

**Maciej HAJDUGA**, Zakład Inżynierii Materiałowej, Akademia Techniczno-Humanistyczna, Bielsko-Biała

**Maciej B. HAJDUGA**, Wydział Nauk o Zdrowiu, Akademia Techniczno-Humanistyczna, Bielsko-Biała

## **NANOPOWŁOKI Z METALI SZLACHETNYCH JAKO JEDNA Z ALTERNATYW OCHRONY IMPLANTÓW PRZED KOROZJĄ**

Streszczenie. Praca przedstawia projekt badawczy mający na celu kompleksową ocenę przydatności jako implantów, próbek tlenku cyrkonu pokrytego bardzo cienkimi powłokami z takich metali jak np. złoto, tytan, platyna.

Badane materiały będą oceniane zarówno pod kątem korozji w warunkach laboratoryjnych a po uzyskaniu pozytywnych wyników zostaną wszczepione zwierzętom doświadczalnym. Po zadanych okresach czasu, będzie oceniania zarówno powierzchnia próbek jak i tkanki zwierząt doświadczalnych.

### **1. WSTĘP**

W ostatnich latach możemy obserwować znaczny rozwój nowoczesnych materiałów ceramicznych. Rezygnacja z uzupełnień metalowo-ceramicznych w stomatologii, mimo bardzo dobrej wytrzymałości, podyktowana jest brakiem transparentności, procesami korozji, a także reakcjami zapalnymi, które powodują uwalnianie tlenków metali w kontakcie z dziąsłem brzęznym.

Alternatywnym rozwiązaniem jest ceramika oparta na tlenku cyrkonu. Ten nowoczesny materiał ceramiczny charakteryzuje się bardzo dobrą biogodnością, wytrzymałością i estetyką. Znany jest w medycynie już od ponad 20 lat. Wykonywane są z niego m.in. endoprotezy stawu biodrowego [1-3].

Dotychczasowe nasze badania dotyczące możliwości stosowania materiałów metalicznych na implanty obejmowały takie metale jak np.: chromel, molibden, wolfram, wolfram-ren [4,5].

Kolejny etap badań obejmował warstwy naniesione elektrolitycznie z metali takich jak cyna i srebro na bazie cienkich drutów [6,7].

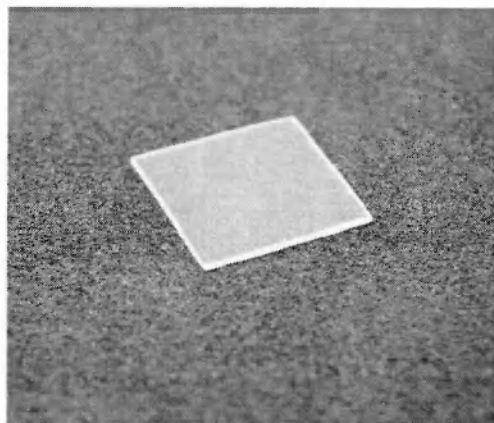
Dalszym krokiem było wytypowanie jako bazy tlenku cyrkonu i nanopowłoki.

### **2. STRATEGIA BADAŃ**

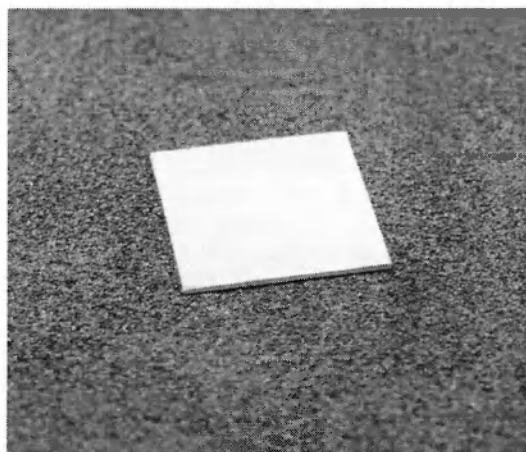
Badania będą prowadzone z użyciem materiału bazowego – tlenku cyrkonu z cienką powłoką metali szlachetnych (rys. 1-3) jak np. złoto, tytan, platyna. Początkowo grubość powłoki będzie wynosiła około 100 Å a następnie po uzyskaniu wstępnych wyników badań będzie ona zmniejszana bądź zwiększana.



Rys. 1. Próbkę okrągłe – tlenek cyrkonu  
Wym.:  $\varnothing=5\text{mm}$ , grubość 0,5mm



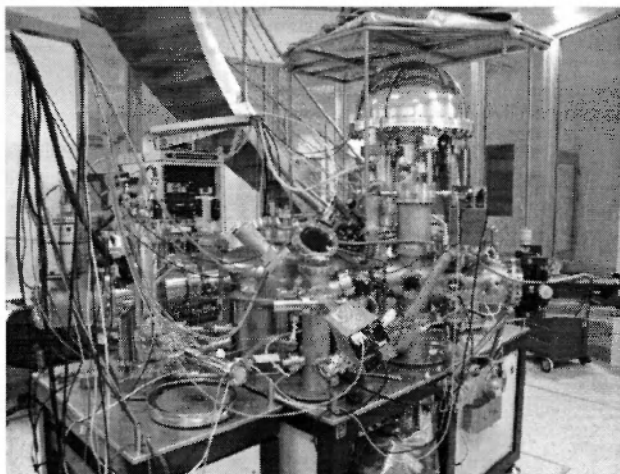
Rys. 2. Próbkę prostokątna – tlenek cyrkonu  
Wym.: 10mm x 10mm, grubość 0,5mm



Rys. 3. Próbkę prostokątna – cyrkon z nanopowłoką złota  
Wym. 10mm x 10mm, grubość 0,5mm

Próbki zostały wykonane i przeanalizowane w Laboratorium Powierzchni i Nanostruktur Instytutu Katalizy i Fizykochemii Powierzchni PAN. Wyposażenie Laboratorium stanowi kompleksowa aparatura przeznaczona do badań powierzchni ciał stałych litych i proszkowych w warunkach ultra wysokiej próżni (UHV). Aparatura pozwala na przygotowanie, wytworzenie, modyfikację i analizę metodami spektroskopowymi, mikroskopowymi oraz dyfrakcyjnymi powierzchni i nanostruktur.

Komory służące do przygotowywania i analizy próbek dołączone są do centralnej komory dystrybucyjnej. Próbkę wprowadzana jest do UHV na odpowiednim nośniku przez służę załadowniczą. Następnie, dzięki komórce dystrybucyjnej, może być przenoszona między wszystkimi komorami w warunkach UHV.



Rys. 4. Aparatura do nanoszenia cienkich warstw metali na próbki i ich analizy

Próbki będą badane we wstępnej fazie w fizjologicznym roztworze soli (0,9% NaCl), gdzie będą przebywały przez 60, 120 i 240 dni. Następnie będzie przeprowadzana analiza ich powierzchni pod kątem zmian makroskopowych, takich jak ubytki czy przebicia powłoki próbki. Będzie także analizowany stopień utlenienia powierzchni próbek przed i po implantacji.

Po uzyskaniu pozytywnych wyników badań korozyjnych dla danej grubości powłok, próbki zostaną umieszczone w środowisku hodowli tkankowych. Będą tam przebywały również 60, 120 i 240 dni.

Po każdym z okresów, próbki będą oczyszczane z tkanek. Następnie będą analizowane ubytki lub inne zmiany powierzchni warstwy metalu otaczającej materiał bazowy oraz jej skład chemiczny.

Tkanki natomiast zostaną zbadane pod kątem zmian histopatologicznych.

Ostatnim etapem badań będzie zaimplantowanie próbek zwierzętom doświadczalnym, w tym wypadku szczurom szczepu Wistar, na odpowiednie okresy czasu jak opisano wcześniej.

### 3. METODYKA BADAŃ

#### 3.1. Analiza powierzchni próbek

W celu określenia składu chemicznego warstwy wierzchniej próbek, wszystkie zaimplantowane materiały zostaną poddane suszeniu, a następnie przed przystąpieniem do badań na mikroanalizatorze rentgenowskim na ich powierzchni zostanie napyłony węgiel. Skład chemiczny warstwy otaczającej implant będzie analizowany metodą dyspersyjno falową.

Kolejnym etapem będzie ocena stanu warstwy metalicznej otaczającej materiał bazowy – tlenek cyrkonu.

Przed przystąpieniem do oceny zawartości tlenu na mikroanalizatorze rentgenowskim w powierzchniowej warstwie wyekstrahowanych implantów, ich powierzchnia będzie oczyszczona w 60% roztworze alkoholu metylowego i wody, przy temperaturze 70°C, w naczyniu komorowym przy wykorzystaniu ultradźwięków. Taka procedura ma na celu

zminimalizowanie wpływu na wynik oceny jakościowej zawartości tlenu na powierzchni próbki.

Tak przygotowane próbki zostaną przeemyte kilkukrotnie 95% alkoholem etylowym w temperaturze pokojowej oraz osuszone. Następnie zostanie przeprowadzona dla tych implantów ocena zawartości tlenu w warstwie wierzchniej (adsorbowanego i zawartego w tlenkach) w kilkunastu miejscach na powierzchni przy pomocy mikroanalizatora rentgenowskiego Jeol J7. Mikroanaliza rentgenowska pozwala na określenie jednorodności składu chemicznego oraz rozdziału składników pomiędzy poszczególne fazy. Do detekcji promieni X zostanie wykorzystany licznik proporcjonalny z ciągłym przepływem argonu.

Tlen w badanych mikroobszarach będzie oceniany jakościowo.

Równocześnie będzie dokonana ocena struktury warstwy powierzchniowej. Badania metalograficzne będą przeprowadzone na mikroskopie optycznym firmy Zeiss Axid Imager M1m, przy powiększeniach od 400x do 1000x. Bardziej szczegółowe badania powierzchni ocenianych materiałów zostaną przeprowadzone na mikroskopie skaningowym Jeol J7 z komputerowym analizatorem struktury, przy powiększeniach od 400x do 5000x.

### **3.2. Badania korozyjne**

Badania korozyjne będą prowadzone przy użyciu roztworu Ringera. Próbki zostaną umieszczone na poszczególne okresy 60, 120 i 240 dni w naczyniach z roztworem o stałej temperaturze około 37°C.

### **3.3. Implantacja próbek**

Badania będą prowadzone na dorosłych szczurach, samcach szczepu wistar. Zwierzęta będą przebywały w czasie doświadczenia w pomieszczeniach w standardowych warunkach laboratoryjnych. O stałej temperaturze 22°C ± 1° w 12-godzinnym cyklu sztucznego oświetlenia. W całym okresie doświadczenia będzie zapewniony swobodny dostęp do wody i standardowej diety. Przed wykonaniem zabiegu implantacji badanych drutów szczury zostaną znieczulone przez dootrzewnowe wstrzyknięcie 10mg Xylazyny i 100mg Ketaminy na 1 kg czystej substancji.

W celu wszczepiania implantu, skórę grzbietu szczura zostanie nacięta na długości ok. 1 cm. Do rany tj. do tkanki podskórnej zostaną wprowadzone dwie identyczne próbki w sposób jałowy. Identyczne próbki na dany okres czasu będą wszczepiane 4 osobnikom. Rana będzie zamknięta 2-3 szwami chirurgicznymi.

Szczury kontrolne będą pozornie operowane. Podobnie znieczulane jak szczury badane i poddane identycznemu zabiegowi operacyjnemu, tj. nacięciu skóry na czaszce i grzbiecie skóry i zamknięciu ran szwami chirurgicznymi.

### **3.4. Badania histologiczne tkanek**

Badania histologiczne będą przeprowadzane podobnie dla hodowli tkankowych jak i dla tkanek pobranych od zwierząt doświadczalnych.

Po pobraniu tkanek znajdujących się w bezpośrednim sąsiedztwie implantów, umieszcza się je w naczyniu z 10% roztworem formaliny celem utrwalenia. Proces utrwalenia trwa 7 dni. Następnie tkanki są tak krojone aby uwidocznić miejsca bezpośredniego kontaktu z próbkami. Tak przygotowany materiał odwadnia się i odfłuszcza w autotechnikonie. W urządzeniu tym,

poprzez ciąg kąpieli o zadanych czasach w alkoholu, ksylenie i acetonie przygotowuje się kanki do zatopienia w parafinie.

Tak opracowane tkanki zatapia się w parafinie uzyskując bloczki, z których na mikrotomie skrawa się je na skrawki grubości 5 $\mu$ m.

Po przeniesieniu na szkiełko podstawowe i zabarwieniu metodą hematoksyliny-eozyna uzyskuje się preparaty histologiczne. Preparaty te będą oceniane w mikroskopie świetlnym w powiększeniach od 100x do 400x.

W ocenie mikroskopowej w pierwszej kolejności będą porównane miejsca implantacji z podobną tkanką nie mającą kontaktu z próbką. Celem badania będzie także identyfikacja zmian wtórnych związanych najczęściej z uszkodzeniem mechanicznym tkanek podczas implantacji lub w trakcie trwania eksperymentu jak np. próba usunięcia implantu przez zwierzę doświadczalne.

W mikroskopowej ocenie histopatologicznej szczególna uwaga zostanie poświęcona następującym elementom:

- obecność fagocytów świadczących o toczącym się procesie zapalnym na styku tkanek mózgu z implantem,
- obecność złogów pochodzących z powierzchni korodującego implantu.

### 3.5. Analiza statystyczna uzyskanych wyników

Wyniki pomiarów stężenia tlenu na powierzchni badanych próbek zostaną przeanalizowane pod kątem istotności statystycznej różnic wartości średnich w implancie przy różnych czasach od wszczepienia, zaczynając od stanu przed wszczepieniem. Do tego celu zostaną wykorzystane testy statystyczne: ANOVA, tzn. analiza wariancji (w swojej najczęstszej postaci czyli klasyfikacji pojedynczej) oraz test  $t$  z dwiema próbami zakładający nierówne wariancje.

Zastosowane testy, należą do grupy najczęściej wykorzystywanych testów dla porównania własności dwóch lub więcej populacji. Zostanie ocenione czy czas jest istotnym czynnikiem wpływającym na poziom tlenu na powierzchni implantów.

### LITERATURA

- [1] Donovan T.E.: Factors Essential for Successful All-Ceramic Restorations. „J. American Dental Association”, 2008, 139, 14-18.
- [2] Borczyk D.: Dentysta w składzie porcelany, czyli krótki przewodnik po współczesnych systemach ceramicznych. e-Dentico, 2008, 2, 18.
- [3] Pospiech P.: All-ceramic crowns: bonding or cementing? „Clinical Oral Investigations”, 2002, 6, s. 189-197.
- [4] Hajduga M. B., Hajduga M., Zajęcki W.: Wpływ wybranych implantów metalicznych na charakter zmian w tkance nerwowej szczura. Konferencja Naukowa Majówka Młodych Biomechaników 2008; 09 – 11 maj 2008.
- [5] Hajduga M. B., Hajduga M., Zajęcki W.: Charakter zmian korozyjnych materiałów metalicznych w tkance żywej. IX Międzynarodowa Konferencja Mechanika w Medycynie; Rzeszów – Boguchwała 19 – 20 wrzesień 2008
- [6] Hajduga M. B., Hajduga M.: Identyfikacja zmian zawartości tlenu w warstwie wierzchniej powłok galwanicznych w kontakcie z tkanką żywą. IX Międzynarodowa Konferencja Mechanika w Medycynie; Rzeszów – Boguchwała 19 – 20 wrzesień 2008

- [7] Hajduga M. B., Hajduga M.: Ocena zmian powierzchni domózgowego implantu z powłoką cyny in vivo. „Ochrona przed korozją”, 2/2010, s. 49-51
- [8] Dejak B., Kacprzak M., Suliborski B., Śmielak B.: Struktura i niektóre właściwości ceramik dentystycznych stosowanych w uzupełnieniach pełnoceramicznych w świetle literatury. „Protetyka Stom.”, 2006, LVI, 6, s. 471-77.
- [9] Andzejczuk M., Lewandowska M., Kosmac T., Kurzydłowski J.K.: Stabilność strukturalna tetragonalnego tlenku cyrkonu w środowiskach wodnych i kwaśnych. „Archives of Metallurgy and Materials”, 2006, 51.
- [10] Marciniak J., Kaczmarek M., Ziębowicz A.: „Biomateriały w stomatologii”. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 2008.

## **NANOCOATINGS OF THE PRECIOUS METALS AS ONE OF THE IMPLANTS PROTECTION ALTERNATIVES AGAINST CORROSION**

Summary. The paper presents a research project aimed at a comprehensive assessment of suitability as implants, zirconium oxide coated samples for very thin coatings of metals such as gold, titanium, platinum.

The test materials will be evaluated both in terms of corrosion in the laboratory, and after obtaining positive results will be implanted in experimental animals. After a preset period of time, it will be analyzed both the surface of samples and tissue of experimental animals.