Patrycja Rosół[1], Jan Chłopek[2]
Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, al. Mickiewicza 30/A3, 30-059 Kraków

Carsten Schweder[3]
University of Applied Sciences Münster, Faculty of Chemical Engineering

KOMPOZYTY Z POLIMERÓW BIOSTABILNYCH I BIORESORBOWALNYCH MODYFIKOWANE BIOAKTYWNĄ CERAMIKĄ

Celem pracy była analiza właściwości mechanicznych i biologicznych w warunkach *in vitro* materiałów przeznaczonych na implanty przenoszące obciążenia mechaniczne. Na osnowy kompozytów wybrano polimery o różnym zachowaniu biologicznym: biostabilny - polisulfon (PSU) oraz bioresorbowalny kopolimer poli(laktydo-ko-glikolid) (PGLA). Próbki polimerowe modyfikowano bioaktywnymi cząstkami hydroksyapatytu (HA) otrzymanego z kości zwierzęcych. Zachowanie biologiczne badanych materiałów oceniono na podstawie obserwacji SEM próbek inkubowanych w warunkach zbliżonych do panujących w ludzkim organizmie przez 30 dni. Jednocześnie prowadzono badania zmian przewodnictwa wody destylowanej, zmian pH płynu Ringera i zmian masy próbek polimerowych i kompozytowych w czasie zanurzenia ich w roztworze Ringera. Trwałość mechaniczną określono poprzez badania pełzania w warunkach *in vitro*. Próbki poddano działaniu wybranych obciążeń z zakresu 2,5÷50 MPa i obserwowano czasy ich zniszczenia. Dodatek cząstek hydroksyapatytu do PSU i PGLA spowodował zmniejszenie trwałości kompozytów w stosunku do materiałów wyjściowych. Badane kompozyty wykazują natomiast korzystne zachowanie biologiczne, co potwierdzają obserwacje powierzchni próbek inkubowanych w sztucznym środowisku biologicznym. Bioaktywne cząstki na ich powierzchni mogą działać jak kotwy dla tkanki kostnej, będącej w kontakcie z tym materiałem, co zapewnia dobrą fiksację implantów wytworzonych z kompozytów PSU/HA i PGLA/HA z żywą tkanką. W przypadku PGLA, który jest materiałem bioresorbowalnym, trudno przewidzieć jego zachowanie w długim okresie czasu na podstawie przeprowadzonych krótkich testów. Dlatego niezbędne jest wykonanie dla tego materiału prób w rzeczywistym czasie potrzebnym do realizacji wybranej funkcji biologicznej.

Słowa kluczowe: **kompozyty polimerowe, hydroksyapatyt, implanty, pełzanie**

BIOSTABLE AND BIORESORBABLE POLYMERIC COMPOSITES MODIFIED BY BIOACTIVE CERAMICS

Polymer matrix composites are widely applied in medicine. Implants made of these materials have mechanical properties similar to natural tissues, show good biological compatibility, and also can be formed into various shapes. Seen the fact that such composite implants are subject to both biological environments and increased stresses within the real body, extended loads may seriously deteriorate their mechanical properties. In addition, it is the nature of these matrix polymers that their strength decreases with time. Investigations presented in this study show the influence of conditions of simulating human body on the mechanical properties of biostable (polysulfone - PSU) and bioresorbable (poly(lactide-ko-glicolide) - PGLA) polymers and its composites reinforced with hydroxyapatite (HA). The biological properties of polymers and polymer composites was examined in the SBF during 30 days. The pH of solutions and the mass measurements were performed on a weekly basis (Figs 2 and 3). After the 30 days the microstructure was examined using scanning electron microscope (SEM) Jeol JSM-5400 (Figs 5 and 6). The implants' durability examination was performed by comparison of the results of creep tests in *in vitro* environments. The so called creep curves were obtained as the result of loading samples with various mechanical stresses (Fig. 4). Their analyses allowed to predict the behaviour of the examined composites under the conditions close to natural (i.e. extended action of mechanical stresses aided by aggressive environment of body fluids). The introduction of HA to polymer matrix decreased mechanical properties but significantly enhanced bioactivity. Since PGLA is a biosorbable material, and it is difficult to predict its long term behaviour on the basis of short-term tests, the long-term creep tests seem to be necessary.

Key words: **polymer composites, hydroxyapatite, implants, creep**

WSTĘP

Powszechnie stosowane do wytwarzania implantów materiały metaliczne, ceramiczne i polimerowe pomimo wielu zalet posiadają szereg niekorzystnych cech. Metale o bardzo dobrych właściwościach mechanicznych są zbyt sztywne w stosunku do kości, jak również ulegają korozji w agresywnym środowisku biologicznym [1]. Biozgodna ceramika jest zbyt krucha i nieodporna na cykliczne obciążenia mechaniczne [2]. Z kolei właściwości mechaniczne polimerów pozwalają pracować im tylko w przypadku niewielkich obciążeń [3-5]. Istnie- je

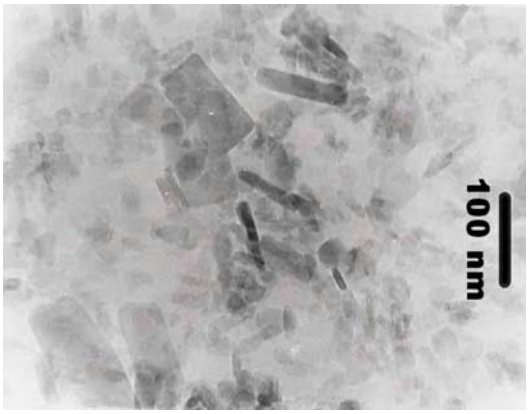
[1] mgr inż., [2] dr hab. inż., prof. AGH, [3] student

możliwość wytworzenia materiałów o kontrolowanych właściwościach mechanicznych oraz określonym zachowaniu biologicznym. Możliwość taką oferują kompozyty polimerowe (biostabilne i bioresorbowalne) wzmacniane fazą ceramiczną w postaci cząstek lub włókien, o różnej długości i orientacji, które cieszą się coraz większą popularnością w medycynie [6-9]. W przypadku kompozytów biostabilnych wprowadzenie do osnowy polimerowej cząstek lub włókien może zmienić mechanizm oddziaływania ze środowiskiem biologicznym i tym samym wpływać na długotrwałą pracę tego typu implantów. Stosowanie osnów resorbowalnych prowadzi do powstania implantów wielofunkcyjnych, w których po spełnieniu funkcji biomechanicznej (zespolenia) po procesie resorpcji faza wzmacniająca może pełnić rolę rusztowania dla wzrostu tkanki kostnej. Ponadto fazy modyfikujące mogą nadawać cechy bioaktywne kompozytom. O bioaktywności może świadczyć fakt powstawania powłok fosforanowych na powierzchni kompozytów polimerowo-ceramicznych zaobserwowany podczas inkubacji w SBF w 37°C, czyli w warunkach podobnych jak podczas powstawania naturalnego apatytu. Utworzenie takiej warstwy bioaktywnej przyczynia się do uzyskania mocnego połączenia materiału kompozytowego z kością po implantacji [10-12].

Podstawowym problemem w przypadku kompozytów polimerowych modyfikowanych bioaktywną ceramiką jest określenie warunków, w jakich materiały te mogą bezpiecznie funkcjonować. Dotyczy to poziomu i rodzaju naprężeń (stałe, zmienne) oraz wpływu środowiska biologicznego, agresywnego z chemicznego punktu widzenia. Badanie trwałości implantów w środowisku biologicznym w warunkach podwyższonych naprężeń jest jednym z najważniejszych testów decydu-jących o przydatności materiałów dla medycyny o wydłużonym czasie działania. W niniejszej pracy ocenę tę przeprowadzono na podstawie prób pełzania dla próbek polimerowych i kompozytów modyfikowanych bioaktywną ceramiką przy różnym poziomie naprężeń w obecności płynów ustrojowych. Przeprowadzono też badania biologiczne po inkubacji materiałów w sztucznym środowisku biologicznym.

MATERIAŁY I METODY

Badania przeprowadzono na kształtkach w formie wiosełek otrzymanych metodą wtrysku wykonanych z: polisulfonu (PSU) produkcji Aldrich Chemical Company, Inc. USA, temperatura wtrysku - 345°C, $C_{27}H_{26}O_6S$ M = 26 000, T_g = 190°C, d = 1,24 g/cm^3 oraz poli(laktydo-ko-glikolidu) (PGLA), PLA:PGA - 84:16, M_n = 92 000, temperatura wtrysku - 175°C wytworzonego w Centrum Chemii Polimerów PAN w Zabrzu [13]. Do wytworzenia kompozytów użyto nanocząstek hydroksyapatytu $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (HA) pochodzenia naturalnego (z kości wieprzowej) (rys. 1) w ilości 10% mas., d = 3,16 g/cm^3, S_w = 71,4 m^3/g, otrzymanego w Katedrze Ceramiki Specjalnej AGH w Krakowie [14].



Rys. 1. Struktura hydroksyapatytu badana za pomocą transmisyjnego mikroskopu elektronowego

Fig. 1. Structure of the hydroxyapatite examined by means of transmission electron microscope

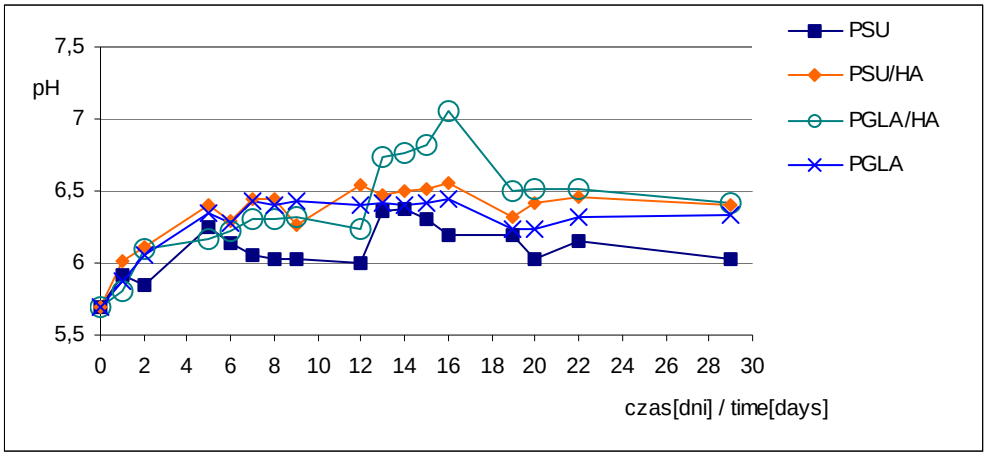
Badania wstępne wykazały, że mniejsza niż 10% ilość cząstek hydroksyapatytowych użyta do modyfikacji kompozytów polimerowych nie nadaje im cech bioaktywnych, z kolei dodatek większej ilości cząstek ze względu na kruchą naturę wytworzonych kompozytów pogarsza ich właściwości mechaniczne.

Do symulacji środowiska biologicznego użyto płynu Ringera produkcji Baxter Terpol Sp. z o.o. o następującym składzie [g/dm^3]: NaCl - 8,60; KCl - 0,30; $CaCl_2$ - 0,48. Dodatkowo materiały inkubowano przez 30 dni w temperaturze 37°C w płynie SBF (sztuczne osocze) o następującym składzie jonowym [mmol/l]: Na^+ - 142,0, K^+ - 5,0, Ca^{2+} - 2,5, Mg^{2+} - 1,5, Cl^- - 148,8, HCO_3^- - 4,2, HPO_4^{2-} - 1,0, SO_4^{2-} - 0,5.

Pomiary właściwości mechanicznych przeprowadzono za pomocą uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej Zwick 1435. Pełzanie w warunkach *in vitro* obserwowano przez 48 godzin wg normy PN-83/C-89041. Zmiany zachodzące na powierzchni próbek inkubowanych w symulowanym środowisku biologicznym obserwowano za pomocą mikroskopu skaningowego Jeol JSM-5400 z mikroanalizatorem rentgenowskim LINK ISIS Seria 300.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Zachowanie biologiczne badanych próbek w warunkach *in vitro* oceniono na podstawie zmian pH płynu Ringera i zmian masy próbek w czasie zanurzenia w roztworze Ringera w temperaturze 37°C przez 30 dni.



Rys. 2. Zmiany pH płynu Ringera w funkcji czasu inkubacji badanych próbek

Fig. 2. The pH changes of Ringer's fluid as a function of incubation time of tested samples

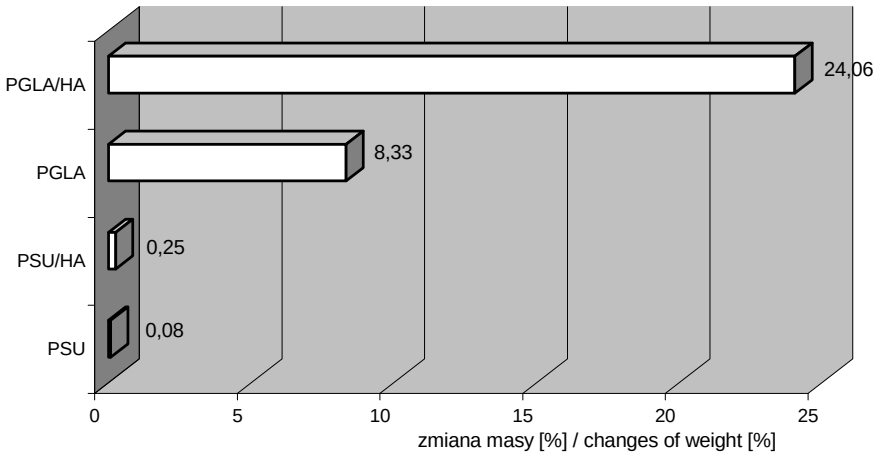


Fig. 3. Zmiana masy badanych próbek po inkubacji w płynie Ringera (30 dni, t = 37°C)

Fig. 3. Variation of the mass of the tested samples after incubation in Ringer's fluid (30 days, t = 37°C)

Rysunek 2 pokazuje brak istotnych zmian pH roztworu Ringera podczas inkubacji czystego polisulfonu. Świadczy to o jego stabilności w warunkach *in vitro*. Wyniki te potwierdzają znany z literatury fakt stabilności polisulfonów w warunkach symulujących środowisko żywego organizmu [15]. W przypadku kompozytów PSU/HA obserwuje się zmiany pH w przedziale 5,5÷6,5, co jest związane z obecnością bioaktywnych cząstek hydroksyapatytu. Największe zmiany pH zaobserwowano w przypadku kompozytu PGLA/HA, co jest spowodowane zarówno resorbowalnym charakterem osnowy, jak i obecnością bioaktywnych cząstek ceramicznych. Nie przekraczają one jednak wartości pH ~7.

Podobne wnioski można wysnuć na podstawie obserwacji zmian masy próbek w wyniku inkubacji w płynie Ringera o temperaturze 37°C, przez taki sam czas (rys. 3). Dla PSU i PSU/HA obserwuje się nieznaczny wzrost masy, który jest wynikiem charakterystycznego dla polimerów efektu wchłaniania wilgoci. W przypadku PGLA obserwuje się wzrost masy ok. 8% w stosunku do masy początkowej, natomiast dla kompozytu PGLA/HA wzrost masy próbek dochodzi do 25%. Jest to spowodowane m.in. wnikaniem płynu do matrycy i fazy wzmacniającej, a także dodatkowymi reakcjami zachodzącymi na granicy międzyfazowej polimer - bioaktywne cząstki.

W celu określenia trwałości badanych materiałów przeprowadzono próby pełzania w warunkach *in vitro*. Stosowanie różnych poziomów naprężeń pozwoliło otrzymać rodziny krzywych pełzania, które przedstawiono na rysunku 4.

Zależność między zastosowanymi obciążeniami a odpowiadającymi im czasami zniszczenia (wykresy trwałości) można przedstawić równaniem: $\sigma = C_0 - C \cdot \ln t$ (C_0, C - stałe wyznaczone empirycznie) [16]. Dla badanych próbek otrzymano następujące zależności:

PSU: $\sigma_z = 65{,}0955 - 2{,}9924 \ln t$

współczynnik korelacji - 0,9924

PSU/HA: $\sigma_z = 56{,}3835 - 3{,}3572 \ln t$

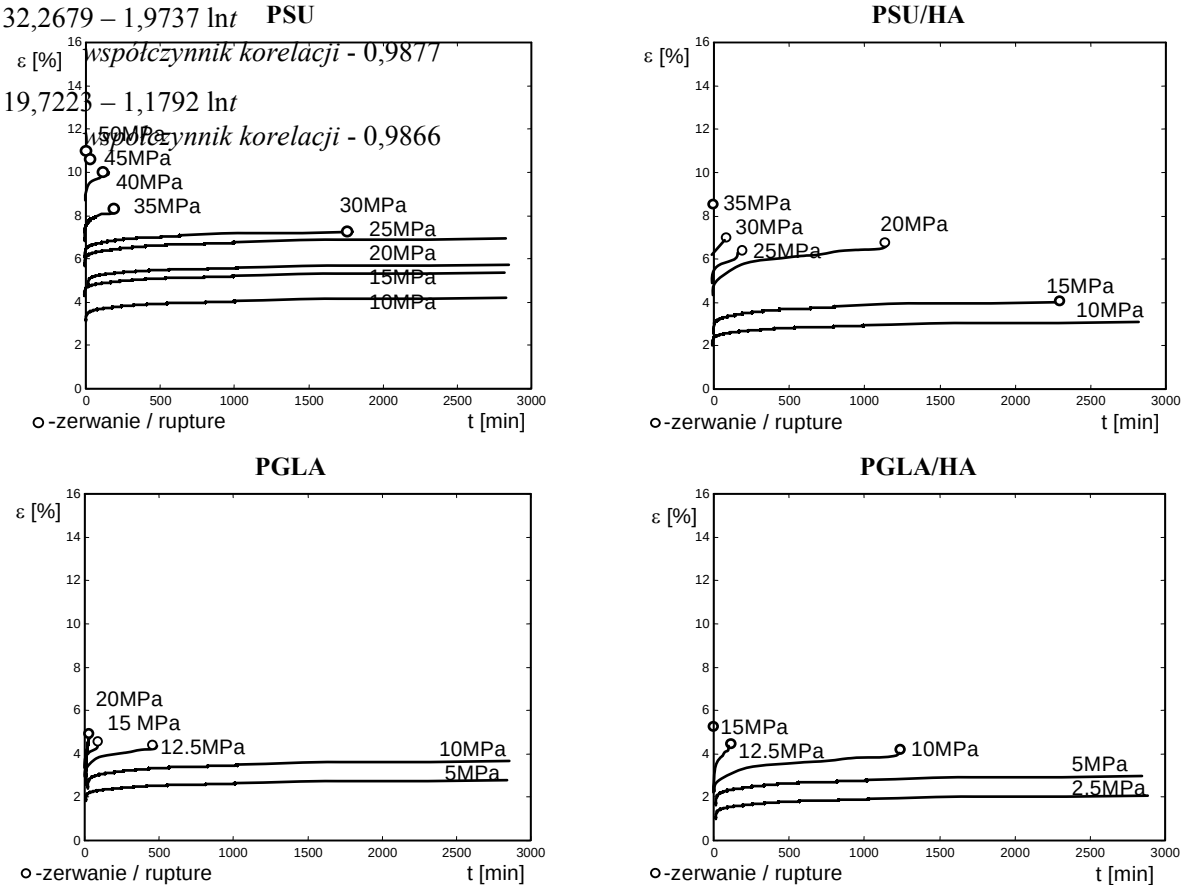
współczynnik korelacji - 0,9743

PGLA: $\sigma_z = 32{,}2679 - 1{,}9737 \ln t$

współczynnik korelacji - 0,9877

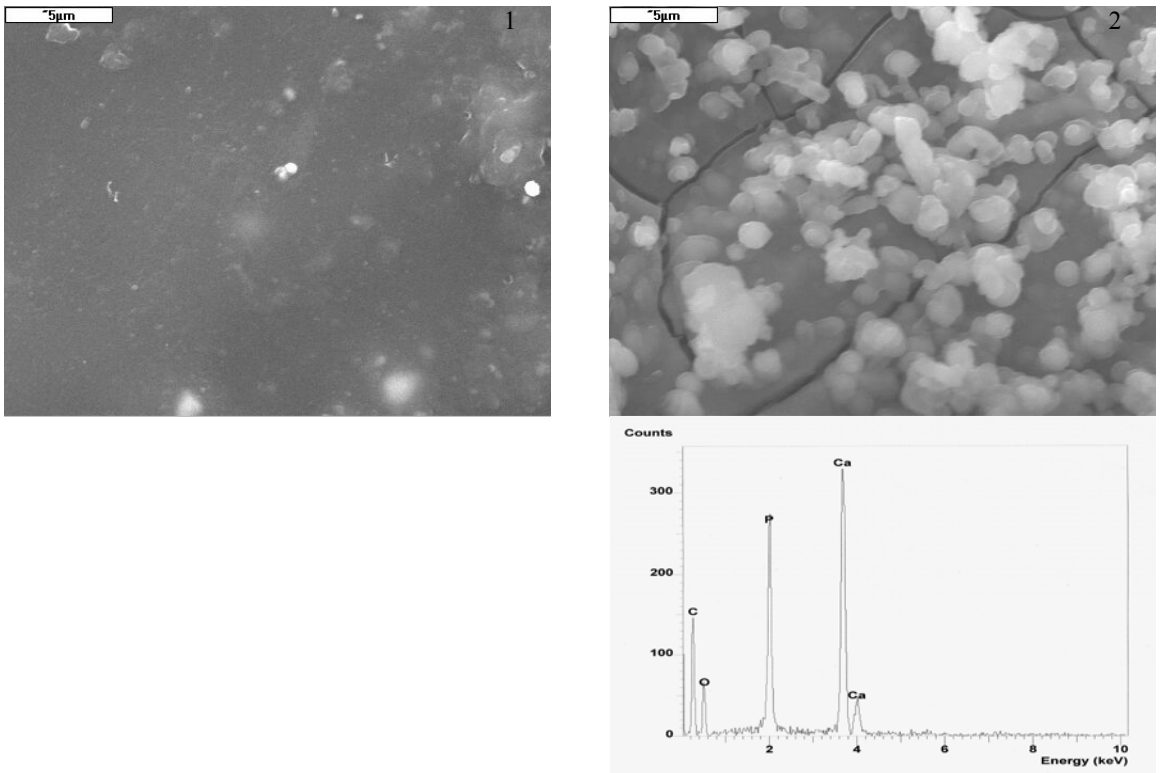
PGLA/HA: $\sigma_z = 19{,}7223 - 1{,}1792 \ln t$

współczynnik korelacji - 0,9866



Rys. 4. Rodziny krzywych pełzania dla badanych materiałów w warunkach *in vitro*

Fig. 4. Creep curves at various stress levels under in vitro conditions



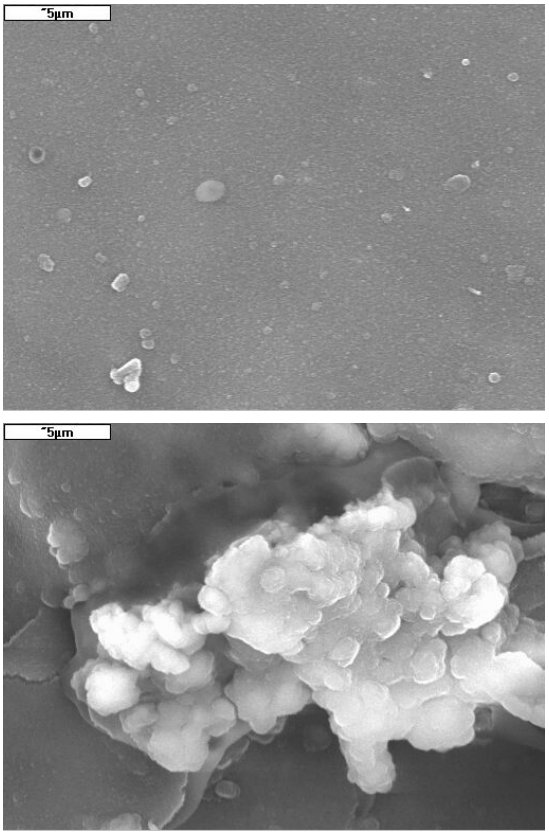
Rys. 5. Obrazy SEM powierzchni kompozytu 1) PSU/HA; 2) PSU/HA po inkubacji w SBF i mikroanaliza EDS powierzchni próbki (pow. 5000x)

Fig. 5. SEM micrographs of composite: 1) PSU/HA, 2) PSU/HA after incubation in SBF and EDS microanalysis of the sample surface (magn. 5000x)

Analiza powyższych zależności umożliwiła znalezienie wielkości obciążeń pozwalających na bezpieczną pracę implantów wykonanych z badanych materiałów (bez zniszczenia) dla odpowiednich czasów leczenia; np. czas leczenia złamań w obrębie części twarzowej czaszki obejmuje najczęściej 4÷6 tygodni [17]. Wielkości największych obciążeń; jakie można bezpiecznie stosować dla badanych materiałów przez 6 tygodni w warunkach *in vitro* to: 19,9 MPa dla PSU, 5,7 MPa dla PSU/HA, 2,5 MPa dla PGLA oraz 1,9 MPa dla PGLA/HA. Obciążenia te są niewielkie i ograniczają zastosowanie implantów wykonanych z badanych materiałów do obszarów, gdzie występują niskie wartości naprężeń. Może to dotyczyć elementów zespalających dla chirurgii szczękowo-twarzowej, łączników w zespoleniach neutralizujących oraz do fiksacji odłamów w złamaniach awulsyjnych. Ponadto w przypadku PGLA, który jest materiałem bioresorbowalnym, trudno przewidzieć jego zachowanie w długim okresie czasu na podstawie przeprowadzonych krótkich testów. Dlatego niezbędne jest wykonanie dla tego materiału prób w rzeczywistym czasie potrzebnym do realizacji wybranej funkcji biologicznej.

1

2



Rys. 6. Obrazy SEM powierzchni kompozytu 1) PGLA/HA; 2) PGLA/HA po inkubacji w SBF (pow. 5000x)

Fig. 6. SEM micrographs of composite: 1) PGLA/HA, 2) PGLA/HA after incubation in SBF (magn. 5000x)

Niemniej jednak kompozyty wzmacniane bioaktywną ceramiką wykazują korzystne zachowanie biologiczne. Bioaktywne cząstki HA na powierzchni implantu wykonanego z takiego kompozytu mogą działać jak kotwy ułatwiające jego przyczepność do tkanki kostnej. Rysunek 5 pokazuje przykładowy obszar wydzieleń hydroksyapatytu potwierdzony mikroanalizą rentgenowską (EDS), zaobserwowany na powierzchni kompozytu PSU/HA inkubowanego w SBF przez 30 dni w temperaturze 37°C.

W przypadku kompozytów PGLA/HA obserwuje się proces narastania HA w SBF (rys. 6), a jego intensywność wzrasta po częściowej resorpcji osnowy polimerowej.

WNIOSKI

Na podstawie krzywych pełzania określono trwałość polimerów i ich kompozytów z hydroksyapatytem w warunkach *in vitro*. Otwiera to możliwość dopasowania właściwości mechanicznych i ich zmienności w czasie do warunków leczenia określonych tkanek.

Próbki modyfikowane cząstkami hydroksyapatytu wykazują najmniejszą trwałość, jednak ich bioaktywny charakter może przyczynić się do lepszego połączenia wytworzonych z nich implantów z żywą tkanką.

Praca została zrealizowana w ramach projektu badawczego: PBZ-KBN-082/T08/2002, finansowanego przez Komitet Badań Naukowych.

LITERATURA

[1] Reclaru L., Lerf R., Eschler P.Y., Meyer J.M., Corrision behavior of a welded stainless - steel orthopedic implant, Biomaterials 2001, 22, 269-279.

[2] Cao W., Hench L.L., Bioactive materials, Ceramics International 1996, 22, 493-507.

[3] Chłopek J., Kmita G., Non-metallic composite materials for bone surgery, Engineering Transactions 2003, 51, 2, 3, 307--323.

[4] Chłopek J., Kmita G., Rosół P., Life time of polymeric composite implants on the basis creep and fatigue tests, Annals of Transplantation 2004, 9 IA (suppl.), 26-29.

[5] Chłopek J., Konieczna B., Rosół P., Implanty polimerowe - ocena ich biozgodności i trwałości, Mechanika w medycynie, Zbiór prac seminarium naukowego pod red. M. Korzyńskiego, J. Cwanke, Rzeszów 2004, 55-63.

[6] Ramakrishna S., Mayer J., Wintermantel E., Kam W. Leong, Biomedical applications of polymer - composite materials:
a review, Comp. Sci. Techn. 2001, 61, 1189-1224.

[7] Mano J.F., Sousa R.A., Boesel L.F., Neves N.M., Reis R.L., Bioinert, biodegradable and injectable polymeric matrix composites for hard tissue replacement: state of the art. and recent developments, Comp. Sci. Techn. 2004, 64, 789-817.

[8] Chłopek J., Kompozyty w medycynie, Kompozyty (Composites) 2001, 1, 50-54.

[9] Evans S.L., Gregson P.J., Composite technology in load - bearing orthopaedic implants, Biomaterials 1998, 19, 1330--1342.

[10] Stoch A., Brożek A., Stoch J., Jastrzębski W., Długoń E., Sitko M., Biomimetyczny wzrost fosforanów na zmodyfikowanej powierzchni biokompozytu węglowego, Inż. Biomat. 2000, 10, 23-29.

[11] Chłopek J., Błażewicz M., Szaraniec B., Kompozyty bioaktywne, Acta of Bioengineering and Biomechanics 2000, 3, 1, 39-46.

[12] Luklinska Z.B., Bonfield W., (in:) Bone - bonding Biomaterials, eds. P. Ducheyne, T. Kokubo, C.A. van Blitterswijk, Reed Healthcare Communications, The Netherlands 1992.

[13] Dobrzyński P., Kasperczyk J., Janeczek M., Bero M., Synthesis of biodegradable glycolide/L-lactide copolymers using iron compounds as initiators, Polymer 2002, 43, 2595-2601.

[14] Haberko K., Bućko M., Haberko M., Mozgawa W., Pyda A., Zarębski J., Hydroksyapatyt naturalny - preparatyka, właści-wości, Inż. Biomateriałów 2003, VI, 30-33, 32-38.

[15] Wenz L.M., Merritt K., Brown S.A., Moet A., In vitro biocompatibility of polyetheretherketone and polysulfone composites, J Mat. Res. 1990, 24, 207.

[16] Wilczyński A.P., Mechanika polimerów w praktyce konstrukcyjnej, Warszawa 1984.

[17] Cieślik T., Pogorzelska-Stronczak B., Kliniczna ocena płytek i śrub z materiału złożonego węgiel - węgiel stosowanych do zespolenia złamanej żuchwy, Czasopismo Stomatologiczne 1996, XLIX, 559-562.

Recenzent
Izabella Hyla