

WYTWARZANIE POROWATYCH RUSZTOWAŃ Z POLI(3-HYDROKSYMAŚLANU-KO-3-HYDROKSYWALERIANU) ZA POMOCĄ TECHNIKI SZYBKIEGO PROTOTYPOWANIA

ŻANETA KUBLIK, JOANNA IDASZEK, WOJCIECH ŚWIĘSZKOWSKI*

POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ, WARSZAWA, POLSKA

*MAILTO: WOJCIECH.SWIESZKOWSKI@INMAT.PW.EDU.PL

Streszczenie

Poli(3-hydroksymaślan-ko-3-hydroksywalerian) (PHBV) jest polimerem biodegradowalnym należącym do grupy poliestrów alifatycznych. Polimer ten jest termoplastem o wysokim wskaźniku szybkości płynięcia, co utrudnia jego przetwarzanie za pomocą wyciągania. W przedstawionych badaniach wytworzono mieszkankę PHBV z PLGA oraz wyznaczono jej masowy wskaźnik szybkości płynięcia (MFR). Dodatek PLGA obniżył MFR, co umożliwiło wytworzenie trójwymiarowego rusztowania za pomocą techniki szybkiego prototypowania.

Słowa kluczowe: PHBV, PLGA, wskaźnik szybkości płynięcia, inżynieria tkankowa, technika szybkiego prototypowania

[*Inżynieria Biomateriałów, 116-117, (2012), 79-81*]

Wprowadzenie

Użycie biodegradowalnych rusztowań do uzupełniania ubytków tkanek pozwala uniknąć reoperacji związanej z usuwaniem tradycyjnych implantów. Poli(3-hydroksymaślan-ko-3-hydroksywalerian) (PHBV) jest biopolimerem cieszącym się obecnie dużym zainteresowaniem jako potencjalny materiał do wytwarzania bioresorbowalnych rusztowań do inżynierii tkankowej. PHBV jest biogodny z tkanką kostną, chrzęstną, krwią oraz z wieloma typami komórek (np. fibroblastami, komórkami śródbłonna, hepatocytami) [1,2]. Dodatkowo produkty rozkładu PHBV mają pH wyższe od produktów hydrolizy np. poliglikolidu (PGA). Mniej kwaśne pH produktów degradacji zmniejsza ryzyko wystąpienia stanów zapalnych w miejscach uzupełnianych ubytków. PHBV, ze względu na tę zaletę oraz dobre właściwości mechaniczne, wydaje się być odpowiednim materiałem do regeneracji tkanki kostnej. PHBV po stopieniu wykazuje wysoką płynność, przez co jest trudny do przetwarzania metodą wyciągania [3].

Celem prezentowanych badań było zmodyfikowanie PHBV w sposób pozwalający na wytworzenie porowatych rusztowań za pomocą jednej z technik szybkiego prototypowania, tzw. osadzania topionego materiału (ang. FDM - Fused Deposition Modeling).

Materiały i metody

Do badań użyto następujących materiałów: Poli(3-hydroksymaślan-ko-3-hydroksywalerian) (PHBV, zawartość HV 12% wagowych, Sigma-Aldrich, USA) i poli(L-laktyd-ko-glikolid) (PLGA, Resomer 855S, zawartość GA 15% molo-wych, lepkość 2.5 - 3.5 dl/g, Boehringer Ingelheim, Niemcy). Chlorek metylenu (cz.d.a.; Chempur; Polska).

FABRICATION OF POROUS POLY (3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE) SCAFFOLDS USING A RAPID PROTOTYPING TECHNIQUE

ŻANETA KUBLIK, JOANNA IDASZEK, WOJCIECH ŚWIĘSZKOWSKI*

WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING, WARSAW, POLAND

*MAILTO: WOJCIECH.SWIESZKOWSKI@INMAT.PW.EDU.PL

Abstract

Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) is a biodegradable polymer which belongs to a group of aliphatic polyesters. PHBV is a thermoplast with a relatively high melt flow index. This property makes it difficult to process by means of extrusion. In the present study we have prepared PHBV blended with PLGA and determined its melt flow rate (MFR). The addition of PLGA decreased MFR, which enabled fabrication of three-dimensional scaffold by means of Fused Deposition Modeling (FDM).

Keywords: PHBV, PLGA, melt flow index, MFR, tissue engineering, rapid prototyping
[*Engineering of Biomaterials, 116-117, (2012), 79-81*]

Introduction

The use of biodegradable scaffolds to treat tissue losses allows to avoid removal of a non-biodegradable implant. Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) is a biopolymer, which has been widely investigated as a potential material for fabrication of bioresorbable scaffolds for tissue engineering. PHBV is biocompatible with bone, cartilage, blood and various cells, such like fibroblasts, endothelium cells or hepatocyte [1,2]. In addition, degradation products of PHBV have a pH higher than the hydrolysis products of polymers like e.g. polyglycolide (PGA). Less acidic pH of the degradation products reduces risk of an inflammation in supplemented tissue losses [3]. PHBV, due to abovementioned advantages, as well as its good mechanical properties, seems to be a suitable material for bone tissue regeneration. The molten PHBV exhibits relatively high fluidity, which makes it difficult to process by means of an extrusion [4].

The aim of present study was to modify PHBV to enable fabrication of 3D porous scaffolds using one of the rapid prototyping techniques, namely Fused Deposition Modeling (FDM).

Materials and methods

The following materials were used: Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV, HV content of 12 wt%, Sigma-Aldrich, USA); poly (L-lactide-co-glycolide) (PLGA, Resomer 855S, GA content of 15 mol%, inherent viscosity of 2.5 - 3.5 dl / g, (Boehringer Ingelheim, Germany); methylene chloride (Chempur, Poland).

The polymeric blend was prepared by solvent casting technique. The PHBV and PLGA were dissolved in methylene chloride and then cast into a Petri dish. The resulting films were dried in a vacuum dryer and cut into small pieces. The such prepared blend was used for measurements of the MFR and fabrication of the scaffolds.

TABELA 1. Warunki wyznaczania masowego wskaźnika szybkości płynięcia.

TABLE 1. Conditions of determination of the mass melt flow index.

Material / Material	PHBV	PHBV/ PLGA	PLGA
Temperatura pomiaru / Temperature of the test [°C]	165	165	190
Czas grzania wstępnego próbki bez obciążenia / Time of pre-heating of a sample without load [s]	300	180	180
Czas grzania wstępnego próbki z obciążeniem / Time of pre-heating of a sample with load (2.16kg) [s]	0	120	120
Obciążenie podczas pomiaru / Load during the measurement [kg]	2,16	2,16	2,16
Wskaźnik szybkości płynięcia / Mass Flow Rate [g/10min]	19,58	6,00	5,65

Mieszanka była przygotowana przez odlanie z roztworu. PHBV i PLGA rozpuszczono w chlorku metylenu a następnie wylano na szalkę Petriego. Powstałe filmy, po ich wysuszeniu w suszarce próżniowej (40°C, 100mbar), pocięto i użyto do badań właściwości reologicznych i wytwarzania rusztowań.

Masowy wskaźnik szybkości (MFR) płynięcia wyznaczono na plastometrze Melt Flow Modular Line (Ceast, Italy). Warunki wyznaczania MFR dla poszczególnych materiałów przedstawiono w TABELI 1. Właściwy pomiar polegał na odcinaniu próbek w równych odstępach czasowych. Wskaźnik szybkości płynięcia, wyrażony w g/10 min, obliczono ze wzoru (1):

$$MFR(T, m_{nom}) = 600 m / t \quad (1)$$

gdzie:

T - temperatura badania, w °C

m_{nom} - nominalne obciążenie, w kg

m - średnia masa wytłoczek, w g

t - odstęp czasu odcinania, w s

600 - współczynnik do przeliczania gramów na sekundę na gramy na 10 minut.

Trójwymiarowe rusztowania wytworzono metodą szybkiego prototypowania na urządzeniu BioScaffolder (SYSENG, Niemcy) w temperaturze 167°C i pod ciśnieniem 0,2 MPa. Bioscaffolder umożliwia przyrostowe formowanie trójwymiarowych rusztowań za pomocą uplastycznionego polimeru (wytłaczanie).

Obserwację mikroskopową wytworzonych rusztowań przeprowadzono na skaningowym mikroskopie elektronowym TM3000 (Hitachi, Japonia). Zdjęcia wykonano w trybie BSE przy napięciu 15keV oraz różnych powiększeniach.

Wyniki i dyskusja

Dodatek 30% wagowych PLGA spowodował około 3-krotne obniżenie wskaźnika szybkości płynięcia w porównaniu do czystego PHBV. Spadek wskaźnika był wynikiem dodatku PLGA, który wykazuje znacznie mniejszą płynność niż PHBV (MFR (190°C, 2,16kg) = 5,65 g/10min), a w temperaturze wyznaczania MFR dla mieszanki PHBV/PLGA praktycznie nie płynie (badanie własne). Obserwacje mikroskopowe potwierdziły, iż zmniejszenie płynności PHBV pozwoli-

MFR was determined by means of a plastometer (Modular Line Melt Flow, Ceast, Italy). Conditions of measurements are shown in TABLE 1. The melt flow rate, expressed as g/10min, was calculated from formula 1:

$$MFR(T, m_{nom}) = 600 m / t \quad (1)$$

where:

T - temperature of the test, in °C

m_{nom} - nominal load, in kg

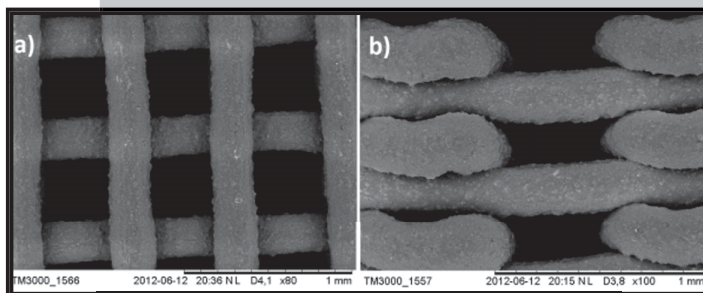
m - average mass of the extrudates, in g

t - time interval between cuts, in s

600 - conversion factor from grams per second to grams per 10 minutes.

Three-dimensional scaffolds were fabricated on a FDM-device BioScaffolder (SYSENG, Germany) at 167 °C and a pressure of 0.2 MPa. BioScaffolder enables formation of three-dimensional scaffolds by deposition of molten polymer (extrusion) layer by layer.

Microscopic observation of scaffolds was performed on scanning electron microscope TM3000 (Hitachi, Japan). Micrographs were taken in BSE mode at an acceleration voltage of 15keV and variety of magnifications.



RYS.1. Mikrofotografie SEM wytworzonych rusztowań z PHBV/PLGA: a) widok z góry; b) widok z boku.

FIG.1 SEM micrographs of PHBV/PLGA scaffolds: a) top view; b) side view.

Results and discussions

Addition of 30 wt% of PLGA resulted in over a triple decrease of MFR if compared to neat PHBV. The decrease of the index was due to presence of PLGA, which exhibits MFR lower than PHBV (MFR (190°C, 2,16kg) = 5,65 g/10min) and hardly flows at 165 °C (temperature of measurement of MFR for PLGA/PHBV blend). This addition allowed to produce 3D scaffolds. Microscopic observation confirmed the potential of PHBV/PLGA blend for FDM applications. SEM micrographs of fabricated scaffolds of PHBV/PLGA are shown in FIGURE 1. It can be seen that the scaffolds made of blend had completely interconnected, open pores and uniformly distributed fibers. In addition, SEM observations of surface morphology confirmed presence of inclusions of PLGA (in the form of microspheres).

ło na wytworzenie trójwymiarowych. Na RYS.1 przedstawiono mikrofotografie SEM rusztowań wytworzonych z PHBV/PLGA, które posiadały otwarte i wzajemnie ze sobą połączone pory oraz równomierne rozłożone włókna. Dodatkowo obserwacje morfologii powierzchni pozwoliły stwierdzić obecność inkluzji PLGA (w postaci mikrosfer).

Wnioski

Przedstawione w tej pracy wyniki sugerują, że mieszanka PHBV/PLGA jest obiecującym materiałem do wytwarzania trójwymiarowych i porowatych rusztowań dla inżynierii tkankowej. Dalsza praca skupi się na badaniach właściwości mechanicznych, profilu degradacji oraz biogodności opisanych rusztowań.

Podziękowania

Praca została zrealizowana w ramach projektu „Bioimplanty dla potrzeb leczenia ubytków tkanki kostnej u chorych onkologicznych” finansowanego z Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka (Nr projektu POIG.01.01.02-00-022/09).

Conclusions

Results presented here suggest that the PHBV-PLGA blend is a promising material for fabrication of three-dimensional and porous scaffolds for tissue engineering. Further work will focus on the study of mechanical properties, degradation profile and biocompatibility of described scaffolds.

Acknowledgments

This work was supported by the European Regional Development Fund within the Innovative Economy Operational Programme in the frame of project BIO-IMPLANT (Grant No. POIG.01.01.02-00-022/09).

Piśmiennictwo

- [1] S. K. Misra, S. P. Valappil, I. Roy, A. R. Boccaccini, Polyhydroxyalkanoate (PHA)/Inorganic Phase Composites for Tissue Engineering Applications. *BioMacromolecules* 2006, Vol. 7, No. 8: 2250-2258.
- [2] M. Zinn, B. Witholt, T. Egli, Occurrence, synthesis and medical application of bacterial polyhydroxyalkanoate. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2001; 53: 5-21.

References

- [3] K. Rezwana, Q.Z. Chena, J.J. Blakera, A. R. Boccaccini, Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2006; 27:3413-3431.
- [4] T. Garbacz, J. W. Sikora; Przetwórstwo tworzyw polimerowych, Ćwiczenia laboratoryjne, Część 1; Politechnika Lubelska; 2012.