

Jan Chłopek, Anna Morawska-Chochół*

Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, Poland

* Corresponding author. E-mail: anmore@op.pl

Otrzymano (Received) 09.02.2009

KOMPOZYTY Z POLIMERÓW RESORBOWALNYCH PRZEZNACZONE DLA CHIRURGII KOSTNEJ

Zbadano wpływ modyfikatorów w postaci włókien i cząstek na właściwości mechaniczne kopolimeru laktydu z glikolidem, określono szybkość utraty wytrzymałości kompozytów w wyniku oddziaływania symulowanego środowiska biologicznego oraz wpływ stosowanych dodatków na szybkość degradacji. W tym celu wykonano pomiary wytrzymałości kompozytów wyjściowych oraz po inkubacji w płynie Ringera. Degradację określono na podstawie zmian pH płynu Ringera w funkcji czasu inkubacji, dodatkowo przeprowadzono analizę mikroskopową powierzchni badanych kompozytów. Wszystkie badane materiały charakteryzują się niskim modulem Younga. Stanowi to istotną zaletę tych materiałów, gdyż dopasowanie modułów sprężystości implantu i kości sprzyja właściwemu obciążaniu tkanki kostnej i umożliwia jej prawidłową odbudowę. Najbardziej efektywną poprawę wytrzymałości uzyskano przez wprowadzenie do osnowy polimerowej włókien PAN modyfikowanych hydroksyapatytem. Kompozyt ten posiada równocześnie cechy bioaktywności, związane z obecnością hydroksyapatytu. Poprawę wytrzymałości kopolimeru zapewnia także dodatek włókien węglowych. Równocześnie włókna te znacznie przyspieszają degradację osnowy. Szybka degradację kopolimeru obserwuje się również po jego modyfikacji nanorurkami węglowymi.

Słowa kluczowe: polimery resorbowalne, kompozyt, włókna węglowe, poliakrylonitryl, hydroksyapatyt, nanorurki węglowe, *in vitro*

POLYMER RESORBABLE COMPOSITES APPLICABLE FOR BONE SURGERY

The most important functions of implants for bone surgery are providing the correct stabilization of broken bone fragments and proper osteointegration. These requirements can be fulfilled through the appropriate mechanical (high strength and low Young's modulus) and biological (bioactivity) parameters of implants. Composite materials based on polymer matrix constitute a good basis to obtain such implants. Strength improvement of polymer is possible by fibres addition, and fixation can be influenced by bioactive additives. Moreover, the use of resorbable polymer matrix eliminates the necessity of repeated operation connected with removing implants.

In the present work, poly(L-lactide-co-glicolide) - PGLA was modified by addition of two kinds of fibres (short carbon fibres - CF and polyacrylonitrile fibres containing hydroksyapatite nanoparticles - PAN/HAP) and particles (hydroksyapatite nanoparticles - HAP and carbon nanotubes - CNT). The aim of this study was to estimate the influence of modifying phase on mechanical properties of copolymer. Changes of mechanical properties and the influence of additives on degradation rate in simulated biological environment were also studied. Mechanical properties were measured by using Zwick machine, degradation rate was estimated on the basis of pH changes of Ringer solution as a function of incubation time, and additionally SEM microphotographs of composites were also obtained. One of the important advantages of studied composites is their low Young's modulus. The most effective improvement of polymer strength can be observed in the case of addition of PAN/HAP fibres. High strength and bioactivity are connected in this composite and it makes possible to obtain multifunctional implants. Increase of the strength was also achieved in the case of PGLA with carbon fibres composite. The lowest mechanical properties were observed for composites with hydroksyapatite nanoparticles and carbon nanotubes. Significant influence of carbon fibres and carbon nanotubes on degradation rate was also observed. It can be connected with carbon structure.

Keywords: resorbable polymers, composite, carbon fibres, PAN, hydroksyapatite, carbon nanotubes, *in vitro*

WSTĘP

Polimery resorbowalne, w tym kopolimery laktydu z glikolidem, cieszą się dużym zainteresowaniem jako materiały o potencjalnym zastosowaniu na implanty medyczne. Wynika to przede wszystkim z ich biogodności i ich właściwości resorpcyjnych, które umożliwia-

ją stopniowe zastępowanie implantu przez tkankę kostną, eliminując w ten sposób konieczność ich usuwania w powtórnej operacji [1]. Ich zastosowanie jest jednak w wielu przypadkach ograniczone ze względu na niską wytrzymałość mechaniczną i niejednokrotnie brak wła-

ściwej odpowiedzi ze strony organizmu [2]. Szczególnie jest to istotne w chirurgii kostnej, gdzie implant odpowiada za właściwą stabilizację odłamów kostnych i równocześnie musi zapewniać osteointegrację, pozwalającą na właściwą współpracę implantu z kością i zabezpieczającą przed obluźwaniem wszczepu. W związku z tym wciąż trwają prace nad modyfikacją polimerów resorbowalnych dodatkami w postaci włókien lub cząstek, które zwiększą ich wytrzymałość mechaniczną i nadadzą cech bioaktywności. Najlepsze efekty poprawy wytrzymałości polimerów uzyskuje się przez wprowadzenie wzmocnienia włóknistego (włókna szklane, polimerowe, węglowe) [3-5]. Sposób ułożenia włókien oraz ich udział objętościowy pozwala w szerokim zakresie sterować właściwościami mechanicznymi kompozytów. Natomiast w celu poprawy właściwości biologicznych stosuje się najczęściej bioaktywne dodatki ceramiczne (hydroksyapatyt, bio szkło) [6, 7]. Interesującym rozwiązaniem wydaje się być również modyfikacja polimerów resorbowalnych za pomocą nanorurek węglowych. Nanorurki dzięki swej specyficznej budowie i dobrej przewodności elektrycznej stanowią materiał stymulujący pracę komórek [8]. Jednak zastosowanie kompozytów na bazie polimerów resorbowalnych wymaga zarówno ścisłej kontroli czasu resorpcji, jak również dostosowania tego czasu do szybkości tworzenia nowej tkanki. Wiąże się to z koniecznością określenia wpływu modyfikatorów na szybkość procesu degradacji.

Celem pracy było określenie wpływu różnych modyfikatorów w postaci włóknistej i w formie cząstek na właściwości mechaniczne kompozytów o osnowie z kopolimeru laktydu z glikolidem oraz analiza szybkości degradacji kompozytu w zależności od zastosowanego modyfikatora.

MATERIAŁY I METODY

W pracy zastosowano kopolimer L-laktydu z glikolidem (PGLA) (16% PGA : 84% PLA), wyprodukowany w Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych PAN w Zabrze. Syntezę prowadzono na drodze otwarcia pierścienia z użyciem jako inicjatora nietoksycznego acetyloacetonianu cyrkonu(IV) [9]. Kopolimer charakteryzował się następującymi właściwościami: średni ciężar cząsteczkowy $M_n = 75$ kDa, współczynnik polidispersji $M_n/M_w = 2,1$.

Kompozyty otrzymano przez wylewanie błonek polimerowych z roztworu CH_2Cl_2 po uprzednim wprowadzeniu 10% wag. następujących modyfikatorów:

- nanocząstki hydroksyapatytu (HAP) pochodzenia naturalnego (rozwiniecie powierzchni $79,7$ m²/g, gęstość $3,15$ g/cm³), oznaczenie kompozytu PGLA+HAP,
- włókna węglowe (CF) FT 300B produkcji TORAYCA (gęstość: $1,78$ g/cm³, moduł sprężystości $E = 235$ GPa, wytrzymałość na rozciąganie $3,2$ GPa, wydłużenie $1,4\%$), oznaczenie kompozytu PGLA+CF,

- włókna organiczne z poliakrylonitrylu (PAN) modyfikowanego hydroksyapatytem, oznaczenie kompozytu PGLA+PAN/HAP,
- nanorurki węglowe wielościennie (CNT), średnica zewnętrzna $10\div 15$ nm, średnica wewnętrzna $2\div 5$ nm, oznaczenie kompozytu PGLA+CNT.

W celu poprawy homogeniczności kompozytów z nanododatkami najpierw zwilżono cząstki hydroksyapatytu i nanorurki przez CH_2Cl_2 , a następnie połączono z rozpuszczonym polimerem i rozbijano ultradźwiękami przez 40 minut. W kolejnym etapie wylano z mieszanych roztworów błonki. Otrzymane prepregi prasowano w temp. $160^\circ C$ w formie wiosełek.

Do symulacji środowiska biologicznego użyto płynu Ringera produkcji Baxter Terpol Sp. z o.o. o składzie [g/cm³]: $NaCl^- - 8,60$, $KCl^- - 0,30$, $CaCl^- - 0,48$. Próbkę inkubowano w temperaturze $37^\circ C$ przez 12 tygodni.

Dla próbek wyjściowych oraz po 48 godzinach i po 4 i 10 tygodniach przeprowadzono pomiary wytrzymałości na maszynie wytrzymałościowej Zwick 1435 oraz po każdym tygodniu wykonywano pomiary pH płynu Ringera. Dodatkowo przeprowadzono badania mikrostruktury z pomocą mikroskopu skaningowego (SEM) Jeol JSM-5400.

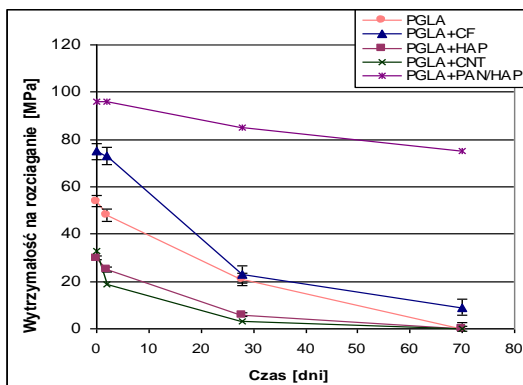
WYNIKI I DISKUSJA

W pierwszym etapie pracy przeprowadzono badania właściwości mechanicznych kompozytów w celu określenia ich przydatności w chirurgii kostnej. Wyniki przedstawia tabela 1. Z przeprowadzonych pomiarów wynika, że najlepszy efekt wzmocnienia uzyskuje się po wprowadzeniu do osnowy polimerowej włókien ciągłych PAN modyfikowanych cząstkami hydroksyapatytu oraz włókien węglowych krótkich. Wprowadzenie samych tylko cząstek HAP i nanorurek obniża w znacznym stopniu wytrzymałość kompozytu. Obecność tych cząstek ogranicza odkształcanie materiału, powodując, że staje się on bardziej kruchy. Najbardziej interesujący wydaje się być kompozyt PGLA+PAN/HAP, ponieważ pozwala na wprowadzenie do implantu kompozytowego bioaktywnych cząstek hydroksyapatytu przy równoczesnej poprawie jego wytrzymałości. Moduł Younga wszystkich badanych materiałów utrzymuje się na niskim poziomie, co jest niezwykle istotne, gdyż dopasowanie modułów sprężystości implantu i kości sprzyja właściwemu obciążaniu tkanki kostnej i umożliwia jej prawidłową odbudowę.

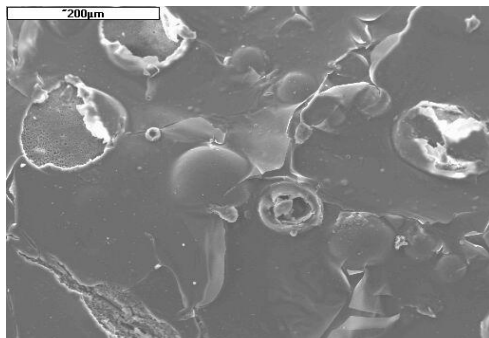
TABELA 1. Właściwości mechaniczne badanych materiałów
TABLE 1. Mechanical properties of composites

	Wytrzymałość na rozciąganie σ , MPa	Moduł Younga E , GPa
PGLA	53,7±1,5	3,4±0,2
PGLA+HAP	30,4±2,4	4,2±0,3
PGLA+CNT	32,9±2,5	3,0±0,3
PGLA+CF	75,6±4,0	6,7±0,3
PGLA+PAN /HAP	95,6±4,1	4,8±0,2

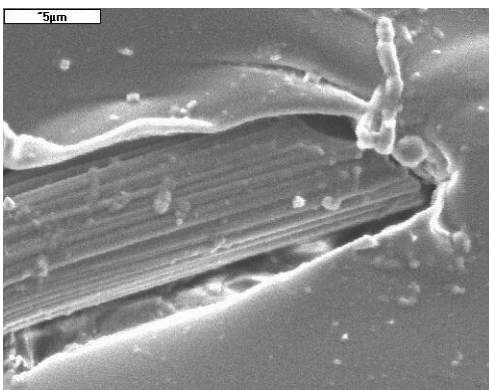
Szybkość degradacji poszczególnych materiałów oceniono na podstawie zmian wytrzymałości w wyniku ich inkubacji w symulowanym środowisku biologicznym (rys. 1). Różnice w szybkości degradacji poszczególnych kompozytów wynikają z odmiennego przebiegu tego procesu. Degradacja czystego kopolimeru PGLA przebiega poprzez pęcznienie i złuszczenie powierzchni materiału (rys. 2). Natomiast kopolimer w kompozytach zawierających wzmocnienie włókniste degraduje przy powierzchni włókien, stopniowo je odsłaniając (rys. rys. 3 i 4).



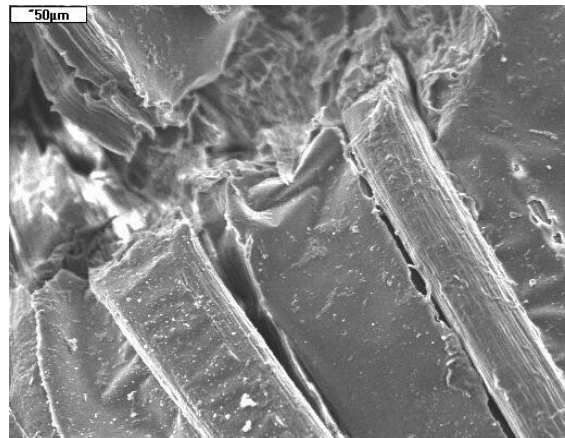
Rys. 1. Zmiany wytrzymałości na rozciąganie w funkcji czasu inkubacji
Fig. 1. Tension strength of samples before and after incubation in Ringer's solution



Rys. 2. Mikrofotografia SEM próbki PGLA po 6 tygodniach inkubacji w płynie Ringera
Fig. 2. SEM microphotographs of PGLA samples after 6 weeks of incubation in Ringer's solution

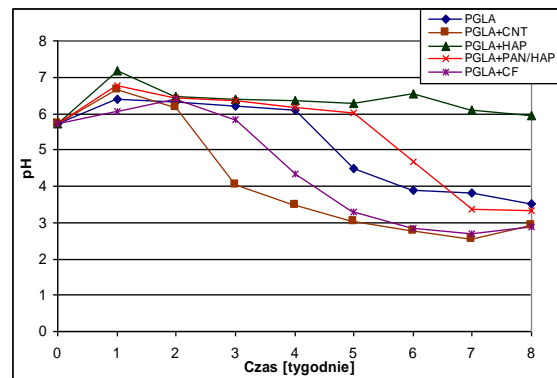


Rys. 3. Mikrofotografia SEM próbki PGLA+CF po 3 tygodniach inkubacji w płynie Ringera
Fig. 3. SEM microphotographs of PGLA+CF samples after 3 weeks of incubation in Ringer's solution



Rys. 4. Mikrofotografia SEM próbki PGLA+PAN/HAP po 7 tygodniach inkubacji w płynie Ringera
Fig. 4. SEM microphotographs of PGLA+PAN/HAP samples after 7 weeks of incubation in Ringer's solution

Dzieje się tak najprawdopodobniej w wyniku łatwiejszej dyfuzji płynu fizjologicznego po granicach rozdziału faz kopolimer-włókna. Pomimo podobnego mechanizmu degradacji kompozyt PGLA+CF degraduje szybciej niż PGLA+PAN/HAP, co objawia się istotnym spadkiem wytrzymałości już po 28 dniach inkubacji. Znaczną szybkość degradacji tego kompozytu potwierdzają również pomiary zmian pH płynu Ringera w funkcji czasu inkubacji, gdzie obniżenie pH widoczne jest najwcześniej dla tego materiału (rys. 5).

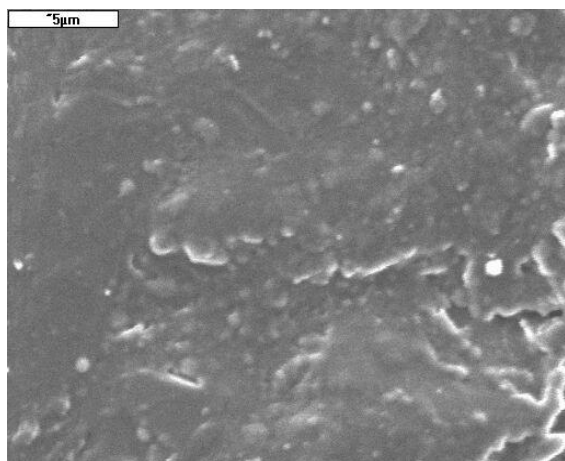


Rys. 5. Zmiany pH płynu Ringera w funkcji czasu inkubacji badanych materiałów
Fig. 5. pH changes of Ringer's solution as a function of incubation time

Również kompozyt z nanorurkami węglowymi charakteryzuje się dużą szybkością degradacji. Wskazuje to na istotny wpływ nie tyle samej formy modyfikatora (włókna, nanorurki), ile na jego skład chemiczny. Wpływ materiałów węglowych na degradację kopolimeru może być związany z ich budową i obecnością elektronów π w pierścieniach węglowych. Wskazuje na to również wzrost pH po 8 tygodniu degradacji, związany ze zdolnością adsorbowania kwasów. Na powierzchni kompozytu PGLA+CNT w wyniku degradacji tworzą się liczne wgłębienia i spękania, które znacznie obniżają jego wytrzymałość mechaniczną (rys. 6).

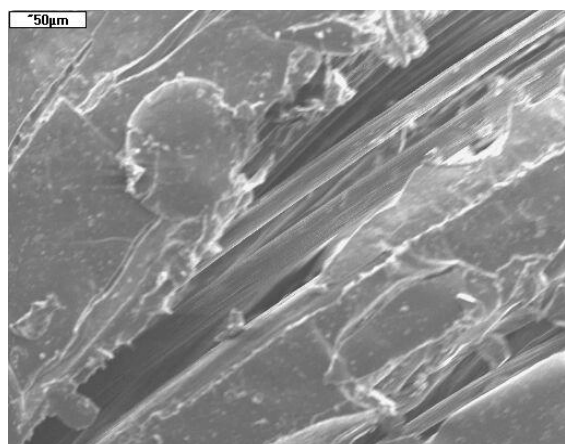
Zmiany pH w przypadku kompozytu PGLA+PAN/HAP następują później niż dla czystego PGLA. Niewielkie zmiany wytrzymałości tego kompozytu w trakcie inkubacji wynikają nie tylko z jego wolniejszej degradacji, ale głównie z wysokiej wytrzymałości samych włókien, które pomimo ubytków w osnowie utrzymują ciągłość kompozytu (rys. 7).

Wytrzymałość kompozytu PGLA+HAP ulega stopniowo obniżeniu, co świadczy o jego degradacji. Dlatego też można wnioskować, że brak zmian pH w przypadku tego materiału jest wynikiem rozpuszczenia i ponownego wytrącania ziaren hydroksyapatytu. Potwierdzają to zdjęcia mikroskopowe powierzchni PGLA+HAP otrzymane po 6 i 12 tygodniach jego inkubacji (rys. 8 i 9). Po 6 tygodniach widoczne są liczne pory pozostałe po rozpuszczeniu HAP, następnie po przekroczeniu iloczynu rozpuszczalności jonów wapnia i fosforu przy powierzchni implantu nastąpiło wytrącanie ziaren HAP (12 tydzień).



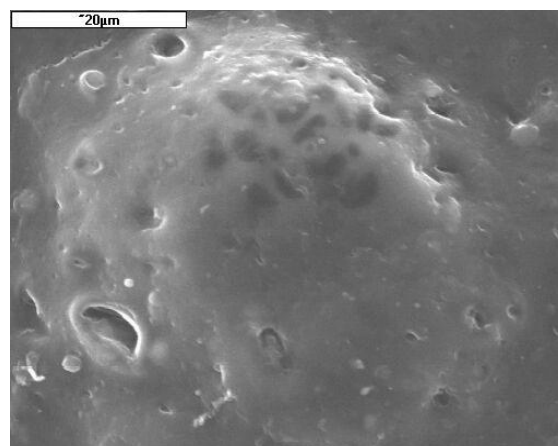
Rys. 6. Mikrofotografia SEM próbki PGLA+HAP po 6 tygodniach inkubacji w płynie Ringera

Fig. 6. SEM microphotographs of PGLA+HAP samples after 6 weeks of incubation in Ringer's solution



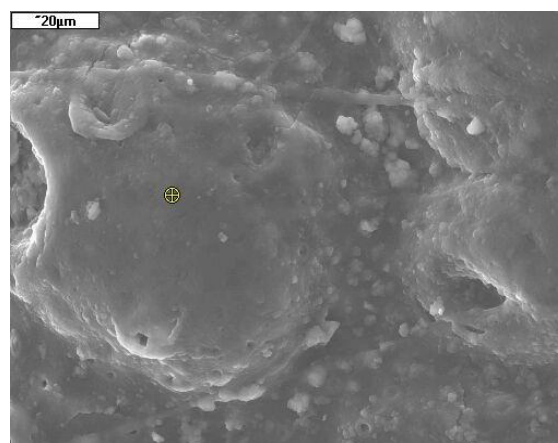
Rys. 7. Mikrofotografia SEM próbki PGLA+HAP po 12 tygodniach inkubacji w płynie Ringera

Fig. 7. SEM microphotographs of PGLA+HAP samples after 12 weeks of incubation in Ringer's solution



Rys. 8. Mikrofotografia SEM próbki PGLA+HAP po 5 tygodniach inkubacji w płynie Ringera

Fig. 8. SEM microphotographs of PGLA+HAP samples after 5 weeks of incubation in Ringer's solution



Rys. 9. Mikrofotografia SEM próbki PGLA+HAP po 12 tygodniach inkubacji w płynie Ringera

Fig. 9. SEM microphotographs of PGLA+HAP samples after 12 weeks of incubation in Ringer's solution

WNIOSKI

Wszystkie badane materiały charakteryzują się niskim modułem Younga. Stanowi to istotną zaletę tych materiałów, gdyż dopasowanie modułów sprężystości implantu i kości sprzyja właściwemu obciążeniu tkanki kostnej i umożliwia jej prawidłową odbudowę.

Wprowadzenie do osnowy kopolimeru PGLA włókien PAN modyfikowanych hydroksyapatytem zapewnia najbardziej efektywną poprawę wytrzymałości, a równoczesne nadanie cech bioaktywności związane z obecnością hydroksyapatytu stwarza możliwość zastosowania tego kompozytu do otrzymania implantów wielofunkcyjnych, które w początkowym etapie zespolenia zapewnią właściwą stabilizację odłamów kostnych, a następnie, stopniowo ustępując miejsca tkance kostnej, będą aktywowały jej wzrost. Wyjaśnienia w dalszych badaniach wymaga wydłużony czas degradacji tego kompozytu oraz odpowiedź tkankowa na pozostałe w miejscu wszczepu włókna PAN.

Poprawę wytrzymałości kopolimeru zapewnia także dodatek włókien węglowych. Skuteczniejszą poprawę wytrzymałości można osiągnąć przez kierunkowe ułożenie włókien (1D, 2D) lub zwiększenie ich udziału objętościowego. Równocześnie włókna te znacznie przyspieszają degradację kopolimeru. Szybka degradację osnowy obserwuje się również po jej modyfikacji nanorurkami węglowymi.

Kompozyty modyfikowane cząstkami hydroksyapatytu i nanorurkami cechują się najniższą wytrzymałością. Ogranicza to ich potencjalne zastosowanie do roli wypełniaczy ubytków kostnych.

Podziękowania

Praca finansowana w ramach projektu badawczego Nr N507 203 32/3778, ze środków Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

LITERATURA

- [1] An Y.H., Woolf S.K., Friedman R.J., Pre-clinical in vivo evaluation of orthopaedic bioabsorbable devices, *Biomaterials* 2000, 21, 2635-2652.
- [2] Gogolewski S., Bioresorbable polymers in trauma and bone surgery, *Int. J. Care Injured* 2000, 31, S-D28-32.
- [3] Ramakrishna R., Mayer J., Wintermantel E., Leong K.W., Biomedical applications of polymer-composite materials: a review, *Composites Science and Technology* 2001, 61, 1189-1224.
- [4] Ahmed I., Parsons A.J., Palmer G., Knowles J.C., Walker G.S., Rudd C.D., Weight loss, ion release and initial mechanical properties of a binary calcium phosphate glass fibre/PCL composite, *Acta Biomaterialia* 2008, 4, 1307-1314.
- [5] Oksman K., Skrifvars M., Selin J.-F., Natural fibres as reinforcement in poly(lactic acid) (PLA) composites, *Composites Science and Technology* 2003, 63, 1317-1324.
- [6] Hasegawa S., Ishii S., Tamura J., Furukawa T., Neo M., Matsusue Y., Shikinami Y., Okuno M., Nakamura T., A 5÷7 year in vivo study of high-strength hydroxyapatite/poly(L-lactide) composite rods for the internal fixation of bone fractures, *Biomaterials* 2006, 27, 1327-1332.
- [7] Kim H.-W., Lee H.-H., Chun G.-S., Bioactivity and osteoblast responses of novel biomedical nanocomposites of bioactive glass nanofiber filled poly(lactic acid), *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 2008, 85, 651-663.
- [8] Chłopek J., Czajkowska B., Szaraniec B., Frackowiak E., Szostak K., Béguin F., In vitro studies of carbon nanotubes biocompatibility, *Carbon* 2006, 44, 1106-1111.
- [9] Dobrzyński P., Kasperczyk J., Janeczek H., Synthesis of biodegradable copolymers with the use of low toxic zirconium compounds. 1. Copolymerization of glycolide with L-lactide initiated by Zr(Acac)₄, *Macromolecules* 2001, 34, 5090-5099.