

## Piśmiennictwo

- [1] T.M. Yue, T.M. Cheung, H.C. Man, The effects of laser surface treatment on the corrosion properties of Ti-6Al-4V alloy in Hank's solution, *Journal Materials Science Letters* 19 (2000) 205-208.  
 [2] T.M. Yue, J.K. Yu, Z. Mei, H.C. Man, Excimer laser surface treatment of Ti-6Al-4V alloy for corrosion resistance enhancement, *Materials Letters* 52 (2002) 206-212.

## BADANIE IN VITRO KOMPOZYTÓW: POLISULFON – JEDNOŚCIENNE NANOROGI WĘGLOWE

A.FRACZEK\*, M.BLAZEWICZ\*, E.ZACZYNSKA\*\*, A.CZARNY,  
L.BACAKOVA\*\*\*

\*AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI, KATEDRA  
BIOMATERIAŁÓW,

AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

\*\*INSTYTUT IMMUNOLOGII I TERAPII DOŚWIADCZALNEJ PAN WE

WROCŁAWIU, R. WEIGLA 12,

53-114 WROCŁAW

\*\*\*CZEŠKA AKADEMIA NAUK, INSTYTUT FIZJOLOGII,

VIDENSKA 10983, 142 20 PRAGA

E-MAIL: AFRACZEK@OP.PL

**Słowa kluczowe:** jednościenne nanorogi węglowe (SWNH), nanokompozyty, biogodność, inżynieria tkankowa

[*Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),123-127*]

### Wprowadzenie

Nanorurki/nanorogi węglowe są nową odmianą węgla mającą potencjalne zastosowanie w wielu obszarach techniki i medycyny. Te formy węgla posiadają interesujące własności elektryczne, mechaniczne oraz chemiczne. Z powodu tych właściwości nanoformy węglowe (nanorurki, nanowłókna, nanorogi) są coraz bardziej poszukiwane w inżynierii biomedycznej, chemii medycznej, a także stosowane do konstrukcji nowych typów materiałów implantacyjnych [1-5]. Nanorurki/nanorogi mogą być wypełniane DNA bądź peptydami i mieć zastosowanie w terapii genowej, a także do uwalniania leków w terapii molekularnej. Nanorurki węglowe mogą być także używane do produkcji nanorobotów, które z łatwością można wprowadzić do wnętrza komórki w celu leczenia chorób [9]. Ponadto, nanorurki mogą znaleźć również zastosowanie w miejscowym uwalnianiu leków [10,11]. Jest również znane, że nanorurki/nanorogi wpływają na mechaniczne, elektryczne własności osnów polimerowych, a także mogą być stosowane jako czynnik modyfikujący własności powierzchniowe takie jak chropowatość i zwilżalność. Próbuje się również zastosować materiały w skali nano jako składowe złożonych biomateriałów kompozytowych, zdolnych do pobudzania przylegania komórek, ich rozplaszczania, a także zastosowania ich w regeneracji tkanek twardych. Poprzez kombinacje biogodnych polimerów z różnymi nanododatkami, próbuje się skonstruować się najbardziej optymalny biomateriał zastępujący naturalną tkankę. Celem tych badań była ocena biogodności w warunkach in vitro materiałów kompozytowych wykonanych z jednościennej nanorogów węglowych (SWNH) oraz polisulfonu (PSU), a także oszacowanie ich potencjalnego zastosowania w inżynierii tkankowej.

## References

- [3] F. Guillemot, E. Prima et al., Ultraviolet laser surface treatment for biomedical applications of  $\beta$  titanium alloys: morphological and structural characterization, *Applied Physics A* 77 (2003) 899-904.  
 [4] H. Badeskas, C. Panagopoulos, S. Economou, Laser surface-treatment of titanium, *Journal of Materials Processing Technology* 44 (1994) 54-60.

## IN VITRO ASSESSMENT OF SINGLE WALL CARBON NANOHORNS – MODIFIED POLYSULFONE

A.FRACZEK\*, M.BLAZEWICZ\*, E.ZACZYNSKA\*\*, A.CZARNY,  
L.BACAKOVA\*\*\*

\*\*\* AGH–UST, DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,

AL.MICKIEWICZA 30, 30-059 CRACOW

\*\*INSTITUTE OF IMMUNOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPY, POLISH

ACADEMY OF SCIENCES,

R. WEIGLA 12, 53-114 WROCLAW

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

PHYSIOLOGY,

142 20 PRAGUE, VIDENSKA 10983

E-MAIL: AFRACZEK@OP.PL

**Key words:** single wall carbon nanohorn (SWNH), nanocomposites, biocompatibility, tissue engineering [*Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),123-127*]

### Introduction

Carbon nanotubes/nanohorns are a new type carbon considered as potential material for application in many areas of Technique and Medicine. Such a form of carbon has interesting set of properties including mechanical, electrical, and chemical ones. Due to these properties the carbon nanoforms (nanotubes, nanofibers, nanohorns) are more and more explored in biomedical engineering, medical chemistry, and construction the new type implant materials [1-5]. Nanotubes/nanohorns can be filled with DNA or peptide molecules and have high potential in gene or peptide storage, in delivery system and in molecular therapy of diseases [7,8]. Carbon nanotubes can also be used to fabricate nanomotors, which likely enter inside the cell to treat disease [9]. Moreover, nanotubes are considered to be used in the drugs delivery system [10,11]. It is known that carbon nanotubes/nanohorns influence the mechanical and electrical properties of polymer matrix and may be used as a constituent for modification of the surface properties like roughness and wettability. Nano-sized materials are attempted as components of complex composite biomaterials able to promote and stabilize cell attachments and spreading in selective way and for regenerating hard tissues. By combining the biocompatible polymer matrices with different nano-sized components, a closer approach to the optimal artificial materials designed as bioartificial tissue substitutes.

The aim of this study was in vitro assessment of biocompatibility of composite samples made of single wall carbon nanohorns (SWNH)/polysulfone (PSU) composite and evaluation of its potential for tissue engineering.

Składowymi kompozytów stosowanych do modyfikacji polisulfonu były jednościenne nanorogi węglowe (SWNH) zakupione od firmy NanoCraft Inc. Renton (USA). SWNH należą do rodziny jednościennych nanorurek węglowych. Nanorogi mają średnice rzędu 2-3 nm i długość 30 do 50 nm, o końcach ustawionych pod kątem 19° zwanych rogami. Mają tendencję do grupowania się w klasterki o średnicach od 30 do 120 nm. Otwarte nanorogi mają rozwinięcie powierzchni rzędu 1600 m<sup>2</sup>/g.

Jako osnowę do produkcji kompozytów zastosowano polisulfon (PSU) o gęstości 1,24 g/cm<sup>3</sup>. Roztwór polimeru otrzymano poprzez rozpuszczenie 5g PSU na 50 ml dichlorometanu. Roztwór polimeru następnie był mieszany z SWNH za pomocą ultradźwięków przez 10 min. Tą drogą otrzymano cztery rodzaje próbek:

- PR1 – polisulfon (PSU) bez modyfikacji;
- PR2 – kompozyt SWNH/PSU zawierający 0,5% SWNH;
- PR3 – kompozyt SWNH/PSU zawierający 1% SWNH;
- PR4 – kompozyt SWNH/PSU zawierający 2% SWNH.

Wszystkie rodzaje roztworów umieszczone zostały w naczyniach Petriego i pozostawione do momentu odparowania rozpuszczalnika.

Badanie określające charakter powierzchni przeprowadzone zostało za pomocą kąta zwilżania, urządzeniem DSA 10 Kruss. Pomiar topografii powierzchni kompozytów został wykonany za pomocą mikroskopu optycznego (Nicon EPIPHOT 300, Japan). Wszystkie rodzaje próbek badane zostały w warunkach *in vitro*. Zanim poddano próbki badaniom *in vitro* były one sterylizowane metodą plazmową (Sterrad 120, ASP, Johnson & Johnson). Na przygotowanych kompozytach przeprowadzono badania adhezji i proliferacji ludzkich osteoblastów z linii MG63 (European Collection of Cell Cultures, Salisbury, UK). Próbki umieszczono w 24 dołkowych płytkach hodowlanych, o średnicy 15 mm i zasiedlono komórkami. Każdy dołek hodowlany zawierał 17000 komórek/cm<sup>2</sup>, inkubacja przeprowadzona została w 2 ml medium Eagle (Sigma, USA, Cat. No D5648) z dodatkiem 10% płodowej surowicy bydlęcej (Sebak GmbH, Aldenbach, Germany) w inkubatorze o wilgotności powietrza atmosferycznego i dodatkiem 5% CO<sub>2</sub>. Komórki były hodowane odpowiednio przez 1, 3 i 7 dni, a następnie poddane fiksacji za pomocą 70% etanolu oraz barwione jodkiem propidyny (5 μg/ml). Ilość komórek oraz ich morfologia określone zostały za pomocą mikroskopu fluorescencyjnego (Olympus, Japan). Po upływie 1, 3 oraz 7 dni komórki poddano trypsynizacji i zliczaniu w komorze Bürkera.

Statystykę błędów przeprowadzono stosując test t-Studenta.

#### Oznaczanie cytokin pro-zapalnych

Krew obwodowa pochodziła od zdrowych dawców ze Stacji Krwiodawstwa IV Wojskowego Szpitala Klinicznego z Polikliniką SP ZOS we Wrocławiu.

Leukocyty do badań uzyskiwano z krwi heparynizowanej przez wirowanie w gradiencie Dekstran-Uropolina (Gradisol G, o gęstości 1,115 g/ml). Krew w ilości 5 ml nawarstwiano na 3 ml preparatu. Następnie wirowano przez 30 min z przyspieszeniem 400 g i zbierano leukocyty osadzone na granicy faz. Po dwukrotnym płukaniu komórek płynem Dulbecco z 2% zawartością surowicy cielęcej, przygotowywano zawiesinę komórek o wymaganej dla doświadczeń gęstości – 2x10<sup>6</sup> komórek/ml.

#### Wytwarzanie cytokin

Na płytkę 24 dołkową firmy NUNC nanoszono po 1 ml zawiesiny leukocytów o gęstości 1x10<sup>6</sup> komórek/ml. Do tak przygo-

## Materials and methods

The composite component used to modify the polysulfone PSU precursor was single wall carbon nanohorns (SWNH) from NanoCraft Inc. of Renton (USA). The SWNH, belong to the single wall nanotube family. Nanohorns were 2 to 3 nm in diameter and 30 to 50 nm in length with a 19 degree closed end called horn. They form into a cluster with a diameter of about 30 to 120 nm. Opened nanohorns have up to 1600 m<sup>2</sup>/g. As composite matrix PSU polymer (Aldrich Chemical Co., USA) with the density of 1,24 g/cm<sup>3</sup> has been used in the experiments. The polymer solution was obtained by dissolving 5g of PSU per 50 ml of dichloromethane. The polysulfone solution was mixed with Single Walled Carbon Nanohorns (SWNH) by means of sonicator through 10 minutes. In such a way four kinds of samples based on polysulfone solution have been prepared:

- PR1 – pure PSU polymer samples;
- PR2 – SWNH/PSU composite containing 0,5% SWNH in polysulfone solution;
- PR3 – SWNH/PSU composite containing 1% SWNH in polysulfone solution;
- PR4 – SWNH/PSU composite containing 2% SWNH in polysulfone solution;

All solutions have been poured onto a Petri's dish and left to remove the solvent.

The surface characteristic was studied by contact-angle measurement (DSA 10 Kruss). The topography of carbon nanohorns/polysulfone composites was accomplished by optical microscopy (Nicon EPIPHOT 300, Japan). All types of nanocomposites were analyzed *in vitro* conditions. Before the *in vitro* study the samples were sterilized by plasma method (Sterrad 120, ASP, Johnson & Johnson). The adhesion and growth of human osteoblast-like cells of the line MG63 (European Collection of Cell Cultures, Salisbury, UK) on carbon nanohorns/polysulfone composites were studied. A cells line derived from an osteosarcoma rate 13-year-old boy. The samples inserted into polystyrene multidishes (24 wells, 15 mm diameter) and seeded with osteoblast-like cells. Each dish contained 17000 cells/cm<sup>2</sup> was incubated in 2 ml of Dulbecco-modified Eagle Minimum Essential Medium (Sigma, USA, Cat. No D5648) supplemented with 10% Fetal Bovine Serum (Sebak GmbH, Aldenbach, Germany) in humidified air atmosphere containing 5% of CO<sub>2</sub>. Cells were cultured for 1, 3 and 7 days, and subsequently the cells were fixed with 70% ethanol, stained with propidium iodide (5 μg/ml), and their number and morphology were evaluated in the fluorescence microscope (Olympus, Japan). After 1, 3 and 7 days cultured cells harvested by trypsin and counted in a Bürker's haemocytometer.

The pro-inflammatory cytokines from blood human leukocytes after exposure to samples have been determined. Peripheral vein blood was taken from a group of healthy volunteers and obtained from Wrocław Regional Transfusion Center.

Leukocytes were isolated from heparinized peripheral blood (10 U/ml) by gradient centrifugation in Gradisol G with a density of 1,115 g/ml (Aqua Medica, Poznań, Poland). 5 ml of blood were layered on 3 ml of Gradisol and centrifuged for 30 min. at 400x g. The leukocytes from the interphase were collected, washed two times with Dulbecco's modified Eagle's minimum essential medium (DMEM) supplemented with 2% c. s. and suspended in this medium at a density of 2x10<sup>6</sup> cells/ml.

Peripheral blood leukocytes were plated at 1x10<sup>6</sup> per well in 24-well plastic (NUNC) in DMEM supplemented with 5%

owanych komórek dodawano próbki badanych biomateriałów i inkubowano 24 oraz 72 godziny (37°C, 5%CO<sub>2</sub>). W płynach z nad hodowli oznaczano poziom IL-6 metodą ELISA.

### Oznaczanie aktywności IL-6

Zdolność komórek krwi obwodowej do wytwarzania interleukiny-6 po stymulacji biomateriałami badano testem immuno-enzymatycznym ELISA. 96 - dołkową płytkę firmy Nunc Maxisorp opłaszczono monoklinalnymi przeciwciałami (MAb IL-6) i inkubowano przez całą noc w 4°C. Następnie płytkę płukano 3-krotnie roztworem PBS/0,05% Tween 20, dodano Assay Diluent i inkubowano przez 1h w temperaturze pokojowej, po czym ponownie płukano 3-krotnie PBS/0,05% Tween 20. Po tym czasie nanoszono na płytkę badane materiały oraz rozcieńczenia standardowej rHu IL-6. Płytkę inkubowano przez 2 godziny i płukano pięć razy PBS/0,05% Tween 20, po czym nanoszono biotynylowane przeciwciała anti-IL-6 do każdego dołka i inkubowano 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Po tym czasie płukano 7-krotnie PBS/0,05% Tween 20 i dodano substratu (tetrametylobenzydyna i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Zmianę barwy na kolor niebieski obserwowano po 30 minutowej inkubacji w ciemności, a reakcję zatrzymano dodając 1M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> i wówczas następuje zmiana barwy na żółtą. Pomiar absorbancji wykonano po 30 minutach na czytniku (Multiskan RC and the Genesis Software, Thermo Labsystems) przy długości fali  $\lambda=450\text{nm}$ . Wartości absorbancji w badanych materiałach odnoszono do stężenia standardowej rHu IL-6.

### Wyniki i dyskusja

Kompozyty SWNH/PSU mają inną topografię powierzchni w porównaniu z PSU bez nanododatku. Analiza topografii badanych kompozytów za pomocą mikroskopu optycznego wskazuje, że chropowatość kompozytrów nanorogi/polisulfon jest wyższa porównując z czystym PSU. Zauważono, że nanorogi mają dużą tendencję do tworzenia agregatów. Przedstawione rysunki pokazują, że powierzchnia kompozytów zawierających nanorogi węglowe nie jest jednolita, nanocząstki mają tendencję do łączenia się tworząc klastery dobrze rozmieszczone w matrycy polimerowej (RYS.1).

Wartość kąta zwilżania zarówno dla czystego PSU jak i nanokompozytów jest podobna. Wyniki te wskazują na to, iż nanorogi węglowe nie wpływają na zmianę zwilżalności powierzchni modyfikowanego polimeru (RYS.2). Po 1 i 3 dniach hodowli ilość komórek na badanych próbkach była różna. Po 3 dniach inkubacji najmniejszą liczbę komórek zaobserwowano na próbce 0,5%SWNH (27556,67±5563,48komórek/cm<sup>2</sup>), podczas gdy dla pozostałych próbek ilość komórek jest zbliżona do wyników na próbce kontrolnej (PS) (36715±5020,96komórek/cm<sup>2</sup>). Jednakże po 7 dniach hodowli największą ilość komórek zaobserwo-

fetal serum, penicillin (100U/ml), streptomycin (100µg/ml) and 2mM L-glutamine. The leukocytes were incubated in the presence or absence of the samples. The supernatants were collected at 24, and 72 h after incubation and stored at -70°C for enzyme – linked immunosorbent assay (ELISA).

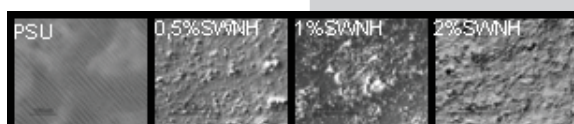
IL-6 level in cell-free supernatants were determined by an enzyme – linked immunoabsorbent assay (ELISA). OptEIA Human IL-6 Set the commercially available kit containing an anti-human IL-6 monoclonal anti-body (PharMingen, San Diego, CA) was used. The sensitivity of the kit was 4 pg/ml. For this experiment, 96-well polyvinyl plates were coated overnight at 4°C with MAb IL-6 in coating buffer. The plates were washed 3 times with wash buffer (PBS with 0.05% Tween 20), an Assay Diluent (PharMingen) was added and plates were incubated for 1h at room temperature (RT), and washed 3 times again. Twofold serial dilutions in Assay Diluent of standard recombinant IL-6 (PharMingen) ranging from 500 to 7.8 pg/ml were incubated for 2 h in addition to the samples. The plates were washed five times and Working Detector (detection antibody + enzyme reagent) was added and plates were incubated for 1 h at RT, then tetramethylbenzidine and hydrogen peroxide substrate (PharMingen's TMB Substrate Reagent) was added, and after 30 min incubation in dark, the reaction was stopped with 1M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. The absorbance at 450 nm was measured with a microplate reader (Multiskan RC and the Genesis Software, Thermo Labsystems). Samples concentrations were read out from the dose-response curve obtained with reference recombinant IL6.

### Results and discussion

SWNH/PSU composites have a different surface topography as compared with pure PSU. The optical microscope analysis of the topography of carbon nanohorns/polysulfone composites surface indicates that the roughness of these surface composites is higher in comparison with pure polysulfone one. Carbon nanohorns have strong tendency to create the aggregates.

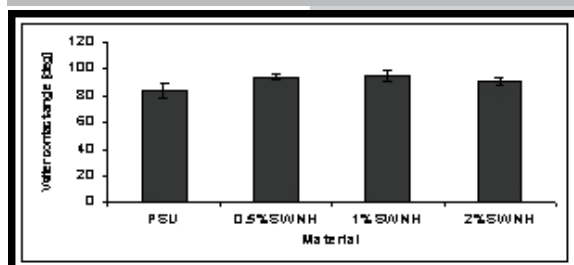
The pictures show that the surface of composites containing SWNH is non-uniform, partially in the form of small clusters between of which well dispersed carbon nanoforms in the matrix are present (FIG.1). The water contact-angles values are similar both for pure polymer and carbon nanohorns-based composite samples. It indicates that the presence of carbon nanohorns in the near surface region does not change wettability of polymer surface (FIG.2).

On day 1 and 3 after seeding the number of cells on examination samples were different. 3 days after seeding the lowest number of MG63 cells was observed on the samples 0,5%SWNH (27556,67±5563,48cells/cm<sup>2</sup>), whereas for the rest samples the number of cells was similar to that of the control polystyrene samples (PS) (36715,56±5020,96cells/cm<sup>2</sup>). However, 7 days after seeding



**RYS.1. Topografia próbek. Originalne powiększenie 10x.**

**FIG.1. The samples topography. Original magnification 10x.**



**RYS.2. Wyniki kątów zwilżania dla czystego PSU oraz kompozytów SWNH/PSU.**

**FIG.2. Results of water contact-angle measurements on pure PSU and nanotubes/PSU composites.**



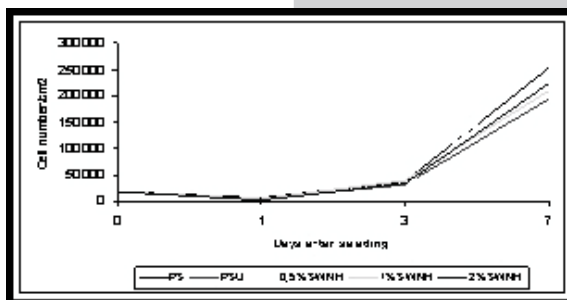
wano na próbce 0,5% SWNH (265947,84±14300,93komórek/cm<sup>2</sup>), podczas gdy najniższą wartość wyznaczono na powierzchni czystego PSU (194561,47±13571,38komórek/cm<sup>2</sup>). Dla pozostałych próbek liczba komórek była porównywalna (RYS.3).

Uzyskane rezultaty wskazują, że zmiana topografii powierzchni na skutek modyfikacji nanorogami, a także ilość nanocząsteczek w matrycy polimerowej mają wpływ na proliferację oraz rozplaszczanie komórek. Zaobserwowano znaczny wzrost proliferacji na powierzchni nanokompozytów, gdzie chropowatość powierzchni była znacznie wyższa niż dla czystego PSU. Reasumując możemy stwierdzić, że istnieje zależność pomiędzy ilością SWNH w matrycy polimerowej, odpowiedzią komórkową, a powierzchnią próbek.

Do badań komórkowych zastosowano również pro-zapalne cytokiny pochodzące z leukocytów krwi obwodowej. Po 24 h hodowli leukocytów na badanych próbkach poziom IL-6 (interleukina-6) był następujący: najniższy poziom IL-6 zaobserwowano dla czystego PSU, podczas gdy dla kompozytów SWNH/PSU poziom ten wzrastał wraz z ilością SWNH w matrycy polimerowej. Jednakże po 72h inkubacji najwyższy poziom IL-6 zaobserwowano dla czystego PSU, w przypadku nanokompozytów produkcja cytokin pro-zapalnych nie została zaobserwowana (RYS.4.) Polisulfon indukuje wysoki poziom IL-6 w porównaniu z nanokompozytami. Poziom IL-6 na kompozytach z nanorogami węglowymi był nieznaczny w porównaniu z ich poziomem na próbce kontrolnej (leukocyty krwi obwodowej).

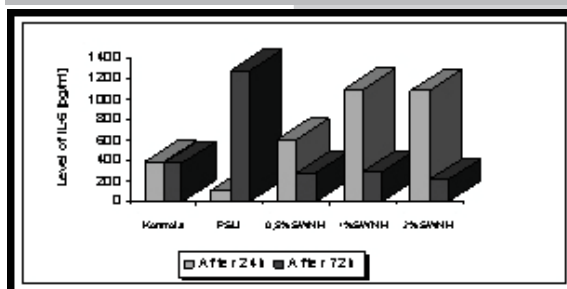
## Wnioski

Badania wstępne in vitro wskazują, że kompozyty nanorogi węglowe/polisulfon są biogodne w kontakcie z osteoblastami. Proliferacja komórek na powierzchni kompozytów modyfikowanych nanowęglowymi cząstkami jest podobna bądź wyższa w porównaniu z próbką kontrolną (PS), a wyższa w porównaniu z czystym polisulfonem. Wstępne badania ukazują, że nowoutworzone kompozyty SWNH/PSU nie wywołują produkcji IL-6 pochodzącej z krwi obwodowej. Uzyskane wyniki sugerują także, że nanorogi węglowe mogą być rozważane jako składowe do modyfikacji własności powierzchni implantów np. matryc polimerowych. Kompozyty SWNH/PSU mogą być rozważane jako podłoża w inżynierii tkankowej jednakże wymagane są dalsze badania mające na celu lepsze zrozumienie przebiegających procesów pomiędzy nanocząstkami i materiałem modyfikowanym, a komórkami.



**RYS.3. Krzywa wzrostu ilości osteoblastów na płytce kontrolnej (PS), czystym PSU oraz kompozytach modyfikowanych nanorogami.**

**FIG.3. Growth curves of osteoblast-like cells on polystyrene culture dish (PS) and pure PSU and nanohorns- modified composites.**



**RYS.4. Poziom IL-6 na próbkach badanych po 24h i 72h po inkubacji.**

**FIG.4. The level of IL-6 on examination samples 24h and 72h after incubation.**

the highest number of cells was observed for 0,5% SWNH sample (265947,84±14300,93cells/cm<sup>2</sup>), whereas the lowest number of cells was found on pure PSU surface (194561,47±13571,38cells/cm<sup>2</sup>). For the rest samples the number of MG63 cells was almost the same (FIG.3).

These results indicate that the topography of nanohorns- modified composites surface and amount of carbon nanohorns in polymer matrix has an impact on the cells proliferation and spreading. The cells proliferation was better on the samples containing single walls carbon nanohorns, where the surface roughness was higher than those for the pure PSU samples. We may assume that there exists a relationship between the amount of SWNH in polymer matrix and the cells response to such a surface.

The pro-inflammatory cytokines from blood human leukocytes after exposure to samples have been determined. On 24 hours after leukocyte cells culture on the examination samples the level of IL-6 (interleukin-6) was following: the lowest level of IL-6 was observed on the pure PSU samples, while for the SWNH/polysulfone

composites the level of IL-6 increased with amount of SWNH in polymer matrix. However, after 72h incubation there was observed the highest growth of the IL-6 on the pure PSU samples; in the case of nanohorns composites the production of the pro-inflammatory cytokines was not observed (Fig.4.). Polysulfone induces high level of IL-6 as compared to nanohorns - based composites. The level of IL-6 on nanohorns- based composites was insignificant in comparison with the level of IL-6 on control sample (peripheral blood human leukocytes).

## Conclusions

The preliminary in vitro study indicates that carbon nanohorns/polysulfone composites are biocompatible with osteoblast-like cells. The cells proliferation on nanocarbon- modified surface of composites was similar or higher in comparison with control samples (PS), and higher as compared with pure polysulfone samples. This preliminary study shows that a new form of carbon nanohorns - modified polymer composites do not evoke production of IL-6 from blood human leukocytes. The obtained results also suggest that carbon nanohorns may be considered as a component for modification of the implant surface properties e.g. a polymeric matrix. The SWNH/polysulfone composites can be considered as a scaffold for tissue engineering but further study is required for better understanding the processes between carbon nanohorns-modified material and cells.

## Podziękowania

Praca została dofinansowana ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, Badania Statutowe No. 11.11.160.367

## Piśmiennictwo

- [1] S.Iijima, Carbon nanotubes: past, present, and future, Phys. B 323 (4) (2002) 1–5.
- [2] J.-M. Bonard, M.Cr oci, C.Klinke, R.Kurt, O. Noury, N. Weiss, Carbon nanotube films as electron field emitters, Carbon 40 (10) (2002) 1715–1728.
- [3] W.Zhu, C.Bower, O.Zhou, G.Kochanski, S. Jin, Large current density from carbon nanotube field emitters, Appl. Phys.Lett. 75 (6) (August 9 1999) 873–875.
- [4] S.Xie, W.Li, Z.Pan, B.Chang, L. Sun, Mechanical and physical properties on carbon nanotube, J.Phys.Chem. Solids 61 (7) (July 2000) 1153–1158.
- [5] Dresselhaus M.S., Dresselhaus G. "Carbon nanotubes", Springer, New York, 2001

## WARSTWY AZOTKOWE DLA OCHRONY STOPÓW NiTi WYKAZUJĄCYCH EFEKT PAMIĘCI KSZTAŁTU

T. GORYCZKA\*, P. PAĆZKOWSKI\*, J. LELAŃKO\*, T. WIERZCHOŃ\*\*, H. MORAWIEC\*

\*IUNIWERSYTET ŚLĄSKI, INSTYTUT NAUKI O MATERIAŁACH, BANKOWA 12 40-007 KATOWICE, POLSKA

\*\*POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ, WOŁOWSKA 141, 02-507 WARSZAWA, POLAND  
E-MAIL: GORYCZKA@US.EDU.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),127-129]

### Wstęp

Stopy NiTi wykazujące efekt pamięci kształtu, o składzie zbliżonym do równoatomowego, są znane z licznych zastosowań na implanty zarówno w medycynie jak i ortodoncji. Pomimo względnie wysokiej zawartości niklu implanty wytwarzane ze stopów NiTi nie powodują reakcji alergicznych, toksycznych czy też nie są przyczyną wad genetycznych [1-3]. Jednakże ich czas pozostawiania w organizmie żywym może być ograniczony przez korozję [4]. W celu poprawy odporności na korozję, powierzchnia stopów NiTi pokrywana jest warstwami ochronnymi. Okazało się że azotek tytanu jest jednym z kandydatów na warstwy skutecznie chroniące powierzchnię NiTi [5]. Jednakże metoda nanoszenia warstwy wywiera decydujący wpływ na właściwości warstwy. W obecnej pracy przedstawiono wyniki badań stopu NiTi pokrytego warstwą azotku tytanu metodą azotowania jarzeniowego w różnych temperaturach.

### Część eksperymentalna

Pręt o średnicy 8 mm komercyjnego stopu NiTi (50.6 at%Ni) walcowano na gorąco uzyskując taśmę o grubości 1 mm. Powierzchnię próbek, wyciętych w kształcie prostokąta o wymiarach 12x15 mm, polerowano w zawiesinach SiO<sub>2</sub> o granulacji od 15 do 0.1 μm. Cienkie warstwy nakładano sto-

## Acknowledgement

The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education, Statute Investigation No. 11.11.160.367

## References

- [7] Ciu D., Ozkan C.S., Ravindran S., Kong Y., Gao H. "Encapsulation of Pt-labelled DNA molecules inside carbon nanotubes", Mech. Chem. Biosystems 1 (2004) 113-121.
- [8] Gao H., Kong Y., Cui D., Ozkan C.S. „Spontaneous insertion of DNA oligonucleotides into carbon nanotubes”, Nanotechnology Letters 3 (2003) 471-473.
- [9] Wood J. "Nanotube scaffolds for tissue engineering", Materials Today 7 (2004) 10.
- [10] Bogunia-Kubik K., Sugisaka M. „From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine”, BioSystems 65 (2002) 123-138.
- [11] <http://www.ipis.pl/artukul.php?idartykul=1612&poddzial=Telekomunikacja>

## NITRIDED LAYERS FOR NIT SHAPE MEMORY ALLOY PROTECTION

T. GORYCZKA\*, P. PAĆZKOWSKI\*, J. LELAŃKO\*, T. WIERZCHOŃ\*\*, H. MORAWIEC\*

\*UNIVERSITY OF SILESIA, INSTITUTE OF MATERIAL SCIENCE, BANKOWA 12 40-007 KATOWICE, POLAND

\*\*WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING, WOŁOWSKA 141, 02-507 WARSZAWA, POLAND  
E-MAIL: GORYCZKA@US.EDU.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),127-129]

### Introduction

The NiTi shape memory alloy, with its chemical composition close to the equiatomic one, has been known from its numerous applications as implants in medicine and orthodontics. In spite of relatively high content of Ni, the implants formed from NiTi alloy do not cause allergic reaction, toxic or genetic effects [1-3]. However, its functional period inside a living creature can be limited by a corrosion [4]. In aim to improve the resistance, surface of NiTi alloy has been covered by protective layers. Titanium nitride has been found as a good candidate for layers, which sufficiently protect surface of NiTi alloy [5]. However, a method of the surface covering is a crucial and strongly influences its properties. In the presented work the nearly-equiatomic NiTi alloy was covered by nitriding under glow discharge at various temperatures.

### Experimental

Commercial NiTi (50.6 at%Ni) rod, 8 mm of diameter, was hot-rolled to strip 1 mm of thickness. Surface of rectangular samples, (12x15 mm) were polished using SiO<sub>2</sub> suspension from 15 to 0.1 μm. The thin layers were obtained by nitriding under glow discharge. In aim to get significant difference between thickness of the layer process was carried out at two