

MODYFIKACJA HYDROKSYAPATYTEM WŁÓKIEN RESORBOWALNYCH

JOANNA BUCZYŃSKA*, ELŻBIETA PAMUŁA*,
STANISŁAW BŁAŻEWICZ*, TERESA MIKOŁAJCZYK**,
MACIEJ BOGUŃ**, PIOTR DOBRZYŃSKI***,
KRZYSZTOF HABERKO****

*AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW, AL. MICKIEWICZA 30,
30-059 KRAKÓW

**POLITECHNIKA ŁÓDZKA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII I MARKETINGU TEKSTYLIÓW,
KATEDRA WŁÓKIEN SZTUCZNYCH,
ŻEROMSKIEGO 116, 90-543 ŁÓDŹ

***CENTRUM CHEMII POLIMERÓW, POLSKA AKADEMIA NAUK,
UL. CURIE-SKŁODOWSKIEJ 34/20, 41-819 ZABRZE

****AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
KATEDRA CERAMIKI SPECJALNEJ,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

Streszczenie

Stosując metodę przędzenia z roztworu na mokro otrzymano trzy rodzaje włókien PGLA różniących się średnicą i właściwościami mechanicznymi. Włókna poddano inkubacji w sztucznym płynie fizjologicznym (SBF) w celu uzyskania warstwy fosforanu wapnia na powierzchni włókien. Oceniono mikrostrukturę wydzieleni fosforanowych i właściwości mechaniczne otrzymanych materiałów. Badania wykazały, że ilość i morfologia wydzieleni zależy od czasu przetrzymywania włókien w roztworze SBF. Po 15 dniach inkubacji powierzchnie wszystkich włókien całkowicie były pokryte warstwą fosforanu wapnia. Wytrzymałość na rozciąganie oraz odkształcenie zniszczenia wszystkich włókien spadały w funkcji czasu inkubacji w SBF, natomiast moduł Younga włókien ulegał podwyższeniu. Inkubacja w buforowanym roztworze soli fizjologicznej (PBS) nie powodowała zmian właściwości mechanicznych włókien.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),85-89]

Wprowadzenie

Ceramika bioaktywna, do której zaliczamy hydroksyapatyt (HAP) i fosforan trójwapniowy (TCP), jest często wykorzystywana do wypełniania ubytków lub naprawy uszkodzonych kości. Główną cechą ceramiki bioaktywnej jest jej zdolność chemicznego wiązania się z kością poprzez biologicznie czynną warstwę apatytu podobnego do występującego w naturalnych kościach. Warstwa bioaktywna tworzy się na powierzchni ceramiki w naturalnym lub sztucznym środowisku biologicznym i składa się z drobnokrystalicznego hydroksyapatytu węglanowego o zdeformowanej strukturze [1-3].

Resorbowalne polimery na przykład polilaktyd (PLA), poliglikolid (PGA) i ich kopolimery (PGLA) są również używane w medycynie, ze względu na to, że ulegają degradacji hydrolitycznej, a produkty degradacji usuwane są z organizmu na drodze metabolicznej [4-7]. Projektowanie i wytwarzanie materiałów dla chirurgii kości łączące doskonałą biozgodność hydroksyapatytu i resorbowalność poliestrów alifatycznych wydaje się być najlepszym rozwiązaniem dla

MODIFICATION OF RESORBABLE FIBRES WITH HYDROXYAPATITE

JOANNA BUCZYŃSKA*, ELŻBIETA PAMUŁA*,
STANISŁAW BŁAŻEWICZ*, TERESA MIKOŁAJCZYK**,
MACIEJ BOGUŃ**, PIOTR DOBRZYŃSKI***,
KRZYSZTOF HABERKO****

*AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLAND

**TECHNICAL UNIVERSITY OF ŁÓDŹ,
FACULTY OF TEXTILE ENGINEERING AND MARKETING,
DEPARTMENT OF MAN-MADE FIBRES,
ZEROMSKIEGO 116 STR, 90-543 ŁÓDŹ, POLAND

***CENTRE OF POLYMER CHEMISTRY,
POLISH ACADEMY OF SCIENCES,
UL. CURIE-SKŁODOWSKIEJ 34/20, 41-819 ZABRZE, POLAND

****AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF ADVANCED CERAMICS,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW, POLAND

Abstract

Three types PGLA fibres differing in diameter and mechanical properties were manufactured by solution spinning process. The fibres were incubated in simulated body fluid (SBF) to deposit calcium phosphate layer on their surface. The microstructure of deposits and mechanical properties of the materials were characterized. The results show that the amount and morphology of deposits depend on incubation time in SBF. After 15 days of incubation the surface of all fibres was completely covered with calcium phosphate layer. Tensile strength and strain of all fibres decreased during incubation time in SBF, while Young modulus of fibres increased. The incubation in phosphate buffered saline (PBS) did not cause changes in mechanical properties of fibres.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),85-89]

Introduction

Bioactive ceramic materials, for example hydroxapatite or tricalciumphosphate, are often used for treatment and repairing of bone defects, especially in oral and maxillofacial surgery. The main feature of bioactive ceramics is their ability to bond chemically to bone through a biologically active layer of bonelike apatite. This active layer is formed *in vivo* on the surface of ceramics, and is composed of small crystallites of carbonate-containing hydroxyapatite with defected structure [1-3].

Resorbable polymers, e.g. polylactide (PLA), polyglycolide (PGA) and their copolymers (PGLA) are also used in medicine, because they undergo hydrolytic degradation, and finally resorption through metabolic pathways [4-7]. Designing and preparation of materials for bone surgery combining both excellent biocompatibility of hydroxyapatite and resorbability of aliphatic polyesters seem to be an effective way to produce medical devices which can mimic the structure of natural bone.

The aim of this study was to modify the surface of resorbable PGLA fibres with a layer of hydroxyapatite, deposited by biomimetic process from simulated body fluid (SBF) and to evaluate the microstructure and mechanical properties of the studied materials.

produkcji implantów medycznych, które mogą naśladować strukturę naturalnej kości.

Celem pracy była modyfikacja powierzchni resorbowalnych włókien PGLA warstwą hydroksyapatytu, otrzymaną metodą biomimetyczną ze sztucznego płynu fizjologicznego (SBF) oraz ocena mikrostruktury i właściwości mechanicznych otrzymanych materiałów.

Materiały

Kopolimer glikolidu z L-laktydem (Purac, Holandia) zsyntezowano przez kopolimeryzację w stopie w temperaturze 100°C z użyciem inicjatora acetyloacetonianu cyrkonu (IV) $Zr(acac)_4$, wykorzystując w celu odgazowania stopu konwencjonalną linię próżniową, zgodnie z metodą opisaną poprzednio [8]. Analiza 1H NMR wykazała, że stosunek molowy glikolidu do L-laktydu w kopolimerze wynosił 16:84. Chromatografia żelowa wykazała, że liczbowo średnia masa cząsteczkowa, M_n , kopolimeru wynosiła 190 000 D, a wagowa masa cząsteczkowa, M_w , 323 000 D.

Otrzymano trzy rodzaje włókien: włókna NW (o niskiej wytrzymałości), włókna HAP (zawierające 3% wag. hydroksyapatytu) oraz włókna WW (o wysokiej wytrzymałości). Proszek hydroksyapatytu otrzymano z kości zwierzęcych przez ekstrakcję za pomocą gorącego roztworu NaOH według metody opisanej poprzednio [9].

Włókna otrzymano metodą formowania z roztworu na mokro. Roztwór polimeru (11.5-15%) sporządzono przez rozpuszczenie PGLA w N,N-dimetyloformamidzie (DMF). Stosowano przędzarkę wielokolaboratoryjną z dyszą przędzalniczą 240-otworową o średnicy otworków 0,08 mm. Proces zestalania prowadzono w wodnej kąpeli zawierającej rozpuszczalnik 35% w temperaturze 15°C. Do produkcji włókien NW i HAP proces rozciągu realizowano jednoetapowo (kąpiel plastyfikacyjna zawierająca 35% rozpuszczalnika w temperaturze 45°C). Do produkcji włókien WW pierwszy etap prowadzony był w kąpeli plastyfikacyjnej zawierającej 25% rozpuszczalnika i temperaturze 35°C, podczas gdy drugi etap prowadzono w parze wodnej o temperaturze 98°C. Po usunięciu rozpuszczalnika włókna suszono w temperaturze pokojowej.

Metody

Właściwości materiałów

Obserwacje mikrostruktury włókien przeprowadzono za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego JSM 5400 JEOL przy powiększeniach 1000 i 2000 razy. Przed analizą próbki napyłono cienką warstwą węgla w celu nadania im właściwości przewodzących. Przeprowadzono mikroanalizę rentgenowską wydzielań fosforanowych za pomocą mikroanalizatora rentgenowskiego EDS (Link AN 10 000, Wielka Brytania). Średnica włókien PGLA była mierzona na Lanametrze stosując okular z podziałką mikrometryczną, jako uśrednienie pomiarów 35 pojedynczych włókien.

Badania in vitro

Sztuczny płyn fizjologiczny (SBF) przygotowano według przepisu [10], przy czym stężenia poszczególnych soli były trzykrotnie większe niż w naturalnym płynie zewnątrzkomórkowym człowieka. Roztwór zbuforowano do pH 7.28 tris(hydroksymetylo)aminometanem (TRIS) i kwasem solnym. Równocześnie prowadzono badania degradacji w buforowanym roztworze soli fizjologicznej (PBS) (0.9% NaCl, 24mM Na_2HPO_4 i 16mM KH_2PO_4 ; o pH równym 7.0 w temperaturze 37°C). Pojedyncze włókna przyklejono na specjalne ramki (jedno włókno na jedną ramkę) umieszczo-

Materials

Copolymer of glycolide and L-lactide (PGLA) was synthesized by in bulk copolymerization with a $Zr(acac)_4$ initiator at 100°C by a conventional method using a vacuum line for degassing and sealing of the ampoules, according to the method described previously [8]. A molar ratio of glycolide to L-lactide in the copolymer PGLA was 16:84, as determined by 1H NMR. Gel permeation chromatography showed that number average molecular mass, M_n , of copolymer was 190 000 D, and weight average molecular mass, M_w , was 323 000 D.

Three different fibres were obtained: fibres NW (low tensile strength), fibres HAP (containing 3 wt% of hydroxyapatite) and fibres WW (higher tensile strength). Hydroxyapatite powder was of natural origin produced by extraction with hot NaOH solution from animal bones, according to the method described previously [9].

The fibres were spun from the solution by the wet process. Polymer solutions (11.5-15%) were prepared by dissolving of PGLA into N,N-dimethyl formamide (DMF). The laboratory spinning machine with spinneretes containing 240 orifices of diameter of 0,08 mm was used. The solidification process was carried out in a bath containing an aqueous solution of the solvent (35%) at 15°C. To produce NW and HAP fibres the drawing process was performed in a single stage (plastic bath containing 35% of the solvent at 45°C). To produce WW fibres the first stage was performed in a plastic bath containing 25% of the solvent at 35°C, while the second stage was performed in water vapour at 98°C. Finally, the solvent was rinsed off, and the resultant fibres were dried at room temperature.

Methods

Properties of materials

The microstructure of fibres was studied by JSM 5400 scanning electron microscope (JEOL, Japan) at magnification 1000 and 2000 times. Before analysis the samples were coated with a thin carbon layer in order to make them conductive. X-Ray microanalysis (EDS) of phosphate deposits of fibres was performed using EDS microanalyser (Link AN 10 000, Great Britain).

The diameter of PGLA fibres was measured by Lanametr using eyepiece with a micrometer scale and it was obtained by averaging the diameter of 35 individual fibres.

In vitro study

The simulated body fluid (SBF) was prepared according to [10], but the concentrations of the salts were three times higher than those of the human blood plasma. The fluid was buffered at pH 7.28 with the mixture tris(hydroksymetylo)aminometanem (TRIS) and HCl. At the same time the degradation study of fibres was performed in phosphate buffered saline (PBS) (0.9% NaCl, 24mM Na_2HPO_4 and 16mM KH_2PO_4 ; pH=7.0, 37°C). The individual fibres were stuck to special frames (one fiber to one frame) and incubated in 100 ml of SBF or PBS in a plastic vials for 15 and 21 days, respectively. The solutions were exchanged every 3 days. After 5, 10, 15 and 21 days the frames with the fibres were taken, washed three times in UHQ water (PureLab UHQ, Elga, Germany) and dried in a vacuum oven at 25°C for 24 hours.

Mechanical properties

Mechanical properties of fibres: tensile strength, Young modulus and elongation at break on 35 individual fibres from each experimental group were measured at room tempera-

no w pojemnikach z tworzywa sztucznego, zalano 100 ml roztworu SBF lub PBS i przetrzymywano odpowiednio przez 15 i 21 dni. Roztwory były wymieniane co 3 dni. Po 5, 10, 15 i 21 dniach włókna wyjmowano z płynów, płukano trzy razy w ultraczystej wodzie i suszono w suszarce próżniowej w temperaturze 25°C przez 24 godziny.

Właściwości mechaniczne

Właściwości mechaniczne: wytrzymałość na rozciąganie, moduł Younga i odkształcenie przy zerwaniu 35 pojedynczych włókien każdej grupy badano w temperaturze pokojowej za pomocą uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej Zwick 1435 stosując szybkość rozciągania 50 mm/min. Długość próbki (włókna) była równa 25 mm, moduł Younga mierzony był w zakresie obciążeń od 0.002 N do 0.004 N.

Wyniki i dyskusja

Badania wykazały, że średnica włókien zależała od metody otrzymania. Włókna zawierające 3% hydroksyapatytu (HAP) miały największą średnicę ($29 \pm 3.2 \mu\text{m}$). Średnica włókien NW była nieco niższa ($27.7 \pm 1.9 \mu\text{m}$), podczas gdy włókna WW miały najmniejszą średnicę ($16.9 \pm 1.4 \mu\text{m}$). Włókna WW miały najwyższą wytrzymałość $62 \pm 4.0 \text{ MPa}$, moduł Younga $1.2 \pm 0.1 \text{ GPa}$, i odkształcenie przy zerwaniu $12.6 \pm 0.8\%$. Właściwości mechaniczne włókien NW i HAP były znacznie niższe [RYS.3-5]. Wyniki wykazują, że właściwości mechaniczne włókien silnie zależą od parametrów procesu przędzenia, zwłaszcza procesu rozciągania.

Na RYS.1 przedstawiono obraz z mikroskopu skaningowego włókien PGLA po 5, 10 i 15 dniach inkubacji w SBF. Po 5 dniach na powierzchni włókien NW oraz WW widoczne były pojedyncze, kuliste wydzielania, które tworzyły odizolowane skupiska, w przeciwieństwie do włókien HAP, których cała powierzchnia była pokryta wydzieleniami. Po 10 dniach inkubacji powierzchnie włókien NW, WW oraz HAP były pokryte całkowicie wydzieleniami. Inkubacja w SBF przez 15 dni powodowała dalsze wydzielanie się hydroksyapatytu z SBF, co powodowało wzrost średnicy włókien [RYS.2]. Mikroanaliza rentgenowska wydzielań wykazała obecność wapnia, fosforu węgla i tlenu. Stosunek wapnia do fosforu wahał się od 1.55 do 1.74, i był zbliżony do stechiometrycznego hydroksyapatytu (1.65)

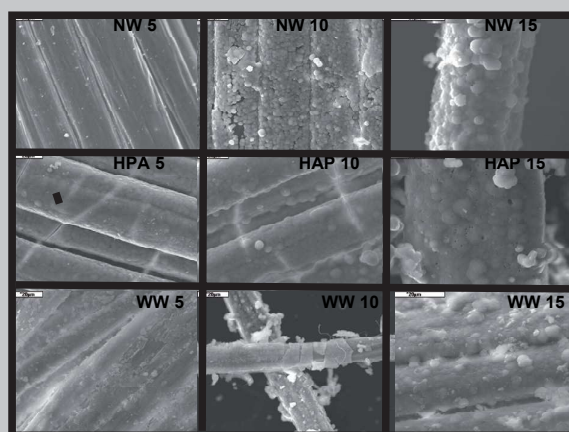
RYS.3-5 pokazują właściwości mechaniczne włókien: wytrzymałość na rozciąganie, moduł Younga oraz odkształcenie przy zerwaniu po 5, 10 i 15 dniach inkubacji w płynie SBF i PBS. Wytrzymałość na rozciąganie włókien spadała podczas inkubacji w SBF [Rys.3a], podczas gdy w czasie inkubacji w PBS praktycznie nie zmieniała się do 21 dnia [RYS.3b]. Oznacza to, że pogorszenie właściwości mechanicznych nie było spowodowane degradacją hydrolytyczną, tylko powstawaniem wydzielań hydroksyapatytu na powierzchni włókien. Po 15 dniach włókna NW stawały się do tego stopnia kruche, że nie było możliwe przeprowadzenie badań mechanicznych. Moduł Younga wszystkich włókien zwiększał się wraz z czasem inkubacji [Rys.4a]. Wzrost modułu Younga włókien NW i WW w funkcji czasu inkubacji w SBF był stopniowy. Moduł Younga włókien HAP wzrósł z 1.1 GPa do 5.6 GPa po 5 dniach i nie zmieniał się przez cały okres badań. Inkubacja w PBS nie miała wpływu na moduł Younga wszystkich włókien [Rys.4b]. Odkształcenie przy zerwaniu włókien NW i HAP gwałtownie spadało już po 5 dniach inkubacji w SBF, natomiast dla włókien WW prawie nie zmieniało się do 15 dni [RYS.5a]. Inkubacja w PBS przez 3 tygodnie nie wpływała na odkształcenie włókien [RYS.5b].

ture by universal testing machine Zwick 1435 at crosshead speed of 50 mm/min. The length of the specimen was 25 mm. The Young modulus was estimated in the range of loading between 0.002 N and 0.004 N.

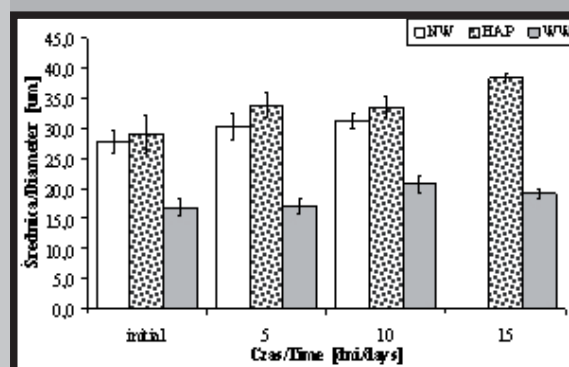
Results and discussion

The size of the fibres varied according to the method of preparation. The fibres with 3% of hydroxyapatite in bulk (HAP) had the biggest diameter ($29 \pm 3.2 \mu\text{m}$). The diameter of NW fibres was slightly lower ($27.7 \pm 1.9 \mu\text{m}$), while the WW fibres had the lowest diameter of $16.9 \pm 1.4 \mu\text{m}$. The WW fibres had the highest tensile strength of $62 \pm 4.0 \text{ MPa}$, Young modulus of $1.2 \pm 0.1 \text{ GPa}$ and elongation at break of $12.6 \pm 0.8\%$. The mechanical properties of NW and HAP fibres were significantly lower [FIG.3-5]. The results show that the mechanical properties of fibres strongly depend on solution spinning parameters, especially drawing process.

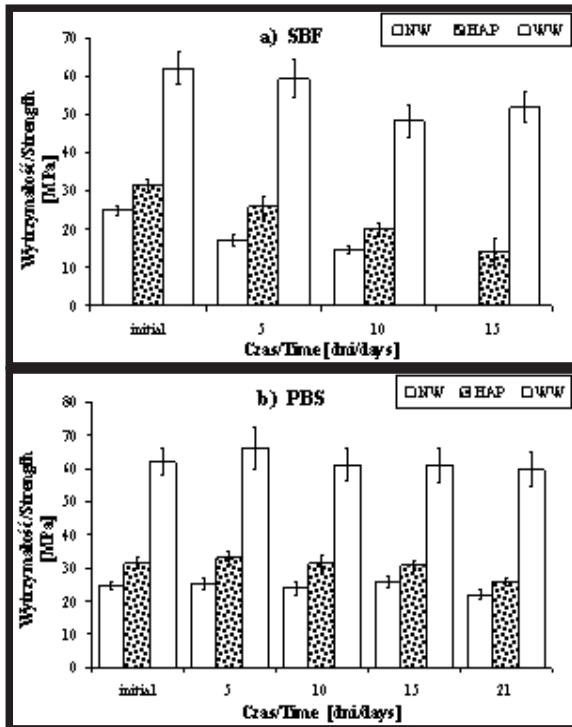
FIG.1. shows microstructure of PGLA fibres after 5, 10 and 15 days of incubation in SBF. After 5 days on the surface of NW and WW single spherical deposits forming isolated clusters were seen, while on HAP fibres the whole surface was covered by deposits. After 10 days of incubation the surface of NW, WW and HAP fibres was covered with deposits completely. Incubation in SBF for 15 days caused further



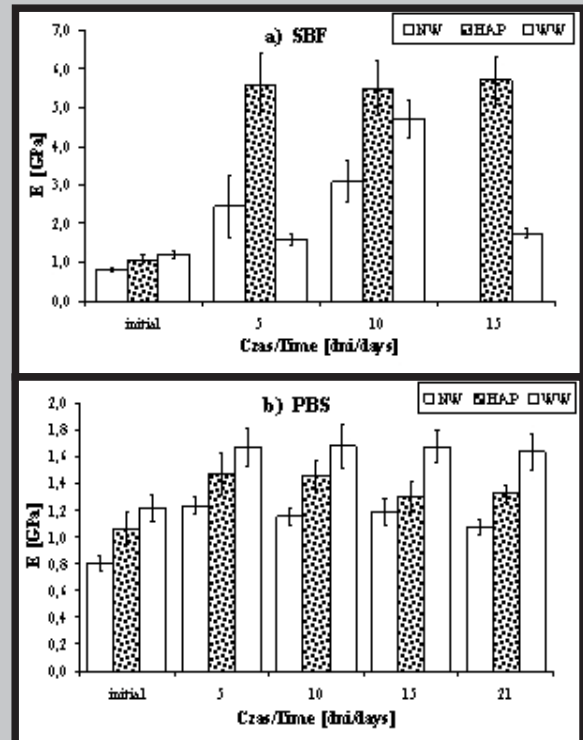
RYS.1. Obraz mikrostruktury włókien PGLA po inkubacji w przez 5, 10 i 15 dni.
FIG.1. SEM microphotographs of PGLA fibres after incubation in SBF for 5, 10 and 15 days.



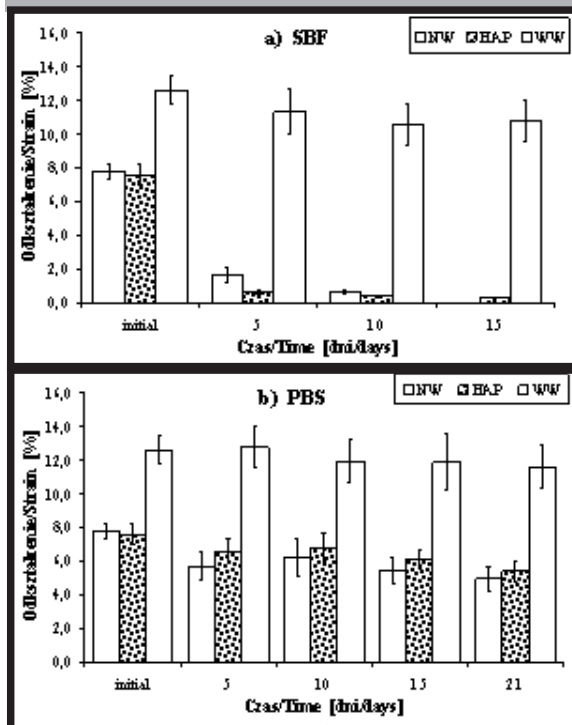
RYS.2. Zmiana średnicy włókien PGLA w funkcji czasu inkubacji w SBF.
FIG.2. Diameter changes of PGLA fibres during incubation in SBF.



RYS.3. Zależność wytrzymałości włókien PGLA od czasu inkubacji w: a) SBF, b) PBS.
 FIG.3. Variation of tensile strength of PGLA fibres as a function of incubation time in: a) SBF, b) PBS.



RYS.4. Zależność modułu Younga włókien PGLA od czasu inkubacji w: a) SBF, b) PBS.
 FIG.4. Variation of Young's modulus of PGLA fibres as a function of incubation time in: a) SBF, b) PBS.



RYS.5. Zależność odkształcenia przy zniszczeniu włókien PGLA od czasu inkubacji w: a) SBF, b) PBS.
 FIG.5. Variation of elongation at break of PGLA fibres as a function of incubation time in: a) SBF, b) PBS.

deposition of hydroxyapatite from SBF, what was reflected in the diameter of fibres [FIG.2]. X-Ray microanalysis of the deposits indicated presence of calcium, phosphorus, carbon and oxygen (data not presented). The molar ratio of calcium to phosphorus was in the range 1.55–1.74, similar to that of stoichiometric hydroxyapatite (1.65).

FIG.3-5. show mechanical properties of PGLA fibres: tensile strength, Young modulus and elongation at break after 5, 10 and 15 days of incubation in SBF and PBS. Tensile strength of fibres decreased during incubation time in SBF [Fig.3a], whereas it did not change during incubation in PBS [FIG.3b]. It means that deterioration of mechanical properties was not caused by hydrolytic degradation, but resulted from deposition of hydroxyapatite. After 15 days the NW fibres were so fragile, that it was impossible to perform mechanical tests. Young modulus of all types of fibres increased during incubation [FIG.4a]. The Young modulus of NW and WW fibres increased gradually as a function of incubation time in SBF. It is interesting to notice that Young modulus of HAP fibres increased from 1.1 GPa up to 5.6 GPa after 5 days, and remained constant for the whole experimental period. Incubation in PBS had no impact on Young modulus of all fibres [FIG.4b]. The elongation at break of NW and HAP fibres decreased rapidly already after 5 days of incubation in SBF, while that of WW fibres remained almost constant up to 15 days [FIG.5a]. Incubation in PBS during 3 weeks did not influence elongation at break [FIG.5b].

Conclusions

1. PGLA fibres characterized by the diameter in the range from 17 μm to 30 μm and the tensile strength in the range

Wnioski

1. Stosując metodę formowania z roztworu DMF na mokro otrzymano włókna PGLA o średnicy od 17 μm do 30 μm i wytrzymałości na rozciąganie od 26 MPa do 62 MPa.
2. Badania wykazały, że hydroksyapatyt może być wprowadzany do objętości włókien podczas procesu przędzenia i/lub wydzielany na powierzchni z SBF. Modyfikacja powierzchniowa poprawia właściwości mechaniczne włókien (szczególnie moduł Younga)
3. Na podstawie wyznaczonych parametrów mechanicznych włókien i obserwacji morfologii wydzieleni hydroksyapatytu można stwierdzić, że optymalny czas inkubacji włókien HAP wynosi 5 dni, natomiast aby otrzymać homogeniczną warstwę fosforanu wapnia na włóknach NW i WW proces inkubacji musi być przedłużony do 10 dni. Sugeruje to, że obecność cząsteczek hydroksyapatytu w objętości włókien PGLA przyspiesza wydzielanie fosforanu wapnia z roztworu SBF.

Podziękowania

Praca była finansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (grant 3T08D 023 30).

from 26 to 62 MPa were produced by the wet process from copolymer solution in DMF.

2. Hydroxyapatite can be introduced in bulk of the fibres during solution spinning process and/or deposited on the fibres' surface from SBF. Surface modification improves mechanical properties of the fibres (particularly Young modulus).
3. According to mechanical properties of the fibres and morphology of the hydroxyapatite layer it is sufficient to incubate HAP fibres in SBF for 5 days, while in order to get a homogeneous layer of hydroxyapatite on NW and WW fibres the process must be prolonged up to 10 days. It suggests that presence of hydroxyapatite particles in bulk of PGLA fibres accelerates deposition of calcium phosphates from SBF solution.

Acknowledgements

This study was supported by the Ministry of Science and Higher Education (grant No. 3T08D 023 30).

Piśmiennictwo

- [1] R. Zang, P. X. Ma: "Porous poly(L-lactic acid)/apatite composites created by biomimetic process", *Journal of Biomedical Materials Research* 45, 1999, 285-293
- [2] K. Zang, Y. Wang, M. A. Hillmyer, L. F. Francis: "Processing and properties of porous poly(L-lactide)/bioactive glass composites", *Biomaterials* 25, 2004, 2489-2500
- [3] A. Stoch, A. Brożek, J. Stoch, W. Jastrzębski, E. Długoń, M. Sitko: „Biomimetic growth of phosphates on modified biocarbon surface”, *Engineering of Biomaterials* 10, 2000, 23-29
- [4] P.X. Ma: "Scaffolds for tissue fabrication", *Materials Today* 7(50), 2004, 30-40
- [5] B.L. Seal, T. C. Otero, A. Panitch: "Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration", *Materials Science and Engineering R* 34, 2001, 147-230

References

- [6] J. C. Middleton, A. J. Tipton: "Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices", *Biomaterials* 21, 2000, 2335-2346
- [7] S. Dumitriu: "Polymeric biomaterials", Marcel Dekker Inc, USA 2002, 179, 180
- [8] P. Dobrzyński, J. Kasperczyk, H. Janeczek, M. Bero: „Synthesis of biodegradable copolymers with the use of low toxic zirconium compounds. 1. Copolymerization of glycolide with L-lactide initiated by $\text{Zr}(\text{acac})_4$ ", *Macromolecules* 34, 2001, 5090-5098
- [9] K. Haberko, M.M. Bučko, J. Brzezińska-Miecznik, M. Haberko, W. Mozgawa, T. Panz, A. Pyda, J. Zarębski, „Natural hydroxyapatite – its behaviour during heat treatment”, *Journal European Ceramic Society* 26, 2006, 537-542
- [10] T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro: „Solution able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramics A-W”, *Journal of Biomedical Materials Research* 24, 1990, 724-734