

Ocena bioaktywności in-vitro warstw tytanowych wytwarzanych techniką LENS na implantach

In-vitro bioactivity evaluation of titanium layers manufactured on implants with LENS method

BARTŁOMIEJ WYSOCKI
AGATA SUPEŁ
TOMASZ DUREJKO
WOJCIECH ŚWIĘSZKOWSKI *

DOI: <https://doi.org/10.17814/mechanik.2017.1.6>

Kształtowanie przyrostowe LENS (Laser Engineering Net Shaping), będące jedną z technik druku 3D, umożliwia zarówno wytwarzanie, jak i modyfikacje samej warstwy wierzchniej wytworzonego wcześniej produktu. W niniejszej pracy za pomocą techniki LENS wytworzono bioaktywne warstwy o wysokim rozwinięciu powierzchni na powierzchni endoprotez stawu biodrowego. Zarówno warstwy napawane, jak i podłoża były wytworzone ze stopu Ti-6Al-4V. Na otrzymanych warstwach zostały przeprowadzone testy bioaktywności in-vitro w roztworze SBF (Simulated Body Fluid), posiadającym wszelkie niezbędne składniki nieorganiczne osocza ludzkiej krwi. Powstawanie zarodków fosforanów wapnia zaobserwowano techniką SEM (Scanning Electron Microscopy) już po dwóch dniach immersji. Na podstawie uzyskanych wyników podczas badań z użyciem SEM i EDX (Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy) można stwierdzić, że wytworzone techniką LENS warstwy ze stopu Ti-6Al-4V wykazują wysoką bioaktywność w warunkach badań in-vitro w SBF.

SŁOWA KLUCZOWE: LENS, SBF, bioaktywność, in-vitro, fosforany wapnia

Laser Engineering Net Shaping (LENS), which is one of the 3DP techniques, allows for both, the fabrication and the modification of surface layer of the product previously prepared. In the current work, using LENS technique, highly developed bioactive layers, were prepared on the surface of the hip prosthesis. Both, fabricated layers and hip prosthesis, were fabricated from Ti-6Al-4V alloy. The tests were carried out using Simulated Body Fluid (SBF) solution, having all the necessary components on the inorganic human blood plasma. Scanning Electron Microscopy (SEM) showed the nucleation of calcium phosphates even after 2 days of immersion. Based on the results obtained in SEM and EDX tests, it can be claimed that Ti-6Al-4V layers manufactured using LENS technique exhibit high bioactivity in in-vitro, in the SBF solution.

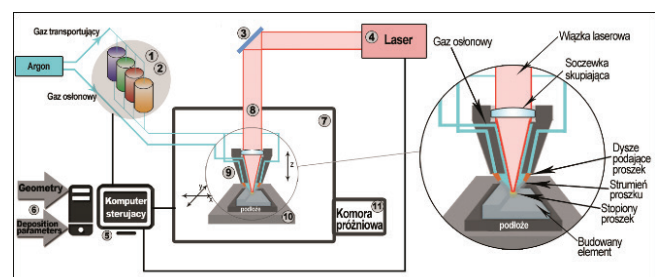
KEYWORDS: LENS, SBF, in-vitro, bioactivity, calcium phosphates

* Mgr inż. Bartłomiej Wysocki (bartlomiej.wysocki@wimpw.edu.pl), inż. Agata Supeł (agatasupel1@gmail.com) – Wydział Inżynierii Materiałowej Politechniki Warszawskiej, Materialscare Sp. z o.o.; dr inż. Tomasz Durejko (tomasz.durejko@wat.edu.pl) – Wojskowa Akademia Techniczna; prof. nadzw. dr hab. inż. Wojciech Świąszkowski (wswieszk@inmat.pw.edu.pl) – Wydział Inżynierii Materiałowej Politechniki Warszawskiej

Jedną z technik druku 3D, umożliwiającą modyfikację powierzchni implantów, jest metoda LENS (Laser Engineering Net Shaping). Zwiększenie rozwinięcia powierzchni implantów z wykorzystaniem techniki LENS realizuje się poprzez naniesienie cienkiej warstwy proszku stopianego w ognisku lasera. Proces ten sprzyja poprawie osteokonduktywności i pozwala wyeliminować potrzebę stosowania cementów kostnych podczas implantacji. Eliminacja wykorzystania cementów kostnych w endoplastyce stawu biodrowego jest szczególnie ważna ze względu na fakt, że podczas ich wiązania występuje egzotermiczna reakcja, prowadząca do obumierania otaczających tkanek. Endoproteza stawu biodrowego pokryta bioaktywną warstwą ze stopu Ti-6Al-4V, wykonaną metodą LENS, zapewni dobre mocowanie implantu w kości bez użycia cementów kostnych, co jest celem eksperymentu. Możliwość wytworzenia trwałego połączenia na granicy implant–kość można sprawdzić przed badaniami klinicznymi, np. poprzez testy in-vitro w roztworze SBF, podczas których powstają fosforany wapnia, w tym hydroksyapatyt, będący głównym składnikiem ludzkiej kości.

Materiały i metody

Warstwy Ti-6Al-4V zostały wytworzone na litym podłożu z tego samego stopu za pomocą urządzenia OPTOMEK MR-7 (rys. 1). Odległość między napawanymi ścieżkami wynosiła 0,5 mm, a ich wysokość – 0,25 mm. Po procesie wytwarzania próbki zostały oczyszczone z resztek proszku w wodzie oraz etanolu za pomocą płuczki ultradźwiękowej. Przed badaniem bioaktywności próbki zostały poddane aktywacji powierzchni z użyciem obróbki zasadowej – w roztworze 5M NaOH (24 h, 40°C).



Rys. 1. Schemat sposobu modyfikacji endoprotez za pomocą urządzenia LENS OPTOMEK MR-7 [1]

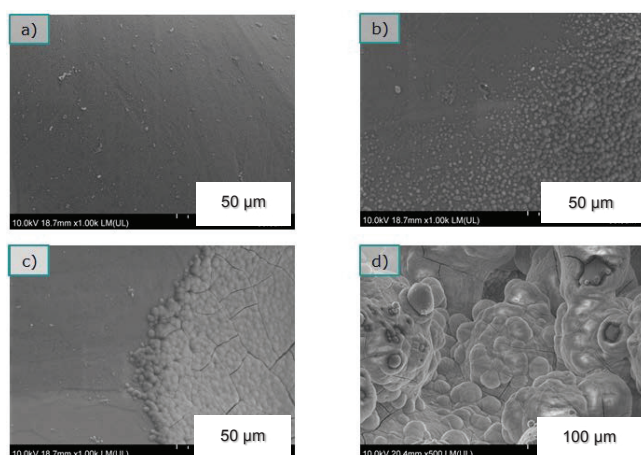
Badanie przeprowadzono w warunkach zbliżonych do tych, jakie panują w ludzkim organizmie. W tym celu przygotowano roztwór SBF o składzie podanym w tabeli [3]. Posiada on wszystkie niezbędne składniki nieorganiczne osocza ludzkiej krwi. Wartość pH przygotowanego roztworu również odpowiada wartości w ludzkim organizmie – 7,4. Inkubacja próbek przeprowadzana była w temperaturze bliskiej fizjologicznej temperaturze ludzkiego ciała – 37°C, w zamkniętych szczelnie probówkach. Maksymalny czas inkubacji wyniósł 35 dni.

TABLICA. Porównanie koncentracji jonów w osoczu krwi i przygotowanym roztworze SBF

Rodzaj jonów	Koncentracja jonów, mM	
	Osocze krwi	SBF
Na ⁺	142,0	142,0
K ⁺	5,0	5,0
Mg ²⁺	1,5	1,5
Ca ²⁺	2,5	2,5
Cl ⁻	103,0	147,8
HCO ₃ ⁻	27,0	4,2
HPO ₄ ²⁻	1,0	1,0
SO ₄ ²⁻	0,5	0,5
pH	7,2–7,4	7,4

Obserwacje SEM

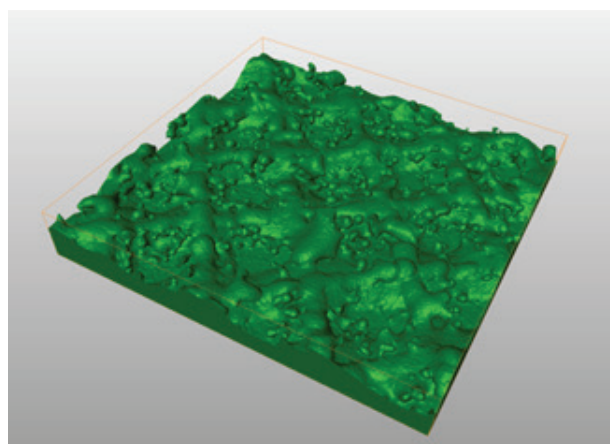
Powstawanie zarodków ceramiki Ca-P na powierzchni implantów zaobserwowano już po dwóch dniach (rys. 2a). Po upływie kolejnych dni rośnie szybkość tworzenia się i liczba zarodków. Po czterech dniach zarodki zaczynają się łączyć (rys. 2b), aby rozpocząć tworzenie ciągłej warstwy, która jest widoczna po sześciu dniach (rys. 2c). Po 35 dniach wgłębienia w warstwach pokryte są jednorodnymi warstwami Ca-P (rys. 2d).



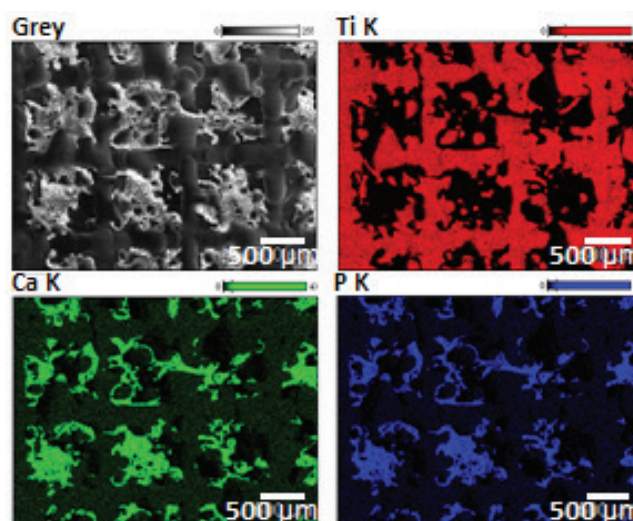
Rys. 2. Powierzchnia próbek po upływie: a) 2 dni, b) 4 dni, c) 6 dni, d) 35 dni

Analiza składu chemicznego

Rekonstrukcja wytworzonej warstwy przed procesem immersji została przedstawiona na rys. 3. Analiza EDS (rys. 4) potwierdziła, że w pierwszej kolejności warstwy Ca-P powstają w zagłębieniach wytworzonych pokryć. Po upływie 35 dni warstwa fosforanów wapnia była jednolita, równomierna oraz miała grubość minimum 1–2 µm. Analiza EDS wykazała, że stosunek Ca/P w powstałych warstwach wynosi ok. 1,33, co sugeruje powstanie fosforanów (okta) wapnia – OCP [3].



Rys. 3. Rekonstrukcja wytworzonej powierzchni (analiza CT)



Rys. 4. Analiza składu chemicznego powierzchni próbki (35 dni) po immersji w SBF

Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że wytworzone techniką LENS warstwy ze stopu Ti-6Al-4V wykazują wysoką bioaktywność w warunkach badań in-vitro w SBF. Powstanie jednorodnych warstw Ca-P na implantach świadczy o możliwości zapewnienia osteointegracji między implantem a otaczającą go tkanką kostną w warunkach in-vivo. Otrzymane wyniki są szczególnie istotne dla przewidywanych badań komórkowych i klinicznych.

Praca współfinansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach projektu „Innowacyjna technologia laserowego kształtowania przyrostowego LENS w zastosowaniu do modyfikacji geometrii i biofunkcjonalizacji warstwy powierzchniowej bezcementowych implantów stawu biodrowego” o numerze PBS3/A5/53/2015 realizowanego w ramach Programu Badań Stosowanych.

LITERATURA

- Durejko T., Ziętała M., Łazińska M. „Analiza możliwości dwustanowiskowego systemu LENS”. *Mechanik*. 12 (2014).
- Kokubo T., Takadama H. “How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?”. *Biomaterials*. 27 (2006).
- Wysocki B., Dybała B., Kurzydłowski K.J., Leszczyńska D., Świążkowski W. “CNTs as ion carriers in formation of calcium-phosphate coatings”. *Surface Engineering*. 31, 10 (2015).