

Anna WOŻNA¹, Grzegorz ZIÓŁKOWSKI¹

¹Katedra Technologii Laserowych, Automatykacji i Organizacji Produkcji, Politechnika Wrocławska, Wrocław

ZASTOSOWANIE METODY MIKROTOMOGRAFII KOMPUTEROWEJ DO OKREŚLANIA STRUKTURY KOMPOZYTÓW BIORESORBOWALNYCH WYTWARZANYCH PRZY POMOCY GENERATYWNEJ TECHNOLOGII LASEROWEJ

Streszczenie: Artykuł porusza zagadnienia związane z wykorzystaniem metod mikrotomografii komputerowej do badań struktury kompozytów bioresorbowalnych wytwarzanych przy pomocy generatywnej metody laserowej. Wytworzone materiały, o różnych kompozycjach, poddane zostały analizie struktury wewnętrznej tj. warstwowości, porowatości oraz obserwacji innych anomalii występujących po procesie wytwarzania.

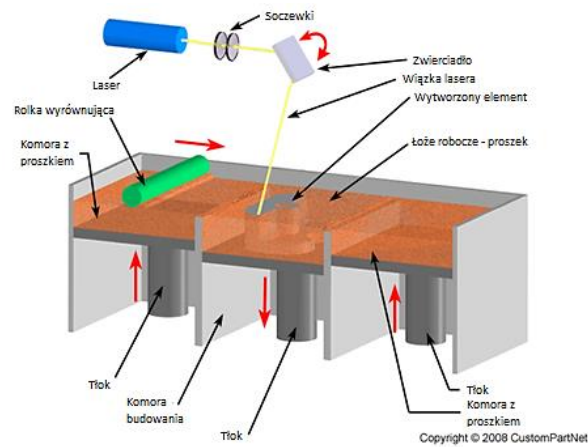
Słowa kluczowe: mikrotomografia komputerowa, kompozyty bioresorbowalne, technologie generatywne

1. WSTĘP

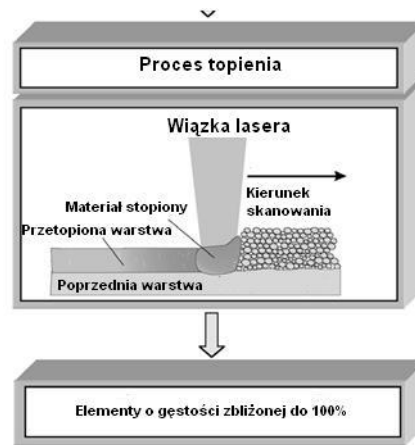
Kompozyty bioresorbowalne są materiałami wykorzystywanymi w obszarze medycyny regeneracyjnej. Przetwarzanie takich materiałów przy użyciu technologii generatywnych rozszerza ich potencjalne zastosowanie, jednak niezbędna jest kontrola jakości tak wytwarzanych obiektów. Do oceny jakości geometrii wewnętrznej bioresorbowalnych kompozytów polimerowo-ceramicznych wytworzonych przy pomocy generatywnej technologii laserowej, wykorzystano metodę mikrotomografii komputerowej (μ CT).

2. MATERIAŁ I METODA

Badane materiały wytworzone zostały przy pomocy generatywnej metody laserowej opartej o zasadę działania urządzeń Selective Laser Melting (SLM). Metoda ta polega na warstwowym wytwarzaniu obiektów z proszków materiałów topliwych z wykorzystaniem lasera. Materiał w postaci proszku nanoszony jest w pojedynczej warstwie na ruchome (w osi Y) łożo robocze, następnie w oparciu o zadany model, materiał topiony jest w ściśle określonych miejscach przez wiązkę lasera. Następnie łożo robocze obniżane jest o grubość pojedynczej warstwy proszku, kolejna warstwa jest nanoszona, następuje topienie i proces powtarzany jest do momentu uzyskania gotowego modelu. Schemat metody zaprezentowany jest na rysunkach 1 i 2.



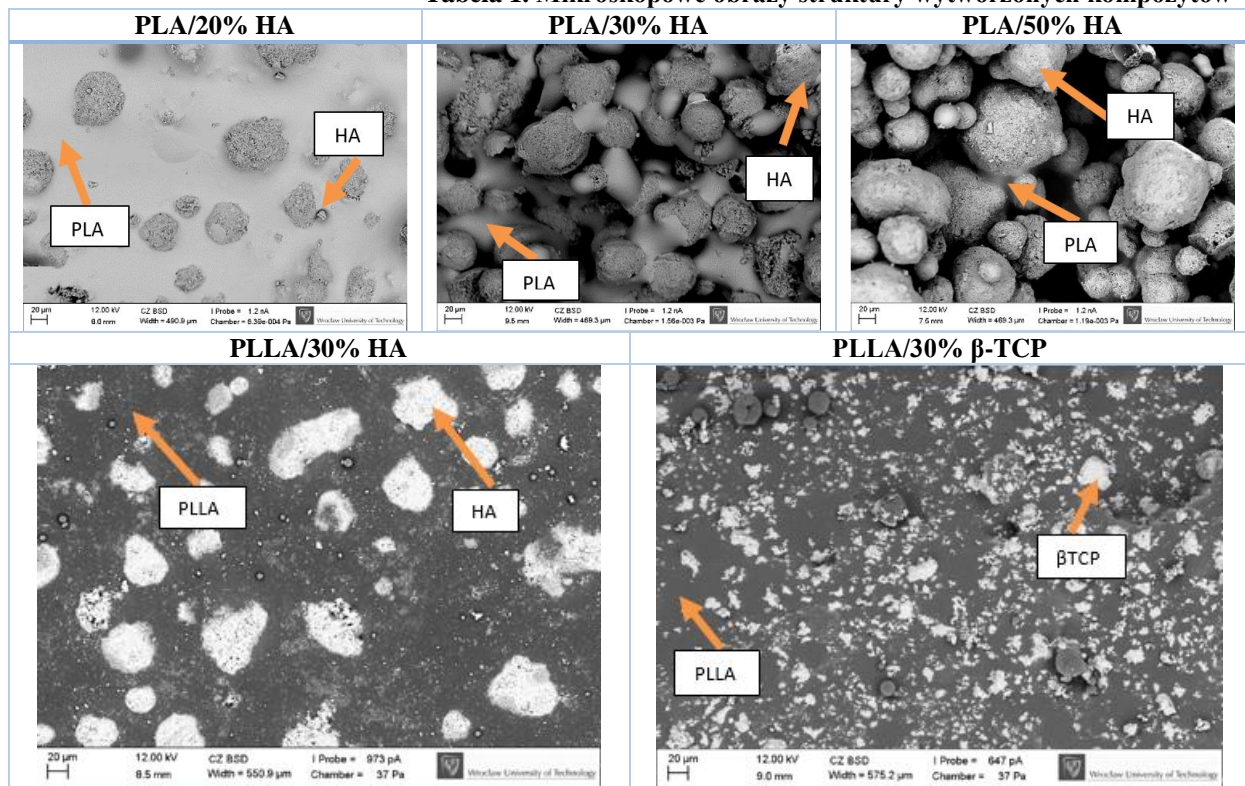
Rys.1. Schemat działania SLM [1]



Rys.2. Zasada działania SLM [2]

Materiały zostały wytworzone w kilku kompozycjach: 3 rodzaje proszków wsadowych stanowiących mieszaninę proszków polilaktydu (PLA) z hydroksyapatytem (HA) różniące się stężeniem ceramiki (20%, 30% oraz 50% HA) oraz 2 proszki wsadowe stanowiące mieszaninę poli-l-laktydu (PLLA) i dwóch rodzajów zastosowanej ceramiki – HA oraz β -trójfosforan wapnia (β -TCP) w stężeniu 30% ceramiki w każdym z materiałów. Na podstawie przeprowadzonych wcześniej badań, uzyskano parametry wytwarzania: $P=13,77$ W, $V_m=2,2$ m/s. W sumie wytworzono zestawy próbek 5 rodzajów materiałów, które zostały wstępnie poddane badaniom z wykorzystaniem metod mikroskopii skaningowej, co zobrazowano w Tabeli 1.

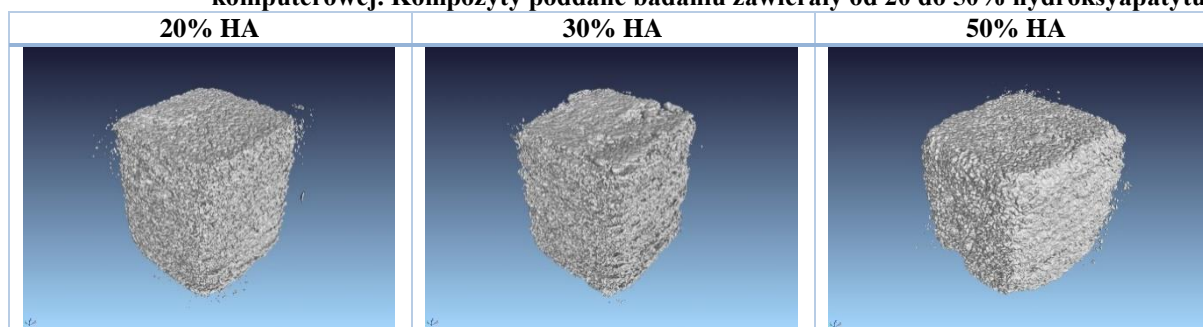
Tabela 1. Mikroskopowe obrazy struktury wytworzonych kompozytów



Metoda μ CT opiera się na analizie zmian stopnia pochłaniania promieniowania w rekonstruowanych obiektach [3], pozwalając na rozróżnienie materiałów o różnej gęstości np. materiałów wchodzących w skład badanych w tej pracy kompozytów. Odzworowanie

geometrii zewnętrznej i wewnętrznej próbki pozwala na wyznaczenie stopnia jej porowatości [4]. Przykładowe rekonstrukcje μ CT kompozytów bioresorbowalnych przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Widok 3D próbek poddanych rekonstrukcji z wykorzystaniem mikrotomografii komputerowej. Kompozyty poddane badaniu zawierały od 20 do 50% hydroksyapatytu.



Metoda μ CT pozwala na odwzorowanie geometrii wewnętrznej próbki bez konieczności jej niszczenia i wyznaczenie istotnych cech badanego materiału takich jak: porowatość, homogeniczność rozmieszczenia składników kompozytu, jednorodność nakładanych warstw (warstwowość), umożliwiając ocenę jakości struktury kompozytów bioresorbowalnych.

Badane materiały oceniano pod kątem cech struktury wewnętrznej obejmującej:

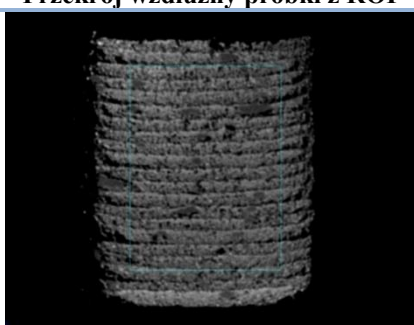
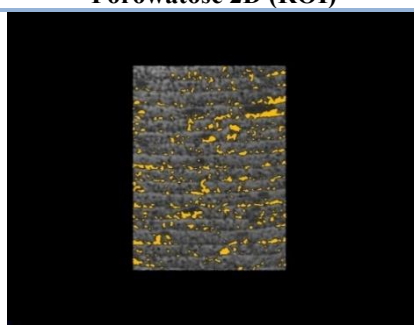
- warstwowości materiału,
- udziału wtrąceń polimerowych w strukturze próbki,
- porowatość.

Warstwowość jest jakościową cechą charakteryzującą materiały wytwarzane w generatywnych technologiach przyrostowych i wpływa na ich własności takie jak spójność czy dokładność odwzorowania kształtu. Udział wtrąceń polimerowych, wyrażony w procentach pozwala na ilościową kontrolę materiałów wchodzących w skład kompozytu, natomiast porowatość również wyrażona w procentach pozwala na porównanie cech uzyskanego materiału do porowatości dla tkanki kostnej.

3. ANIZOTROPIA MATERIAŁU

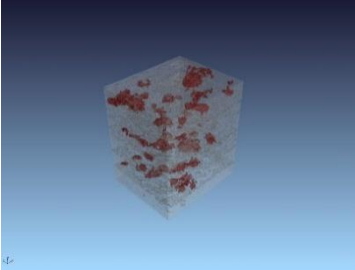
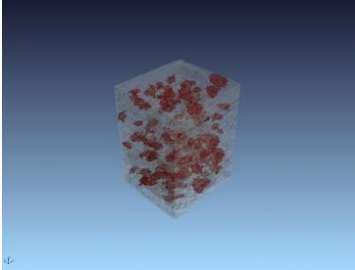
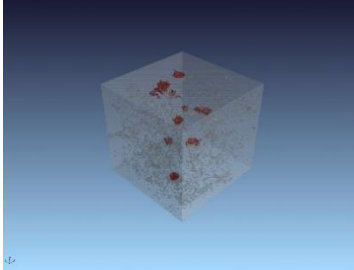
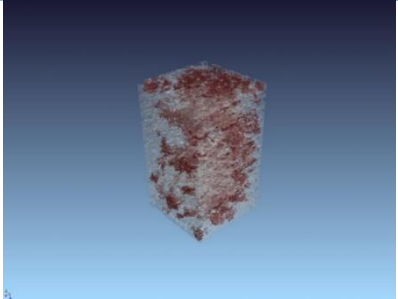
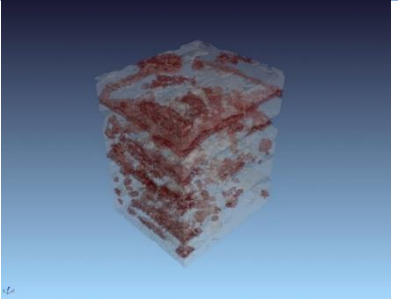
Próbki wytworzone w laserowej technologii generatywnej, budowane były z grubością pojedynczej warstwy na poziomie 0,5 mm. Przykładowy przekrój μ CT próbek z 20% zawartością HA pokazano w tabeli 3. Ze względu na nieregularne brzegi próbek wyszczególniony został obszar wewnątrz próbki nazywany Region of Interest (ROI). Dla tak określonego ROI wyznaczono porowatość oznaczoną w tabeli 3 kolorem żółtym.

Tabela 3. Przykładowy przekrój wzdłużny próbki z 20% zawartością hydroksyapatytu wraz z zaznaczoną porowatością 2D

	Przekrój wzdłużny próbki z ROI	Porowatość 2D (ROI)
20% HA		

Na podstawie przeprowadzonych badań μ CT można stwierdzić, że im większe stężenie hydroksyapatytu względem polilaktydu, tym bardziej warstwy są jednolite i podlegają mniejszemu odkształceniu związanemu ze skurczem polimeru podczas krzepnięcia. W próbkach o 20% i 30% stężeniu HA, udział polimeru jest większy, co skutkuje powstawaniem 'wtrąceń' polimerowych wynikających z połączenia się podczas przetapiania większej ilości cząstek polimeru, które ujawniły się na przekrojach μ CT w postaci obszarów o mniejszej intensywności skali szarości. Ich udział w analizowanych próbkach stanowił nie więcej niż ok. 4% objętości, a rozmieszczenie wtrąceń polimerowych przedstawiono w tabeli 4. Próbka o 50% zawartości HA jest najbardziej jednolita, nie wyróżniają się nakładane warstwy, co spowodowane jest niskim stosunkiem zawartości PLA względem HA. Niestety wytrzymałość próbki jest na tyle niska, że kruszy się bezpośrednio po wytworzeniu, co uniemożliwia rozpatrywanie kompozytu o tym stężeniu jako materiału mogącego znaleźć swoje zastosowanie jako uzupełnienie kości.

Tabela 4. Udział wtrąceń polimerowych w objętości próbek o zróżnicowanym składzie. Kolorem czerwonym zaznaczono zarejestrowane wtrącenia

20% HA	30% HA	50% HA
		
1,5% objętości próbki	4% objętości próbki	0,2% objętości próbki
PLLA+30%HA		PLLA+30% β TCP
		
19% objętości próbki		14,4% objętości próbki

Analogiczne badania przeprowadzono dla próbek na osnowie poli-l-laktydu z 30% domieszką HA i β -trójfosforanu wapnia (β -TCP). Podobnie jak poprzednio w kompozycie PLLA/HA wyróżnić można nakładane warstwy, jednak wygląd próbki nie jest tak jednolity i powtarzalny jak w przypadku materiałów bazujących na PLA. W przypadku obu kompozytów, należy zwrócić uwagę na znaczący wzrost poziomu porowatości, który może wynikać z błędnie wyznaczonej objętości powietrza przez algorytm detekcji porów, który jako powietrze klasyfikuje również intensywność skali szarości dla polimeru. Żeby ustalić rzeczywistą porowatość w przypadku dwóch ostatnich z analizowanych kompozytów wartość objętości wyznaczonej dla powietrza, pomniejszono o wartość objętości polimeru w próbce. W związku z tym przeprowadzono analizę mającą na celu określenie ilości 'wtrąceń' polimerowych (Tab. 4).

Uwidocznione wtrącenia polimerowe, nie stanowią całości polimeru zawartego w poszczególnych kompozytach. Najwięcej wtrąceń można zaobserwować w kompozycie o 30% zawartości HA, a ich rozmieszczenie jest regularne. Ponadto, cząstki ceramiki zespolone są ze sobą mniejszymi objętościowo ilościami polimeru, co zaobserwować można

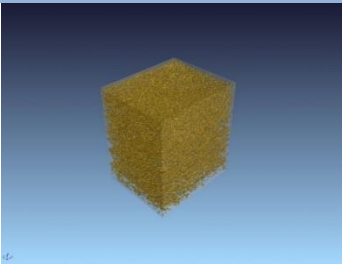
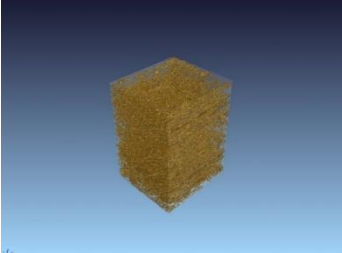
było na obrazach mikroskopowych (Tab. 1). Próbką z 50% zawartością HA reprezentuje najmniejszy udział wtrąceń, jednakże wiąże się to z bardzo słabym stopniem zespojenia materiału, co ma swoje przełożenie na własności wytrzymałościowe materiału.

W przypadku kompozytów na osnowie PLLA 'wtrącenia' polimerowe są równomiernie rozłożone, gwarantując dobre połączenie obu składników kompozytu. Ponadto, na obrazach mikroskopowych zaobserwować można było homogeniczny rozkład polimeru i ceramiki, a także połączenie cząstek ceramiki mniejszymi ilościami przetopionego polimeru (Tab. 1).

4. POROWATOŚĆ

Bardzo istotnym czynnikiem w przypadku kompozytów wykorzystywanych w celu uzupełnienia ubytków kości jest porowatość, która wpływa na przepływ składników odżywczych do przeszczepionych komórek. Minimalnym rozmiarem porów, przy którym następuje osadzanie komórek jest wartość 15 μm , jednak przerastanie następuje wówczas w ograniczonym zakresie. Powyżej 40 μm następuje natomiast już prawie całkowita penetracja komórkami kostnymi [5]. Jednakże, ograniczenia technologiczne narzucają wytwarzanie porów o większych rozmiarach. Przeprowadzone testy wykazały, że optymalnym rozmiarem porów dla fibroblastów jest wartość 20 μm , 20-125 μm dla komórek skóry ssaków, 200-400 μm dla rozrostu komórek kostnych [6, 7]. Tempo zrastania się implantów z tkankami macierzystymi jest uzależniona od porowatości i poziomu krystaliczności materiałów wykorzystanych do budowy rusztowań [8, 9, 10]. Porównano rusztowanie o strukturze pojedynczych porów z rusztowaniem o strukturze siatki. Okazało się, że struktura siatki znacznie przyspiesza procesy dyfuzji, ułatwia unaczynienie, zwiększa dopływ tlenu, substancji odżywczych oraz usuwanie produktów metabolizmu. Unaczynienie implantu jest warunkiem niezbędnym do regeneracji tkanek, z wyjątkiem tkanki chrzęstnej. Właściwości mechaniczne rusztowań powinny być podobne do regenerowanych tkanek lub organów. Dla silnie obciążanych tkanek, na przykład kostnych, wymagane jest, aby rusztowanie zachowało swój kształt bez względu na występujące, zmienne naprężenia. [11]. Dlatego w kolejnym etapie badań z wykorzystaniem μCT przeprowadzono analizę porowatości wytworzonych kompozytów. Wyniki zaprezentowano w tabeli 5.

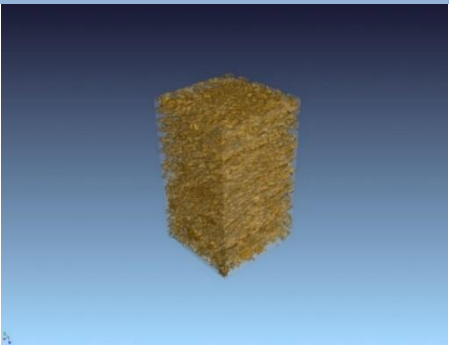
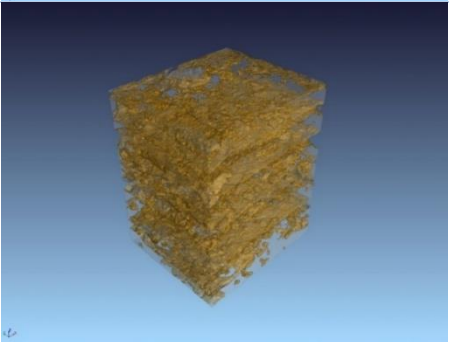
Tabela 5. Porowatość 3D wraz z udziałem w objętości próbek

	Porowatość 3D w ROI	Udział w objętości ROI
20% HA		Objętość całkowita materiału: 303.715 mm ³ Objętość porów: 38.771 mm ³ Udział w objętości całkowitej: 11.32 %
30% HA		Objętość całkowita materiału: 264.237 mm ³ Objętość porów: 38.576 mm ³ Udział w objętości całkowitej: 12.74 %

50% HA		<p>Objętość całkowita materiału: 251.070 mm³ Objętość porów: 19.946 mm³ Udział w objętości całkowitej: 7.36 %</p>
--------	---	---

Największą porowatością charakteryzują się materiały z 30% zawartością HA, co potwierdzają także obrazy mikroskopowe, analizowane wcześniej. Najmniejszą porowatością natomiast charakteryzuje się materiał z 50% zawartością HA, jednakże nie spełnia on kryteriów wytrzymałości (materiał ten uniemożliwił dalsze badania ze względu na swoją kruchość już w wyniku dotyku). Można uznać, iż porowatość w każdym ze stężeń ma podobną wartość, jednak krytyczny jest jej wpływ na własności wytrzymałościowe, ponieważ to ilość, rozkład, wielkość i kształt porów w materiale determinuje jego wytrzymałość.

Tabela 6. Porowatość 3D wraz z udziałem w objętości próbek

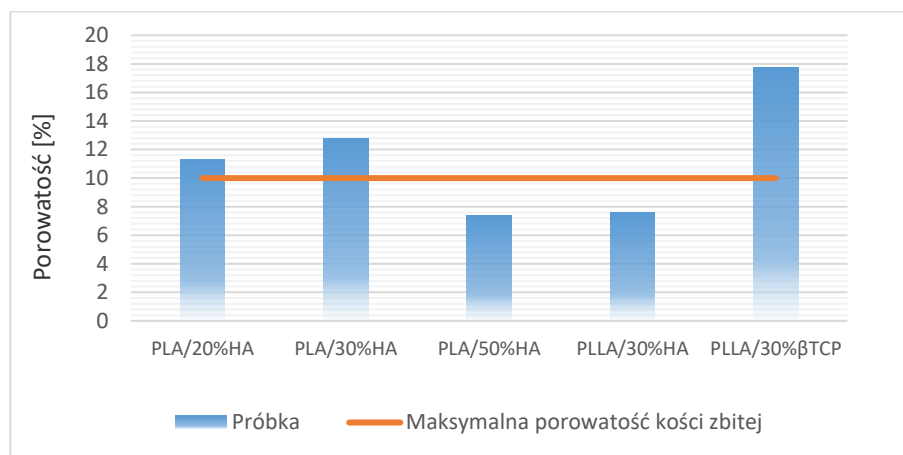
	Porowatość 3D w ROI	Udział w objętości ROI
PLLA+30%HA		<p>Objętość całkowita materiału: 111.544 mm³ Objętość porów: 9.162 mm³ Udział w objętości całkowitej: 7.59 %</p>
PLLA+30%βTCP		<p>Objętość całkowita materiału: 226.591 mm³ Objętość porów: 48.849 mm³ Udział w objętości całkowitej: 17.73 %</p>

Porównując porowatość wytworzonych materiałów do porowatości kości należy zauważyć, że kość zbita charakteryzuje się porowatością na średnim poziomie 5 - 10% [12], natomiast wytworzone materiały w najlepszym wypadku (PLA/50%HA i PLLA/30%HA) przekraczają tę wartość dwukrotnie. Z kolei porowatość kości beleczkowej, to prawie 80% [12] i żaden z materiałów nie uzyskał takiej wartości, ale należy pamiętać, że wytwarzane próbki były zamodelowane jako materiał lity.

5. PODSUMOWANIE

Uzyskane w badaniach z wykorzystaniem μ CT informacje na temat struktury wewnętrznej kompozytów bioresorbowalnych wytworzonych w generatywnej technologii laserowej

pozwołyły na ocenę jakości wytwarzanych obiektów, ich homogeniczność oraz stopień porowatości. Wytworzone materiały charakteryzują się porowatością od kilku do kilkunastu procent (Rys. 3). Porównując te wartości z porowatością kości zbitej (5-10%) zauważono, że dwa uzyskane kompozyty PLA/50%HA oraz PLLA/30%HA charakteryzują się porowatością zbliżoną do zbitej tkanki kostnej.



Rys.3. Porównanie porowatości określonej metodą μ CT dla badanych kompozytów

Mikrotomografia komputerowa pozwala na określenie zależności pomiędzy parametrami wytwarzania a jego strukturą wewnętrzną. Detekcja porowatości materiału, stopienia jego zespojenia, warstwowości i udziału obszarów o większym stężeniu polimeru pozwala na sterowanie procesem wytwarzania, w taki sposób, aby kompozyt charakteryzował się pożądanymi własnościami. Celem dalszych badań będzie optymalizacja parametrów wytwarzania bioresorbowalnych kompozytów w generatywnej technologii laserowej, pozwalająca na dopasowanie stopnia porowatości wytwarzanego materiału do zastępowanej tkanki kostnej.

LITERATURA

- [1] CustomPartNet: <http://www.custompartnet.com>
- [2] Hollander D. A., Wirtz T., von Walter M., Linker R., Shulteis R., Paar O.: Development of Individual Three-Dimensional Bone Substitutes Using “Selective Laser Melting”, “European Journal of Trauma”, 2003, p.228.
- [3] Stock, S. R.: Recent advances in X-ray microtomography applied to materials, “International Materials Reviews”, 2008, p.129-181.
- [4] Iassonov P., Gebrenegus T., Tuller M.: Segmentation of X-ray computed tomography images of porous materials: A crucial step for characterization and quantitative analysis of pore structures, “Water Resources Research”, 2009.
- [5] Hulbert S., Morrison S., Klawitter J.: Tissue reaction to three ceramics of porous and non-porous structures, “Journal of Biomedical Materials Research”, 1972, p.347-374.
- [6] Moghe P. V.: Soft-tissue analogue design and tissue engineering of liver, “MRS Bulletin”, 1996.
- [7] Behravesh E., Yasko A., Engel P. S. i Mikos A. G.: Synthetic biodegradable polymers for orthopaedic applications, “Clin. Orthop. Rel. Res.”, 1999, p.118-129.
- [8] Bancroft G. N. i Mikos A. G.: Bone tissue engineering by cell transplantation, Polymer Based Systems on Tissue Engineering, “Replacement and Regeneration”, 2002, p.251-263.

- [9] Blum J. S., Barry M. A. i Mikos A. G.: Bone regeneration through transplantation of genetically modified cells, "Clin. Plast. Surg.", 2003, p.611-620.
- [10] Mikos A. G., Sarakinos G., Lyman M. D., Ingber D. E., Vacanti J. P. i Langer R.: Prevascularization of porous biodegradable polymers, "Biotechnol. Bioeng.", 1993, p.716-723.
- [11] Mikos A. G., Thorsen A. J., Czerwonka L. A., Bao Y., Langer R., Winslow D. N. I Vacanti J. P.: Preparation and characterization of poly (L-lactic acid) foams, "Polymer", 1994, p.1068-1077.
- [12] Rho J. Y., Kuhn-Spearing L. i Zioupos P.: Mechanical properties and the hierarchical structure of bone, "Medical Engineering & Physics", 1998, p.92-102.
- [13] Maire E., Buffiere J., Salvo L., Blandin J. J., Ludwig W., Letang J. M.: On the application of X-ray microtomography in the field of materials science, "Advanced Engineering Materials", 2001, 3, No 8.
- [14] Moreno-Atanasio R., Williams R.A., Jia X.: Combining X-ray microtomography with computer simulation for analysis of granular and porous materials, "Particology", 2010, p.81-99.
- [15] Atwood R.C., Jones J.R., Lee P.D., Hench L.L.: Analysis of pore interconnectivity in bioactive glass foams using X-ray microtomography, "Scripta Materialia", 2004, p.1029-1033.

APPLICATION OF MICROTOMOGRAPHY METHODS FOR DETERMINATION OF THE STRUCTURE OF BIORESORBABLE COMPOSITES MADE WITH GENERATIVE LASER TECHNOLOGY

Abstract: The article raises issues related to the use of methods of computer microtomography to study the structure of bioresorbable composites produced using generative laser technology. Materials of various compositions were subjected to examination of internal structure, ie. stratification, porosity and other anomalies arisen after processing.