

Piśmiennictwo

- [1] Gierzyńska-Dolna M.: Biotribologia. Wyd. Polit. Częst. Czeszochowa, Poland, 2002
- [2] Gierzyńska-Dolna M.: Tribological problems in natural and artificial humans' joints. Inżynieria Biomateriałów 1997, No1
- [3] Chmielewski D., Górecki A.: Immunologiczne i mechaniczne aspekty obłuzowania endoprotez stawu biodrowego. Inżynieria Ortopedyczna i Protetyczna 1999, Białystok
- [4] Lacki P., Adamus J., Jałbrzykowski M.: Charakterystyki tribologiczne par kinematycznych stosowanych w endoprotezach stawu biodrowego. Tribologia 2005, No 3
- [5] Multi-author work edited by Gierzyńska-Dolna M.: Optymalizacja doboru materiałów i obróbki powierzchniowej niektórych endoprotez narządów ruchu człowieka w oparciu o badania tarciowo-życiowe. Report of the research projekt 7T08C03809 (unpublished material)
- [6] Grądzka-Dahlke M., Dąbrowski J. R.: Ocena własności kompozytu na bazie stopu implantacyjnego CoCrMo. Inżynieria Biomateriałów 2004, No 38-42

References

- [7] Pincuk L.S., Tsvetkova J.A. et.al.: A frictional material for endoprostheses with cartilage – simulating structure. Friction and Wear, 1995, No16
- [8] Hall R.M., Unsworth A.: Review Frictional in hip prostheses. Biomaterials, 1997, No 18 pp. 1017-1026
- [9] Unsworth A., Hall R.M. et.al.: Frictional resistance of new and explanted artificial hip joints. Wear, 1995, No 190 pp. 226-231
- [10] Charnley acetabular componets of the THACKRAY Firm
- [11] Aesculap: The modular ceramic bearing No 0-132-02
- [12] Aesculap: Plasmacup SC No 0-147
- [13] Modular cup system RingLoc, Firm BIOMET-MERCK, 2000
- [14] Metal on metal articulation firm BIOMET-MERCK FLH 094
- [15] <http://www.mathysmedical.com>
- [16] AVANTAGE ACETABULUM SYSTEM, Firma BIOMED, www.biomet.fr

WPŁYW ZASTOSOWANYCH PŁYNÓW DO ZARABIANIA PROSZKU O SKŁADZIE: α TCP-DCPD NA WŁAŚCIWOŚCI FIZYCZNE I BIOZGODNOŚĆ OTRZYMYWANYCH CEMENTÓW KOSTNYCH

JOANNA KARAS^{*}, STANISŁAW PIELKA^{**}, DANUTA PALUCH^{**},
LIDIA CIOŁEK^{*}, STANISŁAW TRACZYK^{*}

^{*}INSTYTUT SZKŁA I CERAMIKI, ZAKŁAD BIOCERAMIKI
^{**}ZAKŁAD CHIRURGII EKSPERYMENTALNEJ I BADANIA BIOMATERIAŁÓW, AKADEMIA MEDYCZNA WE WROCŁAWIU
E-MAIL: BIOCERAMIKA@NEOSTRADA.PL

Streszczenie

Praca przedstawia wyniki badań cementów wapniowofosforanowych otrzymanych z komponentu o składzie α TCP-DCPD i płynów do jego zarabiania w postaci wody lub wodnych roztworów polimerów naturalnych lub innych substancji organicznych. Określono właściwości fizyczne cementów jak czas wiązania, wytrzymałość na ściskanie, jak i oceniono ich zarabialność, podatność na iniekcję i integralność w SBF. Przeprowadzono badania cytotoxycności w bezpośrednim kontakcie z fibroblastami mysimi. Wykazano istotny wpływ płynów na właściwości fizyczne i biozgodność otrzymanych cementów.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),241-245]

Wprowadzenie

Konieczność zastąpienia utraconej tkanki kostnej z powodu chorób układu kostnego takich jak reumatyzm i osteoporoza oraz tworzenia się cyst i nowotworów lub też urazów, wymaga stosowania materiałów syntetycznych. Przedmiotem szczególnego zastosowania są cementy wapniowofosforanowe, które łączą wysoką biozgodność i bioaktywność z możliwością szczelnego wypełnienia ubytków o nieregularnych kształtach [1,2,3].

W ISiC opracowano szereg cementów wapniowofosforanowych otrzymanych na bazie fosforanów krystalicznych

INFLUENCE OF LIQUIDS USED IN MIXING α TCP-DCPD POWDER ON PHYSICAL PROPERTIES AND BIOCOMPATIBILITY OF THE OBTAINED BONE CEMENTS

JOANNA KARAS^{*}, STANISŁAW PIELKA^{**}, DANUTA PALUCH^{**},
LIDIA CIOŁEK^{*}, STANISŁAW TRACZYK^{*}

^{*}INSTITUTE OF GLASS AND CERAMICS, DEPARTMENT OF BIOCERAMICS,

^{**} DEPARTMENT OF EXPERIMENTAL SURGERY AND BIOMATERIALS RESEARCH, MEDICAL UNIVERSITY IN WROCLAW
BIOCERAMIKA@NEOSTRADA.PL

Abstract

The paper presents results of research on calcium-phosphate cements obtained from α TCP-DCPD component and liquids used in cement mixing, such as water or aqueous solutions of natural polymers or other organic substances. Physical properties of cements such as: setting time, compressive strength have been determined and also their workability, injectability and integrity in SBF. Analysis of cytotoxicity in immediate contact with mouse fibroblasts has been performed. It was demonstrated that liquids significantly affect physical properties and biocompatibility of the obtained cements.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),241-245]

Introduction

In case of replacement of tissue lost as a result of the skeletal system illnesses, such as rheumatism and osteoporosis, and in case of cysts and tumours or injuries, it is necessary to use synthetic materials. Application of calcium phosphate cements is of significant importance as they combine biocompatibility and bioactivity with the possibility to fill tightly irregularly shaped defects [1,2,3]. In ISiC many calcium-phosphate cements were obtained on the basis of crystalline phosphates, produced in high-temperature processes, as well as in precipitation from aqueous solutions. From among many cements developed from various powder components and with different liquids applied, we have cho-

uzyskanych w procesach wysokotemperaturowych, jak i w procesach strącania z roztworów wodnych. Spośród wielu cementów opracowanych z różnych komponentów proszkowych, jak i przy zastosowaniu różnych płynów wybrano osiem, które zostały poddane badaniom cytotoksyczności w Akademii Medycznej we Wrocławiu. Większość badanych cementów nie wykazywała działania cytotoksycznego na fibroblasty mysie 3T3 Balb/C zarówno po 24 h, 48h, jak po 72h. Natomiast cement C otrzymany z komponentu α -TCP-DCPD zarabianego roztworem wodnym cytrynianu sodu wykazywał po 72h słabe do umiarkowanego działanie cytotoksyczne. Celem prezentowanych badań była ocena możliwości poprawy biogodności cementu uzyskanego z w/w komponentu poprzez zastosowanie jako płynu do jego zarabiania wody lub wodnych roztworów polimerów naturalnych jak i wodnych roztworów innych substancji organicznych pochodzenia naturalnego.

Material

Przygotowano komponent proszkowy o składzie α -TCP 90% wag. i DCPD 10% wag. Głównym składnikiem była więc odmiana wysokotemperaturowa trójwapniowego fosforanu / α -TCP/ otrzymana w warunkach ISiC w wyniku spiekania mieszaniny CaHPO_4 i CaCO_3 w stosunku molowym Ca/P=1,5. W celu identyfikacji faz otrzymanego produktu spiekania wykonano badania dyfrakcji rentgenowskiej. Ponadto komponent proszkowy cementu zawierał dwuwapniowy fosforan dwuwodny /DCPD/.

Do zarabiania komponentu α -TCP-DCPD w proporcji 3g proszku/1ml płynu zostały zastosowane płyny przedstawione w Tabeli 1.

Metody

Czas wiązania cementów

Końcowy czas wiązania był mierzony techniką igłową w temperaturze 37°C.

Wytrzymałość na ściskanie cementów

Po związaniu cementy były przetrzymywane w roztworze Ringera. Po upływie 24 h próbki cementów o średnicy 4 mm i wysokości 6 mm poddano ściskaniu przy użyciu uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej (Lloyd LR 10K) z szybkością posuwu głowicy 0,7mm/min aż do zniszczenia. Wytrzymałość na ściskanie, C, w megapaskalach, obliczono stosując równanie:

$$C = \frac{4P}{\pi d^2}$$

gdzie: P - maksymalna przyłożona siła, w niutonach;
d - zmierzona średnica próbki, w milimetrach.

Ocena zarabialności cementów oraz ich podatność na iniekcję i integralność w środowisku symulowanego płynu fizjologicznego (SBF)

Ocenę podatności na podawanie iniekcyjne cementów wykonywano bezpośrednio po ich zarobieniu. Cementy przenoszono z płytki szklanej do odpowiednich strzykawek, z których wyłaczano je pod naciskiem ręcznym. Każdorazowo wyjściowa objętość cementów poddawanych iniekcji wynosiła 2 ml. Świeżo zarobione cementy podawano iniekcyjnie do szalek Petriego z płynem SBF i poddawano materiał ocenie wizualnej pod kątem integralności.

Badania cytotoksyczności metodą bezpośredniego kontaktu cementów z fibroblastami mysimi

Próbki do badania cytotoksyczności były przygotowane w formie krążków o średnicy 10mm i wysokości 1,5 mm

sen eight, which were subjected to cytotoxic evaluation in the Medical University in Wrocław. Most of the investigated cements did not show cytotoxic effect on 3T3 Balb/C mouse fibroblasts after 24, 48 and 72 hours. However, cement C, obtained from α -TCP-DCPD component mixed with aqueous solution of sodium citrate, showed after 72 hours weak to moderate cytotoxicity.

The aim of the presented research was to assess possibilities of improving biocompatibility of cement obtained from the above mentioned component, mixed with water or aqueous solutions of natural polymers and other organic substances.

Materials

A powder component was prepared, for which mass fraction of α -TCP was 90% and of DCPD - 10%. Thus, the main component was a high-temperature form of tricalcium phosphate (α -TCP), obtained in ISiC conditions as a result of sintering of CaHPO_4 and CaCO_3 in a Ca/P=1.5 mole ratio. To identify phases of the obtained product of sintering, an X-ray diffraction has been performed. In addition, the powder component of cement contained dicalcium phosphate dihydrate /DCPD/.

The liquids, which are presented in Table 1, have been used to mix component α -TCP-DCPD in 3g powder/1 ml liquid ratio.

Methods

Setting times of cements

The final setting time was measured by needle technique at a temperature of 37°C.

Compressive strength of cements

After setting, cements have been stored in Ringer's solution. After 24 hours cement samples of 4 mm in diameter and 6 mm high were compressed with mechanical testing apparatus (Lloyd LR 10K) with head feed rate of 0.7mm/min until fracture. Compressive strength, C in megapascals, has been calculated using the equation:

$$C = \frac{4P}{\pi d^2}$$

where: P - maximum applied force, in newtons

d - measured diameter of the sample, in millimetres

Evaluation of cement workability and injectability and integrity in simulated body fluid (SBF)

Evaluation of cement injectability was performed immediately after mixing them. Cements have been transferred from glass plates to appropriate syringes, from which they have been pumped out by hand. Every time, the initial volume of cements injected was 2 ml. Freshly mixed cements have been injected onto Petrie plates with SBF liquid and the integrity of the material was visually evaluated.

Test for cytotoxicity by means of immediate contact of cements with mouse fibroblasts

Samples for analysis of cytotoxicity were prepared as disks of 10 mm in diameter and 1.5 mm high and were subjected to radiation sterilization. Test was carried out in the Department of Experimental Surgery and Biomaterials Research MU in Wrocław in accordance with PN-EN ISO 10993 "Biological evaluation of medical products" Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. Test was carried out by means of immediate contact of cement samples with monolayer culture of cells, on 3T3/Balb mouse fibroblasts received from the Bank of Tissues of the Institute of Immunology and Experimental Therapy in

i poddane sterylizacji radiacyjnej. Badania wykonano w Zakładzie Chirurgii Eksperymentalnej i Badania Biomateriałów AM we Wrocławiu zgodnie z PN-EN ISO 10993 „Biologiczna ocena wyrobów medycznych. Part 5: Badania in vitro cytotoxyczności”. Badania przeprowadzono przez bezpośredni kontakt próbek cementów z jednowarstwową hodowlą komórek fibroblastów mysich 3T3/Balb otrzymanych z Banku Tkank, Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. Hodowlę komórek prowadzono w płynie hodowlanym Eagle'a z dodatkiem 10% inaktywowanej (30 min, 56°C) surowicy cielęcej oraz 100 j/ml penicyliny, 100µg/ml streptomycyny i 2mM/ml L-glutaminę w temp. 37°C, w atmosferze 5% CO₂. Komórki przeszczepiano stosując roztwór 0,05% trypsyny z 0,02% EDTA w PBS, o pH 7,2. Komórki fibroblastów mysich zostały założone na płytkach Petriego, w ilości 0,5 x 10⁶ na każdej. Po 24 godzinach komórki przykleiły się do podłoża i podzieliły, pokrywając około 60% powierzchni płytki. Po tym czasie pożywkę hodowlaną usunięto, a do każdego z naczyń dodano nowe medium. Na hodowle komórkowe nałożono próbki materiałów i inkubowano w temp. 37°C, w atmosferze 5% CO₂. Każdy materiał oceniano w 3 powtórzeniach. Zmiany ilościowe i morfologiczne, po kontakcie z badanymi materiałami oceniono po 24, 48 i 72 h w odwróconym mikroskopie kontrastowo-fazowym. W celu określenia ilości martwych komórek zastosowano barwienie błękitem trypanu. Stopień toksyczności badanych cementów oceniono na podstawie zmian w morfologii komórek, ich przeżywalności i zdolności do proliferacji.

Wyniki i dyskusja

Wyniki oznaczania czasu wiązania, wytrzymałości na ściskanie i ocenę zarabialności, podatności na iniekcję cementów otrzymanych na bazie komponentu proszkowego αTCP-DCPD do płynu SBF oraz integralności w tym środowisku przedstawia TABELA 1.

Na ich podstawie można stwierdzić, że zastosowanie roztworów wodnych alginianu sodu znacząco wydłuża czas wiązania otrzymanych cementów, co notuje się szczególnie dla tych zarabianych roztworami 0,3 - 0,5% m/m alginianu sodu. Jednocześnie notuje się spadek wytrzymałości na ściskanie. Podobną zależność, jeśli chodzi o wytrzymałość na ściskanie, zauważa się dla cementów zarabianych wodnymi roztworami dekstranu sodu. Im wyższe jest stężenie dekstranu sodu, tym niższa jest wytrzymałość na ściskanie. Tym

Wrocław. The cells had been kept in Eagle's medium with additional 10% of inactivated (30 min, 56°C) calf serum and 100j/ml of penicillin, 100 µg/ml of streptomycin and 2 mM/ml of L-glutamine at 37°C, in 5% concentration of CO₂. Cells had been grafted using 0.05% solution of trypsin with 0.02% EDTA in PBS, 7.2 pH. The cells of mouse fibroblasts had been put on Petrie plates, 0,5 x 10⁶ on each. After 24 hours cells stuck to the substrate and divided, covering approximately 60% of plate surface. After this time, culture medium was removed, and new medium was added to each plate. Samples of material were put on cells cultures and incubated at 37°C, in 5% concentration of CO₂. Evaluation of each material was performed 3 times.

Changes in quantity and morphology, after contact with the investigated materials, were evaluated after 24, 48 and 72 hours by reversed contrast phase microscope. To determine quantity of dead cells, we used trypan blue. Determination of toxicity level of the investigated cements was based on changes in cell morphology, their survival rate and proliferation abilities.

Results and discussion

Results of determination of setting time, compressive strength and evaluation of workability, injectability and integrity of cements based on powder component αTCP-DCPD in SBF liquid are presented in TABLE 1.

On the basis of the above results, it can be concluded that application of solutions of sodium alginate considerably extends setting time of the obtained cements, which was noted especially in case of these obtained from 0.3 - 0.5 % m/m solutions of sodium alginate. At the same time, decrease in compressive strength is observed. A similar relation, in regard to compressive strength, was noticed for cements mixed with aqueous solutions of sodium dextrane. The higher the concentration of sodium dextrane, the lower compressive strength. This time, however, the setting time is shorter. Comparable correlations, as with solutions of sodium alginate, were noted for cements mixed with aqueous solutions of chitosan lactate. Along with higher concentration of this substance in solution, longer setting time of cement and lower compressive strength is observed. Particular attention was given to cements obtained from 0.1% m/m aqueous solution of glycerine. Longer setting time was noted in comparison to cement mixed with water, and at the same time compressive strength stayed on the same level.

Rodzaj płynu Type of liquid	Stężenie, Concentration, [% m/m]	Czas wiązania Setting time, [min]	Wytrzymałość na ściskanie Compression resistance, [MPa]	Uwagi o zarabianiu i podawaniu iniekcijnym cementu do SBF Remarks to mixing and injection of cement into SBF.
Roztwór wodny cytrynianu Aqueous solution of sodium citrate	30,0	17'10"	40.18	Łatwa zarabialność i podatność na iniekcję Easy workability, after pumping out, washes out in SBF
H ₂ O		11'00"	53.50	Easy workability and injectability
Roztwory wodne alginianu sodu Aqueous solution of sodium alginate	0.50	>60'	41.76	Po wymieszaniu składników bardzo płynny cement After mixing of components, very easily flowing cement
	0.30	33'00"	46.01	Po wymieszaniu składników bardzo płynny cement After mixing of components very easily flowing cement
	0.05	25'10"	47.22	Cement nie rozlewa się / After mixing of components does not spread
	0.01	22'00"	54.75	Łatwa zarabialność / Easy workability
Roztwory wodne dekstranu sodu Aqueous solution of sodium dextrane	10,0	17'40"	40.70	Cement zbyt płynny / Very easy workability
	2,0	19'00"	48.84	Bardzo łatwa zarabialność / Easily flowing cement
	0.01	20'30"	61.50	Bardzo łatwa zarabialność i podatność na iniekcję / Very easy workability and injectability
Roztwory wodne mleczanu chitozanu Aqueous solution of chitosan lactate	0.050	45'00"	47.47	Łatwa zarabialność / Easy workability
	0.025	40'00"	57.90	Łatwa zarabialność / Easy workability
	0.010	25'20"	52.92	Łatwa zarabialność / Easy workability
Roztwory wodne gliceryny Aqueous solution of glycerine	1,0	34'00"	59.10	Łatwa zarabialność / Easy workability
	0.1	21'20"	54.93	Łatwa zarabialność i podatność na iniekcję / Easy workability and injectability

TABELA 1: Właściwości fizyczne cementów otrzymanych z komponentu αTCP-DCPD z różnymi płynami.
TABLE 1: Physical properties of cements obtained from αTCP-DCPD with different liquids.

Parametr Parameter	Czas badania, Test time, h	Symbol badanego materialu Tested material symbol					
		Cement C -w	Control	Cement C -0,1 gl	Control	Cement C	Control
Zmiany morfolo- giczne Changes in morphology	24	n. f.*	n. f.*	n. f.*	n. f.*	n. f.*	n. f.*
	48	n. f.*	n. f.*	strefa zahamowania wzrostu, komórki obkurczone wokół próbki Zone of inhibited growth, contracted cells around the sample	n. f.*	n. f.*	n. f.*
	72	n. f.*	n. f.*	strefa zahamowania wzrostu, komórki obkurczone wokół próbki Zone of inhibited growth, contracted cells around the sample	n. f.*	15% komórek obkurczonych, odklejonych od podłoża, aglutynacja 15% of cells contracted, coming unstuck off substrate, agglutination	n. f.*
Gęstość komórek Cell density ml x 10 ⁶	24	0,7±0,03	0,72±0,01	0,66±0,04	0,72±0,01	0,74±0,03	0,76±0,03
	48	0,86±0,02	1,1±0,17	0,76±0,01*	1,1±0,17	1,2±0,1	1,24±0,15
	72	1,1±0,1	1,3±0,1	0,98±0,04**	1,3±0,1	1,9±0,05	2,0±0,07
Komórki martwe Dead cells %	24	0	0	0	0	0	0
	48	1	0	5	0	2	0
	72	2	0	12	0	7	2
Stopień toksyczności Cytotoxicity	24	0	0	0	0	0	0
	48	0	0	1	0	0	0
	72	0	0	2	0	1/2	0

TABELA 2. Zmiany cytotoksyczne w hodowli fibroblastów mysich 3T3Balb/C – po 24, 48 i 72 h w kontakcie z próbkami cementów C -w, C-0,1 gl i C n.s. * - nie stwierdzono, # - istotna różnica dla p<0.05, ## - istotna różnica dla p<0.01
TABLE 2. Cytotoxic changes in 3T3Balb/C mouse fibroblasts culture – after 24, 48 and 72 hours in contact with cement C, C-w and C-0,1 gl samples. n. f.* - not found, # - significant difference for p<0.05, ## - significant difference for p<0.01

razem jednakże skraca się czas wiązania. Podobne korelacje jak z roztworami alginianu sodu stwierdzono dla cementów zarabianych roztworami wodnymi mleczanu chitozanu. Wraz ze wzrostem stężenia tej substancji w roztworze notuje się wydłużenie czasu wiązania cementów i spadek wytrzymałości na ściskanie. Szczególną uwagę zwrócono na cementy uzyskane z 0,1% m/m roztworem wodnym gliceryny. Zanotowano dłuższy czas wiązania w stosunku do cementu zarabianego wodą, a jednocześnie wytrzymałość na ściskanie utrzymuje się na wysokim poziomie.

Badaniom cytotoxyczności poddano cement zarabiany wodą oznaczony jako C-w i cement zarabiany wodnym roztworem gliceryny oznaczony jako C-0,1 gl. Istotnym czynnikiem decydującym o wyborze cementów do badań cytotoxyczności spośród wszystkich otrzymanych cementów był fakt uzyskania cementów o czasie wiązania akceptowalnym przez klinicystów, jak i o stosunkowo wysokiej wytrzymałości na ściskanie oraz akceptowalnym zachowaniu się tych cementów podczas zarabiania i iniekcji.

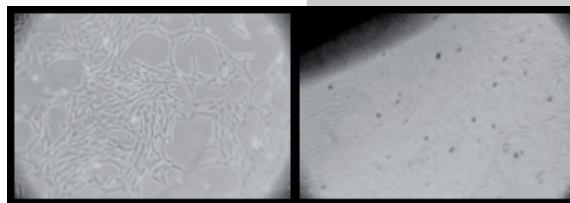
TABELA 2 i RYSUNKI 1-4 przedstawiają zmiany cytotoksyczne w hodowli fibroblastów mysich 3T3Balb/C – po 24, 48 i 72 h w kontakcie z próbkami cementów C -w, C-0,1 gl i C. W hodowlach po kontakcie 24h z cementem C -w, C-0,1 gl i C oraz w hodowlach kontrolnych komórki przylegały do podłoża i miały prawidłowe cechy morfologiczne. Nie stwierdzono aglutynacji, wakuolizacji, oddzielania od podłoża ani lizy błon komórkowych. Proliferaacja

Test for cytotoxicity was performed on cement mixed with water, labelled C-w, cement mixed with aqueous solution of glycerine 0,1% m/m labelled C-0,1 gl and cement C mixed with aqueous solution of sodium citrate 30 % m/m. The crucial factor, taken into account in choosing cements for cytotoxic test from among all the obtained cements, was the fact that we obtained cements with setting time acceptable to clinicians as well as with relatively high compression strength and acceptable workability and injectability.

TAB.2 and FIG.1-4 presented cytotoxic changes in 3T3Balb/C mouse fibroblasts culture – after 24, 48 and 72 hours in contact with cement C, C-w and C-0,1 gl samples.

In cultures after 24 hour contact with the C-w, C-0,1 gl and C cements, and in control cultures, cells stuck to the substrate and their morphology was proper. No agglutination, vacuolization, detachment from the substrate nor lysis of cell membranes was observed. Cell proliferation in cultures after contact with the examined cements, at all investigation times, was insignificantly lower than when compared to control cultures.

In cultures with the C cement, after 72 hours, contracted, detached from the substrate, agglutinated cells and higher percent of dead cells, when compared to the culture with the C-w cement, were found. Cytotoxicity after 72 hours was 1/2 for the cement C, whereas it was 0 for the cement C-w. Taking into account the above, it can be stated it was sensible to use distilled water – instead of sodium citrate solution – to mix powder consisting of α TCP-DCPD.



RYS.1. Kontrola hodowli fibroblastów mysich 3T3 Balb/C po 48 h.
FIG.1. Control culture of 3T3 Balb/C mouse fibroblasts after 48 h.

RYS.2. Hodowla fibroblastów mysich 3T3 Balb/C po kontakcie 48 h z cementem C w bezpośrednim kontakcie z próbką. Widoczne drobiny cementu.
FIG.2. Culture of 3T3 Balb/C mouse fibroblasts after contact 48 h with cement C in proximity of sample. Sample particles were visible.

komórek w hodowlach po kontakcie z badanymi cementami, we wszystkich czasach badania, była nieistotnie niższa w porównaniu do hodowli kontrolnych.

W hodowlach z cementem C po 72 h stwierdzono komórki obkurczone, odklejone od podłoża, które uległy aglutynacji oraz wyższy odsetek komórek martwych w porównaniu do hodowli z cementem C-w. Stopień toksyczności po 72 h dla cementu C wyniósł 1/2, zaś dla cementu C-w 0. Na tej podstawie można stwierdzić, że celowe było zastosowanie - zamiast roztworu cytrynianu sodu - wody destylowanej do zarabiania proszku o składzie α TCP-DCPD.

W przypadku cementu C - 0,1 gl w hodowlach po 24 h nie stwierdzono zmian morfologicznych komórek. Jednak po 48 i 72 h, w bezpośrednim kontakcie z próbką, stwierdzono toksyczne oddziaływanie cementu. Nieliczne komórki w sąsiedztwie materiału były obkurczone i odklejone od podłoża. Komórki w dalszej odległości od próbki nie wykazywały zmian morfologicznych. W płynie hodowlanym stwierdzono bardzo dużo drobin materiału. Proliferacja komórek w hodowlach po kontakcie z badanymi próbkami, we wszystkich czasach badania była niższa w porównaniu do kontroli, a gęstość komórek po 48 i 72 h była istotnie mniejsza od gęstości komórek w hodowlach kontrolnych. Po 48 h kontaktu z badanymi próbkami stwierdzono 5% komórek martwych, a 12% po 72 h. Na podstawie przedstawionych danych można stwierdzić, że zastosowanie roztworu gliceryny jako płynu do zarabiania cementu spowodowało nasilenie zmian cytotoksycznych.

Podsumowanie

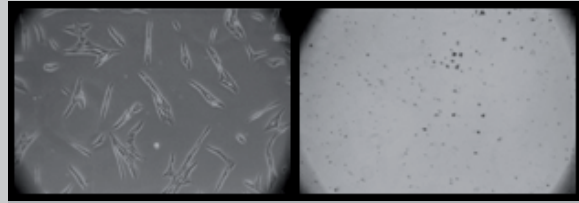
Przedstawione wyniki wykazują jak istotny wpływ poza składem komponentu proszkowego na właściwości uzyskiwanych cementów wapniowofosforanowych mają zastosowane płyny do ich zarabiania. Przeprowadzone badania cytotoksyczności wykazały, że zastosowanie dla cementu C-w, zamiast roztworu wodnego cytrynianu sodu 30% wag. jako płynu do zarabiania komponentu α TCP-DCPD wody ogranicza jego cytotoksyczność. Natomiast z roztworem wodnym gliceryny uzyskano cement C-0,1 gl o wyższej kohezji, lecz stwierdzono po 72 h kontaktu tego cementu z fibroblastami mysimi toksyczność stopnia 2. Poza poddanymi badaniami cementami C, C-w i C-0,1 gl. na szczególną uwagę zasługują cementy otrzymane z α TCP-DCPD z roztworami wodnymi alginianu sodu, dekstranu sodu lub mleczanu chitozanu. Celowe jest więc dalsze kontynuowanie tych badań dla wyboru cementów wapniowofosforanowych spełniających różne wymogi w zależności od ich przeznaczenia klinicznego.

Podziękowanie

Praca sfinansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (projekt nr 4 T08D 024 25).

Piśmiennictwo

- [1] Polesiński Z., karaś J. - Cementy kostne i stomatologiczne. Monografia PAN. Biocybernetyka i inżynieria biomedyczna 2000, Tom 4, 2003, 179-209.
[2] Karaś J., Ciołek L. - Badania cementów wapniowofosforanowych do wypełniania ubytków kości. Ortopedia Traumatologia Rehabilitacja, vol. 7, supl. 1, 2005, 198.



RYS.3. Hodowla fibroblastów mysich 3T3 Balb/C po kontakcie 48 h z cementem C-w.
FIG.3. Culture of 3T3 Balb/C mouse fibroblasts after contact 48 h with cement C-w.

RYS.4. Hodowla fibroblastów mysich 3T3 Balb/C po kontakcie 48 h z cementem C-0,1 gl w bezpośrednim kontakcie z próbką.

FIG.4. Culture of 3T3 Balb/C mouse fibroblasts after contact 48 h with cement C-0,1 gl in proximity of sample.

In case of the C-0,1 gl cement, no changes in morphology were observed in cultures after 24 hours. However, after 48 and 72 hours in immediate contact with the sample, the cement was found toxic. Few cells in proximity of material were contracted and detached from the substrate. More distant cells from the sample did not change their morphology. A lot of material particles were found in the nutrient mixture. Cell proliferation in cultures after contact with the investigated samples, at all investigation times, was lower when compared to control, and cell density after 48 and 72 hours was vitally lower than cell density in control cultures. After 48 hour contact with the examined sample, 5% of cells were dead, and 12% after 72 hours. Based on the presented data, it can be stated that application of glycerine solution as the mixing liquid, increased cytotoxic changes.

Summary

The presented results show how important, apart from composition of the powder component, is the influence of mixing liquids on properties of the obtained calcium phosphate cements. The conducted test for cytotoxicity showed that replacing 30% by mass aqueous solution of sodium citrate as mixing liquid for the α TCP-DCPD component with water, induces limited cytotoxicity of cement C-w. With an aqueous solution of glycerine, however, we obtained cement of higher cohesion, but of 2nd degree cytotoxicity, which was observed after 72 hour long contact of this cement with mouse fibroblasts. Apart from the examined C, C-w and C-0,1 gl cements, α TCP-DCPD based cements obtained with aqueous solutions of sodium alginate, sodium dextrane or chitosan lactate deserve special attention. Thus, further research for selection of calcium phosphate cements, meeting different requirements, which depend on their clinical intended use, are worth continuing.

Acknowledgement

Research financed by the Ministry of Science and Higher Education (project no. 4 T08D 024 25)

References

- [3] Wróbel E., Lewandowska-Szumieł M., Karaś J., Ciołek L. - New bone cements - preliminary biocompatibility studies in vitro, XV Conference on Biomaterials in Medicine and Veterinary Medicine, Rytko 2005, p. 43.