

POWŁOKI WĘGLOWE DLA KARDIOCHIRURGII - BADANIA WSTĘPNE

R. MANIA, D. OBLĄKOWSKA, ST. BŁĄŻEWICZ,

WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA W KRAKOWIE

W wyborze materiałów, przeznaczonych docelowo jako mechaniczne zastawki serca szczególną uwagę zwraca się na możliwość uzyskania gładkiej powierzchni, warunkującej także jej trombo-rezy-stywność. Obecnie najlepszym materiałem stosowanym do konstrukcji zastawek mechanicznych jest węgiel pirolityczny. Materiał ten posiada budowę szkłopodobną i dużą gęstość, oraz pozwala na precyzyjną obróbkę mechaniczną. Wybór w/w materiału warunkuje również jego przewodnictwo elektryczne, gdyż odpowiedni ładunek powierzchniowy zapewnia z kolei właściwości trombo-re-zystywne. Jedną z niedogodności stosowanych obecnie mechanicznych zastawek serca jest konieczność stałej opieki farmakologicznej, związanej z podawaniem preparatów przeciwzakrzepowych, koniecznych nawet w wypadku stosowania węgla pirolitycznego. Techniki otrzymywania warstw powierzchniowych mają za zadanie zwiększenie biologicznej zgodności materiału zastawki z komórkami żywego organizmu. Możliwość eliminacji tzw. bio- zanieczyszczeń, oraz uzyskania silnego, lecz nie-specyficznego powinowactwa białek i komórek do powierzchni, to warunki zapewniające lepszą biogodność materiału i pozwalające na zastosowanie go do celów medycznych. Kolejnym ważnym kryterium jest brak toksyczności materiału. Obecność bio- zanieczyszczeń jest innym ważnym parametrem zgodności biologicznej, związanym z istnieniem silnego powinowactwa białek, fizycznie zaadsorbowanych na sztucznej powierzchni zastawki serca. Zaadsorbowana na powierzchni zastawki warstwa białek, może wywoływać tzw. pośrednie, dodatkowe odpowiedzi biologiczne związane z procesami adhezji i aktywacji komórkowej. Na przykład, analityczne zastosowanie materiałów (posiadających tzw. bio- zanieczyszczenia) w złożonych, laboratoryjnych systemach, jest redukowane do jednego systemu, ze względu na możliwość przenikania zanieczyszczenia z jednego do drugiego systemu. Zgodność biologiczna, ulega także znacznym zmianom w warunkach badań prowadzonych „in vivo” np. dla czujnika glukozy. W warunkach „in vivo” zgodność materiału z otaczającym środowiskiem tkankowym (łączenie sztucznego materiału z żywymi tkankami organizmu) musi przebiegać bez tzw. efektu otorbiana. Oprócz jasnej motywacji dot. możliwości eliminacji zjawisk adhezji białek do podłoża implantu, w kilku przypadkach jest ona pożądana - należy umożliwić adhezję białka do pewnych ograniczonych obszarów implantów. Przestrzennie kontrolowane, heterogeniczne właściwości powierzchni mogą być bardzo korzystnym elementem działania jakiegoś złożonego, bio- mikro-elektroniczno - mechanicznego systemu. Bezpostaciowe warstwy typu DLC mogą być otrzymywane w odpowiednio dobranych warunkach technologicznych różnymi technikami m.in.: CVD, LPCVD, LPD i PVD. Jedną z metod otrzymywania warstw typu DLC o kontrolowanych parametrach fizyko-chemicznych jest metoda - PVD z zastosowaniem, grafitowego targetu. Proces nanoszenia warstw prowadzi się w atmosferze wodoru, lub bez jego udziału. Warstwy otrzymywane w obecności atmosfery wodoru, wykazywały dwa razy wyższą wytrzymałość, niż warstwy otrzymane w warunkach bez wo-

CARBON COATINGS FOR CARDIOSURGERY - PRELIMINARY RESULTS

R. MANIA, D. OBLĄKOWSKA, ST. BŁĄŻEWICZ

Faculty of Material Science and Ceramics,
University of Mining and Metallurgy, Cracow

The general approach in materials selection for mechanical heart valves is to try and produce a surface which is so smooth that blood cells will roll along them and not become attached. Hence pyrolytic carbon, with its inherently density, glassy structure and its ability to be highly polished, is a popular choice. Furthermore its electrical conductivity is useful in allowing it to become electrostatically charged so that it can repel the blood cells. Nevertheless, it is customary to use chronic anticoagulant therapy with all mechanical valves, even those constructed largely from pyrolytic carbon, indicating that this approach is not necessarily the best one to pursue. It would be particularly beneficial to seek an alternative for the rigid conduit proposed here since the large internal surface area (approximately 4 500 [mm²]) is in order of magnitude greater than the exposed surface area of typical conventional valve of the same diameter. A surface coating technique is investigated to enhance device biocompatibility by eliminating bio-fouling, the strong but non - specific affinity of proteins and cells to attach to surface. Biocompatibility is essential to successful biomedical devices. Low material toxicity is an important criterion. Bio-fouling is another important measure of biocompatibility, because of the strong affinity of proteins to physically adsorb to artificial surface of heart valve. More importantly, the adsorbed protein layer can further mediate additional biological responses, like cell attachment and activation, and can create unpredicted perturbations to device operation. For example, analytical applications, such as lab-on-a-chip, are reduced to one-use systems, because of a possible cross contamination from one run to the next. In addition, rapid analysis of complex bodily fluids is difficult due to background drift and deteriorated signal quality. Biocompatibility issue is even more challenging in vivo settings, such as a subcutaneously implanted e.g. glucose sensor. In the vivo case, a successful integration of the device into host environment must be achieved without encapsulation. Despite the clear motivation to eliminate any adhesion between proteins and surfaces, in some cases the ability to enable protein adhesion to certain restricted regions on the device surface is very desirable. Such spatially controlled heterogeneous surface can be advantageous in the operation of some biomicroelectromechanical system. Amorphous diamond - like carbon films have been grown by many techniques e.g. CVD, LPCVD, LPD and PVD. Films grown by PVD using graphite target with and without an atomic hydrogen beam incident on growing film. Films grown with hydrogen, showed resistivity nearly two orders of magnitude higher, than films grown without hydrogen. Raman scattering confirmed a higher degree of sp³ bonding in films exposed to hydrogen atoms during growth. The role of hydrogen in diamond film growth is uncertain, but it seems to be necessary for the growth of the highest quality diamond films. Various possible roles have been postulated for atomic hydrogen in growth of diamond films and diamond - like carbon - DLC films; these include preferential etching of graphitic rather than diamond centers and stabilization of the sp³ diamond like bond. A rapidly grow-

doru. Badania przeprowadzone metodami Spektroskopii Ramanowskiej, potwierdziły dominującą rolę wiązań typu sp^3 w warstwach otrzymywanych w obecności wodoru. Mimo licznych badań, rola wodoru w warstwach typu DLC, nie jest do końca wyjaśniona, wiadomo jednak, że to obecność wodoru warunkuje otrzymanie wysokiej jakości warstw typu DLC. Próbując określić rolę atomowego wodoru w warstwach diamentowych, oraz typu- DLC i stwierdzono, że istnieje uprzywilejowanie dot. możliwości tworzenia raczej centrów grafitowych, niż diamentowych, oraz możliwość uzyskania stabilizacji wiązania typu sp^3 . Szybki wzrost warstw typu DLC pozwala na różne ich zastosowanie zarówno w budowie maszyn i biomateriałach. TAB.1.

Urządzenia medyczne, lub materiały przeznaczone o stałego kontaktu z krwią m.in.: rurka naczyniowa, mechaniczna zastawka serca, wywołują odpowiedź komórkową polegającą na wytworzeniu na powierzchni implantu skrzepu. Powstający na powierzchni materiału implantacyjnego skrzep, może w przyszłości (po przejściu funkcji narządowej przez wszczepiony implant) wywoływać katastroficzne skutki dla organizmu: m.in. wystąpienie udaru, zapalenia mięśnia sercowego- chorób, prowadzących do trwałego kalectwa, a często nawet śmierci. Głównym celem technologii otrzymywania materiałów implantacyjnych jest, więc możliwość hamowania powstawania skrzepów na po-

ing variety of applications for DLC coatings are being found in mechanical engineering and bio- engineering. TAB.1.

Medical devices that are in direct and continuous contact with blood, such as a vascular stent, mechanical heart valve and other, will be subject to a thrombogenic response. A clot may form at the device causing further occlusions with potentially catastrophic results such as a stroke, myocarditis leading to disability or death. To inhibit thrombus formation, DLC coatings have been applied to implants. The effect of such coatings compared with an uncoated device implanted in an artery. Platelet deposition with the DLC coating was much reduced compared with the other coatings: e.g. heparin, phosphorycholine (PC). Thomson completed the first pioneering study of cell response to diamond surfaces in 1991 using tissue culture plates with diamond - like - carbon coating. Mouse fibroblasts grown on the DLC coatings (0,4 [μm] thick) for 7 days showed no significant release of lactate dehydrogenase (an enzyme that catalyzes lactate oxidation, often released into the blood when tissue is damaged) compared to control cells. This demonstrated that there was no loss of cell integrity due to the DLC coatings. Morphological examination revealed no physical damage to either fibroblasts or macrophages, confirming the biochemical indication that there was no toxicity and that no inflammatory reaction was elicited in vitro. Follow up stud-

Zastosowanie <i>Some examples in mechanical engineering</i>	Pożądane cechy <i>Advantages</i>
Zapraski - do wytwarzania mechanicznych „lepców” metalicznych -aluminium i miedź; <i>Inserts, in particular for machining" sticky" metals such as aluminium and copper.</i>	odporność na zużycie i niskie tarcie <i>wear resistance and low friction</i>
Pily / Saw	odporność na zużycie / <i>wear resistance</i>
Prasy - tłoczniiki do wyciskania-przeróbka plastyczna <i>Extrusion die</i>	odporność na zużycie i odporność na korozję <i>wear and corrosion resistance</i>
Wtryskowe formy odlewnicze <i>Injection mould</i>	odporność na zużycie i odporność na korozję, słaba adhezja umożliwia ograniczenie lub wyeliminowanie-środków adhezyjnych <i>wear and corrosion resistance, low adhesion reducing or eliminating the need for release agents</i>
Biomateriały -zastosowanie warstw typu DLC <i>Some examples in bio- engineering</i>	
Cewniki <i>Catheter</i>	biologiczna zgodność, gładkość powierzchni <i>biocompatibility, lubricity</i>
Protezy <i>Prosthetic replacements</i>	biologiczna zgodność, odporność na zużycie, opór dyfuzyjny - zabezpiecza przed zmianą położenia impantu w żywych tkankach, odporność na korozję - warstwa ochronna - zabezpiecza impant przed degradacją w środowisku biologicznym <i>biocompatibility, wear resistance, diffusion resistance - preventing material from the replacement entering surrounding tissue, corrosion resistance - preventing the biological environment attacking the replacement.</i>

TABELA 1.
TABLE 1.

wierzchni - trombozystywność Porównanie możliwości powstawania skrzepów w przypadku materiałów pokrywanych warstwami typu ochronnego i nie pokrywanych, wszczepianych w tętnicę. Adhezja płytek na powierzchni warstwy typu DLC była znacznie mniejsza, niż adhezja płytek na powierzchni - typu. heparyna, fosforan choliny. Pierwsze badania dot. odpowiedzi komórkowej w przypadku zastosowania warstw typu DLC, przeprowadził Thomson w 1991 używając do tego celu żywych kultur płytkowych(komórek) i materiałów typu DLC. Wzrost mysich fibroblastów

ies in 1999-2000 found that mouse macrophages, human fibroblasts, and human osteoblast - like cells grown on DLC coating exhibited normal cellular growth and morphology, with no in vitro cytotoxicity. I. Dion in 1993 looked at general cytotoxicity and hemocompatibility of DLC surface with 3T3 Balb/c cloned cells, and human endothelial cells isolated from placenta were investigated as a model for differentiating cells. No negative effects due to DLC coatings were observed on the viability of cells, which showed normal metabolic activities. O'Leary in 1995 evaluated cytotoxicity

na powierzchni typu DLC o grubości (0,4 μm), obserwowany w ciągu 7 dni nie wykazywał istotnych zmian. Nie stwierdzono wówczas obecności odwodornionego mleczanu (enzymu katalizującego proces utleniania mleczanu obecne go we krwi, w przypadku zniszczenia/ uszkodzenia komórki). Wynik ten wskazywał na brak integracji komórek z warstwą typu DLC. Obserwacje morfologii, wykazały również, brak efektu fizycznego niszczenia fibroblastów i brak obecności makrofagów, co świadczy o braku toksycznego działania warstw typu DLC i nie wywoływania reakcji zapalnych. Badania prowadzone w latach 1999 - 2000 wykazały, że mysie makrofagi, ludzkie fibroblasty, ludzkie osteoblasty, oraz inne żywe komórki, zaadsorbowane na powierzchni typu DLC, wykazują wzrost komórkowy o prawidłowej morfologii i brak tzw. efektu cytotoksycznego stwierdzonego „in vitro”. I. Dion w roku 1993 przeprowadził badania cytotoksyczności i hemozgodności warstw typu DLC, stosując hodowlane komórki typu: 3T3 Balb / c, komórki ludzkiego śródbłonka (izolowane z łożyska), jako komórki różnicujące (kontrolne). W badaniach nie stwierdzono żadnych negatywnych zmian żywotności komórek (prawidłowa aktywność i metabolizm komórkowy). Z kolei O'Leary w 1995 ocenił efekt cytotoksyczności dla adhezyjnych komórek: mysich fibroblastów na powierzchni typu DLC (zawierających mniej niż 1% wodoru). Stwierdził on obecność prawidłowo zbudowanych komórek o dobrych właściwościach adhezyjnych i prawidłowej gęstości, występujących na powierzchni typu DLC. W roku 1999 I. Jones przeprowadził analizę stopnia: hemozgodności, tromboezystywności i interakcji płytek krwi królika z warstwą typu DLC. Wykazał on brak efektu hemolizy i nadmiernej aktywacji płytek krwi, a także tendencji do tworzenia zakrzepów- tromboezystancja. Wiadomo, że wzrost ilości płytek krwi na powierzchni typu DLC jest związany z energią powierzchniową warstwy. Eksperyment przeprowadzony przez Tang'a w roku 1995, polegał na określeniu możliwości wnikania granulocytów obojętnochołnych do plazmy, typowe dla warstw typu DLC, - (350 [u]). Implant, pokryty warstwą typu DLC, wszczepiono wewnątrzotrzewnowo do organizmu żywych myszy na okres 1tygodnia i obserwowano mikroskopowo. Obrazy SEM nie wskazywały obecności efektu zapalnego w tkankach. Tang stwierdził, że morfologia nie polerowanej powierzchni typu DLC może być odpowiedzialna za tzw. efekt hamowania zdolności aktywacyjnych powierzchni - adhezji komórek, lecz mechanizmu tej zróżnicowanej odpowiedzi komórkowej fagocytów, nie wyjaśnił. Wiadomo, że znajomość parametrów takich jak: chropowatość powierzchni, jej zewnętrzna budowa - topografia i budowa krystaliczna może wyjaśnić zróżnicowany mechanizm odpowiedzi komórkowej. Atomowa, diamondoidalna powierzchnia 1[nm], wykazuje cechy rozwinięcia powierzchni, charakterystyczne dla tzw. nano czujników i nano organów i nie wykazuje aktywności makrofagów. W pracy opisano warunki otrzymywania warstw typu DLC, otrzymanych przy użyciu planarnej wyrzutni magnetronej typu WMK-100, z węglowym targetem. Proces prowadzono w atmosferze metanu, wykorzystując zasilacz DORA SYSTEM o częstotliwości ok. 160[kHz]. Analiza TEM otrzymanych warstw wykazała duży stopień ich amorficzności. Badania IR wykazały obecność w warstwie, atomów węgla o hybrydyzacji wiązań, zarówno typu sp^3 (typowa dla diamentu), jak i sp^2 (dla grafitu). Zmienneprądowe badania elektryczne przeprowadzone przy użyciu analizatora Spektroskopii Impedancyjnej uwiarydliły wysoką wartość impedancji, typową dla materiału dielektrycznego. Jako próbki odniesienia wybrano inne rodzaje węgla: HOPG, węgiel pirolityczny, węgiel szklisty, LTI. W celu poprawy hemozgodności, protez sercowo-naczyniowych zastosowano warstwy zaporowe: węgiel pirolityczny, LTI lub DLC. Inną metodą poprawy hemozgodności powierzchni była zmiana stopnia jej zwilżalności, wartości

and cell adhesion of mouse fibroblasts on saddle field source deposited DLC (containing less than 1% hydrogen) coating. He found normal cell adhesion, density, and spreading on DLC. Jones in 1999 tested DLC coating: e.g. hemocompatibility, thrombogenicity, and interactions with rabbit blood platelets. The DLC coating produced no hemolytic effect, platelet activation, or tendency towards thrombus formation. Platelet spreading correlated with the surface energy of the coatings. Finally, an experiment by Tang in 1995 studied the attachment of neutrophils to plasma - preincubated - 1 [cm²] 350 [u] thick of DLC. SEM photographs of DLC implanted intraperitoneally in live mice for 1 week revealed minimal inflammatory response. Tang noted that: „the morphology of unpolished surfaces of DLC could be responsible for preventing the activation of surface-adherent cells, but the mechanism for this differential response of phagocytic cells is not yet understood. If surface roughness, topography, or crystalline structure can account for differential response, then it is quite possible that atomically-precise diamondoid surface with, 1[nm] features-constituting much of the external surfaces of medical nanorobots- and nano-organs - could be made almost completely macrophage inactive. We used six types of carbon: pyrolytic carbon, HOPG, glassy carbon, synthetic carbon, DLC, and LTI carbon in our investigations. To improve hemocompatibility of cardiovascular devices, different carbon coatings were elaborated, including pyrolytic carbon (LTI type) and DLC. DLC surfaces were obtained by means of Planar Magnetron Gun WMK - 1000 with carbon target. The process was conducted in the presence of methane. DORA SYSTEM with applied 160 [kHz] frequency was used. Observation of layer's morphology was realized with AFM method. TEM analysis revealed low degree of crystallinity of the DLC layers. IR spectra indicated the presence of carbon elements with sp^3 hybridization (typical of diamond) and sp^2 type bonds. Measurements with Impedance Spectroscopy Analyzer confirmed, that a typical die - electric material layer with high impedance was obtained. Other procedure, include the increase in surface hydrophilicity, surface tension control of plasma protein or change of charge density of surface and use of electrically charged surface for the stimulation of endothelial cell adhesion. We tested our carbon's samples „in vitro” solution such as: Ringer solution, human blood, accordingly to ISO 10993 - 4. We want to improve the surface biocompatibility of materials for blood contact, by change of chemical and/ or physical properties of the surface. AFM technique - is used to study various aspects of ceramic- carbon samples corrosion in Ringer solution. A study was conducted to investigate the effects of Ringer solution on HOPG, LTI carbon, DLC, and glassy carbon. We compared the surface of samples before and after contact with liquids, such as: Ringer solution, human blood. We know that corrosion is an interfacial phenomenon, occurring between the solid surface and gases or liquids, but we want to deepen the present knowledge on mechanism of corrosion and/ or an interfacial phenomena, which are occurring between the solid surface and gases or liquids.

napięcia powierzchniowego-kontrolującego ilości zaadsorbowanych białek, lub zmiana gęstości i ładunku powierzchniowego - aktywującego adhezję komórek śródbłonka. Zgodnie z normą ISO 10993 - 4 do badań biologicznych „in vitro” - zastosowano płyny fizjologiczne: Ringer, ludzka krew. Konieczność poprawy biogodności powierzchni, przez zmianę parametrów fizyko - chemicznych, skłoniła nas do głębszej analizy morfologii powierzchni (techniką AFM), w celu wyjaśnienia mechanizmu zjawisk zachodzących na granicy faz: ciało stałe - gaz, ciało stałe - ciecz i odpowiadających za mechanizm korozji implantów.

SYNERGIZM IMPLANTOPROTETYKI STOMATOLOGICZNEJ - INTERDYSCYPLINARNEJ DZIEDZINY WSPÓŁCZE- SNEJ STOMATOLOGII I TECHNOLOGII XXI WIEKU - BIOMATERIAŁÓW

H. MATRASZEK*, D. OBLĄKOWSKA**

*KATEDRA I ZAKŁAD PROTETYKI STOMATOLOGICZNEJ
COLLEGIUM MEDICUM UNIwersYTETU Jagiellońskiego, KRAKÓW
**KATEDRA CERAMIKI SPECJALNEJ
AKADEMII GÓRNICZO-HUTNICZEJ W KRAKOWIE

Protetyka stomatologiczna jest dziedziną, zajmującą się między innymi: leczeniem pacjentów, u których występują częściowe lub całkowite braki uzębienia. Przyczyny tego zjawiska są różne; próchnica, urazy, paradontopatia, wady wrodzone. Braki w uzębieniu są dla pacjentów przyczyną wielu dolegliwości: nieefektywnego żucia, parafunkcji, zaburzeń wymowy, estetyki, oraz niekorzystnie wpływają na psychikę. Od dziesięcioleci stomatologia poszukuje najlepszych metod uzupełniania brakujących zębów. Nowoczesna protetyka stomatologiczna jest w stanie z powodzeniem rozwiązać większość tych problemów. Rozwiązaniem zbliżonym do ideału jest proteza stała charakteryzująca się podobieństwem do naturalnych zębów. Warunek ten najlepiej spełnia wszczep (implant) z osadzoną na nim koroną protetyczną. Ponad trzydzieści lat temu w Szwecji opracowano pierwszy system implantologiczny wykorzystujący czysty tytan - metal całkowicie obojętny dla organizmu. Proces rekonstrukcji uzębienia oparty na implantach jest wprawdzie długotrwały (trwa od dwóch do dziewięciu miesięcy), ale niezwykle skutecznych ok. 95%. W obecnej chwili na świecie funkcjonuje ok. 200 różnych systemów implantacyjnych. Część z nich dostępna jest również w Polsce. Ze względu na wysokie koszty nie są powszechnie stosowane. Klasyczne metody zaopatrywania bezzębia (protezy całkowite) stwarzają pacjentom dużo problemów między innymi: złą stabilizację i fiksację, odleżyny, niewystarczającą wytrzymałość mechaniczną, co pociąga za sobą dyskomfort psychiczny. Pomimo stosowania nowoczesnych materiałów i złożonych procedur protetycznych, pewien

[1]. International Standard ISO 10993-4

IMPLANTOPROSTHETIC DENTISTRY SYNERGISM - INTERDISCIPLINARY FIELD WITHIN PRESENT DENTISTRY AND TECHNOLOGY OF 21ST CENTURY - BIOMATERIALS

H. MATRASZEK*, D. OBLĄKOWSKA**

*DEPARTMENT AND ESTABLISHMENT OF DENTAL PROSTHETIC,
COLLEGIUM MEDICUM JAGILLONIAN UNIVERSITY IN CRACOW.
**DEPARTMENT OF ADVANCED MATERIALS,
UNIVERSITY OF MINING AND METALURGY IN CRACOW

During their life the majority of people lose several teeth and some lose all of them. Reasons for this phenomenon are complicated: caries traumas, excessive consumption of sweets, hygienic neglects, paradonthological problems, congenital defect and other. Loss of dentition creates huge discomfort not only for aesthetical reasons, but it also diminishes affectivity of food mastication, parafunction and dysarthria. Lack of teeth fatally influences human psyche. For decades dentistry has been seeking the best methods to supplement missing teeth. Modern implantoprosthetic dentistry can solve most of problems resulting from the lack of teeth. Close to ideal is fixed denture with its resemblance to natural teeth. For such supplement to be executed a suitable quantity of pillar teeth must be left. If there are not enough of them or none at all, or they seated in unfavourable manner, the problem is solved with dental implants. Over thirty years ago in Sweden the first system with use of clean titan, completely neutral for organism, was developed. Process of dentition reconstruction based on implants takes two to nine months but its efficiency is as high as app. 95 [%]. At present there are app. 200 implant systems. Some of them are also accessible in Poland, but because of high costs of imported implant systems, they are not and will not be in universal use. Classical methods of providing missing teeth do not always end successfully because, for example, bottom denture may be based on delicate tissues, and does not adapt to withstand huge pressures, and that creates both: material and biomechanical problems stabilization, fixation, decubitus ulcer. In spite of spreading