

While designing new materials for the direct contact with blood, one should consider their final application. Materials have to be tested in the conditions similar to physiological environment. For biomaterials dedicated for cardiovascular devices many aspects of blood-material interaction should be taken into consideration, like, biomechanical interaction of blood cells with material, protein adsorption, cell adhesion and activation. Untypical architecture of tube-like elements requires the development of novel deposition techniques of the thin coating and the following diagnostic methods. In the frame of the presented work the self-elaborated system dedicated for the analysis of blood-material interactions in dynamic conditions was properly designed and elaborated following 10993-4 rules. Blood flow simulation chamber based on commercially available tester (Impact-R) is dedicated to tubular structures. Using presented method the athrombogenic properties of a-C:H and a-C:H doped with Si coatings were analysed. As part of work the coatings were deposited on flat samples and tested for their biomechanical properties. Microstructure and tribology analyses were used to evaluate the coatings anchoring to the substrates and their hardness and elasticity. Research carried out for the films on flat substrates have enabled the selection of groups of materials, which in a later stage have served to modify the internal side of tubular structures. This has permitted multiscale diagnostics and allowed us to assess the different phenomena occurring on the cell-material interface.

Based on achieved results the following conclusions can be made:

- Ceramic coatings showed elastic properties. This is achieved by the dispersion of crystalline phase uniformly in the amorphous structure. The elastic properties of the ceramic coatings are dependent on the appropriate mechanism of thin nucleation from the gas phase. Such coatings could be applied for the soft polymer substrate modification.
- Materials showing low affinity to platelets attachment can cause their activation in blood.
- The coatings deposited with the high acetylene flow as well as with hexamethyldisilazane (HMDSO) and low acetylene flow in the reactive chamber demonstrated better hemocompatibility. On the basis of the dynamic analysis on blood, the decreased activation of the coagulation system and the immune response compared to the other analyzed coatings was observed. These characteristics prove the selected appropriate parameters.
- The coatings with the highest hemocompatibility properties exhibit high affinity to adsorption of blood protein - albumin. Albumin is known to inhibit clotting process which confirms hemocompatibility properties of these coatings.

Acknowledgments

The research was financially supported by the Project no. 2014/13/B/ST8/04287 "Bio-inspired thin film materials with the controlled contribution of the residual stress in terms of the restoration of stem cells microenvironment" of the Polish National Center of Science.

References

[1] Lackner J.M., Waldhauser W., Major R., Major L., Hartmann P.: Biomimetics in thin film design - Wrinkling and fracture of pulsed laser deposited films in comparison to human skin. *Surf. Coat. Technol.* 215 (2013) 192-198.

[2] Gorbet M.B., Sefton M.V.: Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes. *Biomaterials* 25 (2004) 5681-5703.

[3] Major R.: Self-assembling surfaces of blood-contacting materials. *J. Mater. Sci. - Mater. Med.* 24 (2013) 725-733.

[4] Xu L.C., Siedlecki C.A.: Effects of surface wettability and contact time on protein adhesion to biomaterial surfaces. *Biomaterials* 28 (2007) 3273-3283.

[5] Chittur K.K.: Surface techniques to examine the biomaterial-host interface: An introduction to the papers. *Biomaterials* 19 (1998) 301-305.

[6] Kustos R., Gawlikowski M., Gorka K., Jarosz A.: Structure of research stand and evaluation method of blood-biomaterial reaction and mechanical strength of the coating. In: Wilczek P., Major R., editors. *Nanostructural materials for implants and cardiovascular biomedical devices*. Zabrze: M-Studio 2011, 89-97.

[7] Dadsetan M., Mirzadeh H., Sharifi-Sanjani N., Salehian P.: In vitro studies of platelet adhesion on laser-treated polyethylene terephthalate surface. *J. Biomed. Mater. Res.* 54 (2001) 540-546.

[8] Huang N., Yang P., Leng Y.X.: Hemocompatibility of titanium oxide films. *Biomaterials* 24 (2003) 2177-2187.

[9] Seyfert U.T., Biehl V., Schenk J.: In vitro hemocompatibility testing of biomaterials according to the ISO 10993-4. *Biomol. Eng* 19 (2002) 91-96.

[10] Otto M., Klein C.L., Koehler H., Wagner M., Roehrig O., Kirkpatrick C.J.: Dynamic blood cell contact with biomaterials: validation of a flow chamber system according to international standards. *J. Mater. Sci. - Mater. Med.* 8 (1997) 119-129.

[11] Haefel R.A., *Oberflächen- und Dünnschichttechnologie, Teil 1: Beschichten von Oberflächen*, Springer, Berlin 1987.

[12] Girdhar G., Bluestein D.: Biological effects of dynamic shear stress in cardiovascular pathologies and devices. *Expert Review of Medical Devices* 5(2) (2008) 167-181.

[13] Yin W., Shanmugavelayudam S.K., Rubenstein D.A.: The effect of physiologically relevant dynamic shear stress on platelet and endothelial cell activation. *Thromb. Res.* 127 (2011) 235-241.

[14] Katritsis D., Kaiktsis L., Chaniotis A., Pantos J., Efstathopoulos E.P., Marmarelis V.: Wall Shear Stress: Theoretical Considerations and Methods of Measurement. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 49 (2007) 307-329.

[15] Lackner J.M., Major R., Major L., Schoberl T., Waldhauser W.: RF deposition of soft hydrogenated amorphous carbon coatings for adhesive interfaces on highly elastic polymer materials. *Surf. Coat. Technol.* 203(16) (2009) 2243-2248.

[16] Lackner J.M., Wilczek P., Sanak M., Jakiela B., Stolarzewicz B., Kowalczyk M., Sobota M., Maksymow K., Spisak M., Major B.: Functional cardio-biomaterials. *Advances in Materials Science* 11(2) (2011) 5-25.

[17] Trembecka-Wójciga K., Major R., Lackner J.M., Major B.: Bio-inspired surface modification. *Inżynieria Materiałowa* 6 (2014) 560-563.

[18] Trembecka-Wójciga K., Major R., Lackner J.M., Bruckert F., Jasek E., Major B.: Biomechanical properties of the thin PVD coatings defined by red blood cells. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences Technical Sciences* 63 (2015).

[19] Major R., Lackner J.M., Gorka K., Wilczek P., Major B.: Inner surface modification of the tube-like elements for medical applications. *RSC Advances* 3 (2013) 11283-11291.

[20] Major R., Trembecka-Wójciga K., Lackner J.M., Major B.: Hemocompatible Thin-Film Materials Recreating the Structure of the Cell Niches with High Potential for Endothelialization. *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* 9(6) (2015).

[21] Décavé E., Garrivier D., Bréchet Y., Fourcade B., Bruckert F.: Shear flow-induced detachment kinetics of Dictyostelium discoideum cells from solid substrate. *Biophys. J.* 82(5) (2002) 2383-2395.

[22] Goodman S.L., Cooper S.L., Albrecht R.M.: Integrin receptors and platelet adhesion to synthetic surfaces. *J. Biomed. Mater. Res.* 27 (1993) 683-696.

[23] Brash J.L.: Proteins At Interfaces: Physicochemical And Biochemical Studies. *Macromolecular Chemistry* 9 (1985) 69.

[24] Lambrecht L.K., Young B.R., Stafford R.E., Park K., Albrecht R.M., Mosher D.F., Cooper S.L.: Rheological aspects of thrombosis and haemostasis: basic principles and applications. *Thromb. Res.* 41 (1986) 99.

BADANIE WŁASNOŚCI FIZYKOCHEMICZNYCH BEZCEMENTOWYCH PANEWEK STAWU BIODROWEGO

WOJCIECH KAJZER^{1*}, ANITA KAJZER¹, OLA GRZESZCZUK¹, JACEK SEMENOWICZ², ADAM MROCZKA²

¹ KATEDRA BIOMATERIAŁÓW I INŻYNIERII WYROBÓW MEDYCZNYCH, POLITECHNIKA ŚLĄSKA, UL. ROOSEVELTA 40, 44-800 ZABRZE
² WOJEWÓDZKI SZPITAL CHIRURGII URAZOWEJ IM. JANUSZA DAABA, UL. BYTOMSKA 62, 41-940 PIEKARY ŚLĄSKIE
*E-MAIL: WOJCIECH.KAJZER@POLSL.PL

Streszczenie

Celem prowadzonych badań było porównanie własności panewki nowej oraz po alloplastyce rewizyjnej przebywającej w organizmie człowieka przez 68 miesięcy. W ramach badań przeprowadzono analizę składu chemicznego, własności mechanicznych oraz fizykochemicznych. Własności te analizowano na podstawie badań z wykorzystaniem optycznej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem jarzeniowym, pomiarów twardości oraz badań potencjodynamicznych odporności na korozję wżerową i elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej EIS. Badanie elektrochemiczne przeprowadzono w roztworze Ringera. Dodatkowo przeprowadzono analizę makroskopową powierzchni. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że badane panewki zostały wytworzone ze stali Cr-Ni-Mo spełniającej zalecenia normy ISO 5832-9. Wyniki pomiarów twardości ujawniły obszary o zróżnicowanym umocnieniu biomateriału panewki. Uzyskane parametry odporności korozyjnej dla panewki po implantacji były porównywalne do wartości uzyskanych dla panewki w stanie wyjściowym. Dodatkowo przeprowadzone badania EIS określiły charakter warstwy tlenkowej występującej na powierzchni implantu po usunięciu z organizmu. Wykazały one występowanie warstwy podwójnej stanowiącej dobre zabezpieczenie biomateriału metalowego przed rozwojem niekorzystnych zjawisk korozyjnych. Natomiast przeprowadzone obserwacje makroskopowe ujawniły występowanie warstwy hydroksyapatytu na powierzchni panewki po 68-miesięcznym przebywaniu w organizmie. Podsumowując można stwierdzić, że przyczyną alloplastyki rewizyjnej był brak osteointegracji powierzchni zewnętrznej implantu spowodowany nierównomiernym przyleganiem implantu do powierzchni kości. Nie zaobserwowano jednak zmniejszenia odporności korozyjnej panewki po implantacji, co wskazuje na jej biokompatybilność w środowisku tkankowym.

Słowa kluczowe: stal Cr-Ni-Mo, panewka stawu biodrowego, odporność korozyjna

[Inżynieria Biomateriałów 132 (2015) 9-16]

ELECTROCHEMICAL STUDY OF UNCEMENTED HIP ENDOPROTHESIS CUPS

WOJCIECH KAJZER^{1*}, ANITA KAJZER¹, OLA GRZESZCZUK¹, JACEK SEMENOWICZ², ADAM MROCZKA²

¹ DEPARTMENT OF BIOMATERIALS AND MEDICAL DEVICES ENGINEERING, FACULTY OF BIOMEDICAL ENGINEERING, SILESIA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, UL. ROOSEVELTA 40, 44-800 ZABRZE, POLAND
² DR JANUSZ DAAB INDEPENDENT PUBLIC REGIONAL HOSPITAL OF TRAUMA SURGERY IN PIEKARY SLASKIE, UL. BYTOMSKA 62, 41-940 PIEKARY ŚLĄSKIE, POLAND
*E-MAIL: WOJCIECH.KAJZER@POLSL.PL

Abstract

The aim of the research was to compare the properties of the new cup and the cup after alloplastic revision surgery which has been staying in the human body for 68 months. In the studies chemical composition, mechanical and physicochemical properties were analyzed. The properties were analyzed on the basis of studies of glow discharge atomic emission, measurements of hardness and potentiodynamic studies of resistance to pitting corrosion and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The electrochemical research was conducted in Ringer's solution. Additionally, analysis of the macroscopic surface was conducted. The results revealed that the cups were produced from high nitrogen stainless steel which chemical composition and mechanical properties met the requirements of the ISO 5832-9 standards. The results of hardness revealed areas with varied strengthening of the cup's biomaterial. Parameters of the corrosion resistance for the cup after implantation were comparable to the values obtained for the cup in the initial state. Additionally, EIS study determined the nature of the oxide layer on the surface of the implant removed from the body. The results showed the existence of a double layer forming good protection of the metal biomaterial against corrosion. The performed macroscopic observation revealed the presence of hydroxyapatite on the surface of the cup after the 68 months in the body. We conclude that the reason for revision arthroplasty was the lack of osteointegration of the outer surface of the implant caused by non-uniform adhesion of the implant to the bone surface. However, no reduction in corrosion resistance of the cup after implantation was observed which indicates its biocompatibility in the tissue environment.

Keywords: stainless steel, hip endoprosthesis, corrosion resistance

[Engineering of Biomaterials 132 (2015) 9-16]

Materiały stosowane na implanty, np. na endoprotezy stawu biodrowego, powinny charakteryzować się wysoką trwałością w środowisku biologicznym. Obecność płynów ustrojowych oraz działanie naprężeń na endoprotezę może powodować szybszy proces degradacji, a tym samym wpływać na zmianę trwałości i stabilności jej w organizmie człowieka. Każdy biomateriał metalowy reprezentuje określony zespół własności użytkowych zapewniający bezpieczną współpracę implantu ze środowiskiem tkankowym [1]. Jego własności mechaniczne są kształtowane na postawie struktury, a ich prawidłowy dobór zapewnia przenoszenie obciążeń w zakresie sprężystym. Uniemożliwia to uszkodzenie endoprotezy w trakcie użytkowania w organizmie i zapewniła prawidłową stabilizację [2]. Własności mechaniczne tworzyw przeznaczonych na implanty wyznacza się na podstawie statycznej próby rozciągania, ściskania, zginania oraz pomiaru twardości. Dodatkowo przeprowadza się również analizy numeryczne wykorzystujące metodę elementów skończonych, które umożliwiają optymalizację geometrii oraz dobór najkorzystniejszych własności materiałowych [3].

Bardzo ważną jest również biokompatybilność implantu związana bezpośrednio z odpornością korozyjną. Jej obniżenie może prowadzić do komplikacji, wywołanych przedostawaniem się do organizmu produktów korozji [4]. Dobór odpowiedniego zespołu własności fizykochemicznych biomateriału stosowanego na endoprotezy dokonuje się na podstawie badań odporności korozyjnej w warunkach laboratoryjnych, które symulują rzeczywiste środowisko biologiczne organizmu. Dlatego na ich podstawie można określić rodzaj niszczenia korozyjnego endoprotezy [4-7].

Uwzględniając wymienione uwarunkowania związane z biomateriałem metalowym w pracy przedstawiono porównanie składu chemicznego, twardości oraz odporności korozyjnej panewki nowej oraz po 68-miesięcznym przebywaniu w organizmie człowieka. Badania przeprowadzono dla hemisferycznych panewek stawu biodrowego wytworzonych ze stali Cr-Ni-Mo o podwyższonej zawartości azotu spełniającej wg producenta zalecenia normy ISO 5832-9.

Materiał i metody

Do badań wytypowano dwie bezcementowe panewki stawu biodrowego: nową (nr 1) reprezentującą stan wyjściowy oraz panewkę po 68-miesięcznej implantacji (nr 2). Panewki według producenta zostały wytworzone ze stali odpornej na korozję Cr-Ni-Mo, której skład chemiczny i własności mechaniczne powinny być zgodne z zaleceniami normy ISO 5832-9 [8]. Panewka nowa po zewnętrznej stronie całkowicie była pokryta hydroksyapatytem – RYS. 1a, natomiast na powierzchni zewnętrznej panewki nr 2 widoczny był niezresorbowany hydroksyapatyt oraz w górnej jej części wrosnięty fragment tkanki kostnej – RYS. 1b. Przyczyną reimplantacji panewki nr 2 była jej destabilizacja spowodowana zwchnięciem. Zwchnięcie z kolei spowodowane było słabą resorpcją hydroksyapatytu z powierzchni implantu i słabym lub całkowitym brakiem osteointegracji zewnętrznej części panewki z kością.

Do badań przygotowano 18 próbek, na których przeprowadzono badanie składu chemicznego, obserwację makroskopową powierzchni, pomiar twardości oraz badania potencjodynamiczne odporności na korozję wżerową oraz elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej EIS. Badania przeprowadzono na wewnętrznej i zewnętrznej powierzchni panewek.

Introduction

The materials used for implants e.g. hip endoprosthesis, are expected to be characterized by high durability in a biological environment. The presence of body fluids and the effect of stress on the endoprosthesis could cause faster degradation process and modifications in the durability and stability of implants in the human body. Each metal biomaterial represents a particular set of functional properties to ensure a safe cooperation of the implant with tissue environment [1]. The mechanical properties are formed on the basis of the structure and its proper selection ensures the transfer of load in an elastic range. This makes it impossible to damage the hip endoprosthesis in human body and ensure correct stabilization [2]. The mechanical properties of metallic materials intended for implants are determined on the basis of the static tensile testing, compression and bending testing as well as hardness measurements. Furthermore, sometimes finite element analyses focused on geometry optimization and selection of the best material properties are also carried out [3].

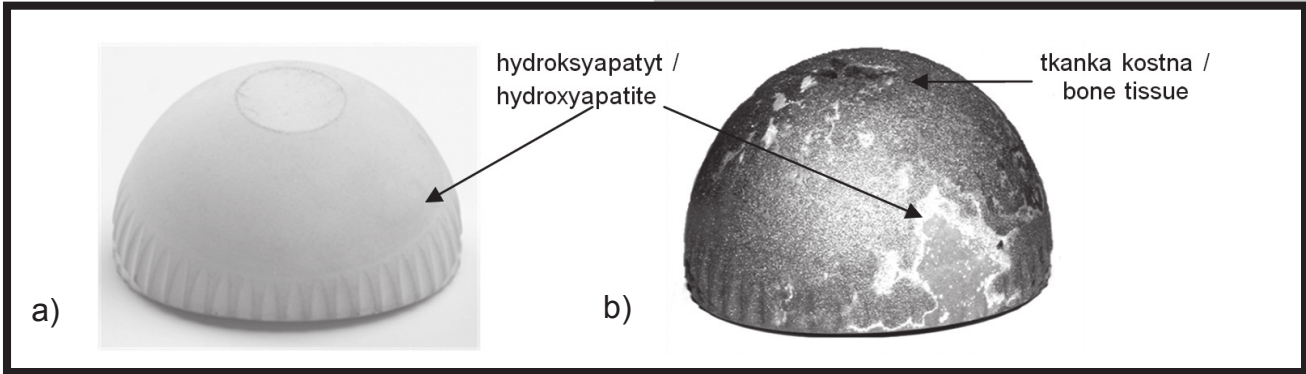
The hip endoprosthesis is a long-term implant; for the reason it is important for it to have an appropriate biocompatibility which is directly connected with corrosion resistance of the implant. It is well known that corrosion products have negative influence on human body [4]. Selection of an appropriate set of physicochemical properties of the biomaterial used for endoprosthesis is made on the basis of corrosion resistance in laboratory conditions simulating the environment of the real organism. Therefore, on this background we can define the type of corrosion damage of the endoprosthesis [4-7].

Taking into account the above mentioned considerations related to the use of metallic biomaterials, the comparison of the results of chemical composition, hardness and corrosion resistance of the new cup and the cup after 68-month of implantation was presented in this paper. The research was conducted for hemispherical hip cups produced from high nitrogen stainless steel which chemical composition and mechanical properties met the requirements of the ISO 5832-9 standard.

Materials and Methods

Two uncemented hip endoprosthesis cups were used in the research: no. 1 - new and no. 2 - cup after 68-month implantation produced from high nitrogen stainless steel which chemical composition and mechanical properties met the requirements of the ISO 5832-9 standard [8]. The cup no. 1 was completely covered with hydroxyapatite on the external surface – FIG. 1a, while the cup no. 2 was covered with not fully resorbed hydroxyapatite on the external surface and in its upper part an ingrown of bone tissue was visible – FIG. 1b. The reason for removal of the cup no. 2 was destabilization caused by dislocation. The dislocation was caused by low resorption of the hydroxyapatite from the surface of the implant or complete lack of osseointegration of the external part of the cup with the bone.

Eighteen samples were selected for the tests. The research consisted of studies of the chemical composition, macroscopic observation of the surface, hardness measurements, corrosion resistance and electrochemical impedance spectroscopy. The research was carried out on internal and external surfaces.



RYS. 1. Badane panewki: a) przed implantacją – panewka nr 1, b) po implantacji – panewka nr 2.
FIG. 1. Tested cups: a) before implantation – cup no. 1, b) after implantation – cup no. 2.

Do badania składu chemicznego wytypowano po jednej próbce z każdej panewki ze stali austenitycznej o podwyższonej zawartości azotu. Badanie przeprowadzono z wykorzystaniem spektrometru LECO GDS500A, służącego do badania składu chemicznego stopów metali. Urządzenie wykorzystuje technikę optycznej spektrometrii emisyjnej ze wzbudzeniem jarzeniowym.

W celu oceny makroskopowej powierzchni panewek przeprowadzono obserwacje z wykorzystaniem mikroskopu stereoskopowego SteREO Discovery.V8 firmy Zeiss przy powiększeniach: 10x i 20x.

W celu określenia własności mechanicznych przeprowadzono pomiar twardości metodą Vickersa zgodnie z zaleceniami normy EN ISO 6507-7:2005 [9]. Pomiaru dokonano na twardościomierzu DuraScan 50 firmy Struers, przy obciążeniu 49 N. Do badania wykorzystano dwie próbki w postaci zglądów poprzecznych ze środkowych części panewek. Zarówno na powierzchni próbki z panewki 1, jak i 2 wykonano po 60 pomiarów. Porównywano wyniki dla dwóch obszarów przedstawionych na RYS. 2.

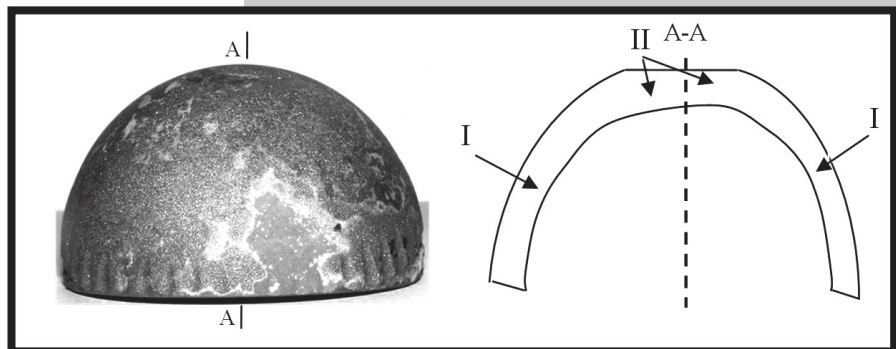
W kolejnym etapie przeprowadzono badanie odporności na korozję wżerową metodą potencjodynamiczną rejestrując krzywe polaryzacji zgodnie z zaleceniami normy [10]. Układ pomiarowy składał się z celi elektrochemicznej, elektrody pomiarowej w postaci drutu platynowego, nasyconej elektrody kalomelowej (SCE) jako elektrody odniesienia oraz z anody, którą stanowiła badana próbka. W badaniach wykorzystano potencjostał VoltaLab PGP 201 z oprogramowaniem VoltaMaster 4. Badanie rozpoczynano od wyznaczenia potencjału otwarcia E_{OCP} w warunkach bezprądowych w czasie 2 h, a następnie rejestracji krzywych polaryzacji, które rejestrowano od wartości potencjału inicjacji $E_{init} = E_{OCP} - 100$ mV. Zmiana potencjału następowała w kierunku anodowym z szybkością 3 mV/s. Po osiągnięciu gęstości prądu 1 mA/cm² zmieniano kierunek polaryzacji. Na podstawie otrzymanych krzywych polaryzacji wyznaczono: potencjał korozyjny E_{corr} (mV), potencjał przebicia E_b (mV), potencjał repasywacji E_{cp} (mV) oraz z wykorzystaniem metody Sterna opór polaryzacyjny R_p (kΩ·cm²).

One sample of each cup of austenitic stainless steel with increased content of nitrogen was selected for the study of chemical composition. The test was carried out using a spectrometer LECO GDS500A, used to study the chemical composition of the metal alloys. The device uses a technique of glow discharge with atomic emission.

Next stage of the research was macroscopic observations of the surfaces which were conducted with the use of stereomicroscope SteREO Discovery.V8 produced by Zeiss with magnification: 10x and 20x.

Hardness was measured using the Vickers method as recommended by EN ISO 6507-7:2005 standards [9]. The tests were carried out with the use of the machine DuraScan 50 Struers with a load of 49 N. Research was performed on two samples from central parts of the cups. There were 60 measurements carried out on the surfaces of both of the cups' samples. The results for the two areas shown in FIG. 2 were compared.

Next, tests of resistance to pitting corrosion were conducted using the potentiodynamic method consisting of registration of polarization curves in accordance with the standard recommendations [10]. The measurement set up consisted of an electrochemical cell, auxiliary electrode in the form of a platinum wire, reference electrode (SCE) and anode (tested sample). The test was carried out with the use of the VoltaLab PGP 201 system using VoltaMaster 4 software. Corrosion testing was started with the setting of the open circuit potential E_{OCP} . Polarisation curves were registered from the value of initial potential $E_{init} = E_{OCP} - 100$ mV. The polarization rate was equal to 3 mV/s. Once the anodic current density reached the value of 1 mA/cm², the polarization direction was changed. On the basis of the obtained curves, corrosion potential E_{corr} and breakdown potential E_b were determined. Polarization resistance R_p value was determined using Stern's method.



RYS. 2. Przekrój panewki z obszarami pomiarowym I i II.
FIG. 2. Cross section of the cup with the areas of measurement I and II.

Dodatkowo, dla panewki po implantacji w celu uzyskania dodatkowych informacji o własnościach fizykochemicznych powierzchni przeprowadzono badania z wykorzystaniem elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (EIS) [11-13]. Do pomiarów wykorzystano system pomiarowy Auto Lab PGSTAT 302N wyposażony w moduł FRA2 (Frequency Response Analyser) oraz zestaw elektrod taki sam jak w badaniach potencjodynamicznych. Zastosowany układ pomiarowy umożliwił prowadzenie badań w zakresie częstotliwości $10^4 \pm 10^{-3}$ Hz. Amplituda napięcia sinusoidalnego sygnału pobudzającego wynosiła 10 mV. W badaniach wyznaczono impedancyjne widma układu i dopasowano uzyskane dane pomiarowe do układów zastępczych. Na tej podstawie wyznaczono wartości liczbowe oporności R i pojemności C analizowanych układów. Otrzymane widma impedancyjne przedstawiono w postaci diagramów Nyquista dla różnych wartości częstotliwości oraz w postaci diagramów Bode. Otrzymane spektra EIS interpretowano po dopasowaniu metodą najmniejszych kwadratów do zastępczego układu elektrycznego. Wszystkie badania elektrochemiczne zrealizowano w roztworze Ringera o temperaturze $T = 37 \pm 1^\circ\text{C}$ i $\text{pH} = 7,0 \pm 0,2$.

Wszystkie wartości otrzymanych parametrów z badań podano jako wartości uśrednione z odchyleniem standardowym.

Wyniki i dyskusja

Wyniki analizy składu chemicznego biomateriału panewek przedstawiono w TABELI 1. Przeprowadzona analiza składu chemicznego potwierdziła zgodność składu chemicznego badanych panewek z zaleceniami normy ISO 5832-9. Ponadto stwierdzono, że badane panewki pochodziły z różnych partii materiału ponieważ ilość poszczególnych pierwiastków stopowych nieznacznie się różniła.

W wyniku przeprowadzonych badań makroskopowych obu panewek zaobserwowano zróżnicowaną powierzchnię badanych implantów. Powierzchnia zewnętrzna panewki nowej była równomiernie pokryta hydroksyapatytem na całej powierzchni – RYS. 3a, natomiast na powierzchniach panewek po implantacji można lokalnie zaobserwować pozostałości hydroksyapatytu, który nie został zresorbowany podczas stabilizacji – RYS. 3b. Może wynikać to z lokalnego nieprzylegania panewki do kości, a tym samym nierównomiernego rozpuszczania się hydroksyapatytu. Ponadto zaobserwowano nieznaczne ilości tkanki kostnej przerośniętej do zewnętrznej warstwy powierzchniowej implantu, co potwierdza brak pełnej integracji panewki z kością. Konsekwencją tego była alloplastyka rewizyjna.

In order to obtain additional information on physiochemical properties of the cup after 68 months of implantation EIS study was conducted [11-13]. Measurements were taken using AutoLab's PGSTAT 302N measurement system equipped additionally with the Frequency Response Analyser FRA2 module. The system allowed for tests to be carried out in the frequency range of $10^4 \pm 10^{-3}$ Hz. The amplitude of signal sinusoidal actuating tension amounted to 10 mV. Impedance system spectra were determined and the obtained measurement data were adjusted to the substitute set up. On this basis numerical values of resistance R and capacity C of the analyzed systems were determined. Impedance spectra of the tested system were presented in the form of Nyquist diagrams for different frequency values and in the form of Bode's diagrams. The obtained EIS spectra were interpreted after they had been adjusted according to the method of the smallest squares to the equivalent circuit. All electrochemical tests were carried out in Ringer's solution at $37 \pm 1^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 7.0 \pm 0.2$.

All of the parameters obtained from the test are given as mean values with standard deviation.

Results and Discussion

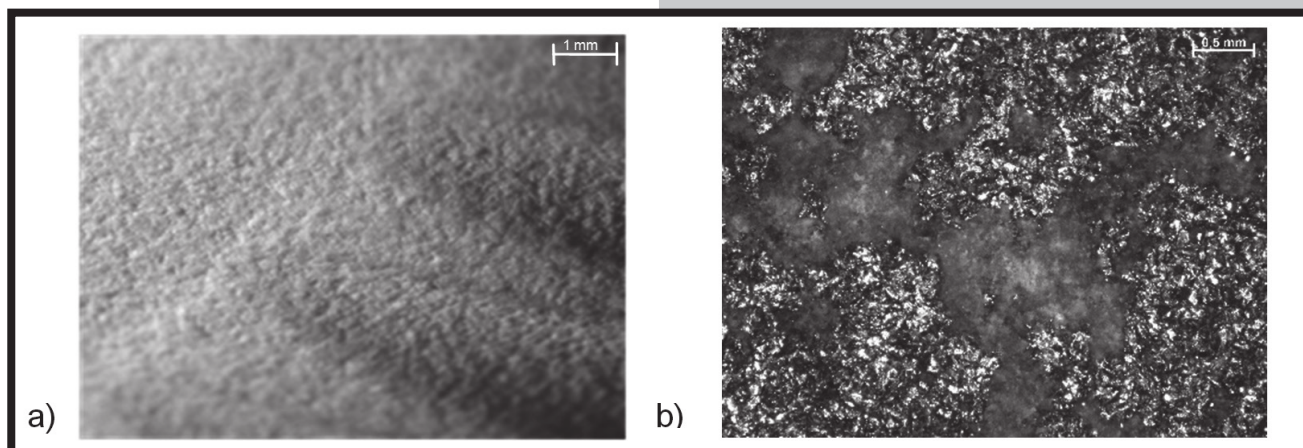
The results of chemical composition analysis are presented in TABLE 1. The analysis of chemical composition confirmed compliance with the recommendations of the ISO 5832-9 standards. Moreover, on the basis of the tests carried out, the differences in the chemical composition of particular groups of samples were observed. The quantity of the alloying elements from cups slightly differs.

On the basis of the tests carried out, the differences in the surfaces of particular implants were observed. The external surface of the new cup was uniformly covered with hydroxyapatite on the whole surface – FIG. 3a, whereas on the surface of the cup after implantation areas of visible unresorbed hydroxyapatite could be locally observed – FIG. 3b. It may result from lack of contact between the cup and the bone and non-uniform dissolution of hydroxyapatite. Moreover, fractional bone tissue grown into the external surface of the implant was observed, which proved loosening of the cup and, as a consequence, led to revision alloplasty.

TABELA 1. Skład chemiczny stali.

TABLE 1. The chemical composition of austenitic steel.

Skład chemiczny / Chemical composition [%]												
Panewka Cup	Cr	Ni	Mo	C	Si	Mn	Nb	S	P	N	Cu	Fe
Wymagania Requirements ISO 5832-9	19.50 – 22.00	9.00 – 11.00	2.00 – 3.00	0.08	0.75	2.00 – 4.25	0.25 – 0.80	0.01	0.02	0.25 – 0.50	0.25	reszta rest
Panewka nr 1 Cup no. 1	20.50	10.50	2.31	0.08	0.72	2.81	0.75	0.01	0.03	-	0.08	reszta rest
Panewka nr 2 Cup no. 2	19.90	10.30	2.52	0.04	0.32	3.20	0.29	0.01	0.02	-	0.04	reszta rest



RYS. 3. Widok powierzchni: a) panewka nr 1, pow. 10x, b) panewka nr 2, pow. 20x - mikroskop stereoskopowy.
FIG. 3. View of the surface: a) cup no. 1, mag. 10x, b) cup no. 2, mag. 20x - stereomicroscope.

Wyniki badań twardości analizowanych panewek przedstawiono w TABELI 2. W oparciu o wyniki pomiaru twardości biomateriału panewki nr 1 stwierdzono, że średnia twardość wynosi 214 HV5, natomiast w próbce z panewki nr 2 - 156 HV5. Wartość twardości panewki po implantacji jest zróżnicowana w zależności od miejsca pomiaru. Ze względu na badane obszary można stwierdzić, że twardość jest największa w obszarze „II” (173 HV5) występującym w jej środkowej części – RYS. 2, natomiast w obszarze „I”, który charakteryzuje boczne, dolne części panewki zaobserwowano jej obniżenie do 141 HV5.

Porównując obydwie panewki stwierdzono, że panewka nowa charakteryzuje się większym umocnieniem materiału w odniesieniu do panewki po implantacji. Może być to spowodowane większą zawartością pierwiastków stopowych w stali.

Wyniki badań odporności na korozję wżerową metodą potencjodynamiczną przedstawiono na RYS. 4 oraz w TABELI 3. Na podstawie krzywych polaryzacji stwierdzono występowanie potencjałów przebicia E_b oraz repasywacji E_{cp} . Odnosząc uzyskane wyniki do wcześniejszych badań autorów [14] panewki w stanie wyjściowym można stwierdzić, że odporność na korozję wżerową obu panewek była porównywalna. Dodatkowo zaobserwowano, że wartości potencjału korozyjnego E_{corr} dla wszystkich badanych próbek mieściły się w przedziale od -139 mV do -24 mV i były większe dla panewki po 68-miesięcznym przebywaniu w organizmie człowieka. Uzyskano również wysokie wartości potencjałów przebicia E_b na wszystkich próbkach w zakresie od +1081 mV dla powierzchni zewnętrznej panewki po 68 miesiącach obecności w organizmie, do +1242 mV dla powierzchni zewnętrznej panewki przed implantacją. Zaobserwowano jednak, że dla panewki nr 2 niezależnie od analizowanej powierzchni (zewnętrzna/wewnętrzna) potencjały przebicia były nieznacznie mniejsze niż w przypadku panewki nowej – TABELA 3. Badania implantów usuniętych z organizmu wytworzonych ze stali Cr-Ni-Mo (AISI 316 LVM), ale o właściwościach zgodnych z normą ISO 5832-1 prowadzili autorzy [15]. Otrzymali oni wartości potencjałów przebicia E_b w zakresie od +768 mV do +1130 mV. Uzyskane wyniki wskazują na mniejszą ich odporność korozyjną w porównaniu do analizowanych panewek o składzie chemicznym zgodnym z zaleceniem normy ISO 5832-9.

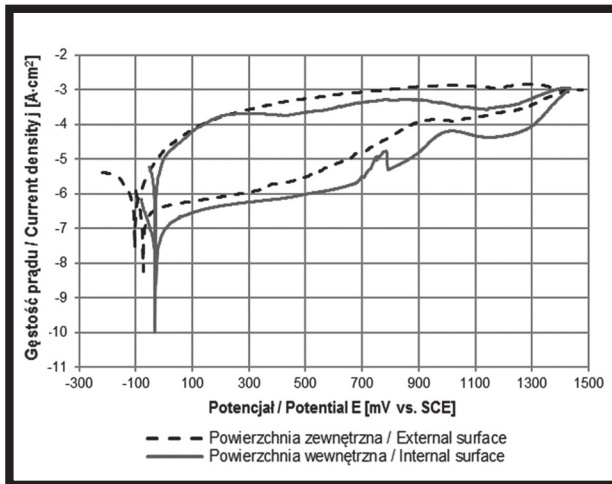
The results of the hardness measurements analysis of cups are presented in TABLE 2. On the basis of the hardness measurements of the biomaterials carried on cup no 1 it was found that the mean value is 214 HV5 and in cup no 2 - 156 HV5. The value of the hardness of the cup after implantation was varied depending on the place of measurement. Due to two test areas it can be concluded that the hardness is the highest in the area “II” (173 HV5) occurring in the central part – FIG. 2, while in the area “I” which marks the side, lower part of the cup the decrease in the hardness (141 HV5) was observed.

Comparing both cups it has been observed that the new cup was characterized by increased degree of hardening of the material with reference to the cup after implantation. It may be caused by the higher content of alloying elements in the steel.

TABELA 2. Wyniki z pomiaru twardości panewek.
TABLE 2. Results of measuring the hardness of the cups.

Panewka Cup	Średnia twardość Mean value, HV5
Panewka nr 1 / Cup no. 1	214 (4)
Panewka nr 2 / Cup no. 2	156 (20)

Results of pitting corrosion test carried out with the use of the potentiodynamic method are presented in FIG. 4 and in TABLE 3. Basing on the obtained polarization curves the existence of breakdown potential E_b and repassivation potential E_{cp} has been stated. Based on the results of the authors' previous research [14] it has been stated that resistance to pitting corrosion of both cups were comparable. Furthermore, it was stated that the values of the corrosion potential E_{corr} for all the tested samples were in the range -139 mV \pm -24 mV, and the highest values were recorded for the cup after the implantation. Moreover, the obtained results revealed the presence of high value of breakdown potential E_b for all the tested samples and ranged from +1081 mV for the external surface of the sample taken from the cup after the implantation up to +1242 mV for the external surface of the cup before implantation. It was observed that for cup no 2, irrespective of the analyzed surface (external/internal) breakdown potentials were slightly smaller than in the case of the new cup. The research on explants made of the AISI 316 LVM stainless steel (ISO 5832-1 standard) was carried out by others [15]. The values of breakdown potential E_b ranging from +768 mV to +1130 mV were obtained. The results showed lower corrosion resistance than in comparison to the analyzed cups made of the stainless steel compatible with the ISO 5832-9 standards.



RYS. 4. Przykładowe krzywe polaryzacji dla panewki nr 2.
FIG. 4. Sample of polarisation curves for cup no. 2.

Ponadto porównując uzyskane wartości oporów polaryzacyjnych R_p – TABELA 3, stwierdzono, że większą aktywnością powierzchni, a tym samym podatnością do rozwoju korozji wykazuje powierzchnia zewnętrzna panewek, co potwierdza topografia tej części implantu charakteryzujący się dużym rozwinięciem.

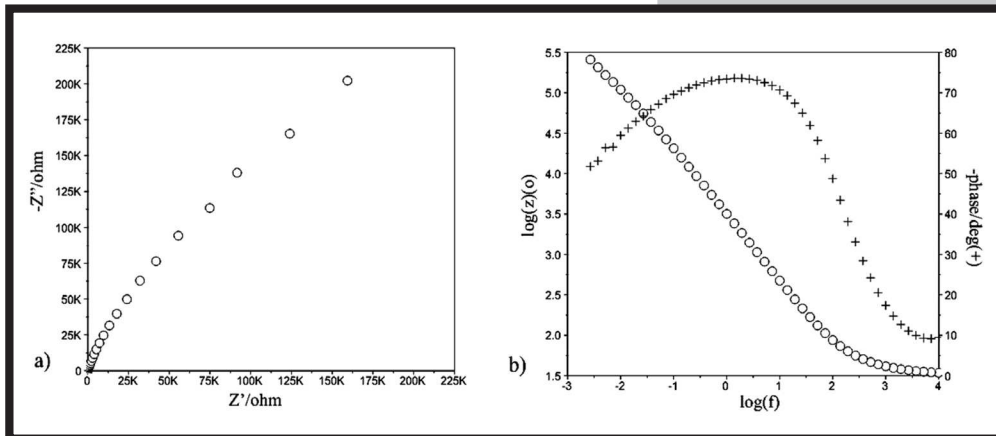
W ostatnim etapie pracy przeprowadzono badania z wykorzystaniem elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej EIS. Wyniki w postaci widm impedancyjnych pozwoliły na zidentyfikowanie charakteru występującej na powierzchni panewek warstwy tlenkowej – RYS. 5 i 6. Wielkości elektryczne wyznaczone na podstawie zarejestrowanych widm zestawiono w TABELI 4.

TABELA 3. Wyniki badań potencjodynamicznych.
TABLE 3. Results of potentiodynamic tests.

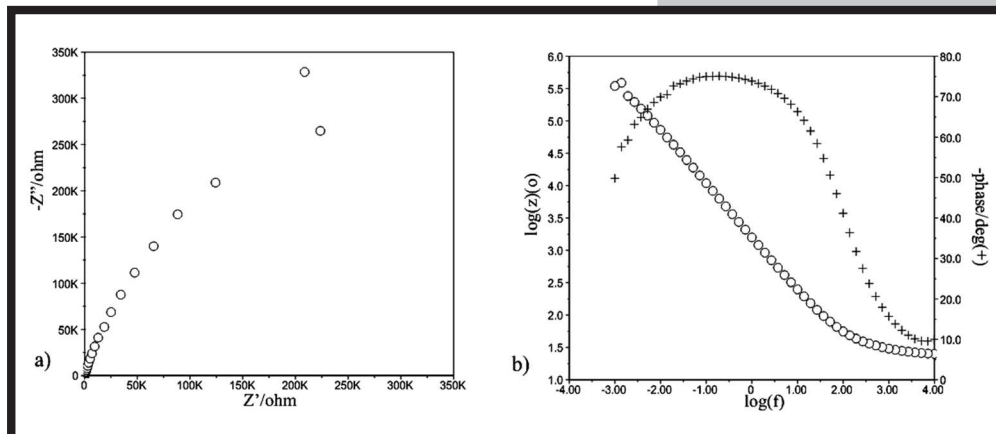
Panewka Cup	Powierzchnia Surface	E_{corr} [mV]	E_b [mV]	E_{cp} [mV]	R_p [$k\Omega \cdot cm^2$]
Nr 1 No. 1 [14]	wewnętrzna internal	-120 (4)	+1230 (12)	-	+61 (10)
	zewnętrzna external	-139 (53)	+1242 (18)	-	+23 (13)
Nr 2 No. 2	wewnętrzna internal	-24 (9)	+1171 (104)	-32 (10)	+179 (20)
	zewnętrzna external	-47 (19)	+1081 (108)	-53 (16)	+75 (18)

Moreover, comparing the results of polarization resistance R_p TABLE 3, it has been found that the external surface of the cups has higher activity and was susceptible to corrosion. It is confirmed by the topography of that part of the cup.

In the last step of the work the EIS study was conducted. The results in the form of impedance spectra enabled to identify the nature of the surface oxide on the biomaterial surface – FIG. 5 and 6. The obtained electric values determined on the basis of the recorded spectra are shown in TABLE 4.



RYS. 5. Przykładowe widma impedancyjne na wewnętrznej powierzchni panewki po implantacji:
a) wykres Nyquista, b) diagram Bode.
FIG. 5. Sample impedance spectra on internal surface for cup after implantation:
a) Nyquist graph, b) Bode's diagram.



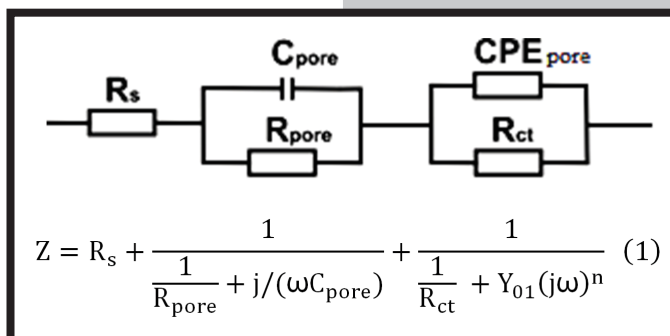
RYS. 6. Przykładowe widma impedancyjne na zewnętrznej powierzchni panewki po implantacji:
a) wykres Nyquista, b) diagram Bode.
FIG. 6. Sample impedance spectra on external surface for cup after implantation:
a) Nyquist graph, b) Bode's diagram.

TABELA 4. Wyniki elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej dla próbek z powierzchnią zewnętrzną i wewnętrzną.

TABLE 4. Results of electrochemical impedance spectroscopy for external surface and internal surface.

Powierzchnia Surface	R_s [Ω]	R_{pore} [k Ω]	C_{pore} [μF]	CPE _{pore}		R_{ct} [k Ω]	E_{OCP} [mV]
				Y_{01} [F_s^{-n-1}/cm^2]	n		
wewnętrzna internal	17	108 (28)	248 (63)	0.0019 (0.0032)	0.79 (0.01)	579 (115)	-30 (2)
zewnętrzna external	16	136 (16)	104 (31)	0.0009 (0.0012)	0.79 (0.04)	1570 (235)	-50 (4)

Na podstawie uzyskanych wykresów dopasowano modele zastępcze, które są modelami fizycznymi opisującymi zjawiska występujące w danym obiekcie. Stwierdzono, że najlepsze dopasowanie eksperymentalnych widm impedancyjnych uzyskuje się stosując elektryczny obwód zastępczy złożony z dwóch kolejno następujących po sobie równoległych układów elementu pojemnościowego/stałowazowego połączonego z oporem przejścia i oporem przy wysokich częstotliwościach, który może być przypisany oporowi elektrolitu – RYS. 7. R_{ct} oznacza opór przeniesienia ładunku, a CPE_{pore} pojemność warstwy tlenkowej, z kolei R_{pore} i C_{pore} – opór i pojemność warstwy porowatej (1). Diagram Nyquista wyznaczony dla próbki z panewki przedstawia fragment dużych niepełnych półokręgów, który jest typową odpowiedzią impedancyjną dla cienkich warstw tlenkowych – RYS. 6a. Przedstawione na diagramach Bode, maksymalne wartości kątów przesunięcia fazowego dla próbek w szerokim zakresie częstotliwości są zbliżone i wynoszą $\theta \approx 75^\circ$. Nachylenia $\log|Z|$ w całym zakresie częstotliwości są bliskie -1, co świadczy o typowym charakterze pojemnościowym warstwy porowatej na powierzchni – RYS. 6b. Takie same schematy zastępcze dla stali 316 LVM oraz cpTi/Ti-6Al-4V otrzymani [12,13,16].



RYS. 7. Elektryczne schematy zastępcze.
FIG. 7. Electric substitute schemes.

On the basis of the obtained results equivalent circuits were proposed. The best matching of model spectra to impedance spectra was assured by the equivalent circuit composed of two parallel electric elements representing capacitive or constant of border combined with resistance transitions and resistance at high frequencies, which could be attributed to the resistance of the electrolyte – FIG. 7. Symbols describing individual elements of electric substitute circuits are marked respectively:

R_{ct} – resistance of the charge transition at phases border, CPE_{pore} – capacity of oxide layer, R_{pore} – resistance of solution in the porous layer, C_{pore} – resistance and capacity of porous layer (1). Nyquist diagrams set for the cup sample have the form of fragments of large, incomplete semicircles that have impedance response typical for thin oxide layers – FIG. 6a. Maximum values of phase displacement at a broad range of frequencies presented in Bode's diagrams are similar regardless of the type of sample, and amount to $\theta = 75^\circ$. The inclinations $\log|Z|$ at the whole scope of frequency change are close to -1 which indicates the capacity character of porous layer – FIG. 6b. The same electric substitute schemes for 316 LVM stainless steel and cpTi/Ti-6Al-4V were obtained [12,13,16].

Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników badań nie stwierdzono wpływu przebywania panewki w środowisku korozyjnym płynów ustrojowych człowieka na jej własności fizykochemiczne. Stwierdzono, że zarówno polerowane powierzchnie wewnętrzne, jak i zewnętrzne pokryte hydroksyapatytem stanowią barierę chroniącą implant przed działaniem płynów ustrojowych, a ich działanie nie prowadzi do obniżenia biokompatybilności biomateriału panewki. Uzyskane w badaniach potencjodynamicznych parametry dla panewki po implantacji były porównywalne do wartości uzyskanych dla panewki nowej. Wyniki te potwierdzono w badaniach EIS, w których wykazano występowanie warstwy podwójnej stanowiącej dobre zabezpieczenie biomateriału metalowego przed rozwojem niekorzystnych zjawisk korozyjnych.

Conclusions

On the basis of the conducted research, it can be stated that the physicochemical properties of the cup were not changed during its stay in the body fluids. It can be stated that both, polished internal surface and external surface covered with hydroxyapatite, are efficient barrier protecting the implant from the influence of the body fluids and its usage does not lead to deterioration of biocompatibility of the cup. The parameters of potentiodynamic tests for cup after implantation were comparable to the values obtained for the new cup. The results of electrochemical impedance spectroscopy tests showed the presence of a double layer constituting good protection of biomaterials metal against the corrosion in Ringer's solution.

Stwierdzono natomiast różnice w składzie chemicznym analizowanych panewek, mieszczące się jednak w zakresie zalecanym przez normę ISO 5832-9. Niemniej jednak różnice te przyczyniły się do uzyskania zróżnicowanych wartości twardości dla analizowanych implantów. Zaobserwowano, że dla panewki po implantacji w obszarze „II” (RYS. 2) zwiększyła się wartość twardości w stosunku do obszaru „I”, co świadczy o jej umocnieniu wynikającym ze sposobu jej obciążania podczas użytkowania.

Dodatkowo przeprowadzone obserwacje makroskopowe potwierdzają przyczynę alloplastyki rewizyjnej, która została przeprowadzona w wyniku zwicznienia panewki spowodowanej brakiem osteointegracji kości z zewnętrzną powierzchnią panewki pomimo obecności hydroksyapatytu. Po 68-miesięcznym czasie przebywania w organizmie stwierdzono lokalnie występujący hydroksyapatyt, który jest skutkiem nierównomiernej resorpcji podczas stabilizacji, co mogło być spowodowane nieprawidłowym przyleganiem implantów do kości.

Podziękowania

Praca została sfinansowana ze środków Katedry Biomateriałów i Inżynierii Wyrobów Medycznych Wydziału Inżynierii Biomedycznej Politechniki Śląskiej.

On the other hand, differences in the chemical composition of the analyzed cups were stated, but the values were still within the range recommended by ISO 5832-9 standards. However, these differences contributed to the different hardness values for the analyzed implants. It was observed that for the cup after implantation hardness value increased in area “II” (FIG. 2) against area “I”, which testifies its hardening.

Moreover, the macroscopic observations confirm the reason for revision arthroplasty, which was carried out as a result of the dislocation caused by the lack of osseointegration of the external surface of the cup despite the presence of the hydroxyapatite. After 68 months of implantation, local presence of hydroxyapatite was observed which was the result of irregular resorption during stabilization, which could have been caused by an inappropriate contact of the implants to the bone.

Acknowledgements

The project was funded by the Department of Biomaterials and Medical Devices Engineering, Faculty of Biomedical Engineering, Silesian University of Technology.

Pismienictwo

- [1] Semenowicz J., Mrocza A., Kajzer A., Kajzer W., Koczy B., Marciniak J.: Total hip arthroplasty using cementless Avantage cup in patients with risk of hip prosthesis instability. *Ortopedia Traumatologia Rehabilitacja* 16(3) (2014) 253-263.
- [2] Cieślak M., Mlekodaj K., Janus A.M., Łojewski T., Engvall K., Kotarba A.: Badania powierzchni panewki stawu biodrowego po dziesięciu latach kontaktu z organizmem. *Engineering of Biomaterials* 89-91 (2009) 54-56.
- [3] Senthil Maharaj P.S.R., Maheswaran R., Vasanthanathan A.: Numerical Analysis of Fractured Femur Bone with Prosthetic Bone Plates. *Procedia Engineering* 64 (2013) 1242-1251.
- [4] Hutnik A., Świeczko-Żurek B., Szumlański A., Serbiński W.: Metal implants in osteosynthesis – construction solutions, materials and applications. *Engineering of Biomaterials* 115 (2012) 7-11.
- [5] Wendland J., Gierzyńska-Dolna M., Rybak T., Wiśniewski T., Rajchel B.: Badania nad opracowaniem nowego biomateriału przeznaczonego na elementy endoprotez stawu biodrowego. *Obróbka Plastyczna Metali* 2 (2009) 3-19.
- [6] Pereda M.D., Kang K.W., Bonetto R., Llorente C., Bilmes P., Gervasi C.: Impact of surface treatment on the corrosion resistance of ASTM F138-F139 stainless steel for biomedical applications. *Procedia Materials Science* 1 (2012) 446-453.
- [7] Zieliński A., Świeczko-Żurek B., Sobieszczyk S.: Estimation of the expected effects of different surface modifications on mechanical, chemical and biological behaviour of endoprostheses. *Engineering of Biomaterials* 58-60 (2006) 217-219.
- [8] Standard: ISO 5832-9:2007: Implants for surgery - Metallic materials - Part 9: Wrought high nitrogen stainless steel.

References

- [9] Standard: EN ISO 6507-7:2005: Metallic materials. Vickers hardness test. Test method.
- [10] Standard: PN-EN ISO 10993-15:2009: Biologiczna ocena wyrobów medycznych - Część 15: Identyfikacja i oznaczanie ilościowe produktów degradacji metali i stopów.
- [11] Trzaska M., Trzaska Z.: Elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna w inżynierii materiałowej. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa 2010.
- [12] Walke W., Paszenda Z., Basiaga M., Karasiński P., Kaczmarek M.: EIS study of SiO₂ Oxide Film on 316L stainless steel for cardiac implants. *Information Technologies in Biomedicine. Advances in Intelligent Systems and Computing* 284. Springer (2014) 403-410.
- [13] Basiaga M., Paszenda Z., Walke W., Karasiński P., Marciniak J.: Electrochemical Impedance Spectroscopy and corrosion resistance of SiO₂ coated cpTi and Ti-6Al-7Nb alloy. *Information Technologies in Biomedicine. Advances in Intelligent Systems and Computing* Springer 284 (2014) 411-420.
- [14] Kajzer A., Kajzer W., Semenowicz J., Mrocza A.: Corrosion Resistance of Hip Endoprosthesis Cups in the Initial State and After Implantation. *Solid State Phenomena* 227 (2015) 523-526.
- [15] Kajzer A., Kajzer W., Dzielicki J., Matejczyk D.: The study of physicochemical properties of stabilizing plates removed from the body after treatment of pectus excavatum. *Acta of Bioengineering and Biomechanics* 2 (2015) 35-44.
- [16] Silva E.F., C.Oliveira L.F.: Avaliação da resistência à corrosão de implantes em aços inoxidáveis ISO 5832-9 e F138 removidos de pacientes. *Quim. Nova.* 35 (2012) 59-65.