

WPŁYW FOTOOKSYDACJI W OBECNOŚCI BŁĘKITU METYLENOWEGO NA WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNE OSIERDZIA ŚWINI

ARTUR TUREK^{1*}, MAGDALENA KOBIELARZ², BEATA CWAŁINA³,
ROMUALD BĘDZIŃSKI²

¹ KATEDRA BIOFARMACJII, ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY,
NARCZYŻOW 1, 41-200 SOSNOWIEC, POLSKA

² ZAKŁAD INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ I MECZANIKI EKSPERYMENTALNEJ,
POLITECHNIKA WROCŁAWSKA,
ŁUKASZEWCZA 7/9, 50-372 WROCŁAW, POLSKA

³ KATEDRA BIOTECHNOLOGII ŚRODOWISKOWEJ,
POLITECHNIKA ŚLĄSKA,
AKADEMICKA 2, 44-100 GLIWICE, POLSKA

* E-MAIL: ATUREK@VIP.INTERIA.PL

Streszczenie

Eliminacja najczęstszych wad stabilizacji tkanek zwierzęcych bogatych w kolagen jest przyczyną poszukiwań nowych metod ich przetwarzania. Celem przedstawionych badań było określenie właściwości mechanicznych osierdzia włóknistego świniej domowej po fotostabilizacji przez 8 h i 24 h w obecności światła białego (50 W) i 0,05% roztworu błękitu metylenowego. Badania przeprowadzono z wykorzystaniem testu jednoosiowego rozciągania tkanek ze stałą prędkością 0,3 mm/s, w warunkach pełnego ich uwodnienia w 0,9% roztworze chlorku sodu. Przeprowadzone badania ujawniły istotne zmniejszenie siły zrywającej w przypadku tkanek poddanych fotooksydacji, przy zachowaniu ich sztywności i wartości wydłużenia. W prezentowanych badaniach wykazano, iż fotostabilizacja wpływa na właściwości mechaniczne osierdzia.

Słowa kluczowe: fotooksydacja, osierdzie świń, bioprotezy, właściwości mechaniczne

[Inżynieria Biomateriałów, 96-98, (2010), 99-103]

Wprowadzenie

Tkanki bogate w kolagen stosowane są do wytwarzania bioprotez, zwłaszcza biologicznych zastawek serca [1]. W tym celu poddawane są one procesom stabilizacji z zastosowaniem metod fizycznych i/lub chemicznych. Procesy te pozwalają na zachowanie lub uzyskanie nowych właściwości fizyko-chemicznych tkanek [2,3]. W przypadku świńskich zastawek serca lub też osierdzia wołowego, do rozwiązań stosowanych najczęściej należy sieciowanie za pomocą aldehydu glutarowego (GA) [1]. Przetwarzany w ten sposób materiał tkankowy jest jednak potencjalnie cytotoxisyczny [4], a także ulega przedwczesnej kalcyfikacji [5]. Reakcje zapalone spowodowane obecnością materiału cytotoxisycznego, a także procesy kalcyfikacji przekładają się niekorzystnie na właściwości mechaniczne macierzy zewnątrzkomórkowej. Ponadto, wprowadzenie wiązań sieciujących, których częścią jest GA może prowadzić do przesztywnienia stabilizowanej macierzy zewnątrzkomórkowej.

Optymalne rozwiązanie stanowi dobór odpowiedniej metody stabilizacji tkanek pozwalającej na uzyskanie materiału całkowicie biozgodnego, nie ulegającego przedwczesnej kalcyfikacji. Sytuacja ta jest przyczyną poszukiwań nowych metod stabilizacji tkanek zwierzęcych do substytuowania między innymi zastawek serca.

INFLUENCE OF METHYLENE BLUE-MEDIATED PHOTOOXIDATION ON MECHANICAL PROPERTIES OF PORCINE PERICARDIUM

ARTUR TUREK^{1*}, MAGDALENA KOBIELARZ², BEATA CWAŁINA³,
ROMUALD BĘDZIŃSKI²

¹ DEPARTMENT OF BIOPHARMACY, MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA,
1 NARCYZW STREET, 41-200 SOSNOWIEC, POLAND

² DIVISION OF BIOMEDICAL ENGINEERING AND EXPERIMENTAL
MECHANICS,
WROCŁAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
7/9 ŁUKASZEWCZA STREET, 50-371 WROCŁAW, POLAND

³ ENVIRONMENTAL BIOTECHNOLOGY DEPARTMENT,
SILESIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
2 AKADEMICKA STREET, 44-100 GLIWICE, POLAND

* E-MAIL: ATUREK@VIP.INTERIA.PL

Abstract

The elimination of the most frequent drawbacks resulting from stabilization of animal collagen-rich tissues is the reason for seeking novel methods of their processing. The aim of this work was the determination of mechanical properties of fibrous porcine pericardium after 8 h and 24 h photostabilization in the presence of visible light (50 W) and 0.05% solution of methylene blue. Uniaxial tensile test of tissue specimens was performed with constant rate at 0.3 mm/s, in the condition of full-hydration in 0.9% sodium chloride solution. The studies showed significant decrease of failure force in the case of photooxidized tissues, with preservation of the stiffness and values of maximum extension. The studies have shown that photostabilization influences the mechanical properties of pericardium.

Keywords: photooxidation, porcine pericardium, bioprostheses, mechanical properties

[Engineering of Biomaterials, 96-98, (2010), 99-103]

Introduction

The collagen-rich tissues are used to manufacture bioprostheses, mainly biological heart valves [1]. In this case, they are stabilized by physical and/or chemical methods. These processes allow for preserving or obtaining novel physicochemical properties of tissues [2,3]. In the case of porcine heart valves or bovine pericardium, crosslinking by glutaraldehyde (GA) belongs to the most frequent solution [1]. Tissue material processed in this way is potentially cytotoxic [4], and also is subjected to premature calcification [5]. Inflammatory reaction due to the presence of cytotoxic material, and also processes of calcification relate to unfavorable mechanical properties of extracellular matrix. Moreover, introduction of GA as the part of cross-links leads to the excessive stiffness of stabilized extracellular matrix.

The optimal solution is the selection of the appropriate method of tissue stabilization allowing to obtain completely biocompatible material, and is not subjected to premature calcification. This situation is the reason for seeking the novel method of animal tissue stabilization for substitution of heart valve among other things.

Fotooksydacja przeprowadzana przez naświetlanie tkanek za pomocą światła białego w roztworze błękitu metylenowego (jako fotoaktywnego barwnika) stanowi jedno z alternatywnych rozwiązań. Mechanizm fotooksydacji nie jest do końca poznany. Obecnie dyskutowanych jest wiele hipotez dotyczących procesów fotochemicznych występujących podczas naświetlania tkanek w obecności barwnika. Podstawą procesów fotostabilizacji tkanek są reakcje między grupami funkcyjnymi aminokwasów w wyniku oddziaływanego z nimi wolnych rodników [3].

Celem pracy było określenie właściwości mechanicznych osierdzia włóknistego świń domowej po fotostabilizacji tkanek światłem białym w obecności roztworu błękitu metylenowego.

Materiały i metody

Osierdzie świń domowej pobrano w lokalnej rzeźni. Tkankę płukano w roztworze PBS o pH 6,5 schłodzonym do temperatury 4°C i transportowano w tych samych warunkach. Osierdzie włókniste oddzielono mechanicznie od pozostałych tkanek i użyto do badań.

Oczyszczony materiał wykorzystano w eksperymentach, w których badano 4 grupy próbek: (i) materiał natywny przechowywany w buforze PBS (pH 6,5) przez 24 h (n=6); (ii) tkanki traktowane 0,05% roztworem błękitu metylenowego bez dostępu światła przez 24 h (n=6); (iii) materiał poddany fotooksydacji przez 8 h w obecności światła białego i 0,05% roztworu błękitu metylenowego (n=9); (iv) tkanki poddane fotooksydacji przez 24 h w obecności światła białego i 0,05% roztworu błękitu metylenowego.

Eksperymenty prowadzono w kilku etapach. Materiał przeznaczony do fotostabilizacji inkubowano w 50% roztworze sacharozy w PBS przez 1 h. Następnie tkanki umieszczały w napowietrzonym 0,05% roztworze błękitu metylowego w PBS (1 h). Tak przygotowany materiał naświetlano z zastosowaniem źródła światła białego o mocy 50W przez 8 lub 24 h. Odległość źródła światła od lustra roztworu barwnika wynosiła 15 cm. Fotostabilizację prowadzono w temperaturze 15°C±0,5°C.

Badania właściwości mechanicznych prowadzono z wykorzystaniem testu jednoosiowego rozciągania tkanek ze stałą prędkością 0,3 mm/s, w warunkach pełnego ich uwodnienia, w 0,9% roztworze chlorku sodu. Do badań przygotowano próbki quasi-płaskie o wymiarach: szerokość 10 mm, długość 35 mm. Baza pomiarowa próbek po zamocowaniu ich do miernika siły AFG 25N (Advance Force Gauge; Mecmesin) wynosiła 25±2 mm. Wszystkie próbki wstępnie obciążano siłą 0,01 N.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono z wykorzystaniem programu Statistica 8.0 (StatSoft). Normalność rozkładu analizowanych wielkości sprawdzono na podstawie testu Shapiro-Wilka. Wszystkie analizowane parametry wykazywały rozkład normalny, stąd wyniki podano jako wartości średnie wraz z odchyleniami standaryзовymi ($X \pm SD$). Statystyczną istotność różnic wartości średnich analizowanych wielkości dla wszystkich przebadanych grup próbek oceniono na podstawie testu t-Studenta dla prób niezależnych. Testy przeprowadzono przy założeniu, że wartość graniczna poziomu istotności (p) wynosi 0,05.

Wyniki i dyskusja

Optymalna trwałość tkanek ksenogennych stosowanych do substytuowania zastawek serca jest osiągana w wyniku procesów stabilizacji. Dane literaturowe wskazują, że fotostabilizacja z użyciem roztworu błękitu metylenowego prowadzi do uzyskania materiału tkankowego, który jest

Photooxidation led by tissue irradiation with visible light in the solution of methylene blue as photoactive dye is the one of alternative solutions. The mechanism of photooxidation is not fully recognized. Nowadays there are many hypotheses relating to the photochemical processes occurring during tissue irradiation in the presence of dye. The reaction between the functional groups of amino acids as a result of their interaction with free radicals is the basis of photostabilization processes in tissues [3].

The aim of this work was the determination of the mechanical properties of porcine fibrous pericardium after photostabilization with visible light in the presence of the solution of methylene blue.

Materials and methods

Porcine pericardium was taken from local abattoir. Tissue was rinsed in cooled (4°C) solution of PBS (pH 6,5) and was transported in these conditions. Fibrous pericardium was mechanically separated from other tissues and used to the studies.

The purified material was used in the experiments. Four groups of samples were studied: (i) native material stored in the PBS buffer (pH 6,5) during 24 h (n=6); (ii) tissues treated with 0,05% solution of methylene blue during 24 h, without lighting (n=6); (iii) material photooxidized during 8 h in the presence of visible light and the 0,05% solution of methylene blue (n=9); (iv) tissues photooxidized during 24 h in the presence of visible light and 0,05% solution of methylene blue (n=9).

The experiments were carried out in a few stages. Material designed to photostabilization was incubated in 50% solution of saccharose in PBS, during 1 h. Next tissues were placed in aired 0,05% solution of methylene blue (1 h). Material prepared in this manner was irradiated with visible light (50 W) during 8 or 24 h. The distance between dye solution-level and light source was 15 cm. Photostabilization was carried out in the temperature of 15°C±0,5°C.

Studies of mechanical properties were performed on the basis of the uniaxial tensile test with constant speed of 0,3 mm/s, under conditions of full-hydration in 0,9% sodium chloride solution. Quasi-planar specimens were prepared for mechanical tests with constant geometrical dimensions: 10 mm width, 35 mm length. Measurement base of specimens after placing them in force gauge AFG 25N (Advance Force Gauge; Mecmesin) was 25±2 mm. All specimens were initially loaded by 0,01 N force.

The statistical analysis was carried out using Statistica 8.0 (StatSoft). Normal distribution of analyzed parameters was checked by Shapiro-Wilk test. All of parameters showed normal distribution, hence the results were presented in the form of average values with standard deviations ($X \pm SD$). The statistical analysis of the data was based on Student's t-test for independent samples. The statistical tests were carried out to a significance level (p) of 0,05.

Results and discussion

Optimal durability of xenogeneic tissues used to the substitution of biological heart valves is reached as a result of stabilization processes. Literature data showed that methylene blue-mediated fotostabilization leads to obtaining biocompatible, non-mutagenic, non-thrombogenic material which is not subjected to premature calcification [6,7]. Biological heart valves produced from stabilized tissues are exposed to cyclic mechanical loads, therefore stabilized material must possess optimal mechanical properties with parameters close to host tissue. Therefore, in this work the

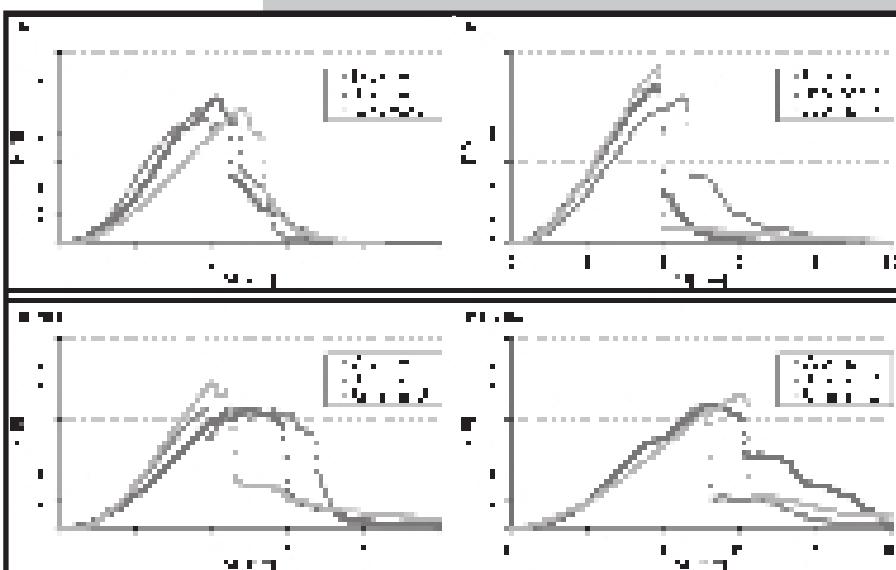
biozgodny, niemutagenny, nietrombogenny i nie ulega przedwczesnej kalcyfikacji [6,7]. Biologiczne zastawki serca wytworzone ze stabilizowanych tkanek narażone są na cykliczne obciążenia mechaniczne, dlatego stabilizowany materiał musi charakteryzować się optymalnymi właściwościami mechanicznymi, o parametrach zbliżonych do tkanki gospodarza. Z tego względu, w niniejszej pracy badano wpływ fotooksydacji na właściwości mechaniczne tkanek. Zależności siła-wydłużenie, uzyskane dla badanych materiałów tkankowych, przedstawiono na RYS. 1.

Uzyskane krzywe charakteryzowały się dużą powtarzalnością kształtu. Dla każdego analizowanego przypadku wyznaczono maksymalną wartość siły zrywającej (F_{MAX}) i odpowiadającą im wartości wydłużenia maksymalnego (Δl_{MAX}) oraz wartości współczynnika sztywności (k). F_{MAX} i Δl_{MAX} odczytano z wykresu zależności siła-wydłużenie (RYS. 2). Współczynnik k wyznaczono na podstawie nachylenia najdłuższego odcinka prostoliniowego charakterystyki siła-wydłużenie, zgodnie ze schematem przedstawionym na RYS. 2. Wartości średnie F_{MAX} , Δl_{MAX} i współczynnika k wraz z odchyleniami standardowymi analizowanych wielkości przedstawiono na RYS. 3.

Fotostabilizacja spowodowała istotne zmniejszenie F_{MAX} w porównaniu z materiałem natywnym (RYS. 3a). Efekt ten można wiązać z procesami fotodegradacyjnymi występującymi w macierzy zewnątrzkomórkowej podczas naświetlania. Granica między zjawiskami fotostabilizacji i fotodegradacji tkanek może być dość płynna. Obniżenie wartości F_{MAX} można także wiązać ze zmianami charakteru oddziaływań między elementami strukturalnymi występującymi w tkankach po ich naświetlaniu [3].

Wydłużenie czasu fotooksydacji z 8 h do 24 h nie wpłynęło istotnie na obniżenie wartości F_{MAX} mierzonych dla analizowanych próbek osierdzia (RYS. 3a). Dowodzi to tezy, iż proces fotooksydacji zachodzi dynamicznie już podczas pierwszych 8 h naświetlania tkanek w obecności fotoaktywnego barwnika.

Proces fotooksydacji nie spowodował również istotnych zmian wartości pozostałych analizowanych parametrów, jak Δl_{MAX} (RYS. 3b), a także współczynnik k (RYS. 3c). Z punktu widzenia funkcjonalności bioprotez, istotną cechą jest uzyskanie macierzy zewnątrzkomórkowej o współczynniku sztywności zbliżonym do tkanki gospodarza.



RYS. 1. Przykłady zależności siła [N]-wydłużenie [mm] dla próbek osierdzia świń: materiał natywny (N); tkanka traktowana 0,05% roztworem błękitu metylenowego (MB) bez naświetlania; materiał poddany fotooksydacji przez 8 h w obecności światła białego i 0,05% roztworu błękitu metylenowego (MB-VIS8); tkanka poddana fotooksydacji przez 24 h w obecności światła białego i 0,05% roztworu błękitu metylenowego (MB-VIS24).

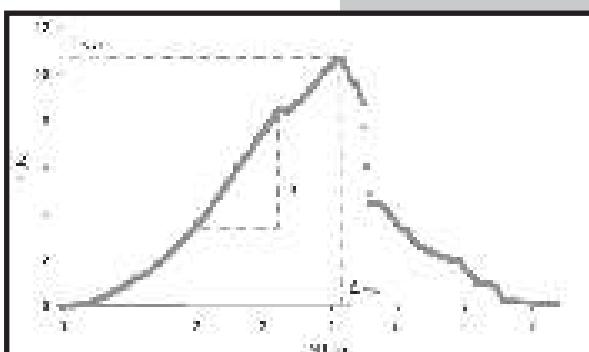
FIG. 1. Examples of force-extension curves for the samples of porcine pericardium: native material (N); non irradiated tissues treated with 0.05% solution of methylene blue (MB); material photooxidized during 8 h in the presence of visible light and the 0.05% solution of methylene blue (MB-VIS8); tissues photooxidized during 24 h in the presence of visible light and 0.05% solution of methylene blue (MB-VIS24).

influence of photooxidation on mechanical properties of tissues was studied. The results of the dependence of force-extension tissue materials have been presented in FIG. 1.

Obtained curves were characterized by high shape repeatability. For each analyzed case, values of maximum force (F_{MAX}) and corresponding them values of maximum extension (Δl_{MAX}) and stiffness coefficient (k) were defined. F_{MAX} and Δl_{MAX} were read from force-extension curves (FIG. 2). Coefficient k was appointed on the basis of the slope of the longest rectilinear section of force-extension curve, according to scheme presented in FIG. 2. Average values of F_{MAX} , Δl_{MAX} and coefficient k with standard deviations have been presented in FIG. 3.

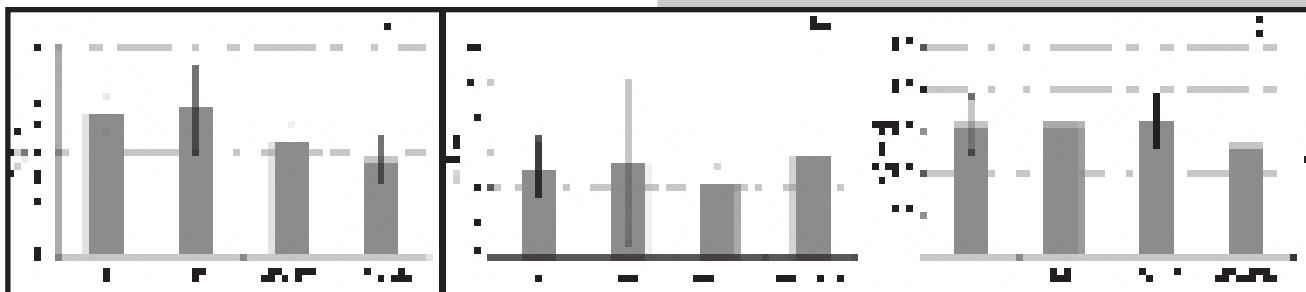
Photostabilization resulted in a significant decrease of F_{MAX} compared with native material (FIG. 3a). This effect may be connected with photodegradation processes occurring during irradiation in extracellular matrix. The border between photostabilization and photodegradation processes may be subtle. The decrease of F_{MAX} value may be connected with the character changes of interactions between structural elements in tissues after their irradiation [3].

The elongation of photooxidation time to 24 h did not influence the decrease of F_{MAX} value measured for analyzed samples of pericardium (FIG. 3a). This proves the thesis that photooxidation process already takes place during first 8 h of irradiation in the presence of photoactive dye.



RYS. 2. Typowa krzywa zależności siła-wydłużenie, z zaznaczonymi parametrami wyznaczanymi w trakcie badań właściwości mechanicznych, uzyskana dla tkanki poddanej fotooksydacji przez 24 h w obecności światła białego i 0,05% roztworu błękitu metylenowego (próbka nr 6).

FIG. 2. Typical force-extension curve, with appointed parameters defined during mechanical tests, obtained for tissues subjected to photooxidation during 24 h in the presence of visible light and the 0.05% solution of methylene blue (specimen no 6).



RYS. 3. Zestawienie średnich wartości wraz z odchyleniami standardowymi analizowanych parametrów: a) siła zrywająca (F_{MAX}); b) wydłużenie maksymalne (Δl_{MAX}); c) współczynnik sztywności (k), uzyskanymi dla: materiału natywnego (N); tkanki traktowanej 0,05% roztworem błękitu metylenowego (MB) bez naświetlania; materiału poddanego fotooksydacji przez 8 h w obecności światła białego i 0,05% roztworu błękitu metylenowego (MB-VIS8); tkanki poddanej fotooksydacji przez 24 h w obecności światła białego i 0,05% roztworu błękitu metylenowego (MB-VIS24). (*oznaczono różnice istotne statystycznie na poziomie $p<0,05$).

FIG. 3. Presentation of average values with standard deviations for analyzed parameters: a) maximum force (F_{MAX}); b) maximum extension (Δl_{MAX}); c) stiffness coefficient (k), obtained for: native material (N); non irradiated tissues treated with 0.05% solution of methylene blue (MB); material photooxidized during 8 h in the presence of visible light and the 0.05% solution of methylene blue (MB-VIS8); tissues photooxidized during 24 h in the presence of visible light and 0.05% solution of methylene blue (MB-VIS24).(*significant differences on the level $p<0,05$).

W naszych badaniach, współczynniki k określone dla tkanek poddanych fotooksydacji nie zmieniły się istotnie w porównaniu z tkanką natywną (RYS. 3c). Fotostabilizacja prowadzona przez 24 h spowodowała obniżenie współczynnika k. Świadczy o to wzrostie sprężystości tkanki, co można wiązać ze zmianami jakościowymi i ilościowymi wiązań sieciujących. Zmiany współczynnika k nie były jednak istotne.

W niniejszych badaniach wykazano, że tkanka poddana fotostabilizacji przenosi niższe obciążenia mechaniczne, niż tkanka natywna. Efekt ten jest niewątpliwie związany ze zmianami strukturalnymi osierdzia świń. Może również być skutkiem zmian fotodegradacyjnych w tkankach lub też zmian ilościowych i jakościowych w obrębie wiązań sieciujących. Zjawiska tego nie należy wiązać z wpływem błękitu metylenowego, gdyż nie odnotowano żadnych różnic we właściwościach mechanicznych między wynikami uzyskanymi dla grupy próbek tkanek natywnych i inkubowanych w roztworze tego barwnika. Wykluczyć należy także wpływ metaloproteaz na fotoutlenione tkanki, gdyż czas przechowywania próbek osierdzia był taki sam w przypadku wszystkich analizowanych grup tkanek.

Efekt obniżenia średniej wartości granicznego obciążenia tkanek bez towarzyszącego temu zjawiska wzrostu sztywności osierdzia nie dyskwalifikuje użycia uzyskanego biomateriału do trwałego substytuowania tkanek. Jednakże należy mieć na uwadze, że nie można stosować osierdzia włóknistego poddanego modyfikacji z wykorzystaniem fotooksydacji w obecności roztworu barwnika do wytwarzania biomaterialów przenoszących duże obciążenia.

Wnioski

W prezentowanych badaniach dotyczących wpływu fotooksydacji w obecności błękitu metylenowego na właściwości mechaniczne osierdzia świń wykazano, że stabilizowany materiał wykazuje obniżoną zdolność do przenoszenia obciążen mechanicznych, co nie wyklucza jego zastosowania do produkcji biomateriałów tkankowych. Z punktu widzenia aplikacyjnego - równe istotne jest zachowanie stosunkowo niskiego współczynnika sztywności tkanek po ich fotostabilizacji, co jednoznacznie uzyskano w opisanych doświadczeniach.

Photooxidation process did not also result in the significant changes of other analyzed parameters, i.e. Δl_{MAX} (FIG. 3b), and also coefficient k (FIG. 3c). From the point of view bioprostheses functionality, the important feature is obtaining extracellular matrix coefficient k near host tissue. In our studies, coefficient k defined for photooxidized tissue did not change significantly compared with native tissue (FIG. 3c). 24 h photostabilization resulted in the decrease of coefficient k. This indicates the increase of tissue elasticity which may be connected with the qualitative and quantitative changes of crosslinks. The changes of coefficient k were not significant.

In this study it was shown that photooxidized tissue carries lower mechanical loads than native tissue. This effect is connected with the structural changes of porcine pericardium. This may also be the result of photodegradative changes in tissues or the qualitative and quantitative changes in crosslinks. This phenomenon should not be connected with the influence of methylene blue because there were no differences in mechanical properties between the results obtained for native tissue-samples' group and incubated in the solution of this dye samples' group. The influence of metalloproteinases on the photooxidized tissues should also be excluded, because storage period for pericardium samples was the same in all cases of analyzed tissue groups.

The effect of the decrease in average values of maximum tissue-load without the associated phenomenon of the stiffness increase of pericardium does not disqualify the use of the obtained biomaterial to the permanent tissues substitution. However, it should be pointed out that fibrous pericardium photooxidized in the presence of dye solution may not be used to manufacture of high load-bearing biomaterials.

Conclusions

In the presented studies concerned with the influence of photooxidation in the presence of methylene blue on mechanical properties of porcine pericardium it was demonstrated that stabilized material shows reduced ability to bear mechanical loads; it does not exclude its application to the tissue-derived biomaterials production. From application point of view, it is equally important to preserve relatively low coefficient k tissues after photostabilization, which univocally was obtained in presented study.

Podziękowania

Praca była finansowana przez Śląski Uniwersytet Medyczny, grant nr KNW-2-186/09.

Praca była finansowana przez Politechnikę Wrocławską w ramach działalności statutowej Zakładu Inżynierii Biomedycznej i Mechaniki Eksperymentalnej.

Piśmiennictwo

- [1] Khor E.: Methods for the treatment of collagenous tissues for bioprostheses. *Biomaterials* 18 (1997) 95-105.
- [2] Schmidt C.E., Baier J.M.: Acellular vascular tissues: natural biomaterials for tissue repair and tissue engineering. *Biomaterials* 21 (2000) 2215-31.
- [3] Turek A., Cwalina B.: Some irradiation-influenced features of pericardial tissues engineered for biomaterials. In: New Developments in Biomedical Engineering. Ed.: Campolo D. In-Teh, Vukovar (2010), pp. 543-568.
- [4] Gendler E., Gendler S., Nimni M.E.: Toxic reactions evoked by glutaraldehyde-fixed pericardium and cardiac valve tissue bioprostheses. *Journal of Biomedical Materials Research* 18 (1984) 727-36.

Acknowledgments

This work was financially supported by Silesian Medical University, grant no KNW-2-186/09.

This work was financially supported by Wrocław University of Technology, Division of Biomedical Engineering and Experimental Mechanics statutory activities.

References

- [5] Levy R.J., Schoen F.J., Anderson H.C., Harasaki H., Koch T.H., Brown W., Lian J.B., Cumming R., Gavin J.B.: Cardiovascular implant calcification: a survey and update. *Biomaterials* 12 (1991) 707-14.
- [6] Moore M.A., Phillips R.E.: Biocompatibility and immunologic properties of pericardial tissue stabilized by dye-mediated photooxidation. *Journal of Heart Valve Disease* 6 (1997) 307-15.
- [7] Moore M.A.: Pericardial tissue stabilized by dye-mediated photooxidation: a review article. *Journal of Heart Valve Disease* 6 (1997) 521-6.

WPŁYW SKŁADU MIESZANINY GAZOWEJ W PROCESIE TLENO-AZOTOWANIA PLAZMOWEGO NA WŁAŚCIWOŚCI UŻYTKOWE TYTANU I STOPU Ti6Al4V

MARTA JANUŚ^{*1}, STANISŁAWA KLUSKA¹, KAROL KYZIOŁ¹, SŁAWOMIR ZIMOWSKI²

AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLSKA

¹ Wydział Inżynierii Materiałów i Ceramiki

² Wydział Inżynierii Mechanicznej i Robotyki

* E-MAIL: MARTAJ@AGH.EDU.PL

Streszczenie

Praca zawiera wyniki badań dotyczących tlenoazotowania powierzchni tytanu i jego stopu (Ti6Al4V). Proces ten został przeprowadzony przy użyciu metody chemicznego osadzania z fazy gazowej wspomaganej plazmą generowaną falami o częstotliwości radiowej (RFCVD 13,56 MHz, 400 W). Proces ten przeprowadzono w atmosferze gazów zawierającej N₂O i Ar w różnych proporcjach.

Skład chemiczny i morfologię powierzchni badano używając metody SEM/EDS. Badania odporności korozyjnej przeprowadzono przypieszoną techniką polaryzacyjną w roztworze sztucznej śliny w temperaturze 37°C. Wyznaczono także współczynnik tarcia i wskaźnik zużycia uzyskanych materiałów.

Otrzymane wyniki potwierdzają przypuszczenia, że najlepsze właściwości użytkowe posiadają próbki, które w swoim składzie zawierają azot oraz tlen. Modyfikowane w ten sposób materiały są obiecujące dla zastosowań w medycynie.

Słowa kluczowe: tytan i jego stopy, korozja, RF CVD, tlenoazotowanie

[Inżynieria Biomateriałów, 96-98, (2010), 103-109]

EFFECT OF COMPOSITION OF GAS MIXTURE AT PLASMA OXYNITRIDING PROCESS ON PROPERTIES OF TITANIUM AND Ti6Al4V ALLOY

MARTA JANUŚ^{*1}, STANISŁAWA KLUSKA¹, KAROL KYZIOŁ¹, SŁAWOMIR ZIMOWSKI²

AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,

¹ FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
30 MICKIEWICZA AVE., 30-59 CRACOW, POLAND

² FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING AND ROBOTICS

* E-MAIL: MARTAJ@AGH.EDU.PL

Abstract

In this work a research concerning oxynitriding of titanium and its Ti6Al4V alloy is reported. Oxynitriding of the samples was performed by Plasma Assisted Chemical Vapor Deposition method with plasma generated by radio frequency waves (RFCVD 13,56 MHz, 400 W). The process was carried out in the gas atmosphere containing N₂O and Ar at various ratios.

Chemical composition and morphology of the modified surfaces were studied by SEM/EDS and compared with those for unmodified surface. The corrosion resistance was examined with polarization technique, in the environment of artificial saliva, at 37°C. The friction coefficient and wear index were measured.

The obtained results confirm that the best operating parameters have the oxynitrided samples containing N and O. Ti and Ti6Al4V with oxynitrided surface offer promising materials for medical applications.

Keywords: Titanium and its alloys, corrosion, RF CVD, oxynitriding

[Engineering of Biomaterials, 96-98, (2010), 103-109]