloplastyki można zaobserwować przede wszystkim znaczne zmiany w rozkładzie własności kości w stosunku do modelu kości zdrowej w części znajdującej się w okolicy końca trzpienia mocującego komponent piszczelowy endoprotezy (Rys. 3).

## Problemy w implantacji

Jednym z zasadniczych zagadnień w implantacji jest jej trwałość. Na rys. 4 pokazano analizę ilości zabiegów rewizyjnych stawu biodrowego na podstawie (Swedish hip register).

Pomijając aspekty czysto kliniczne (błędy operacyjne) do najczęstszych przyczyn niepowodzeń z punktu widzenia biomechaniki w dalszych skutkach implantacji można wymienić:

- źle zaplanowana i zrealizowana procedura wszczepienia implantu (RYS. 6),
- brak biozgodności pomiędzy implantem i strukturą kostną,



RYS. 3. Rozkład naprężeń w kości piszczelowej, część endoprotezy stawu kolanowego.

FIG. 3 Stresses distribution in the tibia numerical model with part knee endoprosthesis.

- Non-physiological transfer of loads as a result of the operation,
- Inappropriate design of endoprosthesis elements,
- Atrophy of bone deformation in the region of contact with implant (stress shielding),
- Bad quality of bone bearing area [7],
- Wrong surface layer of implants,
- Badly selected deformation characteristics of implant and bone,
- Incorrect biotribology [8],
- Corrosion metallic parts [1, 7, 10].

Damage description theories in bone structures and implants [12]:

- Method of structure microdamages accumulation method (microcracks),
- Dislocation of particles of implant elements to bone structure, osteolysis development,
- Estimation of damage growth in osteointegration,
- Assessment of stress-shielding processes, development of zero deformation zones,
- Theory of bypass type damage,
- Results of the destructive activity in friction processes,
- Assessment of damages resulting from non-anatomic loads of implant elements (implant migration).

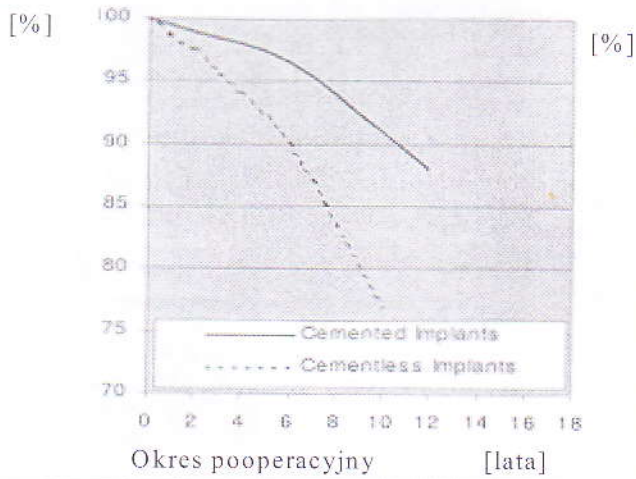
From the biomechanical point of view, the right implant solutions depend on construction solutions and material.

Implants used in operational treatment should meet the following criteria [1, 2, 4, 10, 11]:

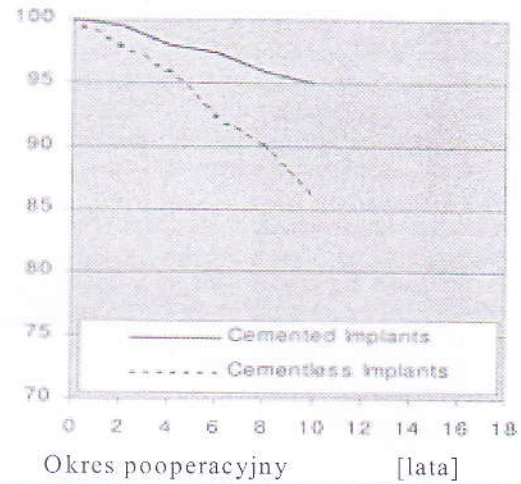
- be biotolerant,
- cause minimum damage and minimise the pressure on soft tissues,
- have such geometric dimensions while maintaining appropriate deformation and strength,
- not to take over all transferred loads (underloading of bones results in atrophy of deformation and this may lead to the process of osteolysis - the dissolution of bone),
- have considerable mechanical strength (static and fatigue)
- take into account operational access;
- be characterised by appropriate contact surface (this is very important due to the possibility of corrosion and especially fissure corrosion);
- be characterised by simple implanting procedure;
- have a set of simple, multifunctional surgical tools;
- have the smallest range of mechanical working during the operation;
- have a small number of elements in a set and minimum



Protezy nie wymagające  
rewizji 1979-1986

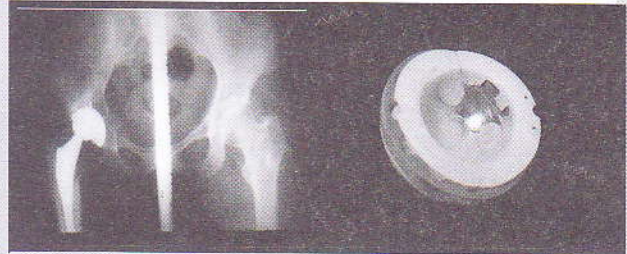


Protezy nie wymagające  
rewizji 1987-1996



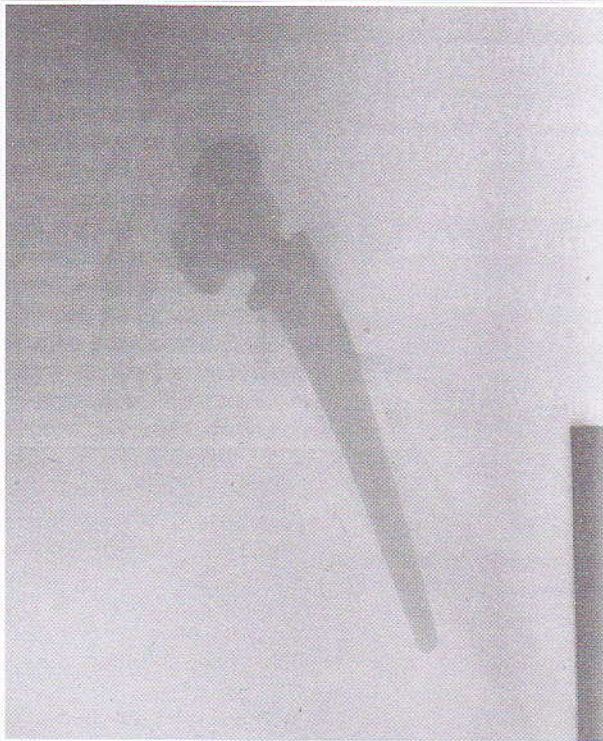
**RYS. 4.** Obluzowania endoprotezy stawu biodrowego w latach 1979-1986 oraz 1987-1996 (Swedish hip register).

**FIG. 4.** Change of failure of the total hip arthroplasty in year 1997 and 1987-1996 (from the Swedish hip register) [12].



**RYS. 5.** Zmiany destrukcyjne endoprotezy stawu biodrowego w okresie 1 roku od wszczepienia. (Zła jakość panewki polietylowej).

**FIG. 5.** Failure change of the hip endoprosthesis after one year after implantation (bad quality of polyethylene socket).



**RYS. 6.** Przykład niewłaściwego z punktu widzenia biomechaniki zaimplantowania endoprotezy stawu biodrowego.

**FIG. 6.** Example of wrong implantation hip endoprosthesis (biomechanical point of view).

- niefizjologiczne przenoszenie obciążeń jako skutek zabiegu (RYS. 6),
- niewłaściwe zaprojektowanie części składowe endoprotez,
- wady materiałowe (Rys.5) [7, 10, 11],

mass in the case of multi-element implants;

Spine implants [1, 2];

A stabiliser should be universal:

- have the correction possibility in the range of distraction, compression, derotation;
- stabiliser elements should be easy to assemble and easy to adjust to functions and anatomy;
- make multiplication on the basis of the elementary set possible;
- stabilise as short sections of movement as possible (stabilisers which make more segments immobile, the so-called excess stabilising, lead to much stiffness this in effect not only interferes with physiological activity of spine, but also leads to patient discomfort and allows for the development of a state in which deformation silence appears around the implant and in consequence there is no bone adhesion);
- set down conditions for complete adhesion - vertebral spondylodesis.

The experimental investigation made it possible to evaluate spine stabilizers and their effect on the stabilizer/spine system functioning (FIG. 7). A study were made used cadaver sample of spine with applied strength testing machine (MTS Bionix).

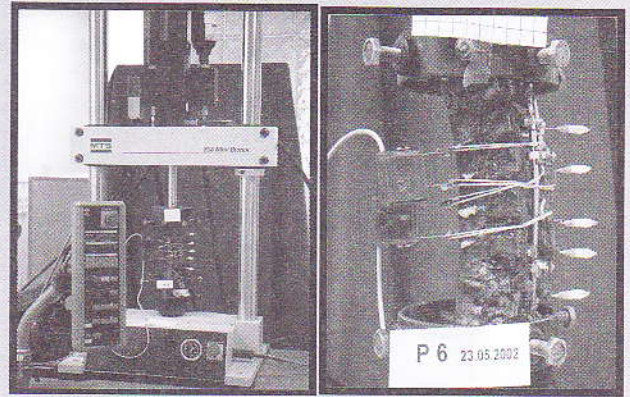
The following basic difficulties in implantation still need to be solved:

- Obtaining the bioacceptability of material,
- Obtaining appropriate reaction, implant and bone stiffness, i.e. avoiding negative restructuring of bone (remodelling) and stress shielding in implant region,
- Ensuring the possibility of easy implantation of elements (operation performance),

- niewłaściwa biotribologia [8],
- korozja elementów metalowych [1, 10, 15],
- zanik odkształceń kości w rejonie kontaktu z implantem (stress shielding) [1],
- zła jakość podłoża kostnego,
- niewłaściwa warstwa wierzchnia implantów [10],
- niewłaściwie dobrane charakterystyki odkształceniowe implantu i kości.

Teorie opisu uszkodzeń w strukturach kostnych w otoczeniu implantów [12]:

- Metoda oceny akumulacji mikrozniszczeń struktur (mikropęknięć),
- Przemieszczanie się drobin elementów implantów do struktur kostnych, powstawanie osteolizy,
- Ocena wzrostu uszkodzeń w osteointegracji,
- Ocena procesów "stress-shielding", powstawanie zerowych stref odkształceń Teoria uszkodzeń typu "bypass",
- Skutki destruktywnego działania w procesach tarcia,
- Ocena uszkodzeń w wyniku nie anatomicznych obciążeń elementów implantu-migracja implantu.



RYS. 7. Badania stabilizatora kręgosłupa piersiowo-lędźwiowego na preparatach sekcyjnych z zastosowaniem maszyny wytrzymałościowej MTS Bionix.  
FIG. 7. Investigation of the thorax-lumbar spine with spinal stabiliser.



RYS. 8. Kolejność rozwiązywania problemów związanych z implantacją protez stawu biodrowego i kolanowego, a) Endoprotezy stawu biodrowego, b) Endoprotezy stawu kolanowego.

Implanty stosowane w leczeniu operacyjnym, powinny spełniać charakteryzować się niżej wymienionymi właściwościami [1, 10, 15]:

- powodować możliwie minimalne uszkodzenia i minimalizować uciskanie tkanek miękkich,
- wykazywać biotolerancję,
- posiadać takie wymiary geometryczne przy zachowaniu odpowiedniej odkształcalności oraz wytrzymałości,
- nie przejmować całości przenoszonych obciążeń (niedociążenie kości powoduje zanik odkształceń a to może skutkować powstaniem procesu osteolizy - rozpuszczania kości),
- charakteryzować się wysoką wytrzymałością mechaniczną (statyczną i zmęczeniową),
- uwzględniać dostęp operacyjny,
- charakteryzować się odpowiednią powierzchnią styku (jest to ważna cecha ze względu na możliwość zaistnienia korozji, szczególnie szczelinowych),

- Adjusting load transfer to anatomic conditions.

Summing up, of despite a long time past since first alloplasty and rapid technologies progress, arthroplasty is still accompanied by a number of unsolved problems, which become evident in high implant failure rate revealed by clinical statistics (FIG. 8) [1, 15].

### Summary

Today solving numerous problems related to professional medical care demands intense involvement of engineers. The development of modern technology resulted in entirely new opportunities in diagnosing methods, prevention, treatment and rehabilitation. At the same time, however, we need to stress that the appropriate application of technical sup-

- charakteryzować się prostą procedurą implantowania,
- posiadać zestaw prostych, wielofunkcyjnych narzędzi chirurgicznych,
- wykazywać jak najmniejszy zakres obróbki mechanicznej podczas zabiegu,
- w przypadku implantów wieloelementowych zawierać małą liczbę elementów w zestawie, minimalną masę;

Implanty kręgosłupa [1, 2]:

- stabilizator powinien być uniwersalny tj. m.in. posiadać możliwości korekcyjne w zakresie dystrakcji, kompresji, derotacji,
- elementy stabilizatora winny stanowić łatwo zestawialny układ dostosowany do funkcji i anatomii,
- stwarzać możliwość multiplikacji na bazie zestawu podstawowego,
- stabilizować możliwie krótkie odcinki ruchowe, (stabilizatory unieruchamiające więcej segmentów - tzw. stabilizowanie na "zapas" (doprowadza to do zbyt dużego usztywnienia), nie tylko zakłóca fizjologiczne działanie kręgosłupa czy powoduje dyskomfort pacjenta, ale także umożliwia powstanie stanu, w którym wokół implantu pojawia się ciższa odkształceniowa a w konsekwencji brak zrostu kostnego,
- stwarzać warunki do pełnego zrostu - spondylodezy.

Podstawowymi problemami w implantacji, które nadal wymagają rozwiązania jest uzyskanie:

- bioakceptowalności materiału,
- odpowiedniej reakcji, sztywności implantu i kości, tj. unikanie negatywnej przebudowy struktury kości (remodeling) oraz (stress shielding) bezodkształceniowej strefy w rejonie implantu,
- zapewnienie możliwości łatwego wszczepiania elementów implantu (realizacja zabiegu),
- dostosowanie przenoszenia obciążeń do warunków anatomicznych.

Na schemacie (RYS. 8) przedstawiono problemy które nurtowały lekarzy i bioinżynierów w implantacji stawu biodrowego i kolanowego [1, 7, 15]. Przedstawiono, w których latach w zasadzie się z nimi uporano. Na (RYS. 8) przedstawiono badania doświadczalne piersiowo-lędźwiowego odcinka kręgosłupa. Badany kręgosłup posiada wprowadzony stabilizator stosowany w leczeniu skolioz. Badania zrealizowano dla symulowanych czynności fizjologicznych tj. skłon do przodu, do tyłu oraz w bok.

## Podsumowanie

Dziś, rozwiązywanie wiele problemów dotyczących profesjonalnej opieki zdrowotnej wymaga istotnego zaangażowania inżynierów. Rozwój nowoczesnych technologii stworzył zupełnie nowe możliwości w metodach diagnozowania, profilaktyki, leczeniu oraz rehabilitacji. Jednocześnie należy zaznaczyć, iż obecnie właściwe zastosowanie technicznych środków wspomaganie medycyny wymaga dość rozległej a jednocześnie często specjalistycznej wiedzy z zakresu inżynierii (RYS. 9).

Zasadniczym celem współpracy inżyniera oraz lekarza jest poznanie mechanizmu (patomechanizmu) uszkodzenia danego narządu człowieka oraz ocena jego rozległości w obrębie uszkodzenia. Ma to podstawowe znaczenie w rekonstrukcji (podjęciu właściwego leczenia) uszkodzonego narządu w tym implantacji.

Najskuteczniejszą drogą do uzyskania tego celu jest osiągnięcie korelacji między klinicznymi a patomechanicznymi obserwacjami z możliwością opisu biomechanicznego struktur człowieka.

Istotne znaczenie we współpracy lekarza, biologa, antropologa i inżyniera mają zadania interdyscyplinarne na

port in medicine requires extensive and simultaneously specialist knowledge of engineering. The view of implantation of the knee endoprosthesis with application computer aided surgical operation is presented in FIG. 9 (Aesculap AG - with permission).



**RYS. 9. Implantacja endoprotezy stawu kolanowego z zastosowaniem komputerowego wspomaganie (Aesculap AG-Tuttlingen - za zgodą). FIG. 9. View of surgical operation of knee endoprosthesis implantation with applying computer aided (Aesculap AG - with permission).**

The essential goal of co-operation between an engineer and a physician is getting to know the mechanism of damage of a given human organ (patomechanism) and assessment of its extent in the damage range. This is very important for reconstruction (starting the right treatment) of the damaged organ. The most effective way to obtain to reach this goal is correlation between clinical and patomechanical observations with a possibility for a description of biomechanical human structures.

In the co-operation between a physician, a biologist, an anthropologist and an engineer interdisciplinary tasks on the border of medicine and engineering are especially important, these are as follows:

- anthropometrical and anthropomorphic data collection, such as: dimensions, mass, shape and structure of various organs,
- developing data bases of physical and biological properties of various organs,
- collecting data of relations between damages (disease) of organism tissues of man and factors which caused them,
- looking for correlations between clinical observations and the current state of deformation (stress) in organs which were damaged or which are pathologically changed,
- experimental and clinical verification of existing models or procedures describing the behaviour of a man in given life situations with objective approach to obtained stress and deformation distribution as well as the course of their initiation in particular elements of human organs,
- research on clinical treatment methods of particular damages of human organs,
- developing rehabilitation methods and appropriate equipment supporting patient treatment,
- developing application of robots and computer aid surgical operation,
- telemedicine developing.

styku medycyny i inżynierii do których m.in. można zaliczyć:

- zbieranie danych antropometrycznych i antropomorficznych o człowieku, takich jak: rozmiary, masa, kształty i struktura różnych organów,
- tworzenie zbiorów danych o właściwościach fizycznych i biologicznych różnych organów,
- zbieranie danych o realizacjach między uszkodzeniami (chorobami) tkanek organizmu człowieka a czynnikami, które jej wywołały,
- poszukiwane korelacji między obserwacjami klinicznymi a panującym stanem odkształcenia (napięcia) w organach, które uległy uszkodzeniu lub zmianom chorobowym,
- weryfikacja doświadczalna i kliniczna istniejących modeli lub procedur opisujących zachowanie się człowieka w danych sytuacjach życiowych, z obiektywizacją otrzymywanych rozkładów naprężeń i odkształceń oraz przebiegu ich powstawania w poszczególnych elementach organów człowieka,
- badania nad metodami klinicznymi leczenia danych uszkodzeń narządów człowieka,
- opracowanie metod rehabilitacji i odpowiednich urządzeń wspomagających leczenie pacjenta,
- rozwój zastosowań robotów oraz komputerowego wspomagania w zabiegach operacyjnych,
- rozwój telemedycyny.

## Podziękowanie

*Badania częściowo realizowane w ramach Grantu KBN 5 T07A 028 23.*

## Acknowledgement

*The study was supported by the State Committee for Scientific Research under Grant No. 5 T07A 028 23.*

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Będziński R. "Biomechanika Inżynierska - wybrane zagadnienia" Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 1997.
- [2] Będziński R., Pezowicz C., Mstowski J., Zarzycki D. "Mechaniczne aspekty stabilizacji kręgosłupa szyjnego: System DERO: rozwój technik operacyjnego leczenia kręgosłupa pod red. D.Zarzycki, L.F.Ciupik; Zielona Góra str.107-114,1997.
- [3] Chao E.Y., Kim Y.H., "Planning & execution of deformity correction and fracture reduction under external fixation using virtual interactive musculoskeletal system (vims) simulation software"; Acta of Bioengineering and Biomechanics, Vol. 4 Sup. 1. 2002.
- [4] Chłopek J., Kmita G., Pamula E. "Polymeric screws for osteosynthesis", Acta of Bioengineering and Biomechanics" Vol. 4 Sup. 1. 2002.
- [5] Cowin S.C. "Bones have ears", Acta of Bioengineering and Biomechanics, Vol. 4, Sup. 1 2002.
- [6] Cowin, S.C. "Bone stress adaptation models" J.Biomech. Eng. 115, pp.528-409, 1993.
- [7] Gazdzik T.S. " Ortopedia I Traumatologia"; Wydawnictwa Lekarskie, PZWL, Warszawa 1998.
- [8] Gierzyńska-Dolna M. "Biotribologia" Wyd. Politechniki Częstochowskiej 2002.
- [9] Huiskes R., Verdonschot N. "Biomechanics of artificial joint: the hip, in: Basic Orthopaedic Biomechanics ( V.C. Mow and W.C.Hayes, Eds.), Lippencott-Raven, Philadelphia, pp. 395-460, 1997.
- [10] Marciniak J. "Biomateriały" Wyd. Politechniki Śląskiej, Gliwice 2002.
- [11] Morecki A., Ramotowski W.pod red. "Biomechanika T. 5" PAN Wydawnictwa Komunikacji i Łączności, Warszawa 1990.
- [12] Prendergast P.J. "Biomechanical Techniques for Pre-clinical Testing of Prostheses and Implants" Lecture Notes 2; Centre of Excellence for Advanced Materials and Structures AMAS IFTR Polish Academy of Science, Warsaw.
- [13] Puleo D.A., Nanci, "Understanding and controlling the bone-implant interface"; Biomaterials 20 pp.2311-2321, 1999.
- [14] Scigała K., Będziński R., "Comparative analysis of total knee arthroplasty using finite element method" Procc. 15th International Conference on Computer on Computer Methods in Mechanics; CMM-2003, Gliwice 2003.
- [15] Wall A. "Clinical aspects of total hip arthroplasty"; Acta of Bioengineering and Biomechanics, Vol.4 Supp. 1 pp.39-45 2002.

## Wskazówki dla autorów

Prace do opublikowania w czasopiśmie "Inżynieria Biomateriałów" będą przyjmowane wyłącznie z tłumaczeniem na język angielski.

Prosimy je nadsyłać na dyskietkach wyłącznie w formacie Word 6.x (lub wyższy) wraz z jednym egzemplarzem kontrolnego wydruku i kompletem rysunków i zdjęć.

Możliwe jest również dołączanie ilustracji w różnych formatach grafiki typu .eps, .jpg, .tif, .cdr, .cpt, .gif.

### Rozmiar artykułu:

- przeglądowego i pracy oryginalnej - do 10 stron standardowego maszynopisu,
- komunikatu - do 5 stron,
- noty technicznej - do 3 stron

Obowiązuje układ jednostek SI.

Rysunki, tabele i równania powinny być kolejno ponumerowane.

### Struktura artykułu:

- streszczenie (do 200 słów),
- słowa kluczowe (3-10 słów),
- wprowadzenie,
- materiał i metodyka,
- wyniki,
- dyskusja,
- wnioski,
- piśmiennictwo (wg systemu Harvard).

Odnośniki literaturowe w tekście należy podawać jako kolejne liczby arabskie w nawiasach kwadratowych.

Piśmiennictwo (zawierające nazwiska autorów i skróty ich imion, tytuł artykułu, tytuł czasopisma, tom, rok w nawiasach okrągłych i strony) powinno być zamieszczone na końcu artykułu. Skrótów tytułów czasopism należy unikać bądź podawać zgodnie z Chemical Abstract. Cytując książki należy podawać numery odpowiednich rozdziałów.

Nie przewiduje się wypłacania honorariów autorskich.

Prace należy nadsyłać na adres:

Redakcja "Inżynieria Biomateriałów"  
Akademia Górniczo - Hutnicza  
Katedra Biomateriałów  
30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A-3  
fax. (48-12) 633-46-30  
tel. (48-12) 617-25-03  
e-mail: apowroz@uci.agh.edu.pl

## Warunki prenumeraty

Wydawnictwo Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów w Krakowie przyjmuje zamówienia na prenumeratę, która może obejmować dowolny okres, w którym wydawane są kolejne zeszyty. Zamawiający otrzyma zaprenumerowane zeszyty począwszy od daty dokonania wpłaty. Zamówienia wstecz będą realizowane w miarę posiadanych zapasów.

### Realizacja zamówienia

Warunkiem realizacji zamówienia jest otrzymanie z banku potwierdzenia dokonania wpłaty przez prenumeratorka.

### Konto

Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów  
30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A-3  
Bank Śląski S.A. O/Kraków,  
nr rachunku 10501445-1200856001

Należy podać swój adres, tytuł czasopisma, okres prenumeraty i liczbę zamawianych egzemplarzy.

### Opłata

Cena poczwórnego numeru - 48 PLN

## Instructions to authors

Contributions in English language version should be submitted to:

### Editorial Office

"Engineering of Biomaterials"  
AGH University of Science and Technology,  
Department of Biomaterials,  
Al. Mickiewicza 30/A-3, 30-059 Kraków, Poland  
fax. (48-12) 633-46-30, tel. (48-12) 617-25-03,  
e-mail: apowroz@uci.agh.edu.pl

Texts should be delivered on a 3.5-inch diskette, accompanied by a printout (with a double spacing) including drawings, photographs, tables etc. Recommended is IBM-compatible MS format, e.g. Word 6.x (or higher). Illustrations can be enclosed on diskettes in the formats: .eps, .jpg, .tif, .cdr, .cpt, .gif.

### Advised paper length is:

- review papers and accounts of original unpublished research - up to 10 pages (standard manuscript pages);
- short communications - up to 5 pages;
- technical notes - up to 3 pages.

SI units should be used in the text.

Figures, Tables and Equations should be numbered in corresponding consecutive series of the Arabic numbers.

### Layout of the paper should be the following:

- Abstract (up to 200 words)
- Key words (3-10 words)
- Introduction
- Materials and Methods
- Results
- Discussion
- Conclusions
- References

References should be made in the text by using consecutive Arabic numbers in brackets. Full references (including author's surname and abbreviated names, title of the paper, title of the journal, volume, year in parenthesis and pages) should be given in a list at the end of the paper. Abbreviations of journal titles should be avoided or used in accordance with those listed in Chemical Abstracts. Whenever a book is cited, the number of the relevant chapter should be given.

The journal makes no page charges.

## Subscription terms

Subscription orders should be addressed to the Polish Society for Biomaterials in Kraków.

The ordered issues will be delivered consecutively starting from the date of payment, acknowledged by the bank.

Earlier issues will be supplied if available.

### Subscription rates:

Cost of number - 48,0 PLN

### Payment should be made to:

Polish Society for Biomaterials,  
Al. Mickiewicza 30/A-3,  
30-059 Kraków, Poland  
Bank Śląski S.A. O/Kraków,  
account no. 10501445-1200856001

It is requested to quote the subscriber's name, title of the journal, desired subscription period and number of the ordered copies.

# 5-LETNIA OCENA SKUTECZNOŚCI HYDROKSYAPATYTU HA BIOCER W LECZENIU ZNISZCZEŃ KOŚCI WYROSTKA ZĘBODOŁOWEGO SZCZĘKI I ŻUCHWY PO ZABIEGACH HEMISEKCJI ZĘBÓW

MONIKA GÓRA

ZAKŁAD STOMATOLOGII ZACHOWAWCZEJ  
KSZiP PAM W SZCZECINIE

## Streszczenie

W pracy przeprowadzono długoterminowe badania leczenia ubytków kostnych powstałych w wyniku zabiegów operacyjnych. W tym celu wykonano zabieg hemisekcji u 96 pacjentów (37 mężczyzn i 59 kobiet), którzy zostali zakwalifikowani z powodu nieprawidłowo endodontycznie przeleczonych zębów, rozległych zmian wywołanych chorobą próchnicową w okolicy furkacji czy też zaników kostnych przyzębia. U 51 osób do leczenia ubytków kostnych zastosowano hydroksyapatyt HA Biocer w granulach ściśle odmierzony (od 100 do 200 mg) i wysterylizowany w temperaturze 180°C (1 godz.). U pozostałych 45 osób leczenie odbywało się siłami natury. Sam zabieg hemisekcji polega na podzieleniu korony zęba na dwie części - bliższą i dalszą - wraz z odseparowaniem korzeni i usunięciu korzenia objętego zmianami patologicznymi a pozostawieniu korzenia wyleczonego endodontycznie. Po 6 tygodniach leczenia wszystkim pacjentom wykonano uzupełnienia protetyczne.

Badania kontrolne polegały na ocenie następujących wskaźników:

- radiologiczny wskaźnik pomiaru zaniku wyrostka zębodołowego szczęki i części zębodołowej żuchwy według Engelbergera, Marthaler i Rateischaka (EMR),
- pomiar głębokości kieszonek dziąsłowych,
- wskaźnik ruchomości zębów według Entina,
- wskaźnik obnażenia korzenia według Cieszyńskiego,
- wskaźnik płytki bakteryjnej Pl. I. według Silnessa i Loe'go.

Pacjentów poinformowano o konieczności przestrzegania prawidłowej higieny jamy ustnej. Badania te przeprowadzone były w następujących okresach kontrolnych: po 6 tygodniach, po 6, 12, 24, 36, 48 oraz po 60 miesiącach po wykonaniu zabiegu. W okresie 5 lat kontroli obserwowano konsekwentne zmniejszanie się średnich wartości wsk. Pl. I. zarówno w grupie I jak i w grupie II. Jednakże w grupie, w

# 5-YEAR EFFICIENCY EVALUATION OF HA BIOCER HYDROXYAPATITE IN ALVEOLAR BONE DAMAGE TREATMENT IN THE UPPER AND LOWER JAW AFTER TEETH HEMISECTION PROCEDURE

MONIKA GÓRA

INSTITUTE OF PREVENTIVE DENTISTRY KSZiP PAM IN SZCZECIN

## Summary

In this thesis a long-term research of the bone cavities emerged in result of surgery was carried. A process of hemisection was executed in 96 patients (37 men and 59 women), that were qualified because of improperly endodontically treated teeth, wide lesions caused by caries in furcation region or parodontal atrophy. In 51 persons strictly measured (100 to 200 mg) and sterilized in 180°C temperature (1 hour) HA Biocer hydroxyapatite in granules was used for parodontal atrophy treatment. In 45 remaining persons treatment was conducted by the power of nature. The hemisection process itself is a partitioning of the dental crown into two pieces (closest and farthest), roots separation, amputation of the lesioned root and leaving the endodontically cured root. After 6 weeks of treatment all patients were given a prosthetic restoration.

During the control tests the following indexes were checked:

- radiological index of alveolar bone atrophy measurement and alveolar mandible part, according to Engelberger, Marthaler and Rateischak (EMR)
- gingival pouch depth measurement,
- tooth mobility index, according to Entin,
- root denudation index, according to Cieszyński,
- bacterial plaque index Pl. I, according to Silness and Loe.

Patients were informed about an oral hygiene necessity.

Tests were conducted in following check periods: after 6 weeks, after 6, 12, 24, 36, 48 months and after 60 months past the process.

In 5-year control period a consequent decrease of medium Pl. I. index values was observed in both groups, however in the first, HA Biocer treated group Pl. I. index reached much lower value in shorter time, than in the second, non-hydroxyapatite treated group.

In the first (HA Biocer) group it didn't come for the bone tissue atrophy in the root region after hemisection.

której stosowano HA Biocer wsk. Pl. I. osiągnął dużo niższą wartość w krótszym czasie niż w grupie, w której nie stosowano hydroksyapatytu.

W grupie I, w której zastosowano HA Biocer nie doszło do procesów zaniku tkanki kostnej w okolicy korzeni zębów po hemisekcji. W grupie tej zaobserwowano prawie dwukrotne spłylenie kieszonek dziąsłowych. W pierwszych 2 latach badań uzyskano znaczną poprawę stabilizacji zębów, która utrzymała się do końca obserwacji. W pierwszym roku obserwacji zanotowano również zmniejszenie stopnia obnażenia korzeni.

U pacjentów grupy II, u których nie stosowano do gojenia HA Biocer, wskaźnik EMR wykazał ubytkość na poziomie 11%. Zaobserwowano także dwukrotne pogłębienie się kieszonek dziąsłowych, zaś poprawę stabilizacji zębów w ciągu całego okresu badań stwierdzono u trzykrotnie mniejszej liczby pacjentów. Wykazano też zwiększenie stopnia obnażenia korzeni, w niektórych przypadkach wskaźnik obnażenia korzenia pozostał na niezmiennym poziomie. Wykazano, że zabieg hemisekcji jest terapią skuteczną i może być alternatywą dla usunięcia zęba. Ząb po hemisekcji może być filarem dla uzupełnienia protetycznego dając możliwość wykonania stosownego uzupełnienia protetycznego. Zastosowanie terapii skojarzonej (zabieg hemisekcji oraz wszczepienie hydroksyapatytu) przyniosło znacznie lepsze wyniki w postaci poprawy badanych parametrów.

tion. The gingival pouches became twice more shallow in this group. In the first two years of research significant improvement of tooth stabilization was achieved, and maintained till the end of an observation. Decrease of root denudation was also observed in the first year.

In the second (non-HA Biocer) group, EMR index has shown bone cavity at 11% level. Double deepening of gingival pouches and triple less number of patients with an improvement of tooth stabilization in the whole research period was observed. Increase of root denudation level was proven, in some cases root denudation level remained unchanged.

It was shown, that hemisection process is an effective method of therapy and can be an alternative for a teeth extraction. After a hemisection, the tooth can be a pillar for a prosthetic restoration, giving the possibility of making proper restoration. An associated therapy employment (hemisection process and hydroxyapatite implantation) has brought much better results - the improvement of examined parameters.

## PIĘCIOLETNIA OCENA SKUTECZNOŚCI HYDROKSYAPATYTU HA BIOCER W LECZENIU UBYTKÓW KOSTNYCH PO HEMISEKCJI ZĘBÓW

MONIKA GÓRA

ZAKŁAD STOMATOLOGII ZACHOWAWCZEJ,  
KSZiP PAM w SZCZECINIE

### Wstęp

Hemisekcja jest metodą zachowawczo-chirurgiczną leczenia zębów dwu- i wielokorzeniowych. Zabieg ten polega na usunięciu jednego lub dwu korzeni zęba objętych zmianami patologicznymi wraz z częścią korony, a pozostawieniu korzenia przeleczonego endodontycznie nie wykazującego zmian patologicznych i części korony przygotowanej pod przyszłe uzupełnienie protetyczne.

HA Biocer stwarza optymalne warunki do tworzenia w nim nowej kości, co potwierdzono w niniejszej pracy.

## 5-YEAR EFFICIENCY EVALUATION OF HA BIOCER HYDROXY- APATITE IN BONE CAVITIES TREATMENT AFTER TEETH HEMISECTION PROCEDURE

MONIKA GÓRA

INSTITUTE OF PREVENTIVE DENTISTRY KSZiP PAM IN SZCZECIN

### Introduction

Hemisection is a preventive-surgical method of double- and multi-rooted teeth treatment. This process relies on an one or two lesioned roots amputation with the part of a dental crown, and leaving endodontically treated root that doesn't show lesions and a part of a dental crown prepared for future prosthetic restoration.

In this thesis it was proven, that HA Biocer sets the optimal conditions for a new bone creation.

Celem pracy było określenie możliwości i skuteczności leczenia ubytków kostnych wokół zębów po hemisekcji, po wszczepieniu biomateriału hydroksyapatytowego HA Biocer.

## Materiał i metody

Badania kliniczne przeprowadzono u 51 pacjentów po zabiegu hemisekcji, u których wszczepiono HA Biocer w postaci granulek do zębodołów po usuniętej części zęba. Grupę kontrolną stanowiło 45 pacjentów bez wszczepu alloplastycznego.

Oceniano następujące parametry:

- radiologiczny wskaźnik pomiaru zaniku wyrostka zębodołowego szczęki i części zębodołowej żuchwy wg Engelbergera, Marthaler, Rateischaka (EMR),
- głębokość kieszonek dziąsłowych zgłębnikiem WHO 621,
- ruchomość zębów wg Entina,
- obnażenie korzenia wg Cieszyńskiego,
- płytkę bakteryjną wsk. Pl. I. wg Silnessa i Loe'go.

## Wyniki

Uzupełnienie zabiegu hemisekcji wszczepieniem biomateriału hydroksyapatytowego HA Biocer poprawia stan zachowanego zęba poprzez zahamowanie procesów destrukcji tkanki kostnej.

1. W grupie badanej nie doszło do procesów zaniku tkanki kostnej wokół korzeni zęba po hemisekcji w porównaniu do pacjentów z grupy kontrolnej, u których doszło do 11% ubytku wysokości kości.
2. W grupie badanej doszło do prawie dwukrotnego spłyceńnięcia kieszonek dziąsłowych w porównaniu z grupą kontrolną, gdzie zaobserwowano dwukrotne pogłębienie się kieszonek dziąsłowych.
3. W grupie badanej uzyskano znaczną poprawę stabilizacji zębów, głównie w ciągu pierwszych dwu lat badań, natomiast w grupie kontrolnej poprawę stabilizacji stwierdzono u trzykrotnie mniejszej liczby pacjentów w tym samym przedziale czasowym.
4. W grupie badanej zanotowano zmniejszenie stopnia obnażenia zaś w grupie kontrolnej zwiększenie lub zachowanie wartości początkowej.
5. W obu grupach obserwowano zmniejszenie się średniej wartości wskaźnika Pl. I. wraz z upływem czasu z tym, że w grupie badanej doszło do trzykrotnego zmniejszenia wartości tego wskaźnika a w grupie kontrolnej do dwukrotnego.

## A goal of a thesis

A goal of a thesis was to estimate the possibilities and efficiency of bone cavities in a hemisection region treatment, after a hydroxyapatite biomaterial HA Biocer implantation.

## Material and methods

Clinical research was carried in 51 patients after a hemisection process and with a HA Biocer in form of granules implanted into alveolus. The control group consisted of 45 patients without an alloplastic implant.

The following indexes were evaluated:

- radiological index of alveolar bone atrophy measurement and alveolar mandible part, according to Engelberger, Marthaler and Rateischak (EMR)
- gingival pouch depth measurement with a WHO 621 probe,
- tooth mobility index, according to Entin,
- root denudation index, according to Cieszyński,
- bacterial plaque index Pl. I, according to Silness and Loe.

Parameter measurements were done before hemisection process and after 6 weeks, after 6, 12, 24, 36, 48 months and after 60 months past the process.

## Results

Supplementation of hemisection process by hydroxyapatite HA Biocer biomaterial implantation improves condition of the kept teeth by stopping the destruction process in a bone tissue.

1. In the first (HA Biocer) group it didn't come for the bone tissue atrophy in the root region after hemisection comparing to the control group where 11% level of bone depletion appeared.
2. The gingival pouches became twice more shallow in researched group comparing to the control group where the pouches were twice as deep.
3. In the researched group a significant improvement of tooth stabilization was achieved, mainly during the first two years and in control group an improvement was observed at a triple less number of patients in the same period of time.
4. Decrease of root denudation level was noted in the researched group while in control group an increase or maintaining an entry level.
5. In 5-year control period a consequent decrease of medium Pl. I. index values was observed in both groups, however in the first, HA Biocer treated group Pl. I. index reached triple lower value and in the second, non-hydroxyapatite treated group, double lower.



ADHESION, DIFFERENTIATION AND IMMUNE ACTIVATION OF HUMAN OSTEOGENIC CELLS IN CULTURES ON CARBON-FIBRE REINFORCED CARBON COMPOSITES

Lucie Bačáková\*, Vladimír Starý\*\*, Petr Glogar\*\*\*, Věra Lisá\*

\*Institute Of Physiology, AS CR, Prague 4, Czech Republic

\*\*Department Of Material Engineering, Faculty Of Mechanical Engineering, Czech Technical University, Prague 2, Czech Republic

\*\*\*Institute Of Rock Structure And Mechanics, AS CR, Prague 8, Czech Republic

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 8-9]

VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS IN CULTURES ON LACTIDE BASED POLYMERS FOR POTENTIAL CONSTRUCTION OF ARTIFICIAL VESSEL WALL

E. Filová\*, L. Bačáková\*, V. Lisá\*, L. Machová\*\*, M. Lapčíková\*\*, D. Kubies\*\*\*, V. Proks\*\*\*, F. Rypáček\*\*

\*Institute of Physiology Academy of Sciences of the Czech Republic, Vídeňská St. 1083, 142 00, Prague 4-Krč, Czech Republic

\*\*Institute of Macromolecular Chemistry Academy of Sciences of the Czech Republic, Heyrovský Sq. 2, 162 06 Prague 6, Czech Republic

\*\*\*Centre for Cell Therapy and Tissue Repair, 2nd Faculty of Medicine, V úvalu 84, Prague 5, Czech Republic

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 9-11]

STRUKTURY POROWATE MATERIAŁÓW CERAMICZ-NYCH NA NOŚNIKI ŻYWYCH KOMÓREK DO STOSOWANIA W INŻYNIERII TKANKOWEJ

Zbigniew Jaegermann, Joanna Karaś, Sławomir Michałowski

Instytut Szkła i Ceramiki, Warszawa

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 12-14]

POROUS STRUCTURES OF CERAMIC MATERIALS USED AS SCAFFOLDS FOR LIVING CELLS FOR APPLICATION IN TISSUE ENGINEERING

Zbigniew Jaegermann, Joanna Karaś, Sławomir Michałowski

Institute of Glass and Ceramics (ISC), Warsaw

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 12-14]

ODCZYNY TKANKOWE W MIEJSCU WSZCZEPIENIA W ŚCIANĘ TCHAWICY IMPLANTÓW Z WŁÓKNINY WĘGLOWEJ

Wojciech Ścierański\*, Dariusz Lange\*\*, Jerzy Nożyński\*\*\*, Ewa Zembala-Nożyńska\*\*\*\*, Grzegorz Namysłowski\*, Marta Błażewicz \*\*\*\*\*, Jan Pilch\*\*\*\*\*, Grzegorz Bajor\*\*\*\*\*

\*Katedra i Klinika Laryngologii Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze

\*\*Zakład Patologii Instytutu Onkologii, Gliwice

\*\*\*Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrze

\*\*\*\*Katedra i Zakład Patomorfologii w Zabrze Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

\*\*\*\*\*Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie

\*\*\*\*\*Zakład Anatomii Prawidłowej, Akademia Wychowania Fizycznego w Katowicach

\*\*\*\*\*Katedra i Klinika Chirurgii Dziecięcej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 15-16]

TISSUE REACTION AFTER THE TRACHEAL IMPLANTATION CARBONM CLOTH

Wojciech Ścierański\*, Dariusz Lange\*\*, Jerzy Nożyński\*\*\*, Ewa Zembala-Nożyńska\*\*\*\*, Grzegorz Namysłowski\*, Marta Błażewicz \*\*\*\*\*, Jan Pilch\*\*\*\*\*, Grzegorz Bajor\*\*\*\*\*

\*Chair and Department of Otorhinolaryngology, Silesian Medical University in Zabrze,  
\*\*Department of Pathology, Institute of Oncology, Gliwice  
\*\*\*Silesian Center for Heart Diseases, Zabrze, Poland,  
\*\*\*\*Chair and Department of Pathomorphology, Silesian Medical University in Katowice,  
Zabrze, Poland  
\*\*\*\*\*Department of Advanced Ceramics, University of Mining And Metallurgy, Cracow,  
Poland  
\*\*\*\*\*  
\*\*\*\*\*Chair and Clinic of Pediatric Surgery, Silesian Medical University in Katowice,  
Poland  
[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 15-16]

MORFOMETRYCZNA ANALIZA WCZESNEGO OKRESU BIODEGRADACJI  
IMPLANTÓW WŁÓKNI-NY WĘGLOWEJ WSZCZEPIONYCH W ŚCIANĘ TCHAWICY  
Wojciech Ścierański\*, Dariusz Lange\*\*, Jerzy Nożyński\*\*\*, Ewa Zembala-Nożyńska\*\*\*\*,  
Grzegorz Namysłowski\*, Marta Błażewicz\*\*\*\*\*, Jan Pilch\*\*\*\*\*,  
Grzegorz Bajor\*\*\*\*\*

\*Katedra i Klinika Laryngologii Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrzu  
\*\*Zakład Patologii Instytutu Onkologii, Gliwice  
\*\*\*Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrzu  
\*\*\*\*Katedra i Zakład Patomorfologii w Zabrzu Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach  
\*\*\*\*\*Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie  
\*\*\*\*\*Zakład Anatomii Prawidłowej, Akademia Wychowania Fizycznego w Katowicach  
\*\*\*\*\*Katedra i Klinika Chirurgii Dziecięcej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach  
[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 17-19]

MORPHOMETRIC BIODEGRADATION ANALYSIS OF EARLY PERIOD OF CARBON  
FIBRE IMPLANTS INSERTED INTO TRACHEA WALL

Wojciech Ścierański\*, Dariusz Lange\*\*, Jerzy Nożyński\*\*\*, Ewa Zembala-Nożyńska\*\*\*\*,  
Grzegorz Namysłowski\*, Marta Błażewicz\*\*\*\*\*, Jan Pilch\*\*\*\*\*, Grzegorz Bajor\*\*\*\*\*

\*Chair and Department of Otorhinolaryngology, Silesian Medical University in Zabrze,  
\*\*Department of Pathology, Institute of Oncology, Gliwice  
\*\*\*Silesian Center for Heart Diseases, Zabrze, Poland,  
\*\*\*\*Chair and Department of Pathomorphology, Silesian Medical University in Katowice,  
Zabrze, Poland  
\*\*\*\*\*Department of Advanced Ceramics, University of Mining And Metallurgy, Cracow,  
Poland  
\*\*\*\*\*Chair and Clinic of Pediatric Surgery, Silesian Medical University in Katowice,  
Poland  
[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 17-19]

CHARAKTERYSTYKA MORFOMETRYCZNA WŁÓKIEN WĘGLOWYCH  
KOMPOZYTÓW WĘGLOWYCH IMPLANTOWANYCH ŚRÓDKOSTNIE KRÓLIKOM  
PO OKRESIE 22 TYGODNIOWYM

Grzegorz Bajor\*, Ewa Zembala-Nożyńska\*\*, Jerzy Nożyński\*\*\*, Wojciech Ścierański\*\*\*\*,  
Adam Grzybowski\*\*\*, Daniel Sabat\*\*

\*Katedra i Klinika Chirurgii Dziecięcej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach  
\*\*Katedra i Zakład Patomorfologii w Zabrzu Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach  
\*\*\*Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrzu  
\*\*\*\*Katedra i Klinika Otolaryngologii w Zabrzu Śląskiej Akademii Medycznej w  
Katowicach

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 20-22]

MORPHOMETRIC PROFILE OF CARBON FIBRE/ CARBON COMPOSITES  
IMPLANTED INTO BONES IN RABBITS AFTER A PERIOD OF 22 WEEKS

Grzegorz Bajor\*, Ewa Zembala-Nożyńska\*\*, Jerzy Nożyński\*\*\*, Wojciech Ścierański\*\*\*\*,  
Adam Grzybowski\*\*\*, Daniel Sabat\*\*

\*Chair and Clinic of Pediatric Surgery, Silesian Medical University in Katowice, Poland

\*\* Chair and Department of Pathomorphology, Silesian Medical University in Katowice,  
Zabrze, Poland

\*\*\*Silesian Center for Heart Diseases, Zabrze, Poland,

\*\*\*\*Chair and Department of Otorhinolaryngology, Silesian Medical University in Katowice,  
Zabrze, Poland

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 20-22]

CHARAKTERYSTYKA MORFOMETRYCZNA WŁÓKIEN WĘGLOWYCH  
KOMPOZYTÓW WĘGLO-WYCH ZAWIERAJĄCYCH PIROWĘGIEL I HYDRO-  
KSYAPATYT, IMPLANTOWANYCH ŚRÓDKOSTNIE KRÓLIKOM PO OKRESIE 22  
TYGODNIOWYM

Grzegorz Bajor\*, Jerzy Nożyński\*\*, Ewa Zembala-Nożyńska\*\*\*, Wojciech Ścierański\*\*\*\*,  
Adam Grzybowski\*\*, Tomasz Męcik\*\*\*

\*Katedra i Klinika Chirurgii Dziecięcej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

\*\*Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrzu

\*\*\*Katedra i Zakład Patomorfologii w Zabrzu Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

\*\*\*\*Katedra i Klinika Otolaryngologii w Zabrzu Śląskiej Akademii Medycznej w  
Katowicach

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 23-25]

MORPHOMETRIC PROFILE OF CARBON FIBRES IN CARBON COMPOSITES  
COVERED WITH PYROCARBON AND HYDROXYAPATITE, IMPLANTED INTO THE  
BONES/BONE MARROW OF RABBITS, AFTER 22 WEEKS

Grzegorz Bajor\*, Jerzy Nożyński\*\*, Ewa Zembala-Nożyńska\*\*\*, Wojciech Ścierański\*\*\*\*,  
Adam Grzybowski\*\*, Tomasz Męcik\*\*\*

\*Chair and Clinic of Pediatric Surgery, Silesian Medical University in Katowice, Poland

\*\*Silesian Center for Heart Diseases, Zabrze, Poland,

\*\*\*Chair and Department of Pathomorphology, Silesian Medical University in Katowice,  
Zabrze, Poland

\*\*\*\*Chair and Department of Otorhinolaryngology, Silesian Medical University in Katowice,  
Zabrze, Poland

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 23-25]

OCENA MORFOMETRYCZNA PROCESU BIODEGRADACJI WŁÓKIEN WĘGLO-  
WYCH KOMPOZYTÓW WĘGIEL-WĘGIEL W 22 TYGODNIOWYM OKRESIE  
OBSERWACJI

Jerzy Nożyński\*, Ewa Zembala-Nożyńska\*\*, Grzegorz Bajor\*\*\*, Wojciech Ścierański\*\*\*\*,  
Adam Grzybowski\*, Tomasz Męcik\*\*

\*Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrzu

\*\*Katedra i Zakład Patomorfologii w Zabrzu Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

\*\*\*Katedra i Klinika Chirurgii Dziecięcej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

\*\*\*\*Katedra i Klinika Otolaryngologii w Zabrzu Śląskiej Akademii Medycznej w  
Katowicach

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 26-28]

THE MORPHOMETRIC EVALUATION OF BIODEGRADATION PROCESS OF THE FIBRES OF CARBON-CARBON COMPOSITE IN THE 22ND WEEK OF OBSERVATION

Jerzy Nożyński\*, Ewa Zembala-Nożyńska\*\*, Grzegorz Bajor\*\*\*, Wojciech Ścierański\*\*\*\*, Adam Grzybowski\*, Tomasz Męcik\*\*

\*Silesian Center for Heart Diseases, Zabrze, Poland,

\*\*Chair and Department of Pathomorphology, Silesian Medical University in Katowice, Zabrze, Poland

\*\*\*Chair and Clinic of Pediatric Surgery, Silesian Medical University in Katowice, Poland

\*\*\*\*Chair and Department of Otorhinolaryngology, Silesian Medical University in Katowice, Zabrze, Poland

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 26-28]

OCENA MORFOMETRY-CZNA PROCESU BIODEGRADACJI WŁÓKIEN WĘGLOWYCH KOMPOZYTÓW WĘGIEL-OSNOWA EPOKSYDOWA HYDROKSYAPATYT W 22 TYGO-DNIOWYM OKRESIE OBSERWACJI

Ewa Zembala-Nożyńska\*, Grzegorz Bajor\*\*, Jerzy Nożyński\*\*\*, Wojciech Ścierański\*\*\*\*, Adam Grzybowski\*\*\*, Daniel Sabat\*

\*Katedra i Zakład Patomorfologii w Zabrzu Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

\*\*Katedra i Klinika Chirurgii Dziecięcej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

\*\*\*Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrzu

\*\*\*\*Katedra i Klinika Otolaryngologii w Zabrzu Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 29-32]

MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF BIODEGRADATION PROCESS OF CARBON COMPOSITES OF THE CARBON- EPOXIDE WRAP AND HYDROXYAPATITE AFTER 22-WEEK OBSERVATION

Ewa Zembala-Nożyńska\*, Grzegorz Bajor\*\*, Jerzy Nożyński\*\*\*, Wojciech Ścierański\*\*\*\*, Adam Grzybowski\*\*\*, Daniel Sabat\*

\*Chair and Department of Pathomorphology, Silesian Medical University in Katowice, Zabrze, Poland

\*\*Chair and Clinic of Pediatric Surgery, Silesian Medical University in Katowice, Poland

\*\*\*Silesian Center for Heart Diseases, Zabrze, Poland,

\*\*\*\*Chair and Department of Otorhinolaryngology, Silesian Medical University in Katowice, Zabrze, Poland

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 29-32]

HYDROKSYAPATYT NATURALNY - PREPARATYKA, WŁAŚCIWOŚCI

Krzysztof Haberko, Mirosław Bućko, Maria Haberko, Włodzimierz Mozgawa, Anna Pyda, Jerzy Zarębski

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

Opracowano metodę ekstrakcji naturalnego hydroksyapatytu (HAp) z kości zwierzęcych poprzez oddziaływanie na nie gorącym roztworem NaOH. Pozostająca w materiale substancja organiczna ulega utlenieniu w atmosferze powietrza w umiarkowanych temperaturach. W naturalnym hydroksyapatycie występują grupy węglanowe oraz niewielkie udziały magnezu, nieobecne w syntetycznym materiale. Udział grup węglanowych zmniejsza się ze wzrostem temperatury, równocześnie pojawia się wolny CaO. Struktura hydroksyapatytu zostaje jednak zachowana.

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 32-37]

## NATURAL HYDROXY-APATITE - PREPARATION, PROPERTIES

Krzysztof Haberko, Mirosław Bućko, Maria Haberko, Włodzimierz Mozgawa, Anna Pyda, Jerzy Zarębski

Faculty of Materials Science and Ceramics, AGH University of Science and Technology, Cracow, Poland

### Abstract

Natural origin hydroxyapatite(HAp) was extracted from the animal bones by their treatment with hot NaOH solution. Remaining organic matter oxidizes in air atmosphere at moderate temperatures. In the material of this kind carbonate groups and small amounts of magnesium were found, not present in the synthetic HAp. Fraction of carbonate groups decreases with temperature and also CaO appears, but structure of hydroxyapatite becomes preserved.

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 32-37]

## PROBLEMY APLIKACYJNE STENTÓW NACZYNIOWYCH

Marcin Kaczmarek, Jadwiga Tyrlik - Held, Jan Marciniak

Politechnika Śląska, Centrum Inżynierii Biomedycznej, ul. Akademicka 2a, 44 - 100 Gliwice

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 38-40]

## APPLICATION PROBLEMS OF VASCULAR STENTS

Marcin Kaczmarek, Jadwiga Tyrlik - Held, Jan Marciniak

Silesian University of Technology, Biomedical Engineering Center, ul. Akademicka 2a, 44 - 100 Gliwice

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 38-40]

## OCENA WPŁYWU WYBRANYCH DODATKÓW MODYFIKUJĄCYCH NA WŁAŚCIWOŚCI TRIBO-LOGICZNE KOMPOZYTU NA BAZIE ŻELAZA

Małgorzata Grądzka-Dahlke, Jan R. Dąbrowski

Wydział Mechaniczny Politechnika Białostocka w Białymstoku

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 41-43]

## THE EVALUATION OF THE INFLUENCE OF CHOSEN MODIFYING ADDITIONS ON THE TRIBOLOGICAL PROPERTIES OF IRON BASED COMPOSITE

Małgorzata Grądzka-Dahlke, Jan R. Dąbrowski

Faculty of Mechanical Engineering Białystok Technical University

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 41-43]

## KOMPOZYTY POLISULFON / KRÓTKIE WŁÓKNO WĘGLOWE - BADANIA KOMÓRKOWE

Bożena Konieczna\*, Barbara Czajkowska\*\*

\*Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, Kraków

\*\*Uniwersytet Jagielloński, Katedra Immunologii Collegium Medicum, Kraków

### Streszczenie

Przedstawiona praca dotyczy badań biogodności polisulfonu oraz jego kompozytów z krótkimi włóknami węglowymi różniącymi się obecnością powierzchniowych aktywnych grup funkcyjnych. Wytworzone próbki kompozytowe kontaktowano z komórkami ludzkich fibroblastów i osteoblastów. Wykonano oznaczenia żywotności komórek metodą MTT oraz stężenia produkowanego kolagenu Typ I testem ELISA. Przeprowadzone badania wykazały różnicę odpowiedzi komórkowej w zależności od rodzaju badanego materiału.

Słowa kluczowe: polisulfon, włókna węglowe, kompozyty

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 43-47]

#### POLYSULFONE / SHORT CARBON FIBRES COMPOSITES- CELLULAR INTERACTION STUDIES

Bożena Konieczna\*, Barbara Czajkowska\*\*

\*AGH - University of Science and Technology, Faculty of Materials Science and Ceramics, Department of Biomaterials, Krakow, Poland

\*\* Jagiellonian University Collegium Medicum, Department of Immunology, Krakow, Poland

Abstract

The work deals with polysulfone biocompatibility investigation and its composites with short carbon fibres differ with surface active functional groups. The human fibroblast and os-teoblasts cells were contacted with surfaces of composite samples. An MTT assay and Type I collagen concentration (ELISA) tests were carried out. Differences in cell response depending on the type of investigated materials have been presented.

Keywords: polysulfone, carbon fibres, composites

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 43-47]

#### ZMIANA TWARDOŚCI POLIETYLENU W IMPLANTOWANYCH PANEWKACH ENDOPROTEZ STAWU BIODROWEGO

Janusz Otfinowski\*, Joanna Kowal\*\*, Anna Żmihorska-Godfryd\*\*\*

\*Klinika Rehabilitacji, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego.

\*\*Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

\*\*\*Zakład Technologii Tworzyw Sztucznych, Wydział Chemiczny, Politechnika

Rzeszowska, Rzeszów

Streszczenie

Autorzy przedstawili w pracy wyniki badania twardości próbek polietylenu pochodzącego z panewek endoprotez stawu biodrowego, usuniętych od chorych podczas operacji rewizyjnych, wykonanych po różnie długich okresach implantacji. Stwierdzono wyraźny spadek twardości materiału po jego implantacji do organizmu. Nie stwierdzono natomiast prostej zależności pomiędzy stopniem utraty twardości a czasem eksploatacji endoprotezy.

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 47-49]

#### CHANGING HARDNESS OF POLYETHYLENE IN ACETABULAR CUPS OF HIP JOINT PROSTHESES

Janusz Otfinowski\*, Joanna Kowal\*\*, Anna Żmihorska-Godfryd\*\*\*

\*Klinika Rehabilitacji, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego.

\*\*Zakład Chemii Fizycznej i Elektrochemii Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

\*\*\*Zakład Technologii Tworzyw Sztucznych, Wydział Chemiczny, Politechnika

Rzeszowska, Rzeszów

Abstract

The authors presented results of hardness tests on polyethylene samples taken from the acetabular cups of hip prostheses. The polyethylene cups were removed from patients at the time of hip revision surgery performed after different periods of prostheses exploitation. The results showed significant decrease of hardness of implanted polyethylene in comparison with new one but there was no direct dependence between the level of decrease and duration of prosthesis implantation.

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 47-49]

#### EKSPERYMENTALNE BADANIA GWOŹDZI ŚRÓDSZPIKOWYCH RYGLOWANYCH

J. Marciniak\*, R. Będziński\*\*, L. J. Jankowski\*\*, W. Chrzanowski\*

\*Centrum Inżynierii Biomedycznej, ul. Akademicka 2a, 44-100 Gliwice

\*\*Politechnika Wrocławska, ul. Łukasiewicza 7/9, 50-371 Wrocław

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 50-52]

EKSPERYMENTALNA WYKONANIE I WYKORZYSTANIE METODY ELEMENTÓW KOŃCZĄCYCH

J. Marciniak\*, R. Będziński\*\*, L. J. Jankowski\*\*, W. Chrzanowski\*

\*Silesian University of Technology, Biomedical Engineering Centre, ul. Akademicka 2a, 44-100 Gliwice

\*\*Wrocław University of Technology, ul. Łukasiewicza 7/9, 50-371 Wrocław

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 50-52]

BIOMECHANICZNA ANALIZA UKŁADU KOŚĆ UDOWA- GWÓZDŹ ŚRÓD-SZPIKOWY Z WYKORZYSTANIEM METODY ELEMENTÓW KOŃCZĄCYCH

J. Marciniak, W. Chrzanowski, M. Kaczmarek

Politechnika Śląska, Centrum Inżynierii Biomedycznej, ul. Akademicka 2a, 44-100 Gliwice

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 53-55]

BIOMECHANICAL ANALYSIS OF FEMORAL BONE- INTRAMEDULLARY NAIL SYSTEM WITH THE USE OF FINITE ELEMENTS METHOD

J. Marciniak, W. Chrzanowski, M. Kaczmarek

Silesian University of Technology, Biomedical Engineering Centre, ul. Akademicka 2a, 44-100 Gliwice

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 53-55]

MODYFIKACJA STRUKTURY WARSTWY POWIERZCHNIOWEJ STOPU Ti6Al4V ELI

J. Marciniak, W. Chrzanowski, J. Żak

Politechnika Śląska, Centrum Inżynierii Biomedycznej, ul. Akademicka 2a, 44-100 Gliwice

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 56-58]

SURFACE STRUCTURE MODIFICATION OF Ti6Al4V ELI alloy

J. Marciniak, W. Chrzanowski, J. Żak

Silesian University of Technology, Biomedical Engineering Centre, ul. Akademicka 2a, 44-100 Gliwice

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 56-58]

OCENA WPŁYWU STANU CHROPOWATOŚCI POWIERZCHNI CERAMIKI KORUNDOWEJ NA WYBRANE PARAMETRY KRWI

Stanisław Pielka\*, Maria Szymonowicz\*, Danuta Paluch\*, Zdzisław Librant\*\*, Joanna Karaś\*\*\*, Henryka Karmelita - Buczyńska\*\*\*\*, Zbigniew Jegerman\*\*\*

\*Zakład Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów Akademii Medycznej we Wrocławiu

\*\*Instytut Technologii Materiałów Elektronicznych w Warszawie,

\*\*\* Instytut Szkła i Ceramiki w Warszawie

\*\*\*\* Laboratorium Analityczne Akademickiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 59-62]

ESTIMATION OF THE REACTION OF THE STATE OF CORUNDUM CERAMICS SURFACE ROUGHNESS ON THE CHOSEN BLOOD PARAMETERS

Stanisław Pielka\*, Maria Szymonowicz\*, Danuta Paluch\*, Zdzisław Librant\*\*, Joanna Karaś\*\*\*, Henryka Karmelita - Buczyńska\*\*\*\*, Zbigniew Jegerman\*\*\*

\*Department of Experimental Surgery and Biomaterial Research, Wrocław Medical University

\*\*Institute of Electronical Materials Technology in Warsaw

\*\*\*Institute of Glass and Ceramics in Warsaw

\*\*\*\*Analytical Laboratory ASK in Wrocław

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 59-62]

#### BADANIA ODDZIAŁYWANIA KOMPOZYTÓW SIARKOWYCH NA UKŁAD KRZEPNIĘCIA I ELEMENTY KOMÓRKOWE KRWI

Stanisław Pielka\*, Maria Szymonowicz\*, Danuta Paluch\*, Joanna Karaś\*\*, Zdzisław Librant\*\*\*, Henryka Karmelita-Buczyńska\*\*\*\*, Zbigniew Jegermen\*\*

\*Zakład Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów Akademii Medycznej we Wrocławiu,

\*\* Instytut Technologii Materiałów Elektronicznych w Warszawie,

\*\*\* Instytut Szkła i Ceramiki w Warszawie,

\*\*\*\* Laboratorium Analityczne Akademickiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 63-66]

#### INVESTIGATION OF SULPHUR COMPOSITES REACTION ON THE COAGULATION SYSTEM AND CELLULAR ELEMENTS OF BLOOD

Stanisław Pielka\*, Maria Szymonowicz\*, Danuta Paluch\*, Joanna Karaś\*\*, Zdzisław Librant\*\*\*, Henryka Karmelita-Buczyńska\*\*\*\*, Zbigniew Jegermen\*\*

\*The Department of Experimental Surgery and Biomaterials Research of Wrocław Medical University,

\*\*Institute of Electronical Materials Technology in Warsaw,

\*\*\*Institute of Glass and Ceramics in Warsaw,

\*\*\*\*Analytical Laboratory ASK in Wrocław

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 63-66]

#### WPŁYW BIOMATERIAŁÓW NA SYNTEZĘ CYTOKIN PROZAPALNYCH W LEUKOCYTACH LUDZKIEJ KRWI OBWODOWEJ

Stanisław Pielka\*, Anna Czarny\*\*, Bogusława Żywicka\*, Ewa Zaczyńska\*\*, Leszek Solski\*, Danuta Paluch\*, Jolanta Staniszevska-Kuś\*

\*Zakład Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów Akademii Medycznej we Wrocławiu

\*\* Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 66-]

#### THE INFLUENCE OF THE BIOMATERIALS FOR THE PROINFLAMMATORY CYTOKINES SYNTHESIS IN HUMAN LEUKOCYTES FROM PERIPHERAL BLOOD

Stanisław Pielka\*, Anna Czarny\*\*, Bogusława Żywicka\*, Ewa Zaczyńska\*\*, Leszek Solski\*, Danuta Paluch\*, Jolanta Staniszevska-Kuś\*

\*Medical Academy in Wrocław, Institute of Experimental Surgery and Biomaterials Research, Wrocław, Poland,

\*\*Institute of Immunology and Experimental Therapy, Polish Academy of Sciences, Wrocław, Poland

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 66-69]

#### NIKTÓRE PROBLEMY WYKORZYSTANIA BIOINŻYNIERII W ZAAWANSOWANEJ CHIRURGII KRĘGOSŁUPA

L. F. Ciupik

LfC, Instytut BioMedycznej Technologii i Inżynierii, (LfCoIBMTE) Zielona Góra, Polska  
Streszczenie

Więcej niż 25% populacji europejskiej ma zwyrodnienia, zniekształcenia, problemy onkologiczne, bóle pleców i inne neuro-ortopedyczne upośledzenia układu kostno-mięśniowo-kostnego człowieka. Dzisiaj w leczeniu chirurgicznym używa się zbyt dużo



"sztywnego" metalu, który ogranicza ruchomość pacjenta i powoduje wzrost ryzyka komplikacji pooperacyjnej.

Zastosowanie nowego bio-nano-materiału i bio-technologii pozwala na stworzenie nowej generacji wielofunkcyjnego implantu, który mniej obciąża pacjenta i zachowuje jego ruchomość; "from arthrodesis to arthroplasty". Procedura implantacji będzie dostosowana do mikroinwazyjnej chirurgii. Wsparcie leczenia naprawą komórki i substytutem kości przedłuży okres aktywności życiowej pacjenta i zdrowe starzenie się społeczeństwa.

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 70-74]

#### SOME PROBLEMS OF BIOENGINEERING APPLICATION IN ADVANCED SPINE SURGERY

L. F. Ciupik

LfC, Institute of BioMedical Technology & Engineering, (LfCoIBMTE), Zielona Góra, Poland

Abstract

More than 25% of the European population suffers from arthritis, deformities, oncological problems, pain in the back or other neuro-orthopedic impairments of musculoskeletal system. Today, in surgical treatment with implants, too much of rigid metal is applied, which in consequence limits the movability of the patient and raises serious risk of complication in the patient's post-operational life. Application of new bio-nano-materials and bio-nano-technologies permits to create a new generation of multifunctional implants, which are less burdening for the patient, increasing patient's mobility; "from arthrodesis to arthroplasty". The procedure for implantation especially for spine will be adapted to minimally-invasive surgery. A parallel support by means of tissue repair and bone substitutes prolongs the patient's life-activity as well as healthy aging of the society.

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 70-74]

#### STRUKTURY POLILAKTYDOWE OTRZYMYWANE NA DRODZE DIALIZY - NOWE MATERIAŁY NA RUSZTOWANIA DO HODOWLI KOMÓRKOWYCH

Mariusz Gadzinowski, Stanisław Sosnowski, Stanisław Słomkowski

Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN, ul. Sienkiewicza 112, 90-363 Łódź

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 75-77]

#### NEW POLY(L,L-LACTIDE) STRUCTURES OBTAINED BY DIALYSIS - NEW MATERIAL FOR CELL CULTURES

Mariusz Gadzinowski, Stanislaw Sosnowski, Stanislaw Sosnowski

Center of Molecular and Macromolecular Studies, Polish Academy of Sciences, Sienkiewicza 112, 90-363 Lodz, Poland

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 75-77]

#### WYTWARZANIE MAKROKAPSULEK POLIMEROWYCH Z PRZEZNACZENIEM DO HODOWLI KOMÓREK

Marek Kozicki\*, Marek Kołodziejczyk\*\*, Katarzyna Filipczak\*, Piotr Ulański\*, Ireneusz Janik\*, Janusz Marian Rosiak\*

\*Instytut Techniki Radiacyjnej, Politechnika Łódzka, ul. Wróblewskiego 15, 93-590 Łódź

\*\*Klinika Chirurgii Ogólnej i Transplantologicznej, Akademia Medyczna w Warszawie, ul. Nowogrodzka 59

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 77-78]

#### PREPARATION OF POLYMERIC MACROCAPSULES FOR CELL CULTIVATION

Marek Kozicki\*, Marek Kołodziejczyk\*\*, Katarzyna Filipczak\*, Piotr Ulański\*, Ireneusz Janik\*, Janusz Marian Rosiak\*

\*Institute of Applied Radiation Chemistry, Technical University of Lodz, Wroblewskiego 15 St, 93-590 Lodz, Poland

\*\*Klinika Chirurgii Ogólnej i Transplantologicznej, Akademia Medyczna w Warszawie, ul. Nowogrodzka 59, Warsaw, Poland

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 77-78]

#### POROWATE WŁÓKNA WĘGLOWE DLA CELÓW MEDYCZNYCH

Izabella Piekarczyk\*, Elżbieta Menaszek\*\*, Lucyna Zamorska\*\*, Maria Żołnierek\*\*

\*Akademia Górniczo - Hutnicza, Katedra Biomateriałów, Kraków

\*\*Wydział Cytobiologii i Histochemii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków.

##### Streszczenie

Praca prezentuje wyniki badań nad otrzymywaniem włókniny węglowej, zbudowanej z porowatych włókien. W literaturze opisywane są liczne próby stosowania włókien węglowych w medycynie. Przedmiotem badań były włókna węglowe, różniące się stopniem krystaliczności, ilością heteroatomów, właściwościami mechanicznymi, jednakże wszystkie z tych włókien były materiałami nieporowatymi. Włókna węglowe, pomimo biozgodności, nie posiadają, w zadawalającym stopniu cech, które stymulowałyby regenerację tkanki chrzęstnej. Z doniesień literaturowych wynika, że proces odbudowy chrząstki w obecności implantu węglowego trwa wiele miesięcy [1,2]. Porowata włóknina węglowa stosowana jako implant do regeneracji tkanek mogłaby jednocześnie być nośnikiem różnego rodzaju leków lub aktywnych biologicznych cząstek przyspieszających odbudowę tkanki. W pracy przedstawiono analizę mikrostruktury włókien węglowych oraz wyniki badań biozgodności w warunkach in vivo. Wykazano, że biozgodność włókien porowatych jest lepsza w porównaniu z włóknami nieporowatymi.

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 78-81]

#### POROUS CARBON FIBRES FOR MEDICAL APPLICATIONS

Izabella Piekarczyk\*, Elżbieta Menaszek\*\*, Lucyna Zamorska\*\*, Maria Żołnierek\*\*

\*AGH University of Science and Technology, Department of Biomaterials, Cracow, Poland

\*\*Jagiellonian University, Collegium Medicum, Department of Cytobiology, Cracow, Poland

##### Abstract

The work describes the preparation of carbon fabrics composed of porous fibres. In the literature a number of studies devoted to the applications of carbon fibres in medicine can be found. They deal with fibres which differ in the degree of crystallinity, the number of heteroatoms, mechanical properties but all of them have been the nonporous materials. In spite of their biocompatibility, carbon fibres do not exhibit satisfactory features which would stimulate the regeneration of cartilage tissue. From literature data it follows that in the presence of a carbon implant tissue growth is a long-lasting process [1,2]. Porous carbon fabrics used as an implant for tissues regeneration could simultaneously serve as a support for delivery of drugs or biologically active agents which would stimulate the tissue growth. In the work the microstructure of carbon fibres as well as the results of in vivo biocompatibility studies are presented. It is shown that biocompatibility of porous fibres is higher than that of nonporous ones.

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 78-81]

#### ZASTOSOWANIE EPR - METODY ZNACZNIKÓW SPINOWYCH DO BADANIA WPLYWU JONÓW ŻELAZA I CHROMU NA STRUKTURĘ TKANKI OSIERDZIA ŚWINI

Beata Cwalina, Lechosław Dul, Maria Jastrzębska

Katedra Biofizyki, Śląska Akademia Medyczna, Ostrogórska 30, 41-200 Sosnowiec

Streszczenie

Badano zmiany struktury tkanek osierdzia świni, poddanych działaniu soli chromu i żelaza: szczawianu chromowo(III)-potasowego, siarczanu żelaza(II) i siarczanu żelaza(III), z zastosowaniem spektroskopii EPR - metody znaczników spinowych (znacznik spinowy: 4-izotiocyjaniano-Tempo; ITCTO). Wykazano, że tkanka osierdzia świni ulega modyfikacji pod wpływem jonów Cr(III), Fe(II) oraz Fe(III). Na podstawie badań makroskopowych oraz wyników badań EPR stwierdzono, że spośród zastosowanych substancji chemicznych, najbardziej efektywnym odczynnikiem sieciującym był siarczan żelaza (III). Ponadto wyniki badań EPR - metody znaczników spinowych sugerują, że szczawian chromowo(III)-potasowy modyfikuje tkankę osierdzia na innej drodze, niż związki żelaza. Wyjaśnienie tego mechanizmu wymaga dalszych badań.

Słowa kluczowe: tkanka, osierdzie świńskie, sieciowanie, jony żelaza i chromu, EPR, znakowanie spinowe.

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 82-84]

THE USE OF EPR - SPIN LABELING METHOD FOR INVESTIGATION THE INFLUENCE OF IRON AND CHROMIUM IONS ON THE STRUCTURE OF PORCINE PERICARDIUM TISSUE

Beata Cwalina, Lechosław Dul, Maria Jastrzębska

Department of Biophysics, Medical University of Silesia, Ostrogórska 30, 41-200 Sosnowiec

Abstract

Investigated were changes in the structure of porcine pericardium tissues treated with the chromium and ferro-salts: chromium(III)-potassium oxalate, ferro(II) sulphate and ferro(III) sulphate, using the EPR spectroscopy - spin labeling method (spin label: 4-isothiocyanato-Tempo; ITCTO). It has been demonstrated that the porcine pericardium tissue undergoes modification under the action of Cr(III), Fe(II) and Fe(III) ions. Based on the macroscopic examinations and results of EPR studies one ascertained that from among used chemical substances, the most effective crosslinking reagent was the ferro(III) sulphate. Besides, results of the EPR investigations - spin labeling method suggest that the chromium(III)-potassium oxalate modifies the pericardium tissue on other way, than the ferro compounds. Explanation of this mechanism requires further researches.

Key words: tissue, porcine pericardium, crosslinking, ferro and chromium ions, EPR, spin labeling.

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 82-84]

WPLYW PROMIENIOWANIA ULTRAFIOLETOWEGO I ŚWIATŁA WIDZIALNEGO NA STRUKTURĘ TKANKI OSIERDZIA ŚWINI

Beata Cwalina\*, Artur Turek\*, Jerzy Nożyński\*\*, Maria Jastrzębska\*

\*Katedra Biofizyki, Śląska Akademia Medyczna, Ostrogórska 30, 41-200 Sosnowiec

\*\*Fundacja Rozwoju Kardiochirurgii, Wolności 345, 41-800 Zabrze

Streszczenie

Analizowano wpływ promieniowania ultrafioletowego (UV) i światła widzialnego (VIS) na strukturę tkanek osierdzia świńskiego, wykorzystując badania profili elektroforetycznych białek uwalnianych z tkanek i histologiczne badania struktury tkanek. Wykazano, że tkanki osierdzia poddane naświetlaniu UV lub VIS w czasie 1 h lub dłuższym mogą ulegać procesowi fotodegradacji.

Słowa kluczowe: tkanka, osierdzie świńskie, struktura, naświetlanie, UV, VIS, elektroforeza białek, histologia.

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 85-88]

## EFFECT OF ULTRAVIOLET RADIATION AND VISIBLE LIGHT ON STRUCTURE OF PORCINE PERICARDIUM TISSUE

Beata Cwalina\*, Artur Turek\*, Jerzy Nożyński\*\*, Maria Jastrzębska\*

\*Department of Biophysics, Medical University of Silesia, Ostrogórska 30, 41-200 Sosnowiec

\*\*Foundation for Development of Cardiac Surgery, Wolności 345, 41-800 Zabrze

Abstract

Analysed was an effect of ultraviolet radiation (UV) and visible light (VIS) on structure of porcine pericardium tissue, by means of investigations of electrophoretic profiles of proteins extracted from tissues as well as histological examinations of the tissue structure. It has been demonstrated that the pericardium tissues treated with UV or VIS-radiation for 1 h or longer may undergo the photodegradation process.

Key words: tissue, porcine pericardium, structure, irradiation, UV, VIS, proteins, electrophoresis, histology.

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 85-88]

## ANTAGONIZM KADMU I WAPNIA W POWIERZCHNI STAWOWEJ GŁOWY KOŚCI UDOWEJ MIESZKAŃCÓW WOJEWÓDZTWA ŚLĄSKIEGO

Andrzej Jurkiewicz\*, Danuta Wiechuła\*\*, Krzysztof Loska\*\*\*, Tomasz Bielecki\*, Tadeusz Szymon Gaździk\*

\*Katedra i Oddział Kliniczny Ortopedii, Śląska Akademia Medyczna

\*\*Katedra i Zakład Toksykologii, Śląska Akademia Medyczna

\*\*\*Instytut Inżynierii Wody i Ścieków, Politechnika Śląska

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 89-90]

## CADM AND CALCIUM ANTAGONISM IN AN ARTICULAR SURFACE OF THE FEMUR HEAD IN SILESIAN INHABITANTS

Andrzej Jurkiewicz\*, Danuta Wiechuła\*\*, Krzysztof Loska\*\*\*, Tomasz Bielecki\*, Tadeusz Szymon Gaździk\*1

\*Department and Clinic of Orthopaedic, Medical University of Silesia

\*\*Department of Toxicology, Medical University of Silesia

\*\*\*Institute of Engineering Water and Sewers, Polytechnic of Silesia

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 89-90]

## WPLYW AKTYWNOŚCI RUCHOWEJ I DIETY NA GĘSTOŚĆ MINERALNĄ TKANKI KOSTNEJ ORAZ ZAWARTOŚĆ WAPNIA W KOŚCI GĄBCZASTEJ GŁOWY KOŚCI UDOWEJ U MIESZKAŃCÓW WOJEWÓDZTWA ŚLĄSKIEGO

Andrzej Jurkiewicz\*, Danuta Wiechuła\*\*, Tomasz Bielecki\*, Tadeusz Szymon Gaździk\*, Krzysztof Loska\*\*\*

\*Katedra i Oddział Kliniczny Ortopedii, Śląska Akademia Medyczna

\*\*Katedra i Zakład Toksykologii, Śląska Akademia Medyczna

\*\*\*Instytut Inżynierii Wody i Ścieków, Politechnika Śląska

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 91-93]

## INFLUENCE OF MOTORAL ACTIVITY AND DIET ON MINERAL DENSITY OF BONE TISSUE AND CALCIUM CAPACITY OF SPONGY FEMUR HEAD IN SILESIAN INHABITANTS

Andrzej Jurkiewicz\*, Danuta Wiechuła\*\*, Tomasz Bielecki\*, Tadeusz Szymon Gaździk\*, Krzysztof Loska\*\*\*

\*Department and Clinic of Orthopaedic, Medical University of Silesia

\*\*Department of Toxicology, Medical University of Silesia

\*\*\*Institute of Engineering Water and Sewers, Polytechnic of Silesia

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 91-93]

OCENA MECHANICZNEJ WYTRZYMAŁOŚCI TKANKI KOSTNEJ GŁOWY KOŚCI UDOWEJ Z WYKORZYSTANIEM BADANIA DENSYTOMETRYCZNEGO I HISTOMORFOMETRYCZNEGO

Andrzej Jurkiewicz\*, Danuta Wiechuła\*\*, Tomasz Bielecki\*, Tadeusz Szymon Gaździk\*, Krzysztof Loska\*\*\*

\*Katedra i Oddział Kliniczny Ortopedii, Śląska Akademia Medyczna

\*\*Katedra i Zakład Toksykologii, Śląska Akademia Medyczna

\*\*\*Instytut Inżynierii Wody i Ścieków, Politechnika Śląska

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 93-95]

ESTIMATION OF FEMUR HEAD MECHANICAL RESISTANCE WITH USING DENSITOMETRICAL AND HISTOMORPHOMETRICAL EXAMINATION

Andrzej Jurkiewicz\*, Danuta Wiechuła\*\*, Tomasz Bielecki\*, Tadeusz Szymon Gaździk\*, Krzysztof Loska\*\*\*

\*Department and Clinic of Orthopaedic, Medical University of Silesia

\*\*Department of Toxicology, Medical University of Silesia

\*\*\*Institute of Engineering Water and Sewers, Polytechnic of Silesia

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 93-95]

BIORESORBOWLANE POROWATE PODŁOŻA DLA INŻYNIERII TKANKOWEJ Z KOPOLIMERU GLIKOLIDU Z L-LAKTYDEM: WPŁYW MIKROSTRUKTURY NA OSTEOLASTY IN VITRO

Elżbieta Pamuła\*, Marta Błażewicz\*, Joanna Buczyńska\*, Barbara Czajkowska\*\*, Piotr Dobrzyński\*\*\*, Maciej Bero\*\*\*

\*Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, Kraków, Polska

\*\*Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Katedra Immunologii, Kraków, Polska

\*\*\*Polska Akademia Nauk, Centrum Chemii Polimerów, Zabrze, Polska

Streszczenie

Opracowano trzy rodzaje bioresorbowalnych gąbek dla inżynierii tkankowej. Gąbki te miały taką samą chemiczną budowę powierzchni i udział objętościowy porów, ale różny rozmiar porów: około 600 μm, 200 μm i 40 μm. Badania komórkowe (przeżywalność, synteza kolagenu) wykazały, że gąbka o największym rozmiarze porów jest najkorzystniejsza dla hodowli osteoblastów in vitro.

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 95-99]

BIORESORBABLE POROUS POLY-(GLYCOLIDE-CO-L-LACTIDE) SCAFFOLDS FOR TISSUE ENGINEERING: THE INFLUENCE OF MICROSTRUCTURE ON OSTEOLASTS IN VITRO

Elżbieta Pamuła\*, Marta Błażewicz\*, Joanna Buczyńska\*, Barbara Czajkowska\*\*, Piotr Dobrzyński\*\*\*, Maciej Bero\*\*\*

\*AGH - University of Science and Technology, Faculty of Materials Science and Ceramics, Department of Biomaterials, Kraków, Poland

\*\*Jagiellonian University, Collegium Medicum, Department of Immunology, Kraków, Poland

\*\*\*Polish Academy of Sciences, Centre of Polymer Chemistry, Zabrze, Poland

Abstract

Three types of bioresorbable foams for bone tissue engineering proposes have been elaborated. The foams have identical surface chemistry and volume fraction of pores but different pore sizes: about 600 μm, 200 μm and 40 μm, respectively. The results of in vitro osteoblasts study (viability and collagen synthesis) indicate that the best is the foam having the biggest size of pores.

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 95-99]

#### WPLYW FOTOCHEMICZNEJ MODYFIKACJI POWIERZCHNI POLISULFONU NA REAKCJE KOMÓRKOWE IN VITRO

Barbara Czajkowska\*, Joanna Kowal\*\*, Marta Błażewicz\*\*\*, Maria Ptak\*, Małgorzata Bobek\*

\*Katedra Immunologii Col.Med.U.J ,

\*\*Wydział Chemii U.J,

\*\*\*Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki AGH

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 99-102]

#### EFFECT OF PHOTOCHEMICAL MODIFICATION OF POLYSULFONE SURFACE ON CELLULAR REACTIONS IN VITRO

Barbara Czajkowska\*, Joanna Kowal\*\*, Marta Błażewicz\*\*\*, Maria Ptak\*, Małgorzata Bobek\*

\*Chair of Immunology, Coll. Med., Jagiellonian University,

\*\*Faculty of Chemistry, J. U.,

\*\*\*Faculty of Material Engineering and Ceramics, AGH University of Science and Technology

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 99-102]

#### BIOZGODNE CIENKIE WARSTWY TIN WYTWARZANE NA TYTANIE METALICZNYM I POLIURET-NIE METODĄ OSADZANIA LASEREM IMPULSOWYM

Roman Major\*, Roman Kustosz\*\*, Bogusław Major\*

\*Instytut Metalurgii i Inżynierii Materiałowej Polskiej Akademii Nauk w Krakowie

\*\*Fundacja Rozwoju Kardiochirurgii ; Instytut Protez Serca w Zabrze

Słowa kluczowe: osadzanie laserem impulsowym, azotek tytanu, biozgodność

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 103-104]

#### BIOCOMPATIBLE THIN LAYERS OF TIN FABRICATED ON METALLIC TITANIUM AND POLYURETHANE BY PULSED LASER DEPOSITION

Roman Major\*, Roman Kustosz\*\*, Bogusław Major\*

\*Institute of Metallurgy and Materials Sciences, Polish Academy of Sciences

\*\*Foundation Cardial Surgery Development; Institute of Heart Prostheses, Zabrze

Keywords: pulsed laser deposition, titanium nitride, biocompatibility

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 103-104]

#### FOTOCHEMICZNA MODYFIKACJA POLISULFONU

Joanna Kowal\*, Barbara Czajkowska\*\*, Marta Błażewicz\*\*\*, Celina Paluszkievicz\*\*\*\*

\*Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków,

\*\*Collegium Medium, Uniwersytet Jagielloński, Kraków, \*\*\*Wydział Inżynierii

Materiałowej i Ceramiki, Akademia Górniczo-Hutnicza, Kraków,

\*\*\*\*Środowiskowe Laboratorium Analiz Fizykochemicznych Fizykochemicznych Badań Strukturalnych, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Streszczenie

Badano zmiany związane z fotochemiczną modyfikacją polisulfonu w oparciu o analizę spektralną naświetlanych próbek. Stwierdzono tworzenie połączeń karbonylowych, grup hydroksyloowych a także obniżenie ilości grup eterowych i sulfonowych, które związane jest z degradacją polimeru. Obserwowany wzrost absorbancji w zakresie długofalowej części zakresu UV ( $\lambda > 290$  nm) przypisano tworzeniu się sprzężonych struktur polifenylowych.

Słowa kluczowe: polisulfon, modyfikacja fotochemiczna, analiza spektralna

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 104-107]

## PHOTOCHEMICAL MODIFICATION OF POLYSULFONE

Joanna Kowal\*, Barbara Czajkowska\*\*, Marta Błażewicz\*\*\*, Celina Paluszkiewicz\*\*\*\*

\*Faculty of Chemistry, Jagiellonian University, Kraków,

\*\* Collegium Medicum, Jagiellonian University, Kraków,

\*\*\*Faculty of Materials Engineering and Ceramics, University of Science and Technology Kraków,

\*\*\*\*Regional Laboratory of Physical Analyses and Structural Research, Jagiellonian University, Kraków

### Abstract

The changes resulting from the photochemical modification of polysulfone were examined with the use of spectroscopic analysis of irradiated samples. The formation of carbonyl and hydroxyl groups in irradiated films and the reduction of the amount of ether and sulfone groups, connected with the degradation of the polymer were observed. The increase of the long wave UV absorption ( $\lambda > 290$  nm) was attributed to the formation of polyphenyl conjugated structures.

Key words: polysulfone, photochemical modification spectral analysis

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 104-107]

## WZROST I RÓŻNICOWANIE KOMÓREK KOSTNYCH NA MODYFIKOWANYCH PODŁOŻACH POLIMEROWYCH

B. Polak\*, W. Fabianowski\*, M. Lewandowska-Szumieł\*\*

\*Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska, Noakowskiego 3; 00 664 Warszawa

\*\*Zakład Biofizyki i Fizjologii Człowieka, Akademia Medyczna w Warszawie, Chałubińskiego 5; 02 004 Warszawa

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 108-110]

## GROWTH AND DIFFERENTIATION OF BONE CELLS ON MODIFIED POLYMERIC SURFACES

B. Polak\*, W. Fabianowski\*, M. Lewandowska-Szumieł\*\*

\*Department of Chemistry, Warsaw University of Technology, Noakowskiego 3; 00 664 Warsaw

\*\*Department of Biophysics and Human Physiology, Medical University of Warsaw, Chałubińskiego 5; 02 004 Warsaw

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 108-110]

## TYPY WSPÓLCZEŚNIE UŻYWANYCH PROTEZ STAWÓW SKRONIOWO-ŻUCHWOWYCH

Marek Adwent, Tadeusz Cieślik

I Katedra i Klinika Chirurgii Szcękowo-Twarzowej Wydziału Lekarskiego w Zabrzu Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach, ul. Buchenwaldczyków 19, 41-800 Zabrze.

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 110-112]

## THE TYPES OF TEMPOROMANDIBULAR JOINT PROSTHESIS USED IN TREATMENT

Marek Adwent, Tadeusz Cieślik

I Katedra i Klinika Chirurgii Szcękowo-Twarzowej Wydziału Lekarskiego w Zabrzu Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach, ul. Buchenwaldczyków 19, 41-800 Zabrze.

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 110-112]

## POLISULFON WZMOCNIONY WŁÓKNIEM WĘGLOWYM JAKO ELEMENT STABILIZUJĄCY ZŁAMANIA KOŚCI TWARZY

Tadeusz Cieślik\*, Jacek Wróbel\*, Jan Chłopek\*\*

\*I Katedra i Klinika Chirurgii Szczękowo-Twarzowej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

\*\*Katedra Biomateriałów Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie

Streszczenie

Celem niniejszego opracowania było wykazanie przydatności polisulfonu z włóknami węglowymi w zespalaniu kości twarzy. Wchłanialne płytki i śruby zostały zastosowane u 3 pacjentów operowanych z powodu złamań żuchwy. Nie stwierdzono powikłań pooperacyjnych. Procesowi gojenia nie towarzyszył stan zapalny. Nie zaobserwowano przemieszczenia odłamów. Stwierdzono, że płytki i śruby z polisulfonu wzmocnionego włóknami węglowymi pozwalają uzyskać stabilne zespolenie kości części twarzowej czaszki. [Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 112-115]

POLYSULPHON REINFORCED WITH CARBON FIBRE AS THE STABILIZING ELEMENT IN MAXILLOFACIAL SURGERY

Tadeusz Cieślak\*, Jacek Wróbel\*, Jan Chłopek\*\*

\*I Katedra i Klinika Chirurgii Szczękowo-Twarzowej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

\*\*Katedra Biomateriałów Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the usefulness of the polysulphon with carbon fibres osteosynthesis system in maxillofacial surgery. Bioabsorbables miniplates and screws were used clinically on 3 patients without any postoperative complications. The healing process was satisfying without infections and obvious displacements of bone segments. The polysulphon with carbon fibres miniplates and screws provided effective osteosynthesis of the maxillofacial skeleton.

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 112-115]

ZASTOSOWANIE ŚRUB BIKORTYKALNYCH W CHIRURGII ORTOGNATYCZNEJ

Joanna Herman, Tadeusz Cieślak

I Katedra i Klinika Chirurgii Szczękowo-Twarzowej Śląskiej Akademii Medycznej

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 115-117]

THE APPLICATION OF BICORTICAL SCREWS IN ORTHOGNATHIC SURGERY

Joanna Herman, Tadeusz Cieślak

I Department and Clinic of Oral and Maxillofacial surgery of Silesian Medical Academy

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 115-117]

KOMPOZYTY KOPOLIME-RU P(LLA/GLA) Z WŁÓK-NEM WĘGLOWYM W WARUNKACH DOTKANKO-WEJ IMPLANATACJI- BADANIA WSTĘPNE

Cieślak T.\*, Adwent M.\*, Bajor G.\*\*, Chłopek J.\*\*\*, Sabat D.\*\*\*\*, Bielecka A.\*

\*I Katedra i Klinika Chirurgii Szczękowo-Twarzowej ŚLAM, Zabrze

\*\* Katedra i Klinika Chirurgii Dziecięcej ŚLAM, Katowice

\*\*\* Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki AGH, Kraków

\*\*\*\*Katedra i Zakład Patomorfologii ŚLAM, Zabrze

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 117-119]

THE COPOLYMERS P(LLA/GLA) REINFORCED WITH CARBON FIBRES IN RABBIT TISSUE-PRELIMINARY STUDY

Cieślak T.\*, Adwent M.\*, Bajor G.\*\*, Chłopek J.\*\*\*, Sabat D.\*\*\*\*, Bielecka A.\*

\*I Katedra i Klinika Chirurgii Szczękowo-Twarzowej ŚLAM, Zabrze

\*\* Katedra i Klinika Chirurgii Dziecięcej ŚLAM, Katowice

\*\*\* Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki AGH, Kraków



\*\*\*\*Katedra i Zakład Patomorfologii ŚLAM, Zabrze  
[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 117-119]

OCENA PRZEBIEGU GOJENIA ZŁAMAŃ ŻUCHWY ORAZ FORMOWANIA BLIZNY SKÓRNEJ POD WPŁYWEM ZMIENNYCH PÓL MAGNETYCZNYCH O NISKICH WARTOŚCIACH INDUKCJI

Piotr Jędrzejewski\*, Tadeusz Cieślik\*, Aleksander Sieroń\*\*

\*I Katedra i Klinika Chirurgii Szczękowo-Twarzowej ŚAM w Zabrze

\*\*Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych i Medycyny Fizykalnej ŚAM w Bytomiu

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 120-122]

ASSESSMENT OF THE HEALING COURSE OF MANDIBLE FRACTURES AND SCARRING AFTER TREATMENT WITH MAGNETIC FIELDS OF LOW INDUCTION

Piotr Jędrzejewski\*, Tadeusz Cieślik\*, Aleksander Sieroń\*\*

\* I Department of Maxillofacial Surgery, Medical University of Silesia, Zabrze

\*\* Department of Internal Diseases and Physical Medicine, Medical University of Silesia, Bytom

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 120-122]

BADANIA NAD SYNTEZĄ SILIKONO-URETANÓW ORAZ WSTĘPNA OCENA ICH WŁAŚCIWOŚCI POD KĄTEM ZASTOSOWANIA JAKO BIOMATERIAŁÓW

Janusz Kozakiewicz, Jarosław Przybylski, Magdalena Brzozowska, Ewa Tulińska-Łukaszewska

Instytut Chemii Przemysłowej, 01-793 Warszawa, Rydygiera 8

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 123-125]

STUDIES ON SYNTHESIS OF SILICONE-URETHANES AND PRELIMINARY EVALUATION OF THEIR PROPERTIES IN VIEW OF APPLICATION AS BIOMATERIALS

Janusz Kozakiewicz, Jarosław Przybylski, Magdalena Brzozowska, Ewa Tulińska-Łukaszewska

Industrial Chemistry Research Institute, 01-793 Warszawa, Rydygiera 8

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 123-125]

LECZENIE PRZETOK AORTALNO-DWUNASTNICZYCH PO ZABIEGACH REKONSTRUKCYJNYCH NA AORCIE BRZUSZNEJ Z UŻYCIEM PROTEZY IMPREGNOWANEJ SOLAMI SREBRA

Artur Pupka, Paweł Chudoba, Stanisław Pawłowski, Artur Ruciński, Piotr Szyber

Katedra i Klinika Chirurgii Naczyniowej, Ogólnej i Transplantacyjnej AM we Wrocławiu

Słowa kluczowe: wtórna przetoka aortalno-dwunastnicza, zakażenie protezy naczyniowej, homografitętniczny, proteza impregnowana srebrem

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 125-127]

THE TREATMENT OF AORTO-DUODENAL FISTULAS AFTER RECONSTRUCTIVE OPERATIONS OF THE ABDOMINAL AORTA WITH THE USE OF SILVER PROSTHESIS

Artur Pupka, Paweł Chudoba, Stanisław Pawłowski, Artur Ruciński, Piotr Szyber

Department of Vascular, General and Transplantological Surgery Wrocław University of Medicine

Key words: secondary aorto-duodenal fistula, vascular graft infection, arterial homografit, silver-coated prosthesis.

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 125-127]

POSZUKIWANIE NOWYCH TECHNOLOGII I METOD LECZENIA W ORTOPEDII,  
TRAUMATOLOGII I REHABILITACJI

Bogusław Frańczuk\*, Ireneusz Kotela\*\*

\*Klinika Chirurgii Urazowej, Ortopedii i Rehabilitacji Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków

\*\*Oddział Chirurgii Urazowo-Ortopedycznej i Rehabilitacji, SP ZOZ, Dąbrowa Tarnowska

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 127-130]

NEW TECHNOLOGIES AND TREATMENT STRATEGIES IN ORTHOPEDICS,  
TRAUMATOLOGY AND REHABILITATION

Bogusław Frańczuk\*, Ireneusz Kotela\*\*

\*Klinika Chirurgii Urazowej, Ortopedii i Rehabilitacji Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków

\*\*Oddział Chirurgii Urazowo-Ortopedycznej i Rehabilitacji, SP ZOZ, Dąbrowa Tarnowska

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 127-130]

BIOMECHANICZNE ASPEKTY STOSOWANIA IMPLANTÓW

Romuald Będziński

Politechnika Wroclawska Instytut Konstrukcji i Eksploatacji Maszyn Zakład Inżynierii Biomedycznej i Mechaniki Eksperymentalnej

Motto:

"Stworzony przez nas świat jest rezultatem naszego dotychczasowego myślenia.

Problemy, które ten świat generuje nie mogą być jednak rozwiązywane bez zmiany naszego obecnego sposobu myślenia."

Albert Einstein

[Inżynieria Biomateriałów, 30-33, (2003), 131-140]

BIOMECHANICAL ASPECTS OF IMPLANT USE

Romuald Będziński

Wroclaw University of Technology Institute of Machine Design and Operation

Experimental Mechanics and Biomechanics Division

Motto:

"The world we created is the result of our hitherto thinking.

Problems generated by this world cannot be solved, however, without a change in our current way of thinking."

[Engineering of Biomaterials, 30-33, (2003), 131-140]