

ENGINEERING OF BIOMATERIALS

INŻYNIERIA BIOMATERIAŁÓW
CZASOPISMO POLSKIEGO STOWARZYSZENIA BIOMATERIAŁÓW

Number 61
Numer 61

Volume X
Rok X

MARCH 2007
MARZEC 2007

ISSN 1429-7248

PUBLISHER:
WYDAWCA:

**Polish Society
for Biomaterials
in Krakow**
Polskie
Stowarzyszenie
Biomateriałów
w Krakowie

**EDITORIAL
COMMITTEE:**
KOMITET
REDAKCYJNY:

Editor-in-Chief
Redaktor naczelny
Jan Chłopek

Secretary of editorial
Sekretarz redakcji
Katarzyna Bednarczyk

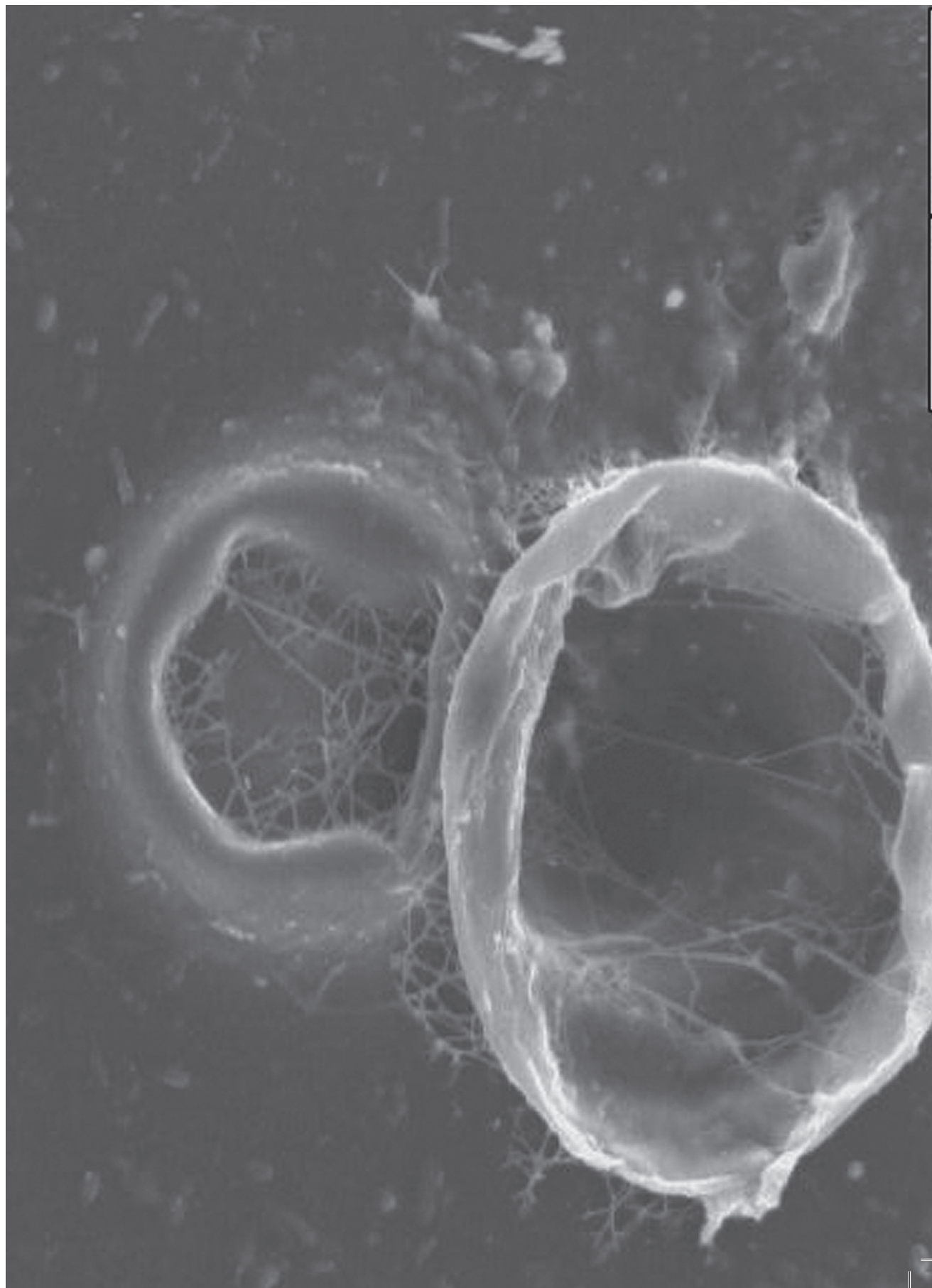
Design
Projekt
Augustyn Powroźnik

**ADDRESS OF
EDITORIAL OFFICE:**
ADRES REDAKCJI:

UST-AGH
al. Mickiewicza 30/A3
30-059 Krakow, Poland
Akademia
Górnictwo-Hutnicza
al. Mickiewicza 30/A-3
30-059 Kraków

Issue: 200 copies
Nakład: 200 egz.

**Scientific Publishing
House AKAPIT**
Wydawnictwo Naukowe
AKAPIT
e-mail: wn@akapit.krakow.pl



ENGINEERING OF BIOMATERIALS

Uprzejmie informuję, że na ostatnim walnym zgromadzeniu Polskiego Stowarzyszenia Biomateriałów Prof. Stanisław Błażewicz złożył rezygnację z funkcji Redaktora Naczelnego czasopisma z powodu innych ważnych obowiązków. Walne Zgromadzenie powołało mnie na tą zaszczytną funkcję. Pragnę kontynuować dzieło mojego poprzednika i przede wszystkim złożyć Mu podziękowania za rozwój tego czasopisma, za jego prestiż i wysoki poziom naukowy. Moim głównym zadaniem jest zwiększenie zasięgu tego czasopisma i szersze wejście na rynek międzynarodowy. Dalekosiężnym celem powinno być wprowadzenie go na Listę Filadelfijską. Postawienie takich celów wymusza dodatkowe działania związane z całą procedurą przyjmowania manuskryptów, ich recenzji, powołania międzynarodowego Komitetu Naukowego. Zgodnie z najnowszymi tendencjami czasopismo powinno posiadać stronę internetową, możliwość rejestracji i przesyłania manuskryptu on-line itp. To wydanie jest ostatnim według dotychczasowych kryteriów. Nowe wymogi dla autorów zostały zamieszczone na ostatniej stronie czasopisma.

Dziękując za wybór, pragnę Państwa zachęcić do współpracy na rzecz rozwoju tego czasopisma.

Jan Chłopek
Redaktor Naczelny

I kindly inform that at the last general assembly of Polish Society for Biomaterials professor Stanisław Błażewicz resigned from the function of Editor-in-Chief of the journal due to other important duties. The general assembly appointed me to this honorable function. I desire to continue work of my predecessor and, first of all, I would like to thank him for the development of the journal, for its prestige and high scientific level. My main task as Editor-in-Chief is expanding the range of the journal and create wider entrance to international market. Introducing the journal to the group of the ones indexed by Thomson Institute in Philadelphia, USA should be the far-reaching goal. Such purposes require an additional action connected with the procedure of manuscripts' submission, reviews of articles, appointing of international scientific committee. According to the latest trends the journal should has the website, a possibility of registration and submission of manuscript on-line etc. This issue is the last edition according to the old criteria. New instructions for authors are on the last page of the journal.

Thanking for choosing me as Editor-in-Chief I would like to encourage scientists to cooperate with the journal.

Jan Chłopek
Editor-in-Chief

SCIENTIFIC COUNCIL RADA NAUKOWA

**Jan Ryszard Dąbrowski , Jan Chłopek , Tadeusz Cieślik,
Monika Gierzyńska-Dolna, Andrzej Górecki, Wojciech Maria Kuś, Jan Marciniak,
Stanisław Mazurkiewicz, Stanisław Mitura, Roman Pampuch,
Bogna Pogorzelska-Stronczak**

XVII Conference on

**BIOMATERIALS
IN MEDICINE
AND
VETERINARY
MEDICINE**

October, 11-14, 2007,
Hotel „Perla Poludnia”, Rybro

<http://galaxy.uci.agh.edu.pl/~apowroz/biomat/>

SPIS TREŚCI

WSZCZEPY PGLA+HAP W BADANIACH IN VIVO - OBSERWACJE ROCZNE M.ADWENT, A.CIEŚLIK-BIELECKA, M.CIEŚLIK, D.SABAT, G.BAJOR, P.KŁAPCIŃSKA, T.CIEŚLIK	2
PORÓWNANIE KOMPOZYTÓW PGLA+CF I PGLA+HAP WSZCZEPIONYCH W ŻUCHWĘ I TKANKI MIĘKKIE KRÓLIKÓW - OBSERWACJE ROCZNE M.ADWENT, M.CIEŚLIK, D.SABAT, A.CIEŚLIK-BIELECKA, G.BAJOR, P.KŁAPCIŃSKA, T.CIEŚLIK	5
ROCZNA OCENA IN VIVO WSZCZEPÓW WYKONA- NYCH Z KOPOLIMERU LAKTYD/GLIKOLID M.ADWENT, M.CIEŚLIK, D.SABAT, A.CIEŚLIK-BIELECKA, G.BAJOR, P.KŁAPCIŃSKA, T.CIEŚLIK	9
DEGRADACJA WĘGLOWYCH NANOKOMPOZYTÓW WŁÓKNISTYCH (SFC+NHAP) W OSNOWIE RESOR- BOWALNEGO POLIMERU PL(L/DL)A - BADANIA WSTĘPNE E.STODOLAK, W.RYZNER, B.CZAJKOWSKA, M.BŁAŻEWICZ	12
WPŁYW FAZY WŁÓKNISTEJ NA DEGRADACJĘ KOMPOZYTOWYCH MATERIAŁÓW MEMBRANO- WYCH O ZASTOSOWANIU GBR/GTR E.STODOLAK, A.WĄTOR, D.WOŁOSKA-CZAPNIK, M.BŁAŻEWICZ	16
POLIMERY MODYFIKOWANE NANORURKAMI DLA CELÓW MEDYCZNYCH J.CHŁOPEK, B.SZARANIEC	20
WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE GĘSTW HYDROKSYAPATYTOWYCH PRZEZNACZONYCH DO WYTWARZANIA WYSOKOPOROWATYCH IMPLANTÓW KOSTNYCH METODĄ ODWZOROWA- NIA PIANEK POLIURETANOWYCH A.ŚLÓSARCZYK, Z.PASZKIEWICZ, A.PITAK	24

CONTENTS

PGLA+HAP IMPLANTS - ONE YEAR STUDY M.ADWENT, A.CIEŚLIK-BIELECKA, M.CIEŚLIK, D.SABAT, G.BAJOR, P.KŁAPCIŃSKA, T.CIEŚLIKI	2
PGLA+CF AND PGLA+HAP COMPOSITES IMPLANTED INTO MANDIBLE AND SOFT TISSUE OF THE RABBIT - ONE YEAR STUDY M.ADWENT, M.CIEŚLIK, D.SABAT, A.CIEŚLIK-BIELECKA, G.BAJOR, P.KŁAPCIŃSKA, T.CIEŚLIK	5
LACTIDE-CO-GLYCOLIDE IMPLANTS IN VIVO - ONE YEAR STUDY M.ADWENT, M.CIEŚLIK, D.SABAT, A.CIEŚLIK-BIELECKA, G.BAJOR, P.KŁAPCIŃSKA, T.CIEŚLIK	9
DEGRADATION OF FIBROUS CARBON NANOCOM- POSITES (SFC+NHAP) IN RESORBABLE POLYMER PL(L/LD)A MATRIX - PRELIMINARY STUDIES E.STODOLAK, W.RYZNER, B.CZAJKOWSKA, M.BŁAŻEWICZ	12
THE EFFECT OF A FIBROUS PHASE ON DEGRADATION OF MEMBRANE COMPOSITE MATERIALS FOR GBR/GTR APPLICATIONS E.STODOLAK, A.WĄTOR, D.WOŁOSKA-CZAPNIK, M.BŁAŻEWICZ	16
POLYMERS MODIFIED WITH NANOTUBES FOR MEDICAL APPLICATIONS J.CHŁOPEK, B.SZARANIEC	20
RHEOLOGICAL PROPERTIES OF HYDROXYAPATITE SLURRIES DESIGNED FOR PREPARATION OF HIGHLY POROUS BONE IMPLANTS USING POLYURETHANE FOAMS AS MATRICES A.ŚLÓSARCZYK, Z.PASZKIEWICZ, A.PITAK	24

STRESZCZANE W APPLIED MECHANICS REVIEWS
 ABSTRACTED IN APPLIED MECHANICS REVIEWS

WYDANIE DOFINANSOWANE PRZEZ MINISTRA NAUKI
 I SZKOLNICTWA WYŻSZEGO
 EDITION FINANCED BY THE MINISTER OF SCIENCE
 AND HIGHER EDUCATION

WSZCZEPY PGLA+HAP W BADANIACH IN VIVO - OBSERWACJE ROCZNE

MAREK ADWENT³, AGATA CIEŚLIK-BIELECKA³,
MAGDALENA CIEŚLIK¹, DANIEL SABAT², GRZEGORZ BAJOR⁴,
PAULINA KŁAPCIŃSKA¹, TADEUSZ CIEŚLIK³

¹ KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNAWSTWA STOMATOLOGICZNEGO
ŚAM, BYTOM

² KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII ŚAM, ZABRZE

³ I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ ŚAM,
ZABRZE

⁴ KATEDRA CHIRURGII DZIECIĘCEJ ŚAM, BYTOM
MADWENT@SLAM.KATOWICE.PL

Streszczenie

Celem pracy była roczna ocena niektórych właściwości kompozytu kopolimer polilaktyd/glikolid z hydroksyapatytem (PGLA+HAp) wprowadzonego w kość i tkanki miękkie królików. Badany materiał oceniano pod kątem klinicznym, radiologicznym i histopatologicznym. Otrzymane rezultaty badań wykazały, że począwszy od trzeciego tygodnia kanał wszczepu był wyraźnie uformowany i pokryty odbudowującą się tkanką kostną. Przeprowadzone roczne obserwacje wykazały, że badany kompozyt kopolimer PGLA+HAp nie wywołuje miejscowych ani ogólnoustrojowych negatywnych odczynów tkankowych. Brak złogów kopolimeru w kości i tkance podskórnej w okresie rocznym świadczy o całkowitej resorpcji polimeru.

Słowa kluczowe: biomateriały, polimery biodegradowalne, kopolimer (PGLA+HAp), regeneracja tkanki kostnej, badania na zwierzętach

[Inżynieria Biomateriałów, 61, (2007), 2-5]

Wstęp

Rozwój medycyny zabiegowej i rekonstrukcyjnej stymuluje zapotrzebowanie na różnego rodzaju wszczepy. Szczególnie miejsce zajmują materiały, które po spełnieniu swojej funkcji ulegają degradacji [1]. Takimi materiałami są między innymi polimery kwasu mlekowego i glikolowego [2,3]. Specyficzne właściwości tych materiałów pozwalają na łączenie ich ze sobą i tworzenie kopolimerów. Kopolimery glikolidu z laktydem (PGLA) ulegają degradacji tworząc proste α -hydroksykwas [4]. Czas resorpcji kopolimeru musi być dobrany zgodnie z jego przeznaczeniem. Szybkość resorpcji kopolimerów PGLA zależy od stosunku procentowego polilaktydu do poliglikolidu i może być swobodnie regulowana. Na proces ich degradacji wpływają także krystaliczność, masa molowa, pH i temperatura otoczenia. Właściwości polimerów pozwalają na tworzenie materiałów złożonych np. z hydroksyapatytem (HAp). Hydroksyapatyt jest stosowany w chirurgii kostnej od wielu lat. Jest podobny do kości, stanowi szkielet do jej odbudowy, stymuluje jej wzrost [5]. Kopolimery PGLA wprowadzone do ubytku kostnego również stanowią szkielet do odbudowy nowej kości.

Cel pracy

Celem pracy była roczna ocena niektórych właściwości kompozytu kopolimer polilaktyd/glikolid z hydroksyapatytem (PGLA+HAp) wprowadzonego w kość i tkanki miękkie królików.

PGLA+HAP IMPLANTS - ONE YEAR STUDY

MAREK ADWENT³, AGATA CIEŚLIK-BIELECKA³,
MAGDALENA CIEŚLIK¹, DANIEL SABAT², GRZEGORZ BAJOR⁴,
PAULINA KŁAPCIŃSKA¹, TADEUSZ CIEŚLIK³

¹ DEPARTMENT AND SECTION OF STOMATOLOGICAL MATERIALS
SCIENCE OF MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, BYTOM

² DEPARTMENT OF PATHOMORPHOLOGY OF MEDICAL UNIVERSITY OF
SILESIA, ZABRZE

³ DEPARTMENT AND CLINIC OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY
OF MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, ZABRZE

⁴ DEPARTMENT OF CHILDREN SURGERY OF MEDICAL UNIVERSITY
OF SILESIA, BYTOM

Abstract

The aim of the study was one year evaluation of PGLA+ HAp composites implanted to the bone and soft tissue of the rabbits. Clinical, radiological and histopathological examination was performed. Three week histopathological evaluation revealed that bone defect was well formed and in some parts covered with newly formed bone. One year observation revealed that PGLA+HAp implant do not induce local or general inflammatory tissue response. Lack of polymer particles after 48 weeks of observation indicates for its total degradation.

Keywords: copolymers, hydroxyapatite, bone regeneration, animal study

[Engineering of Biomaterials, 61, (2007), 2-5]

Introduction

Simultaneously with the development of reconstructive surgery different types of implants are needed. Biodegradable implants have a special position among all the other [1]. Polymers of L-lactide and glycolide acids are the one which can be resorbed after its function is over [2,3]. Lactide and glycolide co-polymers (PGLA) after degradation create a simple α -hydroxyacids [4]. A crystallinity of the polymer, its mol weight, pH and temperature of the environment are the factors that can decide of the time of degradation. The time of the material's resorption has to be proper to its function and depends on the percentage relation between polylactide to polyglycolide. PGLA properties allow to create composites with other materials for example with hydroxyapatite (HAp). This one is used in bone surgery for years. Hydroxyapatite is similar to the bone, creates a scaffold for bone regeneration and stimulates its growth [5]. Similar properties have PGLA polymers. They can create scaffold for bone regeneration.

Aim of the study

The aim of the study was one year evaluation of PGLA+ HAp composites implanted to the bone and soft tissue of the rabbits.

Materials and methods

The samples of the 84% of lactide and 16% of glycolide were used in this study. Copolymers were created in the Centre of Polymer Chemistry Polish Academy of Sciences in Zabrze. The composite was made by addition of 15% wt.

Materiały i metody

Badane próbki były wykonane z kopolimeru L-laktydu z glikolidem 84% laktyd, 16% glikolid otrzymanego w Centrum Chemii Polimerów PAN w Zabrze. Kompozyty otrzymano przez dodatek 15% wagowych hydroksyapatytu wołowego. Implanty zostały otrzymane metodą wtrysku w temp. 180°C w Katedrze Biomateriałów AGH. Miały kształt walców o średnicy 3,2 mm. Badania doświadczalne przeprowadzono na grupie 30 królików nowozelandzkich według wcześniej opisanego protokołu [6] tj. wprowadzenie wszczepów w trzon żuchwy po stronie lewej, w mięsień prosty grzbietu i w tkankę podskórną okolicy grzbietowej. Po zabiciu zwierząt w 7, 14 i 21 dobie, oraz w 6, 12, 24, 48 tygodniu doświadczenia oceniano makroskopowo wygląd ubytków i tkanek kostnych bezpośrednio je pokrywających. Wykonywano badania radiologiczne na podstawie rentgenowskich zdjęć zębowych obejmujących część trzonu żuchwy wraz z zębami i ubytkami kostnymi. W badaniach histopatologicznych oceniano tkankę kostną w miejscu wykonywanych ubytków i z otoczenia, ponadto tkankę podskórną i mięśniową z okolic kręgosłupa lędźwiowego. Badano również wątrobę i nerki.

Wyniki

W ocenie klinicznej stwierdzono prawidłowe gojenie się ran pooperacyjnych. Gojenie przebiegało przez rychłozrost i zamykało się w okresie 10 do 14 dni. Do 21 doby doświadczenia były dostrzegalne mierne zgrubienia tkanek miękkich.

W ocenie radiologicznej od 7 doby widoczne było kuliste przejaśnienie o regularnych brzegach wielkością odpowiadające wykonanemu ubytkowi kostnemu. W kolejnych okresach przejaśnienie było mniej wysyczone i począwszy od 6 tygodnia ulegało stopniowemu zaciemieniu, co świadczyło o postępującej mineralizacji. W 24 tygodniu badań obserwowano w centralnej części ubytku wyraźne zaciemienie świadczące o nadmiernym kostnieniu lub nagromadzeniu się w tej części drobin hydroksyapatytu. W 48 tygodniu kanał wszczepu wypełniony był już zmineralizowaną kością, nieznacznie różniącą się od otoczenia.

W badaniu histopatologicznym żuchwy zauważono, że począwszy od trzeciego tygodnia kanał wszczepu był wyraźnie uformowany i widoczna była odbudowa tkanki kostnej. Obwodową resorpcję polimeru oraz centralne rozrzedzenie struktury wszczepu można było zauważyć po 24 tygodniach obserwacji. W tym okresie wytworzony kanał otoczony dojrzałą tkanką kostną bez cech aktywności osteoblastycznej wypełniony był przez rozfragmentowany wszczep. Obserwowano w nim wyraźne fragmenty hydroksyapatytu oraz resztki złągów kopolimeru. Po 48 tygodniach doświadczenia kanał wszczepu pokryty był przez dojrzałą tkankę kostną. W świetle kanału widoczne były liczne drobiny hydroksyapatytu, wokół których znajdowały się pojedyncze komórki makrofagi jedno- i wielojądrowe. Nie obserwowano ziarniaków olbrzymiokomórkowych typu „około ciała obcego”. Nie obserwowano już złągów kopolimeru.

Po tygodniowej obserwacji wszczep wprowadzony podskórnice otoczony był cienką torebką łącznotkankową, która w kolejnych tygodniach stawała się grubsza i zbudowana była z włókien kolagenowych i fibroblastów. Po 48 tygodniach cała obwodowa część wszczepu, a w niektórych przypadkach cały wszczepiony materiał, został przerośnięty przez tkankę łączną włóknistą. Wśród rozrastającej się tkanki widoczne były liczne makrofagi jedno- i wielojądrowe tworzące wokół fragmentów hydroksyapatytu ziarniaki olbrzymiokomórkowe typu „około ciała obcego”. Po tak długim

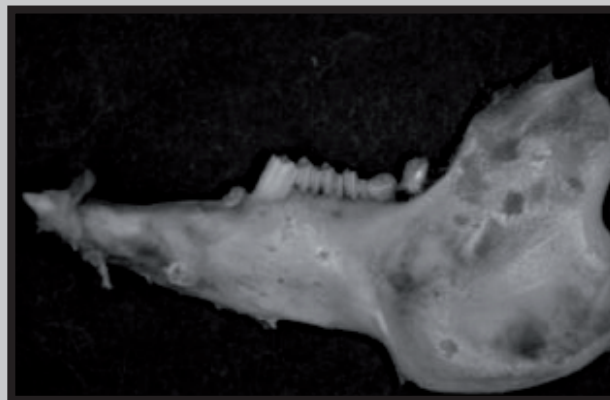
of hydroksyapatite. The implants were obtained by means of injection moulding method (180°C) at AGH University of Science and Technology in the Department of Biomaterials. The samples were cylinder shape with diameter of 3,2 mm. Experimental study was carried out on the group of 30 New Zealand rabbits using protocol that was already described [6]. Implants were placed in the corpus of the mandible, in the dorsal muscles and under the skin. The animal euthanasia was performed after 7, 14, 21 days and 6, 12, 24, 48 weeks. Clinical, radiological and histopathological examination was performed.

Results

Clinical examination revealed good postoperative wound healing within 10-14 days. Radiograms taken 7 days post operation revealed circle defect with smooth margins and size compared with created defect. Within the time the defect became less sharp and starting from 6 week mineralization of the defect was visible. On the radiograms taken 24 weeks after implant placement in the central part of the bone defect there were visible dark shadows indicating good bone mineralization or collection of hydroksyapatite particles. 48 weeks observation revealed bone defect filled with mineralized bone, that only a little differ from the surroundings.

Microscopic examination of the mandible showed that beginning from 3 week implant canal was well formed and covered with mature bone. Peripheral implant resorption was visible after 24 weeks. In this period implant canal was surrounded by mature bone and filled with partially committed implant. Particles of HAP and PGLA were present. 48 weeks observation revealed mature bone surrounding implant canal. Inside there were particles of HAP surrounded by macrophages. There were no trace of PGLA particles. Foreign body cells were not present.

Polymer that was placed under the skin was surrounded by thin connective tissue capsule that within the time became thicker and was build of collagen fibers and fibroblasts. 48 week observation revealed that the implant was completely replaced by fibrous tissue that surrounded hydroksyapatite particles. There was no trace of PGLA as it could have been observed after 24 weeks. There were no symptoms of inflammatory response. In the dorsal muscles around the implant connective tissue capsule was present. At the beginning it was thin but within the 3 weeks become thicker. After 6 weeks fibrous tissue begin to ingrow the structure of the implant. After 24 weeks particles of HAP and PGLA were present but implant was almost completely replaced by connective tissue. After 48 weeks connective tissue was almost completely ingrown the implant creating gigantic cell granu-



RYS. 1. Wszczep PGLA+HAP wprowadzony w żuchwę królika.
FIG. 1. PGLA+HAP implant placed in the rabbit mandible.

okresie nie obserwowano już złogów kopolimeru jak to było widoczne jeszcze w 24 tygodniu obserwacji. W otaczającej wszczep tkance nie występował odczyn zapalny.

W tkance mięśniowej od pierwszego tygodnia obserwacji wokół wszczepu kształtowała się torebka łącznotkankowa, która po 3 tygodniach była już gruba, zbudowana z włókien kolagenowych i fibroblastów. Od 6 tygodnia widoczne było wrastanie tkanki łącznej w strukturę wszczepu i powolna jego fragmentacja. Po 24 tygodniach doświadczenia wszczep pokryty był grubą torebką łącznotkankową z licznymi włóknami kolagenowymi. Wśród kopolimeru widoczne były liczne drobiny hydroksyapatytu. Widoczny wszczep był rozfragmentowany, a jego struktura, szczególnie w części centralnej, bardzo rozrzedzona. 48-tygodniowa obserwacja wykazała, że wszczepiony materiał był wyraźnie odgraniczony od tkanki mięśniowej. W znacznym stopniu został przerośnięty przez tkankę łączną włóknistą tworząc ziarninę olbrzymiokomórkową, złożoną z licznych ziarniaków, zbudowanych z makrofagów jedno- i wielojądrowych zlokalizowanych wokół drobin hydroksyapatytu i resztek kopolimeru.

W badanych narządach wewnętrznych (nerki i wątroba) nie wykazano żadnych zmian patologicznych związanych z zastosowanymi wszczepami.

Dyskusja

Ceramiczne fosforany są biomateriałami, które mogą być stosowane samodzielnie, np. w regeneracji ubytków kostnych, mogą być nanoszone na różnego rodzaju wszczepy jako powłoki, lub mogą wchodzić w skład kompozytów [7,8]. Są to materiały kruche, w związku z czym nie mogą służyć do wzmocnienia mechanicznego kompozytów. Chłopek i wsp. w swoich doświadczeniach wykazali, że wprowadzenie hydroksyapatytu w ilości 15% w skład polimeru PGLA obniżyło jego wytrzymałość mechaniczną o 50% [9]. Jednak właściwości osteoindukcyjne ceramicznych fosforanów zachęcają do ich stosowania. W ocenie histopatologicznej badanych przez nas kompozytów można było zauważyć cechy regeneracji tkanki kostnej wokół wszczepu już w 3 tygodniu doświadczenia. Podobne wyniki badań uzyskano wprowadzając w żuchwę królików porowate kompozyty CoCrMo+trójfosforan wapnia [8]. Autorzy oceniający kompozyty PGLA+HAp wprowadzone w żuchwę królików wykazali, że już od 3 tygodnia widoczne były ubytki kompozytu, w które wrosła tkanka kostna [10]. Wprowadzony kompozyt PGLA+HAp w tkanki miękkie nie wywołał miejscowych ani ogólnoustrojowych reakcji zapalnych. Został otoczony torebką łącznotkankową, a proces jego resorpcji polegający na wrastaniu włókien łącznotkankowych w strukturę wszczepu zauważalny był od 6 tygodnia doświadczenia. W okresie 48 tygodni wewnątrz torebki widoczne były resztki hydroksyapatytu i komórki odpowiedzialne za proces degradacji polimeru. Obecność hydroksyapatytu w tkankach miękkich świadczy o braku jego resorpcji. Ponieważ dotychczas nie stwierdzono pozytywnego wpływu hydroksyapatytu na gojenie się tkanek miękkich stosowanie go w kompozytach przeznaczonych do implantacji w tkanki miękkie wydaje się być bezzasadne.

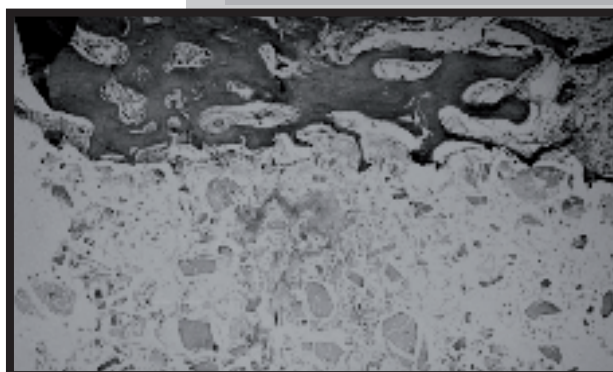
Podsumowanie

Przeprowadzone roczne obserwacje wykazały, że badany kompozyt kopolimer PGLA+HAp nie wywołuje miejscowych ani ogólnoustrojowych negatywnych odczynów tkankowych. Brak złogów kopolimeru w kości i tkance podskórnej w okresie rocznym świadczy o całkowitej resorpcji polimeru.



RYS. 2. Rentgenogram boczny żuchwy, PGLA+HAp 48 tydzień.

FIG. 2. Radiogram of the mandible, PGLA+HAp, 48 weeks.



RYS. 3. Kanał otoczony przez dojrzałą tkankę kostną bez cech aktywności osteoblastycznej wypełniony przez rozfragmentowany wszczep. 24 tygodnie, Barw. H.E., pow. 50x.

FIG. 3. Implant canal build of mature bone. Inside fragments of polymer.

lomas surrounding particles of polymer and hydroxyapatite. There was no visible changes in the microscopic examination of kidneys and liver.

Discussion

Ceramic phosphates can be used either for ex. in bone regeneration, or as layers and the part of composites [7,8]. These materials are fragile so they can not be used in mechanical enforce-

ment of composites. Chlopek and all revealed that 15 % of HAp in PGLA polymer lowered its mechanical strength to 50% [9]. However, induction of bone regeneration by ceramic phosphates encourages to it use. Histopathological evaluation revealed trace of bone regeneration in 3 week after surgery. The same results could be observed after implantation of porous CoCrMo+tricalcium phosphates implants [8]. Chlopek and all evaluating PGLA+HAp composites revealed that in 3 week of observation peripheral resorption of copolymer could be observed. In the created space newly formed bone has ingrown [10]. PGLA+HAp composite did not induce any inflammatory response. It was surrounded by connective tissue capsule. Its degradation began in 6 week and was demonstrated as ingrown of connective tissue into a composite structure. Within 48 weeks polymer has been resorbed and inside the capsule there were fragments of HAp and cells responsible for polymer degradation. Presence of HAp in soft tissue indicates that this biomaterial was not resorbed after 48 weeks of observation. Because this material has no positive influence for soft tissue healing its use in soft tissue implants is useless.

Summary

Performed experimental study revealed that PGLA+HAp composite do not induce local and general pathological changes in the rabbit's tissue. Absence of polymer particles in the bone and in the subcutaneous tissue after one year observation indicates its total resorption.

Piśmiennictwo

- [1] Böstman O., Pihlajamaki H.: Clinical biocompatibility of bio-degradable orthopedic implants for internal fixation: a review. *Biomaterials* 2000, 21 (24), 2615.
- [2] Marciniak J.: *Biomateriały w chirurgii kostnej*. Wydawnictwo Politechnika Śląska, Gliwice 1992.
- [3] Konieczna B., Pamuła E. Polimery termoplastyczne wzmocnione włóknami węglowymi do zastosowań medycznych. *Inżynieria Biomateriałów* 2001, 17,18,19, 77-79.
- [4] Pitt C.G., Gratzel M.M., Kimmel G.L., Surles J., Schindler A.: Aliphatic polyesters. 2. The degradation of poly(D,L-lactide), poly(ε-caprolactone) and the copolymers in vivo. *Biomaterials* (1981), 2:215-20.
- [5] Haberko K., Bućko M., Haberko M., Mozgawa W., Pyda A., Zarębski J.: Hydroksyapatyt naturalny-preparatyka, właściwości. *Inż. Biomat.* 2003, 30,31,32,33.

References

- [6] Adwent M., Cieślik-Bielecka A., Proszek M., Bajor G., Sabat D., Cieślik T.: Wczesne obserwacje gojenia się wszczepów kopolimerów P(LLA/GLA)+HA wszczepionych w żuchwę i tkanki miękkie królików. *Inż. Biomat.* 2003, 38-42, 240-241.
- [7] Cieślik-Bielecka A., Sabat D., Szczurek Z., Król W., Bielecki T., Cieślik T.: Wpływ odbiałzonej kości bydłowej na gojenie ran kostnych. *Inżynieria Biomateriałów* 2001, 17,18,19, s. 36-37.
- [8] Adwent M., Cieślik T., Sabat D., Szczurek Z., Dąbrowski JR.: Badania in vivo porowatych materiałów ze stopu Co-Cr-Mo. *Inżynieria Biomateriałów* 2001, 17,18,19, s. 56-57.
- [9] Chłopek J., Rosół P., Chrzanowski W., Migacz K.: Wpływ procesu pelżania w warunkach in vitro na czas życia poli(laktydo-ko-glikolidu) i jego kompozytów. *Inż. Biomat.* 2004, 38-42,175-178.
- [10] Chłopek J., Morawska-Chochół A., Rosół P.: Mechanizm regeneracji tkanki kostnej po implantacji kompozytu z polimeru resorbowalnego modyfikowanego hydroksyapatytem. *Inż. Biomat.* 2006,58-60, 98-101.

PORÓWNANIE KOMPOZYTÓW PGLA+CF I PGLA+HAP WSZCZEPIONYCH W ŻUCHWĘ I TKANKI MIĘKKIE KRÓLIKÓW – OBSERWACJE ROCZNE

MAREK ADWENT³, MAGDALENA CIEŚLIK¹, DANIEL SABAT², AGATA CIEŚLIK-BIELECKA³, GRZEGORZ BAJOR⁴, PAULINA KŁAPCIŃSKA¹, TADEUSZ CIEŚLIK³

¹ KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNAWSTWA STOMATOLOGICZNEGO ŚAM, BYTOM

² KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII ŚAM, ZABRZE

³ I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ ŚAM, ZABRZE

⁴ KATEDRA CHIRURGII DZIECIĘCEJ ŚAM, BYTOM
MADWENT@SLAM.KATOWICE.PL

Streszczenie

Celem pracy było porównanie kompozytu kopolimeru glikolidu z laktydem wzmocnionego włóknami węglowymi (PGLA+CF) i kompozytu tego kopolimeru z hydroksyapatytem (PGLA+HAp) wprowadzonego w żuchwę i tkanki miękkie królików. Oceniano zachowanie badanych materiałów pod kątem klinicznym, radiologicznym i histopatologicznym. Otrzymane rezultaty badań wykazały, iż w grupie z hydroksyapatytem już w 3 tygodniu stwierdzono tkankę kostną wokół wszczepu, podczas gdy w grupie z włóknami węglowymi dopiero w okresie 12 tygodni. Rozrzedzenie struktury polimeru i przerastanie go przez tkankę łączną w obu grupach można było zauważyć po 24 tygodniach. Brak złogów kopolimeru w kości i tkance podskórnej w okresie rocznym świadczy o całkowitej jego resorpcji.

Słowa kluczowe: biomateriały, polimery biodegradowalne, kopolimer (PGLA+CF) kopolimer (PGLA+HAp), włókna węglowe, regeneracja tkanki kostnej, badania na zwierzętach

[*Inżynieria Biomateriałów*, 61, (2007), 5-9]

Wstęp

Kopolimery glikolidu z laktydem (PGLA) z powodzeniem stosowane są w medycynie. Znalazły zastosowanie

PGLA+CF AND PGLA+HAP COMPOSITES IMPLANTED INTO MANDIBLE AND SOFT TISSUE OF THE RABBIT - ONE YEAR STUDY

MAREK ADWENT³, MAGDALENA CIEŚLIK¹, DANIEL SABAT², AGATA CIEŚLIK-BIELECKA³, GRZEGORZ BAJOR⁴, PAULINA KŁAPCIŃSKA¹, TADEUSZ CIEŚLIK³

¹ DEPARTMENT AND SECTION OF STOMATOLOGICAL MATERIALS SCIENCE OF MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, BYTOM

² DEPARTMENT OF PATHOMORPHOLOGY OF MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, ZABRZE

³ DEPARTMENT AND CLINIC OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY OF MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, ZABRZE

⁴ DEPARTMENT OF CHILDREN SURGERY OF MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, BYTOM

Abstract

The aim of the study was comparison between lactide-co-glycolide copolymer reinforced with carbon fibers (PGLA+CF) and lactide-co-glycolide with hydroxyapatite (PGLA+HAp), which were implanted into the mandible and soft tissue of the rabbits. Clinical, radiological and histopathological examination was performed. Experimental study revealed that in the group PGLA+HAp there were recovering bone surrounding the implant whereas in the PGLA+CF group it was 12 weeks. Composite dilution and fibrous tissue in-grow into its structure was observed after 24 weeks. One year after operation, there was no copolymer concretion in the bone and subcutaneous tissue what indicates for complete copolymer resorption.

Keywords: biomaterial, copolymer (PGLA+CF), copolymer (PGLA+HAp), carbon fibers, bone regeneration, animal study

[*Engineering of Biomaterials*, 61, (2007), 5-9]

Introduction

Lactide-co-glycolide copolymers (PGLA) are being used in medicine with success. They can be applied in maxillofacial surgery as the bone stabilizing elements after orthognatic treatment or in the bone reconstruction. Biodegradation

w chirurgii szczękowo-twarzowej jako elementy stabilizujące odłamy kostne. Ich zaletą jest stopniowa resorpcja w czasie i ostateczny rozkład do H_2O i CO_2 [1]. Jednak ze względu na wysoki koszt zakupu jak i niedużą wytrzymałość mechaniczną ich zastosowanie jest ograniczone, głównie do chirurgii dziecięcej. W celu poprawy właściwości mechanicznych i biologicznych kopolimeru tworzy się kompozyty z innymi materiałami. W zależności od tego jakiego rodzaju będzie to materiał, jaki będzie jego rozkład i udział objętościowy, można wpływać na właściwości biologiczne i mechaniczne materiału kompozytowego [2]. Materiałami, które łączy się z polimerami są włókna węglowe, włókna polimerowe (materiały samowzmacniające), hydroksyapatyt, bioaktywne szkło. Do celów medycznych wykorzystuje się krótkie włókna węglowe uzyskane metodą niskotemperaturową, które mogą ulec fagocytozie przez makrofagi [3]. Dobre wyniki badań doświadczalnych i klinicznych z zastosowaniem włókien węglowych zasugerowały zastosowanie ich jako fazy wzmacniającej kopolimer PGLA. Włókien węglowych używano już do wzmocnienia elementów zespalających złamania żuchwy wykonanych z polisulfonu [4]. Hydroksyapatyt z kolei będąc materiałem kruchym nie nadaje się do wzmocnienia mechanicznego polimerów. Będąc jednak materiałem bioaktywnym, który stymuluje regenerację kości może wpływać na właściwości biologiczne polimerów i przyspieszyć regenerację kości [5].

Cel pracy

Celem pracy było porównanie kompozytu kopolimeru glikolidu z laktidem wzmocnionego włóknami węglowymi (PGLA+CF) i kompozytu tego kopolimeru z hydroksyapatytem (PGLA+HAp) wprowadzonego w żuchwę i tkanki miękkie królików.

Materiały i metody

Badane próbki były wykonane z kopolimeru L-laktydu z glikolidem (PGLA) 84% laktyd, 16% glikolid otrzymanego w Centrum Chemii Polimerów PAN w Zabrze. Kompozyt otrzymano przez dodatek 15% wag. włókien węglowych krótkich - grupa PGLA+CF lub 15% wag. hydroksyapatytu wołowego-grupa PGLA+HAp. Próbki miały kształt walców o średnicy 3,2 mm. Wykonywane były metodą wtrysku w temperaturze $180^{\circ}C$ w Katedrze Biomateriałów AGH.

Badania doświadczalne przeprowadzono na 2 grupach królików nowozelandzkich po 30 zwierząt w każdej według wcześniej opisanego protokołu [6,7]. Badane próbki wprowadzano w kość żuchwy, mięsień prosty grzbietu i tkankę podskórną na grzbiecie. Okresy kontrolne wyznaczono na 7, 14 i 21 dobę oraz 6, 12, 24, 48 tydzień doświadczenia. Po likwidacji zwierząt do dalszych badań pobierano trzon żuchwy po stronie lewej, fragment tkanki podskórnej i mięśnia prostego grzbietu wraz z wszczepem, wątrobę i nerkę. Preparaty poddano ocenie makroskopowej. Wykonano badania radiologiczne kości oraz badania histopatologiczne kości i pozostałych preparatów.

Wyniki

W ocenie klinicznej w obu grupach stwierdzono prawidłowe gojenie się ran pooperacyjnych. Nie obserwowano odczynów zapalnych ani patologicznej wydzieliny z ran. Gojenie przebiegało przez rychłozrost i zamykało się w okresie 10 do 14 dni. Do 21 doby doświadczenia było dostrzegalne mierne zgrubienie tkanek miękkich.

W ocenie radiologicznej od 7 doby widoczne było kuliste przejaśnienie o regularnych brzegach wielkością odpowiadające wykonanemu ubytkowi kostnemu. W kolejnych okre-

within a time to H_2O and CO_2 is the advantage of copolymers [1]. Because of high price (PGLA) and little mechanical resistance their application is limited, specially to children surgery. Creating composites with other biomaterials allow to improve mechanical and biological properties of PGLA. Depending on what kind and what type of this material it will be, and what will be its volume participation, we can control biological and mechanical properties of composites [2]. Polymers can be mix with carbon fibers, polymer fibers, hydroxyapatite, and bioactive glass. In medicine we use short carbon fibers, which are made by low temperature method - it can be phagocytes by macrophages [3]. Satisfactory results of laboratory and clinical experiments suggested using carbon fibers for reinforcement of PGLA polymer. Carbon fibers have been already used for reinforcement of polysulfone elements in the treatment of fracture mandible. Hydroxyapatite is breakable material. It can not be used for mechanical reinforcement of polymers. But bioactivity of hydroxyapatite influence biological properties of polymers and stimulate bone regeneration.

Aim of the study

The aim of the study was comparison between lactide-co-glycolide copolymer reinforced with carbon fibers (PGLA+CF) and lactide-co-glycolide with hydroxyapatite (PGLA+HAp), which were implanted into the mandible and soft tissue of the rabbit.

Materials and methods

The samples of the 84% of lactide and 16% of glycolide were used in this study. Copolymers were created in the Centre of Polymer Chemistry Polish Academy of Sciences in Zabrze. The composite was made by addition of 15% of carbon fibers or 15% of hydroxyapatite. The implants were obtained by means of injection moulding method ($180^{\circ}C$) at AGH University of Science and Technology in the Department of Biomaterials. The samples were cylinder shape with diameter of 3,2 mm. Experimental study was carried out on the group of 30 New Zealand rabbits using protocol that was already described [6,7]. Implants were placed in the corpus of the mandible, in the dorsal muscles and under the skin. The animal euthanasia was performed after 7, 14, 21 days and 6, 12, 24, 48 weeks. Clinical, radiological and histopathological examination was performed.

Results

All postoperative examinations revealed good healing of wounds, without complications. There were no inflammatory reactions or pathological wound excretion. Primary healing was observed within 10-14 days.

7 days radiological examination revealed round brightening with regular edges, which was corresponding with diameter and size with the bone defect. In next periods, the brightening area was less regular and starting from 6 week were gradual shading, what indicated for progressive mineralization. Since 24 weeks in both groups form of slightly shadow mineralized bone have been seen which did not differ from the surroundings.

Histopathological examination revealed, that in the group PGLA+CF after 21 days of observation, there was visible well formed canal's wall, which was covered by fibrous tissue (with many collagen fibers) on all area. Directly with this fibrous tissue there were neighbouring trabecular without osteoblastic activity. Deeper in the fibrous tissue there were still maturing timber bone, which were covered by osteob-

sach przejaśnienie było mniej regularne i począwszy od 6 tygodnia ulegało stopniowemu zaciemnieniu, co świadczyło o postępującej mineralizacji. Od 24 tygodnia obserwacji w obu grupach ubytek kostny wypełniony był już zmineralizowaną tkanką, co widoczne było w postaci zaciemnienia nieznacznie różniącego się od otoczenia.

W badaniu histopatologicznym w grupie PGLA+CF po 21 dniach obserwacji widoczna była dobrze uformowana ściana kanału pokryta na całej powierzchni przez dojrzałą tkankę łączną włóknistą z licznymi włóknami kolagenowymi. Bezpośrednio z nią sąsiadowały linijnie ułożone dojrzałe belecзки kostne bez cech aktywności osteoblastycznej. Głębiej w tkance łącznej włóknistej obecne były jeszcze dojrzewające belecзки kostne pokryte osteoblastami. W tym samym 3-tygodniowym okresie w grupie PGLA+HAp kanał wszczepu był wyraźnie uformowany i miejscami pokryty odbudowującą się tkanką kostną. W 24 i 48 tygodniu kanał wszczepu został całkowicie wypełniony przez rozrastającą się tkankę kostną, w której znajdowały się włókna węglowe. Tkanka kostna wypełniająca kanał wszczepu nie wykazywała już cech aktywności osteoblastycznej. Jednak granica między wytworzonym kanałem, a wypełniającą go nową tkanką kostną rozrastającą się na „rusztowaniu” z włókien węglowych była jeszcze widoczna. W młodej nieuwapionej tkance kostnej wypełniającej kanał wszczepu i przypominającej kość zbitą znajdowały się liczne włosowate naczynia krwionośne. W grupie PGLA+HAp po 24 tygodniach obserwacji zauważalna była obwodowa resorpcja polimeru oraz centralne rozrzedzenie jego struktury. Po 48 tygodniach doświadczenia kanał wszczepu pokryty był przez dojrzałą tkankę kostną. W świetle kanału widoczne były liczne drobiny hydroksyapatytu, wokół których znajdowały się pojedyncze komórki makrofagi jedno- i wielojądrowe. Nie obserwowano ziarniaków olbrzymiokomórkowych typu około ciała obcego. Nie obserwowano już złogów kopolimeru.

W obu grupach po tygodniowej obserwacji wszczep wprowadzony podskórnio otoczony był cienką torebką łącznotkankową, która w kolejnych tygodniach stawała się grubsza i zbudowana była z włókien kolagenowych i fibroblastów. Po 48 tygodniach w obu grupach wprowadzony podskórnio materiał został przerośnięty przez tkankę łączną włóknistą. Wśród rozrastającej się tkanki widoczne były liczne makrofagi jedno- i wielojądrowe tworzące wokół fragmentów hydroksyapatytu i włókien węglowych ziarniaki olbrzymiokomórkowe typu około ciała obcego. Po tak długim okresie nie obserwowano już złogów kopolimeru. W otaczającej wszczep tkance nie występował odczyn zapalny.

W mięśniach prostych grzbietu od pierwszego tygodnia obserwacji wokół wszczepu kształtowała się torebka łącznotkankowa, która po 3 tygodniach była już gruba, zbudowana z włókien kolagenowych i fibroblastów. Po 24 tygodniach doświadczenia wszczep pokryty był grubą torebką łącznotkankową z licznymi włóknami kolagenowymi. Wśród kopolimeru widoczne były liczne drobiny hydroksyapatytu lub włókien węglowych. Widoczny wszczep był rozfragmentowany, a jego struktura rozrzedzona. Po 48 tygodniach obserwacji w obu grupach wszczepiony materiał był wyraźnie odgraniczony od tkanki mięśniowej i w całości przerośnięty przez tkankę łączną włóknistą tworząc ziarninę olbrzymiokomórkową. W obu grupach widoczne były jeszcze liczne komórki olbrzymie wielojądrowe wokół drobin hydroksyapatytu i włókien węglowych. W grupie PGLA+CF miejscowo podtorebkowo spostrzegano ogniska drobnokomórkowego wysięku zapalnego o niewielkim nasileniu złożonego z komórek plazmatycznych i limfocytów. W badanych narządach wewnętrznych (nerki i wątroba) nie wykazano żadnych zmian patologicznych związanych z zastosowanymi wszczepami.

lasts. In the same 3-weeks period in PGLA+HAp group canal of implanted sample was clearly formed and covered with recovering bone. Mature trabecular bone in PGLA+CF could be observed not until 12 week of observation. On 24 and 48 week canal of implant was completely filled with growing bone with carbon fibers in between. Osseous tissue which filled the canal of the implanted materials did not demonstrated osteoblastic activity. However the border between new and surrounding bone was still visible. In the young, not calcificated osseous tissue were lots of capillaries. In the PGLA+HAp group after 24 weeks of observation peripheral polymer resorption and dilution of his structure could be observed. After 48 weeks of experiment implant canal was covered by mature bone. Inside the canal there were little hydroxyapatite fragments surrounded by the macrophages (mononucleus and multinucleus). We did not observed giant cell granulomas (type around the foreign body). There was no trace of copolymer.

In both groups after one week of observation polymer that was placed under the skin was surrounded by thin connective tissue capsule that within the time became thicker and was build of collagen fibers and fibroblasts. 48 week observation revealed that the implant was completely replaced by fibrous tissue. There were presence of macrophages which created foreign body granulomas around hydroxyapatite and carbon fibers particles. There were no symptoms of inflammatory response.

In the dorsal muscles around the implant connective tissue capsule was present. At the beginning it was thin but within the 3 weeks become thicker. After 24 weeks implants were covered by thick fibrous tissue capsule build of collagen fibers. Implants were fragmented, and particles of carbon fibers and hydroxyapatite were present. After 48 weeks connective tissue almost completely ingrown the implants creating gigantic cell granulomas surrounding particles of carbon fibers and hydroxyapatite. There was no visible changes in the microscopic examination of kidneys and liver.

Discussion

Clinical examination revealed good postoperative wound healing in both groups. All operations were performed by the same surgical team with the same protocol. Radiological examination in both groups were similar. Short carbon fibers as well as PGLA polymers do not absorb X-rays, so it is not visible on radiograms. This, according to some authors is

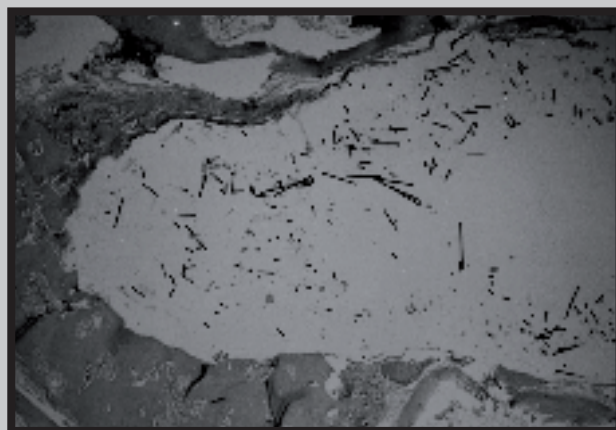


RYS. 1. Rentgenogram boczny zuchwy, PGLA+CF, 48 tydzień.
FIG. 1. Mandibule radiogram, PGLA+CF, 48 weeks.

Badania kliniczne przeprowadzone po wykonanych zabiegach operacyjnych wykazały jednakowe gojenie się ran pooperacyjnych w obu badanych grupach. Wszystkie zabiegi przeprowadził jeden zespół chirurgów, w związku z czym technika zabiegu nie mogła mieć wpływu na gojenie się ran. Badania radiologiczne w obu grupach wykazały duże podobieństwo. Krótkie włókna węglowe, podobnie jak kopolimery PGLA są przepuszczalne dla promieni RTG, w związku z czym materiały te nie są widoczne na radiogramach. W badaniach kontrolnych po zabiegach rekonstrukcji kości właściwości te są uznawane przez niektórych autorów za dużą zaletę, ponieważ pozwalają dokładnie prześledzić przebieg szczeliny złamania [4]. Inne właściwości ma hydroksyapatyt, który jest widoczny na kliszach rentgenowskich. Podobieństwo w obrazach RTG między obydwoma materiałami może wynikać z niedużego stosunku objętościowego włókien węglowych i hydroksyapatytu (15%) w badanych kompozytach. Trzeba również wziąć pod uwagę możliwość nałożenia się sąsiadujących struktur kostnych na obraz wszczepu podczas wykonywania zdjęć. Różnica w obrazie histopatologicznym pomiędzy badanymi grupami może wynikać z właściwości biologicznych badanych materiałów dodanych do kopolimeru PGLA. Krótkie włókna węglowe poprawiają mechaniczne właściwości wszczepów. Ich obecność w kompozycie poszerza zakres zastosowań np. elementów stabilizujących służących do zespalania kości. Szereg badań wykonanych z zastosowaniem włókien węglowych wykazał, iż mogą one być z powodzeniem stosowane do odbudowy nowej tkanki kostnej, ponieważ stanowią szkielet do narastania nowej kości co przyspiesza jej regenerację. Jednak nie jest to materiał biologicznie czynny [8]. Hydroksyapatyt z kolei jest materiałem kruchym i nie nadaje się do wzmacniania kopolimerów PGLA. Posiada jednak dużą aktywności biologiczną, w związku z czym stymuluje odbudowę tkanki kostnej. Jest to widoczne już w 3 tygodniu obserwacji, gdzie wokół wszczepu PGLA+HAp stwierdzono obecność tkanki kostnej. Podobne wyniki otrzymali inni autorzy badając kompozyty na bazie kopolimeru PGLA z cząstkami hydroksyapatytu [9]. Brak różnic w obrazie mikroskopowym kompozytów wprowadzonych w tkanki miękkie świadczy o tym, że proces degradacji badanych materiałów przebiegał podobnie. Nie stwierdzono patologicznych odczynów zapalnych, a obecność wokół badanych wszczepów makrofagów, które biorą udział w resorpcji kopolimerów, może świadczyć o postępującym procesie ich degradacji [10].

Podsumowanie

Podsumowując wyniki badań można stwierdzić, że badane kompozyty odznaczały się dobrą biocompatybilnością. W grupie z hydroksyapatytem już w 3 tygodniu stwierdzono odbudowę tkanki kostnej wokół wszczepu, podczas gdy w grupie z włóknami węglowymi dopiero w okresie 12 tygodni. Wskazuje to na aktywność biologiczną hydroksyapatytu wprowadzonego do matrycy polimerowej. Proces degradacji polimerów w tkance podskórnej i mięśniach przebiegał podobnie w obu grupach. Rozrzedzenie struktury polimeru i przerastanie go przez tkankę łączną można było zauważyć po 24 tygodniach. Brak złogów kopolimeru w kości i tkance podskórnej w okresie rocznym świadczy o całkowitej jego resorpcji.



RYS. 2. Grupa PGLA+CF, 12 tydzień. Dojrzała tkanka kostna w kanale bez cech aktywności kościotwórczej (Barw. H.E., pow. 100x).
FIG. 2. Group PGLA+CF, 12 weeks. Mature bone in the implantation canal without osteoblastic activity (H.E, enl. 100x).

the advantage when evaluating radiograms after the bone reconstructive operation, because allows to evaluate fracture fissure [4]. Hydroxyapatite is different, because is visible on the radiograms. Similar radiograms of both materials in the early postoperative period may result from small amount of HAp and CF in the copolymer. Differences between both groups may result from biological properties of HAp and CF. Short carbon fibers reinforce copolymer, improving its mechanical resistance. Reinforced copolymers may be used as a fixating elements in facial bone fractures. Carbon fibers can be used alone in bone regeneration, creating scaffold for new bone formation [8]. Hydroxyapatite is a fragile material. But having a biological activity stimulate bone regeneration. This can be seen in 3 week of observation where active bone regeneration could have been observed. Similar results were achieved by other authors [9]. The same histopathological observation between both composites implanted to soft tissue provides that process of its degradation is similar. There were no evidence of inflammatory response. The presence of macrophages that are present during the copolymer resorption indicates for continuing degradation of implanted composites [10].

Summary

As a conclusion we can say that both composites have a good biocompatibility. In the group with hydroxyapatite on third week recovering osseous tissue around the implant was present, whereas in the group with carbon on the 12 week. This indicates the biological activity of hydroxyapatite in the polymer matrix. The process of polymer degradation in the subcutaneous tissue and muscles was similar in both groups. Dilution of polymer structure and growing fibrous tissue inside of implants was observed after 24 weeks. One year after operation, there was no copolymer concretion in the bone and subcutaneous tissue what indicates for complete copolymer resorption.

Piśmiennictwo

- [1] Pitt C.G., Gratzel M.M., Kimmel G.L., Surles J., Schindler A.: Aliphatic polyesters. 2. The degradation of poly(DL-lactide), poly(ϵ -caprolactone) and the copolymers in vivo, *Biomaterials* (1981), 2:215-20.
- [2] Chłopek J., Pamuła E., Błażewicz M., Makinen K.: Composite materials from a new biodegradable glycolide-lactide copolymer for medical applications. *Inż. Biomat.* 2000, 12, 23-28.
- [3] Błażewicz M.: Carbon materials in the treatment of soft and hard tissue injuries, *European Cells and Materials* (2001), 2:21-29.
- [4] Adwent M., Cieślak-Bielecka A., Proszek M., Bajor G., Sabat D., Cieślak T.: Polimery w I Katedrze i Klinice Chirurgii Szczykowo-Twarzowej w Zabrze. *Ann. Acad. Med. Sil.* 2004, 83, 10-13.
- [5] Haberko K., Bućko M., Haberko M., Mozgawa W., Pyda A., Zarębski J.: Hydroksyapatyt naturalny-preparatyka, właściwości. *Inż. Biomat.* 2003, 30,31,32,33.

References

- [6] Cieślak T., Adwent M., Bajor G., Chłopek J., Sabat D., Cieślak-Bielecka A.: Kompozyty kopolimeru P(LLA/GLA) z włóknem węglowym w warunkach dotkankowej implantacji – badania wstępne. *Inż. Biomat.* 2003, 27, 117-119.
- [7] Adwent M., Cieślak-Bielecka A., Proszek M., Bajor G., Sabat D., Cieślak T.: Wczesne obserwacje gojenia się wszczepów kopolimerów P(LLA/GLA)+HA wszczepionych w żuchwę i tkanki miękkie królików. *Inż. Biomat.* 2003, 38-42, 240-241.
- [8] Cieślak T.: Płytki i śruby z kompozytów węgiel-węgiel do zespołów odłamów żuchwy. Badania doświadczalne i kliniczne. Rozprawa habilitacyjna, ŚAM Katowice 1993.
- [9] Chłopek J., Morawska-Chochół A., Rosół P.: Mechanizm regeneracji tkanki kostnej po implantacji kompozytu z polimeru resorbowalnego modyfikowanego hydroksyapatytem. *Inż. Biomat.* 2006, 58-60, 98-101.
- [10] Czajkowska B., Kowal J.: Wpływ makrofagów na proces degradacji poli(kwasu L-mlekowego). *Inż. Biomat.* 2002, 22, 23-27.

ROCZNA OCENA IN VIVO WSZCZEPÓW WYKONANYCH Z KOPOLIMERU LAKTYD/GLIKOLID

MAREK ADWENT³, MAGDALENA CIEŚLIK¹, DANIEL SABAT²,
AGATA CIEŚLIK-BIELECKA³, GRZEGORZ BAJOR⁴,
PAULINA KŁAPCIŃSKA¹, TADEUSZ CIEŚLIK³

¹KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNAWSTWA STOMATOLOGICZNEGO ŚAM, BYTOM

²KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII ŚAM, ZABRZE

³I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ ŚAM, ZABRZE

⁴KATEDRA CHIRURGII DZIECIĘCEJ ŚAM, BYTOM
MADWENT@SLAM.KATOWICE.PL

Streszczenie

Celem przeprowadzonych badań była ocena roczna kopolimeru laktyd/glikolid (PGLA) wprowadzonego w kość i tkanki miękkie zwierząt doświadczalnych. Badany materiał wszczepiono w żuchwę i tkanki miękkie królików i oceniano jego zachowanie pod kątem klinicznym, radiologicznym i histopatologicznym. Otrzymane rezultaty badań wykazały, że po 3 tygodniach doświadczenia wszczep otoczony był przez tkankę kostną z cechami żywej odbudowy kostnej, która zachodziła w jej głębszych warstwach. W 12 tygodniu tkanka kostna otaczająca wszczep była już dojrzała. W podsumowaniu wyników badań można stwierdzić, że badany kompozyt odznacza się dobrą biogodnością, nie wywołuje miejscowych i ogólnych odczynów zapalnych i został całkowicie zresorbowany w okresie 48 tygodni.

Słowa kluczowe: biomateriały, polimery biodegradowalne, kopolimer PGLA, regeneracja tkanki kostnej, badania na zwierzętach

[Inżynieria Biomateriałów, 61, (2007), 9-12]

Wstęp

Polimery kwasu mlekowego i glikolowego stosowane są w medycynie od lat. Używa się ich do produkcji nośników leków, wytwarza się z nich nici chirurgiczne. W chirurgii stomatologicznej stosowane są w sterowanej regeneracji kości. Dla potrzeb chirurgii szczękowo-twarzowej produkuje się z nich materiały do zespalania kości twarzy [1]. Tak szerokie

LACTIDE-CO-GLYCOLIDE IMPLANTS IN VIVO - ONE YEAR STUDY

MAREK ADWENT³, MAGDALENA CIEŚLIK¹, DANIEL SABAT²,
AGATA CIEŚLIK-BIELECKA³, GRZEGORZ BAJOR⁴,
PAULINA KŁAPCIŃSKA¹, TADEUSZ CIEŚLIK³

¹DEPARTMENT AND SECTION OF STOMATOLOGICAL MATERIALS SCIENCE OF MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, BYTOM

²DEPARTMENT OF PATHOMORPHOLOGY OF MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, ZABRZE

³DEPARTMENT AND CLINIC OF ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY OF MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, ZABRZE

⁴DEPARTMENT OF CHILDREN SURGERY OF MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, BYTOM

Abstract

The aim of the study was one year evaluation of lactide/glycolide copolymer (PGLA) that was implanted in bone and soft tissue of New Zealand rabbits. The composite was implanted to the bone and soft tissue and clinical, radiological, histopathological examination was performed. Three weeks evaluation revealed that implant was surrounded by the bone with trace of active bone regeneration, that was visible in deeper parts of bone. After 12 weeks bone surrounding the implant was mature. Implant degradation could be observed within 48 weeks. It did not induce general or local inflammatory response.

Keywords: biomaterials, biodegradable polymers, PGLA polymer, animal study, bone regeneration
[Engineering of Biomaterials, 61, (2007), 9-12]

Introduction

Lactide-co-glycolide polymers are being used in medicine for years as drug delimiters or surgical sutures. In the surgery it can be used for guided bone regeneration, or in traumatic surgery as a fixating elements in facial fractures [1]. Such a wide range of use is possible because of special polymer properties. In the organisms polymers can be resorbed creating simple acids and finally H₂O and CO₂ [2]. Time of the polymer degradation can be regulated by changing the proportion between lactide to glycolide [3]. Other factors as

zastosowanie kopolimerów możliwe jest dzięki specjalnym właściwościom jakie posiadają. W organizmach żywych ulegają całkowitej resorpcji tworząc proste α -hydroksykwas, a w ostateczności wodę i dwutlenek węgla [2]. Możliwe jest sterowanie czasem resorpcji kopolimerów poprzez dobranie odpowiedniego stosunku procentowego polilaktydu do glikolidu [3]. Na czas rozkładu polimerów wpływ ma także pH i temperatura środowiska, ich masa molowa i krystaliczność oraz różne dodatki materiały wprowadzane w skład materiałów złożonych na bazie polimerów. Materiały te, którymi mogą być np. włókna węglowe wpływają również na właściwości mechaniczne polimerów [4]. Przed wykonaniem kompozytu na bazie polimeru konieczne jest najpierw sprawdzenie właściwości biologicznych bazy polimerowej.

Cel pracy

Celem przeprowadzonych badań była roczna ocena kopolimeru laktyd/glikolid (PGLA) wprowadzonego w kość i tkanki miękkie zwierząt doświadczalnych.

Materiały i metody

Badane próbki były wykonane z kopolimeru L-laktydu z glikolidem (PGLA) 84% laktyd, 16% glikolid otrzymanego w Centrum Chemii Polimerów PAN w Zabrze. Próbki miały kształt walców o średnicy 3,2 mm. Wykonywane były metodą wtrysku w temperaturze 180°C w Katedrze Biomateriałów AGH.

Badania doświadczalne przeprowadzono na grupie 30 królików nowozelandzkich według wcześniej opisanego protokołu [5]. Zwierzęta zabijano w 7, 14 i 21 dobie, oraz w 6, 12, 24, 48 tygodniu doświadczenia. Do dalszych badań pobierano trzon żuchwy po stronie lewej, fragment mięśnia prostego i tkanki podskórnej zawierających badane wszczepy, wątrobę i nerkę. Wykonywano badania radiologiczne trzonu żuchwy na podstawie rentgenowskich zdjęć zębowych. W badaniach histopatologicznych oceniano tkankę kostną w miejscu wykonywanych ubytków i z otoczenia, ponadto tkankę podskórną i mięśniową z okolic kręgosłupa lędźwiowego oraz wątrobę i nerkę.

Wyniki

W ocenie klinicznej stwierdzono gojenie się ran przez rychłozrost, a okres ich całkowitego wygojenia zamykał się między 10 a 14 dniem. Zwierzęta nie traciły na wadze i nie obserwowano u nich cech infekcji.

W ocenie radiologicznej w 7 dobie obserwowano przejaśnienie o kształcie i rozmiarze wykonanego ubytku kostnego. W kolejnych okresach kontrolnych obserwowano zmniejszające się nieregularne przejaśnienie, które w 24 tygodniu miało wygląd znacznego zaciemnienia, co mogło świadczyć o obecności zmineralizowanej tkanki kostnej. Po 48 tygodniach radiogramy uwiidoczyły całkowite zaciemnienie w miejscu wykonanego ubytku, a miejscami można było dostrzec ubelczkowaną kość, która nie różniła się od kości otaczającej wszczep.

W badaniu histopatologicznym po 3 tygodniach doświadczenia stwierdzono, że wszczep otoczony był przez tkankę kostną z cechami żywej odbudowy kostnej, która zachodziła w jej

mol weight, crystallity, pH and temperature of the environment in which polymer is placed as well as other materials also have an influence for the time of degradation. These materials, for example carbon fibers also can change mechanical properties of polymers [4]. Before composites based on polymers are created, it is necessary to check the behaviour of the polymer base in vivo.

Aim of the study

The aim of the study was the one year observation of the PGLA polymers that were placed in the bone and soft tissue of the rabbits.

Materials and methods

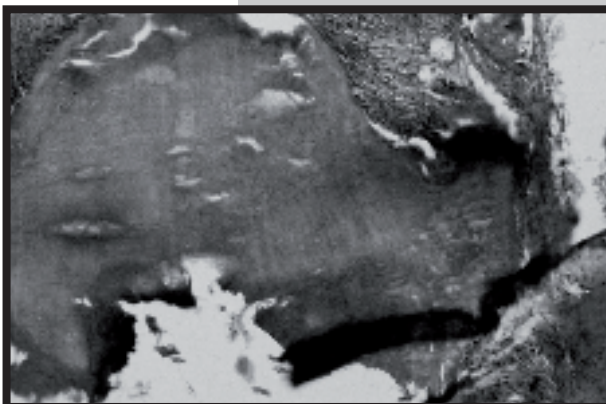
The samples of the 84% of lactide and 16% of glycolide (PGLA) were used in this study. Copolymers were created in the Centre of Polymer Chemistry Polish Academy of Sciences in Zabrze. The implants were obtained by means of injection moulding method (180°C) at AGH University of Science and Technology in the Department of Biomaterials. The samples were cylinder shape with diameter of 3,2 mm. To the experimental group of 30 New Zealand rabbits was used sing protocol that was already described [5]. Implants were placed in the corpus of the mandible, in the dorsal muscles and under the skin. The animal euthanasia was performed after 7, 14, 21 days and 6, 12, 24, 48 weeks. Clinical, radiological and histopathological examination were performed.

Results

All wounds healed primarily within 10-14 days. Animals did not lost their weight and symptoms of infection were not visible. Radiograms taken 7 days after surgery revealed bone defect with shape and size similar to the operating drills. Within the time bone defect become less regular and intensive and finally after 24 weeks mineralized bone was visible in the place of the defect. After 48 weeks radiograms revealed presence of mineralized trabeculare bone that did not differ from the surrounding. Three week histopathological evaluation revealed that implant was surrounded by the bone with active bone regeneration in its deeper parts. After 12 weeks bone was mature. Fibrous tissue in-growing the implant structure appeared after 24 weeks.

Between the lines of fibrous tissue there were fragments of polymer. There were also traces of active bone regeneration. Mature bone totally replacing PGLA implant could be observed after 48 weeks.

Polymer that was placed under the skin was surrounded by thin connective tissue capsule since 6 week that within the time became thicker and was build of collagen fibers and fibroblasts. 48 week observation revealed that the implant was completely replaced by fibrous tissue. There was no trace of PGLA as



RYS. 1. Kanał wypełniony przez dojrzałą kość zbitą bez cech aktywności osteoblastycznej, 48 tygodni. Barw. H.E, pow. 200x.

FIG. 1. Implantation canal filled with mature bone, 48 weeks. H.E, 200x.

głębszych warstwach. W 12 tygodniu tkanka kostna otaczająca wszczep była już dojrzała. 24-tygodniowa obserwacja wykazała całkowicie przerośnięcie kanału wszczepu przez tkankę łączną włóknistą tworzącą charakterystyczny obraz sitowaty. Pomiędzy pasmami tkanki znajdowały się liczne fragmenty kopolimeru. Pojawiały się również cechy osteogenezy z tworzeniem młodej kostniny. Po 48 tygodniach doświadczenia w miejscu wszczepu stwierdzono dojrzałą kość zbitą bez cech aktywności osteoblastycznej.

W tkance podskórnej do 6 tygodnia wszczep otaczała cienka torebka łącznotkankowa. 24-tygodniowa obserwacja wykazała wrastanie cienkich i grubych pasm tkanki łącznej włóknistej ze ściany torebki w strukturę polimeru, co prowadziło do powstania siatki, w której „okach” tkwiły liczne fragmenty kopolimeru. Po 48 tygodniach doświadczenia na granicy z tkanką mięśniową widoczny był tylko niewielki zwłókniasty ziarniniak z resztkami kopolimeru i skąpym limfocytarnym wysiękiem zapalnym w otaczającej tkance.

W mięśniach prostych grzbietu po 3-6 tygodniach obserwacji wokół wszczepu widoczna była wyraźna torebka zbudowana z tkanki łącznej włóknistej. Po 24 tygodniach obserwowano wrastanie pasm tkanki łącznej włóknistej do światła torbieli i przerastanie wszczepu kopolimeru z tworzeniem struktury sitowatej. Po 48 tygodniach obserwacji w miejscu wszczepu widoczna była tylko niewielka blizna łącznotkankowa. Resztek wszczepionego kopolimeru nie znaleziono.

W badanych narządach wewnętrznych (nerki i wątroba) nie wykazano żadnych zmian patologicznych związanych z zastosowanymi wszzczepami.

Dyskusja

Wyniki badania kopolimeru glikolidu z laktidem dają duże nadzieje na wytworzenie dobrego materiału, który będzie można zastosować w chirurgii szczękowo-twarzowej [6]. Wyeliminowanie z syntezy polimerów oktianianu cyny i zamiana inicjatora na cyrkonowy pozwala na otrzymywanie polimerów, które są przyjazne dla organizmów żywych i z powodzeniem mogą być stosowane w medycynie [7,8]. Przeprowadzone badania doświadczalne wykazały, że badane kopolimery nie wywołują negatywnych reakcji tkankowych we wczesnym okresie gojenia. Wszystkie rany pooperacyjne wygoiły się prawidłowo, niezależnie od tego czy badany kopolimer wprowadzano w tkanki miękkie czy kość. Na wykonanych radiogramach we wczesnym okresie obserwacji widoczne było przejaśnienie o rozmiarze wprowadzonego w kość wszczepu. Kopolimery laktidu z glikolidem nie absorbują promieni rentgenowskich, w związku z czym, nie są widoczne na radiogramach. Z czasem dochodzi do wrastania tkanki kostnej otaczającej wszczep w jego strukturę, co jest widoczne jako rozmycie ostrych brzegów wszczepu i stopniowe jego zaciemnienie. W badaniach histopatologicznych tkanka łączna była widoczna wokół wszczepu do 3 tygodnia doświadczenia. Po tym okresie obserwowano aktywną odbudowę kości wokół wszczepu pod postacią licznych młodych beleczek kostnych. Dojrzała tkanka kostna była widoczna od 12 tygodnia doświadczenia. Inni autorzy w swoich badaniach wykazali, że wszczep PGLA przez cały okres 48-tygodniowego doświadczenia oddzielony był od kości przez warstwę tkanki łącznej włóknistej, wokół której znajdowała się tkanka kostna. Od 3 tygodnia w strukturę wszczepu wrastała tkanka łączna, w której po 24 tygodniach zaobserwowano znaczący wzrost jonów wapnia i fosforu [9]. W chwili obecnej za powodzenie wszczepienia materiału uważa się bezpośrednie funkcjonalne jego połączenie z tkanką kostną bez obecności tkanki łącznej, czyli osteointegrację. Proces ten zachodzi w kości między 4 a 12 tygodniem od implantacji, w zależności od rodzaju wszczepu

it could have been observed after 24 weeks. There were no symptoms of inflammatory response. In the dorsal muscles between 3-6 week around the implant connective tissue capsule was present. After 24 weeks fibrous tissue begin to in-grow structure of the implant creating a lag structure. After 48 weeks there was no trace of PGLA implant but only a fibrous tissue cicatrix, replacing the implant space. There was no visible changes in the microscopic examination of kidneys and liver.

Discussion

The experimental study results of lactide-co-glycolide polymer open a grate expectation for future usage in maxillofacial surgery [6]. Replacement of tin by zirconium initiator allows to get the copolymer more friendly to organisms. It can have a wide range of application in medicine [7,8]. Performed experimental study revealed that PGLA copolymer do not induce inflammatory response in the early postoperative period. All wounds healed without complication. It did not matter whether implant was placed to the bone or to the soft tissues. On the radiograms taken in the early postoperative period it was seen a bone defect with size corresponding to the implant size. PGLA implants do not absorb X-rays so the one can not be seen on the radiograms. Three weeks histopathological evaluation revealed that implant was surrounded by the fibrous tissue. Since then active bone regeneration could be observed. Mature bone surrounding the implant appeared after 12 weeks. Other authors in their studies revealed that during 48 weeks of observation implant was surrounded by the fibrous tissue. Beginning from 3 week fibrous connective tissue in-grown into implant structure, and after 24 weeks significant concentration of calcium and phosphor joins was observed [9]. Nowadays direct bone-implant interface is the benchmark of success in implantology. Osteointegration can be observed between 4-12 weeks after implantation, depending on the kind of implant. In our study osteointegration has began in 3 week and was completed within 12 weeks.

Piśmiennictwo

References

- [1] Bessho K., Iizuka T., Murakami K-I.: Bioabsorbable Poly-L-Lactide Miniplate and Screws System for Osteosynthesis in Oral and Maxillofacial Surgery. *J. Oral. Maxillofac. Surg.* 1997, 55, 941-945.
- [2] Pitt C.G., Gratzel M.M., Kimmel G.L., Surles J., Schindler A.: Aliphatic polyesters. 2. The degradation of poly(DL-lactide), poly(ϵ -caprolactone) and the copolymers in vivo, *Biomaterials* (1981), 2:215-20.
- [3] Chłopek J., Pamuła E., Błażewicz M., Makinen K.: Composite materials from a new biodegradable glycolide-lactide copolymer for medical applications. *Inż. Biomat.* 2000, 12, 23-28.
- [4] Chłopek J., Kmita G., Dobrzyński P., Bero M.: Właściwości zmęczenia śrub z kopolimeru P(LLA/GLA) oraz kopolimeru wzmocnianego włóknem węglowym. *Inż. Biomat.* 2002, 23, 24, 25, 88-90.
- [5] Adwent M., Cieślak M., Cieślak-Bielecka A., Sabat D., Duda M., Cieślak T.: Ocena kopolimeru PGLA wszczepionego w żuchwę i tkanki miękkie królików-observacje półroczne. *Inż. Biomat.* 2005, 47-53, 219-221.
- [6] Pamuła E., Chłopek J., Błażewicz M., Makinen K., Dobrzyński P., Kasperczyk J., Bero M.: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktid dla celów medycznych. *Inż. Biomat.* 2000, 12, 23-28
- [7] Czajkowska B., Bero M., Dobrzyński P., Kasperczyk J.: Badanie biogodności kopolimerów glikolidu i laktidu otrzymywanych z wykorzystaniem nowego inicjatora cyrkonowego lub cynowego w oparciu o badania in vitro. *Inż. Biomat.*, 2001, 17, 18, 19, 74-75.
- [8] Dobrzyński P., Bero M., Kasperczyk J.: Synteza i właściwości kopolimerów biodegradowalnych (PGLA, PACA, PLCA) otrzymanych w obecności nowego, niskotoksycznego inicjatora cyrkonowego. *Inż. Biomat.* 2001, 17-19, 72-73.

[10,11]. W przeprowadzonych przez nas badaniach proces osteointegracji wszczepu rozpoczął się od 3 tygodnia i był w pełni zauważalny po 12 tygodniach doświadczenia.

Podsumowanie

W podsumowaniu wyników badań można stwierdzić, że badany kompozyt odznacza się dobrą biogodnością, nie wywołuje miejscowych i ogólnych odczynów zapalnych i został całkowicie zresorbowany w okresie 48 tygodni.

DEGRADACJA WĘGLOWYCH NANOKOMPOZYTÓW WŁÓKNISTYCH (SFC+NHAP) W OSNOWIE RESORBOWALNEGO POLIMERU PL(L/DL)A – BADANIA WSTĘPNE

EWA STODOLAK¹, WIOLETTA RYZNER¹, BARBARA CZAJKOWSKA², MARTA BŁAŻEWICZ¹

¹AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI, KATEDRA BIOMATERIAŁÓW

AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

²UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI, COLLEGIUM MEDICUM,

UL. CZYSTA 2, 30-057 KRAKÓW

E-MAIL: STODOLAK@AGH.EDU.PL

Streszczenie

W pracy zbadano: wpływ fazy włóknistej na osnowę resorbowalnego polimeru i biogodność tak otrzymanego materiału kompozytowego. Oceniono zmiany fizykochemiczne powierzchni wywołane wprowadzonym materiałem włóknistym oraz szybkość degradacji kompozytu w warunkach in vitro. Fazę włóknistą stanowiły włókna węglowe modyfikowane nanocząstkami hydroksyapatytu (nHAp). Badania wskazały, że wprowadzenie biogodnych włókien węglowych w matrycę polimerową poprawia przeżywalność osteoblastów (test MTT), a dodatkowa modyfikacja cząstkami nHAp aktywuje komórki kostne do wydzielania kolagenu typu I (ELISA). Naświetlanie promieniowaniem UV nie wpływa na trwałość materiału w warunkach in vitro (woda/37°C/3 miesiące), a jednocześnie obniża parametry mechaniczne kompozytu (wytrzymałość, moduł sprężystości). Proces ten wpływa również na zmiany powierzchniowe materiału obserwowane w postaci: wzrostu zwilżalności powierzchni i zmiany mikrostruktury powierzchni (SEM).

Słowa kluczowe: kompozyty włókniste, nanokompozyty, degradacja polimerów, biogodność [Inżynieria Biomateriałów, 61, (2007), 12-16]

Wprowadzenie

Biogodność, właściwości mechaniczne materiału w połączeniu z jego kontrolowanym czasem degradacji są jednym z podstawowych warunków decydujących o potencjalnych możliwościach zastosowania materiału jako tworzywa implantacyjnego [1]. W grupie materiałów

[9] Chłopek J., Morawska-Chochół A., Rosół P.: Mechanizm regeneracji tkanki kostnej po implantacji kompozytu z polimeru resorbowalnego modyfikowanego hydroksyapatytem. Inż. Biomat. 2006,58-60, 98-101.

[10] Adwent M., Cieślík-Bielecka A., Proszek M., Bajor G., Sabat D., Cieślík T.: Wczesne obserwacje gojenia się wszczepów kopolimerów P(LLA/GLA)+HA wszczepionych w żuchwę i tkanki miękkie królików. Inż. Biomat. 2004, 38-42: 240-241.

[11] Proszek M., Adwent M., Cieślík-Bielecka A., Bajor G., Sabat D., Cieślík T., Morawska A.: Ocena gojenia ran kostnych żuchwy królików wypełnionych kopolimerem P(LLA/GLA) wzmacnianych włóknami węglowymi. Inż. Biomat. 2004, 38-42: 242-245.

DEGRADATION OF FIBROUS CARBON NANOCOMPOSITES (SFC+NHAP) IN RESORBABLE POLYMER PL(L/DL)A MATRIX – PRELIMINARY STUDIES

EWA STODOLAK¹, WIOLETTA RYZNER¹, BARBARA CZAJKOWSKA², MARTA BŁAŻEWICZ¹

¹ DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,

FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS, AGH-UST, AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKOW, POLAND

² DEPARTMENT OF IMMUNOLOGY,

COLLEGIUM MEDICUM, JAGIELLONIAN UNIVERSITY,

ST. CZYSTA 2, 30-057 KRAKOW, POLAND

E-MAIL: STODOLAK@AGH.EDU.PL

Abstract

The aim of the work was investigation of the influence of a fibrous phase on a resorbable polymer matrix and biocompatibility of such manufactured composite. Physicochemical changes of the surface induced by the introduced fibrous material and the degradation rate of the composite in in vivo conditions were evaluated. The fibrous phase was composed of carbon fibers modified with hydroxyapatite nanoparticles (nHAp). Investigations showed, that introduction of the biocompatible carbon fibers into the polymer matrix improves osteoblasts viability (MTT test), and additional modification with n-HAp particles activates bone-tissue cells to secretion of I-type collagen (ELISA). UV irradiation does not influence stability of the material in in vitro conditions (water/37°C/3 months), but it reduces mechanical properties of the composite (strength, Young's modulus). This process also influences the composite's surface properties, which can be observed in increase of the surface wettability and changes in the surface microstructure (SEM).

Keywords: fibrous composite, nanocomposite, polymer degradation, bioactivity

[Engineering of Biomaterials, 61, (2007), 12-16]

Introduction

Biocompatibility, mechanical properties, and controlled time of degradation are the basic properties of material, which enable its application in implantation [1]. This features can be controlled in composites which are very promising materials for implantation. Incorporate of a second phase (fibers, particles) into a polymer matrix should lead not only

cechujących się najbardziej obiecującymi właściwościami są materiały kompozytowe. Wprowadzenie do osnowy polimerowej drugiej z faz (włókna, cząstki) ma na celu nie tylko zmodyfikowanie anizotropii właściwości mechanicznych, poprawę biogodności, ale modyfikacja taka powinna równocześnie stwarzać możliwość przerastania regenerującą się tkanką w warunkach *in vitro*, aby po jej całkowitej odbudowie zaniknąć. Otrzymanie kompozytowych materiałów o kontrolowanym czasie działania jest możliwe dzięki zastosowaniu polimerów resorbowalnych i biodegradowalnych. Wprowadzenie do resorbowalnej osnowy polimerowej fazy włóknistej daje możliwość modelowania parametrów mechanicznych (w zależności od typu włókna, sposobu jego ułożenia), fizykochemicznych i biologicznych (uzależnione od parametrów powierzchni). Jeśli dodatkowo fazę włóknistą zmodyfikuje się nanocząstką ceramiczną np. hydroksyapatytem to zyska ona zdolność do bioaktywności i polepszy połączenie na linii tkanka – implanty [2, 3]. Jeśli do bioaktywnego materiału dodać znajomość procesu degradacji to liczba potencjalnych zastosowań kompozytu jako biomateriału implantacyjnego rośnie (potencjalne zastosowania: chirurgia twarzo-czaszki, stomatologia, chirurgia kostna, inżynieria tkankowa) [4].

Materiały i metody

Materiały kompozytowe wytworzono z resorbowalnego polimeru poli(L-laktyd-co-D,L-laktydu) o stosunku merów 80:20 i masie cząsteczkowej M_w 200.000 Da (Boehringer Ingelheim, Germany). Polimerową osnowę modyfikowano nanokompozytowymi włóknami węglowymi zawierającymi 3% wag. nanohydroksyapatytu (Katedra Ceramiki Specjalnej WiMIC, AGH). Prekursorem włókien węglowych były organiczne włókna poliakrylonitrylowe (PAN) wytworzone w Katedrze Włókien Sztucznych, na Wydziale Inżynierii i Marketingu Tekstyliów Politechniki Łódzkiej. Włókna PAN poddano procesowi obróbki termicznej, który obejmował dwa etapy: stabilizację (280°C) i karbonizację (1000°C). Zastosowano roztwór polimeru o stosunku 1:30 (rozpuszczalnik CH_2Cl_2 , POCh Gliwice). Do roztworu polimeru wprowadzano naważkę krótkich włókien węglowych (o długości 50 - 200 μm i średnicy ok. 10 μm). Tak otrzymaną mieszaninę pozostawiono do odparowania na powietrzu (24h/temp. pokojowa), a następnie w próżni (24h/temp. 30°C). Tą drogą otrzymano dwa rodzaje próbek: kompozyt PL(L/DL)A z SFC+HAp oznaczony jako KHAp, i folię PL(L/DL)A oznaczoną jako P. Tak otrzymane materiały poddano dodatkowo naświetlaniu promieniowaniem ultrafioletowym ($\lambda = 342$ nm) przez 48h. W ten sposób otrzymano: kompozyt – KHApUV i folię polimerową PUV.

Badania biologiczne wytworzonych materiałów wykonano na linii osteoblastopodobnych komórek hFOB 1.19 i linii fibroblastopodobnych komórek HS-5. Hodowle przeprowadzano w inkubatorze w atmosferze: 5% CO_2 / 95% powietrze, temp. 37°C (fibroblasty) lub 34°C (osteoblasty) przez 7 dni. Żywotność komórek oznaczono metodą wykorzystującą metabolizm barwnika MTT w mitochondriach (aktywność dehydrogenazy mitochondrialnej). Oznaczenie stężenia kolagenu typu I produkowanego przez osteoblasty i fibroblasty oznaczono przy pomocy testu ELISA po 4 dniach inkubacji.

Zbadano degradację otrzymanych materiałów wyjściowych i poddanych obróbce UV, a następnie inkubowanych w wodzie (37°C/3 miesiące). Mikrostrukturę kompozytów po inkubacji (37°C/7 dni/SBF) oceniano na podstawie obserwacji w skaningowym mikroskopie elektronowym (SEM JSM – 5400, Joel). Charakterystykę stanu powierzchni badanych materiałów (na każdym z etapów doświadczenia) dokonano metodą pomiaru kąta zwilżenia, używając aparatu DSA 10

to modification of anisotropy of its mechanical properties, and improvement of its biocompatibility, but besides it should allow ingrowth of the regenerating tissue in *in vitro* conditions and disappear after its full recovery. Production of composite materials with controlled operating time is possible due to application of bioresorbable and biodegradable polymers. Introduction of a fibrous phase into a bioresorbable polymer matrix makes possible modification of material's mechanical properties (controlled by the fiber type and arrangement), as well as its physicochemical and biological properties (related to the surface properties). Additional modifications of the fibrous phase with ceramic nanoparticles e.g. hydroxyapatite enhance its bioactivity and improves join between tissue and an implant [2,3]. Well-described bioactivity of a given composite material, together with thorough information about its degradation process enables potential application of the composite as an implant material in such fields as: maxillofacial surgery, stomatology, bone surgery, tissue engineering [4].

Materials and methods

Composite materials were produced from resorbable polymer poly(L-lactide-co-D,L-lactide) with 80:20 mer ratio, and molecular weight (M_w) 200.00 Da (Boehringer Ingelheim). The polymer matrix was modified with nanocomposite carbon fibers containing 3 wt. % nanohydroxyapatite (AGH-University of Science and Technology, Faculty of Materials Science and Ceramics, Department of Special Ceramics, Krakow, Poland). The carbon fibers were produced from organic, polyacrylonitrilic (PAN) fibers (Institute of Man Made Fibers, Faculty of Textile Engineering and Marketing, Technical University of Lodz, Poland). During two-staged heat-treatment process, the PAN fibers were stabilized (280°C) and then carbonized (1000°C). The polymer to solvent (CH_2Cl_2 , POCh) ratio was 1:30. The required, weighted amount of short carbon fibers (length 50 – 200 μm , diameter 10 μm) was introduced into the polymer solution. The mixture was left for evaporation, first in air atmosphere at room temperature (24h), and then in vacuum at 30°C (24h). As a result two kinds of samples were produced: PL(L/DL) with SFC + n-Hap composite (KHAp), and PL(L/DL)A foil (P). The samples were UV-irradiated ($\lambda = 342$ nm) for 48h, and such treated samples are named consequently KHApUV and PUV. Biological investigations of the materials were performed at osteoblast-like cells hFOB 1.19 line, and fibroblast-like cells HS-5 line. The cell cultures were kept in an incubator in 5% CO_2 / 95% air atmosphere, at 37°C (fibroblasts) or 34°C (osteoblasts) for 7 days. Cell viability was determined using a method based on the metabolism of MTT dye (activity of mitochondrial dehydrogenase). Concentration of collagen type I for both cell lines (osteoblasts and fibroblasts) were determined using the ELISA test after 4 days of incubation. Degradation of the initial materials and UV-irradiated materials was investigated during incubated in water (37°C/3 months). Microstructure of the composites after incubation (37°C/7 days/SBF) was observed using scanning electron microscope (SEM JSM – 5400, Jeol). Surface of the initial materials and UV-irradiated materials incubated in *in vitro* conditions (at all stages of the experiment) was characterized by the wetting angle measurement (DSA 10, Kruss). Stability of mechanical properties of the composite and the foil was tested (water/37°C/3 months). Tensile strength of the materials was determined using universal testing machine (ZWICK 1435).

Kruss (Niemcy). Badaniu poddano próbki wyjściowe, a także poddane obróbce UV, a następnie inkubowane w warunkach in vitro. Badania wytrzymałości na rozciąganie materiałów wykonano na uniwersalnej maszynie wytrzymałościowej ZWICK 1435 (Niemcy).

Wyniki i dyskusja

Badania biologiczne

Badania komórkowe wykazały, że otrzymane materiały kompozytowe są materiałami biozgodnymi. Wprowadzenie w osnowę polimeru włóknistej fazy zawierającej nanocząstki HAp powoduje poprawę przeżywalności osteoblastów i fibroblastów w stosunku do samego polimeru (RYS.1). Aktywność sekrecyjna komórek kostnych (produkcja kolagenu typu I) jest największa na powierzchni materiału KHAp (wyższa niż aktywność osteoblastów na powierzchni kompozytu z włóknem węglowym bez udziału fazy ceramicznej, RYS.2).

SEM/EDS

Gładka powierzchnia folii polimerowej P ulega lekkiemu sfałdowaniu po inkubacji w wodzie przez okres 3 miesięcy (37°C, RYS.3a). Ten sam efekt: wzrost chropowatości powierzchni polimeru, obserwuje się na folii polimerowej naświetlanej promieniami UV (PUV), a następnie inkubowanej przez 3 miesiące (RYS.4a). Wprowadzenie do osnowy polimerowej włókien węglowych z nanoHAp (KHAp) modyfikuje gładką dotąd powierzchnię folii nadając jej kształt oddający mikrostrukturę włókien (RYS.3b). Degradacja powierzchni kompozytu (nieregularności, wzrost chropowatości, spękania) jest znacznie silniejsza w przypadku kompozytu poddanego wcześniej działaniu UV (KHAp UV, RYS.4b).

Badania powierzchni

Inkubacja porównawcza dwóch folii polimerowych: wyjściowej (P) i folii dodatkowo poddanej naświetlaniu promieniowaniem UV (PUV) wykazała, że największy spadek kąta zwilżania (większą hydrofilowość) obserwuje się na powierzchni folii polimerowej niemodyfikowanej (P) (RYS.5). Brak zmian zwilżalności powierzchni dla folii (PUV) jest prawdopodobnie wynikiem zahamowania procesu degradacji (lub zmianą jej mechanizmu: z degradacji powierzchniowej na degradację w masie). W przypadku kompozytów z włóknem węglowym (KHAp, KHAp UV) zmiany zwilżalności powierzchni są niewielkie i niezależne od modyfikacji powierzchni promieniowaniem UV i wynikają ze wzrostu chropowatości powierzchni materiałów kompozytowych.

Badania mechaniczne

Dodatek włókien węglowych do osnowy polimerowej nie wpływa na poprawę parametrów mechanicznych materiału (odkształcenie, moduł Younga, wytrzymałość). Dobry udział objętościowy włókien (3% wag.) osłabia strukturę kompozytu. Włókna węglowe działają tu jako faza osłabiająca (defektująca) materiał. Inkubacja kompozytu (KHAp) dodatkowo wpływa na obniżenie wytrzymałości materiału (RYS.6). Nie odnotowano zmian wytrzymałości dla inkubowanej folii polimerowej (P).

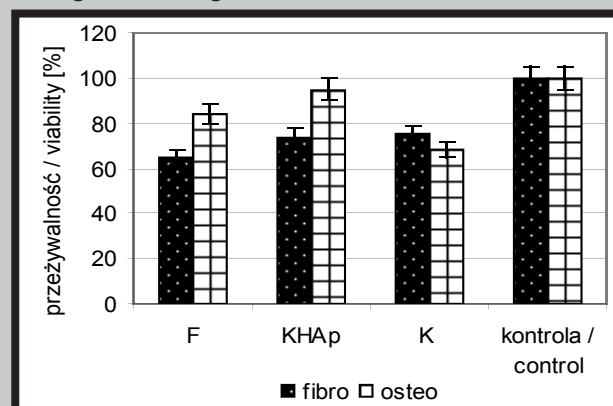
Wnioski

Wprowadzenie włókien węglowych modyfikowanych nanocząstkami hydroksyapatytu do osnowy resorbowalnego polimeru powoduje:

- zmianę jego parametrów powierzchniowych: włókna obniżają wartość kąta zwilżania (powierzchnia materiału staje się bardziej hydrofilowa),
- zmianę topografii powierzchni (wzrasta chropowatość),

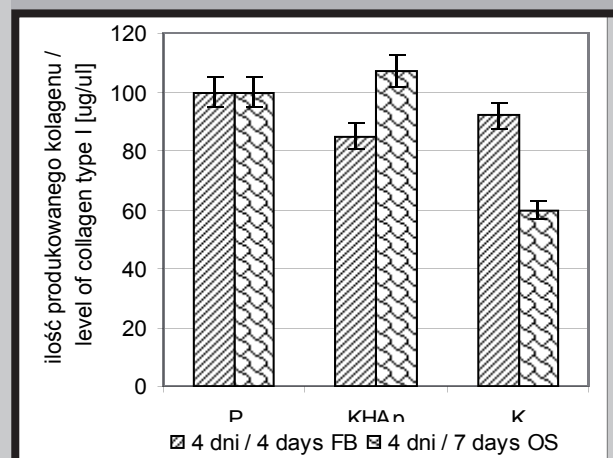
Results

Biological investigations



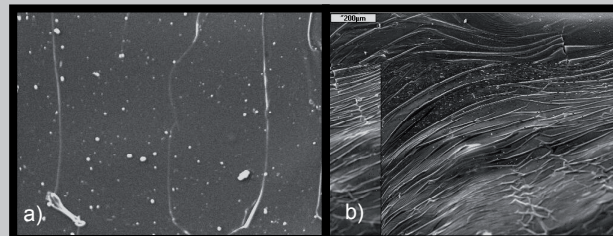
RYS. 1. Przeżywalność komórek kontaktowanych z powierzchnią materiału badanego: P - folia polimerowa, K - kompozyt z włóknem węglowym, KHAp - kompozyt z włóknem węglowym modyfikowanym nanoHAp.

FIG. 1. Cell viability contacted with materials after 7 days: pure polymer foil (P), composites materials reinforced short carbon fibres (K), composites materials with nanohydroxyapatite (KHAp).



RYS. 2. Poziom kolagenu typu I po 4 dniach inkubacji z materiałem badanym: P - folia polimerowa, KHAp - kompozyt z włóknem węglowym modyfikowanym HAp, K - kompozyt z włóknem węglowym.

FIG. 2. Level of collagen type I produced by osteoblasts and fibroblasts after 4 days incubation with cells: P - pure polymer foil, K - composites materials reinforced short carbon fibres, KHAp - composites materials with nanohydroxyapatite.



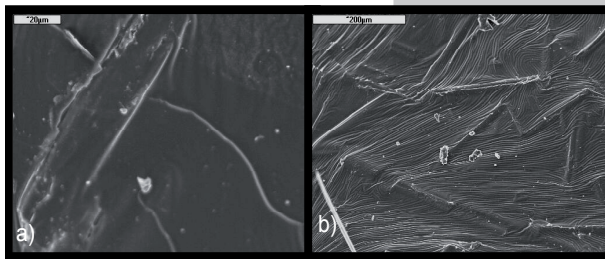
RYS. 3. Folia polimerowa (P) po 3 miesiącach inkubacji (3-a), kompozyt (KHAp) po 3 miesiącach inkubacji w warunkach in vitro (woda/37°C/3 miesiące) (3-b).

FIG. 3. Pure polymer foil (P) (3-a), and samples of composite (KHAp) after 3 months degradation in vitro condition (water/37°C) (3-b).

- poprawę biogodności materiału

Obecność włókien z nanododatkiem wpływa na trwałość materiału polimerowego - szybsza degradacja kompozytu w porównaniu z folią polimerową.

Naświetlanie promieniowaniem UV może prowadzić do zahamowania procesu degradacji zarówno materiału polimerowego jak i materiału kompozytowego.



RYS. 4. Powierzchnia folii polimerowej modyfikowanej UV (PUV) po inkubacji w warunkach in vitro (4-a), mikrostruktura kompozytu z włóknem węglowym (z nanododatkiem HAp) po naświetleniu promieniowaniem UV (KHAp UV) i 3 miesięcznej inkubacji w warunkach in vitro (4-b).

FIG. 4. Microstructure of surface modified UV: pure polymer foil (PUV) (4-a) and composites with nano-Hap (KHAp UV) (4-b) after 3-months incubation (in vitro condition).

The cell tests indicated that the produced composite materials are biocompatible. Incorporation of the fibrous phase containing HAp nano-particles into the polymer matrix leads to better osteoblasts and fibroblasts viability comparing with the pure polymer (FIG.1). The production of collagen type-I produce of bone-tissue cells is the highest at KHAp surface. The activity of cells is low than of a composite with carbon fibers but without a ceramic phase (FIG.2).

SEM/EDS studies

A smooth surface of the polymer foil (P) undergoes a slight creasing after the incubation in water for three months (37°C, FIG.3a). The same effect of the increase in the polymer surface roughness can be observed in case of the UV-

irradiated polymer foil (PUV) after three-month incubation (FIG.4a). Introduction of the carbon fibers containing n-HAp (KHAp) modifies the smooth surface of the foil, and as a result, it imitates the fibers microstructure (FIG.3b). Degradation of the composite surface (irregularities, roughness increase, cracks) is stronger in case of the UV-irradiated composite (KHApUV) (FIG.4b).

Surface investigations

Comparative incubation of the two polymer foils: initial (P), and UV-irradiated (PUV) indicates, that the largest drop in the wetting angle value (higher hydrophilicity) is observed in case of the initial polymer foil surface (P) (FIG.5). Invariable wettability of the PUV foil surface most probably is caused by the inhibition of degradation process, or changes in the process mechanism: from surface to bulk degradation. In case of the composites with carbon fibers (KHAp, KHAp UV), changes in the surface wettability are rather small and independent from the surface modification with UV-irradiation, and they are caused by increase in the surface roughness.

Mechanical tests

Addition of carbon fibers into the polymer matrix does not improve mechanical properties of the material (strain, Young's modulus, strength). The chosen volume fraction of fibers (3% wg.) weakens the composite structure. The carbon fibers act here as a weakening (defects-introducing) phase. The incubation of the composite (KHAp) additionally reduces its strength (FIG.6). Changes in the incubated polymer foil (P) strength were not observed.

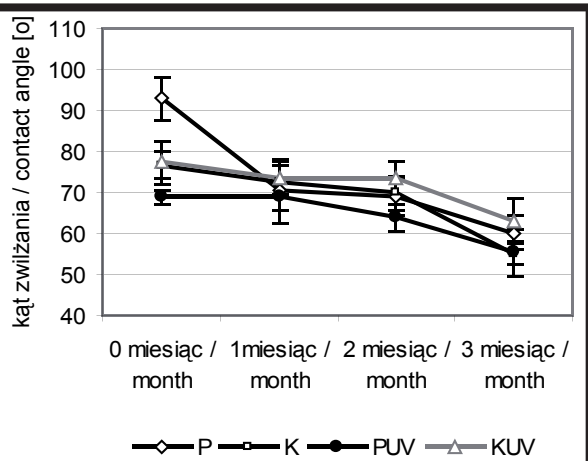
Conclusions

Introduction of the carbon fibers modified with HAp nano-particles into the bioresorbable polymer matrix causes:

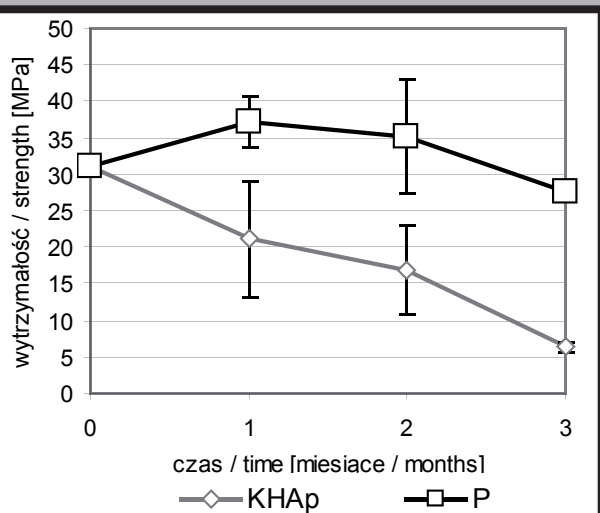
- changes in its surface characteristics i.e. fibers reduce value of the wetting angle (the surface becomes more hydrophilic)
- change in the surface topography (the surface roughness increases)
- improvement of the material biocompatibility

Presence of the fibers containing nano-particles influences stability of the polymer material i.e. faster degradation of the composite material comparing with the polymer foil.

UV-irradiation may lead to inhibition of the degradation process of both, the polymer and the composite material.



RYS. 5. Zmiany kąta zwilżania materiałów kompozytowych i polimerowych w trakcie inkubacji w warunkach in vitro (woda/37°C/3 miesiące).
FIG. 5. Changing of contact angle for composites materials and polymer foil (in vitro condition: water/37°C/3 months).



RYS. 6. Zmiana wytrzymałości folii polimerowej (P) i kompozytu (KHAp) z włóknem węglowym modyfikowanym HAp w trakcie inkubacji w warunkach in vitro.
FIG. 6. Changing strength of polymer foil (P) and composite material modified by bioactive carbon fibres (KHAp) during incubation in in vitro conditions (37°C/water/3 months).

Praca finansowana przez AGH, badania statutowe nr 11.11.160.367.

Piśmiennictwo

- [1] Ying-Ying Shangguana, Ya-Wu Wang, Qiong Wu, Guo-Qiang Chena: The mechanical properties and in vitro biodegradation and biocompatibility of UV-treated poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate), *Biomaterials* 27 (2006) 2349–2357.
- [2] Taizo Furukawa, Yoshitaka Matsusue, Tsunoru Yasunaga, Yasuo Shikinami, Masaki Okuno, Takashi Nakamura: Biodegradation behavior of ultra-high-strength hydroxyapatite/poly (L-lactide) composite rods for internal fixation of bone fractures, *Biomaterials* 21 (2000) 889–898.

WPŁYW FAZY WŁÓKNISTEJ NA DEGRADACJĘ KOMPOZYTOWYCH MATERIAŁÓW MEMBRANOWYCH O ZASTOSOWANIU GBR/GTR

EWA STODOLAK¹, AGNIESZKA WĄTOR¹,
DANUTA WOŁOSKA-CZAPNIK², MARTA BŁAŻEWICZ¹

¹AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

²P OLITECHNIKA ŁÓDZKA, WYDZIAŁ INŻYNIERII I MARKETINGU TEKSTYLÓW, KATEDRA WŁÓKIEN SZTUCZNYCH
UL. ŻEROMSKIEGO 116, 90-543 ŁÓDŹ
E-MAIL: STODOLAK@AGH.EDU.PL

Streszczenie

Celem pracy były wstępne badania nad degradacją materiału kompozytowego wytworzonego z dwóch resorbowalnych materiałów wyjściowych: osnowy polimerowej PL(D/DL)A modyfikowanej biopolimerową fazą włóknistą z nanododatkiem HAp. W pracy zbadano zachowanie się trzech włóknistych materiałów kompozytowych: PL(D/DL)A/ NaAlg+nHAp, PL(D/DL)A/ Ca(Alg)₂+nHAp, PL(D/DL)A/ NaAlg+nHAp /Ca(Alg)₂+nHAp w różnych mediach immersyjnych (SBF, PBS, H₂O). Stan degradacji materiału określano na podstawie pomiarów przewodnictwa jonowego, ubytków masy, zmian kąta zwilżania powierzchni kompozytów. Mikrostrukturę materiałów obserwowano w skaningowym mikroskopie elektronowym. Oceniono wpływ nanocząstek ceramicznych (HAp) na bioaktywność materiałów kompozytowych (EDS).

Słowa kluczowe: kompozyty włókniste, nanokompozyty, GBR, GTR, degradacja polimerów
[Inżynieria Biomateriałów, 61, (2007), 16-20]

Wprowadzenie

Wprowadzenie do osnowy resorbowalnego polimeru fazy włóknistej, której czas degradacji jest różny od czasu degradacji osnowy stanowi nowy rodzaj materiału kompozytowego, w którym kontrolować można czas i szybkość degradacji. Materiały takie znalazły zastosowanie w medycynie jako szczególny typ barier odgraniczających narastanie tkanki łącznej w miejscu defektu kostnego [1,2]. Istotą materiałów kompozytowych stosowanych jako membrany służące do

Acknowledgements

This study was supported by AGH-UST, statute investigation No 11.11.160.367.

References

- [3] Yun Hui Leea, Jong Hoon Leea, In-Gu Ana, Chan Kimb, Doo Sung Leea, Young Kwan Leec, Jae-Do Nama: Electrospun dual-porosity structure and biodegradation morphology of Montmorillonite reinforced PLLA nanocomposite scaffolds, *Biomaterials* 26 (2005) 3165–3172.
- [4] D. Żuchowska, R. Steller: Modyfikacja polimerów-praca zbiorowa; Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, 2005.

THE EFFECT OF A FIBROUS PHASE ON DEGRADATION OF MEMBRANE COMPOSITE MATERIALS FOR GBR/GTR APPLICATIONS

EWA STODOLAK¹, AGNIESZKA WĄTOR¹,
DANUTA WOŁOSKA-CZAPNIK², MARTA BŁAŻEWICZ¹

¹AGH-UST, FACULTY OF MATERIAL SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKOW, POLAND,

²TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, FACULTY OF TEXTILE ENGINEERING AND MARKETING, DEPARTMENT OF MAN MADE FIBERS,
ZEROMSKIEGO STR. 116, 90-543 LODZ, POLAND
E-MAIL: STODOLAK@AGH.EDU.PL

Abstract

The aim of this work was preliminary studies of degradation of a composite material produced from two resorbable materials: polymer matrix PL(D/DL)A modified with a biopolymer fibrous phase with nano-addition of HAp (n-HAp). Three composite fibrous materials were tested using various immersing methods (SBF, PBS, H₂O): PL(D/DL)A / NaAlg+n-HAp, PL(D/DL)A / Ca(Alg)₂+n-HAp, and PL(D/DL)A / NaAlg+n-HAp / Ca(Alg)₂+n-HAp. Degree of degradation of the materials was estimated on the basis of ion conductivity measurements, samples' weight loss, and changes in the wetting angle. Microstructure of the materials was observed using scanning electron microscope. Effect of ceramic nanoparticles (HAp) on bioactivity of the composites was investigated (EDS).

Keywords: fibrous composite, nanocomposite, GBR, GTR, polymer degradation
[Engineering of Biomaterials, 61, (2007), 16-20]

Introduction

Introduction of a fibrous phase into a resorbable polymer matrix, in case when degradation time of both materials is different leads to a new composite material that degradation time and rate can be controlled, which in turn allows better stimulation of a regenerating tissue. Such materials can be applied as a particular barrier which separates ingrowths of connective or epithelial tissue in place of a bone defect [1,2].

sterowanej regeneracji tkanek (GTR), którego szczególnym przypadkiem jest sterowana regeneracja kości (GBR), jest uzyskanie porowatości o rozmiarze dopuszczającym przepływ komórek kostnych przy jednoczesnym zahamowaniu napływu komórek tkanki łącznej (fibroblastów). Drugim wymaganiem, jakie stawia się przed tego rodzaju materiałami jest określony czas degradacji, dopasowany do czasu regeneracji ubytku (niepotrzebna ponowna interwencja chirurgiczna). Z literatury wynika, że materiałami spełniającymi te wymogi są membrany wytworzone z polimerów bioresorbujących o kontrolowanym czasie degradacji [3,4]. Wadą tych materiałów jest słaba integracja z tkanką kostną (spowodowana brakiem bioaktywności) lub możliwość stanów zapalnych spowodowanych produktami degradacji polimeru.

Celem pracy były badania wstępne nad układem kompozytowym złożonym z resorbujących włókien alginianowych zmodyfikowanych nanocząstkami hydroksyapatytu (n-HAp) rozmieszczonych w osnowie resorbowalnego polimeru (kompozyt typu MD). Wprowadzenie włókien alginianowych do matrycy polimerowej miało na celu modyfikację mikrostruktury powierzchni oraz jej stanu energetycznego. Obecność n-HAp winna prowadzić do otrzymania tworzywa implantacyjnego, które w środowisku *in vivo* uwalniać będzie cząstki hydroksyapatytu, stymulujące regenerację tkanki kostnej. Druga część badań dotyczyła degradacji otrzymanych kompozytów w warunkach *in vitro* w różnych cieczach immersyjnych: PBS, SBF, woda/ 3 miesiące/ temp. 37°C.

Materiały i metody

Materiały kompozytowe otrzymano stosując polimer resorbowalny poli(L-laktyd-co-D,L-laktyd) o stosunku merów 80:20 i masie cząsteczkowej M_w 200.000 Da (Boehringer Ingelheim, Germany). Folię polimerową modyfikowano przez wprowadzenie fazy włóknistej w postaci krótkich włókien alginianowych (NaAlg , $\text{Ca}(\text{Alg})_2$) zawierających 3% cząstek nanohydroksyapatytu (Katedra Ceramiki Specjalnej WiMIC, AGH). Włókna biopolimerowe wytworzono w Katedrze Włókien Sztucznych, na Wydziale Inżynierii i Marketingu Tekstyliów Politechniki Łódzkiej. Zastosowano roztwór polimeru o stosunku 1:15 (rozpuszczalnik CH_2Cl_2 , POCh Gliwice). Do osnowy polimerowej wprowadzano 2% objętościowych włókien z alginianu sodu (R2) lub alginianu wapnia (R3) lub alginianu sodu i wapnia w stosunku 1:1 (R3). Jako materiał odniesienia zastosowano folie polimerową (K1).

Zbadano degradację wytworzonych materiałów kompozytowych inkubowanych w warunkach *in vitro* (37°C/3m-ce) w wodzie, w buforze fosforanowym (PBS) i w stymulowanym osoczu (SBF). Stopień degradacji kompozytów monitorowano pomiarem przewodnictwa (konduktometr CC-315, EPS-2 ZE) i ubytkiem masy. Mikrostrukturę powierzchni określono przy pomocy obserwacji w mikroskopie skaningowym (SEM JSM – 5400, Joel). Zmiany powierzchni w trakcie inkubacji diagnozowano metodą pomiarów kąta zwilżania (DSA 10 Kruss, Niemcy). Bioaktywność powierzchni otrzymanych materiałów kompozytowych określono na podstawie mikroanalizy rentgenowskiej (EDS).

Wyniki i dyskusja

Degradacja materiałów kompozytowych

Niezależnie od rodzaju fazy włóknistej (NaAlg , $\text{Ca}(\text{Alg})_2$, $\text{NaAlg}+\text{Ca}(\text{Alg})_2$) wprowadzonej do matrycy polimerowej, wszystkie materiały kompozytowe (R2, R3, R4) ulegają degradacji w trakcie inkubacji w mediach (RYS.1). Największym ubytkiem masy charakteryzuje się kompozyt

Nowadays, most researches in the field of tissue regeneration techniques are concentrated on composite materials. They can be applied in the guided bone regeneration technique (GBR) in the form of membranes which pores allow the flow of bone tissue cells, with simultaneous hindering of the inflow of connective tissue cells (fibroblasts). Another requirement for such materials is a definite time of degradation, adjusted to a regeneration time of a bone defect (no need for resurgery). It is known, that materials which fulfil the requirements are membranes fabricated from bioresorbable polymers with controlled degradation time [3,4]. The disadvantages of the polymer membranes are their weak integration with bone tissue (caused by their lack of bioactivity), or possibility of occurrence of inflammations caused by the polymer degradation products.

The aim of the work was the preliminary studies of a composite material consisting of resorbable alginate fibers modified with hydroxyapatite nano-particles (n-HAp) distributed in a resorbable polymer matrix (MD-type composite). Introduction of the alginate fibers into the polymer matrix tended towards modification of microstructure and surface free energy of the composite. Presence of n-HAp should lead to production of an implant material which in *in vivo* conditions release hydroxyapatite particles, stimulating regeneration of the bone tissue. The second part of the studies concerned degradation of the produced composites in *in vitro* conditions in various immersing liquids such as: PBS, SBF, water/3 months/37°C.

Materials and methods

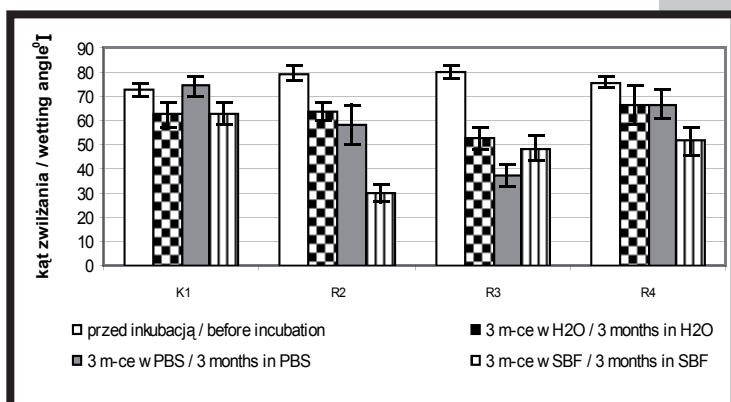
Composite materials were produced from resorbable polymer poly(L-lactide-co-D,L-lactide) with 80:20 mer ratio and molecular weight (M_w) 200.00 Da (Boehringer Ingelheim).

Polymer foil was modified with short alginate fibers (NaAlg , $\text{Ca}(\text{Alg})_2$) containing 3 wt. % nano-hydroxyapatite (AGH-University of Science and Technology, Faculty of Materials Science and Ceramics, Department of Special Ceramics, Krakow, Poland). The biopolymer fibers were produced in Institute of Man Made Fibers, Faculty of Textile Engineering and Marketing, Technical University of Lodz, Poland. Polymer solution with ratio 1:15 (solvent CH_2Cl_2 , POCh, Gliwice) was used. The polymer matrix contained 2 vol.% of fibers made of: sodium alginate (R2), calcium alginate (R3), or sodium alginate and calcium alginate in 1:1 ratio (R4). The polymer foil was used (K1) as a reference material. Degradation of the composite materials incubated in *in vitro* conditions in water, in phosphate buffer (PBS), and in simulated body fluid (SBF) was investigated. Degree of degradation of the composites was monitored by means of conductivity measurement of the immersing liquids (conductivity-meter, CC-315, EPS-2 ZE) and samples' weight loss. Microstructure of the surface was observed using scanning electron microscope (SEM JSM-5400, Joel). Changes in the surface during incubation were determined by the wetting angle measurements (DSA 10, Kruss). The surface bioactivity of the composite materials was evaluated using X-Ray microanalysis (EDS-SEM JSM-5400, Joel).

Results and discussions

Degradation of the composite materials

Irrespective of type of the fibrous phase (NaAlg , $\text{Ca}(\text{Alg})_2$, $\text{NaAlg}+\text{Ca}(\text{Alg})_2$) introduced into the polymer matrix, all composite materials (R2, R3, R4) undergo degradation during incubation in the immersing media (FIG.1). The maximum mass loss is observed in case of R2 composite, which is



RYS. 1. Zmiany masy próbek kompozytowych po 3 miesiącach inkubacji w różnych cieczach immersyjnych woda, PBS, SBF (warunki in vitro 37°C/3 miesiące).

FIG. 1. Changing of mass composites samples (R2, R3, R4) and polymer foil (K) after 3 months immersion in different liquid: water, PBS, SBF (in vitro condition 37°C/3 months).

R2, w związku z rozpuszczaniem i wypłukiwaniem włókien NaAlg + 3% n-HAp z osnowy polimerowej (największa zmiana przewodnictwa wody w pierwszych 4 dniach inkubacji, RYS.2). Najmniejszy spadek masy wykazuje kompozyt R3 (gdzie fazą włóknistą jest $\text{Ca}(\text{Alg})_2$). Wiąże się to z niską rozpuszczalnością soli alginianu wapnia w wodzie. Degradacja fazy włóknistej w roztworach takich jak PBS i SBF uzależniona jest od obecności jonów chlorkowych (Cl^-). Ich obecność w roztworach wodnych przyspiesza rozpuszczalność włókien z soli alginianu sodu i obniża rozpuszczalność soli alginianu wapnia. W symulowanym osoczu (SBF) obok jonów chloru występują również jony wapnia, które wpływają na ograniczenie rozpuszczalności zarówno alginianu sodu i wapnia (stąd niewielkie ubytki masy kompozytu R4 i R3).

Zwilżalność powierzchni

Hydrofilowość powierzchni folii polimerowej rośnie po wprowadzeniu do niej fazy włóknistej względem folii polimerowej (K1). Inkubacja materiałów kompozytowych wpływa na obniżenie kąta zwilżania, a jej spadek uzależniony jest od rodzaju wprowadzonych włókien biopolimerowych. Włókna z alginianu sodu wyekspozowane na powierzchni kompozytu wypłukując się z matrycy polimerowej (inkubacja w SBF, PBS) modyfikują jego powierzchnię obniżając kąt zwilżania kompozytów oznaczonych jako R2 i R4 (RYS.3).

SEM/EDS

Wprowadzenie fazy włóknistej powoduje nieznaczny wzrost chropowatości powierzchni (RYS.4a i 5a). Zawarte we włóknach biopolimeru nanocząsteczki HAp wpływają na bioaktywność powierzchni materiałów kompozytowych. Analiza EDS składu pierwiastkowego w materiale oznaczonym symbolem R2, (3 tyg./SBF) wskazała na obecność pierwiastków takich jak węgiel, fosfor oraz wapń występujących w apatycie (RYS.4b). Ten sam skład pierwiastkowy stwierdzono na odsłoniętych włóknach $\text{Ca}(\text{Alg})_2+3\%\text{Hap}$ znajdujących się na powierzchni kompozytu R4 (4 tyg./SBF) (RYS.5b). Włókna z alginianu sodu (R2) rozpuszczając się w warunkach in vitro odpowiadają za powstawanie w litym materiale porów o rozmiarach 1-1.5 μm , widocznych pod mikroskopem.

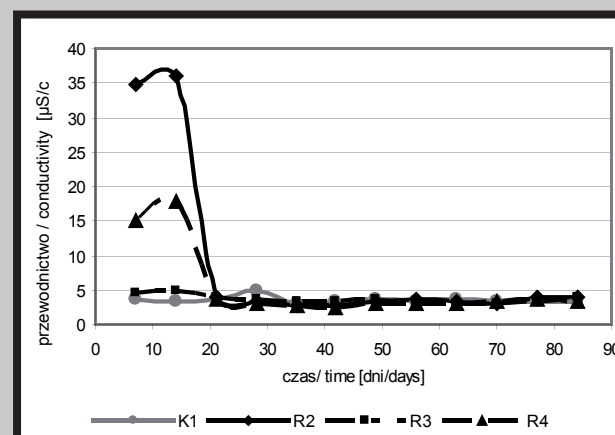
Wnioski

Wprowadzenie do osnowy z bioresorbowalnego polimeru włókien alginianowych modyfikowanych hydroksyapatytem wpływa na proces degradacji materiału kompozytowego.

related to dissolving and washing out of NaAlg +3% n-HAp fibers from the polymer matrix (the maximum change of the water conductivity during first four days of incubation, FIG.2). The minimum weight loss occurred in case of R3 composite (containing $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ fibers), which can be related to low solubility of calcium alginate in water. Degradation of the fibrous phase in such media as PBS and SBF depends on the presence of chloride ions (Cl^-). In water solutions, their presence increases solubility of NaAlg, and decreases solubility of $\text{Ca}(\text{Alg})_2$. In simulated body fluid (SBF), apart from chloride ions also calcium ions are present, which decrease solubility of both sodium and calcium alginate (thus slight weight loss determined in R3 and R4 composites)

Wettability of the surface

Hydrophobicity of the surface of the polymer foil (K1) increases after introduction of the fibrous phase. Incubation of the composite materials lowers the wetting angle, and degree of the change depends on the type of introduced biopolymer fibers. NaAlg fibers exposed on the composite surface washing out from the polymer matrix (SBF, and PBS incubation) modify its surface and lowering the wetting angle of R2 and R4 composites (FIG.3).



RYS. 2. Zmiany przewodnictwa jonowego wody w trakcie inkubacji materiałów kompozytowych: R2, R3, R4.

FIG. 2. Changing of ion conductivity for composites samples: R2, R3, R4 during immersion in water (37°C/3 months).

SEM/EDS

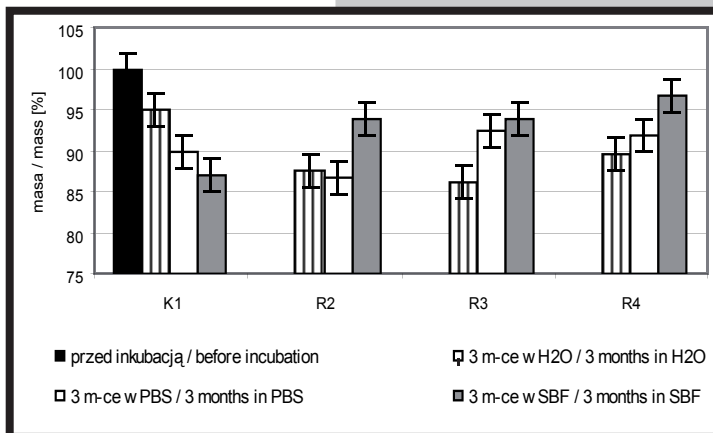
Introduction of the fibrous phase causes slight increase of the surface roughness (FIG.4a, and 5a). Nano-particles of HAp embedded in the biopolymer fibers effect bioactivity of the surface of the composite materials. Chemical composition analysis (EDS) of R2 material (SBF/3 weeks) revealed carbon, phosphor and calcium which are present in apatite (FIG.4b). The same elemental composition was determined at $\text{Ca}(\text{Alg})_2+3\%\text{n-HAp}$ fibers exposed at the surface of R4 composite (SBF/4 weeks) (FIG.5b). NaAlg fibers (R2) dissolving in in vitro conditions are responsible for creation of pores in the bulk material. Their size is 1–1.5 μm , and they can be observed using microscope.

Conclusions

Introduction of the alginate fibers modified with hydroxyapatite into the bioresorbable polymer matrix influences degradation process of the composite material. Presence of the resorbable fibrous phase may accelerate degradation

Obecność resorbowalnej fazy włóknistej może przyspieszać proces degradacji materiału (kompozyt z włóknem NaAlg) lub też opóźnić go (kompozyt z włóknem $\text{Ca}(\text{Alg})_2$). Tempo degradacji zależy także od składu jonowego medium inkubacyjnego - obecności jonów Cl^- , Ca^{2+} , które z jednej strony mogą przyspieszać proces degradacji (jony Cl^- na NaAlg) lub mogą go hamować (jony Ca^{2+}). Ich obecność wpływa na poprawę bioaktywności powierzchni kompozytu (powstawanie struktur apatytowych).

Otrzymane materiały kompozytowe wymagają dalszych badań pozwalających na uzyskanie tą drogą materiałów porowatych o kontrolowanym czasie degradacji i możliwości zastosowania ich w technikach GTR/GBR.

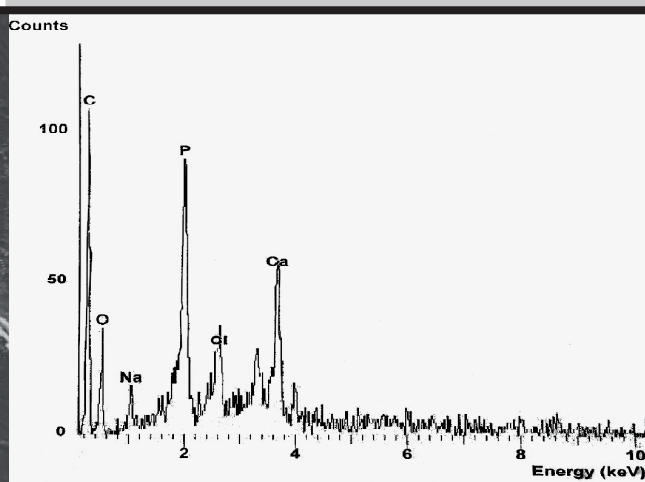
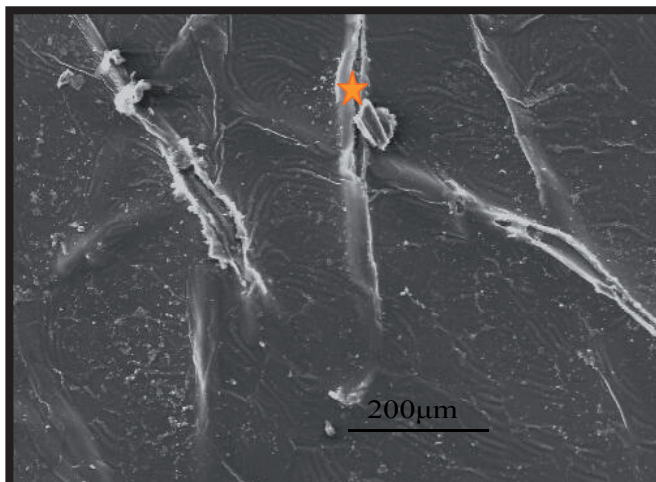


RYS. 3. Zmiana kąta zwilżania materiałów kompozytowych i folii polimerowej w trakcie inkubacji (SBF, PBS, H₂O w warunkach sztucznego środowiska).

FIG. 3. Changing of contact angle for composites materials (R2, R3, R4) and polymer foil (K) after immersion in: water, PBS, SBF (in vitro condition: 37°C/3 months).

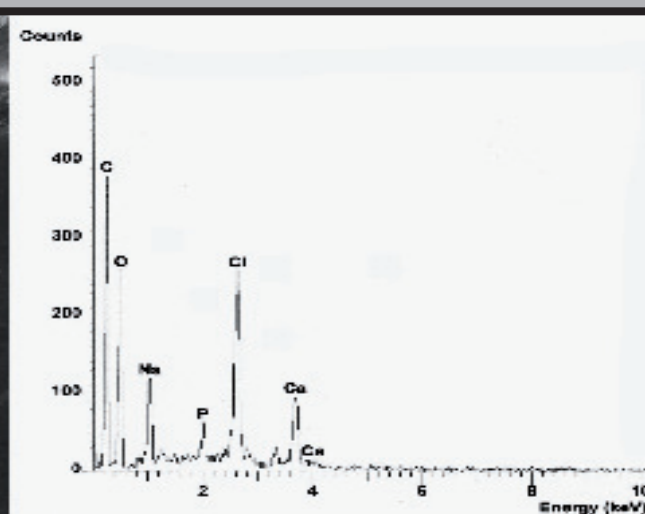
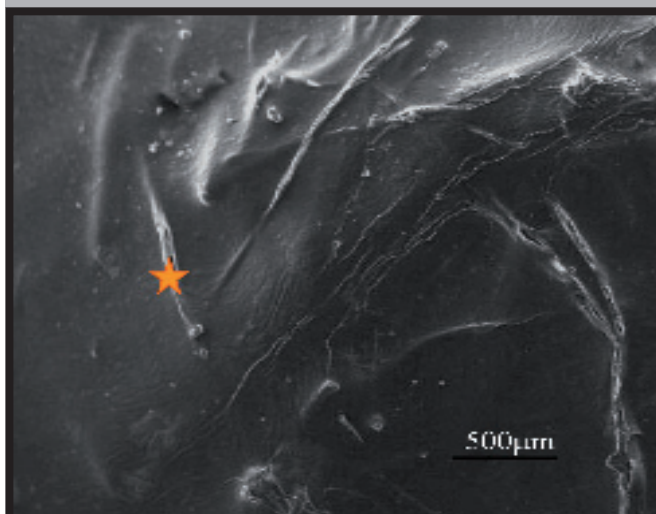
process of the material (NaAlg-fiber composite), or retard the degradation process ($\text{Ca}(\text{Alg})_2$ -fiber composite). The degradation rate also depends on the ionic composition of the incubating medium i.e. presence of Cl^- and Ca^{2+} , which can accelerate (Cl^- and NaAlg), or retard (Ca^{2+}) the degradation process. Their presence improves bioactivity of the composite surface (formation of apatite structures). The produced composite materials require further investigations which would lead to fabrication of porous materials with a controlled degradation

time, and possible application in GTR/GBR techniques.



RYS. 4. Powierzchnia kompozytu R2 (modyfikowanego włóknem alginianowym NaAlg+3% nHAp) po 3 miesiącach inkubacji (SBF). Widmo EDS z składem pierwiastkowym odpowiadającym strukturom apatytowym.

FIG. 4. Microphotograph of composite surface R2 (modified by alginate fibres with 3% nHAp) after 3 months incubation in SBF. EDS spectrum with chemical analysis correspond to apatite structure.



RYS. 5. Powierzchnia kompozytu R3 (modyfikowanego włóknem alginianowym $\text{Ca}(\text{Alg})_2$ +3% HAp) po 4 tygodniach inkubacji (SBF). Widmo EDS z składem pierwiastkowym odpowiadającym strukturom apatytowym.

FIG. 5. SEM microphotograph of composite surface R3 (modified by calcium alginate fibres with 3% nHAp) after 4 weeks incubation in SBF. EDS spectrum with chemical analysis correspond to apatite structure.

Praca finansowana przez AGH, badania statutowe nr 11.11.160.367.

Piśmiennictwo

- [1] Kikuchi, Masanori; Koyama, Yoshihisa; Yamada, Takeki; Imamura, Yukari; Okada, Takao; Shirahama, Noriaki; et. al. Development of guided bone regeneration membrane composed of b-tricalcium phosphate and poly (l-lactide-co-glycolide-co-?-caprolactone) composites; *Biomaterials* Volume: 25, Issue: 28, December, 2004, pp. 5979-5986
- [2] Fujihara, K.; Kotaki, M.; Ramakrishna, S.; Guided bone regeneration membrane made of polycaprolactone/calcium carbonate composite nano-fibers, *Biomaterials* Volume: 26, Issue: 19, July, 2005, pp. 4139-4147

POLIMERY MODYFIKOWANE NANORURKAMI DLA CELÓW MEDYCZNYCH

Jan Chłopek, Barbara Szaraniec

AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW
E-MAIL: CHLOPEK@AGH.EDU.PL

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań kompozytów o osnowach z polimeru resorbowalnego PLGA oraz z polimeru biostabilnego PSU modyfikowanych nanorurkami. W badaniach mechanicznych określano ich wytrzymałość na rozciąganie oraz moduł Younga. Kompozyty o osnowie z PLGA inkubowano w płynie Ringera i na podstawie obserwacji mikroskopowych, pomiarów pH płynu oraz pomiarów właściwości mechanicznych oceniano ich zachowanie „in vitro”. Badania mechaniczne nie wykazały dla żadnego z kompozytów poprawy wytrzymałości w odniesieniu do czystych polimerów, a ocena w warunkach „in vitro” wskazuje na przyspieszoną degradację PLGA modyfikowanego nanorurkami, jednak przy równocześnie mniej gwałtownym pogarszaniu się parametrów mechanicznych.

[*Inżynieria Biomateriałów, 61, (2007), 20-23*]

Wprowadzenie

Nanorurki węglowe dzięki swojej budowie oraz doskonałym właściwościom elektrycznym i mechanicznym są coraz częściej brane pod uwagę jako potencjalny materiał do zastosowań medycznych. Podobnie jak inne włókniste materiały węglowe mogą z powodzeniem być wykorzystane w konstruowaniu podłoży dla regeneracji tkanek, nośników leków czy też biosensorów [1,2].

Dotychczas przeprowadzone badania biogodności nanorurek nie są jednoznaczne, lecz wiele z nich przemawia za możliwością zastosowania takiej formy węgla w implantach medycznych. Badania komórkowe, opisane w publikacji [3] obejmujące badania żywotności komórek oraz ich zdolność do syntezy kolagenu IL-6 i wolnych rodników tlenowych wskazują na biogodność nanorurek węglowych z fibroblastami, osteoblastami i makrofagami, a tym samym zachęcają do dalszych badań aplikacyjnych.

Acknowledgements

This study was supported by AGH-UST, statute investigation No 11.11.160.367.

References

- [3] Gogolewski S.; Pineda L.; Michael Büsing C.; Bone regeneration in segmental defects with resorbable polymeric membranes: IV. Does the polymer chemical composition affect the healing process?, *Biomaterials* Volume: 21, Issue: 24, December 15, 2000, pp. 2513-2520
- [4] Hirota M., Toshihiro K., Larry L. Hench, Preparation of poly(L-lactic acid)-polysiloxane-calcium carbonate hybrid membranes for guided bone regeneration, *Biomaterials* 27, 2006, pp1216-1222

POLYMERS MODIFIED WITH NANOTUBES FOR MEDICAL APPLICATIONS

JAN CHŁOPEK, BARBARA SZARANIEC

AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLAND,
E-MAIL: CHLOPEK@AGH.EDU.PL

Abstract

The results are reported on investigation of composites with matrix from resorbable polymer PLGA and biostable polymer PSU modified with nanotubes. Tensile strength and Young's modulus of composites were determined in mechanical tests. Composites with PLGA matrix were incubated in Ringer solution and based on microscopic observations, measurements of conductivity and pH of the solution and mechanical tests, their „in vitro” behaviour has been evaluated. Composite's samples showed no changes in mechanical properties while comparing with pure polymers samples. On the contrary results after „in vitro” experiments indicate the fact that degradation of samples PLGA modified by nanotubes is faster than in pure polymer. Also it is accompanied by less rapid deterioration of mechanical properties.

[*Engineering of Biomaterials, 61, (2007), 20-23*]

Introduction

Carbon nanotubes, thank for their construction and excellent electrical and mechanical properties, more often are taken under consideration as potential material for medical applications. Alike other carbon fibrous materials can be implemented successfully in constructing scaffolds for tissues regeneration, drug delivery systems as well as biosensors [1,2].

Until now researches on nanotubes biocompatibility are not unequivocal, nevertheless some of results are supporting the possibility to use this form of carbon in medical implants. Results of cellular research published in article [3], covered the following area: cellular viability, cellular capacity in collagen IL-6 and oxygen free radicals synthesis, indicate biocompatibility of nanotubes with fibroblasts, osteoblasts and macrophages. Therefore these results encourage to further studies on that topic. Very good mechanical prop-

Bardzo dobre właściwości mechaniczne oraz zdolność do obróbki powierzchniowej i tworzenia grup funkcyjnych stwarza dobre podstawy do otrzymywania materiałów kompozytowych. W przypadku zastosowań medycznych szczególnie istotna jest możliwość tworzenia kompozytów z osnowami polimerowymi zarówno biostabilnymi /polisulfon, PEEK/ jak i resorbowanymi /PLA, PGLA/. W perspektywie umożliwia to konstruowanie wielofunkcyjnych implantów, przydatnych w różnych dziedzinach medycyny.

Materiały i metody

Otrzymano dwa rodzaje kompozytów: jeden z polimeru biostabilnego, drugi z polimeru resorbowalnego w postaci cienkich błonek modyfikowanych nanorurkami. Na osnowę biostabilną zastosowano polisulfon PSU - produkcji Aldrich Chemical Company, Inc. USA, o masie cząsteczkowej $M=26.000$, temperaturze zeszczenia $T_g=190^\circ\text{C}$ i gęstości $d=1.24$ $[\text{g}/\text{cm}^3]$. Osnowę resorbowalną stanowił zaś kopolimer L-laktydu (83%) z glikolidem (17%) PLGA o masie cząsteczkowej $M=75.000$ - produkcji Centrum Chemii Polimerów PAN w Zabrze [4].

Nanorurki węglowe, którymi modyfikowano polimery były nanorurkami wielościennymi (MWNTs) o wysokiej czystości (niskiej zawartości magnezu i kobaltu) - produkcji CRMD, CNRS - University we Francji [5]. Mikrofotografie nanorurek przedstawiono na RYS.1.

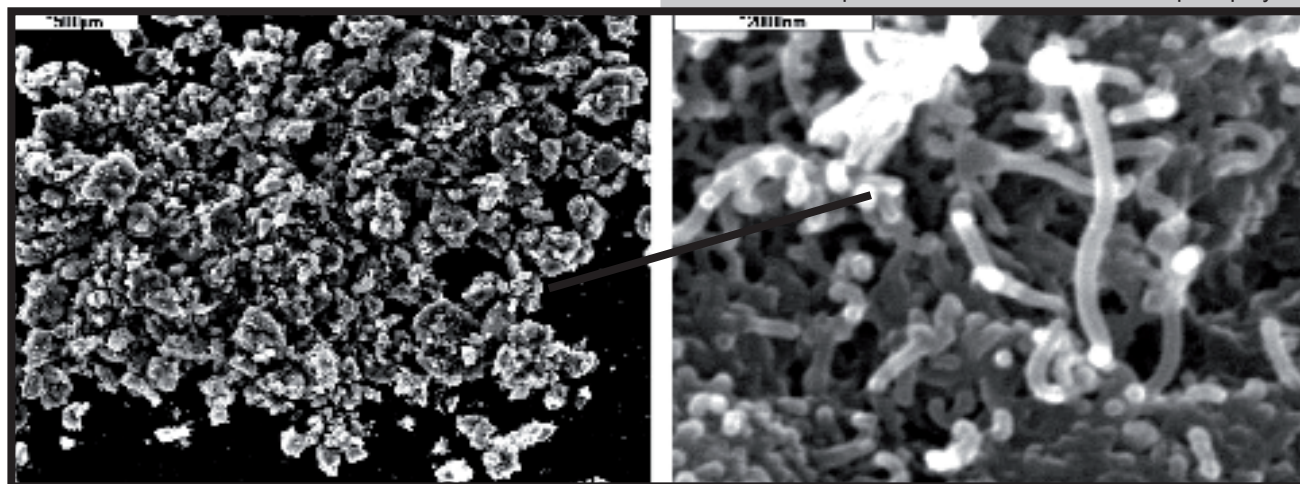
Błonki kompozytowe otrzymywano metodą odlewania (na szalkach Petriego) rozpuszczonych w chlorku metylenu (CH_2Cl_2) polimerów, które następnie pokrywano nanorurkami w stosunku wagowym (1:10). Jako próbki odniesienia wykonano błonki z czystego PSU i z czystego PLGA. Mikrofotografie otrzymanych błonek kompozytowych przedstawia RYS.2.

W przypadku kompozytów o osnowie z polimeru resorbowalnego (PLGA + nanorurki) przeprowadzono badania ich resorpcji w sztucznym środowisku biologicznym.

Próbki inkubowano przez 8 miesięcy w płynie Ringera o następującym składzie jonowym: Na^+ - 147,46 $[\text{mmol}/\text{l}]$, K^+ - 4,02 $[\text{mmol}/\text{l}]$, Ca^{2+} - 2,19 $[\text{mmol}/\text{l}]$, Cl^- - 155,56 $[\text{mmol}/\text{l}]$ w temp. $37\pm 1^\circ\text{C}$.

Co miesiąc mierzono pH płynu, przeprowadzano obserwacje mikroskopowe powierzchni błonek (mikroskop elektronowy Jeol JSM-5400) oraz na uniwersalnej maszynie wytrzymałościowej Zwick 1435 badano ich wytrzymałość na rozciąganie i moduł Younga.

Dla kompozytów z osnową biostabilną z PSU przeprowadzono jedynie badania wytrzymałościowe.



RYS. 1. Mikrofotografie stosowanych nanorurek (SEM, 50x i 2000x).

FIG. 1. Microphotographs of applied nanotubes (SEM, 50x and 2000x).

erties, suitability to surface treatment and ability to create functional groups are being a good basis to obtain composites. In case of medical application opportunities in creation of composites' with either biostable /polysulphon, PEEK/ or resorbable polymer structure are particularly important. In further perspective construction of multifunctional implants suitable for different medical implementation is enabled.

Materials and methods

Two kinds of composites were obtained: first composite from biostable polymer, second from resorbable polymer in shape of thin film modified with nanotubes. As a biostable matrix polysulphon PSU (Aldrich Chemical Company Inc. USA, $M=26.000$, $T_g=190^\circ\text{C}$, density $d=1.24$ $[\text{g}/\text{cm}^3]$) was used. L- lactide (83%) and glycolide (17%) copolymer PLGA [4] Centre of Polymer Chemistry PAN in Zabrze, $M=75.000$ was resorbable matrix.

High purity polyhedral carbon nanotubes (MWNTs) (small content of Co, Mg) by [CRMD, CNRS - University France [5] were applied to polymers as modifying phase. FIG. 1 shows SEM microphotographs of the nanotubes.

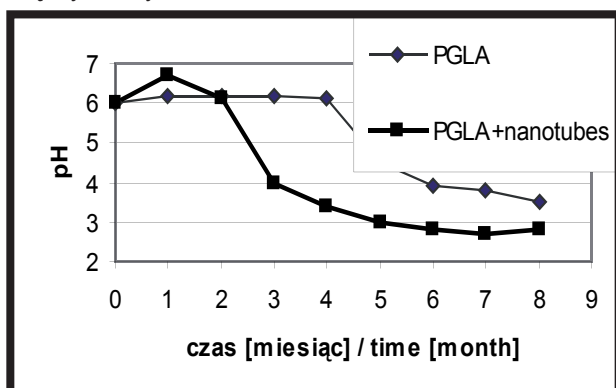
Composites' films were obtained by casting solutions on Petri dishes. Casted solution was polymer dissolved in methylene chloride (CH_2Cl_2). Films prepared in that way were covered with nanotubes at weight ratio (1:10). Pure PSU and pure PLGA films were made as reference samples. SEM images of composites' films are shown in FIG.2.

Research on composites with matrix from resorbable polymer (PLGA+nanotubes) was carried out in order to investigate their resorption in artificial biological environment. Samples were incubated in Ringer solution: Na^+ - 147,46 $[\text{mmol}/\text{l}]$, K^+ - 4,02 $[\text{mmol}/\text{l}]$, Ca^{2+} - 2,19 $[\text{mmol}/\text{l}]$, Cl^- - 155,56 $[\text{mmol}/\text{l}]$ at temp. $37\pm 1^\circ\text{C}$ for 8 months. Every month pH of the solution was measured, film's surface was observed in SEM microscope (Jeol JSM-5400) and mechanical properties of samples were examined using the universal testing machine (Zwick 1435). For composites with biostable matrix with PSU only mechanical tests were carried.

Results and discussions

pH changes in Ringer solution, in which samples were incubated, are showed on FIG.3. There were no pH changes during first two months, not only for the solution with pure PLGA but also in the one with nanotubes. In samples with nanotubes (PLGA+nanotubes) significant decrease of pH (pH rising to 4) is visible in the third month of incubation process. A similar phenomenon is observed in the pure polymer

Zmiany pH płynu Ringera, w którym inkubowano próbki przedstawiono na RYS.3. Przez pierwsze dwa miesiące oba materiały, zarówno czysty PLGA jak i z dodatkiem nanorurek nie powodują zakwaszenia środowiska. Dla kompozytu modyfikowanego nanorurkami (PLGA+nanorurki) w trzecim miesiącu inkubacji widoczny jest bardzo gwałtowny spadek pH (do poziomu pH=4). Dla czystego polimeru analogiczne zjawisko obserwuje się dwa miesiące później. Na tej podstawie można, więc wnioskować, że nanorurki modyfikujące polimer przyspieszają jego resorpcję. Efekt ten jest wyraźniejszy w przypadku nanorurek w porównaniu do dodatków o większych rozmiarach [6], co można wiązać z ich dużym rozwinięciem powierzchni i znacznym wzrostem granic międzyfazowych.



RYS. 3. Zmiany pH płynu Ringera w funkcji czasu inkubacji próbek PLGA i PLGA modyfikowane nanorurkami.

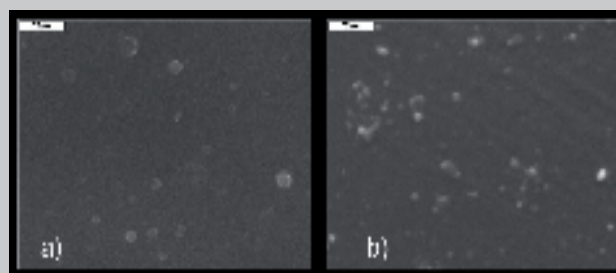
FIG. 3. pH changes of Ringer solution versus incubations' time of samples: PLGA and PLGA modified by nanotubes.

Również obserwacje mikroskopowe potwierdzają szybszą resorpcję kompozytu (RYS.4).

W pierwszych miesiącach inkubacji na powierzchni kompozytu PLGA+nanorurki obserwuje się niewielkie zmiany o charakterze uwypukleń w miejscach kontaktu polimeru z nanorurkami. Po 6 miesiącach inkubacji resorpcja polimeru jest już zaawansowana i uwidacznia się znaczna ilość odsłoniętych nanorurek. W kolejnych miesiącach wraz z postępującą resorpcją osnowy pojawia się ich coraz więcej.

Przeprowadzone badania mechaniczne (TAB.1) wykazały, że wprowadzenie nanorurek w ilości ok. 10% wag. zarówno do polisulfonu jak i PLGA nie spowodowało podniesienia ich wytrzymałości na rozciąganie, a w przypadku osnowy z PLGA obserwuje się nawet znaczne obniżenie tego parametru. W obu przypadkach moduł Younga również nie ulega znaczącym zmianom.

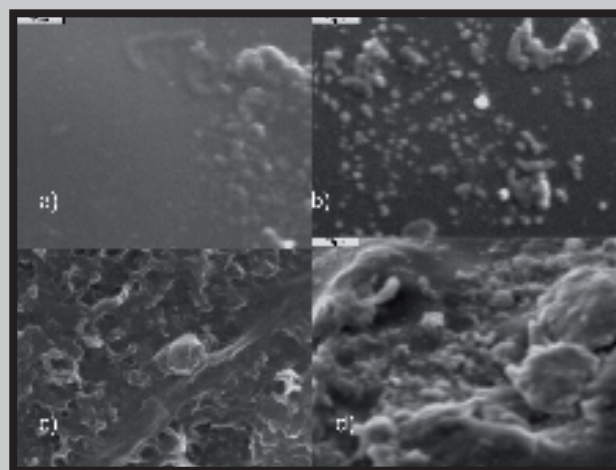
Porównując zmiany właściwości mechanicznych PLGA i PLGA modyfikowanego nanorurkami podczas inkubacji (RYS.5) wykazano, że spadek wytrzymałości jest gwałtowniejszy w czasie dla czystego polimeru.



RYS. 2. Mikrofotografie SEM błonek kompozytowych: a) PSU+nanorurki, b) PGLA+nanorurki.
FIG. 2. SEM microphotographs of composites' foils: a) PSU+nanotubes, b) PGLA+nanotubes.

sample two months later. It might be concluded that addition of nanotubes to polymer trigger acceleration in resorption process. This effect is far stronger in case of nanotubes than in samples with bigger particles. The reason of that may be connected with nanotubes surface development and considerable increasing of interface boundary [6].

Faster resorption of composite is confirmed also by microscopic observations (FIG.4).



RYS. 4. Zmiany na powierzchni kompozytu PLGA + nanorurki po różnym okresie inkubacji w płynie Ringera:

a) 1, b) 3, c) 6, d) 8 miesięcy.

FIG. 4. Changes on the surface of composite PLGA + nanotubes after different time of incubation in Ringer solution: a) 1, b) 3, c) 6, d) 8 months.

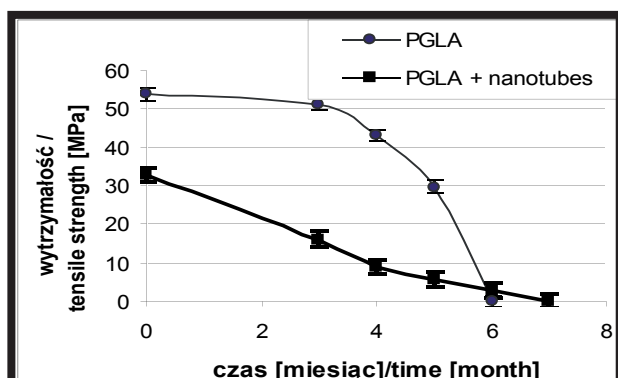
During the first months of incubation on the surface of composite PLGA+nanotubes only insignificant changes can be seen. These changes are in shape of bulges in area of polymer-composite contact. After 6 months of incubation polymer resorption was very advanced and it was demonstrated by many uncovered nanotubes. Then in next months areas of uncovered nanotubes were growing as well as resorption proceed.

Mechanical research (TAB.1) implied that implementation of 10 mas.% of nanotubes did not increase their tensile strength for both types of samples - with polysulphon and PLGA. On contrary, in PLGA matrix this parameter is visibly decreasing. Young's modulus in both cases is remaining the same.

Comparing changes in mechanical properties of samples PLGA i PLGA modified by nanotubes during incubation period (FIG.5) it is visible that decreasing of strength versus time is more rapid for pure polymer.

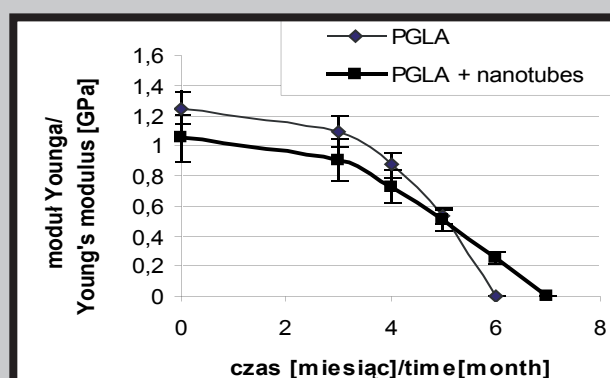
Materiał Material	PLGA	PLGA+nanorurki PLGA+nanotubes	PSU	PSU+nanorurki PSU+nanotubes
σ [MPa]	53,7 ± 1,5	32,9 ± 2,5	51,5 ± 6,5	52,8 ± 3,4
E [GPa]	1,3 ± 0,2	1,1 ± 0,3	1,5 ± 0,2	1,7 ± 0,2

TABELA 1. Wytrzymałość na rozciąganie oraz moduł Younga błonek polimerowych i kompozytowych.
TABLE 1. Tensile strength and Young's modulus of polymer and composite films.



RYS. 5. Wytrzymałość na rozciąganie błonek z PLGA i z kompozytu PLGA + nanorurki po inkubacji w płynie Ringera.

FIG. 5. Tensile strength of PLGA and PLGA + nanotubes composites after incubation in Ringer solution.



RYS. 6. Moduł Younga błonek z PLGA i z kompozytu PLGA + nanorurki po inkubacji w płynie Ringera.

FIG. 6. Young's modulus of PLGA and PLGA + nanotubes composites after incubation in Ringer solution.

Wnioski

1. Dodatek nanorurek do polimerów resorbowalnych zmienia ich właściwości mechaniczne i czas resorpcji.
2. Dodatek nanorurek przyspiesza resorpcję polimeru co może być związane z obecnością silnie rozwiniętych granic rozdziału faz polimer-nanorurki.
3. Wprowadzenie 10 % wag. nanorurek do biostabilnego polisulfonu nie poprawia jego właściwości mechanicznych. W przypadku PLGA obserwuje się obniżenie wytrzymałości. Dodatek nanorurek opóźnia jednak proces spadku wytrzymałości kompozytu w stosunku do czystego polimeru.

Podziękowania

Praca finansowana przez AGH, badania statutowe nr 11.11.160.367.

Conclusions

1. Mechanical properties and resorption time are changed by nanotubes implementation to resorbable polymers.
2. Presence of nanotubes may accelerate polymers' resorption because of strongly developed interface boundary polymer-nanotubes.
3. Implementation of 10 % mas. nanotubes into biostable polysulphon are not changing its mechanical properties. In case of PLGA decrease of strength is observed. Nevertheless the presence of nanotubes delay the decrease of strength in comparison to pure polymer.

Acknowledgements

This study was supported by AGH-UST, statute investigation No 11.11.160.367.

Piśmiennictwo

- [1] Harrison B. S., Atala A.: Carbon nanotube applications for tissue engineering. *Biomaterials* 28 (2007) 344–353.
- [2] Singh R., Pantarotto D., McCarthy D., Chaloin O., Hoebeke J., Partidos C.D., et al. Binding and condensation of plasmid DNA onto functionalized carbon nanotubes: toward the construction of nanotube-based gene delivery vectors. *J Am Chem Soc* 127 (12), 2005, 4388–4396.
- [3] Chłopek J., Czajkowska B., Szaraniec B., Frackowiak E., Szostak K., Beguin F.: In vitro studies of carbon nanotubes biocompatibility. *Carbon* 44, 2006, 1106–1111.

References

- [4] Pamuła E., Chłopek J., Błażewicz M., Makinen K., Dobrzyński P., Kasperczyk J., Bero M.: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktyd dla celów medycznych. *Inżynieria Biomateriałów* 12 (2000), 23-28.
- [5] Delpeux S., Szostak K., Frackowiak E., Bonnamy S., Beguin F.: High yield of pure multiwalled carbon nanotubes from the catalytic decomposition of acetylene on in situ formed cobalt nanoparticles. *J Nanosci Nanotech* 2002;2:481–4.
- [6] Chłopek J., Morawska A., Umańska L., Paluszkiwicz C.: Badanie procesu degradacji kompozytów z polimerów resorbowalnych w warunkach in vitro. *Inżynieria Biomateriałów* nr 38–42, 2004, 132–136.

WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE GĘSTW HYDROKSYAPATYTOWYCH PRZEZNACZONYCH DO WYTWARZANIA WYSOKOPOROWATYCH IMPLANTÓW KOSTNYCH METODĄ ODWZOROWANIA PIANEK POLIURETANOWYCH

ANNA ŚLÓSARCZYK, ZOFIA PASZKIEWICZ, AGNIESZKA PITAK

KATEDRA TECHNOLOGII CERAMIKI I MATERIAŁÓW OGNIOTRWAŁYCH
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI
AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA, KRAKÓW

Streszczenie

Wytworzono gęstwy ceramiczne zawierające 68% wag, proszku hydroksyapatytowego oraz Dispex A-40 lub Dolapix PC67 jako upłynniacze jak też poli(alkohol winylowy) lub metylocelulozę jako spoiwa. Zbadano właściwości reologiczne tych mas. Określono wpływ dodatków na charakter krzywych płynięcia, lepkość oraz tiksotropię gęstw.

[Inżynieria Biomateriałów, 61, (2007), 24-30]

Wstęp

Bioceramika oparta o fosforany wapnia: hydroksyapatyt (HAp) i TCP z uwagi na swą wysoką biogodność oraz bioaktywność stosowana jest w substytucji kości. Monofazowe tworzywa HAp i TCP oraz dwufazowe BCP (kompozyty HAp-TCP) używane są głównie w postaci granul i kształtek porowatych do wypełniania ubytków kostnych w miejscach nie przenoszących dużych obciążeń mechanicznych oraz jako pokrycia na implantach metalicznych [1].

Spośród tworzyw na bazie fosforanów wapnia szczególne znaczenie mają tworzywa wysokoporowate. Dzięki odpowiedniemu rozmiarowi porów otwartych (minimum 100 μm) i wolnej od przewężeń sieci połączeń między nimi wytworzone z nich implanty łączą się z kością poprzez trwałe zamocowanie biologiczne, dodatkowo wzmacniane wiązaniem chemicznym powstałym na granicy rozdziału implant/kość na skutek wykazywanej przez te materiały bioaktywności [2].

Znanych jest szereg sposobów otrzymywania implantów porowatych, takich jak metody: spiekanych ziaren, usuwanych dodatków, spieniania chemicznego, spieniania mechanicznego, pianowa, liofilizacyjna, i odwzorowania tekstury porowatej matrycy. Szczególną odmianą tej ostatniej techniki jest metoda replamineform, w której odwzorowywaną matrycę stanowi kształtka wycięta z koralowca madreporowego, który swą budową jest bardzo zbliżony do nieorganicznej części kości gąbczastej. Możliwe jest również poprzez obróbkę hydrotermalną przeprowadzenie zbudowanych z węglanu wapnia szkieletów koralowców z gatunku goniopora w hydroksyapatyt [3].

Najczęściej wysokoporowate wszczepy bioceramiczne oparte o fosforany wapnia uzyskiwane są poprzez odwzorowanie porowatych podłoży polimerowych, głównie gąbek (pianek) poliuretanowych. Po nasączeniu gęstwą i wysuszeniu gąbka taka ulega rozkładowi w procesie wypalania,

RHEOLOGICAL PROPERTIES OF HYDROXYAPATITE SLURRIES DESIGNED FOR PREPARATION OF HIGHLY POROUS BONE IMPLANTS USING POLYURETHANE FOAMS AS MATRICES

ANNA ŚLÓSARCZYK, ZOFIA PASZKIEWICZ, AGNIESZKA PITAK

DEPARTMENT OF CERAMIC TECHNOLOGY AND REFRACTORY MATERIALS
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS
AGH - UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, CRACOW

Abstract

Ceramic slurries composed of 68 wt% of hydroxyapatite powder and containing Dispex A-40 or Dolapix C67 as dispersants and poly(vinyl alcohol) or methylcellulose as binders were produced. Rheological properties of the slips were investigated. The influence of the additives on the character of flow curves, viscosity and thixotropy of the slurries have been estimated.

[Engineering of Biomaterials, 61, (2007), 24--30]

Introduction

Bioceramics based on calcium phosphates: hydroxyapatite (HAp) and TCP are used as bone substitutes due to their high biocompatibility and bioactivity. Monophase HAp and TCP materials as well as two-phase BCP (HAp-TCP composites) are mainly applied in the form of granules and porous blocks for filling bone losses in the spots not carrying high mechanical loads or as coatings on metallic implants [1].

Among calcium phosphate-based materials, the highly porous ones are particularly important. Owing to the appropriate sizes of open pores (100 μm at minimum) and the interconnecting pore structure free from neckings down, the implants fabricated of them are permanently, biologically fixed to the bone. This fixation is additionally strengthened by chemical bond at the bone/implant interface which is formed due to bioactivity of these materials [2].

Several methods of porous implants preparation are known, such as: grain sintering, removed additives, chemical foaming, mechanical foaming, foam technique, freeze-drying as well as the replication of porous matrix texture. The so-called replamineform method is a special case of the last mentioned technique in which the profile made of coral madreporites serves as the matrix. The microstructure of this coral-derived material is very close to that of inorganic part of cancellous bone. By hydrothermal treatment it is also possible to transform skeletons of goniopora type coral built of calcium carbonate into hydroxyapatite [3].

Highly porous bioceramic implants based on calcium phosphates are most frequently obtained by copying of porous polymer substrates, mainly polyurethane foams. After impregnation with the slurry and drying, such foam is decomposed at high temperature. Its walls with deposited ceramic slurry form a ceramic scaffold [4-6].

In the process of such implants production, rheological parameters of the slurries used, their viscosity, thixotropy

a osadzona na ścianach jej porów masa tworzy ceramiczny szkielec [4-6].

Przy wytwarzaniu tego typu implantów ogromną rolę odgrywają parametry reologiczne stosowanych gęstw, ich lepkość, tiksotropia, jak też zwilżalność polimerowych matryc. Parametry te kształtowane są poprzez dobór odpowiedniej koncentracji gęstw określonej zawartością fazy stałej oraz rodzajem i ilością dodatków w postaci upłynniaczy i spoiw [5,7].

Stwierdzono ścisły związek pomiędzy reologią mas lejnych, a mikrostrukturą i wytrzymałością mechaniczną wytworzonych z nich implantów HAp, i to uzyskanych zarówno metodą odlewania w formach gipsowych [8], jak i odwzorowywania matryc organicznych [9].

Celem niniejszej pracy było przeprowadzenie badań reologicznych wodnych gęstw proszku hydroksyapatytowego o wysokiej koncentracji fazy stałej, przeznaczonych do wytwarzania wysokoporowatych implantów kostnych na bazie wypalających się pianek poliuretanowych. Szczególną uwagę zwrócono na określenie charakteru przepływu tych gęstw, ocenę ich skłonności do tiksotropii oraz ustalenie optymalnych dodatków upłynniaczy i spoiw. Opracowane masy lejne po nasączeniu nimi organicznych podłoży powinny umożliwiać dobre odwzorowanie ich porowatej struktury, pozwalające w efekcie końcowym uzyskać wszczepy hydroksyapatytowe o właściwym rozmiarze i architekturze porów.

Materiał i metodyka

Proszek

Do sporządzania gęstw przeznaczonych do nasączenia poliuretanowych pianek użyto proszku hydroksyapatytowego zsyntezowanego metodą moką w Laboratorium Bioceramicznym Katedry Technologii Ceramiki i Materiałów Ogniotrwałych Wydziału Inżynierii Materiałowej i Ceramiki AGH.

Upłynniacze

Do upłynniania gęstw wykorzystano:

- Polimetakrylan amonu – upłynniacz o handlowej nazwie Dispex A-40 produkcji firmy Allied Colloid (Wielka Brytania) w postaci 10% roztworu,
- Dolapix PC67 – produkcji firmy Zschimmer & Schwarz GmbH & Co (Niemcy) w postaci 10% roztworu.

Spoiwa (lepiszcząca)

Jako spoiwa zastosowano poli(alkohol winylowy) (PAW) PA-05 firmy Shin-Etsu Chemical Co w postaci 1% roztworu oraz metylocelulozę (M) firmy Flucka w postaci 0,5% roztworu.

Przygotowanie gęstw pomiarowych obejmowało:

- odmierzenie wagowe odpowiedniej ilości roztworu upłynniacza oraz roztworu spoiwa,
- uzupełnienie wodą tak, aby uzyskać gęstwy o konsystencji fazy stałej wynoszącej 68% wag.,
- dodanie odpowiedniego proszku,
- wymieszanie zestawu, aż do uzyskania jednolitej konsystencji masy (starano się utrzymywać stały czas mieszania),
- przeniesienie gęstwy do cylindra pomiarowego reometru,
- wykonanie pomiaru.

Badania reologiczne przeprowadzono przy pomocy reometru obrotowego Brookfield DV-II+ z przystawką cylindryczną do małych objętości SSA, stosując wrzeciono nr 25. Wszystkie pomiary wykonano zgodnie z instrukcją pomiarową przyrządu przy wzrastającej i malejącej szybkości

as well as wettability of polymer matrices play the important role. These parameters are optimized by choosing the appropriate slurries concentrations, determined by the solid phase content as well as the types and amounts of additives, such as dispersant agents and binders [5,7].

Strong relation between slips rheology and the microstructure and mechanical strength of the HAp implants obtained from them has been reported in the case of both, the implants prepared by slip casting in gypsum forms [8] and those obtained by organic matrix replication [9].

The aim of the present work has been to carry out rheological studies of the aqueous slurries of HAp powder containing solid phase in high concentration designed for preparation of highly porous bone implants based on pyrolysis of polyurethane foams. Determination of the type of slurry flow, estimation of their tendency to thixotropy and evaluation of optimum amounts of dispersants and binders have been of particular interest. The elaborated slips after impregnation of the organic substrates should make it possible to copy their porous structure which in turn should allow to obtain HAp implants of the proper sizes and architecture of pores.

Materials and methods

Powder

HAp powder synthesized by wet method in the Bioceramic Laboratory at the Department of Ceramics Technology and Refractory Materials of the Faculty of Materials Science and Ceramics AGH-UST was used to prepare the slurries designed for soaking polyurethane foams.

Dispersant agents

The following dispersant agents have been used in the work:

- Poly(ammonium methacrylate) – dispersant produced by Allied Colloid (Great Britain) under the trade name Dispex A-40, in the form of 10% solution,
- Dolapix PC67 – produced by Zschimmer & Schwarz GmbH & Co (Germany), in the form of 10% solution.

Binders

Poly(vinyl alcohol) (PVA) PA-05 produced by Shin-Etsu Chemical Co. in the form of 1% solution and methylcellulose (M) produced by Flucka in the form of 0.5% solution have been applied as binders.

Preparation of the slurries for the studies involved the following steps:

- weighing the appropriate amounts of the dispersant and the binder solutions,
- adding water in such amount that the slurries contained 68wt% wt. of the solid phase,
- adding the appropriate powder,
- stirring the components until the homogenous slip was obtained (it was attempted to keep the constant time of stirring),
- transferring the slurry into the measuring cylinder of the rheometer,
- performing the measurement.

Rheological tests have been carried out on a Brookfield DV-II+ rotary rheometer equipped with the cylindrical attachment for low volumes SSA, using spindle No 25. All the measurements were performed according to the instruction manual of the apparatus at the increasing and decreasing rotation rate of the spindle. Viscosity was measured in mPas. Viscosity (η) has been always measured after 30 seconds from reaching the given spindle rotation rate value. Based on the viscosity values for all the rotation rates, the values

obrotowej wrzeciona, mierząc lepkość w mPas. Pomiarów lepkości (η) dokonywano zawsze po 30 s od chwili zadania określonej prędkości obrotowej wrzeciona. Na podstawie wyników lepkości dla każdej prędkości obrotowej wrzeciona obliczono wartości naprężenia stycznego (τ)

Stosowano zakres szybkości ścinania od 0,22 [s^{-1}] do 44 [s^{-1}], co odpowiada prędkości obrotowej wrzeciona w zakresie od 1 obrotu/min do 200 obrotów/min. Maksymalne możliwe do zmierzenia naprężenie ścinające wyniosło 105,6 Pa. Temperatura badanych gęstw odpowiadała temperaturze otoczenia i wynosiła $20 \pm 1^\circ C$.

Wyznaczono krzywe płynięcia, czyli wykresy zależności pomiędzy naprężeniem ścinającym (τ), a szybkością ścinania ($\dot{\gamma}$) dla zawiesin z różnymi dodatkami upłynniaczy i spoiw. Wykreślono ponadto krzywe upłynniania podające zależność lepkości dynamicznej (η) wyznaczonej przy szybkości ścinania 22 [s^{-1}] (co odpowiada 100 obrotom wrzeciona na minutę) od ilości wprowadzonego do gęstwy upłynniacza.

W poszczególnych zawiesinach dodatki Dispexu A-40 wynosiły odpowiednio: 2,0; 3,0 i 3,5% wag., zaś Dolapixu PC67: 1,5; 2,0; 2,5 i 3,0% wag. w stosunku do fazy stałej. Do mas z optymalnie dobraną ilością upłynniaczy wprowadzono różne ilości spoiw, i tak do gęstw upłynnianych Dispexem A-40 dodawano 0,05% wag. alkoholu poliwinylowego lub 0,05% wag. metylocelulozy, zaś w przypadku zawiesin upłynnianych Dolapixem PC67 dodatki metylocelulozy były równe 0,05% wag. lub 0,08% wag., zaś alkoholu poliwinylowego wynosiły 0,05, 0,10, 0,15, i 0,20% wag. Dla poszczególnych mas zmierzono współczynniki tiksotropii (T) przy prędkości obrotowej 20 obrotów/min. (co odpowiada szybkości ścinania 4,4 [s^{-1}]) wyznaczając je jako stosunek lepkości (η_{10}) po 10 minutach przebywania gęstwy w spoczynku do jej lepkości początkowej (η_0).

Wyniki badań i ich omówienie

Na RYS.1 przedstawiono krzywe płynięcia wodnych gęstw proszku hydroksyapatytowego upłynnianych Dispexem A-40, zaś na RYS.2 – upłynnianych Dolapixem PC67. Dla

of shearing stress (τ) were calculated.

The range of shear rates from 0,22 [s^{-1}] to 44 [s^{-1}] was applied which corresponded to the spindle rotation rate in the range of 1 rpm to 200 rpm. Maximum shear stress possible to be measured was equal to 105.6 Pa. The temperature of the slurries studied corresponded to the environment temperature and was equal to $20 \pm 1^\circ C$.

Flow curves, i.e. the diagrams showing the relationship between the shear stress (τ) and shear rate ($\dot{\gamma}$) for the slurries containing various amounts of dispersants and binders were determined. Additionally, the curves giving the dependence of dynamic viscosity (η) established at the shear rate equal to 22 [s^{-1}] (which corresponded to the spindle rate of 100 rpm) on the amount of the dispersant introduced into the slurry were constructed.

The slurries studied contained: 2.0; 3.0 and 3.5 wt.% of Dispex A-40, whereas Dolapix PC67 was added in the following amounts: 1.5; 2.0; 2.5 and 3.0 wt.% with respect to the solid phase. Into the slurries containing the optimum determined amounts of dispersants various amounts of binders were introduced. Thus, into the slurries with Dispex A-40, 0.05 wt.% of poly(vinyl alcohol) or 0.05 wt.% of methylcellulose was added, whereas in the case of the slurries containing Dolapix PC67, methylcellulose was added in the amount of 0.05% wt. or 0.08 wt.%, and poly(vinyl alcohol) in the amounts equal to: 0.05, 0.10, 0.15, and 0.20 wt.%. For individual slurries, thixotropy coefficients (T) at the rotation rate of 20 rpm (which corresponded to the shear rate equal to 4,4 [s^{-1}]) were calculated as the ratios of viscosity after 10 minutes of rest (η_{10}) and the starting viscosity (η_0).

Results and discussion

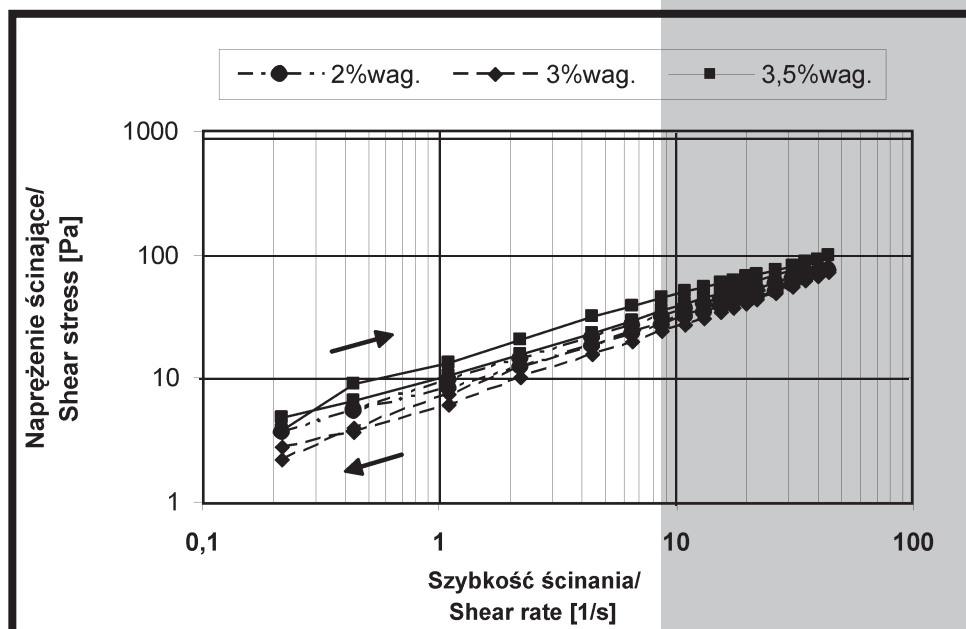
FIG.1 shows the flow curves of the aqueous slurries of HAp powder containing Dispex A-40 as the dispersant, and FIG.2 – Dolapix PC67. For both types of dispersant agents the flow curves show the pseudoplastic flow, i.e. viscosity of the slurries decreases as the shear rate increases. Hysteresis loop present in both diagrams proves thixotropic properties of the slips.

Based on the determined rheological curves (viscosity vs. quantity of the dispersant) (FIG.3) the optimum amounts of the dispersants: 3 wt.% of Dispex A-40 and 2 wt.% of Dolapix PC67 have been established.

In FIG.4 the flow curves of the slurries containing the optimum amounts of dispersant agents are presented.

The slip containing the optimum amount, i.e. 3 wt.% of Dispex A-40 has been modified by the addition of 0.05 wt.% of poly(vinyl alcohol) or methylcellulose as the binder. The binder has to ensure that the ceramic slurries exhibit appropriate rheological stability and to impart sufficient mechanical strength to the green bodies produced from them. Flow curves corresponding to them are presented in FIG.5.

Flow curves corresponding to the slips containing optimum



RYS. 1. Krzywe płynięcia wodnych gęstw proszku HAp upłynnianych Dispexem A-40 w ilości 2,0-3,5% wag.

FIG. 1. Flow curves of aqueous HAp slurries containing 2.0-3.5 wt. % of Dispex A-40 as the dispersant.

obu rodzajów upłynniaczy krzywe płynięcia wykazują przebieg pseudoplastyczny, tzn. lepkość zawiesin maleje wraz ze wzrostem szybkości ścinania. Występowanie na wykresach pętli histerezy świadczy o właściwościach tiksotropowych mas.

W oparciu o wyznaczone krzywe upłynnienia (RYS.3) ustalono optymalne dodatki upłynniaczy na poziomie 3% wag. dla Dispexu A-40 i 2% wag. w przypadku Dolapixu PC67.

Na RYS.4 zaprezentowano krzywe płynięcia odpowiadające gęstwom optymalnie upłynnionym.

Zawiesinę z optymalnym, tzn. 3% wag. dodatkiem Dispexu A-40 zmodyfikowano 0,05% wag. dodatkami poli(alkoholu winylowego) lub metyloce-

lulozy jako spoiw. Zadaniem spoiw jest, między innymi, zapewnienie gęstwom ceramicznym odpowiedniej stabilności reologicznej oraz nadanie wytworzonym z nich półfabrykatom wystarczającej wytrzymałości mechanicznej. Odpowiadające im krzywe płynięcia zamieszczono na RYS.5.

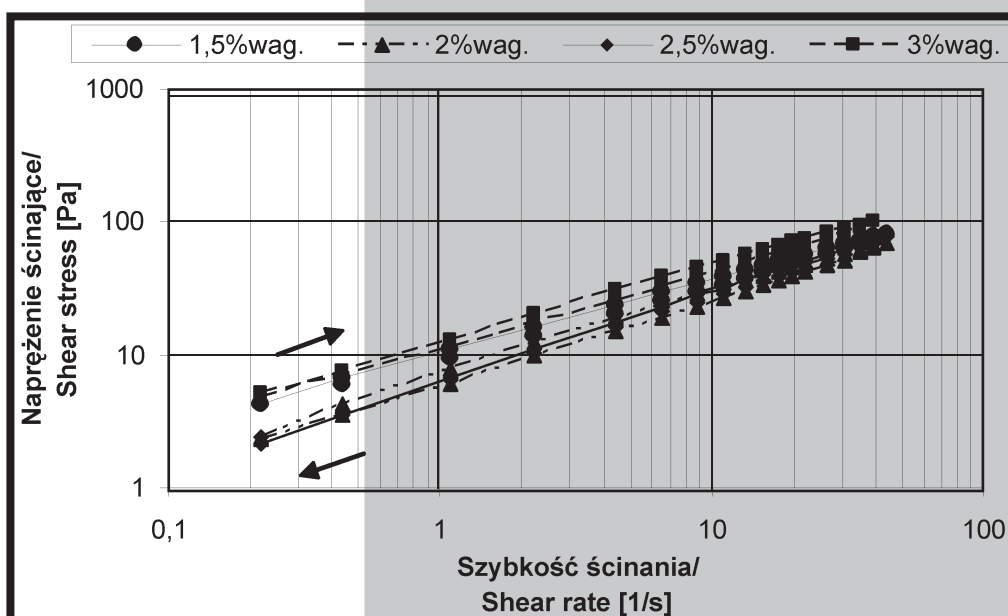
Krzywe płynięcia odpowiadające masom lejnym z optymalnym 2% wag. dodatkiem Dolapixu PC67 zmodyfikowanych różnymi dodatkami poli(alkoholu winylowego) przedstawiono na RYS.6, zaś po wprowadzeniu spoiwa metylocelulozowego – na RYS.7.

W TABELI 1 zamieszczono wyniki pomiarów parametrów reologicznych, w tym wskaźników tiksotropii (T) odpowiadających badanym gęstwom.

Gęstwami tymi nasączono wybrane pianki poliuretanowe produkowane przez firmę Eurofoam Polska Sp. z o.o. ze Zgierza.

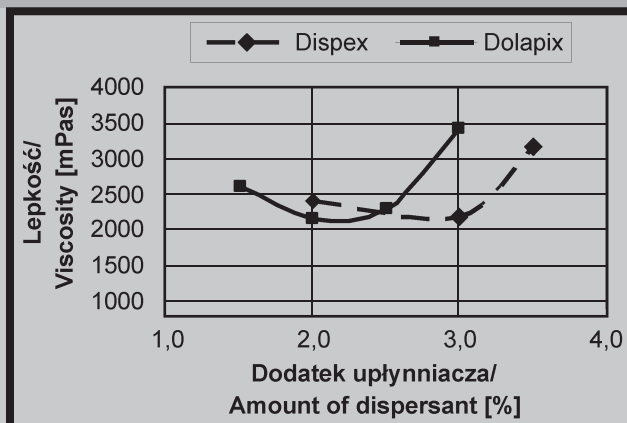
Jak wynika z przedstawionych wykresów gęstwy HAp upłynnione oraz zmodyfikowane spoiwami wykazują, podobnie jak zawiesiny jedynie z upłynniaczami, pseudoplastyczny charakter (tzn. są rozrzedzane ścinaniem), z pewną skłonnością do tiksotropii i niewielkimi granicami płynięcia. Jak wiadomo charakter przepływu odpowiadający wodnym zawiesinom proszku hydroksyapatytowego może być różny, zarówno pseudoplastyczny, jak i dylatancyjny (zagęszczany ścinaniem), a nawet bliski newtonowskiemu. W dużym stopniu zależy on od genezy proszku i wynikającego stąd rozmiaru, rozkładu wielkości i rozwinięcia powierzchni ziaren, jak też odpowiadającego im potencjału dzeta [7, 8].

Stwierdzono, że dodatki spoiw mają większy wpływ na właściwości reologiczne opartych na proszku HAp mas lejnym upłynnionych Dispexem A-40, aniżeli Dolapixem PC67. Oceniając z tego punktu widzenia, za korzystniejszy można byłoby uznać Dolapix. Wstępna ocena przydatności opracowanych gęstw do odwzorowania pianek poliuretanowych wypadła pozytywnie. Gąbki były dobrze zwilżane przez zmodyfikowane zawiesiny HAp, co pozwalało po wypaleniu na dobre odwzorowanie ich budowy w zakresie architektury porów. Niemniej jednak pełna ocena wpływu użytych upłynniaczy i spoiw będzie możliwa dopiero po przeprowadzeniu badań wytrzymałości mechanicznej implantów HAp wytworzonych zastosowaną w pracy metodą.



RYS. 2. Krzywe płynięcia wodnych gęstw proszku HAp upłynnianych Dolapixem PC67 w ilości 1,5-3,0% wag.

FIG. 2. Flow curves of aqueous HAp slurries containing 1.5-3.0 wt.% of Dolapix PC67 as the dispersant.



RYS. 3. Krzywe upłynnienia gęstw HAp z dodatkiem Dispexu A-40 lub Dolapixu PC67 (lepkość wyznaczono przy $\dot{\gamma} = 22 [s^{-1}]$).

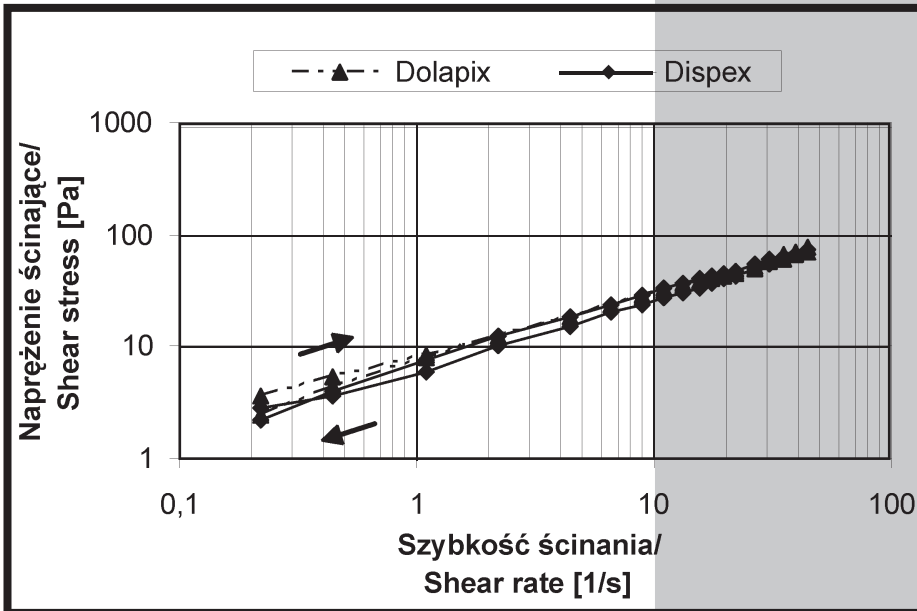
FIG. 3. Effect of the quantity of Dispex A-40 or Dolapix PC67 additives on viscosity of the HAp slurries (viscosity determined at $\dot{\gamma} = 22 [s^{-1}]$).

amount of Dolapix PC67, i.e. 2 wt.%, modified by various amounts of poly(vinyl alcohol) are presented in FIG.6 and after introduction of methylcellulose binder – in FIG.7.

In TABLE 1 results of rheological measurements, among them thixotropy coefficients (T), corresponding to the slurries studied, are collected.

Selected polyurethane foams produced by Eurofoam Polska Sp. z o.o. in Zgierz (Poland) have been soaked with the slurries prepared.

As can be seen from the presented diagrams HAp slurries containing dispersants and modified with the binders show, similarly to the slurries containing exclusively deflocculants, pseudoplastic nature (i.e. they are diluted by shear) with some tendency to thixotropy and small yield point. As it is known, HAp slurries can exhibit various flow behaviour: pseudoplastic, dilatant (concentrated by shear) or even close to Newtonian fluid. This depends to a high degree on the genesis of the powder and resulting from this grain size, size distribution and the surface area as well as the



RYS. 4. Krzywe płynięcia wodnych gęstw proszku HAp z optymalnymi dodatkami upłynniaczy (3% wag. Dispexu A-40 lub 2% wag. Dolapixu PC67).
FIG. 4. Flow curves of aqueous HAp slurries containing the optimum amounts of dispersants (3 wt.% of Dispex A-40 or 2 wt.% of Dolapix PC67).

zeta potential corresponding to them [7,8].

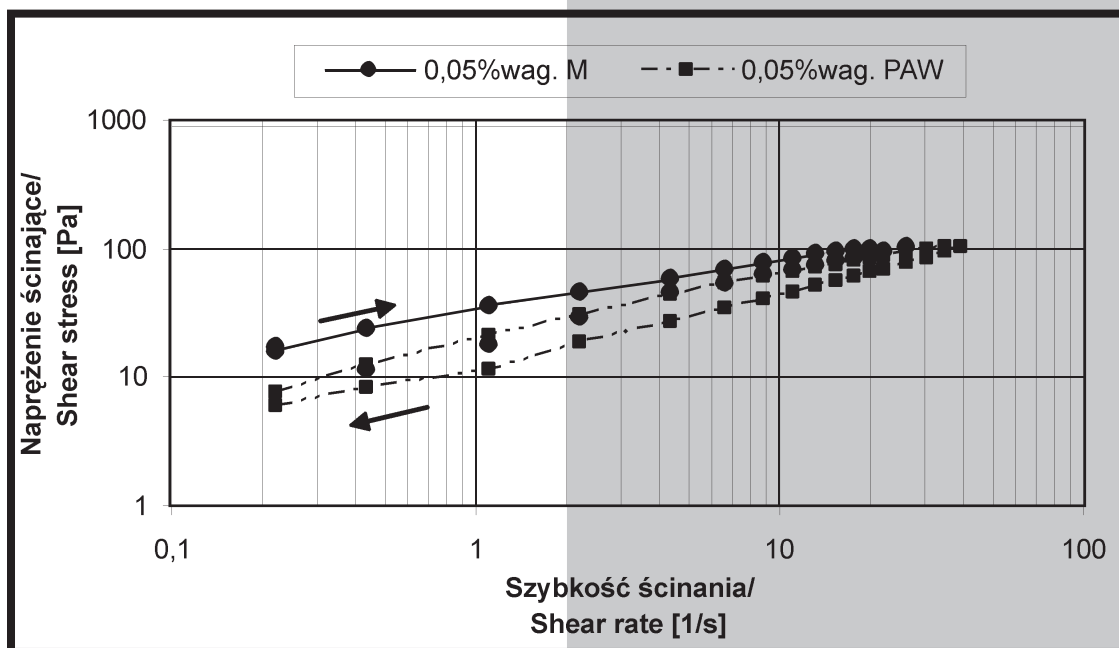
It has been found that addition of the binders show higher impact on rheological properties of the slurries in the case of the HAp-based slips containing Dispex A-40 than those with Dolapix PC67 as deflocculant. Thus, from this point of view, addition of Dolapix should be considered as advantageous. Preliminary evaluations of the suitability of the elaborated slurries to replicate polyurethane foams have been successful. Sponges have been well wetted by the modified HAp slurries which allowed – after firing - to copy precisely their pore architecture. However, complete evaluation of the used dispersants and binders will be possible only after tests of mechanical strength of the HAp implants produced by the method proposed in the work.

Summary

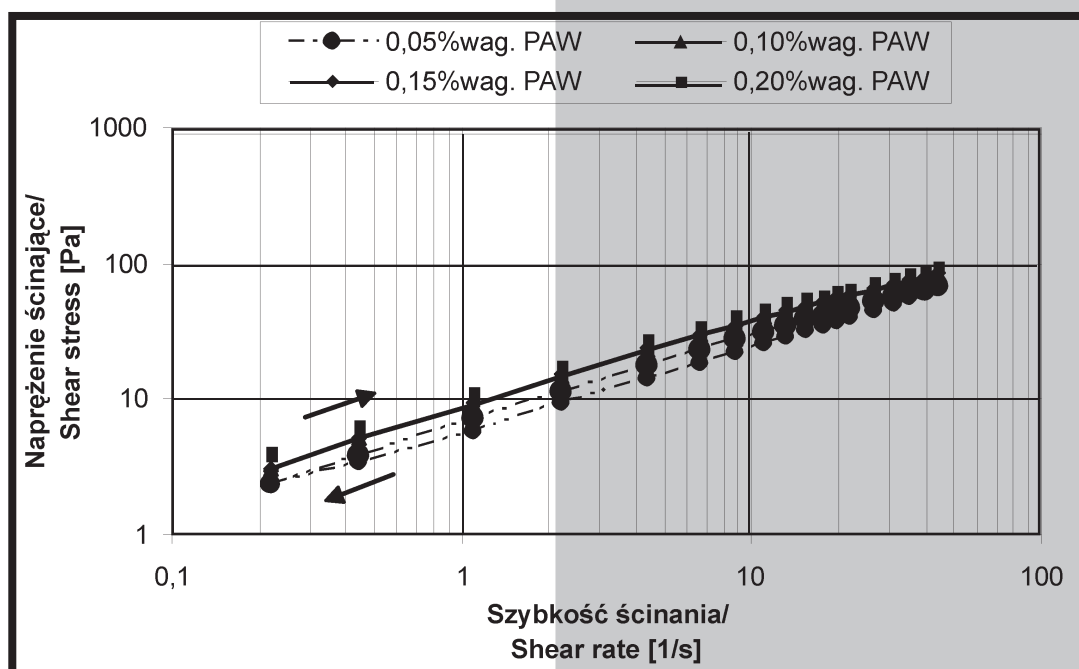
Podsumowanie

Z przeprowadzonych badań wynika, że zarówno Dispex A-40 jak i Dolapix PC67 pozwalają na dobre upłynnienie wodnych gęstw proszku hydroksyapatytowego o wysokiej (68% wag.) koncentracji fazy stałej, aczkolwiek wymagane dodatki obu upłynniaczy pozostają na stosunkowo wysokim poziomie (odpowiednio 3 i 2% wag.). Gęstwy te zmodyfikowane spoiwami: poli(alkoholem winylowym) lub metylocelulozą mogą być stosowane do nasączenia poliuretanowych matryc na bazie których wytwarzane są wysokoporowate hydroksyapatytowe implanty kostne.

From the presented studies it follows that both Dispex A-40 and Dolapix PC67 are suitable dispersant agents for aqueous slurries of HAp powder containing high amount (68 wt.%) of the solid phase. The necessary amounts of these additives, however, are relatively high (3 and 2 wt.% respectively). Slurries modified with the following binders: poly(vinyl alcohol) or methylcellulose can be applied to impregnate polyurethane matrix designed for preparation of highly porous hydroxyapatite bone implants.



RYS. 5. Krzywe płynięcia wodnych gęstw proszku HAp z dodatkiem 3% wag. Dispexu A-40 i spoiw: 0,05% wag. poli(alkoholu winylowego) (PAW) lub metylocelulozy (M).
FIG. 5. Flow curves of aqueous HAp slurries containing 3 wt.% of Dispex A-40 and binders: 0.05 wt.% of poly(vinyl alcohol) (PVA) or 0.05 wt.% of methylcellulose (M).



RYS. 6. Krzywe płynięcia wodnych gęstw proszku HAP z dodatkiem 2,0% wag. Dolapixu PC67 oraz poli(alkoholu winylowego) (PAW) w ilości 0,05-0,20% wag.

FIG. 6. Flow curves of aqueous HAP slurries containing 2 wt.% of Dolapix PC67 and 0.05-0.20 wt.% of poly(vinyl alcohol) (PVA).

Podziękowania

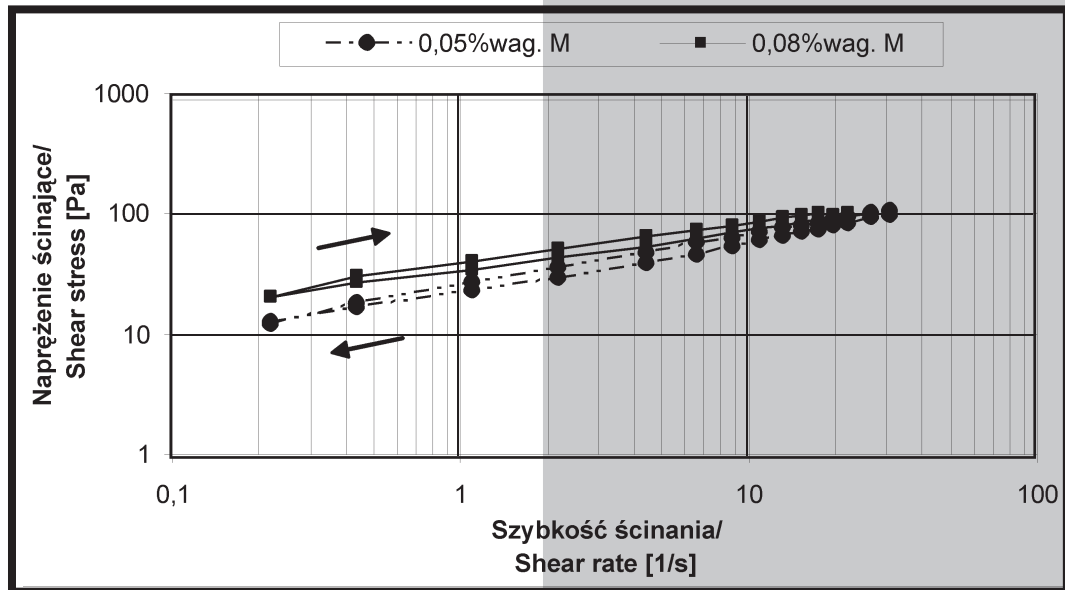
Praca wykonana została w ramach projektu badawczego Nr 3 T08D 015 27 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Acknowledgements

This work has been supported by the Ministry of Science and Higher Education. Project No 3 T08D 015 27.

Rodzaj i ilość upłyniacza Type and amount of dispersant	Rodzaj spoiwa Type of binder	Ilość spoiwa [% wag] Amount of binder [wt. %]	Lepkość dynamiczna η Dynamic viscosity η ($\dot{\gamma} = 22$ [s ⁻¹]) [m Pa s]	Wskaźnik tiksotropii $T = \eta_{10}/\eta_0$ Thixotropy coefficient $T = \eta_{10}/\eta_0$	Lepkość dynamiczna wyznaczona przy $\dot{\gamma} = 4,4$ [s ⁻¹] Dynamic viscosity determined at	
					Bezpóźniej starting η_0	po 10 min after 10 min η_{10}
Dolapix PC67 2% wag.	Bez dodatku spoiwa No binder added		2140	1,17	3570	4200
	PAW	0,05	2090	1,44	3210	4630
		0,10	2630	1,16	4100	4770
		0,15	2660	1,20	4220	5060
		0,20	3000	1,18	5090	6000
	M	0,05	4170	1,05	9760	10320
0,08		>4800	1,21	11800	14300	
Dispex A-40 3% wag.	Bez dodatku spoiwa No binder added		2180	1,26	3690	4650
	PAW	0,05	3910	1,50	5760	8640
	M	0,05	>4800	1,16	9980	11640

TABELA 1. Parametry reologiczne gęstw ceramicznych na bazie proszku hydroksyapatytowego.
TABLE 1. Rheological parameters of ceramic slurries based on hydroxyapatite powder.



RYS. 7. Krzywe płynięcia wodnych gęstw proszku HAp z dodatkiem 2% wag. Dolapixu PC67 i metylocelulozy w ilości 0,05 i 0,08% wag.

FIG. 7. Flow curves of aqueous HAp slurries containing 2 wt.% of Dolapix PC67 and 0.05 or 0.08 wt.% of methylcellulose (M).

Piśmiennictwo

- [1] Praca zbiorowa pod red. S. Błażewicza i L. Stocha Biomateriały, tom 4 w serii „Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna 2000”, wyd. Exit, Warszawa, 2003.
- [2] B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons Biomaterials science. An introduction to materials in medicine Academic Press, San Diego, CA, 2004.
- [3] Z. Jaegermann, A. Ślósarczyk Gęsta i porowata bioceramika korundowa w zastosowaniach medycznych Wydawnictwa Naukowo-Dydaktyczne AGH (w druku).
- [4] M. Fabbri, G. C. Celotti, A. Ravaglioli Hydroxyapatite – based porous aggregates: physico-chemical nature, structure, texture and architecture Biomaterials 16 (1995) 225-228.
- [5] M. Szafran, J. Laskowska, Z. Jaegermann Bioceramiczne materiały porowate. Część 1 Sposób otrzymywania materiałów z udziałem spienionych tworzyw sztucznych Szkło i Ceramika 51 (2000)9-15.

References

- [6] A. Ślósarczyk Bioceramika hydroksyapatytowa Polski Biuletyn Ceramiczny nr 13, Ceramika 51, Kraków 1997.
- [7] J. C. Knowles, S. Callut, G. Georgiou Characterisation of the rheological properties and zeta potential of a range of hydroxyapatite powders Biomaterials 21 (2000) 1387-1392.
- [8] H. Y. Yasuda, S. Mahara, Y. Umakoshi, S. Imazato, S. Ebisu Microstructure and mechanical property of synthesized hydroxyapatite prepared by colloidal process Biomaterials 21 (2000) 2045-2049.
- [9] K. Satou, G. Pezzotti, Rheological characteristics of slurry controlling the microstructure and the compressive strength behaviour of biomimetic hydroxyapatite J. Mater. Res. 1(2001).
- [10] W. Wilkinson Ciecze nienewtonowskie Warszawa 1963.

Wskazówki dla autorów

1. Prace do opublikowania w czasopiśmie „Engineering of Biomaterials / Inżynieria Biomateriałów” przyjmowane będą wyłącznie z tłumaczeniem na język angielski. Obcokrajowców obowiązuje tylko język angielski.
2. Wszystkie nadsyłane artykuły są recenzowane. Prosimy Autorów nadsyłanych prac o dołączenie oświadczenia, że artykuł jest oryginalny, a treści w nim zawarte są zgodne z prawem autorskim o własności intelektualnej i przemysłowej, a także, że nie był wcześniej publikowany w innych czasopiśmie krajowych i zagranicznych oraz w materiałach konferencyjnych.
3. Materiały do druku prosimy przysyłać na adres redakcji na płytach CD wraz z jednym egzemplarzem kontrolnego wydruku i kompletem rysunków i zdjęć.
4. Struktura artykułu:
 - TYTUŁ
 - Autorzy
 - Streszczenie (100-200 słów)
 - Słowa kluczowe (4-6)
 - Wprowadzenie
 - Materiały i metody
 - Wyniki i dyskusja
 - Wnioski
 - Podziękowania
 - Piśmiennictwo
5. Należy podać pełne imię i nazwisko wszystkich autorów artykułu. Jeśli autorzy pochodzą z różnych instytucji przy nazwisku należy wstawić odpowiedni odnośnik w indeksie górnym. Poniżej należy podać dokładne nazwy instytucji i pełne adresy pocztowe dla każdego autora. (Imię Nazwisko1, Imię Nazwisko2, ...).
6. Manuskrypt powinien być napisany czcionką Arial 9 z podwójnymi odstępami między wierszami. Obowiązuje układ jednostek SI.
7. Materiały ilustracyjne (rysunki, wykresy, schematy, tabele, fotografie) powinny znajdować się poza tekstem w oddzielnych plikach (format np. .jpg, .gif, .tiff, .bmp). Pożądane jest, aby mieściły się w szerokości szpalty lub kolumny (podstawa 8 cm lub 17 cm). Rozdzielczość rysunków min. 300 dpi. Wszystkie rysunki i wykresy powinny być czarno-białe lub w odcieniach szarości i ponumerowane cyframi arabskimi. W tekście należy umieścić odnośniki do rysunków i tabel. W tabelach i na wykresach należy umieścić opisy polskie i angielskie np.:

Właściwości / Properties	Kość korowa / Cortical bone	Kość gąbczasta / Cancellous bone
Moduł Younga / Young's modulus (GPa)	14-20	0,05-0,5
Wytrzymałość na rozciąganie / Tensile strength (MPa)	50-150	10-20
Wytrzymałość na ściskanie / Compressive strength (MPa)	170-193	7-10
Oporność na kruche pękanie / Fracture toughness (MPa m ^{1/2})	2-12	0,1
Gęstość / Density (g/cm ³)	18-22	0,1-1,0

W dodatkowym dokumencie należy zamieścić spis tabel i rysunków (po polsku i angielsku).

np.

RYS. 1. Zdjęcia SEM badanych materiałów.

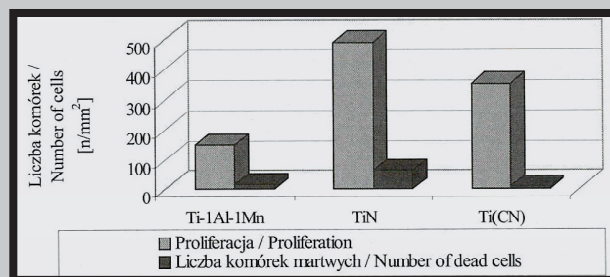
FIG. 1. SEM micrographs of investigated materials.

RYS. 2. Przeżywalność fibroblastów i osteoblastów w kontakcie z badanym materiałem.

FIG. 2. Viability of fibroblasts and osteoblasts in contact with investigated material.

Instructions for Authors

1. Papers for publication in journal „Inżynieria Biomateriałów/ Engineering of Biomaterials” should be written in English.
2. All articles are reviewed. The authors should enclose a statement that the article is original, has not been published previously and is not under consideration for publication elsewhere.
3. Manuscripts should be submitted to Editor's Office on CD with a printout, drawings and photos.
4. A manuscript should be organized in the following order:
 - TITLE
 - Authors and affiliations
 - Abstract (100-200 words)
 - Keywords (4-6)
 - Introduction
 - Materials and methods
 - Results and Discussions
 - Conclusions
 - Acknowledgements
 - References
5. Authors' full names and affiliations with postal addresses should be given. If authors have different affiliations use superscripts 1,2.
6. The papers should be written in MS-WORD using Arial 9 point size font with a double line spacing. SI units should be used.
7. All illustrations, figures, tables, graphs etc. preferably in black and white or grey scale should be presented in separate electronic files (format .jpg, .gif, .tiff, .bmp) and not incorporated into the Word document. High-resolution figures are required for publication, at least 300 dpi. All figures must be numbered in the order in which they appear in the paper and captioned below. They should be referenced in the text. The captions of all figures should be submitted on a separate sheet.



8. References should be listed at the end of the article. Number the references consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. References should contain the authors' names and initials, full title of the paper, name of the journal (full or using Journal Abbreviations Index), year of publication, volume number, first and last page numbers.
9. Opinion or notes of reviewers will be transferred to the author. If the corrected article is not supplied on time, it means that the author has resigned from publication of work in our magazine.
10. Editorial does not pay an author honorarium for publication of article.

8. Na końcu artykułu należy podać wykaz piśmiennictwa w kolejności cytowania w tekście i kolejno ponumerowany. Numer cytowanej pozycji w tekście należy umieszczać w nawiasie kwadratowym, np. [1], [2-4], [1, 3-6]. W wykazie literatury należy podać podstawowe elementy opisu bibliograficznego (nazwiska autorów i skróty ich imion, tytuł artykułu, tytuł czasopisma, tom, rok, strony) np.:

Należy podawać pełne tytuły czasopism lub stosować ich skróty zgodnie z obowiązującymi normami np. ISI Journal Abbreviations Index.

9. Wzory matematyczne i chemiczne powinny być pisane bardzo czytelnie, a ich kolejność należy zaznaczyć po prawej stronie numerami w nawiasach okrągłych, np. ... (3).

10. Redakcja zastrzega sobie prawo wprowadzenia do opracowań autorskich zmian terminologicznych, niezbędnych skrótów, poprawek redakcyjnych, stylistycznych, gramatycznych w celu dostosowania artykułu do norm przyjętych w naszym czasopiśmie. Zmiany i uzupełnienia merytoryczne będą dokonywane w uzgodnieniu z autorem.

11. Opinia lub uwagi recenzenta będą przekazywane Autorowi do dostosowania się. Nie dostarczenie poprawionego artykułu w terminie oznacza rezygnację Autora z publikacji pracy w naszym czasopiśmie.

12. W celu łatwego i szybkiego kontaktu z Autorem pracy prosimy każdorazowo podawać dokładny adres do korespondencji wraz z numerem telefonu, faxu i adresu e-mailowego. Jest to szczególnie ważne w przypadku pracy zespołowej, której autorzy pracują w różnych instytucjach.

13. Za publikację artykułów redakcja nie płaci honorarium autorskiego.

14. Artykuł, w którym nie uwzględniono podanych wskazówek, zostanie odesłany Autorom do poprawy przed przystąpieniem do recenzji merytorycznej.

15. Adres redakcji:

Czasopismo „Engineering of Biomaterials/Inżynieria Biomateriałów”

Akademia Górniczo-Hutnicza im. St. Staszica

Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki

Katedra Biomateriałów

al. Mickiewicza 30

30-059 Kraków

tel. (48 12) 617 25 03, 617 22 38, 617 22 39

fax (48 12) 617 33 71

e-mail:

chlopek@agh.edu.pl

kabe@agh.edu.pl

apowroz@agh.edu.pl

Warunki prenumeraty

Zamówienia na prenumeratę prosimy przysyłać na adres:

apowroz@agh.edu.pl

Konto

Polskie Stowarzyszenie Biomateriałów

30-059 Kraków, al. Mickiewicza 30/A3

Bank Śląski S.A., O/Kraków

nr rachunku 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001

Opłaty:

Cena 1 kwartalnika wynosi 20 PLN

Piśmiennictwo

References

[1] Praca zbiorowa pod red. S. Błażewicza i L. Stocha Biomateriały, tom 4 w serii „Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna 2000”, wyd. Exit, Warszawa, 2003.

[2] B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons Biomaterials science. An introduction to materials in medicine Academic Press, San Diego, CA, 2004.

ISI Journal Abbreviations Index / Wykaz skrótów nazw czasopism wg ISI.

<http://www.efm.leeds.ac.uk/%7Eemark/ISlabbr>

Journal Titles and Abbreviations

<http://www.library.ubc.ca/scieng/coden.html>

Nazwy 8.500 czasopism biomedycznych i ich skróty w układzie alfabetycznym

Names and abbreviations of 8.500 biomedical journals in alphabetic order

http://www.bibl.amwaw.edu.pl/LPJ/jour_a_c.htm

11. Papers will not be considered for publication until all the requirements are fulfilled.

12. Manuscripts should be submitted for publication to:

„Engineering of Biomaterials/Inżynieria Biomateriałów”

AGH University of Science and Technology

Faculty of Materials Science and Ceramics

Department of Biomaterials

al. Mickiewicza 30

30-059 Krakow, Poland

tel. (48 12) 617 25 03, 617 22 38, 617 22 39

fax (48 12) 617 33 71

email:

chlopek@agh.edu.pl

kabe@agh.edu.pl

apowroz@agh.edu.pl

Subscription terms

Subscription rates:

Cost of one number - 20 PLN

Payment should be made to:

Polish Society for Biomaterials

30-059 Krakow, Al. Mickiewicza 30/A3

Bank Slaski S.A., Krakow

account no: 63 1050 1445 1000 0012 0085 6001