

**UNIWERSYTET MEDYCZNY
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO
W POZNANIU**

**WYDZIAŁ LEKARSKI II
KATEDRA I ZAKŁAD BIOFIZYKI**

Marcin Mardas

**DYNAMICZNE WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNE
KOŚCI ZWIERZĘCEJ PODDANEJ DZIAŁANIU
PROMIENIOWANIA JONIZUJĄCEGO**

Rozprawa doktorska

Promotor: dr hab. Leszek Kubisz

Poznań, 2010

*Dr hab. Leszkowi Kubiszowi
za umożliwienie realizacji pracy doktorskiej,
cenne wskazówki, cierpliwość i wyrozumiałość
składam serdeczne podziękowania*

*Prof. dr hab. Feliksowi Jaroszkowi
za umożliwienie realizacji pracy doktorskiej
i życzliwość serdecznie dziękuję*

*Prof. dr hab. Janinie Markowskiej
za umożliwienie realizacji pracy doktorskiej
w Katedrze Biofizyki oraz życzliwość
serdecznie dziękuję*

Mojej Żonie za natchnienie i mobilizację do pracy

Rodzinie za otrzymane wsparcie

Serdecznie dziękuję

SPIS TREŚCI

1. WYKAZ SKRÓTÓW.....	7
2. WSTĘP.....	8
3. CELE PRACY.....	26
4. MATERIAŁY I METODY.....	27
4.1 POZYSKANIE I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU	27
4.2 NAPROMIENIENIE PRÓBEK.....	29
4.3 BADANIA METODĄ DYNAMICZNEJ ANALIZY	
MECHANICZNEJ (DMA).....	30
4.4 OPRACOWANIE WYNIKÓW I ANALIZA	
STATYSTYCZNA.....	31
5. WYNIKI.....	32
6. DYSKUSJA WYNIKÓW.....	60
7. WNIOSTKI.....	82
8. LITERATURA.....	83
9. STRESZCZENIE.....	92
10. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM.....	93
11. ZAŁĄCZNIKI.....	94

1. WYKAZ SKRÓTÓW

DMA- Dynamiczna Analiza Mechaniczna

E' – Moduł magazynowania

E'' – Moduł strat

E_a – Energia aktywacji

p – Poziom istotności

r – współczynnik korelacji

R^2 – współczynnik determinacji

σ - naprężenie

ε - odkształcenie

Gly – glicyna

HAP – hydroksyapatyt

W_{el} - praca elastyczna

W_{pl} – praca plastyczna

ω - częstość kątowna

δ - kąt przesunięcia fazowego

T_g – temperatura zeszklenia

T_m – temperatura topnienia

HIV – wirus zespołu nabytego braku odporności

WZW – wirusowe zapalenie wątroby

HTLV – wirus ludzkiej białaczki z komórek T

BMP - białka morfogenetyczne kości

TGF- β - transformujący czynnik wzrostu β

^{137}Cs – radioaktywny izotop cez 137

^{60}Co – radioaktywny izotop kobalt 60

DNA – kwas dezoksyrybonukleinowy

RNA- kwas rybonukleinowy

LVDT - transformatorowy czujnik przemieszczeń liniowych

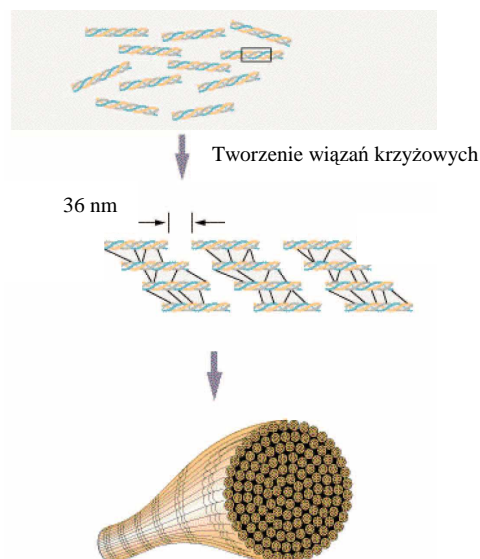
2. WSTĘP

Jedną z integralnych funkcji wyższych organizmów żywych, warunkujących ich samodzielność, jest zdolność do poruszania się. Podstawę aparatu ruchowego człowieka stanowi układ szkieletowy składający się z kości, stawów i więzadeł. Kość oprócz funkcji podporowej spełnia też wiele innych. Stanowi ochronę strategicznych dla życia narządów, jak to ma miejsce w przypadku czaszki, klatki piersiowej czy miednicy. Ponadto bierze udział w gospodarce wodno - elektrolitowej stanowiąc „magazyn” dla pierwiastków. Kość zawiera również czerwony szpik kostny, w związku z czym stanowi miejsce tworzenia elementów morfotycznych krwi [1].

Z punktu widzenia biologicznego kość jest tkanką łączną zbitą, składającą się z elementów komórkowych (osteocytów, osteoblastów i osteoklastów) oraz obficie występującej substancji międzykomórkowej, w której wyróżnić można trzy fazy: organiczną, mineralną oraz wodę [2].

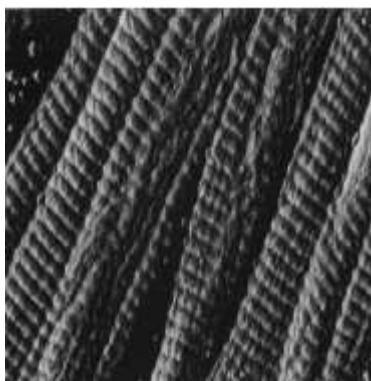
Część organiczna tzw. macierz, zbudowana jest w 90 % z kolagenu typu I. Pozostałe 10 % stanowi istota podstawowa w skład której wchodzi: proteoglikany (siarczan chondroityny, siarczan dermatanu), białka niekolagenowe (osteonektyna, osteokalcyna), fosfoproteidy (osteopontyna), sialoproteiny, lipidy i białka morfogenetyczne (BMP – bone morphogenetic protein) [2, 3].

Kolageny to glikoproteiny będące głównym składnikiem większości tkanek łącznych. Z tkanek ludzkich wyodrębniono ok. 19 typów kolagenu, zbudowanych z ok. 30 różnych łańcuchów polipeptydowych. Kolagen typu I zawiera ok. 1000 reszt aminokwasowych. Każdy łańcuch polipeptydowy (łańcuch α) tworzy lewoskrętną helisę, o skręcie zbudowanym z trzech reszt aminokwasowych. Trzy łańcuchy α skrócone w prawoskrętną superhelisę tworzą cząsteczkę o średnicy 1,5 nm i długości 300 nm (Ryc. 1) – tzw. tropokolagen [2, 3].



Ryc. 1. Budowa strukturalna włókna kolagenu. Na podstawie [4] - zmodyfikowano

Charakterystyczną cechą łańcucha polipeptydowego kolagenu jest występowanie na co trzecim miejscu glicyny. Wynika to z faktu, że glicyna jako najmniejszy aminokwas, jest w stanie zmieścić się w ograniczonej przestrzeni, w środkowej części rdzenia potrójnej helisy. Tak więc kolagen zbudowany jest z powtarzającej się sekwencji $(\text{Gly-X-Y})_n$ i choć w pozycji X i Y może znajdować się każdy aminokwas to ok. 100 reszt w pozycji X zajmuje prolina, a ok. 100 reszt w pozycji Y hydroksyprolina. Cząsteczki kolagenu ulegają polimeryzacji, układając się bok do boku przy przesunięciu o 67 nm tworząc włókna. Układ ten odpowiada za prążkowanie włókien kolagenowych, co zilustrowano na Ryc. 2. Poszczególne włókna łączą się dalej tworząc blaszki, które stanowią podstawową jednostkę funkcjonalną kości tzw. osteon. Osteon ma układ cylindryczny posiadający kanał pośrodku tzw. kanał Haversa, w którym przebiegają naczynia krwionośne i włókna nerwowe. Pomędzy blaszkami znajdują się osteocyty. Należy podkreślić, że z osteonów zbudowana jest kość w całości, przy czym w zależności od ich układu wyróżnia się kość zbitą i beleczkową (gąbczastą) [2 - 5].



Ryc. 2. Prążki włókien kolagenowych widoczne w obrazie mikroskopu sił atomowych. Na podstawie [3] - zmodyfikowano

Część mineralna kości składa się głównie ze związków fosforanu wapnia w postaci kryształów dwuhydroksyapatytu (HAP) - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Może również dochodzić do tworzenia tzw. dahlitu, zawierającego grupę CO_3 - $\text{Ca}_5(\text{PO}_4, \text{CO}_3)_3\text{OH}$. W skład sieci krystalicznej wchodzić też mogą takie pierwiastki jak chlor, fluor czy magnez, oraz śladowe ilości potasu. Kryształy HAP o wymiarach 50 nm długości i 25 nm szerokości łączą się w specyficznych miejscach na lub pomiędzy włóknami kolagenu. W procesie łączenia się tych dwóch składników ważną rolę odgrywa wymienione już białko - osteonektyna. Przyłączenie HAP do włókien kolagenu stabilizuje i wzmacnia jego strukturę, dodatkowo włókna kolagenowe również stabilizują sieć krystaliczną [6, 7].

Trzecią składową kości jest woda. Wyróżnia się trzy typy wody związanej z białkami: wodę strukturalną, związaną i wolną. Woda strukturalna (0 - 0,07 g/g) wbudowana jest w sieć kolagenu. Stabilizuje ona potrójną helisę tworząc wiązania wodorowe m.in. z hydroksyproliną. Jej uwolnienie możliwe jest dopiero w momencie denaturacji termicznej. Woda związana (0,07 - 0,25 g/g) to woda, której cząsteczki łączą się ściśle z włóknami kolagenu wypełniając miejsca pomiędzy ich molekułami. Tworzy ona wiązania z siecią krystaliczną i niektórymi niekolagenowymi białkami, a ponadto bierze udział w wymianie jonów z siecią krystaliczną. Woda wolna o zawartości większej niż 0,45 g/g wypełnia większe pory [8].

Zawartość poszczególnych składników kości różni się pomiędzy różnymi gatunkami zwierząt, osobniczo między osobnikami tego samego gatunku, jak też pomiędzy różnymi kośćmi tego samego osobnika [9, 10]. W Tabeli 1 - 3 przedstawiono skład kości zbitej pięciu różnych gatunków.

Tabela 1. Procentowy skład objętościowy „mokrej” kości zbitej różnych gatunków, na podstawie [9]

Gatunek	Zawartość wody % vol	Zawartość minerałów % vol	Zawartość części organicznej % vol
Człowiek	15,5	39,9	41,8
Małpa	23,0	42,6	41,1
Koń	25,0	41,0	40,5
Szczur	20,2	49,9	38,3
Krowa	26,2	42,6	36,2

Tabela 2 Skład mineralny „suchej” kości zbitej różnych gatunków, na podstawie [9]

Gatunek	Popiół [mg/g]	Ca [mg/g]	P [mg/g]	Mg [mg/g]	Na [mg/g]
Człowiek	670,0	256,9	112,6	2,7	6,5
Małpa	688,0	261,4	116,7	3,2	6,2
Koń	694,0	264,4	119,1	4,0	5,8
Szczur	735,0	288,1	130,7	4,5	4,8
Krowa	710,0	275,9	125,7	3,9	5,6

Tabela 3 Skład organiczny „suchej” kości zbitej różnych gatunków, na podstawie [9]

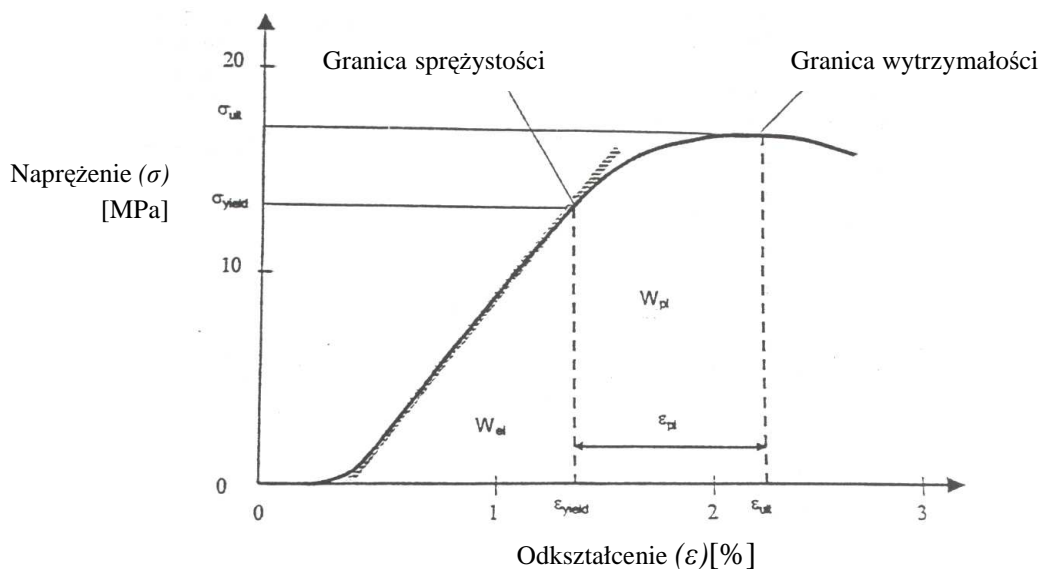
Gatunek	CO₂ [mg/g]	hydroksyprolina [mg/g]	heksozaminy [mg/g]	cytryniany [mg/g]	mleczany [mg/g]
Człowiek	42,5	30,0	1,1	13,8	0,3
Małpa	39,9	29,3	1,1	10,4	0,8
Koń	41,7	26,0	1,4	12,6	0,3
Szczur	35,6	20,0	1,9	5,6	0,3
Krowa	37,5	23,6	1,5	8,3	1,2

Klasyczne metody badania właściwości mechanicznych materiałów opierają się na tzw. analizie statycznej. Analiza ta pozwala na opisanie zachowania ciała w przypadku gdy działa na nie pojedyncza siła. Właściwości mechaniczne ciał, w szczególności ich wytrzymałość i sprężystość, są uwarunkowane rodzajem i wartością sił wzajemnego oddziaływania pomiędzy jego atomami i cząsteczkami. Odgrywa tu rolę także rodzaj sieci krystalicznej, a

w ciałach wielokrystalicznych, rozmiary kryształów, ich wzajemne ugrupowanie i wiązania pomiędzy nimi [7]. Miarą właściwości mechanicznych materiału jest odkształcenie, które powstaje na skutek przyłożonej do niego siły. Podczas odkształcenia wytwarza się wewnątrz ciała szczególny stan zwany naprężeniem. Współczynnikiem proporcjonalności między naprężeniem (σ) i odkształceniem (ε) ciała jest moduł sprężystości, zwany modułem Younga (E). Jest on jednocześnie cechą charakteryzującą właściwości mechaniczne - im wyższy, tym materiał jest bardziej wytrzymały. Z kolei odwrotnością modułu sprężystości jest współczynnik sprężystości (elastyczności) [11].

$$\sigma = E \cdot \varepsilon \quad (1)$$

Gdy działające siły są stosunkowo niewielkie, odkształcenie każdego ciała ma charakter sprężysty, tzn. odwracalny. Największe naprężenie przy którym ciało jest jeszcze odwracalne nosi nazwę granicy sprężystości. Początkowo zmiana naprężenia przebiega liniowo, odkształcenie zmienia się wprost proporcjonalnie do naprężenia co opisuje prawo Hook'a. Przy dalszym wzroście naprężenia obserwuje się nieliniowe odkształcenia odwracalne. Po przekroczeniu granicy sprężystości odkształcenie staje się nieodwracalne (plastyczne) co znaczy, że jeśli w tym momencie odjęto by napięcie to ciało nie powróci już do poprzednich wymiarów. Dalszy wzrost naprężenia prowadzi do rozerwania materiału. Wartość naprężenia, przy której zachodzi ten proces nazywamy granicą wytrzymałości. Pole powierzchni pod wykresem od jego początku, aż do granicy sprężystości to praca sprężysta (W_{el}), natomiast od granicy sprężystości do granicy wytrzymałości to praca plastyczna (W_{pl}). Praca potrzebna do złamania ciała jest sumą pracy sprężystej i plastycznej [11, 12]. Na Ryc. 3 przedstawiono schematycznie wykres zależności naprężenia od odkształcenia.



Ryc. 3. Krzywa naprężenie – odkształcenie. Na podstawie [12] - zmodyfikowano

Wśród własności mechanicznych oprócz wytrzymałości i sprężystości wyróżnia się również kruchość, elastyczność, sztywność i twardość. Ciała kruche charakteryzują się bardzo wąskimi granicami odkształceń sprężystych, źle reagują na wstrząsy i uderzenia (szkło, beton, żeliwo). Ciała elastyczne wykazują duże odkształcenia przy niewielkich naprężeniach (kauczuk, guma). Z kolei ciała sztywne wykazują małe odkształcenia pod działaniem znacznych obciążeń, a twarde charakteryzują się dużą wytrzymałością na zniszczenie - głównie w znaczeniu rozdrobnienia [12, 13].

Należy zaznaczyć, że właściwości mechaniczne materiałów zależą w znacznym stopniu od temperatury. Wzrost wartości temperatury sprzyja wzrostowi plastyczności (szkło kruche staje się plastyczne), a jej obniżenie wzrostowi kruchości (guma staje się krucha po zamrożeniu) [13]. Właściwości samej kości, zależą od wielu innych czynników, wśród których najważniejsze to: rodzaj gatunku, wiek, płeć i rodzaj stosowanej diety czy też okolica ciała [14].

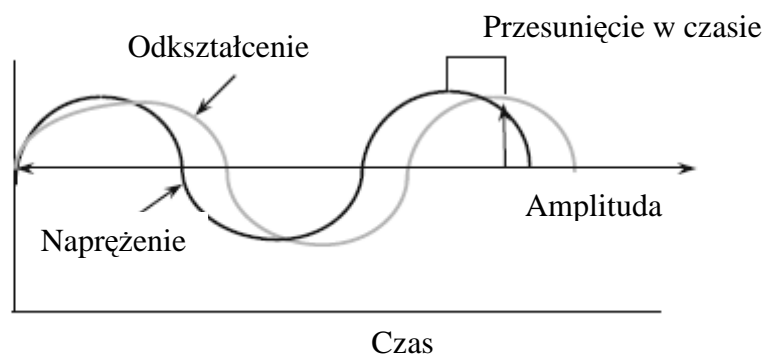
W badaniach właściwości mechanicznych wykorzystuje się różne rodzaje odkształceń: rozciąganie, ściskanie, skręcanie, zginanie i ścinanie. W warunkach fizjologicznych na kość najczęściej działają siły ściskania, rozciągania i zginania [11, 15, 16]. W Tabeli 4 przedstawiono średnie wartości właściwości mechanicznych części zbitej ludzkiej kości udowej reprezentacyjne dla grupy dorosłych.

Tabela 4. Wytrzymałość części zbitej ludzkiej kości udowej na różnorodne odkształcenia [1] – zmodyfikowano

Wytrzymałość na rozciąganie	107 MN/m ²
Wytrzymałość na ściskanie	159 MN/m ²
Wytrzymałość na zginanie	160 MN/m ²
Wytrzymałość na skręcanie	53 MN/m ²

W badaniach właściwości mechanicznych coraz częściej wykorzystuje się dynamiczną analizę mechaniczną - DMA (ang. Dynamic Mechanical Analysis). Jest to metoda stosunkowo nowa, nietatwa i dająca o wiele więcej informacji o badanym materiale niż metody statyczne. Choć pierwsze wzmianki o badaniach dynamicznych pochodzą z 1909 roku, to nowoczesny okres DMA został zapoczątkowany przez Gilhama w 1966 roku. Pierwszy komercyjny aparat do analizy DMA powstał w 1976 roku. Warto podkreślić, że od niedawna DMA wykorzystuje się również w badaniu materiałów biologicznych [17 - 20].

Różnica pomiędzy analizą DMA a badaniem statycznym polega na tym, że w badaniu DMA ciało zadawana jest oscylacyjna siła, która powoduje sinusoidalne naprężenie. Odpowiedzią na nie jest również sinusoidalne odkształcenie, przy czym naprężenie i odkształcenie są przesunięte w czasie – Ryc. 4. [17, 18]



Ryc. 4. Zasada działania DMA – sinusoidalne naprężenie powoduje sinusoidalne odkształcenie, o tej samej amplitudzie lecz przesunięte w czasie, na podstawie [17] – zmodyfikowano

Jeśli przyjmie się, że odkształcenie będzie się zmieniało zgodnie z zależnością (2), to naprężenie będzie miało przebieg opisany równaniem (3):

$$\varepsilon = \varepsilon_0 \cdot \sin(\omega \cdot t) \quad (2)$$

$$\sigma = \sigma_0 \cdot \sin(\omega \cdot t + \delta) \quad (3)$$

gdzie:

ε_0 - amplituda odkształcenia,

ω - częstość kątowna,

δ - kąt przesunięcia fazowego.

Wśród parametrów mierzonych w badaniu DMA wymienia się: moduł magazynowania (E'), moduł strat (E'') oraz moduł zespolony (E^*). Moduły pozwalają lepiej scharakteryzować badany materiał, poprzez możliwość pomiaru zdolności do zatrzymywania energii (E'), do jej rozproszenia (E'') jak również zmierzyć stosunek tych efektów ($\tan \delta$) czyli tzw. tłumienie [17, 18].

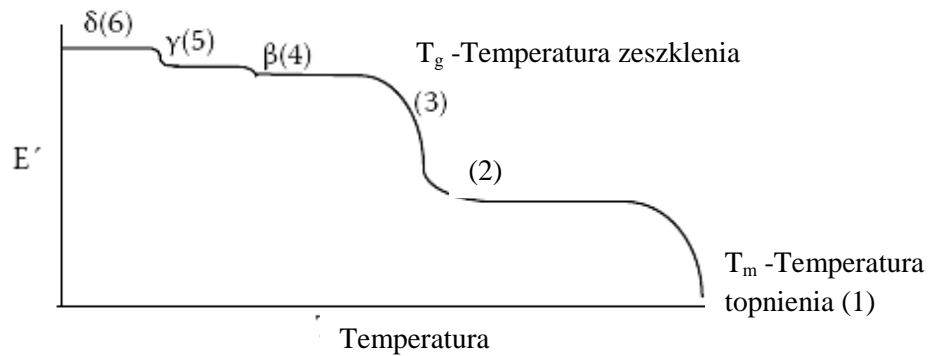
$$E^* = E' + iE'' \quad (4)$$

$$\tan \delta = E''/E' \quad (5)$$

W przypadku ciał doskonale sprężystych $E'' = 0$, natomiast dla ciał doskonale lepkich $E' = 0$. Dla polimerów i kompozytów na ogół $E'' < E'$ [19].

DMA pozwala zmierzyć odpowiedź badanego materiału dla różnych częstotliwości i temperatur np. w eksperymencie z częstotliwością przykładanej siły 1 Hz i szybkością wzrastania temperatury 5 °C/min można przebadać materiał w zakresie ponad 200°C w czasie ok. 20 min. Dla badań metodami klasycznymi w tym samym zakresie temperatur wymagane jest kilka dni pracy [20].

Na Ryc. 5 przedstawiono wzorcową krzywą zależności modułu magazynowania od temperatury. E' maleje w miarę wzrostu temperatury, a cząsteczki wykonują coraz bardziej skomplikowane ruchy. Krzywa ta podzielona jest na 6 regionów, które odpowiadają kolejno: 6 – ruchom lokalnym, 5 – zginaniu i rozciąganiu wiązań, 4 – ruchom w łańcuchach bocznych lub atomów przyległych do łańcucha głównego, 3 – regionowi zeszklenia, 2 – skoordynowanym ruchom amorficznej części łańcucha, 1 – regionowi topnienia [17]



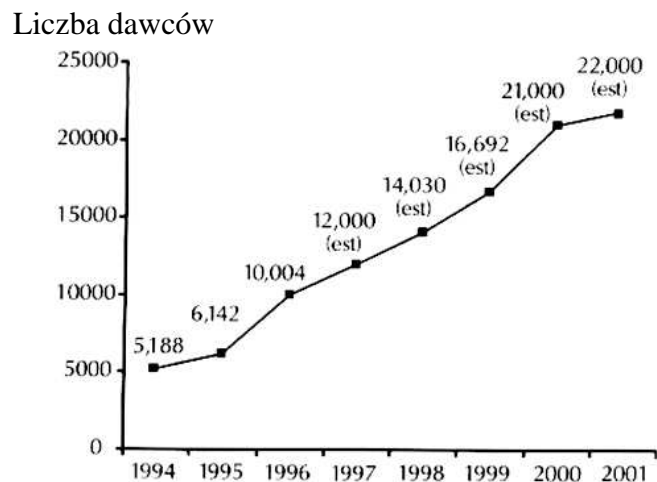
Ryc. 5. Wzorcowa krzywa zależności E' od temperatury, na podstawie [17] – zmodyfikowano

W badaniach DMA kości Wang i Feng [21] oraz Mano [22] opisano zależność temperaturową wartości E' wskazując na wpływ właściwości termicznych kolagenu. Yamashita i wsp. [23] wykazali, że denaturacja kolagenu zachodzi w większości przypadków w zakresie temperatur 100 - 200°C. Wang i wsp. [24] wykazali natomiast, że temperatura denaturacji kolagenu rozpoczyna się po przekroczeniu temperatury 120°C, natomiast proces ten kończy się w 190°C. Inne spojrzenie na ten temat rzuca jednak praca Bowmana i wsp. [25], który w swoich badaniach udowodnił, że temperatura denaturacji zdekalcyfikowanego kolagenu wynosi 50 - 56°C, a więc w dużej mierze zależy od obecności fazy mineralnej kości. Tezę tą potwierdzają badania Kronicka i Cooke [26], którzy wykazali, iż temperatura denaturacji kolagenu pochodzącego z kości wynosi 155°C, czyli o 90°C więcej niż kolagenu pochodzącego ze skóry. Dodatkowo zaznaczyć należy iż temperatura denaturacji kolagenu zależy również od stopnia uwodnienia. Miles i Ghelashvili [27] wykazali, iż „przewodniony” kolagen (88,2% v/v wody) ulega denaturacji w temperaturze 60°C, przy standardowym uwodnieniu (14,3% v/v wody) w temperaturze 135°C, natomiast suchy kolagen (0,9% v/v wody) wykazywał temperaturę denaturacji 210°C. Potwierdzają to również badania Nguyen i wsp [28], którzy udowodnili że temperatura denaturacji suchego kolagenu wynosi 217°C.

Oprócz badań termodynamicznych metoda DMA daje również możliwość tzw. badań zmęczeniowych, a więc badania zmian E' i E'' w stałej temperaturze w przebiegu czasu. Badania takie w dostępnej literaturze wykonał tylko Yamashita i wsp [29]. Wykazał on, iż po ok. 80 minutach wartości E' utrzymują się na w miarę stałym poziomie. Całe badanie trwało 150 minut, natomiast brak jest

dostępnych badań o wpływie dłuższego czasu trwania takiego badania na dynamiczne właściwości mechaniczne kości.

Postęp szeroko pojętych nauk biologicznych pozwala na coraz szersze wykorzystanie w medycynie przeszczepów, w tym również przeszczepów kostnych. Przeszczepy kostne podzielić możemy na autologiczne – pochodzące od tego samego osobnika od którego są pobierane, allogeniczne – pobierane od osobnika tego samego gatunku i ksenogeniczne, przeszczepiane od osobnika innego gatunku [30, 31]. Allogeniczne przeszczepy kostne wykorzystywane są w bardzo szerokim zakresie w zabiegach operacyjnych, począwszy od masywnych przeszczepów kostnych, aż do kości mielonych, używanych jako materiał wypełniający [32 - 35]. Około 15% wszystkich zabiegów rekonstrukcyjnych wymaga użycia przeszczepów kostnych. Wskazania do wykorzystania kości allogenicznej rosną wraz z wielkością defektu, który trzeba zrekonstruować [36]. Wyłącznie w Stanach Zjednoczonych każdego roku wykonuje się ok. 450 tys. przeszczepów allogenicznych [37]. Każdego roku rośnie też liczba dawców (Ryc. 6) [38]. Dla porównania w Polsce w roku 2009 liczba dawców tkanek i narządów wyniosła 1091, z czego 922 dawców zmarłych. Do szpitali w Polsce w celu przeszczepu wydano natomiast 9571 opakowań kostnych materiałów wypełniających (nasady kości długich, talerze biodrowe, pokrywy czaszki, mostki, żebra, żuchwy itp.), 163 fragmenty trzonów kości długich oraz 4 masywne przeszczepy (nasada + trzon kości długiej, połowa miednicy) [39]. Dla porównania w roku 2007 tkanki pobierano od 884 dawców, do szpitali wydano 251 fragmentów trzonów kości długich, 9308 opakowań kostnych materiałów wypełniających [40].



Ryc. 6. Trendy liczby dawców tkanek układu mięśniowo – szkieletowego w USA w latach 1994 - 2001 [38]. *est* – liczba szacunkowa

W Polsce 70 – 85 % przeszczepów allogenicznych wykonano u dzieci, nastolatków i młodych dorosłych, a głównymi wskazaniami były malformacje kostne, łagodne guzy kości i urazy [41]. Wskazaniami do wykorzystania kości allogenicznej wg. Hofmanna są [36]:

- Chirurgia urazowa:
 - Osteosynteza zamkniętych złamań z dużymi defektami kostnymi
 - Niezakażony brak zrostu kości
 - Przetrwale defekty kostne
- Chirurgia guzów szkieletu:
 - Ubytki po resekcji guzów kości
 - Ubytki po dużych torbielach kostnych
- Zabiegi korekcyjne po endoprotezowaniu

Natomiast wśród przeciwwskazań do wykonywania przeszczepów allogenicznych wymienia się [36]:

- Zabiegi otwartych złamań w trybie pilnym
- Złamania zamknięte z urazami tkanek miękkich

Niewątpliwie do zalet kości allogenicznych zaliczyć należy przede wszystkim ich szeroką dostępność, szczególnie w przypadku dużych ubytków. W przeciwieństwie do przeszczepów allogenicznych, pozyskanie przeszczepów autogenicznych wiąże się z dodatkowym cierpieniem pacjenta, jak również większym ryzykiem zabiegu [42]. Dodatkowo podkreślić należy, że nie wykazano wyższości przeszczepów autologicznych, allogenicznych czy też syntetycznych. Najczęściej decyzja o użyciu danego materiału jest subiektywną oceną chirurga [34, 43, 44].

Wadą przeszczepów allogenicznych jest natomiast potencjalna możliwość przenoszenia chorób. W związku z tym, w bankach tkanek wypracowano bardzo rygorystyczne procedury skryningu dawców do pobrania tkanek. Należą do nich m.in. szczegółowy wywiad medyczny i społeczny dawcy tkanek, analiza markerów zakażenia w kierunku HIV-1 i HIV-2, WZW typu B, WZW typu C, HTLV-I (ang. human T-cell leukemia virus – wirus ludzkiej białaczki z komórek T), HTLV-II oraz kiły jak również wywiad i badania w kierunku chorób nowotworowych [45 - 50].

Na bazie przeszczepionej tkanki kostnej powstaje nowa kość (remodeling), a proces ten związany jest ze wzrostem aktywności osteoklastów, które zapoczątkowują proces resorpcji beleczek kostnych. Remodeling przeszczepionej kości trwa od kilku miesięcy do kilku lat, w zależności od wielkości przeszczepu, jego właściwości fizyko - biologicznych oraz stanu ogólnego pacjenta [51 - 54]. Dlatego też tak ważne jest, by przeszczepiona kość zachowała swoje właściwości mechaniczne. Pomimo iż przeszczepy kości gąbczastej wykazują mniejszą wytrzymałość mechaniczną w porównaniu do kości zbitej, to jednak wykazują lepsze właściwości osteogeniczne. Fakt ten spowodowany jest większą porowatością i powierzchnią kontaktu z komórkami biorcy. Warto podkreślić, że przeszczepy korowe, choć wolno ulegają przebudowie, to jednak ich wytrzymałość mechaniczna nie ulega gwałtownemu osłabieniu po przeszczepie [55]. W procesie remodelingu kości bardzo ważną rolę odgrywają białka morfogenetyczne kości (BMP) i transformujący czynnik wzrostu β (TGF- β). Dla właściwego funkcjonowania BMP potrzebują nośnika, którym jest kolagen. Promieniowanie jonizujące poprzez rozrywanie włókien kolagenu upośledza również funkcję BMP [41, 56]. Remodeling kości w dużej mierze zależy również od osteoklastów, które zapoczątkowują proces resorpcji kości. Wpływ

promieniowania jonizującego na aktywność osteoklastów badali Kluger i wsp. [57]. W swoich badaniach wykazali, że sterylizacja dawką 25 kGy zmniejsza aktywność osteoklastów o 57 %.

Wśród przeszczepów autologicznych wyróżnić można przeszczepy kości gąbczastej, unaczynionej kości zbitej, nieunaczynionej kości zbitej oraz kości zawierającej czerwony szpik kostny. Kości autologiczne posiadają zarówno właściwości osteoindukcyjne, osteokondukcyjne jak i osteogeniczne. Miejscami, z których najczęściej pobiera się kości do przeszczepu są: grzebień kości biodrowej, kość strzałkowa i rzadziej kość promieniowa [53, 58 - 60].

Oprócz auto- i allogenicznych przeszczepów w transplantologii wykorzystuje się też materiały kościozastępcze. Materiały te zbudowane są z sieci krystalicznej zawierającej w swym składzie głównie związki wapnia. Pozostałe części to hydroksyapatyty pochodzenia bydłowego czy też pozyskane z koralowców, kolageny zwierzęce i inne związki mineralne. Jedną z nowości jest tzw. bioaktywne szkło zawierające w swym składzie dwutlenek silikonu (45%), tlenek wapnia (24,5%), tlenek sodu (24,5%) oraz pirofosforan (6%) [59, 61, 62]. Na rynku dostępnych jest wiele preparatów do wypełnienia mniejszych ubytków na bazie zdemineralizowanej macierzy kostnej. Preparaty te można zakupić w formie proszku, granulek lub też gotowego do bezpośredniego użycia żelu [60]. Leung i wsp. [63] w swych badaniach wykonali analizę kosztów związanych z przeszczepem głowy kości udowej w porównaniu z użyciem materiału syntetycznego, nie biorąc pod uwagę względów medycznych. Okazało się, iż sumaryczny koszt przeszczepu głowy kości udowej w przeliczeniu na 1 gram wynosił 86 \$ w porównaniu z przeszczepem syntetycznym – 9 - 27\$.

W przypadku przeszczepów allogenicznych, pobrana kość musi zostać precyzyjnie przygotowana do przeszczepu. Po usunięciu tkanek miękkich i odtłuszczeniu kość poddana zostaje procesowi sterylizacji. Jedną z najbardziej rozpowszechnionych metod sterylizacji kości, ze względu na bardzo dobrą penetrację i wysoką efektywność w inaktywacji mikroorganizmów, jest promieniowanie jonizujące (β lub γ) [64, 65]. Jak dotąd nie uzyskano międzynarodowego konsensusu dotyczącego optymalnej dawki promieniowania, aczkolwiek zalecane dawki mieszczą się w przedziale 15 - 35 kGy [32]. Dobór dawki jest swego rodzaju kompromisem, gdyż musi być ona dostatecznie wysoka

by zinaktywować wszystkie mikroorganizmy i jednocześnie dostatecznie niska by zachować właściwości mechaniczne kości [6]. W Polsce, w Krajowym Centrum Bankowania Tkanek i Komórek w Warszawie, standardowo używa się dawki 35 kGy [41]. Dla porównania w USA „złotym standardem” jest dawka 25 kGy [33]. Skuteczność sterylizacji radiacyjnej zależy w dużej mierze od ilości dostarczonej energii (dawki promieniowania), ilości mikroorganizmów, jak również ich oporności na promieniowanie jonizujące. Sterylizacja radiacyjna jest procesem fizycznym, polegającym na przekazywaniu poddawany jego działaniu obiektom wyłącznie energii. Dzięki temu jest to metoda czysta, która uniemożliwia wprowadzenie przypadkowych zanieczyszczeń z zewnątrz [33, 41].

Obecnie praktyczne zastosowanie w sterylizacji medycznej mają dwa rodzaje źródeł promieniowania: promieniotwórczy izotop ^{60}Co oraz akceleratory elektronów. Promieniowanie uzyskiwane z radioaktywnego izotopu ^{137}Cs oraz promieniowanie hamowania, czyli twarde promieniowanie X stosowane są obecnie tylko na małą skalę, w nielicznych ośrodkach naukowych [66]. Źródła z promieniotwórczym izotopem ^{60}Co , o aktywności w granicach 0,3 - 3,0 MCi, emitują promieniowanie gamma o średniej energii fotonów 1,25 MeV (1,17 - 1,33). Akceleratory elektronów o mocy 10 - 100 kW generują wiązki elektronów o energii 8 - 10 MeV. Najczęściej stosowanym do sterylizacji jest mikrofalowy akcelerator liniowy [41]. System napromieniowania w akceleratorach jest znacznie prostszy niż w źródłach kobaltowych. Przerwa w pracy akceleratora nie pociąga za sobą żadnych strat energetycznych jak to ma miejsce w przypadku źródeł gamma – gdzie rozpad radioaktywnego izotopu kobaltu następuje w sposób ciągły [66].

Mechanizm oddziaływania promieniowania gamma oraz przyspieszonych elektronów jest podobny, choć istnieją różnice. W obu przypadkach dochodzi do jonizacji środowiska atomów poprzez zderzenia z powłokami elektronowymi, a następnie do lawinowego procesu powstawania nowych generacji elektronów i fotonów. Jeden foton gamma lub jeden wysokoenergetyczny elektron inicjują kilka tysięcy aktów jonizacji. Fotony gamma nie mają masy ani ładunku. Elektrony obdarzone są natomiast zarówno masą jak i ładunkiem. Dlatego oddziałują z atomami środowiska nie tylko na drodze bezpośredniej kolizji, jak ma to miejsce w przypadku fotonów, lecz przekazują część swojej energii cząsteczkom znajdującym się w pobliżu toru ich przebiegu. W wyniku

następujących po sobie oddziaływań ich energia kinetyczna gwałtownie spada, a szybkość maleje. Wynika z tego, że promieniowanie gamma cechuje w stosunku do elektronowego większa przenikliwość, natomiast promieniowanie elektronowe jest o wiele bardziej efektywne w przeliczeniu na jednostkę masy niż promieniowanie gamma. Moc dawki promieniowania elektronowego jest co najmniej o dwa rzędy wielkości większa niż promieniowania gamma z najsilniejszych źródeł [67].

Dla lepszego efektu sterylizacji zazwyczaj stosuje się tzw. napromienienie dwustronne (Ryc. 7). Dzięki tej metodzie uzyskuje się lepszą homogenność dawki. Akceptowalna głębokość równomiernej dystrybucji dawki w wodzie dla promieniowania gamma wynosi 30 cm, a dla elektronów tylko 8 cm. W przypadku materiałów o gęstości większej niż 2 g/cm^3 , jak to mam miejsce w przypadku kości, wartości te wynoszą odpowiednio 10 - 15 cm i 3 cm. Stąd w przypadku akceleratora występują pewne ograniczenia co do wielkości sterylizowanych materiałów [41, 66].



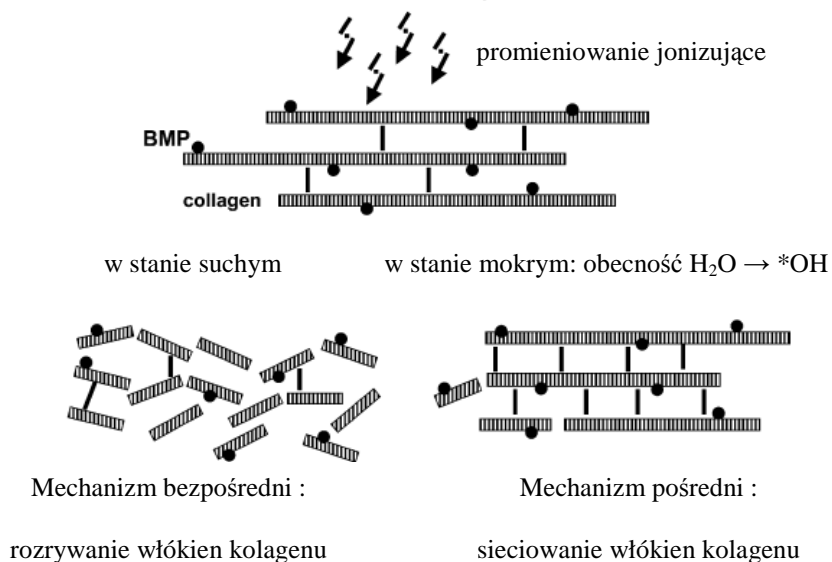
Ryc. 7. Schemat przedstawiający metodę dwustronnego napromienienia.

Mechanizm sterylizacji polega na uszkodzeniu materiału genetycznego (DNA lub RNA) mikroorganizmów, co może przebiegać na drodze bezpośredniej jak również pośredniej - poprzez tworzenie wolnych rodników tlenowych powstających wskutek radiolizy wody. W obecności wody przeważa efekt pośredni. Wolne rodniki powodują rozrywanie wiązań nici DNA/RNA jak również białek i cukrów. To z kolei hamuje produkcję nowych nici i proces naprawy DNA. W efekcie dochodzi do śmierci komórki [32]. Bakterie Gram dodatnie są z reguły bardziej odporne na promieniowanie niż bakterie Gram ujemne. Oporność grzybów porównywalna jest z opornością bakterii, natomiast wirusy są generalnie bardziej odporne niż bakterie. W badaniach udowodniono, że dawka 25 kGy wystarcza aby inaktywować większość bakterii do poziomu 10^{-6} [41]. Największy problem związany jest z inaktywacją wirusa HIV, do którego inaktywacji wg. różnych autorów potrzebna jest dawka od 25 do aż 100 kGy w

zależności od temperatury w jakiej nastąpiła sterylizacja (odpowiednio 15°C i – 80°C) [36, 68-70].

Do innych metod sterylizacji zaliczyć można traktowanie wysokimi temperaturami (autoklaw, gorąca para) czy bardzo popularny w sterylizacji materiałów medycznych tlenek etylenu, jak również metody wykorzystujące środki chemiczne (NaOH, 6M mocznik) [71, 72]. Wysokie temperatury wpływają bardzo niekorzystnie na właściwości mechaniczne kości [71]. Tlenek etylenu wykazuje dużą skuteczność w inaktywacji bakterii i wirusów. Ze względu jednak na porowatość kości oraz wysoką zawartość wody i tłuszczu istnieje duże ryzyko zanieczyszczenia sterylizowanej tkanki, a co za tym idzie jej toksyczności dla organizmu [73].

Promieniowanie jonizujące wpływa zarówno na właściwości mechaniczne jak i biologiczne kości. Uszkodzenie kości tłumaczy się dwoma zachodzącymi w trakcie promieniowania mechanizmami (Ryc. 8). Pierwszy, bezpośredni, zachodzi głównie w stanie suchym. Dochodzi do uszkodzenia i rozrywania łańcuchów polipeptydowych kolagenu. W obecności wody przeważa drugi, pośredni mechanizm. Wskutek promieniowania jonizującego zachodzi radioliza wody i powstają wolne rodniki tlenowe. W tym przypadku dochodzi do powstawania wiązań krzyżowych pomiędzy włóknami kolagenu [32, 41, 74].



Ryc. 8. Uproszczony schemat ilustrujący pośredni i bezpośredni wpływ promieniowania jonizującego na cząsteczki kolagenu, BMP- białka morfogenetyczne kości. Na podstawie [41] – zmodyfikowano.

Wpływ promieniowania jonizującego na właściwości mechaniczne kości poruszano w wielu pracach, co przedstawiono zbiorczo w Tabeli 5, uwzględniając najczęściej badane parametry. Jak wynika z Tabeli 5 sterylizacja radiacyjna nawet dużymi dawkami nie wpływa na właściwości mechaniczne kości mierzone za pomocą modułu Younga. Wyniki badań pozostałych parametrów nie są zgodne w obszarze dawek powszechnie stosowanych – mniejszych niż 35kGy. Zastosowanie wyższych dawek wiąże się natomiast jednoznacznie z pogorszeniem właściwości mechanicznych kości.

Tabela 5. Zbiorcze zestawienie badań nad wpływem promieniowania na właściwości mechaniczne kości; ns – nieistotne statystycznie

Autor (rok)	Dawka [kGy]	Moduł Younga	Wytrzymałość na zginanie	Wytrzymałość na skręcanie	Wytrzymałość na ściskanie	Praca złamania
Currey [75]	17	ns	↓ 11,5%			↓45%
	29,5	ns	↓ 21,5%			↓69%
	94,7	ns	↓ 61%			↓88%
Hernigou [70]	30		↓13%			
	55		↓67%			
Balsly [46]	18,3-21,8	ns			ns	
	24,0-28,5	ns			ns	
Komender [76]	10		ns	↓10%	ns	
	30		↓10%	↓10%	ns	
	60		↓30%	↓35%	↓20%	
Triantafyllou [77]	30		↓25%			
	40		↓50%			
Bright [78]	35				ns	
Zhang [79]	20-25	ns	ns			
Hamer [80]	6,8					ns
	9,5					↓ 37%
	16					↓ 55%
	23					↓ 50%
	60					↓ 80%
McGilvray [81]	15	ns				
	25	ns				
Akkus [37]	36,4	ns				↓ 86,4%

Hernigou i wsp. [82] w badaniu klinicznym wykazali w trakcie 3-letniej obserwacji u 127 pacjentów po masywnych przeszczepach kostnych, że wykorzystanie do sterylizacji dawki 25 kGy niesie za sobą komplikacje w postaci złamań na poziomie 6%, czy też braku zrostu kości wyłącznie na poziomie 5,5 %. Wynik ten nie różnił się znacznie od badań kości nienapromienionej. W Polsce, Marczyński i wsp. [83], w badaniach nad ponad 1100 pacjentów poddanych

przeszczepom mrożonej kości napromienionej dawką 35 kGy uzyskali bardzo dobre wyniki leczenia w 83% przypadków, dobre w 10%, satysfakcjonujące w 6% a niesatysfakcjonujące w tylko 1% przypadków. Również w badaniach Loty i wsp. [65], w którym dokonano analizy 150 masywnych przeszczepów, wykazano iż nie było znaczących różnic pomiędzy kośćmi napromienionymi dawką 25 kGy, a nienapromienionymi. Znacznie mniej obiecujące wyniki uzyskali w swoich badaniach Lietman i wsp. [84] uzyskując stopień komplikacji w postaci złamań na poziomie do 38%, w porównaniu do 18% w przypadku alloprzeszczepów nienapromienionych. Godette i wsp. [85] wykazał natomiast wzrost powikłań wraz z zastosowaną dawką. W badaniach tych badano ilość braków zrostu kości po przeszczepie u królików w zależności od zastosowanych dawek : 0, 25 i 75 kGy. Uzyskano stopień powikłań odpowiednio: 0, 12,5 oraz 33 %.

Po sterylizacji kości przechowywane są w niskich temperaturach w oczekiwaniu na ich użycie. Gdy przewidywany czas przechowywania kości jest dłuższy niż 6 miesięcy używa się zazwyczaj temperatur poniżej - 40 °C, natomiast gdy okres ten jest krótszy są to temperatury pomiędzy - 18 a - 28 °C [86]. Mrożenie kości pozwala zachować jej właściwości mechaniczne m.in. poprzez hamowanie enzymatycznej degradacji kolagenu [87]. Doniesienia co do wpływu mrożenia na właściwości mechaniczne kości nie są jednak jednoznaczne. Frankel [88] i Sednin [89] nie wykazali różnic wytrzymałości na zginanie pomiędzy próbkami kości mrożonych w temperaturze - 25°C i kontrolnymi. Z drugiej strony Pelker i wsp. [52] wykazali 10-20% wzrost wytrzymałości na ściskanie próbek mrożonych w temperaturach -20 i -70°C. Komender [76] udowodnił natomiast iż mrożenie kości w temperaturze -78°C skutkuje 10 % redukcją w wytrzymałości na zginanie. Podobne wyniki uzyskali Kang i wsp. [87], którzy wykazali 7,2 % redukcję wytrzymałości na zginanie oraz 11 % redukcję wytrzymałości na ściskanie kości mrożonych w temperaturze -80°C.

W literaturze brak jest natomiast informacji na temat wpływu promieniowania jonizującego na dynamiczne właściwości mechaniczne kości.

3. CELE PRACY

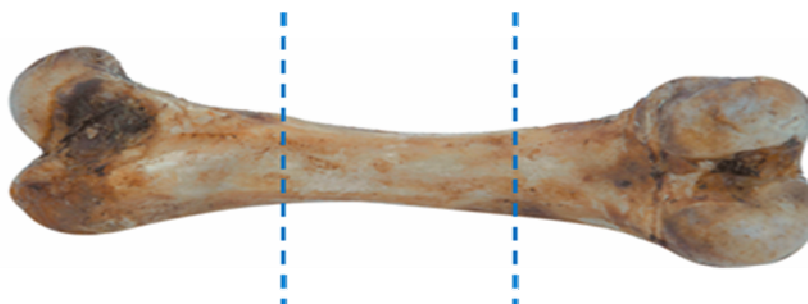
- Cel główny
 - Określenie wpływu wielkości dawki promieniowania użytego do sterylizacji na dynamiczne właściwości mechaniczne kości

- Cele szczegółowe:
 - Zbadanie wpływu wielkości dawki, temperatury i częstotliwości na wartość modułu magazynowania i modułu strat
 - Zbadanie wpływu wielkości dawki i czasu trwania badania na wartość modułu magazynowania i modułu strat
 - Ocena wpływu wielkości dawki i geometrii próbki na wartości modułu magazynowania i modułu strat
 - Zbadanie wpływu wielkości dawki na wartości temperatury denaturacji kolagenu

4. MATERIAŁY I METODY BADAWCZE

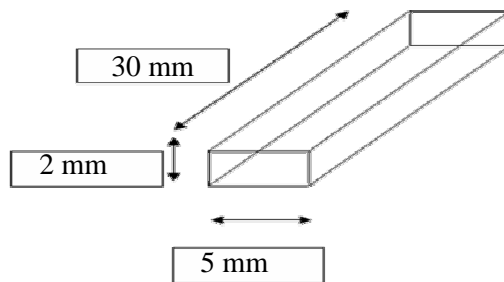
4.1. Pozyskanie i przygotowanie materiału

Jako materiał badany wykorzystano wołowe kości udowe. Kości pobrano od 2 letniego, zdrowego zwierzęcia zaraz po uboju. Po mechanicznym oczyszczeniu kości z tkanek miękkich i umyciu w wodzie do dalszej obróbki wybrano środkową część trzonu zbudowana z kości zbitej (Ryc. 9).

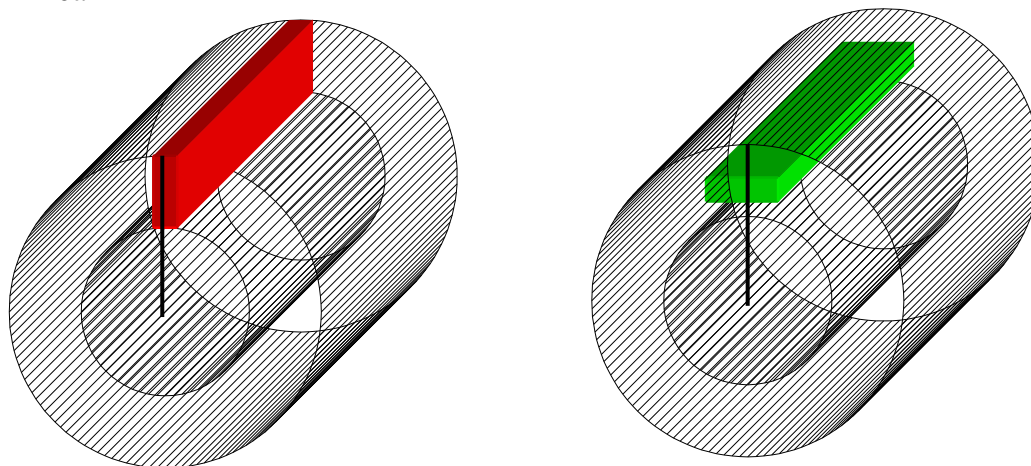


Ryc. 9. Zdjęcie kości udowej przed obróbką, przerywana linia przedstawia linię cięcia.

Następnie używając specjalnie do tego celu skonstruowaną piłę diamentową, z trzonu kości wycięto 70 próbek, w kształcie prostopadłościanu, o wymiarach 30 x 5 x 2 mm równoległych do osi długiej kości (Ryc.10a). W celu wykluczenia ewentualnego wpływu geometrii wycinanych próbek na właściwości mechaniczne kości przygotowano dwie grupy próbek. W grupie pierwszej, oznaczonej na Ryc. 10b kolorem czerwonym, podstawa próbki była równoległa do promienia krzywizny kości. Natomiast w grupie drugiej, oznaczonej na Ryc. 10b kolorem zielonym prostopadła do promienia. W trakcie cięcia kość chłodzono wodą w celu uniknięcia wzrostu temperatury i denaturacji termicznej kolagenu. Próbki następnie oszlifowano w celu uzyskania gładkich płasko - równoległych płaszczyzn, mocując próbkę w specjalnie do tego celu skonstruowanym uchwycie. W trakcie szlifowania próbki również chłodzono wodą.



10a



10b

Ryc. 10a Wymiary próbek przygotowywanych do analizy DMA

10b Geometria próbek względem kości przygotowywanych do analizy

Po wysuszeniu w temperaturze pokojowej każdą próbkę oddzielnie zapakowano w jednorazowe pojemniki wykonane z folii PET i przewieziono do sterylizacji. Do czasu wysyłki, materiał przechowywany był w lodówce w temperaturze 4 - 8°C.

4.2. Napromieniowanie próbek

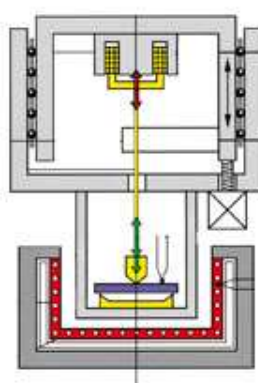
Próbki napromieniowano wiązką elektronową o energii 10 MeV przy zadanym prądzie – 550 mA. Certyfikat napromieniowania nr 32/2009/E oraz raporty napromieniowanie poszczególnych dawek dołączono jako Załączniki 1 - 7. Próbki podzielono na 7 grup w zależności od dawki promieniowania: 0 (kontrola), 10, 15, 25, 35, 45 i 50 kGy. W Tabeli 6 przedstawiono podział próbek na grupy. Napromieniowanie wykonano w Stacji Sterylizacji Radiacyjnej Wyrobów Medycznych i Przeszczepów Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie.

Tabela 6. Podział próbek na grupy ze względu na ich orientację oraz dawkę napromienienia.

Nr próbki	Dawka [kGy]	Nr próbki	Dawka [kGy]
Próbki oznaczone kolorem czerwonym		Próbki oznaczone kolorem zielonym	
1	0	36	0
2	0	37	0
3	0	38	0
4	0	39	0
5	0	40	0
6	10	41	10
7	10	42	10
8	10	43	10
9	10	44	10
10	10	45	10
11	15	46	15
12	15	47	15
13	15	48	15
14	15	49	15
15	15	50	15
16	25	51	25
17	25	52	25
18	25	53	25
19	25	54	25
20	25	55	25
21	35	56	35
22	35	57	35
23	35	58	35
24	35	59	35
25	35	60	35
26	45	61	45
27	45	62	45
28	45	63	45
29	45	64	45
30	45	65	45
31	50	66	50
32	50	67	50
33	50	68	50
34	50	69	50
35	50	70	50

4.3. Badania metodą dynamicznej analizy mechanicznej (DMA)

Badania DMA wykonano przy użyciu analizatora DMA 242 firmy Netzsch. Schemat budowy urządzenia przedstawiono na Ryc. 11. Aparatura pomiarowa składa się z układu sensorycznego w postaci transformatorowego czujnika przemieszczeń liniowych (LVDT), który mierzy zmianę napięcia powstającego w wyniku ruchów próbki w polu magnetycznym oraz aparatury cieplnej, silnika, układu przenoszącego siłę, uchwytu próbki i obudowy redukującej drgania.



Ryc. 11. Schemat aparatury badawczej. [90]

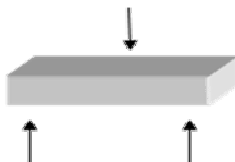
Badania przeprowadzono stosując metodę 3 - punktowego zginania (Ryc. 12), wyznaczając moduł całkowity wg wzoru:

$$E^* = \frac{l^3}{4bh^3} \cdot \frac{F}{a^*} \quad (6)$$

gdzie: E^* - moduł całkowity [Pa], l – długość próbki [mm], b – szerokość [mm], h – wysokość próbki [mm], F – siła [Pa], a^* - całkowite dynamiczne przesunięcie [mm]

Siła nacisku wynosiła 1 N. Przeprowadzono dwa rodzaje badań: analizę cieplną oraz analizę zmęczeniową. W pierwszym przypadku próbki badano w zakresie temperatur od -150°C do 350°C , ogrzewając je ze stałą prędkością $3^{\circ}\text{C}/\text{minutę}$. Mierzone parametry tj. E' i E'' wyznaczono dla czterech częstotliwości: 1, 2, 5 i 10 Hz. Badania zmęczeniowe wykonano w temperaturze

pokojujowej, przy częstotliwości 1 Hz, przez okres 48 godzin (2880 minut). Badania te wykonano w Zakładzie Fizyki Krysztalów Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu.



Ryc. 12. Schemat metody 3 - punktowego zginania

4.4. Opracowanie wyników i analiza statystyczna

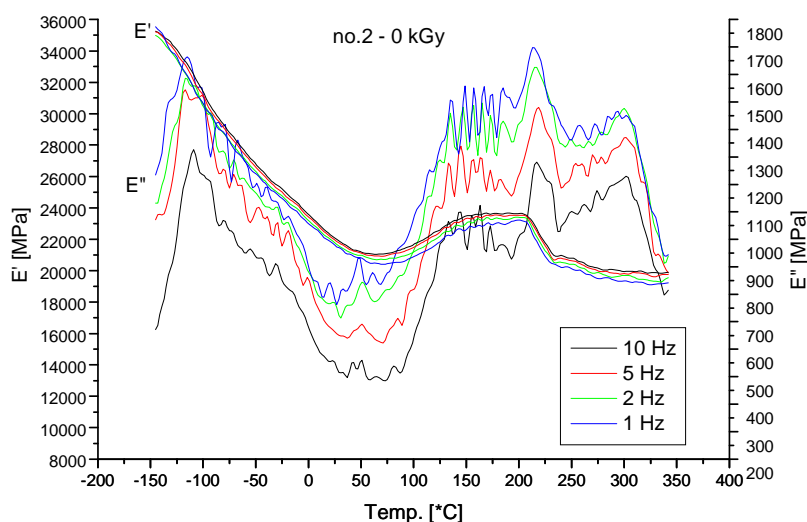
Uzyskane wyniki badań mechanicznych przetworzono w formie cyfrowej, zobrazowano i analizowano za pomocą programu Origin Pro 7.0. Do wyznaczenia ekstremów lokalnych wykorzystano program FindGraph v.2.181. Analizę statystyczną wykonano z użyciem pakietu Statistica 6.0 PL. Zastosowano testy Friedmana i Wilcoxon dla porównań pomiędzy grupami oraz współczynnika korelacji (r) Spearmana, przyjmując poziom ufności $\alpha=0,05$.

5. WYNIKI

Wyniki badań temperaturowej zależności E' i E'' dla próbki kontrolnej o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym przedstawiono na Ryc. 13. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie wartości E' i odwrotnie zmniejszenie wartości E'' .

Wraz ze wzrostem temperatury następował monotoniczny spadek wartości E' od 36000 MPa w temperaturze -150°C do 22000 MPa w temperaturze 60°C . Dalszy wzrost temperatury do wartości 150°C prowadził do wzrostu wartości E' . W zakresie temperatur $150 - 210^{\circ}\text{C}$ obserwowano względną stabilizację E' , po którym nastąpiło gwałtowne zmniejszenie się wartości E' przechodząc w łagodny spadek powyżej temperatury 240°C .

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do wystąpienia maksimum lokalnego w temperaturze -110°C . Następnie E'' ulegała monotonicznemu spadkowi. Wzrost wartości E'' zaobserwowano po przekroczeniu temperatury 50°C , który był kontynuowany do temp. 130°C . W zakresie temperatur $130 - 210^{\circ}\text{C}$ próbka wykazała niestabilność, co z kolei wiązało się z dużymi wahaniami E'' . W temperaturze 210°C wartości E'' osiągnęły maksimum. Dalsze ogrzewanie spowodowało obniżenie wartości E'' , a powyżej temperatury 250°C ponowny ich wzrost. W temperaturze 300°C zaznaczył się wyraźny pik, po którym nastąpił gwałtowny spadek E'' .

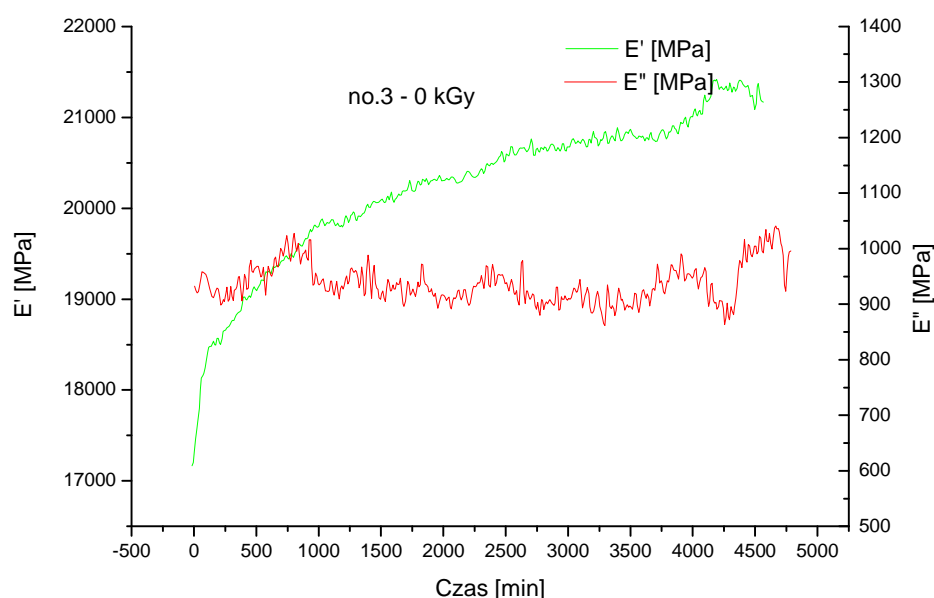


Ryc. 13. Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 2 – dawka 0 kGy .

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki nienapromienionej o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym przedstawiono na Ryc.14. Badanie przeprowadzono w warunkach izotermicznych w temperaturze pokojowej dla częstotliwości 1 Hz.

Zaobserwowano wzrost wartości E' w całym przebiegu badania lecz o różnym nasileniu. Najbardziej gwałtowny wzrost zanotowano w pierwszych 3 godzinach (180 min) pomiarów. Po tym czasie przyrost wartości E' był mniejszy i postępował monotonicznie do 700 minuty badania. Dalszy wzrost, również liniowy, choć o jeszcze mniejszym nasileniu obserwowano aż do zakończenia badania.

W przypadku E'' początkowo aż do 700 minuty obserwowano trend wzrostowy, przechodzący następnie w trend malejący. W przebiegu całego badania wartości E'' wahały się w przedziale 900 – 1000 MPa.

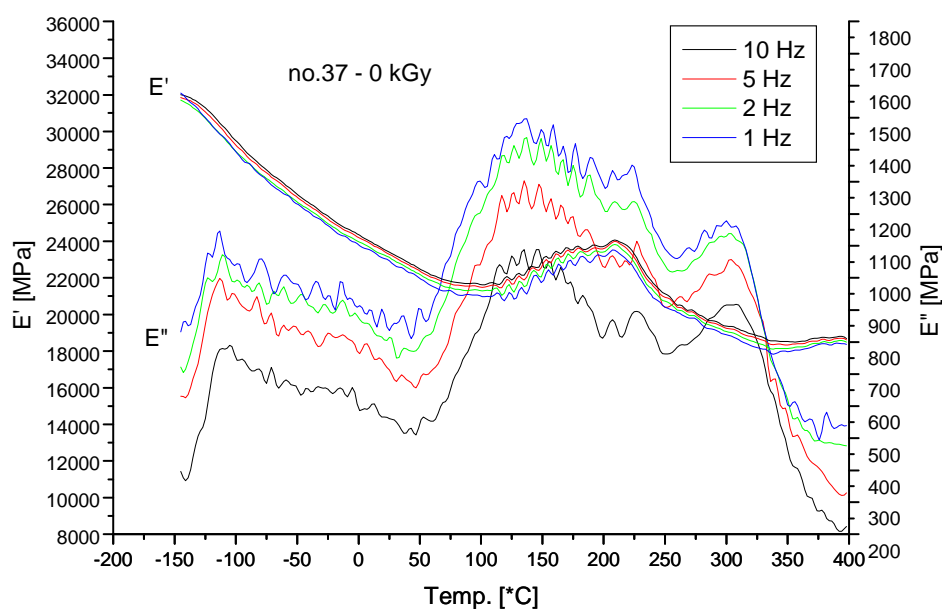


Ryc. 14. Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 3 – dawka 0 kGy.

Na Ryc. 15. przedstawiono wyniki uzyskane w analizie wytrzymałościowej dla próbki nienapromienionej o orientacji oznaczonej kolorem zielonym. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie wartości modułu sprężystości i odwrotnie zmniejszenie wartości modułu strat.

Wraz ze wzrostem temperatury następował monotoniczny spadek wartości E' od 32000 MPa w temperaturze -150°C do 21500 MPa w temperaturze 60°C . Po krótkiej fazie stabilizacji zaobserwowano wzrost wartości E' zakończony w temperaturze 210°C . W zakresie temperatur 110 - 210°C obserwowano niestabilność E' , cechującą się silnymi wahaniami wartości. Powyżej temperatury 210°C nastąpiło gwałtowne zmniejszenie się wartości E' przechodzące w łagodne zmiany powyżej temperatury 240°C .

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do wystąpienia maksimum lokalnego w temperaturze -115°C . Następnie E'' ulegały monotonicznemu spadkowi. Dalszy wzrost wartości E'' zaobserwowano po przekroczeniu temperatury 60°C , który kontynuowany był do temp. 120 - 130°C . W zakresie temperatur 130 - 220°C próbka wykazała niestabilność co wyrażało się dużymi wahaniami E'' . Zaobserwowano dwa charakterystyczne piki E'' w temperaturze 220°C i 300°C . Powyżej temp. 300°C nastąpił gwałtowny spadek E'' .

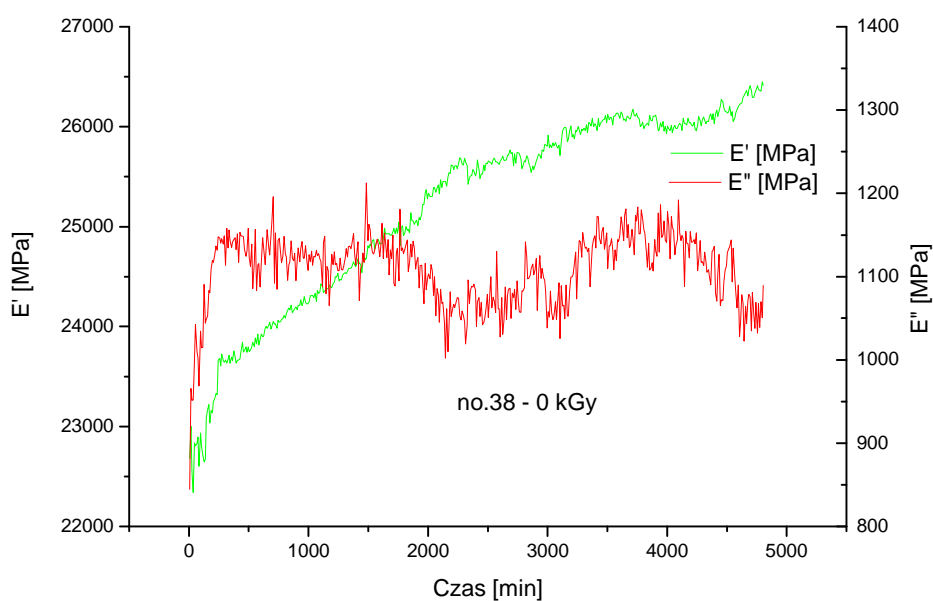


Ryc. 15. Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 37 – dawka 0 kGy.

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki nienapromienionej o orientacji oznaczonej kolorem zielonym przedstawiono na Ryc. 16.

Wzrost wartości E' zaobserwowano w przebiegu całego badania. Najbardziej gwałtowny wzrost zanotowano w pierwszych 300 minutach pomiarów. Po tym czasie przyrost wartości E' był wolniejszy i trwał do zakończenia badania (3000 min).

Wartości E'' również początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi do ok. 270 min. Następnie zaobserwowano trend malejący.

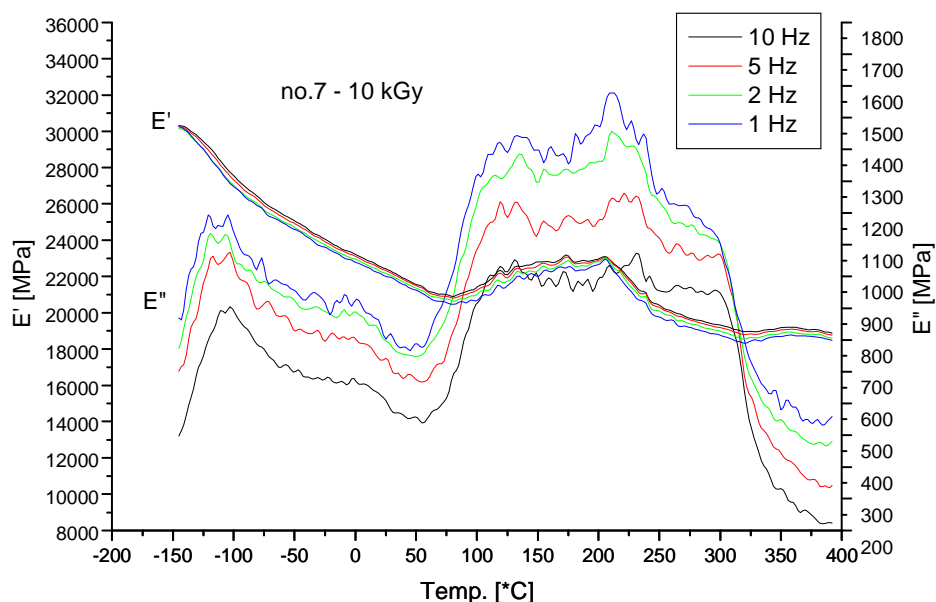


Ryc. 16. Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 38 – dawka 0 kGy.

Na Ryc. 17 przedstawiono wyniki uzyskane w badaniu zależności temperaturowej E' i E'' dla próbki napromienionej dawką 10 kGy o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie wartości E' i zmniejszenie E'' .

Wraz ze wzrostem temperatury następował monotoniczny spadek wartości E' od 30000 MPa w temperaturze od -150°C do 20500 MPa w temperaturze 70°C . Następnie zaobserwowano wzrost wartości E' zakończony w temperaturze 210°C . Powyżej wartości 210°C nastąpiło gwałtowne zmniejszenie się wartości E' przechodzące w łagodne zmiany powyżej temperatury 240°C .

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do wystąpienia maksimum lokalnego w temperaturze -120°C . Następnie E'' ulegały monotonicznemu spadkowi. Dalszy, gwałtowny wzrost wartości E'' zaobserwowano po przekroczeniu temperatury 60°C , który kontynuowany był do temp. 120°C . W zakresie temperatur $120 - 210^{\circ}\text{C}$ próbka wykazała niestabilność, co wyrażało się dużymi wahaniami E'' . Zaobserwowano dwa punkty przegięcia E'' : w temperaturze 210°C oraz 300°C . Powyżej temp. 300°C nastąpił gwałtowny spadek E'' .

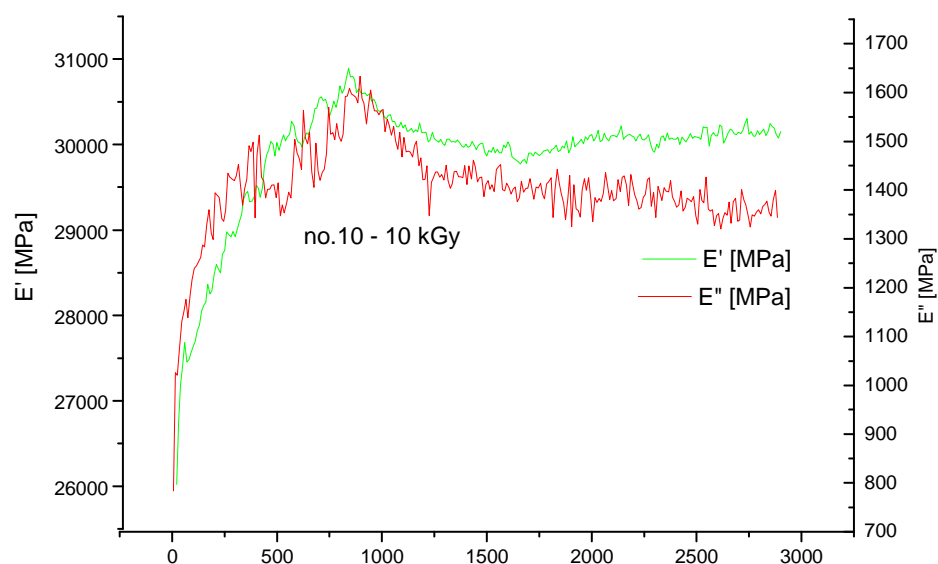


Ryc. 17. Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 7 – dawka 10 kGy

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym napromienionej dawką 10 kGy przedstawiono na Ryc. 18.

W pierwszych 50 minutach pomiarów zanotowano gwałtowny wzrost wartości E' , następnie do 830 min szybki przyrost, po którym do 1500 min obserwowano spadek wartości E' . Następnie do końca badania odnotowano stabilizację E' .

Wartości E'' również początkowo uległy szybkiemu wzrostowi. Powyżej 180 min przyrost ten był mniejszy lecz bardziej burzliwy i trwał do 900 min badania. Następnie do 1250 min zaobserwowano trend malejący, a potem łagodny spadek wartości E'' do końca badania.

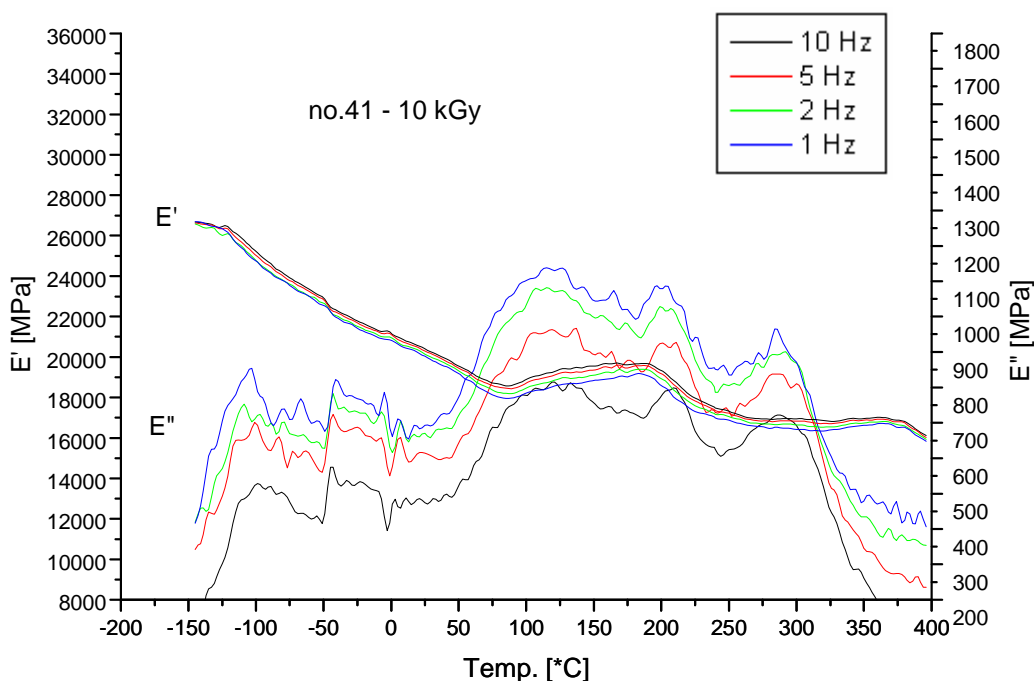


Ryc. 18. Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 10 – dawka 10 kGy.

Na Ryc. 19. przedstawiono wyniki uzyskane w badaniu zależności temperaturowej E' i E'' dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem zielonym, napromienionej dawką 10 kGy. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie E' i zmniejszenie E'' .

Wzrost temperatury prowadził do zmniejszenia wartości E' od 26500 MPa w temperaturze -150°C do 18000 MPa w temperaturze 80°C . Wzrost temperatury do 190°C skutkował wzrostem wartości E' . Powyżej temperatury 190°C nastąpiło obniżenie wartości E' przechodzące w łagodny spadek powyżej temperatury 230°C .

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do maksimum lokalnego w temperaturze -105°C . Kolejny wzrost wartości E'' zaobserwowano po przekroczeniu temperatury 40°C , który kontynuowany był do temp. 110°C . Dalsze ogrzewanie prowadziło do zmniejszenia się wartości E'' z wystąpieniem dwóch pików w temperaturze 210°C i 290°C .

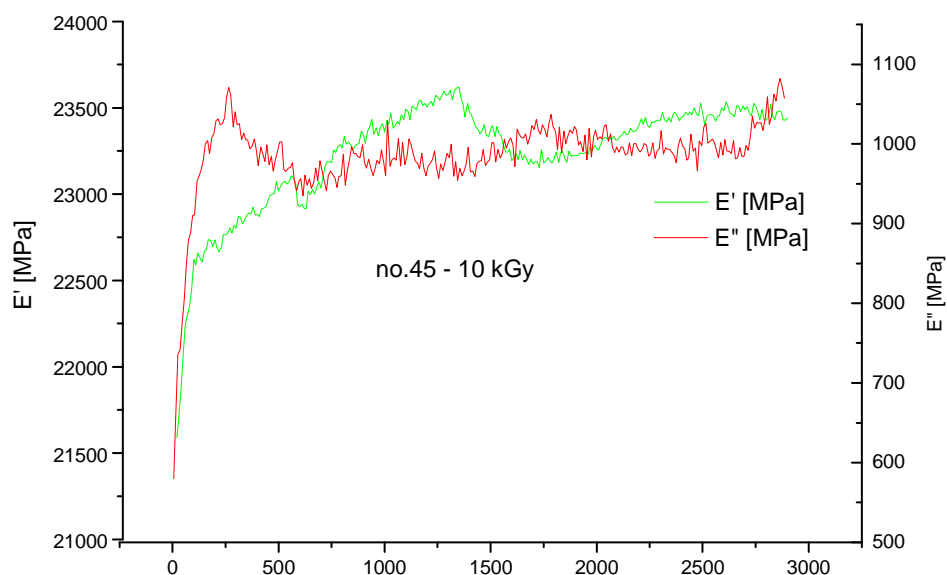


Ryc.19. Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 41 – dawka 10 kGy

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem zielonym napromienionej dawką 10 kGy przedstawiono na Ryc. 20.

W pierwszych 90 minutach pomiarów zanotowano gwałtowny wzrost wartości E' , następnie do 1350 min łagodniejszy przyrost E' , po którym nastąpił chwilowy spadek wartości E' . Od 2600 minuty badania ponownie obserwowano wzrost E' lecz o znacznie mniejszym nasileniu.

Wartości E'' początkowo uległy szybkiemu wzrostowi do 250 minuty badania. Następnie do 600 minuty obserwowano obniżenie E'' . Po przekroczeniu tego czasu wartości E'' do końca badania znajdowały się na względnie podobnym poziomie.

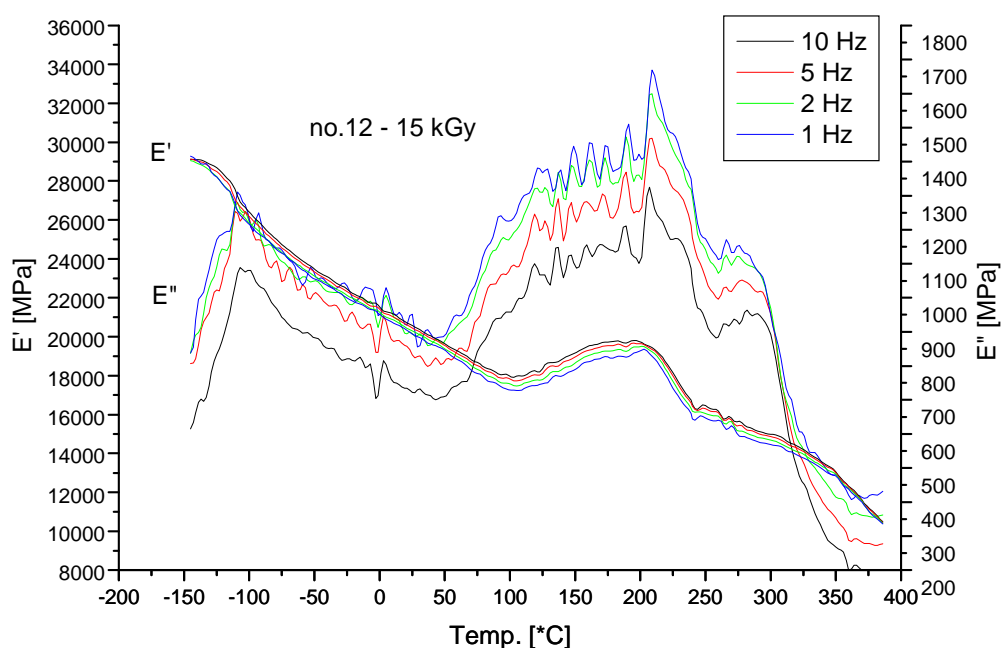


Ryc. 20. Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 45 – dawka 10 kGy

Na Ryc. 21 przedstawiono wyniki uzyskane w badaniu zależności temperaturowej E' i E'' dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym napromienionej dawką 15 kGy. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie E' i zmniejszenie E'' .

Wraz ze wzrostem temperatury następował monotoniczny spadek wartości E' od 29000 MPa w temperaturze -150°C do 17500 MPa w temperaturze 100°C . Wzrost temperatury do 200°C skutkował ponownym wzrostem wartości E' . Powyżej temperatury 200°C nastąpiło gwałtowne obniżenie wartości E' , przechodząc w łagodniejszy spadek powyżej temperatury 240°C .

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do maksimum lokalnego w temperaturze -110°C . Wzrost wartości E'' zaobserwowano po przekroczeniu temperatury 50°C kontynuowany do temp. 210°C . W zakresie temperatur $120 - 210^{\circ}\text{C}$ zaobserwowano wahania E'' . Dalsze ogrzewanie prowadziło do gwałtownego spadku wartości E'' .

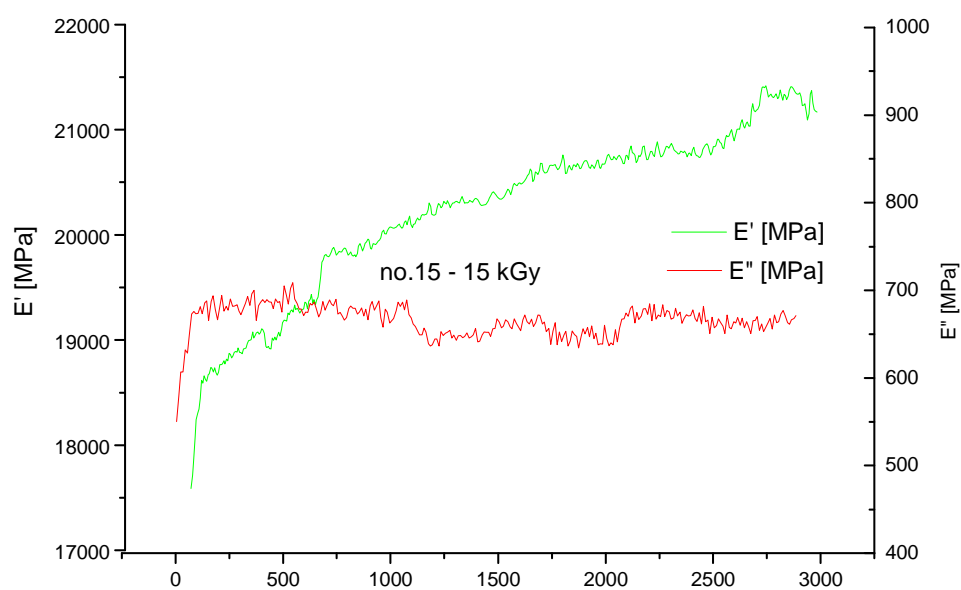


Ryc. 21. Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 12 – dawka 15 kGy

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym napromienionej dawką 15 kGy przedstawiono na Ryc. 22.

Gwałtowny wzrost wartości E' obserwowano do ok. 160 minuty badania. W dalszym przebiegu badania obserwowano łagodny wzrost wartości E' .

Wartości E'' początkowo uległy szybkiemu wzrostowi do 90 minuty badania. W dalszym przebiegu wartości E'' uległy stabilizacji.

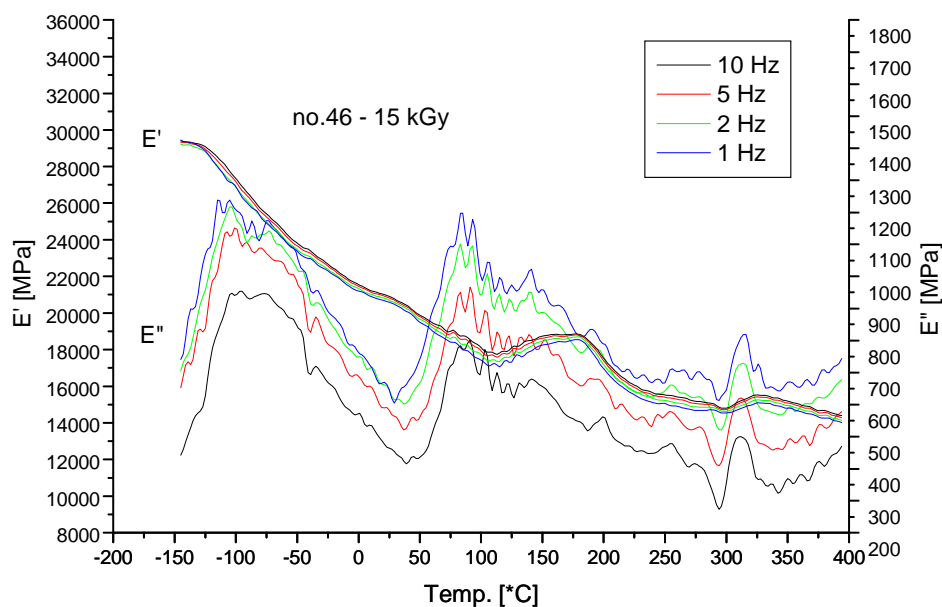


Ryc. 22. Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 15 – dawka 15 kGy

Na Ryc. 23 przedstawiono wyniki uzyskane w badaniu zależności temperaturowej E' i E'' dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem zielonym napromienionej dawką 15 kGy. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie E' i zmniejszenie E'' .

Wraz ze wzrostem temperatury następował monotoniczny spadek wartości E' od 29000 MPa w temperaturze -150°C do 17500 MPa w temperaturze 110°C . Wzrost temperatury do 180°C skutkował ponownym wzrostem wartości E' . Dalsze ogrzewanie próbki prowadziło do stopniowego obniżania się wartości E' , początkowo bardziej gwałtownego a powyżej temperatury 230°C , łagodniejszego. W zakresie temperatur $300\text{-}330^{\circ}\text{C}$ wystąpił chwilowy wzrost E' po którym wartości E' znowu ulegały obniżeniu.

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do maksimum lokalnego w temperaturze -100°C . Wzrost wartości E'' zaobserwowano po przekroczeniu temperatury $30\text{-}40^{\circ}\text{C}$ i był on kontynuowany do temp. 80°C . W zakresie temperatur $80\text{-}160^{\circ}\text{C}$ obserwowano duże wahania E'' . Dalsze ogrzewanie prowadziło do spadku wartości E'' oraz wystąpienia dwóch charakterystycznych pików w temperaturze 190°C i 310°C .

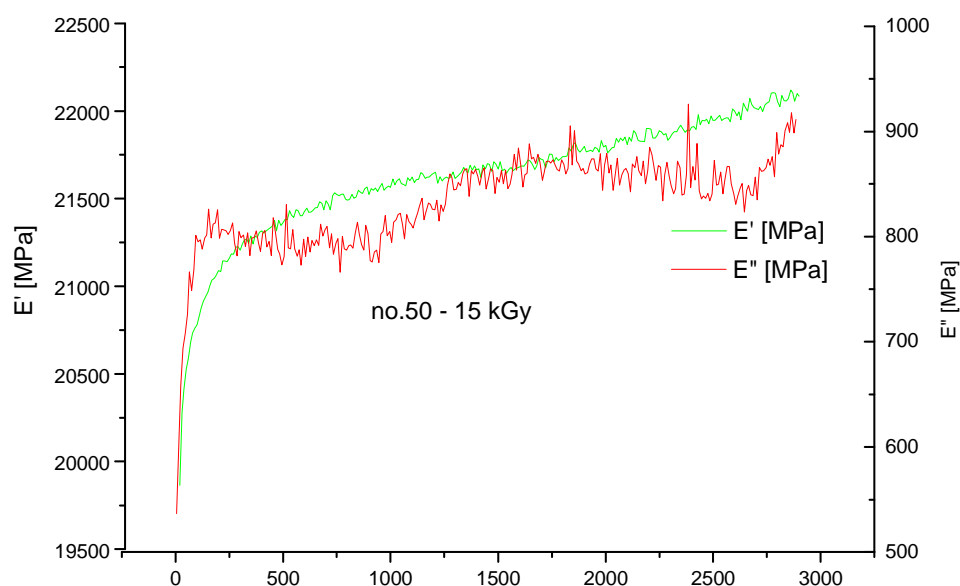


Ryc. 23. Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 46 – dawka 15 kGy

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem zielonym napromienionej dawką 15 kGy przedstawiono na Ryc. 24.

W pierwszych 120 minutach pomiarów zanotowano gwałtowny wzrost wartości E' , po którym do 360 minuty badania odnotowano również dość szybki wzrost E' . W dalszym przebiegu badania obserwowano łagodny, monotoniczny wzrost wartości E' .

Wartości E'' początkowo do 120 minuty badania uległy szybkiemu wzrostowi. W dalszym przebiegu wartości E'' ulegały powolnemu wzrostowi z chwilowymi wahaniami.

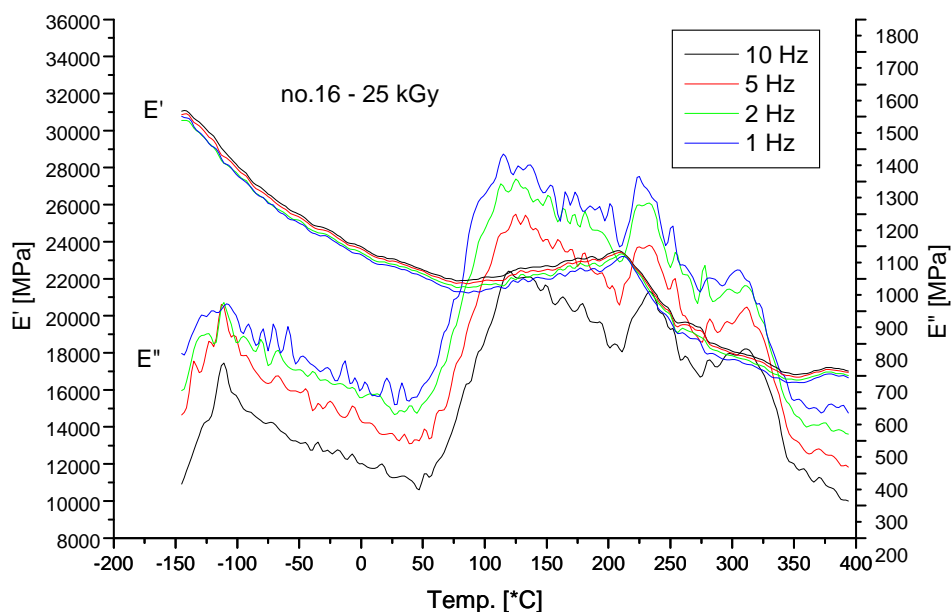


Ryc. 24. Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 50 – dawka 15 kGy

Na Ryc. 25 przedstawiono wyniki uzyskane w badaniu zależności temperaturowej E' i E'' dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym napromienionej dawką 25 kGy. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie E' i zmniejszenie E'' .

Wraz ze wzrostem temperatury następował monotoniczny spadek wartości E' od 30500 MPa w temperaturze -150°C do 21500 MPa w temperaturze 80°C . Wzrost temperatury do 210°C skutkował ponownym wzrostem wartości E' . Dalsze ogrzewanie próbki prowadziło do stopniowego obniżania się wartości E' , początkowo gwałtownego, a powyżej temperatury 250°C łagodniejszego. Po przekroczeniu temp 350°C odnotowano niewielki wzrost wartości E' .

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do maksimum lokalnego w temperaturze -110°C . Wzrost wartości E'' zaobserwowano po przekroczeniu temperatury 40°C , który kontynuowany był do temp. 110°C . W zakresie temperatur $110 - 305^{\circ}\text{C}$ obserwowano duże wahania E'' . Dalsze ogrzewanie prowadziło do gwałtownego spadku wartości E'' , a po przekroczeniu temperatury 340°C łagodniejszego. W trakcie badania odnotowano dwa charakterystyczne piki w temperaturze 220°C i 305°C .

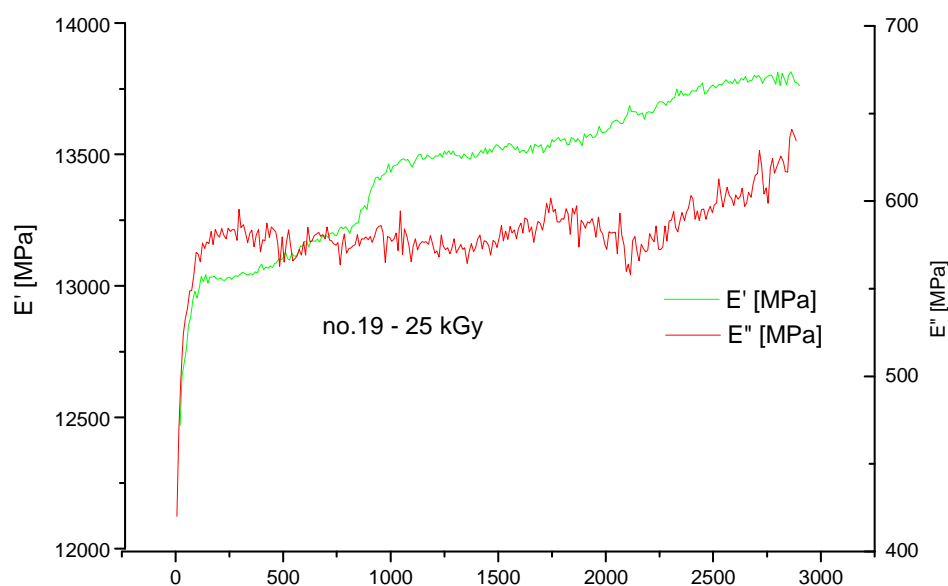


Ryc. 25. Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 16 – dawka 25 kGy

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym napromienionej dawką 25 kGy przedstawiono na Ryc. 26.

W pierwszych 110 minutach pomiarów zanotowano gwałtowny wzrost wartości E' . W dalszym przebiegu badania obserwowano łagodny, monotoniczny wzrost wartości E' , z chwilowym szybszym wzrostem E' pomiędzy 800 a 1000 minutą badania.

Wartości E'' początkowo do 110 minuty uległy szybkiemu wzrostowi. W dalszej części badania następował powolny wzrost wartości E''

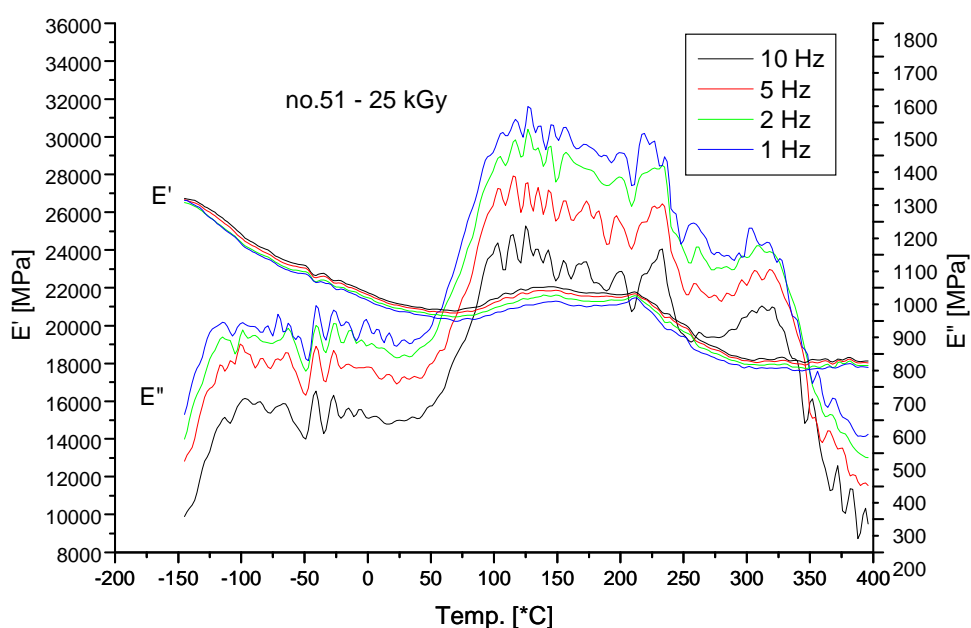


Ryc. 26. Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 19 – dawka 25 kGy

Na Ryc. 27 przedstawiono wyniki uzyskane w badaniu zależności temperaturowej E' i E'' dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem zielonym napromienionej dawką 25 kGy. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie wartości E' i zmniejszenie wartości E'' .

Wraz ze wzrostem temperatury następował monotoniczny spadek wartości E' od 26500 MPa w temperaturze -150°C , do 20500 MPa w temperaturze 70°C . Wzrost temperatury do 140°C skutkował ponownym wzrostem wartości E' . W zakresie temperatur $70-140^{\circ}\text{C}$ odnotowano niewielkie wahania wartości E' . Powyżej temperatury 140°C zaobserwowano obniżenie E' , które nasiliło się po przekroczeniu 210°C i trwało do temp. 300°C . Dalsze ogrzewanie nie powodowało większych zmian wartości E' .

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do maksimum lokalnego w temperaturze -110°C . Wzrost wartości E'' zaobserwowany po przekroczeniu temperatury 40°C kontynuowany był do temperatury 110°C . W zakresie temperatur $110-230^{\circ}\text{C}$ obserwowano wahania E'' z tendencją do obniżania się wartości E'' . Dalsze ogrzewanie prowadziło do chwilowego, gwałtownego spadku wartości E'' , po którym nastąpił jego wzrost, a po przekroczeniu temperatury 320°C dalszy gwałtowny spadek. W trakcie badania odnotowano dwa charakterystyczne piki w temperaturze 220°C i 320°C .

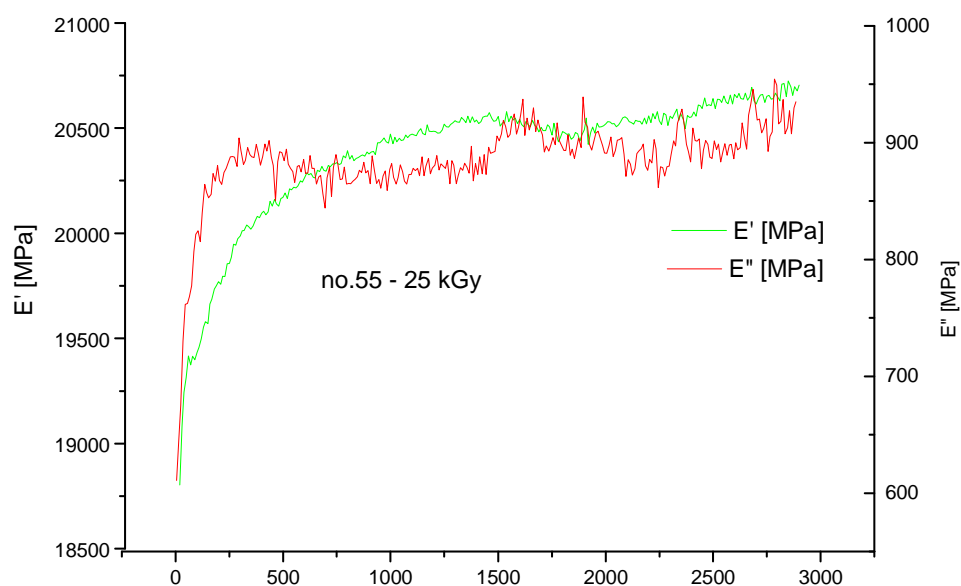


Ryc. 27 Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 51 – dawka 25 kGy

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem zielonym napromienionej dawką 25 kGy przedstawiono na Ryc. 28.

W pierwszych 50 minutach pomiarów zanotowano gwałtowny wzrost wartości E' , a następnie do 300 minuty badania trochę łagodniejszy wzrost E' . W dalszym przebiegu obserwowano łagodny, monotoniczny wzrost wartości E' .

Podobnie jak E' , wartości E'' początkowo uległy szybkiemu wzrostowi do 50 minuty badania i trochę łagodniejszemu wzrostowi do 300 minuty. W dalszej części badania wartości E'' utrzymywały się na względnie stałym poziomie.

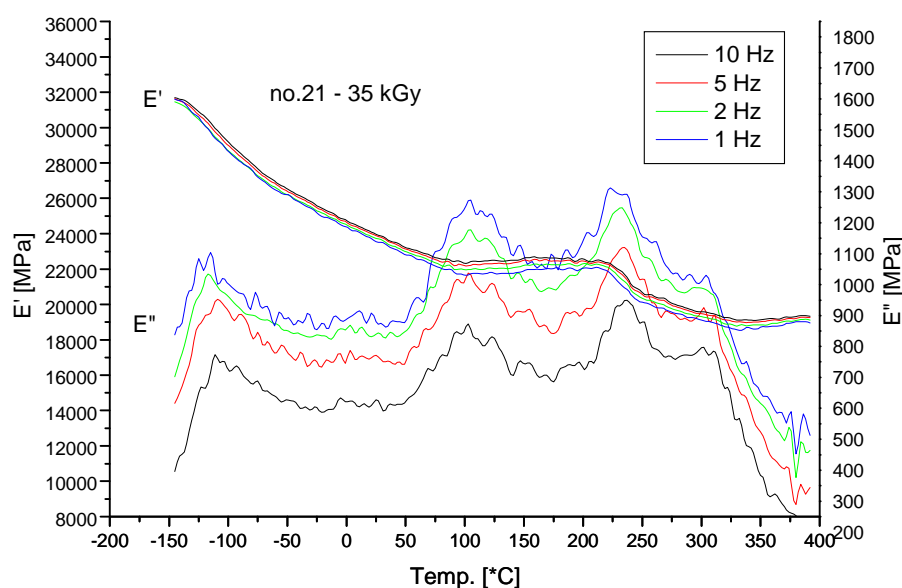


Ryc. 28 Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 55 – dawka 25 kGy

Na Ryc. 29 przedstawiono wyniki uzyskane w badaniu zależności temperaturowej E' i E'' dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym napromienionej dawką 35 kGy. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie wartości E' i zmniejszenie wartości E'' .

Wraz ze wzrostem temperatury następował monotoniczny spadek wartości E' od 31500 MPa w temperaturze -150°C , do 22000 MPa w temperaturze 100°C . W zakresie temperatur $100\text{-}220^{\circ}\text{C}$ odnotowano niewielkie wahania wartości E' . Dalsze ogrzewanie próbki prowadziło do stopniowego obniżania się wartości E' , początkowo bardziej gwałtownego a powyżej temperatury 240°C , łagodniejszego. Powyżej 330°C odnotowano ponowny łagodny wzrost wartości E' .

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do maksimum lokalnego w temperaturze -110°C . Wzrost wartości E'' zaobserwowano po przekroczeniu temperatury 50°C , kontynuowany był do temp. 105°C . W zakresie temperatur $105\text{-}170^{\circ}\text{C}$ zaobserwowano spadek wartości E'' . Dalsze ogrzewanie do 230°C prowadziło do wzrostu E'' w temperaturze tej odnotowano maksimum E'' . Po do przekroczeniu temperatury 230°C zanotowano spadek wartości E'' , który nasilił się po przekroczeniu temperatury 310°C . W trakcie badania odnotowano dwa charakterystyczne piki w temperaturze 230°C i 310°C .

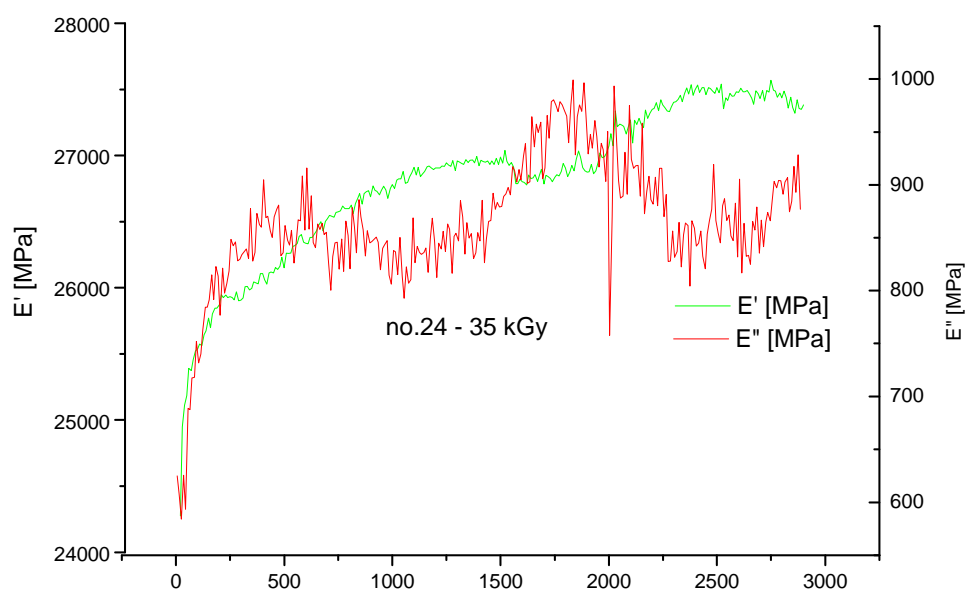


Ryc. 29. Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 11 – dawka 35 kGy

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym, napromienionej dawką 35 kGy przedstawiono na Ryc. 30

W pierwszych 230 minutach pomiarów zanotowano gwałtowny wzrost wartości E' . W dalszym przebiegu badania obserwowano łagodny wzrost wartości E' . Pomędzy 1550 a 2000 minutą badania zaobserwowano wahania wartości E' co związane było z wahaniami temperatury otoczenia.

Wartości E'' początkowo, do 200 minuty badania uległy szybkiemu wzrostowi, który kontynuowany był do 600 minuty. Po tym czasie obserwowano obniżenie E'' które trwało do 1400 minuty. Następnie, do 1800 minuty zanotowano ponowny wzrost E'' oraz ponowne obniżenie E'' do 2300 minuty. Pod koniec badania (od 2600 minuty) zanotowano kolejny, łagodny wzrost wartości E'' .

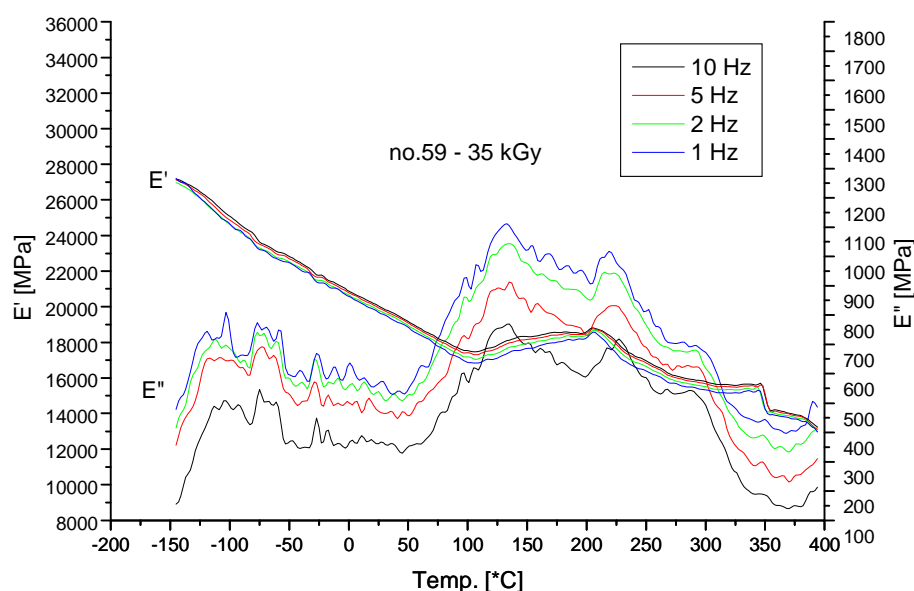


Ryc. 30. Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 24 – dawka 35 kGy

Na Ryc. 31 przedstawiono wyniki zależności temperaturowej E' i E'' dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem zielonym napromienionej dawką 35 kGy. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie wartości E' i zmniejszenie wartości E'' .

Wraz ze wzrostem temperatury następował monotoniczny spadek wartości E' od 27000 MPa w temperaturze -150°C do 17000 MPa w temperaturze 100°C . W zakresie temperatur $100\text{-}200^{\circ}\text{C}$ odnotowano niewielki wzrost wartości E' . Dalsze ogrzewanie próbki prowadziło do stopniowego obniżania się wartości E' , początkowo bardziej gwałtownego a powyżej temperatury 240°C , łagodniejszego. W zakresie temperatur $340^{\circ}\text{C} - 350^{\circ}\text{C}$ odnotowano gwałtowny spadek wartości E' , po którym odnotowano ponowny łagodny spadek E' .

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do maksimum lokalnego w temperaturze -100°C . Wzrost wartości E'' zaobserwowano po przekroczeniu temperatury 45°C kontynuowany do temp. 130°C gdzie zanotowano maksimum E'' . W zakresie temperatur $130\text{-}205^{\circ}\text{C}$ zaobserwowano spadek wartości E'' . Dalsze ogrzewanie do 220°C prowadziło do wzrostu E'' , w temperaturze tej odnotowano pik E'' . W zakresie temperatur $230\text{-}260^{\circ}\text{C}$ zanotowano spadek wartości E'' po którym nastąpiła chwilowa stabilizacja i dalszy spadek E'' powyżej temperatury 290°C .

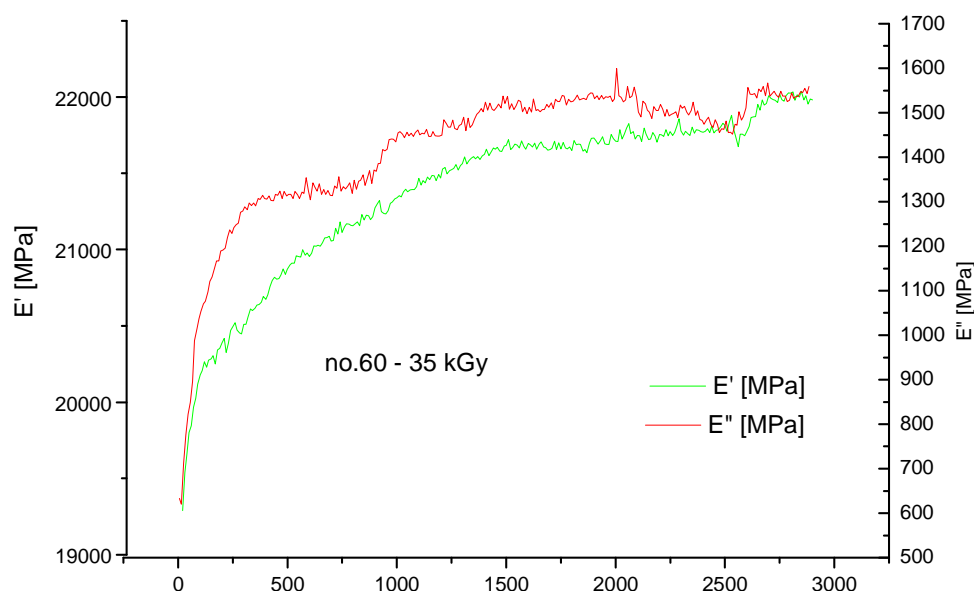


Ryc. 31. Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 59 – dawka 35 kGy

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem zielonym, napromienionej dawką 35 kGy przedstawiono na Ryc. 32

Wartości E' początkowo uległy szybkiemu wzrostowi do 90 minuty badania. W dalszym przebiegu badania wartości E' ulegały ciągłemu łagodnemu wzrostowi do końca badania.

Do 320 minuty pomiarów zanotowano szybki wzrost wartości E'' , przy czym w pierwszych 90 minutach wzrost ten był gwałtowny. Do 900 minuty badania obserwowano łagodny wzrost wartości E'' . Pomędzy 900 a 1000 minutą badania zaobserwowano gwałtowny wzrost wartości E'' który kontynuowany był do 2080 minuty badania. W dalszym przebiegu badania obserwowano obniżenie wartości E'' do 2500 min. Po tym czasie nastąpił ponowny wzrost wartości E'' .

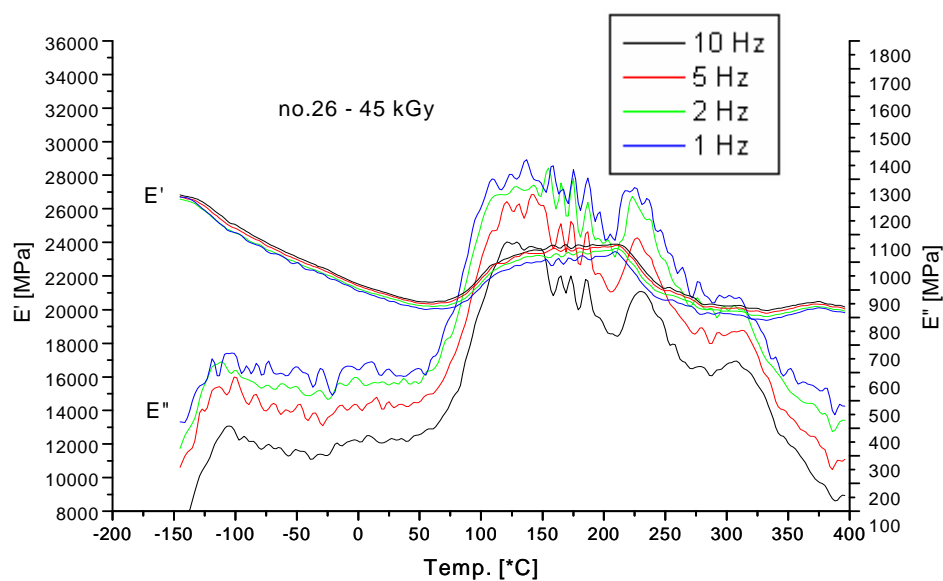


Ryc. 32. Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 60 – dawka 35 kGy

Na Ryc. 33 przedstawiono wyniki zależności temperaturowej E' i E'' dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym napromienionej dawką 45 kGy. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie wartości E' i zmniejszenie wartości E'' .

Wraz ze wzrostem temperatury następował monotoniczny spadek wartości E' od 26500 MPa w temperaturze -150°C do 20000 MPa w temperaturze 60°C . W zakresie temperatur $60-210^{\circ}\text{C}$ odnotowano wzrost wartości E' , przy czym gwałtowniejszy wzrost zaobserwowano przy ogrzewaniu do temperatury 120°C . Dalsze ogrzewanie próbki prowadziło do stopniowego obniżania się wartości E' , początkowo bardziej gwałtownego a powyżej temperatury 240°C , łagodniejszego. Powyżej temperatury 330°C zaobserwowano ponowny, łagodny wzrost E' .

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do maksimum lokalnego w temperaturze -100°C . Wzrost wartości E'' zaobserwowano po przekroczeniu temperatury 60°C kontynuowany do temp. 130°C gdzie zanotowano maksimum E'' . W zakresie temperatur $130-205^{\circ}\text{C}$ zaobserwowano obniżenie wartości E'' . Dodatkowo w zakresie tych temperatur odnotowano duże wahania E'' . Dalsze ogrzewanie do 225°C prowadziło do wzrostu E'' , w temperaturze tej odnotowano pik E'' . W zakresie temperatur $225-270^{\circ}\text{C}$ zanotowano spadek wartości E'' po którym nastąpiła chwilowa stabilizacja i dalszy spadek E'' powyżej temperatury 310°C .

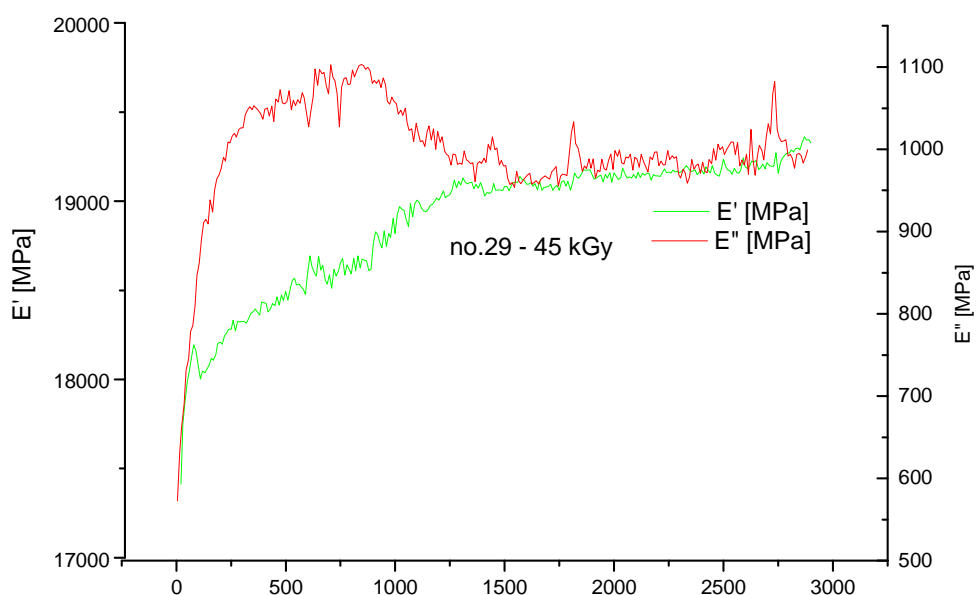


Ryc. 33. Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 26 – dawka 45 kGy

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym, napromienionej dawką 45 kGy przedstawiono na Ryc.34.

W pierwszych 90 minutach pomiarów zanotowano gwałtowny wzrost wartości E' . Do 1300 min badania obserwowano łagodne obniżenie i ponowny wzrost wartości E' . Po tym czasie wzrost był jeszcze łagodniejszy i trwał do końca badania.

Do 370 minuty pomiarów zanotowano gwałtowny wzrost wartości E'' , przy czym w pierwszych 150 minutach wzrost ten był gwałtowniejszy. W dalszym przebiegu badania obserwowano łagodny wzrost wartości E'' do 860 minuty badania. Pomiędzy 860 a 1550 minutą badania zaobserwowano obniżenie wartości E'' . Po tym czasie nastąpił ponowny, łagodny wzrost wartości E'' .

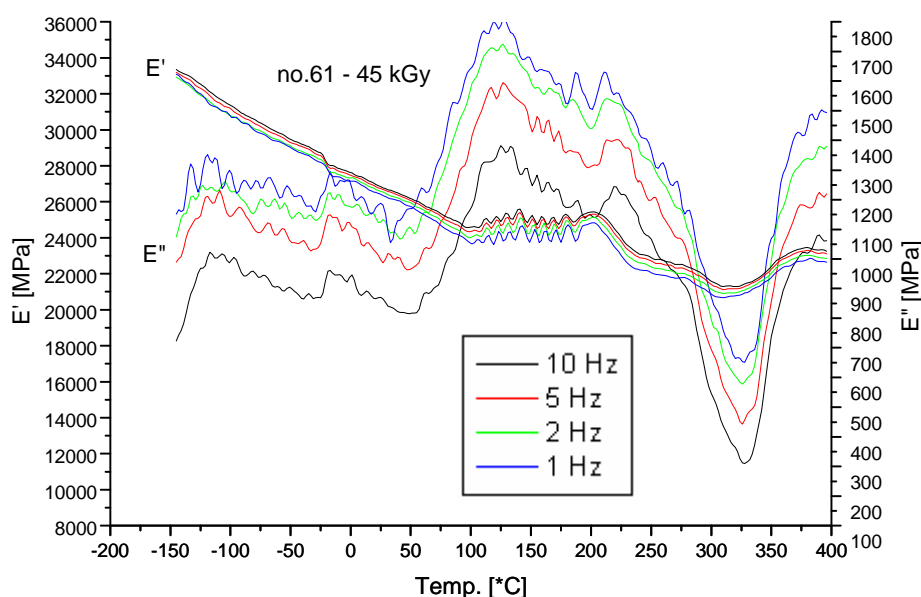


Ryc. 34. Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 29 – dawka 45 kGy

Na Ryc.35 przedstawiono wyniki zależności temperaturowej E' i E'' dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem zielonym napromienionej dawką 45 kGy. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie wartości E' i zmniejszenie wartości E'' .

Wraz ze wzrostem temperatury następował monotoniczny spadek wartości E' od 33000 MPa w temperaturze -150°C do 24000 MPa w temperaturze 100°C . W zakresie temperatur $100\text{-}200^{\circ}\text{C}$ odnotowano łagodny wzrost wartości E' z licznymi wahaniami. Dalsze ogrzewanie próbki prowadziło do stopniowego obniżania się wartości E' , początkowo gwałtownego, powyżej temperatury 240°C łagodniejszego, a od 280°C znów gwałtownego. Powyżej temperatury 320°C zaobserwowano ponowny wzrost wartości E' .

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do maksimum lokalnego w temperaturze -110°C . Wzrost wartości E'' zaobserwowano po przekroczeniu temperatury 50°C kontynuowany do temp. 130°C gdzie zanotowano maksimum E'' . W zakresie temperatur $130\text{-}220^{\circ}\text{C}$ zaobserwowano obniżenie wartości E'' . Dodatkowo w zakresie tych temperatur odnotowano duże wahania E'' . Dalsze ogrzewanie doprowadziło do gwałtownego spadku wartości E'' . W temperaturze 325°C odnotowano minimum, po którym nastąpił równie gwałtowny wzrost E'' .



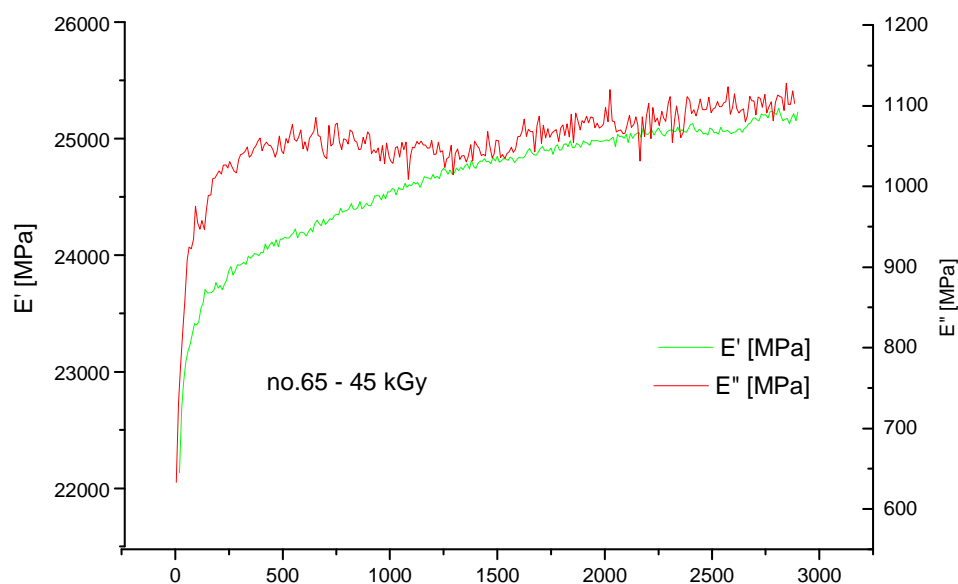
Ry

c. 35. Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 61 – dawka 45 kGy

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem zielonym, napromienionej dawką 45 kGy przedstawiono na Ryc.36

W pierwszych 80 minutach pomiarów zanotowano gwałtowny wzrost wartości E' . W dalszym przebiegu badania obserwowano ciągły wzrost wartości E' do końca badania.

Gwałtowny wzrost wartości E'' odnotowano również pierwszych 90 minutach. W dalszym przebiegu badania obserwowano łagodny wzrost E'' do 530 minuty badania, po czym łagodny spadek E'' do 1500 minuty badania. Po tym czasie nastąpił ponowny, łagodny wzrost wartości E'' .

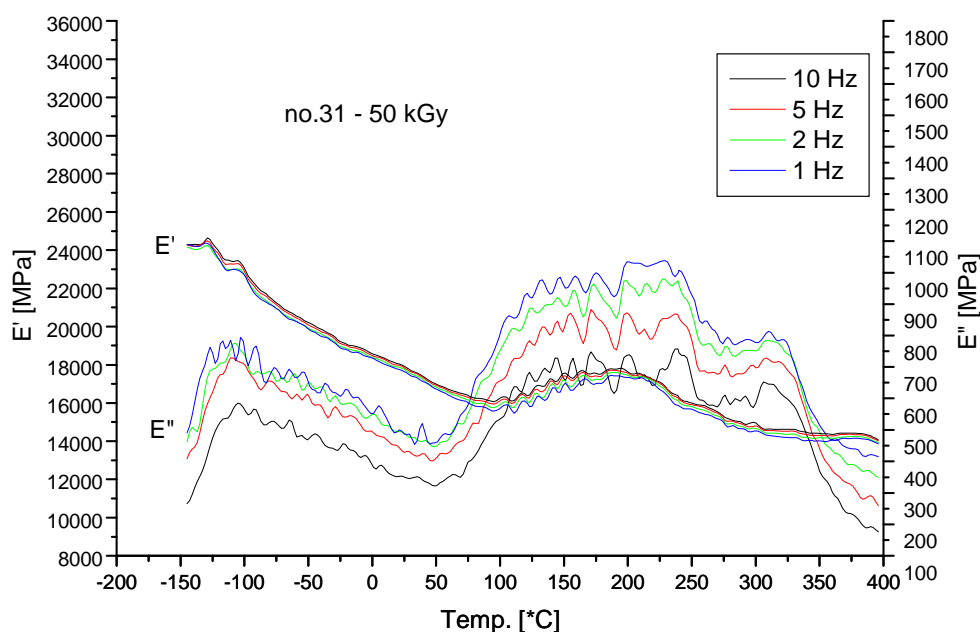


Ryc. 36. Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 65 – dawka 45 kGy

Na Ryc.37 przedstawiono wyniki zależności temperaturowej E' i E'' dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym napromienionej dawką 50 kGy. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie wartości E' i zmniejszenie wartości E'' .

Wraz ze wzrostem temperatury następował monotoniczny spadek wartości E' od 24200 MPa w temperaturze -150°C do 16000 MPa w temperaturze 100°C . W zakresie temperatur $100\text{-}190^{\circ}\text{C}$ odnotowano łagodny wzrost wartości E' z licznymi wahaniami. Dalsze ogrzewanie próbki prowadziło do stopniowego obniżania się wartości E' , początkowo bardziej gwałtownego, powyżej temperatury 240°C łagodniejszego. Powyżej temperatury 300°C zaobserwowano stabilizację wartości E' .

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do maksimum lokalnego w temperaturze -100°C . Wzrost wartości E'' , zaobserwowany po przekroczeniu temperatury 50°C , kontynuowany był do temp. 230°C , gdzie zanotowano kolejne maksimum E'' . W zakresie temperatur $230\text{-}250^{\circ}\text{C}$ odnotowano gwałtowny spadek wartości E'' . Dalsze ogrzewanie do 315°C prowadziło do łagodnego wzrostu E'' , po którym nastąpił kolejny spadek wartości E'' .

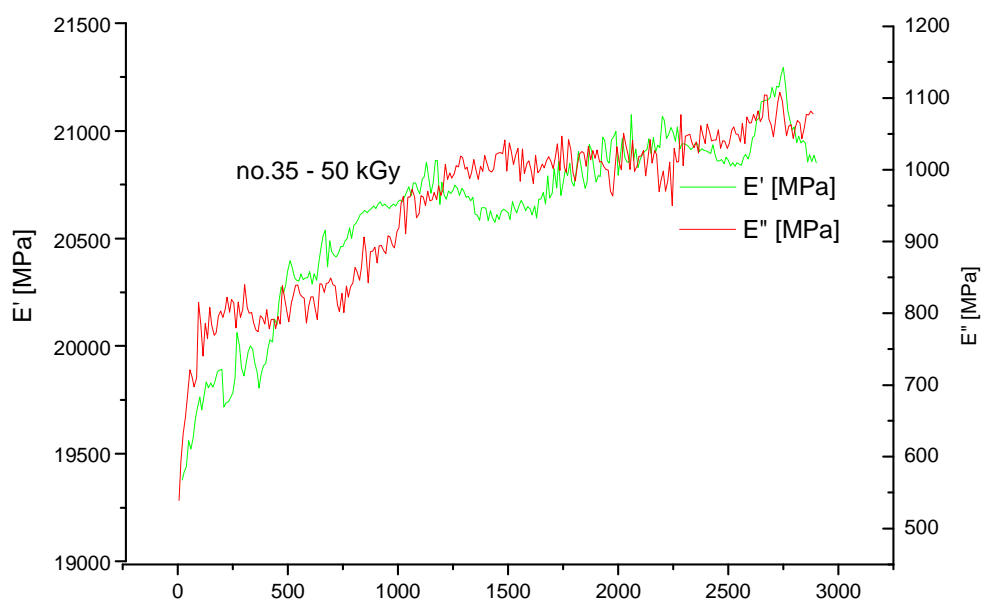


Ryc. 37. Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 31 – dawka 50 kGy

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem czerwonym, napromienionej dawką 50 kGy przedstawiono na Ryc.38.

Do 1050 minuty badania wartości E' ulegały, z licznymi wahaniami, wzrostowi. W dalszym przebiegu badania obserwowano po chwilowym spadku, ciągły wzrost wartości E' . Pod koniec badania zaobserwowano łagodny spadek wartości E' .

W pierwszych 150 minutach badania odnotowano gwałtowny wzrost wartości E'' . Do 730 minuty badania obserwowano łagodny spadek E'' . Od tego czasu do końca badania następował ciągły wzrost wartości E'' , początkowo szybszy (do 1500 min), a potem łagodniejszy.

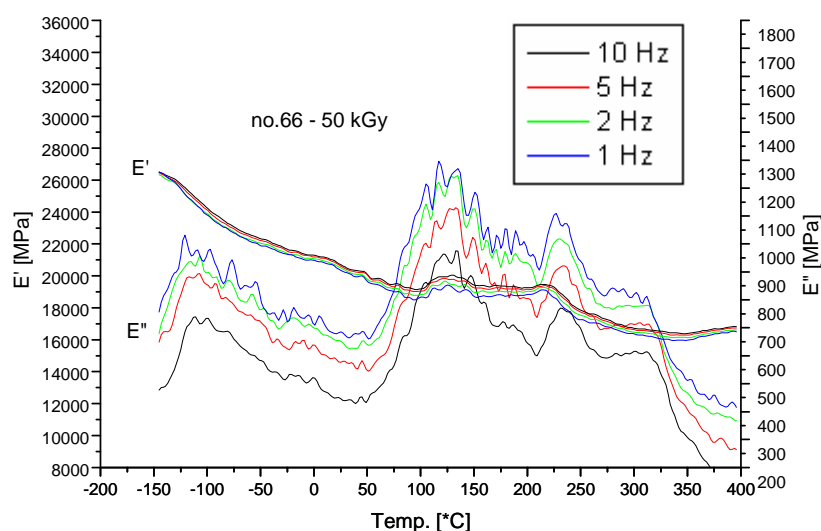


Ryc. 38. Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 35 – dawka 50 kGy

Na Ryc. 39 przedstawiono wyniki zależności temperaturowej E' i E'' dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem zielonym napromienionej dawką 50 kGy. Stwierdzono, że wzrost częstotliwości powoduje zwiększenie wartości E' i zmniejszenie wartości E'' .

Wraz ze wzrostem temperatury następował monotoniczny spadek wartości E' od 26500 MPa w temperaturze -150°C do 18500 MPa w temperaturze 100°C . W zakresie temperatur $100-130^{\circ}\text{C}$ odnotowano łagodny wzrost wartości E' , po którym nastąpił łagodny spadek E' zakończony w temperaturze 150°C . W zakresie temperatur $150-220^{\circ}\text{C}$ zaobserwowano stabilizację wartości E' . Dalsze ogrzewanie prowadziło do stopniowego obniżania się wartości E' , początkowo bardziej gwałtownego, powyżej temperatury 250°C łagodniejszego. Powyżej temperatury 330°C zaobserwowano ponowny łagodny wzrost wartości E' .

Wartości E'' badanej próbki początkowo ulegały szybkiemu wzrostowi prowadząc do maksimum lokalnego w temperaturze -110°C . Wzrost wartości E'' zaobserwowano po przekroczeniu temperatury 50°C kontynuowany do temp. 130°C , gdzie zanotowano maksimum E'' . W zakresie temperatur $130-210^{\circ}\text{C}$ odnotowano obniżenie wartości E'' . Dalsze ogrzewanie prowadzi do wystąpienia piku E'' w temperaturze 230°C po którym nastąpił gwałtowny spadek E'' . W zakresie temperatur $270-310^{\circ}\text{C}$ zaobserwowano stabilizację wartości E'' , a powyżej temp. 310°C kolejny gwałtowny spadek E'' .

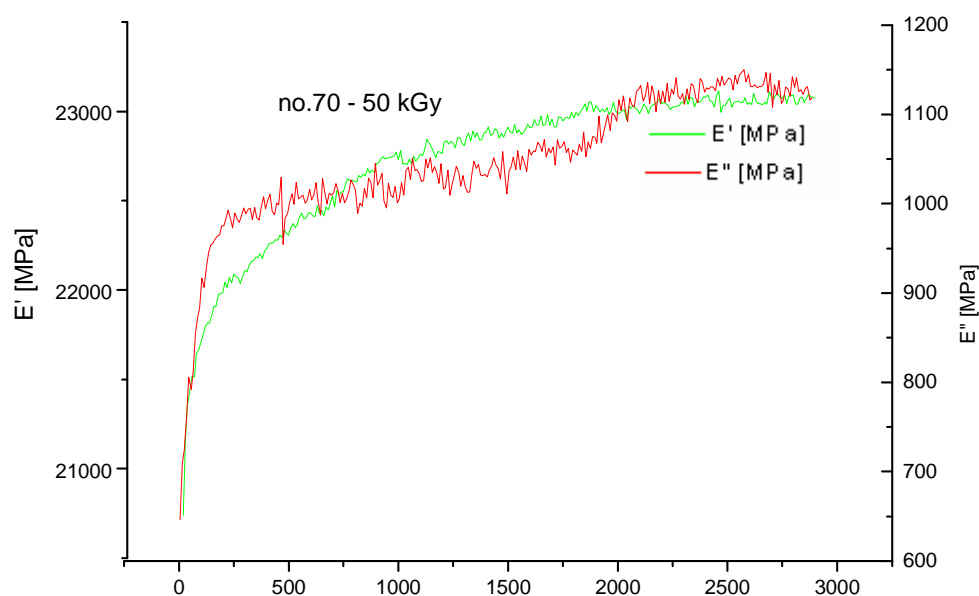


Ryc. 39. Wykres zależności E' i E'' od temperatury i częstotliwości dla próbki nr 66 – dawka 50 kGy

Wyniki uzyskane w analizie zmęczeniowej dla próbki o orientacji oznaczonej kolorem zielonym, napromienionej dawką 50 kGy przedstawiono na Ryc. 40

W pierwszych 50 minutach pomiarów zanotowano gwałtowny wzrost wartości E' , po którym do 300 minuty badania odnotowano również dość szybki wzrost E' . W dalszym przebiegu badania obserwowano łagodny, ciągły wzrost wartości E' .

W pierwszych 150 minutach badania odnotowano gwałtowny wzrost wartości E'' . W dalszym przebiegu badania obserwowano łagodny, ciągły wzrost wartości E'' .

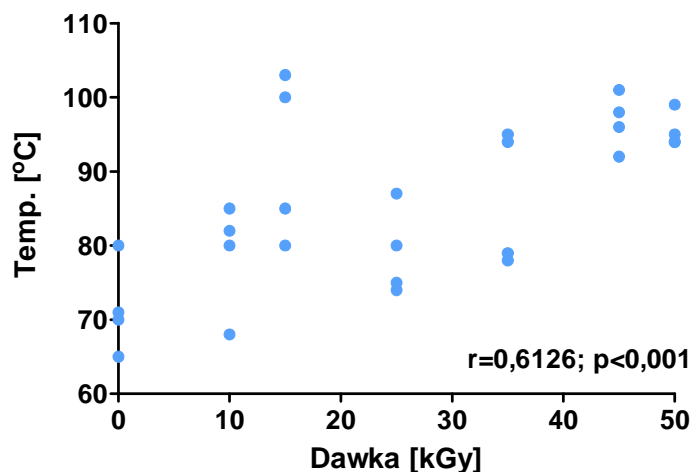


Ryc. 40. Wykres zależności E' i E'' od czasu dla częstotliwości 1 Hz dla próbki nr 70 – dawka 50 kGy.

6. DYSKUSJA

Szerokie wykorzystanie przeszczepów allogenicznych w operacjach układu mięśniowo-szkieletowego zwraca coraz większą uwagę naukowców i klinicystów na bezpieczeństwo, jakość i skuteczność, zarówno przeszczepianego materiału jak i związanych z tym przeprowadzanych procedur chirurgicznych [46]. Jak wiadomo sterylność przeszczepianego materiału jest sumarycznym wynikiem kolejnych kroków postępowania, począwszy od dokładnego skryningu dawcy, a kończąc na sterylizacji. Skuteczność sterylizacji radiacyjnej potwierdzona została w wielu badaniach [12, 33, 41, 46, 47, 74, 75]. W pracy tej zbadano wpływ promieniowania jonizującego na dynamiczne właściwości mechaniczne kości zwierzęcej.

W przeprowadzonym badaniu wykazano dużą powtarzalność wyników analizy termicznej E' i E'' . We wszystkich przypadkach odnotowano początkowe obniżanie się wartości E' wraz z przyrostem temperatury, do wartości powyżej zera, gdzie następował odwrotny trend. Podobne wyniki uzyskał Mano i wsp. [22] badając próbki kości drobiowej w zakresie temperatur od -50°C do 80°C . Ponadto zależność tą potwierdzają wyniki badań uzyskane przez Chien i Chang [91] badających kolagen w zakresie temperatur od -160 do 220°C . Wykazano, że proces ten związany był w obu analizowanych przypadkach ze stopniowym topnieniem kryształów wody. Warto podkreślić, że pomimo iż w obu pracach minimum E' występowało w okolicach temperatury 0°C , to w badaniach własnych temperatura ta zmieniała się wraz ze wzrostem dawki promieniowania. Na Ryc. 41 przedstawiono temperatury minimów lokalnych w zależności od dawki promieniowania i korelację pomiędzy analizowanymi parametrami.

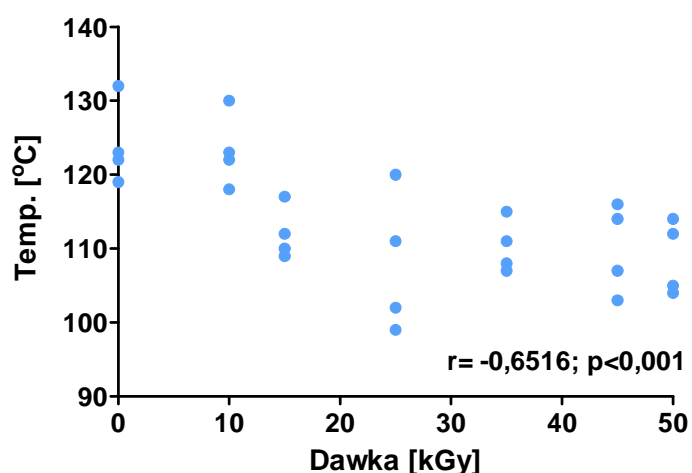


Ryc. 41 Temperatury występowania minimum lokalnego E' w zależności od dawki.

Jak wynika z zamieszczonej powyżej ryciny temperatura minimów lokalnych wzrasta wraz ze wzrostem dawki promieniowania. Związane to może być ze wzrostem sieciowania włókien kolagenu, a co za tym idzie „unieruchomieniem” cząsteczek wody i wolniejszym ich uwalnianiem.

Dalszy przyrost temperatury powodował, jak już wspomniano, wzrost wartości E'. Efekt ten wg. Mano i wsp. [20] związany jest z odparowywaniem wody. Kość tracąc wodę staje się coraz bardziej twarda, a więc zwiększa się wartość E'. Dalszy przyrost temperatury wywoływał dyspersję wartości E' względem badanych częstotliwości. Zaletą DMA jest możliwość badania materiału w szerokim zakresie częstotliwości. Siła działająca z wysoką częstotliwością działać będzie głównie na małe cząsteczki, natomiast z niską częstotliwością na duże. Gdy układ jest stabilny wartości modułów DMA względem częstotliwości pokazują zbliżoną wartość, natomiast w momencie gdy w badanym ciele zachodzi proces związany np. z przemianą fazową, dochodzi do dyspersji wartości poszczególnych modułów [17]. Dyspersja ta w omawianym przypadku związana jest najprawdopodobniej z rozpoczęciem się procesu denaturacji kolagenu. Yamashita i wsp. [23] wykazali, że denaturacja kolagenu zachodzi w większości przypadków w zakresie temperatur 100 - 200°C. Kronick i Cooke [26] odnotowali temperaturę denaturacji kolagenu przy wartości ok. 155°C. Wang i wsp. [24] wykazali natomiast, że denaturacja kolagenu rozpoczyna się po przekroczeniu temperatury 120°C, podkreślając przy tym, że w

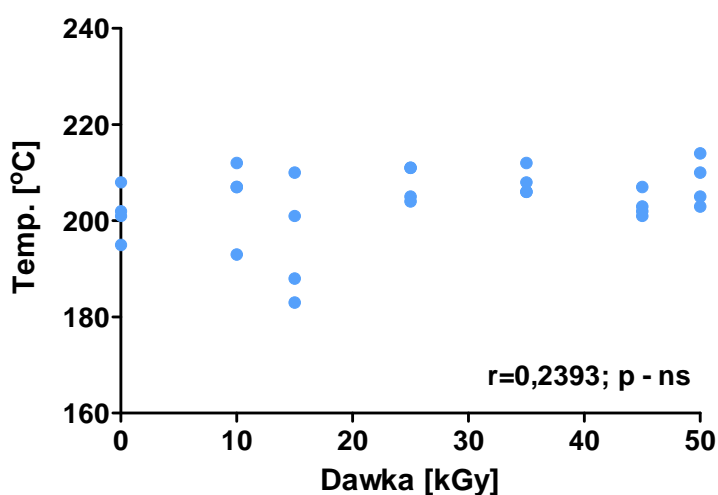
temperaturze 160°C stopień denaturacji kolagenu wynosił ok. 50 %, a w 190°C proces ten dokonał się w całości. Bowman [25] w swoich badaniach udowodnił natomiast, że temperatura zdekalcyfikowanego kolagenu wynosi 50 - 56°C. Różnice w uzyskanych wynikach badań wynikają z ochronnego działania sieci krystalicznej na kolagen. W związku z tym kryształy HAP wypełniają przestrzenie pomiędzy włóknami kolagenu, zmniejszając znacznie możliwość ich ruchów molekularnych. Dodatkowo udowodniono, iż temperatura denaturacji kolagenu zależy również od stopnia uwodnienia [27, 28, 92, 93], przy czym im mniejsza zawartość wody, tym temperatura denaturacji wyższa. W celu określenia wpływu promieniowania porównano temperatury, w których rozpoczęła się dyspersja wartości E', a więc początek temperatury denaturacji w zależności od dawki. Wyniki analizy przedstawiono na Ryc. 42.



Ryc. 42 Temperatury rozpoczęcia procesu denaturacji kolagenu wyznaczone za pomocą E' w zależności od dawki.

Jak wynika z analizy promieniowanie jonizujące wpływa na obniżenie temperatury, w której rozpoczyna się proces denaturacji kolagenu, a efekt ten zależny jest od dawki. Dalszy przyrost temperatury prowadził do wystąpienia piku E' w zakresie temperatur 200 - 220°C z następnym gwałtownym obniżeniem wartości E'. Zjawisko to wiązać należy z zakończeniem procesu denaturacji kolagenu. Bardzo podobne zjawisko opisują w swej pracy Wang i Feng [21], którzy wykazali gwałtowne obniżenie wartości E' w zakresie temperatur 200 - 240°C, co wiązano ze znaczącą denaturacją kolagenu. Autorzy

zwracają dodatkowo uwagę, że zjawiska tego nie należy wiązać z ewentualną degradacją sieci krystalicznej, gdyż zjawisko to zachodzi dopiero po przekroczeniu temperatury 400°C. Na Ryc. 43 przedstawiono zależność temperatury, w której dochodzi do zakończenia procesu denaturacji kolagenu w zależności od dawki promieniowania i korelację pomiędzy analizowanymi parametrami.

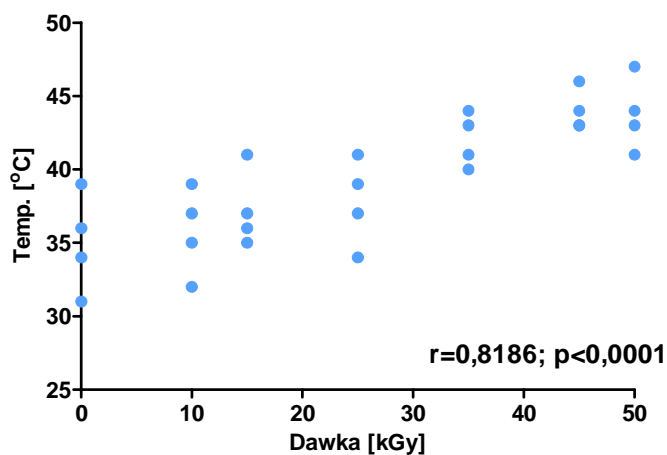


Ryc. 43 Temperatury występowania pików E' – zakończenia procesu denaturacji w zależności od dawki.

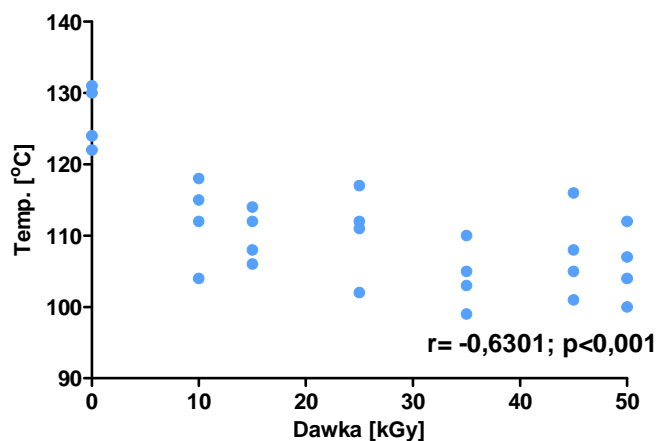
W analizie tej nie wykazano wpływu dawki na temperaturę w której proces denaturacji ulega zakończeniu. Dalszy przyrost temperatury prowadził do stopniowego obniżania wartości E'. W granicach temperatur 320 - 360°C uwidoczniło słabo zaznaczony pik, który odpowiadać może pyrolizie kolagenu. Zjawisko to opisał w swej pracy Peters i wsp. [94] badając kości w zakresie temperatur 50 - 1000°C z użyciem technik spektroskopowych. W badaniach tych wykazano, że w temperaturze 260 - 600°C dochodzi do spalania organicznych komponentów kości.

W przypadku krzywych E'', choć mają one odmienny przebieg, to wynikają z tych samych zjawisk, które omówiono wyżej. Wraz z przyrostem temperatury następował spadek wartości E'' i po przekroczeniu temperatury ok. 50°C ponowny wzrost. Podobnie jak w przypadku E', dyspersja rozpoczynała się w temperaturze ok. 100°C i była dużo bardziej widoczna. W zakresie temperatur 200 - 220°C występował pik związany z zakończeniem temperatury denaturacji i znacznie bardziej widoczny niż w przypadku E', pik w zakresie temperatur 300 -

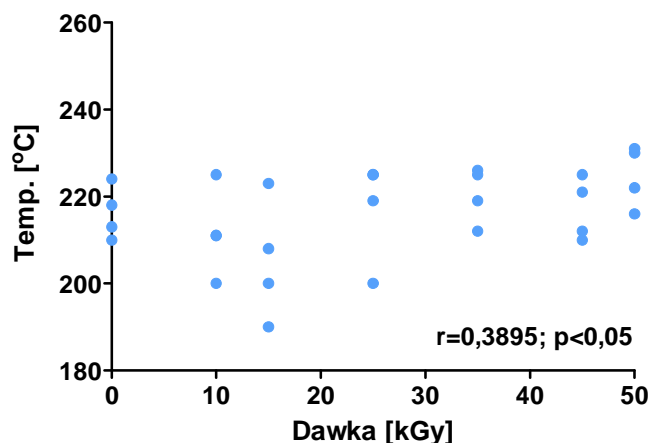
350°C związany, jak już wspomniano, z pyrolizą kolagenu. Również dla wartości E'' w celu określenia wpływu dawki napromienienia porównano temperatury początku i zakończenia procesu denaturacji oraz pozostałych omawianych ekstremów lokalnych (Ryc. 44-47).



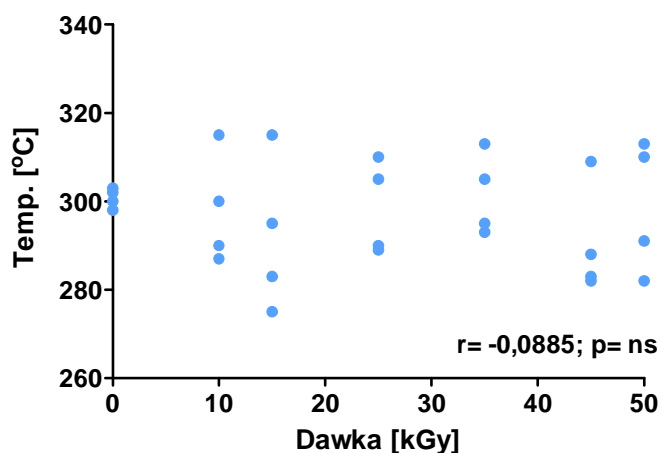
Ryc. 44. Temperatury występowania minimum lokalnego E'' w zależności od dawki.



Ryc. 45. Temperatury rozpoczęcia procesu denaturacji kolagenu wyznaczone za pomocą E'' w zależności od dawki.



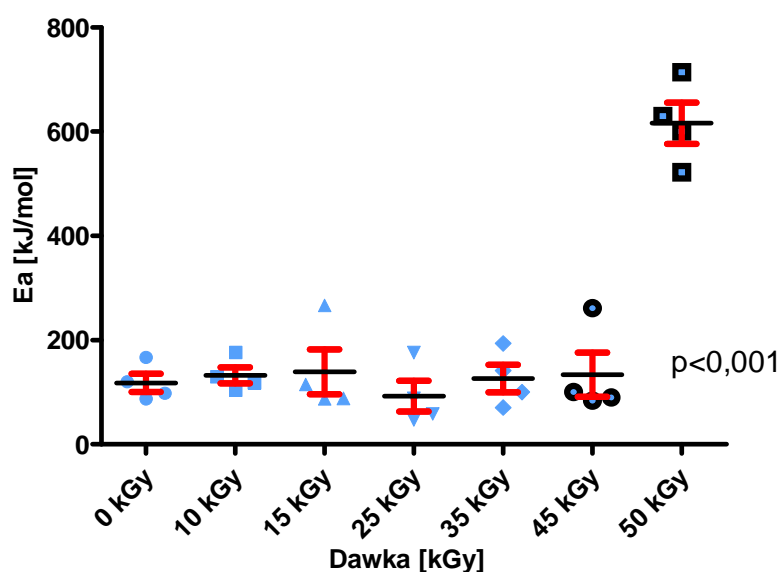
Ryc. 46. Temperatury pików E'' - zakończenia procesu denaturacji kolagenu w zależności od dawki.



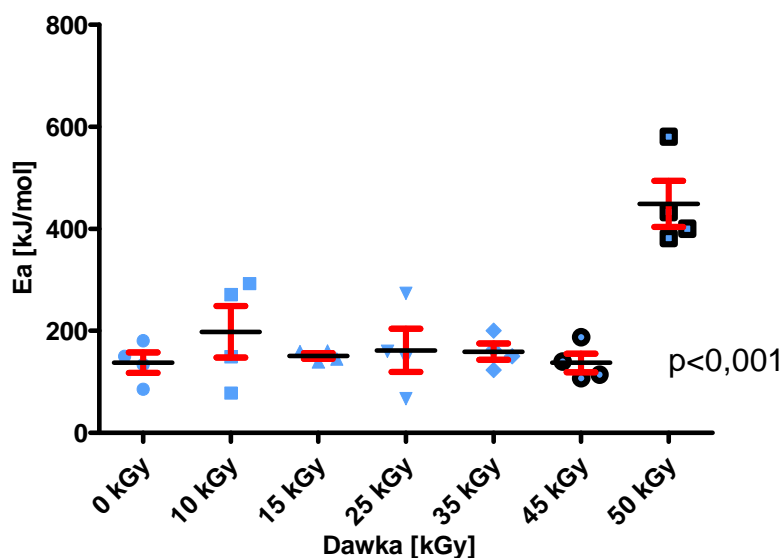
Ryc. 47. Temperatury pików E'' - początek procesu spalania fazy organicznej w zależności od dawki.

Wykazano podobnie jak w przypadku E', że wzrost dawki promieniowania jonizującego przesunął wartość minimum E'' w stronę temperatur wyższych (Ryc. 44) oraz obniżył temperaturę, w której rozpoczyna się proces denaturacji kolagenu (Ryc. 45). W obu przypadkach proces ten zależy od dawki napromieniowania. Dodatkowo w przypadku E'' stwierdzono niewielką zależność temperatury zakończenia procesu denaturacji od dawki promieniowania (Ryc. 46). Nie wykazano natomiast wpływu dawki na pik związany z procesem pyrolizy fazy organicznej (Ryc. 47).

Dodatkowo w celu dokładniejszej analizy procesu denaturacji termicznej kolagenu obliczono zgodnie z procedurą opisaną przez Tylczyńskiego i wsp. [95] energię aktywacji (E_a) tego procesu. Z uzyskanych wartości wykonano analizę porównawczą E_a zarówno dla rozpoczęcia i zakończenia procesu denaturacji, co zobrazowano na Ryc. 48 i 49. Jak wynika z obliczeń energia aktywacji obu procesów jest znacznie wyższa dla próbek napromienionych dawką 50 kGy. Nie wykazano natomiast różnic pomiędzy próbkami kontrolnymi oraz napromieniowanymi pozostałymi dawkami.

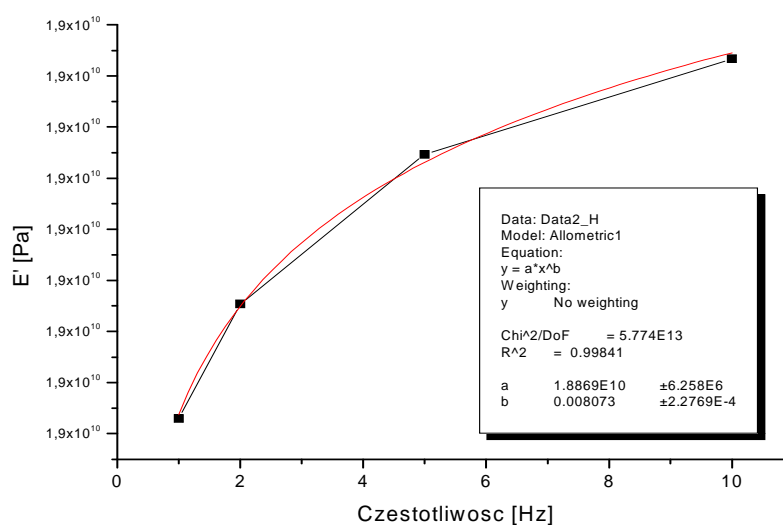


Ryc. 48. Energia aktywacji procesu – początek denaturacji.



Ryc. 49. Energia aktywacji procesu – zakończenie denaturacji.

Analizując krzywe zależności temperaturowych E' i E'' wykazano iż zmieniają się one w zależności od częstotliwości. Wykazano, że wzrost częstotliwości skutkował w każdym przypadku wzrostem wartości E' . W celu zbadania powtarzalności tej zależności wykonano analizę dla wszystkich próbek w różnych temperaturach, a przykładową krzywą przedstawiono na Rycinie 50. W każdym przypadku, niezależnie od próbki i temperatury, w jakiej wykonano analizę współczynnik determinacji (R^2) był bardzo wysoki i wahał się od 0,91 do 0,98.



Ryc. 50. Zależność wartości E' od częstotliwości dla próbki nr 12. Wartości E' mierzone w temperaturze 36°C.

Podobny związek pomiędzy analizowanymi parametrami wykazano w badaniach Dong i wsp. [96] przeprowadzonych w zakresie częstotliwości 1 - 20 Hz z interwałami 0,2 Hz. Podobnie jak w badaniach własnych, również w tym przypadku uzyskano wysoki współczynnik determinacji ($R^2=0,98$), a zależność tą potwierdzają w swoich badaniach również Yeni i wsp [97]. Z przeprowadzonej analizy wynika również, iż w każdym przypadku wzrost częstotliwości skutkował obniżeniem wartości E'' . Choć zarówno w badaniach Dong i wsp. [96] jak też Yeni i wsp. [97] nie opisano zależności E'' od częstotliwości w sposób bezpośredni, to na podstawie związku częstotliwości z E' i $\tan \delta$ wnioskować można o takiej samej zależności.

Jak już wspomniano wcześniej wielu autorów [70, 75-77, 80, 98] sugeruje, że sterylizacja kości z użyciem promieniowania jonizującego pogarsza ich właściwości mechaniczne. Jednak wszystkie dostępne w literaturze dane omawiające to zagadnienie opierają się na testach statycznych. Obecnie, poza badaniami wstępnymi [99], nie są dostępne wyniki innych badań nad wpływem promieniowania jonizującego na dynamiczne właściwości mechaniczne kości. Zarówno w przypadku E' jak i E'' , dla wybranych temperatur, dokonano obróbki statystycznej wyników, które przedstawiono w Tabeli 7. W żadnym przypadku nie uzyskano istotnych statystycznie różnic wartości E' , choć ze względu na wielkość próby moc testu była niska (ok. 40 %). Największą różnicę wykazano w przypadku próbek napromienionych dawką 50kGy (\downarrow 13,7 %) oraz 15kGy (\uparrow 13,6 %). W przypadku wartości E'' wykazano istotną statystycznie różnicę dla próbek napromienionych dawką 10 i 50 kGy. W pierwszym przypadku była to redukcja o 14,3 %, w drugim redukcja, aż o 33,2 %. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w przypadku pozostałych dawek.

Tabela 7. Porównanie średnich wartości E' i E'' w różnych temperaturach pomiędzy badanymi dawkami.

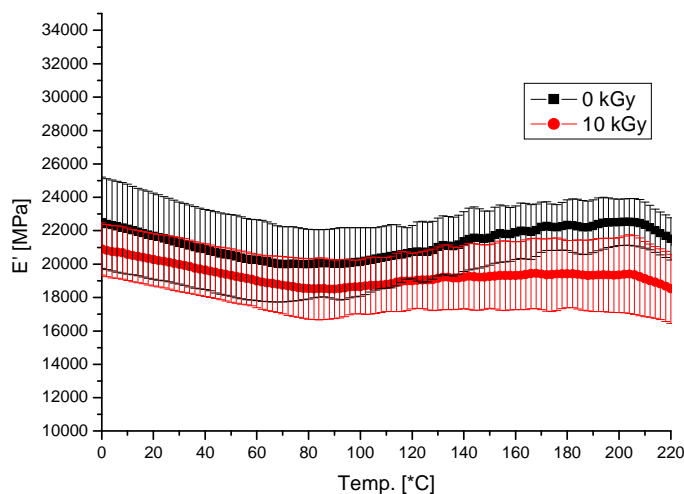
	Dawka [kGy]						
	0	10	15	25	35	45	50
$E' \pm SD$ [MPa] Temp. 0°C	22500 ± 2700	21000 ± 1600	25200 ± 4700	21500 ± 1900	23300 ± 3500	22700 ± 4100	19100 ± 4800
$E' \pm SD$ [MPa] Temp. 36°C	21000 ± 2400	19800 ± 1600	23900 ± 4600	20900 ± 2100	22000 ± 3500	21600 ± 4000	18100 ± 4700
$E'' \pm SD$ [MPa] Temp. 0°C	970 ± 60	780 ± 150	1120 ± 330	890 ± 160	875 ± 180	1000 ± 370	650* ± 190
$E'' \pm SD$ [MPa] Temp. 36°C	840 ± 30	720* ± 70	1040 ± 330	830 ± 140	860 ± 250	940 ± 370	660 ± 280

* $p < 0,05$;

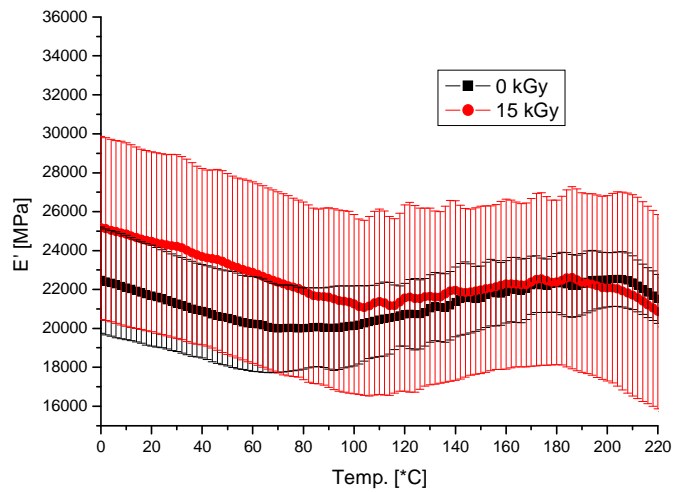
W związku z tym, że moduł strat (E'') jest miarą rozpraszania energii przez kość w trakcie cyklicznych obciążeń, pozwala określić zdolność kości do przeciwstawiania się sile nacisku, aż do jej złamania. Obniżenie wartości E'' oznacza w praktyce zwiększone ryzyko złamania kości [21]. Moduł magazynowania (E') uważać można natomiast jako ekwiwalent modułu Younga w DMA [97]. Currey [75] w badaniach statycznych nie wykazał zmian w module Younga dla próbek napromienionych dawkami 17, 29,5 a nawet 94,7 kGy, mimo

iz obserwowano zmiany w innych parametrach. Podobnie Balsly i wsp. [46] oraz Zhang [79] nie wykazali zmian w module Younga kości napromienianych dawkami 18-25 kGy. Ponadto w badaniach Kamińskiego i wsp. [100] nie uzyskano statystycznie istotnych różnic wytrzymałości na rozciąganie pomiędzy próbkami napromienionymi dawkami 25, 35, 50, a nawet 100 kGy. Mimo to sugeruje się, iż promieniowanie jonizujące powoduje wzrost sztywności kości, co w badaniach swych potwierdzili Butler i wsp. [51].

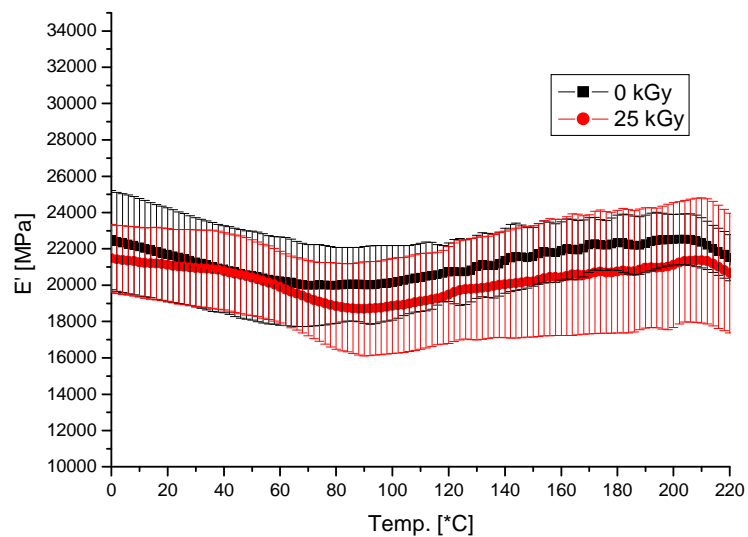
Na rycinach poniżej (Ryc. 51 - 56) przedstawiono ponadto porównanie uśrednionych wartości E' z odchyleniami standardowymi próbek napromienionych dawkami: 10, 15, 25, 35, 45 i 50 kGy w odniesieniu do próbek kontrolnych, w zakresie temperatur 0 – 220°C. Dla żadnej z badanych dawek nie wykazano w całym przebiegu badania istotnych statystycznie różnic wartości E' . Jak już wcześniej wspomniano, biorąc pod uwagę, iż E' jest ekwiwalentem modułu Younga to wyniki te zbieżne są z badaniami przedstawionymi w Tabeli 5.



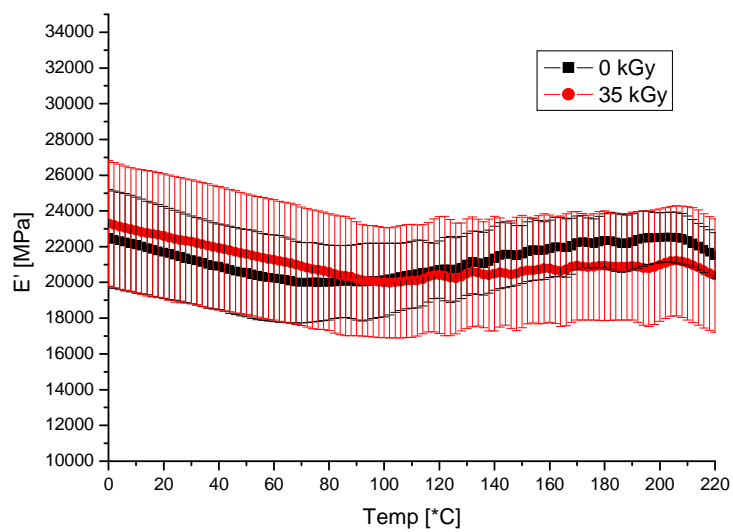
Ryc. 51. Porównanie uśrednionych wartości E' próbek kontrolnych i napromienionych dawką 10 kGy



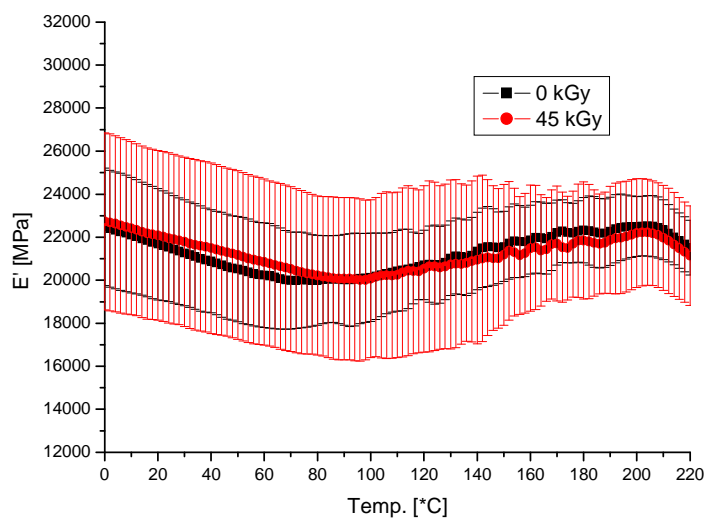
Ryc. 52. Porównanie uśrednionych wartości E' próbek kontrolnych i napromienionych dawką 15 kGy



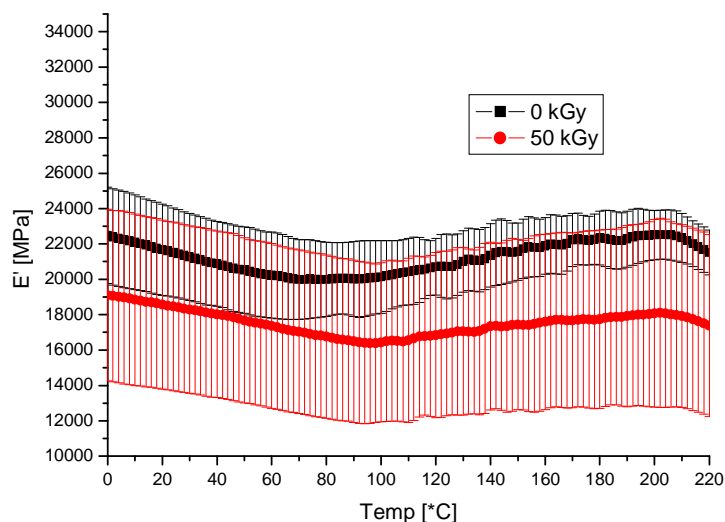
Ryc. 53. Porównanie uśrednionych wartości E' próbek kontrolnych i napromienionych dawką 25 kGy



Ryc. 54. Porównanie uśrednionych wartości E' próbek kontrolnych i napromienionych dawką 35 kGy

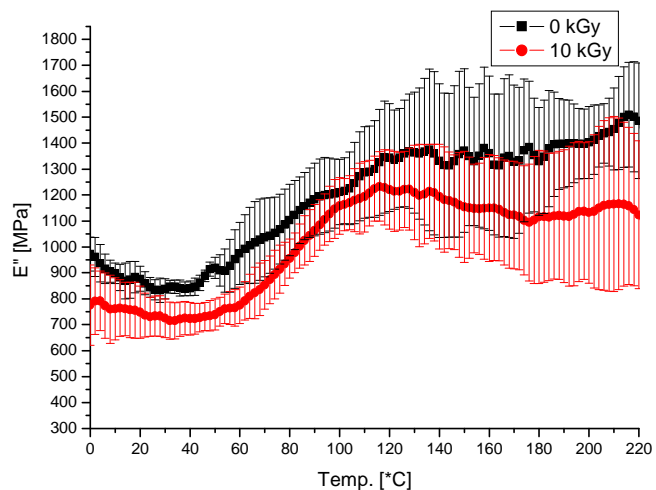


Ryc. 55. Porównanie uśrednionych wartości E' próbek kontrolnych i napromienionych dawką 45 kGy

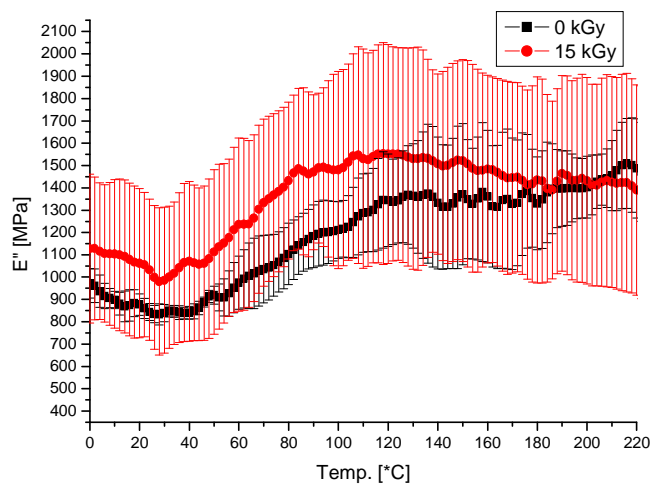


Ryc. 56. Porównanie uśrednionych wartości E' próbek kontrolnych i napromienionych dawką 50 kGy

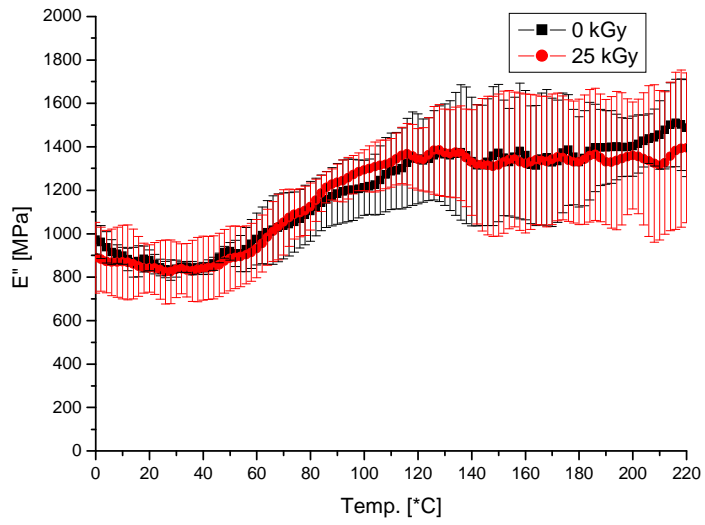
Na rycinach poniżej (Ryc. 57 - 62) przedstawiono natomiast porównanie uśrednionych wartości E'' wraz z odchyleniami standardowymi próbek napromienionych dawkami: 10, 15, 25, 35, 45 i 50 kGy w odniesieniu do próbek kontrolnych, również w zakresie temperatur 0 – 220°C. W przebiegu całego badania nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy próbkami kontrolnymi oraz napromienionymi dawkami 15, 25, 35 i 45 kGy. Wykazano natomiast w przypadku próbek napromienionych dawką 10 kGy, iż w przedziale temperaturowym od ok. 20 do 60°C wartości E'' różnią się znacząco. W przypadku próbek napromienionych dawką 50 kGy średnie wartości E'' różniły się najbardziej, jednak istotność statystyczna występowała jedynie w zakresie temperatur od -20 do 10°C.



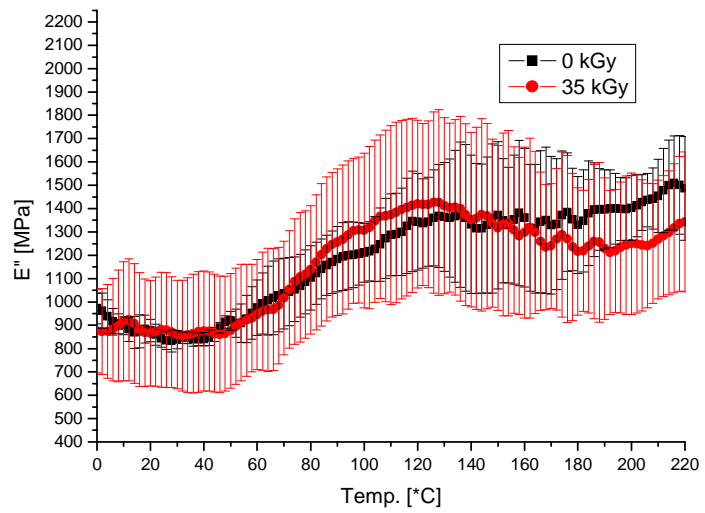
Ryc. 57. Porównanie uśrednionych wartości E'' próbek kontrolnych i napromienionych dawką 10 kGy



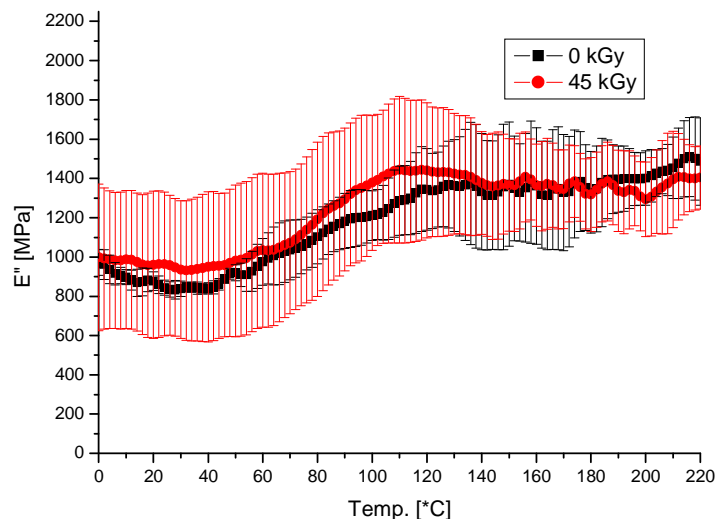
Ryc. 58. Porównanie uśrednionych wartości E'' próbek kontrolnych i napromienionych dawką 15 kGy



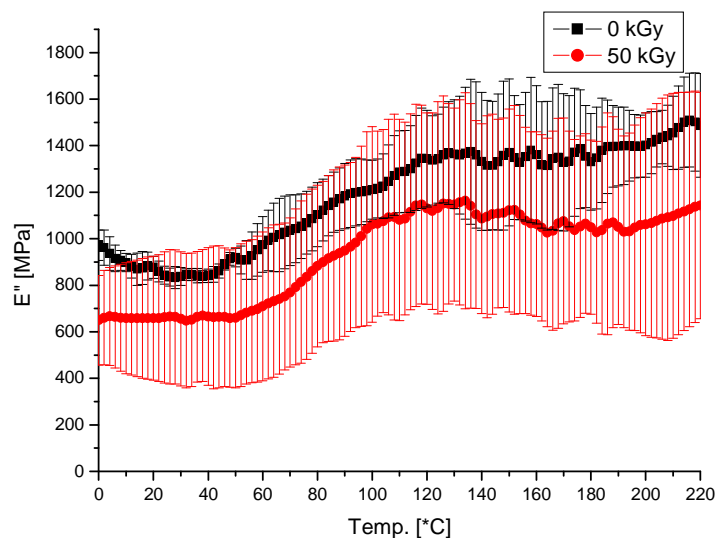
Ryc. 59. Porównanie uśrednionych wartości E'' próbek kontrolnych i napromienionych dawką 25 kGy



Ryc. 60. Porównanie uśrednionych wartości E'' próbek kontrolnych i napromienionych dawką 35 kGy



Ryc. 61. Porównanie uśrednionych wartości E'' próbek kontrolnych i napromienionych dawką 45 kGy



Ryc. 62. Porównanie uśrednionych wartości E'' próbek kontrolnych i napromienionych dawką 50 kGy

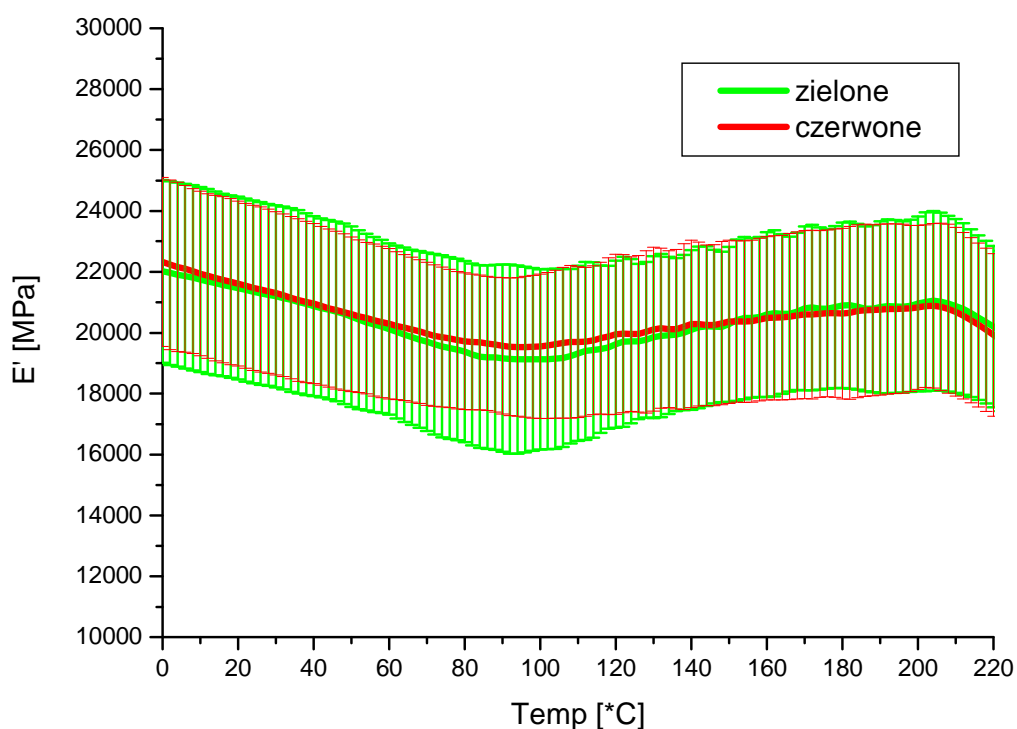
W literaturze podkreśla się wpływ warunków sterylizacji na właściwości mechaniczne kości. Próbki chłodzone w trakcie napromieniania zachowują lepiej swoje właściwości mechaniczne od tych nie podlegających chłodzeniu [101]. W przedstawionym badaniu do sterylizacji użyto akceleratora elektronów. Jak już

wcześniej wspomniano, czas sterylizacji przy użyciu tej techniki wynosi kilkanaście minut, a nie kilka godzin, jak to ma miejsce w przypadku promieniowania gamma. Dzięki temu uniknąć można w sposób znaczny efektu cieplnego. Hamer i wsp. [101] wykazali protekcyjny wpływ mrożenia w trakcie napromienienia na właściwości mechaniczne kości. W swych badaniach napromieniali kości dawką 30 kGy w warunkach temperatury pokojowej i w temp -78°C . Praca potrzebna do złamania próbek mrożonych była o 16 % większa od napromienionych bez mrożenia. Dodatkowo wykazano iż stopień denaturacji kolagenu w przypadku próbek mrożonych wynosił 41 % w porównaniu do 57 % dla próbek kontrolnych. Pamiętać jednak należy, że sama temperatura sterylizacji nie wpływa tylko na właściwości mechaniczne kości, ale również na skuteczność sterylizacji. Pruss i wsp. [102] wykazali, że do inaktywowania wirusa HIV w temperaturze

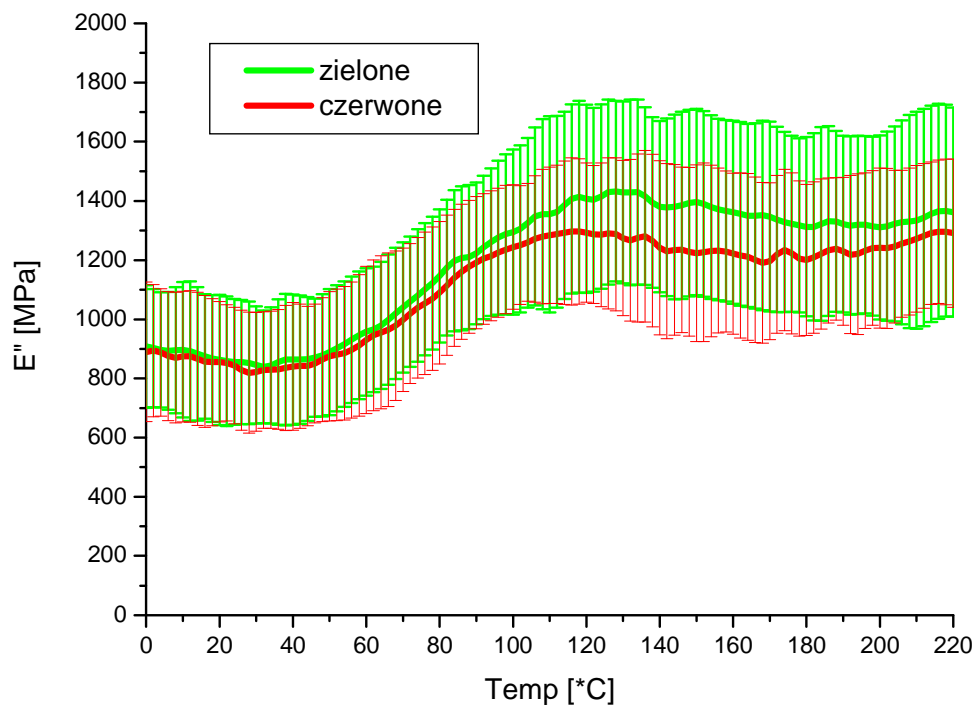
-30°C potrzebna jest dawka 34 kGy. Wyniki te potwierdza badanie Fidelera i wsp. [68] sugerujące zastosowanie dla kości mrożonych w temperaturze -70°C dawki 30 - 40 kGy. Hiemstra i wsp. [103] wykazali również, iż próbki mrożone do -80°C poddane muszą zostać sterylizacji dawką nawet 50 - 100 kGy, przy czym inaktywacja wirusa HIV w temperaturze 15°C wymaga zastosowania dawki 25 kGy. Efekt ten wynika z pośredniego mechanizmu sterylizacji, a więc tworzenia się wolnych rodników tlenowych, które również w sposób pośredni uszkadzają strukturę kolagenu. Wciąż poszukuje się sposobów uniknięcia tego zjawiska. W pracy Grieb i wsp. [47] zastosowano zoptymalizowany sposób sterylizacji kości, polegający na umieszczeniu jej przed napromienieniem w roztworze radioprotekcyjnym. W efekcie próbki napromienione dawką 50 kGy wykazują lepsze właściwości mechaniczne niż próbki napromienione dawką 18 kGy w sposób standardowy.

Kość uznawana jest za typowy przykład materiału anizotropowego [104]. Wynika to zarówno z niejednorodnej budowy kości (faza organiczna i faza mineralna), jak również z przebiegu włókien kolagenowych. Kość ulega stałemu remodelingowi, co związane jest z działającymi na nią siłami. W efekcie kość podlega takiej przebudowie, że w miejscach gdzie działające siły są najwyższe, kość jest najbardziej wytrzymała [97]. Uzyskane w eksperymencie wyniki uśredniono i porównano pomiędzy grupami oznaczonymi kolorami czerwonym i

zielonym, w celu zbadania wpływu orientacji wycinanych próbek na dynamiczne właściwości mechaniczne. W badaniu nie wykazano istotnych statystycznie różnic zarówno wartości E' jak i E'' pomiędzy porównywanymi grupami dla próbek kontrolnych jak i napromienionych wszystkimi dawkami. Uśrednione dane E' oraz E'' wraz z odchyleniami standardowymi przedstawiono na Ryc. 63 i 64. W omawianym tu eksperymencie obydwie grupy próbek osią długą pokrywały się z osią długą kości, a więc w obu przypadkach działająca siła przyłożona była w przybliżeniu prostopadle do przebiegających włókien kolagenu. Wyniki te potwierdzają badania Yeni i wsp. [97], w których w podobnych orientacjach próbek również nie wykazano istotnych statystycznie różnic wartości E' i $\tan \delta$.



Ryc. 63. Porównanie uśrednionych wartości E' pomiędzy próbkami o orientacji oznaczonej kolorem zielonym i czerwonym



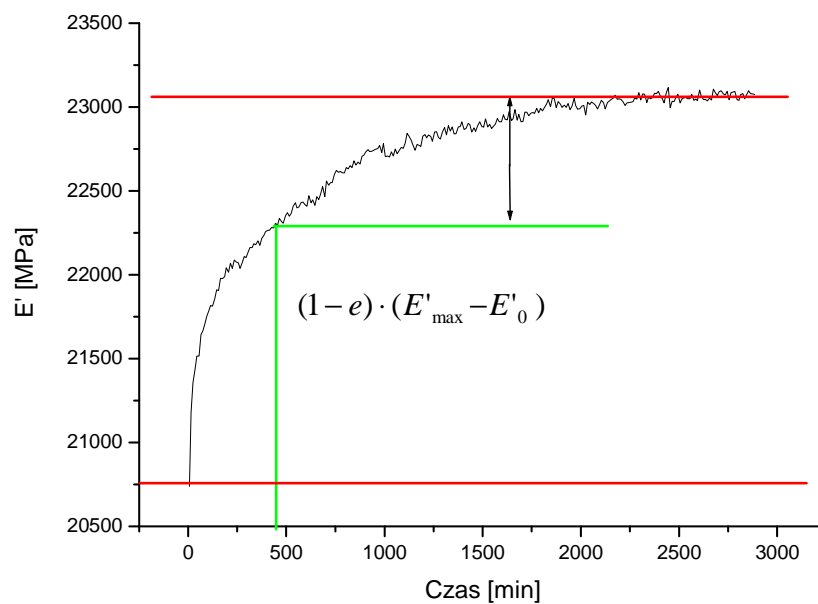
Ryc. 64. Porównanie uśrednionych wartości E'' pomiędzy próbkami o orientacji oznaczonej kolorem zielonym i czerwonym

W przeprowadzonym eksperymencie średnie wartości E' w warunkach temperatury pokojowej wynosiły ok. 21 GPa (19 - 24 GPa). W badaniach Wang i wsp. [21], który przeprowadzili badania również na kościach bydłych wartości te wynosiły ok. 8 GPa. Zaznaczyć jednak należy, że eksperyment przeprowadzony był w zakresie temperatur 30 - 300°C, a więc bez wstępnego mrożenia, co mogło mieć wpływ na wynik badania. Podobnie w przypadku badań Schaller wsp. [105] oraz Dong i wsp. [96], z kolei przeprowadzonych na kościach bydłych uzyskano wartości E' ok. 10 GPa. W badaniach Yamashita i wsp [23, 29] przeprowadzonych na kościach ludzkich wartości te oscylowały w granicach 12 GPa. W innych badaniach [22] również uzyskano wartość 8 GPa w warunkach temperatury pokojowej. W tym przypadku kości poddano wstępnemu mrożeniu do temp. - 50°C, przy czym materiał badawczy stanowiły kości drobiowe. Podobne wyniki do przedstawionych w badaniach własnych odnotowano również w badaniach Yeni i wsp. [97], w których wykorzystano kości owcze, a uzyskane

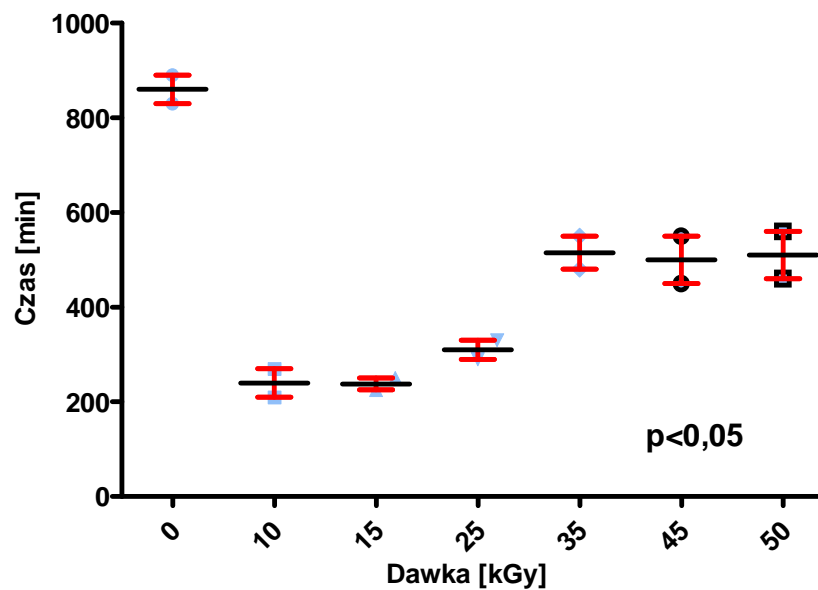
wartości E' w zależności od częstotliwości mieściły się w zakresie od 18 do 20 GPa.

W przypadku E'' średnie wartości, w przeprowadzonym eksperymencie w temperaturze pokojowej, wynosiły ok. 900 MPa (700 - 1100 MPa). W dostępnej literaturze wyłącznie Wang i Feng [21], prezentują dane E'' , również dla kości bydlęcej, które wynosiły w temperaturze pokojowej ok. 100 MPa.

W drugiej części eksperymentu poddano próbki długoterminowemu (48 godzin) działaniu siły o wartości 1 N i działającej z częstotliwością 1 Hz, w warunkach temperatury pokojowej. Częstotliwość 1 Hz jest najczęściej używaną w tego typu badaniach DMA, poza tym zgodnie z Mano i wsp. [22] najlepiej koresponduje z warunkami fizjologicznymi. W pracy tej we wszystkich przypadkach obserwowano gwałtowny wzrost wartości E' i E'' w pierwszych 100 - 150 minutach badania, kontynuowany ciągłym powolnym wzrostem tych wartości. Względęną stabilizację wartości E' i E'' , w zależności od dawki napromienienia obserwowano po ok. 300 - 800 minutach badania. W badaniach Yamashity i wsp. [29], największy wzrost wartości E' obserwowano w pierwszych 80 minutach badania, przy czym po tym okresie czasu uzyskano względne plateau. W pracy tej eksperyment zakończył się jednak w 150 minucie. W dostępnej literaturze nie znaleziono badań, które zakładałyby tak długi czas badania jak w założonym modelu badawczym. W omawianej pracy analizując krzywe E' i E'' od czasu nie wykazano wpływu promieniowania jonizującego na te wartości. W związku ze wspomnianym już różnym okresem czasu, po którym wartości E' osiągały względne plateau przeprowadzono dodatkową analizę w celu zbadania dynamiki tej zależności. Z typowej krzywej $E' = f(t)$ wyznaczono wartość punktu krytycznego (Ryc. 65), a następnie jego wartości dla poszczególnych dawek przedstawiono na Ryc. 66 wraz z odchyleniami standardowymi.



Ryc. 65. Wyznaczenie punktu krytycznego krzywej $E' = f(t)$



Ryc. 66. Porównanie wartości punktu krytycznego pomiędzy próbkami napromienionymi różnymi dawkami

Stwierdzono, iż wszystkie badane grupy próbek charakteryzują się istotnie statystycznie mniejszymi wartościami punktu krytycznego w porównaniu z próbkami kontrolnymi ($p < 0,05$). Największe różnice stwierdzono pomiędzy

próbkami kontrolnymi, a próbkami napromienionymi dawkami 10, 15 i 25 kGy, a najmniejsze pomiędzy próbkami kontrolnymi, a grupą próbek 35, 45 i 50 kGy.

W USA, w których rocznie wykonuje się najwięcej przeszczepów na świecie, najczęściej wykorzystuje się dawki 25 kGy, która uważana jest za tzw. „złoty standard” [33]. W Polsce natomiast od wielu lat z powodzeniem stosuje się dawkę 35 kGy [41]. W przedstawionym eksperymencie próbki napromienione dawkami 45 i 50 kGy wykazują się znacznymi odstępstwami w temperaturach denaturacji kolagenu w stosunku do próbek kontrolnych. Dawki 10, 15 oraz 25 kGy różnią się natomiast najbardziej w stosunku do próbek kontrolnych w badaniach zmęczeniowych. Z punktu widzenia dynamicznych właściwości mechanicznych, analizując wszystkie powyższe fakty wydaje się więc, iż optymalną dawką do sterylizacji powinna być dawka 35kGy.

7. WNIOSKI

- Promieniowanie jonizujące o dawkach 10, 15, 25, 35, 45 i 50 kGy nie zmienia istotnie wartości modułu magazynowania, natomiast dawki 10 i 50 kGy obniżają istotnie statystycznie wartości modułu strat E'' , odpowiednio o 14 i 33 %.
- Wzrost dawki powoduje obniżenie temperatury, w której rozpoczyna się proces denaturacji kolagenu, wyznaczonej na podstawie temperaturowej zależności modułu magazynowania E' i modułu strat E'' . Wyznaczona na podstawie temperaturowej zależności modułu strat E'' temperatura, w której kończy się proces denaturacji, wzrasta wraz ze wzrostem dawki.
- Energia aktywacji, wyznaczona w zakresie temperatur procesu denaturacji kolagenu, jest znamienne wyższa dla próbek napromienionych dawką 50 kGy.
- Nie wykazano wpływu geometrii próbek na wartości modułu magazynowania E' i modułu strat E'' .
- Wzrost częstotliwości przyłożonej siły, niezależnie od wartości dawki, powoduje wzrost wartości modułu magazynowania E' i obniżenie wartości modułu strat E'' .
- Niezależnie od wartości dawki, napromienienie znamienne skraca okres gwałtownego wzrostu modułu magazynowania E' w stosunku do próbek kontrolnych.
- Najbardziej zbliżone do próbek kontrolnych, dynamiczne właściwości mechaniczne wykazuje kość sterylizowana dawką 35 kGy.

8. LITERATURA

1. Marciniak J. Biomateriały. Wydawnictwo Politechniki Śląskiej. 2002
2. Weiner S, Wagner HD. The material bone: Structure mechanical function relations. Annual Review of Materials Science 1998; 28:271-298.
3. Fratzl P. Collagen: Structure and Mechanics. Springer Science+Business Media, 2008
4. Bhattacharjee A, Bansal M. Collagen structure: the Madras triple helix and the current scenario. IUBMB Life. 2005; 57(3):161-72.
5. Akkus O, Yeni YN, Wasserman N. Fracture mechanics of cortical bone tissue: a hierarchical perspective. Crit Rev Biomed Eng. 2004;32(5-6):379-426.
6. Kubisz L. Exposure of bone to ionizing radiation. W: Sickafus KE (red.) Radiation effects in solids, 575-588. 2007 Springer.
7. Keaveny TM, Morgan EF, Niebur GL, i wsp. Biomechanics of trabecular bone. Annu Rev Biomed Eng. 2001;3:307-33
8. Nomura S, Hiltner A, Lando JB, i wsp. Interaction of water with native collagen. Biopolymers 1977; 16:231-246.
9. Biltz RM, Pellegrino ED. The chemical anatomy of bone. I. A comparative study of bone composition in sixteen vertebrates. J Bone Joint Surg Am. 1969; 51(3):456-66.
10. Aerssens J, Boonen S, Lowet G, i wsp. Interspecies differences in bone composition, density, and quality: potential implications for in vivo bone research. Endocrinology. 1998; 139(2):663-70.
11. Bruce MR, Burr DB, Sharkey NA. Skeletal Tissue Mechanics. Springer-Verlag. 1998
12. Cornu O, Banse X, Docquier P, i wsp. Effect of freeze-drying and gamma irradiation on the mechanical properties of human cancellous bone. J-Orthop-Res 2000; 18(3):426-431
13. Liwienczew NM. Fizyka dla Medyków i Biologów. PWN. 1964
14. Yeni YN, Dong XN, Fyhrie DP, i wsp. The dependence between the strength and stiffness of cancellous and cortical bone tissue for tension and

- compression: extension of a unifying principle. *Biomed Mater Eng.* 2004;14(3):303-10.
15. Rho JY, Kuhn-Spearing L, Zioupos P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Med Eng Phys.* 1998; 20(2):92-102.
 16. Schaffler MB, Jepsen KJ. Fatigue and repair in bone. *Int J Fatig* 2000; 22:839–46
 17. Menard HP. *Dynamic Mechanical Analysis: A practical introduction.* 2nd Edition. CRC Press, 2008
 18. Jones DS. Dynamic mechanical analysis of polymeric systems of pharmaceutical and biomedical significance *Int. J. Pharm.* 1999; 179:167–178
 19. Sobczak R, Nitkiewicz Z, Koszkuł J. Badania dynamicznych właściwości mechanicznych kompozytów na osnowie polipropylenu wzmocnionych włóknem szklanym. *Kompozyty* 2002; 2(3): 78-80
 20. Mano JF, Vaz CM, Mendes SC i wsp. Dynamic mechanical properties of hydroxyapatite-reinforced and porous starch-based degradable biomaterials *J Mater Sci Mater Med.* 1999; 10(12):857-62.
 21. Wang T, Feng Z. Dynamic mechanical properties of cortical bone: The effect of mineral content. *Materials Letters* 2005; 59: 2277-80
 22. Mano JF. Viscoelastic properties of bone: Mechanical spectroscopy studies on a chicken model. *Mater Sci Eng C* 2005; 25:145–52
 23. Yamashita J, Li X, Furman BR, i wsp. Collagen and bone viscoelasticity: A Dynamic Mechanical Analysis. *J. Biomed. Mater. Res.* 2002; 63:31-6
 24. Wang X, Bank RA, TeKoppele JM, i wsp. The role of collagen in determining bone mechanical properties. *J Orthop Res.* 2001 Nov;19(6):1021-6.
 25. Bowman SM, Gibson LJ, Hayes WC, i wsp. Results from demineralized bone creep tests suggest that collagen is responsible for the creep behavior of bone. *J Biomech Eng.* 1999; 121(2):253-8.
 26. Kronick PL, Cooke P. Thermal stabilization of collagen fibers by calcification. *Connect Tissue Res* 1996; 33(4):275-282.
 27. Miles C, Ghelashvili M. Polymer-in-a-Box Mechanism for the Thermal Stabilization of Collagen Molecules in Fibers. *Biophys J* 1999; 76(6): 3243-3252.

28. Nguyen AL, Vu BT, Wilkes GL. The dynamic mechanical, dielectric and melting behavior of reconstituted collagen. *Biopolymers* 1974; 13:1023-1037.
29. Yamashita J, Furman BR, Rawls HR, i wsp. The use of dynamic mechanical analysis to assess the viscoelastic properties of human cortical bone. *J Biomed Mater Res.* 2001; 58(1):47-53.
30. Donati D, Zolezzi C, Tomba P. i wsp. Bone grafting: historical and conceptual review, starting with an old manuscript by Vittorio Putti. *Acta Orthop.* 2007; 78(1):19-25.
31. Li J, Wang HL. Common implant-related advanced bone grafting complications: classification, etiology, and management. *Implant Dent.* 2008;17(4):389-401
32. Nguyen H, Morgan DA, Forwood MR. Sterilization of allograft bone: effects of gamma irradiation on allograft biology and biomechanics. *Cell Tissue Bank.* 2007; 8(2):93-105
33. Nguyen H, Morgan DA, Forwood MR. Sterilization of allograft bone: is 25 kGy the gold standard for gamma irradiation? *Cell Tissue Bank.* 2007;8(2):81-91
34. Board TN, Brunskill S, Doree C, i wsp. Processed versus fresh frozen bone for impaction bone grafting in revision hip arthroplasty. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2009, Issue 4. Art. No.: CD006351.
35. Kohler R, Lorge F, Brunat-Mentigny M, i wsp. Massive bone allografts in children. *Int. Orthop,* 1990;14:249-53
36. Hofmann GO, Kirschner MH, Wangemann T i wsp. Infections and immunological hazards of allogeneic bone transplantation. *Arch Orthop Trauma Surg* 1995; 114:159-66
37. Akkus O, Belaney RM. Sterilization by gamma radiation impairs the tensile fatigue life of cortical bone by two orders of magnitude. *J Orthop Res.* 2005; 23(5):1054-8.
38. Cornell CN. Osteobiologics. *Bull Hosp Jt Dis.* 2004;62(1-2):13-7
39. Sprawozdanie z działalności banków tkanek i komórek w roku 2009. Krajowe Centrum Bankowania Tkanek i Komórek. <http://www.kcbtik.pl/>
40. Sprawozdanie z działalności banków tkanek i komórek w roku 2007. Krajowe Centrum Bankowania Tkanek i Komórek. <http://www.kcbtik.pl/>

41. Dziedzic-Goclawska A, Kaminski A, Uhrynowska-Tyszkiewicz I, i wsp. Irradiation as a safety procedure in tissue banking. *Cell Tissue Bank.* 2005; 6(3):201-19.
42. Andrade MG, Sá CN, Marchionni AM, i wsp. Effects of freezing on bone histological morphology. *Cell Tissue Bank.* 2008; 9(4):279-87.
43. Cardenas RJ, Javalkar V, Patil S, i wsp. Comparison of allograft bone and titanium cages for vertebral body replacement in the thoracolumbar spine: a biomechanical study. *Neurosurgery* 2010; 66(Suppl 2):314-318
44. Efe T, Bauer J, Herdrich S, i wsp. Comparison between bovine bone and titanium interference screws for implant fixation in ACL reconstruction: a biomechanical study. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2010; 130(8):993-9
45. Leong LC. Bone and cartilage trans plant. *J Hong Kong Med Assoc* 1993; 45(2):130-5
46. Balsly CR, Cotter AT, Williams LA, i wsp. Effect of low dose and moderate dose gamma irradiation on the mechanical properties of bone and soft tissue allografts. *Cell Tissue Bank.* 2008; 9(4):289-98
47. Grieb TA, Forng RY, Stafford RE, i wsp. Effective use of optimized, high-dose (50 kGy) gamma irradiation for pathogen inactivation of human bone allografts. *Biomaterials.* 2005; 26(14):2033-42.
48. Cornu O, Bavadekar A, Godts B, i wsp. Impaction bone grafting with freeze-dried irradiated bone. Part II. Changes in stiffness and compactness of morselized grafts: experiments in cadavers. *Acta Orthop Scand.* 2003 Oct;74(5):553-8.
49. Cornu O, Bavadekar A, Godts B, i wsp. Impaction bone grafting with freeze-dried irradiated bone. Part I. Femoral implant stability: cadaver experiments in a hip simulator. *Acta Orthop Scand.* 2003 Oct;74(5):547-52
50. Malinin T, Temple HT. Comparison of frozen and freeze-dried particulate bone allografts. *Cryobiology.* 2007; 55(2):167-70.
51. Butler AM, Morgan DA, Verheul R, i wsp. Mechanical properties of gamma irradiated morselized bone during compaction. *Biomaterials.* 2005; 26(30):6009-13.
52. Pelker RR, Friedlaender GE, Markham TC. Biomechanical properties of bone allografts. *Clin Orthop Relat Res.* 1983; 174:54-7.

53. Schweiberer L, Stiitzle H, Mandelkow HK. Bone transplantation. Arch Orthop Trauma Surg 1989; 109:1-8
54. Klein-Nulend J, Bacabac RG, Mullender MG. Mechanobiology of bone tissue. Pathol Biol (Paris). 2005; 53(10):576-80.
55. Płomiński J, Kwiatkowski K. Przeszczepy kostne. Pol. Merk. Lek. 2006; XXI (126):507-10
56. Valdes MA, Thakur NA, Namdari S i wsp. Recombinant bone morphogenic protein-2 in orthopaedic surgery: a review. Arch Orthop Trauma Surg 2009; 129:1651-57
57. Kluger R, Bouhon W, Freudemberger H, i wsp. Removal of the surface layers of human cortical bone allografts restores in vitro osteoclast function reduced by processing and frozen storage. Bone. 2003; 32(3):291-6.
58. De Long WG Jr, Einhorn TA, Koval K i wsp. Bone grafts and bone graft substitutes in orthopaedic trauma surgery. A critical analysis. J Bone Joint Surg Am. 2007; 89(3): 649-58
59. Nishida J, Shimamura T. Methods of reconstruction for bone defect after tumor excision: a review of alternatives. Med Sci Monit. 2008;14(8):107-13.
60. Finkemeier CG. Bone-Grafting and Bone-Graft Substitutes. J Bone Joint Surg Am. 2002;84:454-464
61. Chow LC. Next generation calcium phosphate-based biomaterials. Dent Mater J. 2009; 28(1):1-10
62. Lindfors NC, Koski I, Heikkilä JT i wsp. A prospective randomized 14-year follow-up study of bioactive glass and autogenous bone as bone graft substitutes in benign bone tumors. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2010; 94(1):157-64.
63. Leung HB, Fok MW, Chow LC i wsp. Cost comparison of femoral head banking versus bone substitutes. J Orthop Surg (Hong Kong). 2010; 18(1):50-4.
64. Endres S, Kratz M. Gamma irradiation. An effective procedure for bone banks, but does it make sense from an osteobiological perspective? J Musculoskelet Neuronal Interact. 2009; 9(1):25-31.

65. Loty B, Courpied JP, Tomeno B, Postel M, Forest M, Abelanet R. Bone allografts sterilised by irradiation. Biological properties, procurement and results of 150 massive allografts. *Int Orthop* 1990; 14:3-42.
66. Dziejcz-Gocławska A, Stachowicz W. Sterylizacja radiacyjna przeszczepów tkankowych. W: *Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna* 2000, T 9. Nałęcz M. [red]. Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT, 2002
67. Podgorśak EB. [red]. *Radiation Physics for Medical Physicists*. Springer-Verlag 2010
68. Fideler BM, Vangsness CT Jr, Moore T, i wsp. Effects of gamma irradiation on the human immunodeficiency virus. A study in frozen human bone-patellar ligament-bone grafts obtained from infected cadavera. *J Bone Joint Surg Am*. 1994; 76(7):1032-5.
69. Campbell DG, Li P, Stephenson AJ, Oakeshott RD. Sterilization of HIV by gamma irradiation. A bone allograft model. *Int Orthop* 1994; 18:3-6.
70. Hernigou P, Gras G, Marinello G i wsp. Inactivation of HIV by application of heat and radiation: implication in bone banking with irradiated allograft bone. *Acta Orthop Scand*. 2000; 71(5):508-12.
71. Speirs AD, Hotz MA, Oxland TR, i wsp. Biomechanical properties of sterilized human auditory ossicles. *J Biomech*. 1999; 32(5):485-91.
72. Vastel L, Meunier A, Siney H, Sedel L, i wsp. Effect of different sterilization processing methods on the mechanical properties of human cancellous bone allografts. *Biomaterials*. 2004; 25(11):2105-10.
73. Minamisawa I, Itoman M, Maehara H, i wsp. Bone banking and sterilization of bones. *Radiat. Phys. Chem*. 1995; 46(2): 287-91
74. Akkus O, Belaney RM, Das P. Free radical scavenging alleviates the biomechanical impairment of gamma radiation sterilized bone tissue. *J Orthop Res*. 2005 Jul;23(4):838-45
75. Currey J, Foreman J, Laketic I, i wsp. Effects of ionizing radiation on the mechanical properties of human bone. *J Orthop Res* 1997; 15(1):111-117.
76. Komender A. Influence of preservation on some mechanical properties of human haversian bone. *Mater. Med. Pol*. 1976; 8: 13

77. Triantafyllou N, Sotiropoulos E, Triantafyllou JN. The mechanical properties of the lyophilized and irradiated bone grafts. *Acta Orthop Belg.* 1975;41 Suppl 1(1):35-44.
78. Bright R, Burstein A. Material properties of preserved cortical bone. *Trans Orthop Res Soc*, 1978; 3:210
79. Zhang Y, Homsy D, Gates K, i wsp. A comprehensive study of physical parameters, biomechanical properties, and statistical correlations of iliac crest bone wedges used in spinal fusion surgery. IV. Effect of gamma irradiation on mechanical and material properties. *Spine* 1994; 19(3): 304-8.
80. Hamer AJ, Strachan JR, Black MM, i wsp. Biochemical properties of cortical allograft bone using a new method of bone strength measurement. A comparison of fresh, fresh-frozen and irradiated bone. *J Bone Joint Surg Br.* 1996; 78(3):363-8
81. McGilvray KC, Santoni BG, Turner AS, i wsp. Effects of (60)Co gamma radiation dose on initial structural biomechanical properties of ovine bone-patellar tendon-bone allografts. *Cell Tissue Bank.* 2010 Jan 30. [Epub ahead of print]
82. Hernigou P, Delepine G, Goutallier D, i wsp. Massive allografts sterilised by irradiation. Clinical results. *J Bone Joint Surg Br.* 1993; 75(6):904-13
83. Marczyński W, Tylman D, Komender J. Long-term follow up after transplantation of frozen and radiation sterilized bone grafts. *Ann Transplant.* 1997;2(1):64-6.
84. Lietman SA, Tomford WW, Gebhardt MC i wsp. Complications of Irradiated Allografts in Orthopaedic Tumor Surgery. *Clin Orthop Relat Res.* 2000; 375:214-7.
85. Godette GA, Kopta JA, Egle DM. Biomechanical effects of gamma irradiation on fresh frozen allografts in vivo. *Orthopedics.* 1996; 19(8):649-53.
86. Moreno J, Forriol F. Effects of preservation on the mechanical strength and chemical composition of cortical bone: an experimental study in sheep femora. *Biomaterials.* 2002; 23(12):2615-9.

87. Kang JS, Kim NH. The biomechanical properties of deep freezing and freeze drying bones and their biomechanical changes after in-vivo allograft. *Yonsei Med J.* 1995; 36(4):332-5.
88. Frankel V. *The femoral neck.* Uppsala, Almqvist and Wiksell, 1960.
89. Sedin E. A rheologic model for cortical bone. *Acta Orthop Scand* 1965; 36 Suppl: 83
90. NETZSCH. Products info. <http://www.netzsch-thermal-analysis.com>
91. Chien JC, Chang EP. Dynamic mechanical and rheo-optical studies of collagen and gelatin. *Biopolymers.* 1972;11(10):2015-31
92. Miles C, Bailey A. Thermal denaturation of collagen revisited. *Proc Indian Acad Sci* 1999; 111(1):71-80.
93. Miles CA, Avery NC, Rodin VV, i wsp. The Increase in Denaturation Temperature Following Cross-linking of Collagen is Caused by Dehydration of the Fibres. *J. Mol. Biol.* 2005; 346:551–556
94. Peters F, Schwarz K, Epple M. The structure of bone studied with synchrotron X-ray diffraction, X-ray absorption spectroscopy and thermal analysis. *Thermochimica Acta* 2000; 361:131-38
95. Tylczyński Z, Biskupski P, Słaboszewska M. Dielectric dispersion in $[N(C_2H_5)_4]_2MeCl_4$ crystals. *Ferroelectrics*, 2002; 272:315-20
96. Dong XN, Yeni YN, Les CM, i wsp. Effects of end boundary conditions and specimen geometry on the viscoelastic properties of cancellous bone measured by dynamic mechanical analysis. *J Biomed Mater Res A.* 2004; 68(3):573-83.
97. Yeni YN, Christopherson GT, Turner AS, I wsp. Apparent viscoelastic anisotropy as measured from nondestructive oscillatory tests can reflect the presence of a flaw in cortical bone. *J Biomed Mater Res A.* 2004; 69(1):124-30.
98. Akkus O, Rimnac CM. Fracture resistance of gamma radiation sterilized cortical bone allografts. *J Orthop Res* 2001; 19:927-34.
99. Kubisz L, Mielcarek S, Biskupski P, Mardas M. Dynamic mechanical properties of gamma-sterilized animal compact bone. *Pol. J. Environ. Stud.* 2006; 15(4a):72-74

100. Kamiński A, Gut G, Marowska J, i wsp. Mechanical properties of radiation-sterilised human Bone-Tendon-Bone grafts preserved by different methods. *Cell Tissue Bank*. 2009;10(3):215-9.
101. Hamer AJ, Stockley I, Elson RA. Changes in allograft bone irradiated at different temperatures. *J Bone Joint Surg Br*. 1999; 81(2):342-4.
102. Pruss A, Kao M, Gohs U, Koscielny J, i wsp. Effect of gamma irradiation on human cortical bone transplants contaminated with enveloped and non-enveloped viruses. *Biologicals*. 2002; 30(2):125-33
103. Hiemstra H, Tersmette M, Vos AH, i wsp. Inactivation of human immunodeficiency virus by gamma radiation and its effect on plasma and coagulation factors. *Transfusion*. 1991; 31(1):32-9.
104. Hoffmeister BK, Smith SR, Handley SM, i wsp. Anisotropy of Young's modulus of human tibial cortical bone. *Med. Biol. Eng. Comput*. 2000; 38:333-8
105. Schaller R, Barrault S, Zysset P. Mechanical spectroscopy of bovine compact bone. *Mater Sci Eng A* 2004; 370:569-74

9. STRESZCZENIE

Przeszczepy allogeniczne znajdują coraz szersze zastosowanie w medycynie, co związane jest głównie z mniejszym zakresem przeprowadzanego zabiegu operacyjnego. Ze względu na możliwość przenoszenia zakażeń kość przed przeszczepem sterylizuje się. Promieniowanie jonizujące jest najczęściej wykorzystywaną metodą sterylizacji tkanki kostnej, a jej mechanizm związany jest z bezpośrednim oraz pośrednim uszkodzeniem materiału genetycznego drobnoustrojów. W badaniach klinicznych wykazano wysoką skuteczność sterylizowanych radiacyjnie przeszczepów, jednak negatywny wpływ promieniowania jonizującego na właściwości mechaniczne kości jest również dobrze poznany. Opublikowane do tej pory wyniki badań dynamicznych właściwości mechanicznych dotyczą wyłącznie kości natywnych, nie uwzględniając właściwości kości napromienionej.

W przeprowadzonym badaniu wykorzystano wołowe kości udowe od 2 letniego, zdrowego zwierzęcia. Po mechanicznej obróbce z trzonów wycięto próbki w kształcie prostopadłościanu o wymiarach 30 x 5 x 2 mm. Próbki napromieniono wiązką elektronową o energii 10 MeV dawkami: 10, 15, 25, 35, 45 i 50 kGy, a następnie poddano analizie wykorzystując analizator DMA metodą trójpunktowego zgnania o sile 1 N w zakresie częstotliwości 1 - 10 Hz i temperatur -150 – 400°C. Przeprowadzono również badania zmęczeniowe przez okres 48 godzin przy częstotliwości 1 Hz.

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic wartości modułu magazynowania (E') pomiędzy badanymi dawkami, jednak odnotowano istotne statystycznie różnice wartości modułu strat (E'') dla próbek napromienionych dawkami 10 i 50 kGy. Zaobserwowano również, że wraz ze wzrostem dawki obniża się temperatura rozpoczynająca proces denaturacji oraz rośnie temperatura, w której proces ten ulega zakończeniu. Wykazano także, że energia aktywacji procesu denaturacji jest znamienne wyższa dla próbek napromienionych dawką 50 kGy w porównaniu do pozostałych grup. Ponadto udowodniono, iż wraz ze wzrostem częstotliwości rosną wartości modułu magazynowania oraz równocześnie obniżają się wartości modułu strat. W badaniach zmęczeniowych napromienienie znamienne skracało okres gwałtownego wzrostu modułu magazynowania E' próbek napromienionych w stosunku do próbek kontrolnych.

10. SUMMARY

Bone allograft transplantation find a wide employment in medicine, that is mainly related with a smaller range of the operative procedure conducted. Due to the possibility of transmitting infections, transplantation bone is sterilized before. Ionizing radiation is the most commonly applied method in bone tissue sterilization. The mechanism of sterilization is related with direct and indirect damage of microorganism's genetic material. High efficacy of radiation sterilized grafts is proven in clinical data, however, negative influence of ionizing radiation on bone mechanical properties is also well known. For the time being, the results of dynamic mechanical properties concerning only native bones and data of irradiated bone remain unavailable.

Femoral bones from a 2-year old healthy bullock were used for the needs of the research. The samples were machine cut from the central part of the diaphyses. The samples of 30 x 5 x 2 mm were irradiated with the electron beam of 10 MeV accelerator with the doses of 10, 15, 25, 35, 45 and 50 kGy. DMA testing was performed by a dynamic mechanical analyser with a 3-point bending configuration. The dynamic load of 1 N was applied at the frequency range of 1 - 10 Hz and within the temperature range of -150 - 400 °C. Fatigue testing was conducted during 48 hours at the frequency 1 Hz.

There were no significant differences between irradiated and control samples in the storage modulus (E') values, but there were statistically significant changes in loss modulus (E'') values between the control samples and the samples irradiated with the doses of 10 and 50 kGy. It was observed that increasing dose of irradiation decreases the temperature while starting the denaturation process and increases the temperature where its ending. It was proven that activation energy of denaturation process is significantly higher for the samples irradiated with the dose of 50 kGy. The increasing frequency leads to an increase in storage modulus values and a decrease in loss modulus values for all the samples. Fatigue testing showed that irradiation significantly reduces the time of rapid storage modulus values growth in comparison with the control samples.

11. ZAŁĄCZNIKI

Załącznik 1. Certyfikat napromieniowania próbek w Stacji Sterylizacji Radiacyjnej Wyrobów Medycznych i Przeszczepów Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie

	STACJA STERYLIZACJI RADIACYJNEJ WYROBÓW MEDYCZNYCH I PRZESZCZEPÓW Radiation Sterilization Plant of Medical Devices and Allografts	PO4-F-1
	Certyfikat napromieniowania wiązką elektronową (Certificate of irradiation with electron beam)	

Nr certyfikatu 32/2009/E
(Certificate No.)

1. Zleceniodawca (Customer):
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
Z-d. Biokrytyki

2. Zleceniobiorca: Instytut Chemii i Techniki Jądrowej (IChTJ), Zakład Chemii i Techniki Radiacyjnej
(Contractor: Institute of Nuclear Chemistry and Technology (INCT), Department of Radiation Chemistry and Technology)

3. Nazwa wyrobu i numer serii :
(Type of medical device and its batch number)
Próbki kości zwierzęcych

4. Data dostawy wyrobu do IChTJ*: 20.01.2009
(Date of delivery to INCT)

5. Ilość dostarczonych opakowań* : 64 opakowania
(Amount of delivered packages)

6. Data wykonania napromieniowania: 21.01.2009
(Date of irradiation)

7. Napromieniowanie wykonane zgodnie z instrukcją technologiczną (Nr):
(Irradiation was performed according to technological instruction No.)

8. Dostarczona dawka: 10, 15, 25, 35, 45, 50 kGy w/g. Pismo
(Delivered dose)

* zgodnie ze zleceniem, WZ : Pismo z dn. 20.01.2009
(in accordance with the order No.)

1/2

9. Ilość wydanych opakowań po napromieniowaniu:

64 pak. 6u/s
.....
(Amount of released packages after irradiation)

63/09 01 211
63/09 01 211
64/09 01 211
65/09 01 212
68/04 01 212
671530R12

10. Numer serii napromieniowania wg komputera : 671530R12
(Irradiation batch number according to computer reading)

11. Uwagi i spostrzeżenia:
(Remarks and comments)

.....
.....
.....

12. Załącznik: Raport Dnia
(Appendix : Report of the day)

Egzemplarz niniejszego certyfikatu stanowi podstawę do wydania faktury.
(This certificate is the basis for an invoice issue)

Certyfikat wystawiony przez
(Certificate written by)

22.01.2009 Kowalczyk
.....
data i podpis (date and signature)

Certyfikat zatwierdzony przez
(Certificate approved by)

22.01.2009 Kowalczyk-Sobczak
.....
data i podpis (date and signature)

INSTYTUT CHEMII I TECHNIKI JĄDROWEJ
Z-d VII Chemii i Techniki Radiacyjnej
03-195 Warszawa, ul. Dorodna 16
tel. 504-13-84

Załącznik 2. Raport napromienienia próbek dawką 10 kGy.



Instytut Chemii i Techniki Jądrowej
03-195 Warszawa, ul Dorodna 16
Zakład VII ---- ELEKTRONIKA

Raport z dnia: 09-01-21

Ila: Uniw.Medyczny w Poznaniu.Z-d.Biofizyki

Symbol art: Próbki kości zwierzęcych

nr serii: 65 / 0901212

archiwum: 0901212

ilość sztuk: 1

Sposób napromieniowania:

dawka zadana:	10 kGy	dawka średnia	10 kGy +/- 0.242%
transporter:	1.400 m/min	transporter śr:	1.41 m/min +/- 0.361
prąd zadany:	550 mA	prąd średni	555 mA +/- 0.288%
energia:	10MeV		
współczynnik kalibracji	14		
próbkowanie:	0.3s		
sterowanie:	AUTO		

operator:

H.Kuś



Załącznik 3. Raport napromienienia próbek dawką 15 kGy.



opr. Jacek Mirkowski i Sylwester Bulka 98-04, ICHTJ Z-d VII, Warszawa

Institut Chemii i Techniki Jądrowej
03-195 Warszawa, ul Dorodna 16
Zakład VII ---- ELEKTRONIKA

Raport z dnia: 09-01-21

dla: Uniw.Medyczny w Poznaniu.Z-d.Biofizyki

symbol art: Próbki kości zwierzęcych

nr serii: 64 / 0901211

archiwum: 0901211

ilość sztuk: 1

Sposób napromieniowania:

dawka zadana:	15 kGy	dawka średnia	15 kGy +/- 0.333%
transporter:	0.933 m/min	transporter śr:	0.94 m/min +/- 0.32%
prąd zadany:	550 mA	prąd średni	554 mA +/- 0.271%
energia:	10MeV		
współczynnik kalibracji	14		
próbkowanie:	0.3s		
sterowanie:	AUTO		

operator:

H.Kuś



Załącznik 4. Raport napromienienia próbek dawką 25 kGy.

opr. Jacek Mirkowski i Sylwester Bulka 98-04, ICHTJ Z-d VII, Warszawa



Instytut Chemii i Techniki Jądrowej
03-195 Warszawa, ul Dorodna 16
Zakład VII ---- ELEKTRONIKA

Raport z dnia: 09-01-21

dla: Uniw. Medyczny w Poznaniu. Z-d. Biofizyki

symbol art: Próbkki kości zwierzęcych

nr serii: 63 / 0901211

archiwum: 0901211

ilość sztuk: 1

Sposób napromieniowania:

1n.s.

dawka zadana:	25 kGy	dawka średnia	25 kGy +/- 0.593%
transporter:	0.560 m/min	transporter śr:	0.56 m/min +/- 0.47%
prąd zadany:	550 mA	prąd średni	550 mA +/- 0.291%
energia:	10MeV		
współczynnik kalibracji	14		
próbkowanie:	0.3s		
sterowanie:	AUTO		

operator:

H.Kuś

Załącznik 5. Raport napromienienia próbek dawką 35 kGy.

opr. Jacek Mirkowski i Sylwester Bulka 98-04, ICHTJ Z-d VII, Warszawa



Instytut Chemii i Techniki Jądrowej
03-195 Warszawa, ul Dorodna 16
Zakład VII ---- ELEKTRONIKA

Raport z dnia: 09-01-21

dla: **Uniw.Medyczny w Poznaniu.Z-d.Biofizyki**

symbol art: **Próbki kości zwierzęcych**

nr serii: **63 / 0901211**

archiwum: **0901211**

ilość sztuk: **1**

Sposób napromieniowania:

dawka sumaryczna 35kGy.(25kGy +10kGy)

dawka zadana:	25 kGy	dawka średnia	25 kGy +/- 0.419%
transporter:	0.560 m/min	transporter śr:	0.562 m/min +/- 0.5%
prąd zadany:	550 mA	prąd średni	552 mA +/- 0.441%
energia:	10MeV		
współczynnik kalibracji	14		
próbkowanie:	0.3s		
sterowanie:	AUTO		

operator:

H.Kuś



Załącznik 6. Raport napromienienia próbek dawką 45 kGy.

opr. Jacek Mirkowski i Sylwester Bulka 98-04, ICHTJ Z-d VII, Warszawa



Instytut Chemii i Techniki Jądrowej
03-195 Warszawa, ul Dorodna 16
Zakład VII ---- ELEKTRONIKA

Raport z dnia: 09-01-21

dla: Uniw.Medyczny w Poznaniu.Z-d.Biofizyki

symbol art: Próbki kości zwierzęcych

nr serii: 67 / 0901212

archiwum: 0901212

ilość sztuk: 1

Sposób napromieniania:

dawka sumaryczna 45kGy(25kGy+10kGy+10kGy)

dawka zadana:	10 kGy	dawka średnia	10 kGy +/- 0.413%
transporter:	1.400 m/min	transporter śr:	1.4 m/min +/- 0.511%
prąd zadany:	550 mA	prąd średni	551 mA +/- 0.447%
energia:	10MeV		
współczynnik kalibracji	14		
próbkowanie:	0.3s		
sterowanie:	AUTO		

operator:

H.Kuś



Załącznik 7. Raport napromienienia próbek dawką 50 kGy.

opr. Jacek Mirkowski i Sylwester Bulka 98-04, ICHTJ Z-d VII, Warszawa



Instytut Chemii i Techniki Jądrowej
03-195 Warszawa, ul Dorodna 16
Zakład VII ---- ELEKTRONIKA

Raport z dnia: 09-01-21

dla: Uniw. Medyczny w Poznaniu. Z-d. Biofizyki

symbol art: Próbki kości zwierzęcych

nr serii: 66 / 0901212

archiwum: 0901212

ilość sztuk: 1

Sposób napromieniowania:

2x25kGy.

dawka zadana:	25 kGy	dawka średnia	25 kGy +/- 0.408%
transporter:	0.560 m/min	transporter śr:	0.564 m/min +/- 0.4%
prąd zadany:	550 mA	prąd średni	552 mA +/- 0.631%
energia:	10MeV		
współczynnik kalibracji	14		
próbkowanie:	0.3s		
sterowanie:	AUTO		

operator:

H.Kuś

