

tej z niemodyfikowanych filmów PSU i kompozytów. Działanie plazmy również prowadzi do zahamowania adsorpcji, lecz efekt ten jest mniejszy niż w przypadku modyfikacji fotochemicznej. Stwierdzono nieznaczne obniżenie ilości albuminy zaadsorbowanej na siatkach PP modyfikowanych plazmowo. Widma UV albuminy usuniętej z próbek PSU (PSU niemodyfikowany, PSU naświetlony przez 12 godzin i PSU poddany działaniu plazmy H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) przedstawiono na RYS. 8; wartości absorbancji przy maksimum pasma albuminy (280 nm) dla badanych materiałów zebrano w TABELI 1.

Na podstawie wcześniejszych badań [6] stwierdzono, że kąty zwilżania folii PSU i kompozytów (PP+PSU) przez wodę znacząco malały po naświetlaniu promieniowaniem UV i plazmą H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (PSU/irr: 44°, PSU/pl: 63°), co świadczy o zmniejszeniu hydrofobowości modyfikowanego polisulfonu i jest zgodne z wykazanim w tej pracy zahamowaniem adsorpcji albuminy na modyfikowanych powierzchniach.

## Wnioski

Na podstawie otrzymanych wyników można wnioskować, że naświetlanie polisulfonu promieniowaniem UV absorbowanym przez ten polimer (254 i 265 nm) w obecności tlenu molekularnego jak również poddanie polisulfonu działaniu plazmy H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zmienia powierzchnię polimeru czyniąc ją bardziej hydrofilową dzięki utworzeniu polarnych grup zawierających tlen (karbonylowe, hydroksylowe). Modyfikacja fotochemiczna i plazmowa powodują obniżenie zdolności polisulfonu do adsorpcji albuminy. Reasumując można stwierdzić, że modyfikacja pod wpływem promieniowania UV i plazmy H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> może stanowić metodę zmian właściwości badanego materiału w zależności od potrzeb aplikacyjnych.

## WPŁYW CHEMICZNEJ I FIZYCZNEJ MODYFIKACJI POWIERZCHNI POLISULFONU NA REAKCJE KOMÓRKOWE IN VITRO

B. CZAJKOWSKA\*, J. KOWAL\*\*, M. BŁAŻEWICZ\*\*\* M. PTAK\*, M. BOBEK\*, J. CIEŚLIK\*

\*KATEDRA IMMUNOLOGII COL.MED. U.J

\*\*WYDZIAŁ CHEMII U.J

\*\*\* WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI AGH

*[Inżynieria Biomateriałów, 38-43, (2004), 157-160]*

Polisulfon od wielu lat stosowany jest w różnych dziedzinach medycyny, zarówno do produkcji sprzętu medycznego, membran do dializy, jak i różnego rodzaju implantów. Tę różnorodność zastosowań PSU zawdzięcza swoim właściwościom fizykochemicznym i ogólnie uznanej biouzgodności. Nowoczesne podejście do zastosowań biomateriałów nie uznaje uniwersalnego pojęcia biouzgodności, a odnosi je raczej do miejsca anatomicznego zastosowania lub też (w przypadku sprzętu medycznego) zaproponowanego przeznaczenia. Istnieje więc możliwość doboru materiału o

clude that the irradiation of polysulfone with the light absorbed by the polymer (254 and 265 nm) in the presence of molecular oxygen as well as the treatment with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> plasma change polysulfone surface making it more hydrophilic due to the introduction of polar groups containing oxygen (carbonyl, hydroxyl). These modifications resulted in the diminished ability of polysulfone to adsorb albumin. Polypropylene surgical mesh is resistant to the UV irradiation and plasma H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Thus the photochemical modification and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> plasma treatment can be considered as methods changing the properties of an investigated biomaterial accordingly to a particular application.

## References

- [1] S. Savariar, G. S. Underwood, E. M. Dickinson, P. J. Schielke, A. S. Hay, Desalination 144 (2002) 15.
- [2] J. J. W. A van Loon, J. Bierkens, J. Maes, G. E. R. Schoesters, D. Ooms, B. Z. Doulabi, J. P. Veldhuijzen, J. Biomed. Mat. Res. 29 (1995) 1155.
- [3] M. Ulbricht, M. Riedel, U. Marx, J. Membr. Sci. 120 (1996) 239
- [4] C. N. R. Rao, in: Ultra - Violet and Visible spectroscopy. Chemical applications, Butterworths, London 1967.
- [5] L. J. Bellany, in: Infra-red spectra of complex molecules, John Wiley and Sons, New York 1975.
- [6] J. Kowal, B. Czajkowska, E. Bulwan, M. Błażewicz, E. Pamuła, "Modification of polysulfone by means of UV irradiation and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> plasma treatment", poster, European Cells&Materials Conference ECM V, Davos, June 2004.

## THE IMPACT OF CHEMICAL AND PHYSICAL MODIFICATION OF POLYSULFONE SURFACE ON CELLULAR REACTIONS IN VITRO

B. CZAJKOWSKA\*, J. KOWAL\*\*, M. BŁAŻEWICZ\*\*\*, M. PTAK\*, M. BOBEK\*, J. CIEŚLIK\*

\*DEPT. OF IMMUNOLOGY, COLL. MED., JAGIELLONIAN UNIVERSITY

\*\*FACULTY OF CHEMISTRY JAGIELLONIAN UNIVERSITY

\*\*\*FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

*[Engineering of Biomaterials, 38-43, (2004), 157-160]*

Polysulfone has for years been used in various medical applications in both manufacture of medical equipment, dialysis films and implants of various types. This wide variety of PSU applications is due to its physico-chemical properties and generally recognised biocompatibility. In the present

optymalnym oddziaływaniu na żywy organizm, przy założeniu, że znane jest miejsce jego zastosowania. Pierwszy kontakt płynów ustrojowych i komórek ma miejsce na powierzchni materiału i oddziaływania te zależą zarówno od chemicznych jak i fizycznych właściwości powierzchni. Ogólnie panuje pogląd, że powierzchnie hydrofobowe silniej wiążą białka niż powierzchnie hydrofilowe, które z kolei sprzyjają adhezji komórek. W warunkach in vivo adhezja komórek zachodzi równocześnie z adsorpcją białek z płynów ustrojowych i ustala się pewna dynamiczna równowaga, uzależniona od czynników zarówno materiałowych jak, i ustrojowych. Pewnym przybliżeniem reakcji organizmu na różnego typu modyfikacje powierzchni PSU są podjęte przez nas badania in vitro. W badaniach tych sprawdzaliśmy reakcję wybranych komórek na różnego typu modyfikacje powierzchni PSU. Zastosowane modyfikacje miały na celu zasymulowanie zmian powierzchni, jakie mogą zachodzić na PSU podczas sterylizacji (oddziaływanie promieniowania UV i plazmy  $H_2O_2$ ) lub, gdy PSU występuje w kompozycie z innym materiałem (połączenie z siatką polipropylenową i włóknami węglowymi). Reakcje komórkowe oceniano poprzez oznaczenie żywotności makrofagów, fibroblastów i osteoblastów i ilości zsyntetyzowanego kolagenu i IL-1 pod wpływem zmodyfikowanej lub nie powierzchni PSU w porównaniu do kontrolnych hodowli.

## Materiał i metody

Folie z PSU (0,2 g PSU ,Aldrich Chemical Comp.Inc. rozpuszczano w 10 cm<sup>3</sup> dichlorometanu, wlewano na płytkę szklaną o wymiarach 10x10 cm i suszono folie z PSU naświetlane U.V (naświetlanie prowadzono lampą rtęciową średniociśnieniową przez 12 godz.  $\lambda=254$  nm) folie z PSU poddane działaniu plazmy  $H_2O_2$  przez 40 min kompozyt PSU z siatką PP kompozyt PSU z włóknami C ludzka linia makrofagowa KMA ludzka linia fibroblastyczna HS-5 ludzka linia osteoblastyczna hFOB 1,19

Hodowle komórkowe prowadzono w 12-dółkowych płytkach, w których na dnie umieszczano krążki z badanymi materiałami o średnicy 20mm i dodawano 2ml zawiesiny komórek

Stosowano następujące stężenia komórek i media hodowlane:

Mf  $2 \times 10^5$  komórek /ml medium (RPMI , 0,1mM hipoksantyna, 0,016mM tymidyna, 0,05mM merkaptioetanol, 10% FCS) Fb  $2 \times 10^4$  komórek/ml medium (RPMI + 10% FCS)

osteo  $2 \times 10^4$  komórek / ml medium ( Dulbecco's modified Eagle's medium nutrient mixture F-12 HAM, 0,3 mg/ ml G-418, 10% FCS )

Żywotność komórek po 7 dniach hodowli oznaczano zaadoptowaną do potrzeb eksperymentu metodą przy użyciu MTT.

Stężenie kolagenu typu I i IL-1 wykonano metodą ELISA.

## Wyniki i dyskusja

Wpływ promieniowania UV i plazmy  $H_2O_2$  na żywotność komórek przedstawiono na RYS. 1 i 2.

Zarówno promieniowanie UV, jak i działanie plazmy  $H_2O_2$  powoduje zmianę charakteru powierzchni PSU z hydrofobowej w kierunku hydrofilowej, co zostało wykazane przez pomiary widm i kątów zwilżania. Jak widać z RYS. 1 i 2 tego typu modyfikacja powierzchni powoduje obniżenie żywotności fibroblastów i osteoblastów, natomiast makrofagi nie reagują na nią.

approach to biomaterials there is no universal notion of biocompatibility; instead, it is referred to the place of anatomic application, or (in case of equipment) its proposed use. It is possible then to select a material of optimal effect on a living organism, assuming the place of its application is known. Body fluids and cells first get in contact on the material surface and these interactions depend on both chemical and physical properties of the surface. Hydrophobic surfaces are generally thought to bind proteins stronger than hydrophilic surfaces which facilitate cellular adhesion. In in vivo environment cellular adhesion takes place simultaneously with protein adsorption from body fluids, and a certain dynamic equilibrium occurs, dependent on both material and organism factors. The aim of our in vitro experiments was an attempt to explain the organism's reactions to different types of PSU surface modifications. The purpose of our modifications was to simulate surface changes that can take place on the PSU during sterilization (impact of UV irradiation and plasma  $H_2O_2$ ), when PSU is used in a composite material (with polypropylene mesh and carbofibres). The cells' reactions were evaluated by determination of the vitality of macrophages, fibroblasts and osteoblasts, and the amount of synthesized collagen and IL-1 under the influence of modified or non-modified PSU surface against the control cultures.

## Material and methods

PSU foils (0,2 g PSU, Aldrich Chemical Comp. Inc., were dissolved in 10 cm<sup>3</sup> of dichloromethane, poured on a glass plate of 10x10 cm in size and dried.

PSU foils UV irradiated (by a mean pressure mercury discharge lamp over 12 hours.  $\lambda = 254$  nm)

PSU foils treated with plasma  $H_2O_2$  over 40 min

PSU composite with PP mesh

PSU composite with C fibres

human macrophagous line KMA

human fibroblastic line HS-5

human osteoblastic line hFOB 1, 19

Cell cultures were run in 12-well plates at the bottom of which disks of the tested materials 20 mm in diameter were placed and 2 ml suspension of cells was added.

The following concentrations of cells and culture media were used:

Mf  $2 \times 10^5$  of cells/ml medium (RPMI, 0,1 mM hypoxanthine, 0,016mM thymidine, 0,05mM mercaptoethanol, 10% FCS)

Fb  $2 \times 10^4$  of cells/ml medium (RPMI+10% FCS)

Osteo  $2 \times 10^4$  of cells/ml medium (Dulbecco's modified Eagle's medium nutrient mixture F-12 HAM, 0,3 mg/ml G-418, 10% FCS)

Cell viability after seven-day culture was determined by a method, adapted for the present research, using MTT.

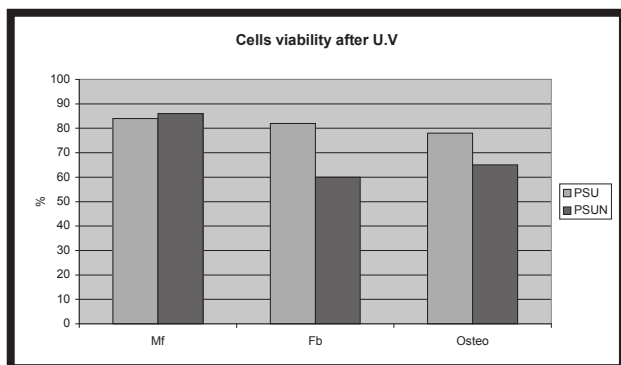
Collagen I and IL-1 concentration was performed by ELISA tests.

## Results and discussion

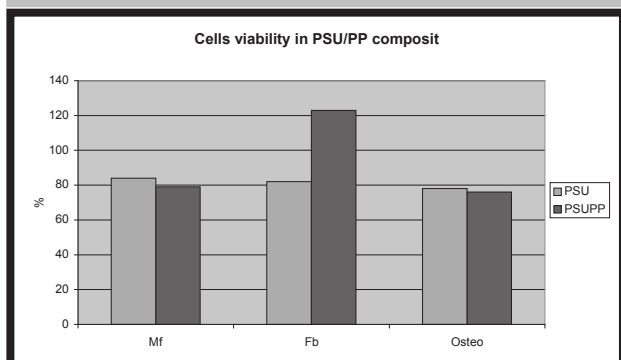
The impact of UV irradiation and plasma  $H_2O_2$  on cell viability has been shown in FIGS. 1 and 2.

Both UV irradiation and reaction of plasma  $H_2O_2$  change the PSU surface character from hydrophobic toward hydrophilic, which has been proved by measurement of spectra and wetting angle. As seen in FIGS. 1 and 2, this type of surface modification lowers the viability of fibroblasts and osteoblasts, while macrophages remain unaffected.

]The effect of polypropylene mesh or carbofibres placed



RYS. 1.  
FIG. 1.



RYS. 3.  
FIG. 3.

Wpływ siatki polipropylenowej lub włókien węglowych umieszczonych pod powierzchnią PSU na żywotność przedstawiono na RYS. 3 i 4.

Różne rodzaje komórek rozpoznają w sposób odmienny substancję umieszczoną pod powierzchnią PSU; osteoblasty wyraźnie reagują obniżoną żywotnością na zmianę powierzchni PSU spowodowaną zarówno włóknami węglowymi jak i siatką PP.

W celu zbadania wpływu zastosowanych modyfikacji na zdolności metaboliczne komórek oznaczono ilość wydzielonego przez fibroblasty i osteoblasty kolagenu typu I.

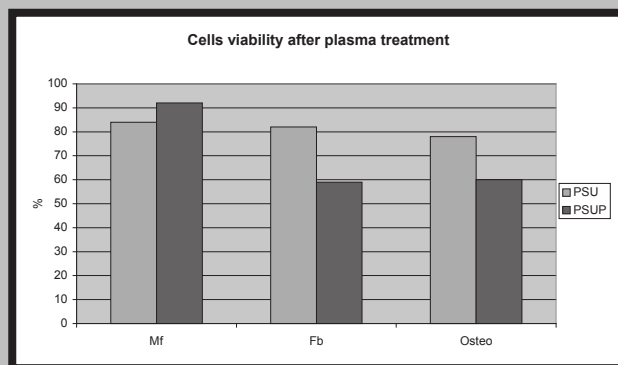
Całkowitą ilość kolagenu oznaczoną w supernatantach po 7-dniowej hodowli przedstawiono na RYS. 5. Jak widać z RYS. 5 modyfikacja PSU poprzez działanie promieniowania UV i plazmą  $H_2O_2$  nie wpływa istotnie na ilość wyprodukowanego kolagenu przez oba rodzaje komórek, natomiast siatka PP i włókna węglowe zmieniają ilość wyprodukowanego i wydzielonego na zewnątrz komórki kolagenu.

Oznaczenie całkowitej ilości kolagenu wyprodukowanego przez komórki na badanych powierzchniach wnosi istotne informacje praktyczne dotyczące np. doboru metod sterylizacji czy też dogodnego miejsca anatomicznego zastosowania. Jednak całkowita ilość wydzielonego kolagenu nie obrazuje wpływu modyfikacji na zdolność do jego syntezy, ponieważ nie uwzględnia żywotności komórek, która na ogół jest obniżona na zmodyfikowanym materiale. Uwzględ-

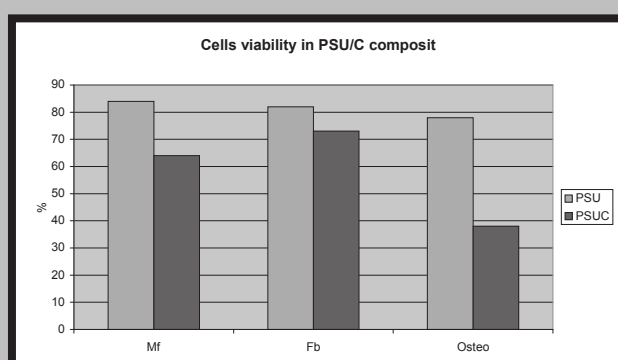
	Fb viability [%]	Collagen [ng/ml]	Collagen* [ng/ml]	Osteo. viability [%]	Collagen [ng/ml]	Collagen* [ng/ml]
PSU	82	148	-----	78	134	---
PSUN	60	147	108	65	107	111
PSUP	59	139	106	60	126	103
PSUPP	123	196	222	76	159	130
PSUC	73	115	130	38	187	65

TABELA I.  
TABLE I.

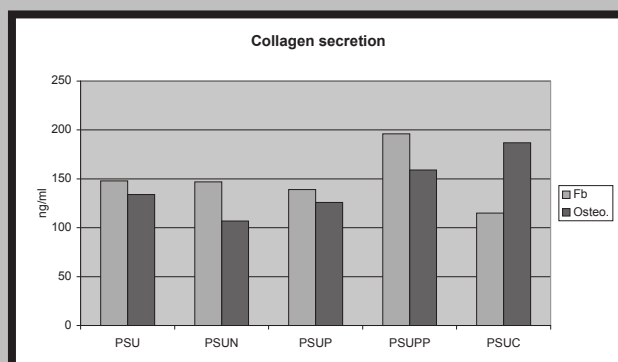
TABELA II.  
TABLE II.



RYS. 2.  
FIG. 2.



RYS. 4.  
FIG. 4.



RYS. 5.  
FIG. 5.

under the PSU surface on the viability has been shown in FIGS. 3 and 4.

Different types of cells recognise the substance placed under the PSU surface in different ways; osteoblasts clearly react to the PSU change caused by both carbofibres and PP mesh with lowered viability.

In order to check the effect of applied modifications on cells' metabolic abilities the amount of collagen I secreted by fibroblasts and osteoblasts was determined.

The total amount of collagen determined in supernatant (liquids) after a seven-day culture has been shown in FIG. 5. As can be observed, PSU modification by UV irradiation and plasma  $H_2O_2$  treatment does not significantly affect the

control [Fb]	126
PSU	109
PSUN	100
PSUP	159
PSUPP	141

TABELA III.  
TABLE III.

niając żywotność komórek wyliczono wartości teoretyczne (collagen\*), które zestawiono w TABELACH 1 i 2 w porównaniu do wartości oznaczonych.

Jak widać z RYS. 5 i TABEL fibroblasty i osteoblasty odmiennie reagują na zastosowane modyfikacje PSU. Fibroblasty rozpoznają modyfikację samej powierzchni spowodowaną promieniowaniem UV i działaniem plazmy  $H_2O_2$ , osteoblasty reagują przede wszystkim na substancję umieszczoną pod powierzchnią, t.j. w tym przypadku na siatkę PP i włókno węglowe.

Poziom wydzielanej IL-1 oznaczono w celu sprawdzenia czy badane modyfikacje indukują wzrost syntezy tej interleukiny w fibroblastach. Wyniki w pg/ml przedstawiono w TABELI 3.

Z uzyskanych wyników widać, że żadna z zastosowanych modyfikacji nie powoduje wzrostu syntezy IL-1, co pośrednio można interpretować jako brak własności prozapalnych tych materiałów.

## Wnioski

Stwierdzono odmienną reakcję fibroblastów i osteoblastów na różne modyfikacje powierzchni PSU. Fibroblasty wzmagają syntezę kolagenu pod wpływem promieniowania UV i działania plazmy  $H_2O_2$  na powierzchnię PSU. Osteoblasty nie reagują na tego typu modyfikację, natomiast wzmagają syntezę kolagenu pod wpływem umieszczonych pod powierzchnią włókien węglowych lub siatki polipropylenowej. Uzyskane dane mogą być zastosowane przy doborze metod sterylizacji a także przy planowaniu materiałów kompozytowych do różnych zastosowań.

amount of collagen produced by both types of cells, while PP mesh and carbofibres do change the amount of collage produced and secreted by the cells. Determination of the total amount of collagen produced by cells on the tested surface gives important practical information as to e.g. choice of sterilization method, or a convenient place for anatomic application. However, the total amount of secreted collagen does not represent the effect of modification on the capability for its synthesis, because it does not consider the cell vitality, which is generally lowered on the modified material. Considering the cell viability theoretical values have been calculated (collagen\*) and tabulated in TABLES 1 and II, in comparison with the determined values.

As can be seen in FIG. 5 and the TABLES, fibroblasts and osteoblasts react differently to the PSU modifications. Fibroblasts recognise the modification of the surface itself, caused by UV irradiation and plasma  $H_2O_2$  action, while osteoblasts react first of all to the substance placed under the surface, i.e. PP mesh and carbofibre in this case.

The level of secreted IL-1 was determined in order to check whether the tested modifications induce the increase of interleucine synthesis in fibroblasts. The results in pg/ml have been shown in TABLE 3.

From the results it follows that none of the modifications used causes an increase of IL-1 synthesis, which indirectly can be interpreted as lack of inflammatory properties of these materials.

## Conclusions

Different reactions of fibroblasts and osteoblasts to different PSU surface modifications have been observed. Fibroblasts induce collagen synthesis under the influence of UV irradiation and plasma  $H_2O_2$  action on PSU surface. Osteoblasts remain unaffected by this type of modification, however they induce collagen synthesis under the influence of carbofibres or polypropylene mesh placed under the surface. The obtained data can be used in the selection of sterilization methods and design of composite materials for various applications.

## KOROZJA ELEKTROCHEMICZNA STOPU Ti6Al4V Z WARSTWAMI NANOKRYSTALICZNEGO DIAMENTU

GRZEGORZ BOGUSŁAWSKI\*, TADEUSZ BŁASZCZYK\*\*, HENRYK SCHOLL\*\*

\* POLITECHNIKA ŁÓDZKA, WYDZIAŁ MECHANICZNY, INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ, ZAKŁAD INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ, 90-924 ŁÓDŹ, STEFANOWSKIEGO 1/15;

\*\* UNIWERSYTET ŁÓDZKI, WYDZIAŁ FIZYKI I CHEMII, KATEDRA CHEMII OGÓLNEJ I NIEORGANICZNEJ, 90-136 ŁÓDŹ, NARUTOWICZA 68;

### Streszczenie

*Prezentowano wyniki badań korozyjnych w roztworze Tyrode'a powierzchni próbek wykonanych z Ti6Al4V i pokrytych warstwą nanokrystalicznego diamentu (NCD). Cechą szczególną próbek był ich kształt - próbki posiadały w środku otwory nieprzelotowe o trzech różnych średnicach. Stwierdzono, że na wszystkich próbkach występuje korozja wżerowa, jednak miejsce powstawania wżerów jest różne - dla próbek*

## ELECTROCHEMICAL CORROSION OF Ti6Al4V ALLOY WITH NANOCRYSTALLINE DIAMOND COATINGS

GRZEGORZ BOGUSŁAWSKI\*, TADEUSZ BŁASZCZYK\*\*, HENRYK SCHOLL\*\*

\*TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING, DIVISION OF BIOMEDICAL ENGINEERING, 90-924 ŁÓDŹ, STEFANOWSKIEGO 1/15

\*\*UNIVERSITY OF LODZ, FACULTY OF PHYSICS AND CHEMISTRY, DEPARTMENT OF GENERAL AND INORGANIC CHEMISTRY, 90-136 ŁÓDŹ, NARUTOWICZA 68

### Abstract

*Experimental results of corrosive tests in Tyrode's*