

BADANIE UWALNIANIA GENTAMYCYNY Z NOWEGO MULTIBLOKOWEGO POLI(ALIFATYCZNO/AROMATYCZNEGO-ESTRU) - BADANIA IN VIVO

PIOTR PROWANS

KLINIKA CHIRURGII OGÓLNEJ I CHIRURGII RĘKI PAM W SZCZECINIE

Słowa kluczowe: uwalnianie gentamycyny, kopolimery, nośnik antybiotyku.

[*Inżynieria Biomateriałów*, 38-43, (2004), 112-114]

Wstęp

Aktualne kierunki badań nad zabezpieczeniem wszczepianego materiału przed kolonizacją drobnoustrojami dotyczą modyfikacji powierzchni tworzywa oraz połączenia z czynnikiem antybakteryjnym [1]. Jednym z wykorzystywanych czynników antybakteryjnych są antybiotyki, które łączy się z tworzywem poprzez pokrycie jego powierzchni lub wprowadzenie do struktury materiału. Skuteczność ochrony zależy między innymi od ilości antybiotyku oraz sposobu jego uwalniania. Wydaje się, że kliniczny efekt można osiągnąć uzyskując w tkankach otaczających wszczepiony materiał, stężenie antybiotyku przekraczające minimalne stężenie hamujące wzrost drobnoustrojów (MIC) przez możliwie długi czas [2, 3]. Wcześniejsze badania nad uwalnianiem gentamycyny z nowego kopolimeru multiblokowego jakim jest poli(alifatyczno/aromatyczny-ester) (PED) sugerują, że może on pełnić rolę nośnika antybiotyku i uwalniać go zapewniając wymagane stężenie w jego otoczeniu [4].

Cel pracy

Celem pracy była ocena stężeń gentamycyny uwalniającej do tkanek z wszczepionego kopolimeru PED spęcznionego roztworem gentamycyny oraz w surowicy krwi szczu-
ra.

Materiał i metoda

Do badania wykorzystano kopolimer multiblokowy poli(alifatyczno/aromatyczny - ester) (PED) zawierający 26% wag. poli(tereftalanu butylenu) (PBT) - segment sztywny oraz 74% wag. dimeryzowanego kwasu tłuszczowego (DFA) - segment giętki [5, 6]. Do spęczniania użyto preparat handlowy gentamycyny firmy KRKA o stężeniu 40 mg/ml. Próbkę tworzywa w postaci żyłki o wymiarach 3 mm x 4 mm długości 10 mm spęczniano przez 12 godzin w temperaturze 24°C i suszono w powietrzu przez 15 min w temperaturze 37°C. Tworzywo wszczepiano szczurom rasy Wistar o masie 250 + 20 g w tkankę podskórną grzbietu. Łączna masa wszczepionego tworzywa jednemu zwierzęciu wynosiła 750 mg. Grupę kontrolną stanowiły zwierzęta otrzymujące gentamycynę domięśniowo w dawce 16 mg/kg.m.c., którym wszczepiono kopolimer PED nie zawierający antybiotyku. Wiel-

EVALUATION OF GENTAMYCIN RELEASE FROM NEW MULTIBLOCK POLI(ALIPHATIC/AROMATIC-ESTER) - IN VIVO INVESTIGATIONS

PIOTR PROWANS

GENERAL AND HAND SURGERY DEPARTMENT, POMERANIAN MEDICAL UNIVERSITY IN SZCZECIN

Keywords: gentamycin release, copolymer, antibiotic carrier

[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 112-114]

Introduction

Current research directions of protection of implanted material against microorganism's colonization concern surface modification of the material and binding with antibacterial agents [1]. One from used antibacterial agents is an antibiotic, which can be grafted on the surface or introduced into material structure. The effectiveness of the protection depends among others from the amount of antibiotic and the release pattern. It seems, that clinical effect could be archived by the concentration of antibiotic in tissues surrounding implanted material exceeding minimal inhibitory concentration (MIC) of antibiotic [2, 3]. Previous investigations concerning gentamycin release from new multiblock poly(aliphatic/aromatic-ester) copolymer (PED) suggest that the copolymer can be an efficient antibiotic carrier and can release it at the concentration which is required in surrounding tissue [4].

Aim of work

The aim of the work was evaluation of gentamycin concentration released from implanted copolymer saturated with gentamycin into surrounding tissue and in blood of experimental rats.

Material and method

Multiblock poly(aliphatic/aromatic-ester) (PED) copolymer containing 26 wt% of poly(butylene terephthalate) (PBT) - hard segment and 74 wt% dimer fatty acid (DFA) - soft segment was used in study [5, 6]. An antibiotic - gentamycin, in concentration of 40 mg/ml was used for impregnation of polymer. Sample of the material in form of threads with dimensions 3 mm x 4 mm x 10 mm were saturated for 12 hours in antibiotic at 24°C and next dried in air at 37°C. Impregnated polymeric samples were grafted into subcutaneous dorsal tissue of 250 + 20 g Wistar rats. Investigated animals got 750 mg of the total mass of impregnated polymer. Control animals received gentamycin intramuscularly in dose 8mg/kg of body weight and unsaturated copolymer was implanted subcutaneously. The amount of antibiotic passed i.m. was matched to the dose which could be released from impregnated copolymer. The amount of potentially released gentamycin from the copoly-

Czas po podaniu gentam. Time after application of gentam. [min.]	Stężenie gentamycyny w surowicy po wszczepieniu kopolimeru Gentamycin concentration in serum after implantation of saturated copolymer [mg/l]				Stężenie gentamycyny w surowicy po wstrzyknięciu domięśniowym Gentamycin concentration in serum after intramuscular injection [mg/l]			
	I	II	III	średnia	I	II	III	średnia
30	7,45	11,20	9,00	9,22	20,19	19,40	18,64	19,41
60	4,07	5,82	9,88	6,59	8,91	14,80	13,90	12,54
90	3,57	4,71	5,94	4,74	7,95	11,90	8,80	9,55
120	3,10	3,62	1,44	2,72	7,30	5,99	6,10	6,46
180	1,41	3,52	0,97	1,97	6,49	2,26	4,97	4,57
240	0,75	2,00	0,81	1,17	3,12	1,46	1,59	2,06

TABELA 1.
TABLE 1.

kość dawki podawanej domięśniowo dobrano tak, aby odpowiadała dawce gentamycyny, która może uwolnić się z wszczepionego kopolimeru. Ilość potencjalnie uwolnionej gentamycyny z kopolimeru określono szacunkowo na podstawie wcześniejszych badań in vitro dotyczących uwalniania gentamycyny [4]. Do badania pobierano krew żylną oraz fragmenty tkanek bezpośrednio otaczających wszczep oraz z miejsc odległych od wszczepu po 30, 60, 90, 120, 180 i 240 minutach. W każdym przedziale czasowym pobierano próbki krwi i tkanek od 3 różnych zwierząt. Pomiar stężenia gentamycyny prowadzono metodą immunofluorescencji polaryzacyjnej analizatorem Abbott TDX.

Wyniki

TABELA 1 przedstawia stężenia gentamycyny w surowicy krwi po wszczepieniu kopolimeru PED spęcznionego gentamycyną oraz po domięśniowym wstrzyknięciu antybiotyku.

TABELA 2 przedstawia stężenia gentamycyny uwolnionej z PED do tkanek bezpośrednio otaczających wszczepiony kopolimer.

Omówienie

Przeprowadzone doświadczenie wykazało, że stężenie gentamycyny w surowicy po wstrzyknięciu domięśniowym było dwukrotnie wyższe niż stężenie gentamycyny uwalnianej z PED. Może to wynikać z faktu, że wstrzykując gentamycynę domięśniowo, wprowadzano do tkanek jednorazowo całą dawkę. Natomiast gentamycyna, którą nasączono kopolimer PED uwalnia się powoli co uniemożliwia osiągnięcie tak wysokich stężeń. Dla zapewnienia skutecznej ochrony przed kolonizacją wszczepionego polimeru ważne jest, aby stężenie antybiotyku w bezpośrednim otoczeniu implantu przekraczało minimalne stężenie hamujące (MIC). Z przeprowadzonego doświadczenia wynika, że stężenia gentamycyny uwolnionej z PED do tkanki otaczającej polimer były większe niż w surowicy w pierwszych 30 min od wszczepienia/podania. Gwałtowne uwalnianie w pierwszych 30 min było także obserwowane w doświadczeniach in vitro. W dalszych przedziałach czasowych stężenie w tkankach uwolnionej z PED gentamycyny było porównywalne ze stężeniem w surowicy. Zachęcającym wynikiem było stwierdzenie, że w tkance po 4 godzinach stężenie gentamycyny przekraczało MIC. Zastosowana ocena metodą immunofluorescencji nie wykazała obecności gentamycyny w tkankach zwierząt, które otrzymały antybiotyk domięśniowo. Nie stwierdzono również obecności antybiotyku w tkankach odległych od miejsca wszczepienia kopolimeru PED spęcznionego gentamycyną. Otrzymane wyniki wskazują, że uwalnianie antybiotyku z protezy umożliwia uzyskanie wysokich stężeń w miejscu wszczepienia. Natomiast

Czas po podaniu gentam. Time after application of gentam. [min]	Stężenie gentamycyny w tkance otaczającej nasączony kopolimer PED Gentamycin concentration in tissue surrounding saturated copolymer implant [mg/g of tissue]			
	I	II	III	średnia
30	19,49	7,60	25,68	17,59
60	4,48	4,19	8,14	5,60
240	1,53	0,68	3,86	2,02

TABELA 2.
TABLE 2.

mer was evaluated based on previous study [4]. Samples of venous blood, tissues directly surrounding implant and tissues from implant distant places after 30, 60, 90, 120, 180 and 240 minutes were taken for the analysis. Samples of blood and tissues were taken from 3 different animals at every time interval. Measurement of gentamycin concentration was carried out with use of polarized immunofluorescence method on Abbott TDX apparatus.

Results

TABLE 1 presents gentamycin concentration in serum of blood after implanting PED copolymer saturated with gentamycin and after intramuscular injections.

TABLE 2 presents concentration of gentamycin released from PED into tissues directly surrounding impregnated copolymer.

Discussion

Our study showed that gentamycin concentration in serum after intramuscular injection was two times higher than concentration of gentamycin released from impregnated PED copolymer. This can result from the fact, that by the injection it is possible to deliver whole dose at once. And gentamycin from PED is released slowly what makes impossible to achieve so high concentrations as in a case of injections. To assure the effective protection against colonization of implanted material it is important to maintain the concentration of antibiotic in direct surrounding of the material at the level exceeding minimum inhibitory concentration (MIC). It was found during experiment, that concentration of gentamycin released from PED into surrounding tissue was higher than in serum in first 30 min from implantation. An intensive release in first 30 minutes was also observed in earlier in vitro experiment. In further time intervals concentration of gentamycin released from PED into tissues was comparable with concentration in serum. It is interesting to point out, that gentamycin concentration in tissue after 4 hours exceeded MIC. Moreover, the applied immunofluorescence method did not demonstrate presence of gentamycin in tissues animals which received antibiotic intramuscularly. No presence of antibiotic in tissues distant from the place of PED saturated implant was detected.

wysokie stężenia antybiotyku w surowicy krwi mogą nie zapewnić równie wysokiego stężenia w tkankach otaczających wszczep. Doświadczenia te wskazują więc, że potencjalnie najefektywniejszą ochronę przed kolonizacją drobnoustrojami może stanowić uwalnianie antybiotyku z wszczepionego polimeru oraz podanie go ogólnoustrojowo.

Podziękowania

Praca finansowana w ramach projektu KBN nr 4T09B 10822.

Piśmiennictwo

- [1] Pascual A.: Pathogenesis of catheter-related infections: lessons for new designs. *Clin Microbiol Infect.*, 8 (2002), 256-264.
 [2] Powels J.W., Spencer R.F., Lovering A.M.: Gentamicin release from old cement during revision hip arthroplasty. *J. Bone Joint Surg.*, 80 Br., (1998), 607-610.
 [3] Bielawski J.: Miejscowa aplikacja antybiotyków w chirurgii urazowo-oropedycznej. Materiały konferencji naukowo-szkoleniowej Sosnowka Górna 12-13 kwietnia 1991.

STRUKTURA POŁĄCZEŃ METAL-CERAMIKA W STOPACH DO NAPALANIA PORCELANY

MARIA RICHERT**, RAJMUND ORLICKI***

*AKADEMIA GÓRNICZO - HUTNICZA,
 WYDZIAŁ METALI NIEŻELAZNYCH,
 AL. MICKIEWICZA 30, 30?059 KRAKÓW, EMAIL:
 **ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA, KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNAWSTWA STOMATOLOGICZNEGO I BIOMATERIAŁÓW,
 41-900 BYTOM, PLAC AKADEMICKI 17
 ***WYŻSZA SZKOŁA INŻYNIERII DENTYSTYCZNEJ,
 43-450 USTROŃ, UL. SŁONECZNA 2

Streszczenie

W pracy przedstawiono badania, dotyczące połączenia metali do napalania porcelany z ceramiką. Obserwacje przeprowadzono na trzech stopach, w tym dwóch, o nazwie Viron i Remanium, powszechnie używanych w praktyce protetycznej oraz na nowym stopie o nazwie Rodent, wytworzonym na zlecenie Wyższej Szkoły Inżynierii Dentystycznej w Ustroń. Badania dotyczyły oceny jakości połączeń i porównania przylegania ceramiki na stopie Rodent w odniesieniu do pozostałych stopów. Wykonano pomiary mikrotwardości stopów i napalanych warstw ceramiki oraz przeprowadzono szczegółowe obserwacje mikrostruktury za pomocą technik mikroskopii optycznej, skaningowej i transmisyjnej mikroskopii elektronowej, z uwzględnieniem badań składu chemicznego w mikroobszarach.

[*Inżynieria Biomateriałów*, 38-43, (2004), 114-117]

Our results show, that release of antibiotic from impregnated copolymer implant makes possible to obtain high concentrations at the implantation site. However, high concentrations of antibiotic in blood serum could not provide high concentrations of gentamycin into surrounding tissues at the same level. This experiment show that potentially the most effective protection to microorganisms colonization could be achieved by antibiotic released from implanted and impregnated/saturated PED copolymer as well as by antibiotic delivered systemically.

Acknowledgements

This work was financially supported by the project of KBN No. 4T09B 10822.

References

- [4] Prowans P.: Release of Gentamycin from new copolymer - in vitro study, *Inżynieria Biomateriałów*, 34 (2004) 38-41.
 [5] El Fray M., Słonecki J., Broza G.: Krystalizacja fazy stopionej segmentowych aromatyczno-alifatycznych kopolimerów (estrowo-estrowo) na podstawie poli(tereftalanu butylenu) i dimeryzowanego kwasu tłuszczowego, *Polimery*, 42 (1997) 35-39.
 [6] El Fray M., Słonecki J.: Multiblock copolymers consisting of polyester and polyaliphatic blocks, *Angew. Makromol. Chem.*, 234 (1996) 103-117.

STRUCTURE OF METAL-CERAMICS JOINS IN PORCELAIN COATING ALLOYS

MARIA RICHERT*, RAJMUND ORLICKI**

*AGH, UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
 DEPARTMENT OF NON FERROUS METALS,
 AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW,
 **MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA,
 CHAIR AND DEPARTMENT OF STOMATOLOGY AND BIOMATERIALS,
 41-900 BYTOM, PLAC AKADEMICKI 17
 ***HIGHER SCHOOL OF DENTISTRY,
 43-450 USTROŃ, UL. SŁONECZNA 2

Abstract

Investigations, concerning the joints of metals with ceramics for porcelain coating alloys, are presented. The observations were carried out on two alloys: Viron and Remanium, commonly used in prosthetics and on a new alloy named Rodent, made to order of the Higher School of Dentistry in Ustroń. The investigations were intended to evaluate the quality of the joints and compare the adhesion of ceramics on the Rodent alloy with reference to the other alloy. The microhardness of the alloys and the heating layers of ceramics were measured. Using the optical, scanning and transmission electron microscopy there were carried out detailed observations of the microstructure with additional investigations of the microstructure with additional investigations of the chemical composition in the microareas.

[*Engineering of Biomaterials*, 38-43, (2004), 114-117]