

## BADANIE CYTOKOMPATY- BILNOŚCI KOPOLIMERÓW ε-KAPROLAKTONU I TMC Z WYKORZYSTANIEM HODOWLI LUDZKICH CHONDROCYTÓW

ARKADIUSZ ORCHEL<sup>1</sup>, KATARZYNA JELONEK<sup>1</sup>,  
MAŁGORZATA PASTUSIAK<sup>2</sup>, DANUTA MIZERA<sup>1</sup>,  
JANUSZ KASPERCZYK<sup>1,2</sup>, ZOFIA DZIERŻEWICZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY,  
KATEDRA I ZAKŁAD BIOFARMACJI,  
UL. NARCYZÓW 1, 41-200 SOSNOWIEC, POLSKA  
<sup>2</sup> POLSKA AKADEMIA NAUK,  
CENTRUM MATERIAŁÓW POLIMEROWYCH I WĘGLOWYCH, ,  
UL. M.SKŁODOWSKIEJ-CURIE 34, 41-819 ZABRZE, POLSKA

*[Inżynieria Biomateriałów, 96-98, (2010), 58-61]*

### Wstęp

Ograniczona zdolność tkanki chrzęstnej do regeneracji jest głównym czynnikiem utrudniającym opracowanie skutecznych metod leczenia uszkodzeń w jej obrębie. Zapotrzebowanie na nowe metody terapeutyczne, które umożliwiłyby pełną regenerację uszkodzonej chrząstki jest jedną z przyczyn szybkiego rozwoju, w ostatnich latach, technik inżynierii tkankowej. Duże znaczenie dla rozwoju tej stosunkowo młodej dziedziny ma opracowanie biogodnych, bioresorbowalnych materiałów, które mogłyby być wykorzystane do wytwarzania trójwymiarowych nośników, o strukturze i właściwościach sprzyjających kolonizowaniu ich przez komórki. Najbardziej perspektywicznymi biomateriałami wydają się być syntetyczne polimery z grupy poliestrów alifatycznych, a także poliwęglanów. Materiały te są stosowane nie tylko jako podłoża w badaniach z zakresu inżynierii tkankowej ale również jako matryce do kontrolowanego uwalniania substancji leczniczych [1,2]. Materiały zawierające w swojej strukturze jednostki węglanowe cieszą się coraz większym zainteresowaniem ze względu na dobre właściwości mechaniczne oraz brak kwaśnych produktów degradacji. Materiały przeznaczone do wytwarzania wyrobów medycznych powinny być biokompatybilne i dobrze tolerowane przez organizm. Jednakże tradycyjne metody syntezy tych biomateriałów wykorzystują wysoce toksyczne związki cyny jako inicjatory reakcji polimeryzacji. Całkowita eliminacja tych związków z polimeru jest praktycznie niemożliwa, co skutkuje ich powolnym przenikaniem do układu krążenia pacjenta [4]. Z tego względu niektórzy badacze próbują stosować mniej toksyczne inicjatory, takie jak acetyloacetonian cyrkonu lub etyloetoksy cynku.

Celem pracy była ocena cytokompatybilności trzech kopolimerów zsyntetyzowanych z ε-kaprolaktonu i węglanu trimetyleny (TMC) z wykorzystaniem hodowli ludzkich chondrocytów. Badane materiały zostały zsyntetyzowane z wykorzystaniem etyloetoksy cynku, jako inicjatora polimeryzacji.

### Materiały i metody

Kopolimeryzację prowadzono w masie w atmosferze argonu. Komonomery z inicjatorem –  $Zn(OC_2H_5)(C_2H_5)$  wprowadzano do ampuł szklanych, które następnie umieszczano w łaźni olejowej zaopatrzonej w wytrząsarkę. Reakcję polimeryzacji prowadzono w temperaturze 120°C przez 5 minut.

## CYTOCOMPATIBILITY TESTING OF ε-CAPROLACTONE AND TMC COPOLYMERS: STUDY ON CULTURED HUMAN CHONDROCYTES

ARKADIUSZ ORCHEL<sup>1</sup>, KATARZYNA JELONEK<sup>1</sup>,  
MAŁGORZATA PASTUSIAK<sup>2</sup>, DANUTA MIZERA<sup>1</sup>,  
JANUSZ KASPERCZYK<sup>1,2</sup>, ZOFIA DZIERŻEWICZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> THE MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA,  
DEPARTMENT OF BIOPHARMACY,  
1 NARCYZOW STREET, 41-200 SOSNOWIEC, POLAND  
<sup>2</sup> POLISH ACADEMY OF SCIENCES,  
CENTRE OF POLYMER AND CARBON MATERIALS  
34 M.SKŁODOWSKIEJ-CURIE STREET, 41-819 ZABRZE, POLAND

*[Engineering of Biomaterials, 96-98, (2010), 58-61]*

### Introduction

Limited capacity of articular cartilage for self repair significantly hampers the treatment of damaged cartilage. The clinical need for efficient method of cartilage defects therapy is the important reason of the rapid development of tissue engineering techniques. Biodegradable aliphatic polyesters and polycarbonates have been considered to be useful for tissue engineering and as the carriers for controlled drug release [1,2]. Among them, copolymers containing carbonate units are very interesting for various biomedical applications because of their increased flexibility and reduced acidity of the degradation products. Materials intended for medical applications must be biocompatible to be well tolerated by the body [3]. They cannot contain any cytotoxic erodible substances as well as induce severe inflammatory reaction. However, traditional methods of aliphatic polyesters synthesis employ highly toxic tin compounds as initiators of polymerization. Complete elimination of these compounds from the polymers is practically impossible which results in their slow penetration into patients blood circulation system [4]. Therefore, some research attempted to use much less toxic initiators as zirconium acetylacetonate or ethyl-etoxy zinc. The aim of our study was to examine the cytocompatibility of three copolymers obtained from ε-caprolactone and trimethylene carbonate (TMC) with different comonomers' units ratio using cultured human chondrocytes. Synthesis of studied materials was carried out with the use of nontoxic ethyl-etoxy zinc as an initiator of polymerization.

### Materials and methods

Copolymerizations were conducted in bulk in argon atmosphere. Comonomers with  $Zn(OC_2H_5)(C_2H_5)$  as initiator were charged into glass ampoules and sealed. The ampoules were conditioned in an oil bath equipped with shaker at 120°C for 5 minutes.

The molecular weight ( $M_n$ ) and molecular weight dispersion (D) were determined by GPC (Viscotek RImax; Viscotek 3580 columns), with chloroform as eluent and the flow rate was 1 ml/min. The molecular weights were calibrated with polystyrene standards. The thermal properties were examined by differential scanning calorimetry (DSC) with a TA DSC 2010 apparatus (TA Instruments, New Castle, DE) calibrated with high purity indium and gallium. The samples were scanned from -20°C to 220°C at a heating rate of

Liczbowo średnią masę cząsteczkową ( $M_n$ ) i rozrzut mas cząsteczkowych (D) analizowano metodą chromatografii żelowej (Viscotek RImax; kolumny Viscotek 3580), stosując chloroform jako eluent z szybkością przepływu 1 ml/min w oparciu o standardy polistyrenowe. Właściwości termiczne oceniano za pomocą skaningowej kalorymetrii różnicowej (DSC) (TA DSC 2010; TA Instruments, New Castle, DE). Pomiar wykonywano w zakresie temperaturowym  $-20^{\circ}\text{C}$  do  $200^{\circ}\text{C}$  z szybkością grzania  $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , następnie próbkę zanurzano w ciekłym azocie i przystępowano do drugiego grzania. Udział komonomerów oraz średnie długości bloków kaproilowych i węglanowych wyznaczano metodą spektroskopii NMR. Widma protonowe otrzymano za pomocą spektroskopu NMR o wysokiej rozdzielczości (AVANCE II Ultra Shield Plus, Bruker 600 MHz) z zastosowaniem  $\text{CDCl}_3$  jako rozpuszczalnika.

Trzy rodzaje kopolimerów  $\epsilon$ -kapolaktanu i TMC wyselekcjonowano do oceny wpływu na wzrost ludzkich chondrocytów: 1) 21:79 poli( $\epsilon$ -kapolaktano-ko-węglan trimetyleny); 2) 56:44 poli( $\epsilon$ -kapolaktano-ko-węglan trimetyleny); 3) 86:14 poli( $\epsilon$ -kapolaktano-ko-węglan trimetyleny). Polietylen o bardzo wysokiej masie cząsteczkowej (UHMW PE) zastosowano jako kontrolę negatywną.

Filmy polimerowe o grubości 1mm przygotowano z użyciem prasy hydraulicznej. Wycięte z nich dyski o średnicy 5mm poddano sterylizacji promieniowaniem elektronowym o wysokiej energii (25kGy).

Ludzkie chondrocyty, izolowane z chrząstki stawu kolanowego, zakupiono w firmie Lonza (Szwajcaria). Komórki hodowano w medium przeznaczonym do namnażania chondrocytów - CGM™ SingleQuots (Lonza, Szwajcaria). Hodowlę prowadzono w temp.  $37^{\circ}\text{C}$  w atmosferze 5%  $\text{CO}_2/95\%$  powietrze.

W celu przeprowadzenia badania szybkości wzrostu komórek, do studzienek płytki 24-dołkowej wprowadzano  $5 \times 10^3$  komórek zawieszonych w 1 ml pożywki. Komórki hodowano przez 24h, okres potrzebny do zakotwiczenia się komórek na dnie studzienek. Następnie wymieniano pożywkę i w studzienkach umieszczano inserty (Nunc) zawierające polimerowe dyski. Inserty (o średnicy 10mm) posiadały membranę Anopore™ z porami o średnicy 0,2  $\mu\text{m}$ . W obecności materiałów polimerowych komórki hodowano 3 doby. W części studzienek po tym okresie wymieniano medium i prowadzono hodowlę przez kolejne 3 doby.

Po zakończeniu okresu hodowli w obecności materiałów polimerowych usuwano ze studzienek inserty a komórki utrwalano w 10% kwasie trichlorooctowym. Proliferaację chondrocytów oceniano przy pomocy zestawu "In Vitro Toxicology Assay Kit, Sulforhodamine B Based" (Sigma-Aldrich, Poznań, Polska) postępując zgodnie z instrukcją dołączoną do zestawu. Sulforodamina B jest barwnikiem wiążącym się z białkami komórkowymi. Po uwolnieniu barwnika związanego wewnątrz komórek, roztwór (200 $\mu\text{l}$ ) przenoszono do płytki 96-dołkowej i dokonywano pomiaru absorbancji przy długościach promieniowania  $\lambda=570\text{nm}$  i  $\lambda=690\text{nm}$  (długość referencyjna) przy pomocy płytkowego czytnika MRX Revelation (Dynex Technologies).

## Wyniki i dyskusja

Trzy rodzaje poli( $\epsilon$ -kapolaktano-ko-węglanu trimetyleny) o różnym udziale komonomerów użyto do przygotowania matryc. Charakterystykę sterylnych matryc PLATMC przedstawiono w TABELI 1. Zawartość komonomerów oraz średnie długości bloków kaproilowych i węglanowych oceniano na podstawie widm  $^1\text{H}$  NMR. Wszystkie kopolimery posiadały wysoką masę cząsteczkową, odpowiednią dla zastosowań medycznych i farmaceutycznych.

$20^{\circ}\text{C}/\text{min}$  and then quenched into liquid nitrogen. Comonomer units' ratio and the average length of the carbonyl and carbonate blocks were determined by means of NMR spectroscopy. The  $^1\text{H}$  NMR spectra were recorded with a high resolution NMR spectroscopy (AVANCE II Ultra Shield Plus, Bruker 600 MHz).  $\text{CDCl}_3$  was used as a solvent.

Three copolymers of  $\epsilon$ -caprolactone and TMC have been selected for examination of their influence on human chondrocytes growth: 1) 21:79 poly( $\epsilon$ -caprolactone-co-trimethylene carbonate); 2) 56:44 poly( $\epsilon$ -caprolactone-co-trimethylene carbonate); 3) 86:14 poly( $\epsilon$ -caprolactone-co-trimethylene carbonate). Ultra high molecular weight polyethylene (UHMWP) was used as a negative control.

The polymeric films (1 mm thick) were prepared by compression molding and subsequently the films were cut into small disks (5mm in diameter). The disks were sterilized by high energy electron beam radiation with a dose of 25 kGy.

Human articular chondrocytes were purchased from Lonza (Switzerland) and cultured in chondrocyte growth medium: CGM™ SingleQuots (Lonza, Switzerland). The cell cultures were maintained at  $37^{\circ}\text{C}$  in an atmosphere of 5%  $\text{CO}_2/95\%$  air.

In proliferation study the cells were plated at an initial density of  $5 \times 10^3$  cells per well in 1 ml of culture medium in 24-well plates. Cells were allowed to attach and grow for 24 h. Subsequently culture medium was replaced and inserts (Nunc) containing the polymer discs were placed in wells. The inserts (10 mm in diameter) had an Anopore™ membrane with 0.2  $\mu\text{m}$  pores. Cells were incubated with the studied copolymers for 3 days. In some cultures, the medium was replaced at day 3 and then, the cells were cultured for additional 3 days in a presence of the materials.

At the end of culture period, the inserts with polymeric disks were discarded, the cells were washed with PBS and fixed in 10% trichloroacetic acid. Proliferation of the cells was quantified using "In Vitro Toxicology Assay Kit, Sulforhodamine B Based" (Sigma-Aldrich, Poznań, Poland) according to the manufacturer's protocol. The sulforhodamine B is a dye staining cellular proteins. After the liberation of the incorporated dye, aliquots (200  $\mu\text{l}$ ) were transferred to wells of the 96-well plate and absorbance was measured at  $\lambda=570\text{ nm}$  and  $\lambda=690\text{ nm}$  (reference wavelength) using the MRX Revelation plate reader (Dynex Technologies).

## Results and discussion

Three kinds of poly( $\epsilon$ -caprolactone-co-trimethylene carbonates) with different comonomers units' ratio were used to prepare matrices. Characterization of sterile PLATMC matrices is presented in TABLE 1. The comonomer units' ratio and average length of caprolyl and carbonate units were determined from  $^1\text{H}$  NMR spectra. All copolymers had high molecular weight, appropriate for medical and pharmaceutical application. Thermal analysis showed that PCLTMC 21:79 was amorphous with a glass transition temperature ( $T_g$ ) at  $-28^{\circ}\text{C}$ . In thermograms of the two other copolymers the  $T_m$  was identified, which suggests semicrystalline structure, however the melting enthalpy determined for PCLTMC 86:14 was very insignificant (6 J/g).

As shown in FIG. 1, after three days incubation period, growth of chondrocytes was significantly inhibited in the presence of P(CL-co-TMC) 21:79 and P(CL-co-TMC) 56:44. The presence of the P(CL-co-TMC) 86:14 in the environment of cell culture did not exert any impact on the proliferation rate. Changing of the culture medium at day 3 resulted in increased proliferation of chondrocytes cultured in the presence of P(CL-co-TMC) 56:44 (FIG. 2).

TABELA 1. Charakterystyka matryc wykonanych z poli( $\epsilon$ -kapolaktono-ko-TMC).  
TABLE 1. Characterization of poly( $\epsilon$ -caprolactone-co-TMC) matrices.

Kind of copolymer	F <sub>Cap</sub> [%]	F <sub>T</sub> [%]	l <sub>T</sub>	l <sub>Cap</sub>	M <sub>n</sub> [Da]	D	T <sub>g</sub> [°C]	T <sub>m</sub> [°C]	$\Delta H_m$ [J/g]
P(CL-co-TMC) 21:79	21	79	4,7	1,2	108 500	2,9	-28	-	-
P(CL-co-TMC) 56:44	44	56	1,7	2,2	92 200	3,0	-54	59	43,5
P(CL-co-TMC) 86:14	14	86	1	5,9	69 100	2,3	-44	44	6,0

F<sub>Cap</sub>, F<sub>T</sub> - the percentage content of  $\epsilon$ -caprolactone and TMC

L<sub>Cap</sub>, L<sub>T</sub> - the average length of the caproyl and carbonate blocks, respectively

M<sub>n</sub> - the number average molecular weight

D - molecular-weight dispersity

T<sub>g</sub> - glass transition temperature obtained by DSC from the second heating

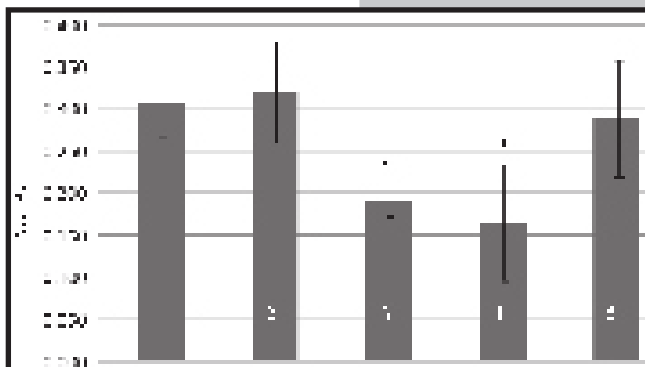
T<sub>m</sub> - melting temperature, obtained by DSC from the first heating

$\Delta H_m$  - melting enthalpy

Na podstawie analizy właściwości termicznych stwierdzono, iż PCLTMC 21:79 był amorficzny (T<sub>g</sub>=-28°C). Na termogramach pozostałych dwóch kopolimerów stwierdzono również punkt topnienia, co świadczy o ich strukturze semikrystalicznej, jakkolwiek wartość entalpii topnienia ( $\Delta H_m$ ) PCLTMC 86:14 była bardzo niewielka (6 J/g).

Jak przedstawiono na RYS. 1, po okresie trzydniowej inkubacji wzrost chondrocytów był w istotnym stopniu zahamowany w obecności P(CL-ko-TMC) 21:79 i P(CL-ko-TMC) 56:44. Obecność P(CL-ko-TMC) 86:14 w środowisku hodowli nie wywarła wpływu na szybkość proliferacji chondrocytów. Wymiana pożywki

po trzech dobach inkubacji spowodowała przyspieszenie wzrostu komórek rosnących w obecności P(CL-ko-TMC) 56:44 (RYS.2). Jednakże, P(CL-ko-TMC) 21:79 wywierał hamujący wpływ na wzrost komórek także po 6 dobach inkubacji. Należy przypuszczać, że stosunkowo powolny wzrost komórek może być spowodowany tendencją do pozostawiania śladowych ilości wymywalnych, cytotoksycznych substancji w tym bogatym w TMC materiale. Polimery zawierające jednostki węglanowe degradują znacznie szybciej w środowisku in vivo, podobnego efektu można się spodziewać w hodowli komórkowej prowadzonej w medium zawierającym 5% surowicy. Możliwe zatem, iż większe ilości śladowych substancji mogły uwolnić się z kopolimeru z największym udziałem jednostek węglanowych na skutek zainicjowania procesu degradacji hydrolytycznej już w tak krótkim czasie inkubacji (6 dni). Z drugiej strony P(CL-ko-TMC) 86:14 wydaje się całkowicie biokompatybilny. Uprzednie badania wykazały stosunkowo słabą adhezję i wzrost komórek na powierzchni materiałów zawierających dużą ilość reszt kaproilowych [5]. Wynikało to prawdopodobnie ze względnie dużej hydrofobowości polikaprolaktanu. Z tego względu zastosowanie tego typu materiałów w badaniach z zakresu inżynierii tkankowej będzie wymagało modyfikacji powierzchni, na przykład przez potraktowanie jej roztworem NaOH, powodujące powstawanie polarnych grup funkcyjnych. Takie modyfikacje umożliwiają wydajną adhezję i wzrost komórek [6].

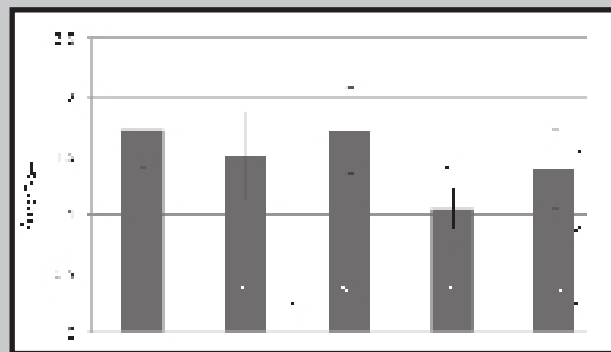


RYS. 1. Wzrost ludzkich chondrocytów inkubowanych 3 doby z: 1) Kontrola (pusty insert); 2) UHMWP; 3) P(CL-ko-TMC) 56:44; 4) P(CL-ko-TMC) 21:79 5) P(CL-ko-TMC) 86:14; n=10, średnia  $\pm$  SD, \*P<0,05 w porównaniu z kontrolą (ANOVA).

FIG. 1. Growth of human chondrocytes incubated 3 days with: 1) Control (empty insert); 2) UHMWP; 3) P(CL-co-TMC) 56:44; 4) P(CL-co-TMC) 21:79 5) P(CL-co-TMC) 86:14; n=10, mean  $\pm$  SD, \*P<0,05 compared to control (ANOVA).

Nevertheless, P(CL-co-TMC) 21:79 had an inhibitory impact on cell growth after 6 days of incubation. The relatively slow growth of cells might be caused by retention of some erodible cytotoxic substances in that TMC-rich material. In the other hand P(CL-co-TMC) 86:14 appears to be completely biocompatible. Previous studies revealed relatively poor adhesion and growth of cells on  $\epsilon$ -caprolactone-rich materials [5]. Polymers with carbonate units undergo faster degradation in vivo, so probably similar effect may be observed in the case of cell culture conducted in medium containing 5% of fetal bovine serum. Thus, the trace amount of substances could have been released from copolymer with the highest carbonate units' content due to initiation of hydrolytic degradation even after such a short time of incubation (6

days). It probably resulted from relatively hydrophobic nature of polycaprolactone. Therefore, utilization of copolymers containing large amounts of caproyl units in tissue engineer-



RYS. 2. Wzrost ludzkich chondrocytów inkubowanych 6 doby z: 1) Kontrola (pusty insert); 2) UHMWP; 3) P(CL-ko-TMC) 56:44; 4) P(CL-ko-TMC) 21:79 5) P(CL-ko-TMC) 86:14; n=10, średnia  $\pm$  SD, \*P<0,05 w porównaniu z kontrolą (ANOVA).

FIG. 2. Growth of human chondrocytes incubated 6 days with: 1) Control (empty insert); 2) UHMWP; 3) P(CL-co-TMC) 56:44; 4) P(CL-co-TMC) 21:79 5) P(CL-co-TMC) 86:14; n=10, mean  $\pm$  SD, \*P<0,05 compared to control (ANOVA).

## Podziękowania

Praca finansowana w ramach badań statutowych Śląskiego Uniwersytetu Medycznego (nr umowy: KNW-1-034/09) oraz projektu MEMSTENT (Grant Nr: UDA-POIG.01.03.01-00-123/08-03).

ing applications will require surface modifications such as chemical treatment with NaOH, causing creation of polar oxygenated functional groups. Such modifications allowed to achieve better adhesion and viability of cells [6].

## Acknowledgement

This work was financially supported by Medical University of Silesia, Grant No: KNW-1-034/09 and project MEMSTENT (Grant No: UDA-POIG.01.03.01-00-123/08-03).

## Piśmiennictwo

- [1] Kasperczyk J., Stokłosa K., Trzepietowska-Stępień K., Wilczok A., Dobrzyński P., Bero M., Sokół M., Przybyszewski W., Jurkowski M.: *Chemik* 2, 95 (2006).  
 [2] Athanasiou K.A., Niederauer G.G., Agrawal C.M.: *Biomaterials*, 17, 93 (1996).  
 [3] Di Toro R., Betti V., Spampinato S.: *Eur. J. Pharm. Sci.*, 21, 161 (2004).

## References

- [4] Czajkowska B., Dobrzyński P., Bero M.: *J. Biomed. Mater. Res. A.*, 74, 591 (2005).  
 [5] Pamula E., Dobrzyński P., Szot B., Kretek M., Krawciow J., Plytycz B., Chadzińska M.: *J. Biomed. Mater. Res. A*, 87, 524 (2008).  
 [6] Pamula E., Scisłowska-Czarnecka A., Szlek A., Chadzińska M., Dobrzyński P., Plytycz B.: *Eng. Biomater.*, 58–60, 24 (2006).

## BADANIA ZMĘCZENIA CIEPLNEGO STOMATOLOGICZNYCH WYPEŁNIEŃ KOMPOZYTOWYCH

KRZYSZTOF PAŁKA<sup>1\*</sup>, AGATA NIEWCZAS<sup>2</sup>

<sup>1</sup> POLITECHNIKA LUBELSKA, KATEDRA INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ, UL. NADBYSTRZYCKA 36, 20-608 LUBLIN, POLSKA

<sup>2</sup> UNIWERSYTET MEDYCZNY W LUBLINIE, KATEDRA I ZAKŁAD STOMATOLOGII ZACHOWAWCZEJ, UL. KARMEŁICKA 7, 20-081 LUBLIN, POLSKA

\* E-MAIL: K.PALKA@POLLUB.PL

### Streszczenie

W pracy przedstawiono przegląd literatury dotyczący zmęczenia cieplnego zębów, jako podstawę do opracowania koncepcji badań. Na bazie analizy temperatur mierzonych w jamie ustnej oraz czasu ich oddziaływania na zęby opracowano warunki pracy stanowiska badawczego. W wyniku realizacji projektu zbudowano stanowisko oraz wykonano badania testowe. Przedstawiono zmiany temperatury wody w naczynku pomiarowym oraz w zębie, w którym umieszczono termoparę. Ponadto przedstawiono wyniki wstępnych badań zmęczenia cieplnego zębów z wypełnieniami.

**Słowa kluczowe:** zmęczenie cieplne, materiały kompozytowe, szczelina brzeżna

[*Inżynieria Biomateriałów, 96-98, (2010), 61-65*]

## THERMAL FATIGUE RESEARCH OF DENTAL RESTORATIONS

KRZYSZTOF PAŁKA<sup>1\*</sup>, AGATA NIEWCZAS<sup>2</sup>

<sup>1</sup>LUBLIN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, DEPARTMENT OF MATERIALS ENGINEERING 36 NADBYSTRZYCKA STREET 36, 20-608 LUBLIN, POLAND

<sup>2</sup>MEDICAL UNIVERSITY OF LUBLIN, DEPARTMENTS OF CONSERVATIVE DENTISTRY, 7 KARMEŁICKA STREET, 20-081 LUBLIN, POLAND

\* E-MAIL: K.PALKA@POLLUB.PL

### Summary

In this paper a short literature review of thermal fatigue as a basis for thermocycling research was presented. On the analysis the higher and the lower temperatures measured in oral cavity and time of their action the working conditions of the test stand were developed. To realize the project the test stand was constructed and tested to verify the parameters. Temperature changes in each cycle in the test cell and in tooth equipped with thermocouple were presented. Moreover preliminary results of thermocycling there were presented.

**Keywords:** thermocycling, dental restoration, microleakage

[*Engineering of Biomaterials, 96-98, (2010), 61-65*]