

- [1] Ozonek W.: Implanty wykonane z metalu z pamięcią kształtu w zabiegach ortopedycznych. Kwartalnik Ortopedyczny, 1993, 3, [74-77]
- [2] Ramotowski W., Granowski., Bielawski J.: Osteosynteza metodą ZESPOL. Teoria i praktyka kliniczna. PZWL Warszawa 1988.
- [3] Ramotowski W.: POLFIX System stabilizacyjno-manipulacyjny. Wydawnictwo DIG Warszawa 1994.

- [4] Tylman D., Dziak A.: Traumatologia narządu ruchu. Wydawnictwo Lekarskie PZWL Warszawa 1996, t.1, [1-50]
- [5] Kotela I., Bołtuć W., Bryła A.: Wstępna ocena kliniczna śrub i skobli, Mat.III Symp. „Inżynieria Ortopedyczna i Protetyczna, Białystok, 2001.
- [6] Kotela I., Chłopek J.: Kompozytowe klamry węglowe w chirurgii urazowo-ortopedycznej, Inżynieria Biomateriałów, 17-19, (2001), 79.

## ANALIZA ŚREDNIEGO STOPNIA SZAROŚCI W PROCESIE BIODEGRADACJI WŁÓKNIN WĘGLOWYCH

EWA ZEMBALA - NOŻYŃSKA\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*, DANIEL SABAT\*, KRZYSZTOF DĄBRÓWKA\*, TADEUSZ CIEŚLIK\*\*\*\*, ZBIGNIEW SZCZUREK\*

\* KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII  
ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA, ZABRZE

\*\* KATEDRA I ZAKŁAD FARMAKOLOGII,  
ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA, ZABRZE

\*\*\* ŚLĄSKIE CENTRUM CHOROŚ SERCA, ZABRZE

\*\*\*\* I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ,  
ŚLĄSKA AKADEMIA MEDYCZNA, ZABRZE

### Streszczenie

#### Wprowadzenie

Badania biomateriałów obejmują trzy główne kierunki: tolerancję tkankową, biogodność i biodegradację. Celem badania była ocena biodegradacji trzech rodzajów chemicznie modyfikowanej włókniny węglowej z użyciem średniego stopnia szarości jako obiektywnego wskaźnika procesu biodegradacji.

#### Material i metodyka

Wykorzystano fragmenty tkankowe pobrane od 48 królików, którym wykonano ubytki kostne o średnicy 6 mm w bocznej powierzchni żuchwy. Ubytki wypełniano: 1. włókniną węglową z grupami kwasowymi i zasadowymi na powierzchni, 2. włókniną węglową z grupami kwasowymi na powierzchni, 3. włókniną pokrytą pirowęgłem i zawierającą grupy zasadowe na powierzchni. Tkanki pobierano w 1, 2, 3, 6, 9, 12, 24 i 52 tygodniu od wszczęcia. Średni stopień szarości mierzono w preparatach histologicznych wykorzystując system analizy obrazu (QUANTIMET 500+).

#### Wyniki

Największe zmiany średniego stopnia szarości wykazano w przypadku włókniny z grupami kwasowymi i zasadowymi (39% wzrost średniej szarości), następnie dla włókniny pokrytej pirowęgłem (9.7% spadek średniej szarości) zaś włóknina zawierająca grupy kwasowe na powierzchni wykazywała wzrost (około 13.5% wartości początkowych). Śred-

## THE MEAN GREYNESS LEVEL ANALYSIS IN THE ASSESSMENT OF THE BIODEGRADATION PROCESS OF CARBON CLOTHS

EWA ZEMBALA - NOŻYŃSKA\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*, DANIEL SABAT\*, KRZYSZTOF DĄBRÓWKA\*, TADEUSZ CIEŚLIK\*\*\*\*, ZBIGNIEW SZCZUREK\*

\* DEPARTMENT OF PATHOLOGY,  
SILESIA MEDICAL ACADEMY, ZABRZE,

\*\* DEPARTMENT OF PHARMACOLOGY,  
SILESIA MEDICAL ACADEMY, ZABRZE,

\*\*\* SILESIA CENTRE FOR HEART DISEASES, ZABRZE,

\*\*\*\* I CLINIC OF MAXILLO-FACIAL SURGERY,  
SILESIA MEDICAL ACADEMY, ZABRZE

### Abstract

#### Introduction

Biomaterial studies comprise three main aspects: the tissue tolerance and performance (biocompliance and biocompatibility), and biodegradation. The aim of the study was the assessment of the biodegradation of three kinds of chemically modified carbon cloth using mean greyness level as an objective factor of biodegradation process.

#### Material and Methods

In this study the tissue fragments were used, harvested from 48 rabbits after preparing the 6 mm diameter bone defects in lateral surface of the mandible. Bone defects were filled with: 1. carbon cloth with acidic and basic groups on the surface, 2. Carbon cloth with acidic groups on the surface, 3. carbon cloth coated with pyrocarbon, with basic groups on the surface. The tissue specimens were harvested at 1, 2, 3, 6, 9, 12, 24 and 52 week after the carbon cloth implantation. The mean grey level was measured on the histological slides using the image analysis system (QUANTIMET 500+).

#### Results

The highest changes of the mean grey level presented the cloth with basic and acidic groups (39% mean grey level increase), then carbon cloth coated with pyrocarbon (9.7% mean grey level decrease) but the carbon cloth with acidic groups showed the increase (circa 13.5% of the initial value). The mean grey level showed the positive significant correlation

ni stopień szarości korelował znamienne dodatnio z czasem obserwacji.

#### Wnioski

1. Biodegradacja różnych rodzajów włókniny węglowej wskazuje wahania średniego stopnia szarości, zależy to od chemicznej modyfikacji jej powierzchni. 2. Włóknina węglowa z kwasowymi i zasadowymi grupami posiada najwyższy stopień biodegradacji.

**Słowa kluczowe:** biomateriały- węgiel - biodegradacja- średni stopień szarości

## Wprowadzenie

Badania medyczne biomateriałów węglowych trwają od lat osiemdziesiątych. Wyprodukowane formy węgla syntetycznego na drodze pirolizy związków organicznych wprowadzono do badań doświadczalnych na zwierzętach, a następnie wykorzystano w weterynarii i medycynie.

Biomateriały węglowe wykorzystywane w medycynie obejmują stosunkowo rozległą grupę postaci strukturalnych i form węgla, przede wszystkim formy włókniste węgla w tym włókniny, włókna węglowe, tkaniny węglowe i tzw. roving czyli przędzę lub plecionkę węglową [1]. Inną postacią jest forma szklista węgla, znajdująca zastosowanie w okulistyce jak i stomatologii [2, 3, 4].

Materiały węglowe znajdują zastosowanie w ortopedii do rekonstrukcji zewnątrzstawowych [5], zszycia uszkodzeń ścięgien [2, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15], wypełniania ubytków kostnych [16, 17], ubytków chrząstki stawowej [18] oraz stanowią materiały do zespożeń [19, 20, 21, 22, 23]. Wykorzystywane są też do wzmacniania ścian brzucha w przypadkach nawracających przepuklin [24], oraz jako nośniki substancji biologicznie aktywnych stymulujących określone procesy w tkance kostnej, chrzęstnej czy w tkance łącznej ścięgien i więzadeł [25, 26, 27, 28].

Włóknisty biomateriał węglowy można poddać modyfikacji powierzchniowej. W przypadku karbonizacji w atmosferze argonu dochodzi do powstania tak zwanej włókniny pierwszego typu, posiadającej powierzchnię o budowie charakterystycznej dla niskokarbonizowanego węgla, otrzymanego na drodze pirolizy surowców organicznych. Na powierzchni włókien tego rodzaju włókniny występują nieznaczne ilości tlenu i wodoru, które łącząc się ze szkieletem węglowym w narożach i na krawędziach form krystalicznych tworzą wiązania o charakterze -C-O-C- i -C-OH [29, 30].

Włókniną typu drugiego, jest włóknina poddana po procesie karbonizacji w atmosferze argonu działaniu utleniającemu wrzącego kwasu azotowego przez okres godziny. Modyfikacja powierzchni włókien węglowych polega na powstawaniu grup karboksylowych COOH, hydroksylowych OH, karbonylowych C=O a także bezwodnikowych i laktanowych [29,30]. Warto nadmienić, że wzrostowi zawartości tlenu i zmianom struktury włókien towarzyszy znaczne zwiększenie odkształcalności i blisko dziesięciokrotne zwiększenie wytrzymałości na zerwanie [29,31].

W przypadku umieszczenia włókniny węglowej w atmosferze metanu i kontynuowania procesu pirolizy w atmosferze tego gazu dochodzi do powstania włókniny typu trzeciego, pokrycia powierzchni włókien drobinami izotropowego węgla pirolitycznego, cechującego się biologiczną inercyjnością.

Badania własne wskazały na wahania średniego stopnia szarości szwu chirurgicznego wykonanego z nici węglowej podczas szesnastotygodniowego procesu biodegradacji, przy czym nić węglowa podlegała pracy mechanicznej podczas żucia [32]. Powstaje więc pytanie, czy w procesie biodegradacji włókniny węglowej nie pracującej mechanicznie również będzie dochodziło do zmian gęstości optycznej włókien oraz czy modyfikacja chemiczna po-

with the time of the observation.

#### Conclusion

1. The biodegradation of the various kinds of the carbon cloth shows the oscillations of the mean grey level, it depends of the chemical modifications of its surfaces. 2. The carbon cloth type I with the acidic and basic surface radicals possess the highest rate of the biodegradation.

**Key words:** biomaterials - carbon - biodegradation - mean grey level

## Introduction

Medical investigations of carbon biomaterials have been going on since the 80s. The forms of synthetic carbon produced through pyrolysis of organic compounds were introduced into the experimental studies on animals and next, were used in veterinary science and medicine.

Carbon biomaterials used in medicine consist of a relatively vast group of structural forms and shapes of carbon, mostly carbon fibrous forms including roving, carbon threads, carbon cloth [1]. Another form is a glassy carbon applied in ophthalmology and dentistry [2, 3, 4].

Carbon materials are applied in orthopedics for extra-articular reconstructions [5], suturing tendon injuries [2, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15], filling bone defects [16, 17], filling articular cartilage defects [18] and as materials for anastomosing [19, 20, 21, 22, 23]. They are also used to strengthen abdominal walls in cases of recurrent hernia [24] and as carriers of biologically active substances stimulating reparative processes in bone, cartilaginous or connective tissue of tendons and ligaments [25, 26, 27, 28].

Fibrous carbon biomaterial can be modified superficially. In a case of carbonization in the argon atmosphere, a so-called carbon cloth of the first type with the surface characteristic for the low-carbonized carbon received through pyrolysis of organic substances was produced. On the surface of the fibers of this type of carbon cloth minor amounts of oxygen and hydrogen occur; they get connected to the carbon skeleton in the corners and on the edges of crystal forms they create bindings of -C-O-C and -C-OH type [29,30].

The carbon cloth of the second type is a cloth exposed, after a carbonization process in an argon atmosphere, to the oxidizing process in a boiling nitric acid for an hour. Modification of the carbon fiber surface depends on formation of carboxyl COOH, hydroxyl OH, carbonyl C=O, and also anhydride and lacton groups [29, 30]. It should be mentioned that the increase of carbon content and changes in carbon fibers are accompanied by significant increase of durability and almost 10-time increase of breaking strength [29,31].

In case of placing carbon cloth in the atmosphere of methane and continuing a pyrolysis process in the atmosphere of this gas, carbon cloth of the type is produced and the surface gets covered with coating of isotropic pyrolytic carbon characterized by biological inertness.

Own studies showed fluctuations of the mean grey level of surgical suture made of carbon suture during the sixteen-week biodegradation process, while carbon thread was exposed to mechanical work during chewing [32]. Therefore, there is a question if during a biodegradation process of carbon cloth not working mechanically, the changes of fiber optical density will occur and whether chemical modification of the surface, namely, biological reactivity of the carbon cloth determines changes of this value.

wierzchni, a więc biologiczna reaktywność włókniny warunkuje zmiany tej wartości.

## Materiał i metoda

Do pomiarów morfometrycznych wykorzystano archiwalny materiał histopatologiczny materiał doświadczalny. Podczas eksperymentu 64 dojrzałym królikom, mieszańcom obu płci, o wadze od 2600 do 3200g wykonywano ubytki kostne o średnicy 6 mm i głębokości 3 mm, w bocznych powierzchniach żuchwy. Ubytki wypełniano trzema rodzajami włókniny węglowej:

1. włókniną typu I - pokrytą na powierzchni grupami o charakterze kwasowym i zasadowym, nie poddana obróbce chemicznej (grupa doświadczalna I),
2. włókniną typu II - pokrytą na powierzchni grupami karboksylowymi, laktonowymi i karbonylowymi o charakterze kwasowym (grupa doświadczalna II),
3. włókniną typu III - pokrytą na powierzchni warstwami pirowęgla o charakterze zasadowym (grupa doświadczalna III).

Zabieg wykonywano w znieczuleniu ogólnym ketaminą z zachowaniem jałowości. Ranę zaszywano warstwowo szwami z Dexonu. W okresie pooperacyjnym nie podawano zwierzętom żadnych leków. Zwierzęta poddawano eutanazji po 1, 2, 3, 6, 9, 12, 24, 52 tygodniu od przeprowadzenia zabiegu. Wycinki tkanki kostnej, które utrwalało w 10% roztworze zobojętnionej formaliny, odwapniono elektrolitycznie w płynie Romeisa, po czym poddawano typowej obróbce histologicznej. Skrawki parafinowe o grubości 5  $\mu\text{m}$ , barwiono hematoksyliną i eozyną. Badanie morfometryczne obejmowało dostrzegalne fragmenty włókniny węglowej w postaci włókien węglowych widocznych w preparatach mikroskopowych. Średni stopień szarości oceniano wykorzystując system analizy obrazu QUANTIMET 500+ COLOR OPTION firmy LEICA. Wyniki poddano analizie statystycznej (STATISTICA '99 v.5.5) wykorzystując test Shapiro - Wilka celem oceny rozkładu wartości, oraz test Manna-Whitney. Analiza obejmowała porównanie wewnątrzgrupowe kolejnych tygodni wewnątrz grupy doświadczalnej, jak i porównanie międzygrupowe pomiędzy sobą wartości morfometrycznych tych samych punktów pomiarowych (tygodni). Korelację średniego stopnia szarości z czasem obserwacji oceniono wykorzystując test Spearmana.

## Wyniki

Charakter rozkładu średniego stopnia szarości we wszystkich grupach jak również we wszystkich okresach badawczych nie wykazywał zgodności z rozkładem normalnym ( $p < 0.01$ , test Shapiro-Wilka) Wartości średniej arytmetycznej jak i odchylenia standardowego zestawione w tabelach posiadają charakter wyłącznie orientacyjny, istotną statystycznie wartością przeciętną jest mediana. Wyniki zestawiono w TAB. 1.

Średni stopień szarości wykazywał znamienne różnice pomiędzy 1 a 2 i 9 a 52 tygodniem w przypadku włókniny I grupy doświadczalnej. W trzeciej grupie różnice dotyczyły szerszego zakresu czasowego wykazując znamienność pomiędzy 1 a 6, 9 a 12 i 24 a 52 tygodniem, natomiast w grupie drugiej znamienne różnice obejmowały cały okres od 2 do 52 tygodnia (TAB. 2). Włóknina pokryta grupami o charakterze zarówno kwasowym jak i zasadowym wykazywała wzrost średniego stopnia szarości o 39%. Włóknina pokryta grupami kwasowymi ujawniała średniego stopnia szarości o spadek 9.7%, zaś włóknina pokryta warstwami pirowęgla o charakterze zasadowym wykazywała wzrost tej wartości o około 13,5% w stosunku do wartości

## Material and method

Archival histopathological experimental material was used for morphometric measurements. During the experiment bone lesions of 6 mm diameter and 3mm deep in the lateral surfaces of mandible were performed in 64 fully grown rabbits of mixed sex and breed and weight of 2600 - 3500g. The defects were filled with three types of carbon cloth:

1. carbon cloth of type I - the surface covered with groups of acidic and basic character, without chemical treatment (study group I)
2. carbon cloth of type II - the surface covered with carboxyl, lacton and carbonyl groups of acidic character (study group II)
3. carbon cloth of type III - surface covered with the layers of pyrocarbon of basic character (study group III).

The surgery was performed in general ketamin anesthesia with sterility. The wound was sutured with Dexon. No medicines were administered to the animals in the postoperative period. The animals were subjected to euthanasia after 1, 2, 3, 6, 9, 12, 24, 52 weeks after the surgery. The specimens of bone tissue fixed in 10% neutralized formalin were decalcified by electrolysis in Romeis fluid; next they were subjected to typical histological treatment. 5 $\mu\text{m}$ -paraffin sections were stained with hematoxylin and eosin. Morphometric examination included perceptible fragments of carbon textile in the form of carbon fibers visible in microscopic preparations. Mean greyness level was evaluated with the image analysis system QUANTIMET 500+ COLOR OPTION, by LEICA. The results were processed statistically (STATISTICA 99 v.5.5) using Shapiro-Wilk test to evaluate the distribution as well as Mann-Whitney's test was used for two group comparisons. The analysis included comparison of the subsequent weeks within the study group and also the comparison among groups of the morphometric values of the same measurement points (weeks). Correlation of the mean greyness level with time was evaluated with Spearman test.

## Results

Character of the mean greyness level distribution in all groups and in all study periods differs from the normal distribution ( $p < 0.01$ , Shapiro-Wilk test). For this reason the only statistically significant average value is a median. The results are presented in TAB. 1.

Mean greyness level showed significant differences between 1 and 2, 9 and 52 weeks in case of carbon cloth of the I study group. In the third group the differences referred to the wider time range showing significance between 1 and 6, 9 and 12, 24 and 52 weeks, however in the second group the significant differences included the whole period from 2 to 52 week (TAB. 2). The carbon cloth covered with groups of both acidic and basic character showed an increase of mean greyness level of 39%. The carbon cloth covered with acidic groups showed a decrease of mean greyness level of 9.7%, while the carbon cloth covered with the pyrocarbon layers of basic character showed an increase of this value of 13.5% as compared to the initial value (1st observation period).

The comparisons among groups (TAB. 3) show that the mean greyness level distinguished group I from group III in the period from 3 to 52 week. Group II and II were also significantly distinguished by this value from 6 to 52 week. Group I was different from group II only in some time periods, in the 1, 3, 12 and 52 week.

The correlation of the mean greyness level during the observation was in all groups positive and statistically

wyjściowej (I okresu obserwacyjnego).

Porównania międzygrupowe (TAB. 3) wskazują, że średni stopień szarości różnicował grupę I od III pomiędzy 3 a 52 tygodniem. Grupa II od III wykazywała także znamienne zróżnicowanie tej wartości pomiędzy 6 a 52 tygodniem. Grupa I od II różniła się jednak tylko w niektórych punktach czasowych, 1, 3, 12 i 52 tygodniu.

Korelacja średniego stopnia szarości z czasem trwania obserwacji była we wszystkich grupach dodatnia i wysoce znamienne statystycznie (TAB. 4).

Najsilniejszą korelację wykazano w grupie doświadczalnej I, następnie kolejno w grupie III i II.

Kierunek zależności korelacyjnych wskazuje, że najwyraźniejsze zmniejszenie się gęstości optycznej czyli rozrzedzenie struktury włókien węglowych wchodzących w skład włókniny zachodzi w grupie I. Najsłabsza zależność rozrzedzenia gęstości optycznej od czasu stwierdzana jest z kolei w II grupie.

## Dyskusja

Wzrost interwencji chirurgicznych w zakresie traumatologii oraz chirurgii szczękowej spowodował zainteresowanie biomateriałami węglowymi jako materiałami szewnymi, płytkami do zespołów czy materiałem wypełniającym ubytki kostne. Między innymi wykazano przydatność nici węglowych i włókniny węglowej jako produktów o wartościowych parametrach biologicznych jak i wytrzymałościowych. [6, 16, 19, 29, 33]. Proces wstawiania się implantów węglowych obejmuje pojawianie się młodej tkanki łącznej, reakcję w postaci obecności nacieków zapalnych, ostatecznie zaś biodegradację, rozpad i fragmentację włókien węglowych [34]. Omówienie wyników obserwacji własnych można przedstawić w oparciu o wyniki nielicznych prac z zakresu patologii biomateriałów jak również odwołując się do literatury światowej, w której nie znaleziono prac zbliżonych bądź przedstawiających wyniki badań morfometrycznych.

Doniesienie Dąbrówki i wsp [32] ukazujące zmienność średniego stopnia szarości w procesie biodegradacji nici węglowej w tkance podśluzówkowej może służyć porównaniu badanej wartości. Powyższe badania obejmowały jedynie jeden rodzaj nici węglowej, nie poddanej modyfikacji chemicznej czyli zawierającej zarówno grupy kwasowe jak i zasadowe na swojej powierzchni i implantowanej w okolice tkanek miękkich na okres 16 tygodni. Badaniu poddano nić pracującą w tkance biologicznej umiejscowioną na pograniczu mięśni i tkanki łącznej i pracującą pod wpływem sił rozciągających. W przypadku włókniny wypełniającej ubytek kostny wydaje się słuszniejsze natomiast wskazywanie na dominację procesów biologicznych. Porównanie średniego stopnia szarości odzwierciedlającego gęstość optyczną a więc pośrednio gęstość struktury włókniny wykazało wartości odróżniające grupę włóknin od nici węglowej [32]. Wartość ta wahała się w przypadku nici od 0 do 231 zaś, mediana reprezentująca wartość przeciętną przyjmowała zakres od 35 do 167, z kolei opisana dynamika wahań to spadek w II tygodniu, wzrost aż do IV tygodnia, spadek w VI, postępujący wzrost aż do XII tygodnia i spadek w XVI tygodniu. Badanie włóknin węglowych wskazywały na zdecydowanie większe zakresy zmienności średniego stopnia szarości, przy czym dla włókniny grupy I zakres ten obejmował wartości od 5 do 57 przy wahanii mediany od 25 do 35; dla włókniny typu drugiego przedział zmienności obejmował wartości od 1.8 do 57 (mediana od 24 do 32), a w przypadku włókniny typu III zakres zmienności zawierał się pomiędzy 0.8 do 56. (mediana od 24 do 32). We wszystkich więc przypadkach włóknina nie wykonująca pracy mechanicznej wykazywała wahania gęstości w przeszło czterokrotnie mniejszym zakresie

highly significant (TAB. 4).

The strongest correlation was shown in the I study group and then consecutively in group III and II.

The direction of correlative dependence points that the most distinct decrease of optical density, namely dilution of the carbon fiber structure being a component of the carbon cloth occurs in group I. The weakest dependence of changes in optical density during the time of observation is found in group II.

## Discussion

An increase of surgical interventions in traumatology and maxillary surgery caused a growing interest in carbon biomaterials as suture materials, plates for joining or for filling bone defects. The usefulness of carbon suture and carbon cloth as products of valuable biologic parameters and of high endurance were also presented [6, 16, 19, 29, 33]. The process of in-healing carbon implants included the appearance of new connective tissue, reaction in the form of inflammatory infiltrations, and finally, biodegradation, disintegration and fragmentation of carbon fibers [34]. The discussion on the observation results can be presented in relation to a few papers on pathology of biomaterials as well as referring to the world literature where similar studies or results presenting morphometric studies were not found.

Work of Dąbrówka et al. [32] showing changeability of mean grey level in the biodegradation process of carbon suture in the submucous tissue can be used for comparing a studied value. The above mentioned study used only one type of carbon suture not subjected to chemical modification, namely, consisting of acidic and basic groups on its surface and implanted in the area of soft tissue for 16 weeks. The subject of the study was a suture working in a biologic tissue located on the border of muscles and connective tissue and working under the influence of stretching power. In case of carbon cloth filling a bone defect, the domination of biologic process should be underlined. Comparison of the mean greyness level reflecting optical density, that is indirectly density of carbon cloth structure showed the values varying a group of carbon textiles from carbon suture [32]. This value fluctuated in case of suture from 0 to 231, however, median representing the average value was within the range from 35 to 167, while the described dynamics of fluctuation meant a decrease in II week, increase till IV week, progressive increase till XII week and a decrease in XVI week. The study of carbon cloth showed a definitely smaller ranges of changeability of the mean greyness level, while for the carbon cloth of group I the range consisted of values from 5 to 57 with median fluctuations from 25 to 35; for the carbon cloth of type III the range of changeability was within 0.8 and 56 (median from 24 to 32). In all cases carbon cloth not performing any mechanical work showed the density fluctuations of the four-time smaller variation range and with a smaller average value. In the above mentioned article [32] the significance of difference among groups in all observation periods was shown, while our own calculations showed significant differences of mean greyness levels between 1 and 2, 9 and 52 week for the carbon cloth of the I study group, in group II the significant differences included the period from 2 to 52 week, while in group III the differences referred to the bigger time range showing significance between 1 and 6, 9 and 12, 24 and 52 week. Group I differed from group III significantly in a mean greyness level in the period between 3 and 52 week. Group I and II showed also significant diversity in this value between 6 and 52 week. The differences occurred only in certain time periods; 1, 3, 12, and 52 week of observation.

GROUP I - GRUPA I						
Week Tydzień	Number of measurements Liczba pomiarów	Median Mediana	Minimal value Wartość najmniejsza	Maximal value Wartość największa	Lower quartile Kwartył dolny	Upper quartile Kwartył górny
1	450	25.250	14.636	53.75	22.371	28.744
2	423	27.322	7.428	57.40	22.520	34.142
3	256	27.997	5.600	51.80	24.157	34.250
6	671	26.909	5.400	52.80	23.146	32.894
9	986	26.833	7.200	56.75	23.192	31.375
12	553	28.540	5.400	56.162	24.839	32.962
24	689	30.787	5.000	55.60	25.714	37.50
52	619	35.1865	12.100	57.00	28.506	41.496
GROUP II - GRUPA II						
1	360	27.268	7.055	52.714	23.442	32.00
2	342	26.7395	1.80	57.10	23.872	30.726
3	623	25.044	4.00	50.555	22.00	28.181
6	245	28.375	3.75	52.40	24.233	34.933
9	618	26.126	10.384	52.10	23.551	30.470
12	461	30.250	1.571	57.27	24.833	35.745
24	629	31.600	5.666	56.50	26.500	39.325
52	415	24.636	4.487	56.60	21.849	28.370
GROUP III - GRUPA III						
1	310	24.907	2.833	46.555	21.96	28.608
2	483	27.578	0.80	51.80	24.188	33.00
3	466	25.3295	7.20	55.978	22.714	29.015
6	360	30.769	5.285	55.76	25.257	38.625
9	458	29.1065	7.571	51.833	25.181	36.333
12	334	31.1665	11.375	100	26.379	40.2025
24	649	33.76	9.727	54.10	26.78	42.555
52	703	28.272	8.09	50.857	24.00	35.217

TABELA 1. Statystyka opisowa średniego stopnia szarości włókien węglowych w kolejnych tygodniach obserwacji.

TABLE 1. Descriptive statistics of the mean greyness level in consecutive weeks of the observation.

Week Tydzień	MEDIAN Mediana			Compared weeks Tygodnie porównywane	Probability Prawdopodobieństwo		
	Group Grupa I	Group Grupa II	Group Grupa III		Group Grupa I	Group Grupa II	Group Grupa III
1	25.25	27.268	24.907	1 vs 2	0.0023	0.515	0.0000001
2	27.322	26.739	27.578	2 vs 3	0.21	0.000003	0.000017
3	27.997	25.044	25.329	3 vs 6	0.151	0.0000001	0.0000001
6	26.909	28.375	30.769	6 vs 9	0.65	0.00145	0.153
9	26.833	26.126	29.106	9 vs 12	0.0037	0.0000001	0.00043
12	28.54	30.25	31.166	12 vs 24	0.00004	0.002274	0.0618
24	30.777	31.60	33.76	24 vs 52	0.0000001	0.001	0.0000001
52	35.186	24.636	28.272				

TABELA 2. Porównania średniego stopnia szarości włókien węglowych w poszczególnych tygodniach obserwacji.

TABLE 2. Comparison of carbon fibre mean greyness level in subsequent weeks of the observation.

zmienności jak i wyraźnie mniejszej wartości przeciętnej. We wzmiankowanym już doniesieniu [32] wykazano również znamienność różnic międzygrupowych we wszystkich okresach obserwacyjnych, z kolei własne obliczenia wskazywały znamienne różnice średniego stopnia szarości 1 a 2 i 9 a 52 tygodniem dla włókniny I grupy doświadczalnej, w II grupie znamienne różnice obejmowały okres od 2 do 52 tygodnia, z kolei w III grupie różnice dotyczyły szerszego zakresu czasowego wykazując znamienność pomiędzy 1 a 6, 9 a 12 i 24 a 52 tygodniem. Grupa I od III różniła się znamienne średnim stopniem szarości w okresie pomiędzy 3 a 52 tygodniem. Grupa I od II wykazywała także znamienne zróżnicowanie tej wartości pomiędzy 6 a 52 tygodniem. Różnice te występowały jednak tylko w niektórych punktach czasowych, 1, 3, 12 i 52 tygodniu obserwacji. Tym samym także i ten parametr analizy obrazu wskazuje na różnice pomiędzy procesem biodegradacji zależnym nie tylko od czasu obserwacji, jak również od modyfikacji powierzchniowej włókniny węglowej. Analiza korelacji współczynników morfometrycznych z czasem obserwacji wykazywała zbliżony kierunek zmian do poprzednio opisywanych [32]. Także i te obliczenia wskazały, że najwyższą dynamiką zmian cechuje się włóknina niemodyfikowana chemicznie.

Analiza procesów patobiologicznych zachodzących podczas rozpadu biomateriałów węglowych wskazuje istotną rolę procesu zapalnego, zmienne wytwarzanie włókien tkanki łącznej [25, 26]. Wyniki prezentowane w naszym doniesieniu jak również w obserwacjach omawianych w dyskusji wskazują na zasadniczą rolę rodzaju tkanki jak również czynnika biomechanicznego w procesie biodegradacji.

## Wnioski

1. Proces biodegradacji włókien węglowych wykazuje wahania obliczonej średniego stopnia szarości odmienne dla każdego rodzaju włókniny węglowej, zależąc od chemicznej modyfikacji powierzchni.
2. Najszybciej ulega biodegradacji włóknina węglowa nie poddana modyfikacji powierzchniowej i zawierająca na powierzchni grupy o charakterze kwasowym i zasadowym.

## STATYSTYCZNA ANALIZA

### Piśmiennictwo

- [1] Chlopek J.: "Kompozyty węgiel-węgiel. Otrzymywanie i zastosowanie w medycynie" Ceramika 52. Pol Biul Ceram. No 14. 1997. Kraków
- [2] Fraunhofer J.A., L' Estange P.R., Mack A.O.: "Materials science in dental implantation and a promising new material: vitreous carbon". Bioengineering 1971;6:114
- [3] Gierkowska A., Kamińska - Olechnowicz B., Olechnowicz A.: "Keratoprotezowanie" Klin Oczna 1982;84:375-7
- [4] Schnitman P.A., Woolfson M.W., Feingold L., Gettleman H.M., Freedman H.M., Kalis P.J., Buchanan W., Schulman L.B.: "Vitreous carbon implants: a five-year study in baboons". J Prosthet Dent 1980;44:190-200

Week Tydzień	Median Mediana			Probability Prawdopodobieństwo		
	Group Grupa I	Group Grupa II	Group Grupa III	Compared groups Porównywane grupy		
				I vs II	I vs III	II vs III
1	25.25	27.268	24.907	0.0019	0.5757	0.0003
2	27.322	26.739	27.578	0.61	0.417	0.1666
3	27.997	25.044	25.329	0.0000001	0.000005	0.1345
6	26.909	28.375	30.769	0.068	0.000008	0.0347
9	26.833	26.126	29.106	0.226	0.000002	0.0000001
12	28.54	30.25	31.166	0.0145	0.0000001	0.0041
24	30.777	31.60	33.76	0.051	0.0001	0.0087
52	35.186	24.636	28.272	0.001	0.0000001	0.0000001

TABELA 3. Porównania międzygrupowe średniego stopnia szarości.

TABLE 3. Mean greyness level comparisons among analyzed groups.

Group Grupa	Number of measurements Liczba pomiarów	Spearman R R Spearmana	Probability Prawdopodobieństwo
I	4647	0.248	0.0000001
II	3691	0.074	0.00018
III	3763	0.166	1.48x 10 <sup>-11</sup>

TABELA 4. Korelacja średniego stopnia szarości z czasem biodegradacji

TABLE 4. Mean greyness level correlation with biodegradation time

chemical modifications had the highest dynamics of changes.

The analysis of pathobiologic processes occurring during carbon biomaterial disintegration points out the essential role of inflammatory process, variable formation of connective tissue fibers [25, 26]. The results presented in our article as well as observations presented in the discussion indicate the essential role of the tissue type as well as biomechanical factors in biodegradation process.

## Conclusions

1. Biodegradation process of carbon fibers shows fluctuations of the mean greyness level different for each kind of carbon cloth depending on surface chemical modification.
2. The fastest biodegradation occurs in carbon cloth not subjected to chemical modification and with the surface covered with groups of acidic and basic character.

### References

- [5] Rushton N., Dandy D.J., Naylor C.P.E.: "The clinical arthroscopic and histological findings after replacement of the anterior cruciate ligament with carbon fibre". J Bone Joint Surg 1983;65:308-9
- [6] Cronin A.J., Llewelyn J., Hopkins R.: "Complications of use of carbon fibre in the temporomandibular joint: a case report." Br J Oral Maxillofac Surg. 1992;30:186-9
- [7] Demmer P., Fowler M., Marino A.A.: "Use of carbon fibers in the reconstruction of knee ligaments. Clin Orthop Rel Res 1991;271:225-232
- [8] Forster I.W., Ralis Z.A., McKibbin B., Jenkins D.H.R.: "Biological reaction to carbon fiber implants: the formation and structure of a carbon-induced "neotendon". Clin Orthop 1978;131:299-307

- [9] Górecki A., Kuś W.M., Błażewicz S., Chłopek J., Powroźnik A., Pykało R.: "Węglowa proteza więzadła krzyżowego przedniego w badaniach doświadczalnych". *Kolano* 1991;1:87-94
- [10] Jenkins G.M., Carvalho F.X.: "Biomedical applications of carbon fibre reinforced carbon in implanted prostheses". *Carbon* 1977;15:33-37
- [11] Jenkins D.H.R., McKibbin B.: "The role of flexible carbon fibre implants as tendon and ligament substitute in clinical practice. A preliminary report." *J Bone Joint Surg* 1980;62:497-9
- [12] Kusz D., Tokarowski.: "Plastyka torebkowo-więzadłowa nawracającego zwichnięcia stawu ramienno-promieniowego z użyciem biomateriału węglowego". *Inż Materiał* 1993;5:126
- [13] Milka S., Tokarowski A., Papież M., Mrowiec A.: "Ocena wyników rekonstrukcji więzadła kruczo-obończykowego więzadłową protezą węglową". *Inż Materiał* 1993;5:121-2
- [14] Minns R.J., Flynn M.: "Intraarticular implant of filamentous carbon fibre in the experimental animal" *J Bioeng* 1978;2:279-286
- [15] Mrowiec A., Tokarowski A., Milka S., Papież M.: "Materiały węglowe w leczeniu przetrwania ciągłości ścięgna Achillesa". *Inż Materiał* 1993;5:124-5
- [16] Cieślak T., Pogorzelska-Stronczak B., Szczurek Z., Sabat D.: "Obserwacje nad wpływem włókniny węglowej na gojenie się tkanki kostnej w ubytkach pooperacyjnych wyrostków zębodołowych szczęk" III Konferencja "Biomateriały Węglowe" Rytro 1992, s.23-28
- [17] Louis J.P., Dabadie M.: "Fibrous carbon implants for the maintenance of bone volume after tooth avulsion. *Biomaterials* 1990;11:525-528
- [18] Benke G., Kuś W.M., Górecki A., Pykało R., Powroźnik A.: "Wypełnianie ubytków chrzęstnych włókniną węglową - obserwacje odległe" II Konferencja "Biomateriały Węglowe" Rytro 91 s.1-3
- [19] Cieślak T., Pogorzelska-Stronczak B.: "Kilkuletnia ocena gojenia ubytków kości wyrostków zębodołowych w obecności włókniny węglowej" VI Konferencja "Biomateriały Węglowe i Ceramiczne", Rytro 1995, s.35-37
- [20] Guiral J., Fernandez L., Curto J.M., Basora J., Vincente P.: "Carbon and polyester fibers as a scaffold for bone repair - studies of segmentary implants in the rabbit radius". *Acta Orthop Scand* 1990;61:16-20
- [21] Kotela I.: "Wyniki operacyjnego leczenia złamanych kostek gojeni kompozytowymi materiałami węglowymi" *Inż Materiał* 1993;5:137-8
- [22] Pampuch R.: "Włókna węglowe". AGH Kraków 1986
- [23] Prakash R., Marwah S., Goel S.C., Tuli S.M.: "Carbon fibre reinforced epoxy implants for bridging large osteoperiosteal gaps". *Biomaterials* 1988;9:198-202
- [24] Minns R.J., Denton M.J., Dunstone G.H., Sunter J.P.: "An experimental study of the use of a carbon fibre patch as a hernia prosthesis material". *Biomaterials* 1982;3:199-203
- [25] Cieślak T., Pogorzelska-Stronczak B., Szczurek Z., Koszowski R., Skowronek J., Sabat D., Zajęcki W.: "Odpowiedź tkankowa na wszczep z materiału złożonego z włókien węglowych i polisulfonu" VII Konferencja "Biomateriały w medycynie i weterynarii" Rytro 1996r s.21-24
- [26] Cieślak T., Szczurek Z., Pogorzelska-Stronczak B., Sabat D., Koszowski R., Zajęcki W.: "Wpływ włókniny węglowej nasyczonej hydroksyapatytem na gojenie ubytków kostnych na podstawie badań morfologicznych" VIII Konferencja "Biomateriały w medycynie i weterynarii" Zembrzyce 1997r., s.7
- [27] Goodship A.E., Wilcock S., Shah J.S.: "The development of tissue around various prosthetic implants used as replacements for ligaments and tendons. *Clin Orthop Rel Res* 1985;196:61-68
- [28] Jenkins D.H.R., Forster I.W., McKibbin B., Ralis Z.A.: "Induction of tendon and ligament formation by carbon implant". *J Bone Joint Surg* 1977;59B:53
- [29] Błażewicz M., Błażewicz S., Wajler C.: "Mechanical and implant behaviour of chemically modified carbon braids" *Ceramics Int* 1994;20:99-103
- [30] Czajkowska B., Błażewicz M.: Phagocytosis of chemically modified carbon materials. *Biomaterials* 1997;18:69-74
- [31] Błażewicz M., Paluszkiwicz Cz., Pamuła E., Zamorska L., Żolnierek M., Nowak B., Menaszek E.: Wpływ struktury chemicznej budowy powierzchni włóknistych materiałów węglowych na ich zachowanie w środowisku biologicznym. *Biuletyn PAN* 1994
- [32] Dąbrówka K., Nożyński J., Zembala-Nożyńska E., Błażewicz S.: "Average greyness degree - as an objective parameter of carbon fibre biodegradation". *Inż Biomateriałów* 2001;13:3-8
- [33] Cieślak T.: "Płytki i śruby z kompozytu węgiel-węgiel do zespolenia odłamów żuchwy. Badania doświadczalne i kliniczne." Rozprawa habilitacyjna. Śl.A.M. Katowice 1993r.
- [34] Pykało R.: "Obrazy mikroskopowe i radiologiczne implantów węglowych" w: Kuś W.M. (red): "Biomateriały w Medycynie" Drukarnia Agencji Poligraficzno-Wydawniczej KARNIOWICE, 1993, s.89-91

## PARAMETRÓW GEOMETRYCZNYCH WŁÓKNIN WĘGLOWYCH UŻYTYCH DO WYPEŁNIENIA UBYTKÓW TKANKI KOSTNEJ KRÓLIKÓW

EWA ZEMBALA - NOŻYŃSKA\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*, DANIEL SABAT\*,  
KRZYSZTOF DĄBRÓWKA\*, TADEUSZ CIEŚLIK\*\*\*\*, ZBIGNIEW SZCZUREK\*

\* KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII,  
ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ, ZABRZE

\*\* KATEDRA I ZAKŁAD FARMAKOLOGII,  
ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ, ZABRZE

\*\*\* ŚLĄSKIE CENTRUM CHOROÓB SERCA, ZABRZE

\*\*\*\* I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ,  
ŚLĄSKIEJ AKADEMII MEDYCZNEJ, ZABRZE

## STATISTICAL ANALYSIS OF GEOMETRICAL PARAMETERS OF CARBON CLOTHS USED FOR HARD TISSUE FILLING IN RABBITST

EWA ZEMBALA - NOŻYŃSKA\*, JERZY NOŻYŃSKI\*\*, DANIEL SABAT\*,  
KRZYSZTOF DĄBRÓWKA\*, TADEUSZ CIEŚLIK\*\*\*\*, ZBIGNIEW SZCZUREK\*

\* DEPARTMENT OF PATHOLOGY,  
SILESIA MEDICAL ACADEMY, ZABRZE

\*\* DEPARTMENT OF PHARMACOLOGY,  
SILESIA MEDICAL ACADEMY, ZABRZE

\*\*\* SILESIA CENTRE FOR HEART DISEASES, ZABRZE

\*\*\*\* I CLINIC OF MAXILLO-FACIAL SURGERY,  
SILESIA MEDICAL ACADEMY, ZABRZE