

Podobne wyniki obserwowano w badaniach innych autorów, gdzie stwierdzano stopniowy spadek wymiaru najkrótszego i obliczonej szerokości włókien węglowych wraz z upływającym czasem obserwacji [1,4,5]. Współczynnik wypełnienia wykazywał znamienne wahania pomiędzy wszystkimi badanymi okresami, przyjmując największą wartość przeciętną w szóstym tygodniu, co sugeruje pewną stabilizację procesu zmian geometrycznych w tym tygodniu. Po tym okresie następowały wahania wartości i tendencja do stabilizacji w tygodniu 38. Proces ten świadczy o utracie nierówności obwodu włókien, wyraźnym w 6 i 38 tygodniu obserwacji. Współczynnik wypełnienia wykazywał podobnie jak w pracach Dąbrówki i Zembali [1,5] cykliczne wahania (naprzemienny wzrost i spadek) oraz wyraźną korelację z czasem prowadzonych obserwacji.

Powyższe wyniki wskazują na zjawisko degradacji włókien węglowych, polegające finalnie na spadku ich szerokości rozumianej bądź jako obliczona szerokość bądź też jako wymiar najkrótszy.

## GĘSTOŚĆ OPTYCZNA – UŻYTECZNY WSKAŹNIK OCENY BIOMORFOZY IMPLANTU WĘGLOWEGO TCHAWICY

WOJCIECH ŚCIERSKI\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*,  
EWA ZEMBALA-NOŻYŃSKA\*, GRZEGORZ NAMYSŁOWSKI\*,  
MARTA BŁAŻEWICZ\*\*\*\*, JAN PILCH\*, KRZYSZTOF HELEWSKI\*\*\*\*\*

\*Katedra i Oddział Kliniczny Laryngologii  
Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze

\*\*Pracownia Histopatologii,

Śląskie Centrum Chorób Serca w Zabrze

\*\*\*Katedra i Zakład Patomorfologii Klinicznej Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze

\*\*\*\*Katedra Biomateriałów AGH w Krakowie

\*\*\*\*\*Katedra Histologii i Embriologii w Zabrze,

Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach

e-mail: wojscier@mp.pl

*[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),51-53]*

### Wstęp

Jedną z tendencji rozwojowych współczesnej medycyny jest dążenie do ujmowania badanej cechy cyfrą odzwierciedlającą nasilenie zmiany. Umożliwia to rezygnację z klasyfikowania cech jakościowych na rzecz pomiaru ilościowego. W ostatnich latach w diagnostyce wielu chorób podjęto próbę wykorzystania możliwości komputerowej analizy obrazu do oceny komórek i tkanek. Komputerowa analiza obrazu (morfometria) jąder komórkowych była przedmiotem badań w stanach chorobowych takich narządów jak nerka, żołądek, jajnik, jama nosowa, gruczoł tarczowy i krokowy oraz krtań [2]. Średni stopień szarości jest parametrem morfometrycznym bardzo często wykorzystywanym do oceny komórkowej. Zastosowanie tego parametru do badania włókien węglowych umożliwia ocenę gęstości optycznej materiału. Zakładając, iż wszczepione włókna węglowe pod wpływem działania czynników biologiczno-chemicznych i mechanicznych ulegają stopniowej biodegradacji po wszczepieniu ich do żywego organizmu postanowiono ocenić zmianę gęstości optycznej włókien wykorzystując do tego celu średni stopień szarości.

## OPTICAL DENSITY – USEFUL FACTOR OF TRACHEAL CARBON IMPLANT BIOMORPHOSIS EVALUATION

WOJCIECH ŚCIERSKI\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*,  
EWA ZEMBALA-NOŻYŃSKA\*, GRZEGORZ NAMYSŁOWSKI\*,  
MARTA BŁAŻEWICZ\*\*\*\*, JAN PILCH\*, KRZYSZTOF HELEWSKI\*\*\*\*\*

\*DEPARTMENT OF OTORHINOLARYNGOLOGY, SILESIA MEDICAL  
UNIVERSITY, ZABRZE,

\*\*DEPARTMENT OF HISTOPATHOLOGY, SILESIA CENTER FOR HE-  
ART DISEASES, ZABRZE,

\*\*\* CHAIR AND DEPARTMENT OF CLINICAL PATHOMORPHOLOGY,  
SILESIA MEDICAL UNIVERSITY, ZABRZE

\*\*\*\*DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, AGH-UST, CRACOW

\*\*\*\*\*DEPARTMENT OF HISTOLOGY AND EMBRYOLOGY, SILESIA  
MEDICAL UNIVERSITY, ZABRZE

E-MAIL: WOJSCIER@MP.PL

*[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),51-53]*

### Introduction

During the last years morphometry was used to computer image analysis of cells and tissues in many diseases. A lot of authors described the morphometrical features of the kidney, stomach, ovary, nasal cavity, larynx, thyroid glands disorders [2]. The mean grey level is one of the morphometrical parameters often applied to evaluation of the cells. An application of mean grey level in evaluation of carbon fibers makes possible assessment of biomaterial optical density. We assumed that implanted carbon fibers undergo gradually degradation within the living organism. Therefore we studied the changing of optical density using the mean grey level.

### Material and methods

The mean grey level of carbon fibres implanted in the trachea of experimental animals (sheep) as a 3 cm long prosthesis was assessed. The tracheal implant was built from the composite material. Tracheal implant was constructed with one layer of carbon tissue and five layers of carbon felts as well as 5 carbon fibres rings. Carbon fibres in the form of unwoven fabric and woven fabrics were immersed in liquid resin solution followed by drying process to remove the

W celu zbadania zmian gęstości optycznej włókien węglowych, które mogą być miernikiem ich biodegradacji oceniono cylindryczne implanty tchawicy wykonane z materiału kompozytowego, które wszczepiono zwierzętom doświadczalnym (owcom). Materiał kompozytowy zbudowany był z jednej warstwy włókniny węglowej, pięciu warstw tkaniny węglowej oraz pięciu pierścieni wykonanych z włókien węglowych, które stanowiły wzmocnienie implantu. Wszystkie elementy nasycone były żywicą polisulfonową. Po uśmierceniu zwierząt w 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24 i 36 tygodniu z materiału tkankowego wykonywano preparaty obejmujące zarówno fragment implantu jak i tchawicy. Preparaty utrwalało się w 10% zbuforowanej formalinie. Tkanki poddawano rutynowej obróbce histologicznej zatapiając je w parafinie. Następnie wykonano preparaty histologiczne o grubości 5  $\mu\text{m}$  skrawając je przy użyciu mikrotomu Reichert 2035 BIO CUT z nożami jednorazowymi. Preparaty barwiono hematoksyliną i eozyną. Tak przygotowane preparaty histologiczne oceniano pod powiększeniem mikroskopowym 500 x przy użyciu systemu analizy obrazu Quantimet Color Option Leica®. Detekcję włókien węglowych prowadzono wykorzystując funkcję „Auto-detect” uwidaczniającą jedynie najbardziej różnicowane elementy obrazu.

Średni stopień szarości odzwierciedla gęstość optyczną włókien węglowych. Ciało idealnie czarne (drobiny grafitu, sadzy), nie przepuszczalne dla światła posiada

solvent. After 1, 2, 3, 4, 6, 8, 24 and 36 weeks, the animals were sacrificed and the trachea with the implanted carbon fragment were routinely histologically processed for further microscopically image analysis. The 5  $\mu\text{m}$  sections were stained with hematoxylin and eosin. The mean grey level and thereby optical density of carbon fibers, observed at the magnification of 500 x, was evaluated with the aid of image analysis system Quantimet Color Option. The carbon fibers were detected by means of the “Auto-detect” function which reveals exclusively the most differentiated elements of the image.

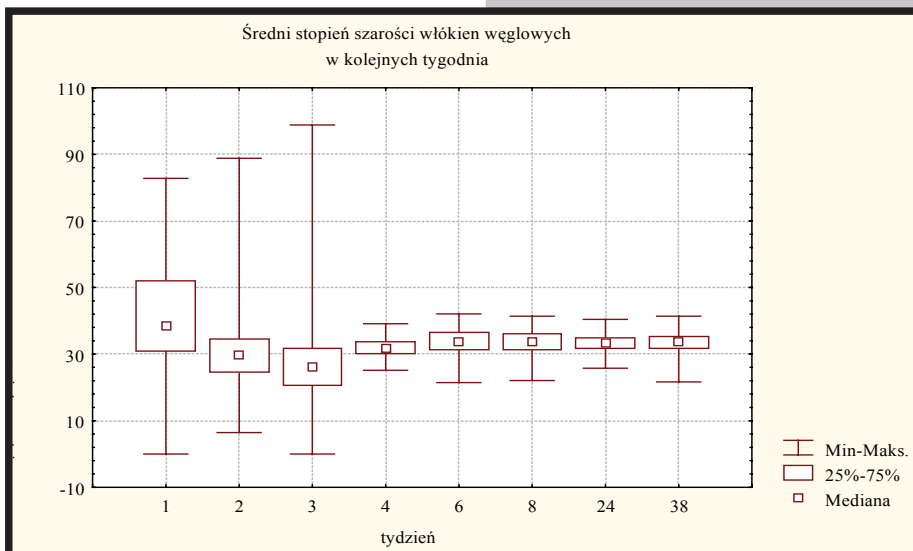
The mean grey level reflected optical density. The calibration was made with the assumption that black body (e.g. graphite or carbon black particles) has the grey value of 0, and the totally transparent body (microscopic cover glass) the value of 256. In the case of carbon structures the grey value zero corresponds to graphite or carbon particles while the values higher indicate loosening of the carbon structure.

The statistical analysis comprised: A. Goodness of fit of the morphometrical value distribution with the normal distribution. B. Calculation of the descriptive statistics of a given parameter at different observation period. C. Comparison of consecutive weeks of the experiment by means of tests suitable for the stated distribution.

It has been assumed that the statistically significant results were those with the probability  $p < 0.05$ . The statistical analysis was carried out on the basis of software SPSS for Windows.

## Results and its discussion

The variations of the average degree of the grey are presented in the TABLE I. TABLE



RYS.1. Rozkład zależności średniego stopnia szarości włókien węglowych od czasu obserwacji.

FIG.1. Comparison carbon fiber of mean grey level and time of observation.

Grupa tydzień	Liczba pomiarów	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Kwartył dolny	Kwartył górny	Odczylenie standardowe
Group week	Number of measure	Mean	Median	Minimum	Maximum	25 perc lower	75 perc upper	Standard deviation
1	629	41.5839	38.371	0	82.833	30.921	52.1	12.4253
2	897	29.7820	29.798	6.416	88.8	24.4	34.6	8.8780
3	2045	26.847	26.197	0	98.857	20.722	31.538	10.6538
4	416	32.0862	31.8828	25.1173	39.1266	30.111	33.8015	2.7424
6	975	33.5932	33.8333	21.4666	42.0666	31.4456	36.3333	3.7534
8	658	33.4798	33.6305	22.0833	41.4283	31.5183	36.141	3.6002
24	489	33.2548	33.1596	25.7616	40.4046	31.5783	34.9936	2.7662
38	1239	33.5334	33.7876	21.625	41.3703	31.7666	35.4833	2.9488

TABELA I. Średni stopień szarości włókien węglowych implantu wszczepionego w ścianę tchawicy.  
TABLE I. Average grey level of carbon fibers in different observation period.

wartość szarości równą 0. Ciało idealnie przepuszczalne (szkiełko podstawowe, niezabarwione tło preparatu) – 256. Pośrednie stopnie szarości (pomiędzy 0 a 256) wskazują na rozluźnienie struktury węglowej. Analiza statystyczna wyników obejmowała: A. Określenie zgodności rozkładu wartości morfometrycznych z rozkładem normalnym. B. Przedstawienie statystyki opisowej danego parametru dla poszczególnego tygodnia obserwacji. Zakładając wstępnie typową dla pomiarów morfometrycznych niezgodność rozkładu danych z rozkładem normalnym nie podawano wartości błędu standardowego zamieniając go wartością 25 (kwartyła dolnego) i 75 (kwartyła górnego) percentyla. C. Porównanie pomiędzy sobą poszczególnych tygodni obserwacji wykorzystując nieparametryczny test Manna-Whitneya. Za wyniki statystycznie istotne przyjęto wyniki o prawdopodobieństwie  $p < 0.05$ . Analizę prowadzono w oparciu o oprogramowanie statystyczne SPSS for Windows.

## Wyniki i ich omówienie

Wyniki pomiarów średniego stopnia szarości podano w tabeli I. W tabeli II przedstawiono porównanie wartości tego parametru w poszczególnych tygodniach obserwacji.

Badając wpływ czasu na wartość średniego stopnia szarości od czasu obserwacji stwierdzono istotną statystycznie zależność (R Spearmana 0.20025,  $p < 0.001$ ).

Wahania średniego stopnia szarości wskazują na znamienny spadek od pierwszego do trzeciego tygodnia, po czym następowała znamienna, lecz nieznaczna tendencja wzrostowa. Analiza korelacji wykazywała najsilniejszy związek tej wartości z czasem obserwacji ( $R=0,2$ ;  $p<0,001$ ). Gęstość optyczna włókien węglowych wykazywała znamienne cechy ich zagęszczania w pierwszych trzech tygodniach obserwacji. Świadczy o tym spadek wartości średniego stopnia szarości z 41 do 26. W kolejnych tygodniach od 4 do 38 zaznaczało się ich nieznaczne, ale istotne rozrzedzenie (wzrost średniej szarości do 33) i tendencją utrzymywania wartości stabilnej.

Badaniem biodegradacji materiałów węglowych zajmowano się w wielu pracach [1, 3-5]. W pracy Zembali i in. analizowano średni stopień szarości jako czynnik świadczący o degradacji włókna węglowej wszczepionej w kości królika, porównując ją z niciami węglowymi implantowanymi w tkanki miękkie. Stwierdzono mniejsze wahania gęstości optycznej w przypadku niepracującej mechanicznie włókna w porównaniu z nicią węglową ulegającą naprężeniom podczas procesów żucia. Wysznięto wniosek, iż na proces biodegradacji włókien węglowych wpływają nie tylko zjawiska biologiczne, ale również mechaniczne [3].

W naszych badaniach włókna węglowe w początkowym okresie obserwacji ulegały stopniowemu zagęszczeniu a następnie rozrzedzeniu i stabilizacji. Proces ten spowodowany był zarówno oddziaływaniem biologiczno-chemicznym jak i wpływem zjawisk mechanicznych, jakim poddawana jest proteza tchawicy.

Porównywane grupy Compared groups	Znamienność (p) Mann-Whitney test (p)
1 tydzień vs 2 tydzień week 1 vs week 2	0.01
2 tydzień vs 3 tydzień week 2 vs week 3	0.00001
3 tydzień vs 4 tydzień week 3 vs week 4	0.01
4 tydzień vs 6 tydzień week 4 vs week 6	0.00001
6 tydzień vs 8 tydzień week 6 vs week 8	0.49
8 tydzień vs 24 tydzień week 8 vs week 24	0.03
24 tydzień vs 38 tydzień week 24 vs week 38	0.01
1 tydzień vs 38 tydzień week 1 vs week 38	0.00001

**TABELA II. Porównanie poszczególnych tygodni obserwacyjnych średniego stopnia szarości włókien węglowych włókna wszczepionej w ścianę tchawicy.**

**TABLE II. Comparison of the mean grey levels of the carbon fibres in different observation period.**

It showed the comparison between values of the grey level in the particular weeks of observation.

We stated significant correlation between the mean grey level values and time of observation (R Spearman 0.20025,  $p < 0.001$ ). The changes of average grey level showed significant decreasing from 1 to 3 weeks of observation. From 4 week followed significant, but small tendency to increasing. The correlation analysis showed the highest relationship between value of grey level and time of observation ( $R=0.2$ ,  $p < 0.001$ ).

The optical density of carbon fibres showed significant features of their condensation in the first three weeks of observation. It corresponds to decreasing mean grey levels from 41 to 26. In the next weeks (from 4 to 38) we observed loosening of optical density (increasing of average grey level to 33) and tendency to preservation of stable value.

The problem of carbon materials degradation within the living organisms was the study subject in many publications [1, 3-5]. Zembala et al studied mean grey level of carbon cloth (used as a filling of the experimental osseous lesions in the rabbit mandibles) and carbon thread (implanted in perimandibular soft tissues). The results pointed out to the significantly smaller grey levels in the cases of the carbon cloth (no working mechanically) with comparison to carbon thread (working mechanically during the mastication). They concluded that the mean grey level reflects not only the time role, but also the biomechanical process [3].

## Piśmiennictwo

- [1] Dąbrówka K., Nożyński J., Zembala-Nożyńska E., Błażewicz S.: Średni stopień szarości – obiektywny parametr biodegradacji włókien węglowych. *Inżynieria Biomateriałów* 2001, 13, 3-8.
- [2] Namysłowski G., Ścierański W., Nożyński J.: Charakterystyka zależności szarości zintegrowanej jądra komórkowego od innych parametrów kariometrycznych w stanach przedrakowych i raku krtani. *Otolaryngol. Pol.*, 2001, 55, 2, 161-167.
- [3] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrówka K., Cieślak T., Błażewicz S., Szczurek Z.: Porównanie średniego stopnia szarości w procesie biodegradacji włókna i nici węglowej, użytych do różnych zespołów tkankowych. *Inżynieria Biomateriałów* 2001, 4, 17-19, 58-59.

## References

- [4] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrówka K., Cieślak T., Błażewicz S., Szczurek Z.: Porównanie średniego stopnia szarości w procesie biodegradacji włókna i nici węglowej, użytych do różnych zespołów tkankowych. *Inżynieria Biomateriałów* 2001, 4, 17-19, 58-59.
- [5] Zembala-Nożyńska E., Nożyński J., Sabat D., Dąbrówka K., Cieślak T., Szczurek Z.: Analiza średniego stopnia szarości w procesie biodegradacji włókna węglowych. *Inżynieria Biomateriałów* 2002, 20, 15-21.