

- [1] Chłopek J., Kmita G., Dobrzyński P., Bero M.: Właściwości zmęczenia śrub z kopolimeru P(LLA/GLA) oraz kopolimeru wzmocnionego włóknem węglowym. Inż. Biomat. 2002, 23, 24, 25, 88-90.
- [2] Czajkowska B., Kowal J.: Wpływ makrofagów na proces degradacji poli(kwasu L-mlekowego). Inż. Biomat. 2002, 22, 23-27.
- [3] Czajkowska B., Kowal J., Ptak M., Bobek M.: Oddziaływanie makrofagów i osteoblastów z kopolimerami PLLA z GLA. Inż. Biomat. 2001, 17, 18, 19, 22.
- [4] Czajkowska B., Bero M., Dobrzyński P., Kasperczyk J.: Badanie biogodności kopolimerów glikolidu i laktydu otrzymywanych z wykorzystaniem nowego inicjatora cyrkonowego lub cynowego w oparciu o badania in vitro. Inż. Biomat., 2001, 17, 18, 19, 74-75.
- [5] 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.
- [6] Kmita G., Chłopek J.: Ocena trwałości kompozytowych śrub polimerowych poddanych stałym obciążeniom w warunkach in vitro. Inż. Biomat. 2001, 17, 18, 19, 67-69.

- [7] Konieczna B., Pamuła E.: Polimery termoplastyczne wzmocnione włóknami węglowymi do zastosowań medycznych. Inż. Biomat. 2001, 17, 18, 19, 77-79.
- [8] Pagnetto G., Mazullo S. et al. Poly-L-Lactide amid: biointeraction and processing variable relationship. Biomaterials 1991, 5, 2, 179-181.
- [9] Pamuła E., Chłopek J., Błażewicz M.: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktyd dla celów medycznych. Inż. Biomat. 2001, 20, 23-28.
- [10] 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. Inż. Biomat. 2000, 12, 23-28.
- [11] Verheyen C.C.P.M., De Vrijns J.R. et al.: Evaluation of hydroxyapatite (POLY(L-LACTIDE) composites: mechanical behaviour. J. Biomedical Materials Research. 1992, 26, 1277-1296.
- [12] Verheyen C.C.P.M., De Vrijns J.R. et al.: Hydroxyapatite (POLY(L-LACTIDE) composites: an animal study push-out strengths and interface histology. J. Biomedical Materials Research. 1993, 27, 433-444.

SZEŚCIOTYGODNIOWY OKRES OBSERWACJI WSZCZEPÓW P(LLA/GLA)+CF WPROWADZONYCH W KOŚĆ UDOWĄ KRÓLIKA

BAJOR GRZEGORZ*, ADWENT MAREK**,
CIEŚLIK-BIELECKA AGATA**, STARZAK PIOTR*,
PROSZEK MAGDALENA****, SABAT DANIEL***, CIEŚLIK TADEUSZ**

*KLINIKA I KATEDRA CHIRURGII DZIECIĘCEJ ŚL.A.M. W KATOWICACH

**I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ ŚL.A.M. W ZABRZU

***KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII ŚL.A.M. W ZABRZU

****KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNASTWA STOMATOLOGICZNEGO ŚL.A.M. W ZABRZU

Streszczenie

Celem prowadzonych badań doświadczalnych jest ocena kompozytów kopolimerów polilaktyd/poliglikolid z włóknem węglowym w warunkach dotkankowej implantacji. Badania przeprowadzono na grupie 30 królików nowozelandzkich z okresami kontroli przypadającymi na 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 tygodni. Zwierzętom implantowano badane kompozyty w nasadę dalszą kości udowej, oraz tkanki miękkie grzbietu. Wykonywano badania kliniczne, radiologiczne, histopatologiczne oraz morfologiczne. W 3 tygodniu doświadczenia wszczep w kości udowej otoczony był przez kość w której stwierdzono cechy aktywnej angiogenezy. Po 6 tygodniach doświadczenia kanał wszczepu pokryty był warstwą dojrzałej kości zbitej bez cech aktywności osteoblastycznej. W tkankach miękkich wszczep otaczała torebka łącznotkankowa. Wstępne wyniki wpływające na doświadczenia należy ocenić jako bardzo obiecujące dla pozyskania dobrego materiału implantacyjnego.

THE SIX WEEKS OBSERVATION PERIOD OF THE IMPLANTS P (LLA/GLA)+C INSERTED IN TO RABBIT'S FEMORAL BONE

BAJOR GRZEGORZ*, ADWENT MAREK**,
CIEŚLIK-BIELECKA AGATA**, STARZAK PIOTR*,
PROSZEK MAGDALENA****, SABAT DANIEL***, CIEŚLIK TADEUSZ**

*KLINIKA I KATEDRA CHIRURGII DZIECIĘCEJ ŚL.A.M. W KATOWICACH

**I KATEDRA I KLINIKA CHIRURGII SZCZĘKOWO-TWARZOWEJ ŚL.A.M. W ZABRZU

***KATEDRA I ZAKŁAD PATOMORFOLOGII ŚL.A.M. W ZABRZU

****KATEDRA I ZAKŁAD MATERIAŁOZNASTWA STOMATOLOGICZNEGO ŚL.A.M. W ZABRZU

Abstract

The aim of this study was evaluation of the lactide/glycolide composites with carbon fibres in vivo. The experimental study was carried out on 30 New Zealand white rabbits. The implants were placed in the femoral and soft tissues of the back. The control periods were determined as 1, 2, 3, 6, 12, 24, 48 weeks. Clinical, radiological, and histopathological and laboratory tests were performed. Three weeks observation revealed that in the femoral implant was directly joint to the bone and active process of angiogenesis was present. After 6 weeks of the experience the graft canal were covered by mature compact bone without any osteoblast activity traits. In the soft tissues implant was surrounded by fibrous capsule. Preliminary study results are very optimistic and give hope for getting good material for implants.

Key words: copolymers, lactide, glycolide, carbon fibres, implants.

Wstęp

Kopolimery polilaktydu i poliglikolu z uwagi na możliwości kształtowania porowatości materiału w chwili obecnej stwarzają duże nadzieje na wytworzenie dobrego materiału zespalającego w ortopedii i traumatologii dziecięcej. Wielokierunkowe badania wykazały, że bioresorbowalne porowate podłoża z kopolimerów mają swoje zastosowanie w inżynierii tkankowej z wykorzystaniem dla hodowli tkanek w warunkach *in vitro* [7, 9, 10]. Zaletą polimerów jest możliwość wytwarzania z nich termoplastycznych elementów zespalających jak również ich zdolność do biodegradacji w organizmach żywych [1, 4, 11]. Dotąd nie wyjaśniono w pełni mechanizmów degradacji PLLA *in vitro* ze względu na jego złożoność i tworzenie produktów endogennych, które mogą wpływać na proces degradacji [2, 3, 4, 11, 12]. Słabe parametry mechaniczne wyeliminowano poprzez zbrojenie ich włóknami syntetycznymi, np. węglowymi, natomiast toksyczne związki powstałe w wyniku syntezy kopolimerów wyeliminowano poprzez zastosowanie nowego inicjatora-acetyloacetonianu cyrkonu. Aby zwiększyć wytrzymałość mechaniczną materiału wytworzono dla potrzeb doświadczalnych kompozyt kopolimeru P(LLA/GLA) z włóknem węglowym krótkim oraz ciągłym [1, 4, 5]. Badane materiały ulegają procesowi biodegradacji w przeciągu kilku tygodni przebywania w środowisku wodnym, co wydaje się być czasem pozwalającym na uzyskanie zrostu kostnego. Do określenia przydatności opracowanych materiałów w praktyce klinicznej, biorąc pod uwagę obserwowane wcześniej spowolnienie degradacji w tkance kostnej w porównaniu do badań prowadzonych *in vitro* w środowisku wodnym, konieczne jest przeprowadzenie badań *in vivo* na zwierzętach doświadczalnych [10]. Celem prowadzonych badań doświadczalnych na królikach jest ocena kompozytów kopolimerów polilaktyd/poliglikolid z włóknem węglowym w warunkach dotkankowej implantacji.

Materiał i metody

Badania doświadczalne przeprowadzono na grupie 30 królików nowozelandzkich różnej płci i wadze 3500-4000 g. Wszystkie zabiegi prowadzone są w Centralnej Zwierzętarni Śląskiej Akademii Medycznej za zgodą Komisji Bioetycznej. Przed zabiegiem zwierzętom podawano domięśniowo 2% roztwór xylazyny, następnie usypiano je podając dożylnie ketaminę. Dodatkowo tkanki w okolicy operowanej ostrzykiwano 2% roztworem lignokainy. W chirurgicznie przygotowane łożysko o średnicy 3,2 mm na bocznej powierzchni przynasady dalszej kości udowej wprowadzano wszczep wykonany z kompozytu polilaktyd/poliglikolid+włókno węglowe P(LLA/GLA+C). Dodatkowo wszczepy wprowadzano w kieszeń wykonaną w tkance podskórnej na grzbiecie oraz w kieszeń wykonaną w mięśniu prostym grzbietu. Okresy kontroli wyznaczono na 1,2,3,6,12,24,48 tygodni od implantacji materiału. Po likwidacji zwierząt do badań klinicznych zabezpieczano skórę, mięsień grzbietu, kość udową /tkanki zawierające implant/ oraz dodatkowo pobierano do oceny fragment wątroby i nerki. W każdym okresie doświadczalnym pobierano krew na badania markerów stanu zapalnego, wykonywano radiogramy kości oraz oceniono histopatologicznie tkankę kostną i tkanki miękkie z okolicy wszczepu.

Introduction

Copolymers of the polylactide and polyglycolide considering the ability to form a porosity of the material are going to create high hopes to produce a good joint material either in orthopedic surgery or traumatology of the children. The multidirectional researches proved that bioresorbable porosity vehicles of copolymers have its own application of the tissue engineering for breeding tissues *in vitro* terms (7, 9, 10). A quality of the copolymers is either the capability to create the thermoplastic uniting materials or the ability to biodegradation process *in vivo* [1, 4, 11]. The mechanisms of biodegradation of the PLLA *in vitro* haven't been explained yet cause of complicated functions and endogenous products which can put in to the degradation process also [2, 3, 4, 11, 12].

Faulty mechanical parameters have been eliminated by bracing them with synthetics fibres, for example carbonic fibres, on the other hand, the toxic unions, arised from copolymers synthesis, have been eliminated by putting into practice a new acethyloacetoniolate zirconium initiator. Copolymer composite P (LLA/GLA) has been produced joint with short and long carbonic fibre for experimental methods cause better mechanical resistance [1, 4, 5].

Whole testing material have been putting into biodegradation process in several weeks while resisted in the water environment what seems to be correct period allow for healing bone, as well. It's necessary to perform different kinds of tests either *in vitro* or in water environment due to experimental animals for describe and determine usefulness elaborated materials at clinical practice, taking into consider earlier observed getting slow down the biodegradation process in the bone's tissue. The aim of the experimental researches management with rabbits is the evaluation of the copolymers composites polylactide/polyglycolide with carbonic fibre in the into tissue implantation conditions.

Materials and methods

Thirty New Zealand's rabbits, weight 3500-4000 g, male and female, put into research program. Whole procedures have been performed in Central Animal Room at the Upper Silesian Medical School with the consent of Bioethical Committee. 2% Xalazin solution has been injected in to the animals' muscles just before each surgical procedure and next an intravenous anaesthesia by Ketamine has been induced. In spite of this the borderline tissues of the operated area have been injected by 2% Lignocain as well. The polylactide/polyglycolide with carbonic fibre graft has been implanted into surgically prepared bed, (diameter 3,2 mm), at the lateral surface of the distal epiphysis of the femoral rabbit's bone. Other grafts have been inserted into subcutaneous straight dorsal muscle pocket. Control periods assigned for 1,2,3,6,12,26,48 weeks since for implanted uniting material. Rabbits' skins, dorsal muscles and femoral bones (tissues with implants) were protected after animal's annihilation. The parts of the liver and kidneys were evaluated in the same time also. Rabbits' blood has been taken for the experimental researches looked for inflammatory markers in every experimental period. There were taken either the bones' radiograms or estimated bone tissue and soft tissues by the graft area histopathologically.

Badania kliniczne wykazały prawidłowe gojenie się ran pooperacyjnych. Nie stwierdzono odczynów zapalnych ani patologicznej wydzieliny z ran. Gojenie przebiegało przez rychłość. Badania radiologiczne wykazały okrągły ubytek kości o rozmiarze odpowiadającym średnicy wszczepu, wokół którego znajdowała się kość o prawidłowej strukturze. Nie stwierdzono cech osteolizy. Po okresie 1 tygodnia wokół wszczepu można było zauważyć nieznaczne zacinienie przypominające otoczkę osteosklerotyczną. Na radiogramach dwu i trzytygodniowych struktura ta nie była już widoczna (RYS. 1). Badania histopatologiczne wykazały, że po 7 dobie od strony kości zbitej wnikały do wytworzonego kanału młode niedojrzałe beleczki kostne obrzeżone osteoblastami. Wokół nich obecna była również młoda tkanka łączna włóknista. Po 14 dniach w miejscach bezpośredniego przylegania wszczepu do kości, kanał otoczony był przez kość zbitą i gąbczastą z zachowanymi cechami aktywności osteoblastycznej. W 3 tygodniu doświadczenia wytworzony kanał wszczepu pokryty był wyraźną warstwą kości zbitej i gąbczastej (RYS.2). Miejscami, od strony światła kanału, kość była już dojrzała i nie wykazywała cech aktywności osteoblastycznej. Pomiedzy tworzącymi się w szpiku beleczkami obserwowano cechy przekrwienia z licznymi poszerzonymi naczyniami włosowatymi wypełnionymi erytrocytami. Po 6 tygodniach kanał wszczepu pokryty był warstwą dojrzałej kości zbitej bez cech aktywności osteoblastycznej. Znajdująca się w jamie szpikowej dolna część kanału zbudowana była z kości gąbczastej z obecnymi jeszcze cechami aktywności komórkowej. Badania histopatologiczne tkanki podskórnej wykazały obecność torebki łącznotkankowej zbudowanej z włókien kolagenowych i nielicznych makrofagów.

W mięśniach obok torebki łącznotkankowej stwierdzono fibroblasty. Badania histopatologiczne wątroby i nerek nie uwidoczniły w nich zmian patologicznych.

Ze wstępnych obserwacji i ocen klinicznych wynika, że kompozyt kopolimeru z włóknem węglowym tak w tkankach miękkich jak i kości udowej jest dobrze tolerowany i nie daje odczynów typu "około ciała obcego".

Wnioski

Wstępne wyniki wpływające z doświadczenia należy ocenić jako bardzo obiecujące dla pozyskania dobrego materiału implantacyjnego. W kościach długich dochodziło do bezpośredniego połączenia kompozytu z kością udową królika. Badane wszczepy we wczesnym okresie obserwacji nie wykazywały odczynów zapalnych. Proces wganiania kompozytów P(LLA/GLA)+C w kościach długich przebiegał w oparciu o bezpośrednie połączenie się wszczepu z kością.

The clinical researches proved properly healing of the post surgical wounds. There weren't noticed neither any inflammatory reactions nor pathological tissue secretion. We observed the healing surgical wounds by first intention. A circle bone tissue defect has been found during radiological examinations seems to bone graft diameter and the correct bone structure round about also. Osteolysis traits haven't been confirmed. A slightly opaqueness looks like osteosclerotic ring one should noticed after one week. On the other hand this described structure hasn't been visible on the two and three weeks radiograms (FIG. 1). The young immatured trabecules of the bone round about osteoblasts were penetrated in to prepared canal after 7 days according to histopathological examinations. The fibrous tissue was

around them also. The compact and fibrous bone with persisted osteoblast activity traits were encircled canal at the nearest graft zone after 14 days. In the end of the third week of the examinations the created graft canal was fulfilled by evident stratum of the compact and spongy bone (FIG. 2).

Going through the canal foramen, locally we can observe mature bone without osteoblasts activity traits any more. Some functional hyperaemia traits with many wider capillary vessels fulfilled by erythrocytes have been observed between arising medullar trabecules. After 6 weeks of the experience the graft canal were covered by mature compact bone without any osteoblast

activity traits. The lower part of the canal (which has been in the medullar cave) has been built of the spongy bone with the activity traits of the cellulars.

Histopathological examinations shown a connective tissue capsule built of collagen fibres and few macrophages. Some fibroblasts have been found among muscle tissue side to connective tissue capsule. There weren't observed any pathological changes in liver and kidney's tissues.

According to preliminary observations and clinical evaluations results that copolymer composite with carbonic fibre either in soft tissues or femoral bone is good tolerated and don't give any reactions like "by foreign body".

Conclusions

Preliminary results come from experience one should estimate as a very promising idea due to acquire a good implantation material, as well. We can observed the directly junction between composite material and the rabbit's femoral bone. The testing explorationed grafts haven't shown any inflammatory response in the early period of the research. The healing process of the composites P(LLA/GLA)+C in to the long bones has been coursed based on directly joint of the graft and the bone.



RYS. 1. Obraz radiologiczny kości udowej z kanałem kostnym wszczepu-wyraźne cechy osteoblastycznej aktywności komórkowej na obwodzie.

FIG. 1. The radiological picture of the femoral bone with graft canal-evident traits of the osteoblast activity cellular round about.

RYS. 2. Po 21 dniach obserwacji wytworzony kanał wszczepu pokryty był wyraźnie warstwą kości zbitej i gąbczastej.

FIG. 2. After 21 days of the observation created graft canal has been covered by evident stratum of the compact and spongy bone.

- [1] Chłopek J., Kmita G., Dobrzyński P., Bero M.: Właściwości zmęczeniowe śrub z kopolimeru P(LLA/GLA) oraz kopolimeru wzmocnionego włóknem węglowym. Inż. Biomat. 2002, 23, 24, 25, 88-90.
- [2] Czajkowska B., Kowal J.: Wpływ makrofagów na proces degradacji poli(kwasu L-mlekowego). Inż. Biomat. 2002, 22, 23-27.
- [3] Czajkowska B., Kowal J., Ptak M., Bobek M.: Oddziaływanie makrofagów i osteoblastów z kopolimerami PDLLA z GLA. Inż. Biomat. 2001, 17, 18, 19, 22.
- [4] Czajkowska B., Bero M., Dobrzyński P., Kasperczyk J.: Badanie biogodności kopolimerów glikolidu i laktydu otrzymanych z wykorzystaniem nowego inicjatora cyrkonowego lub cynowego w oparciu o badania in vitro. Inż. Biomat., 2001, 17, 18, 19, 74-75.
- [5] 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.
- [6] Kmita G., Chłopek J.: Ocena trwałości kompozytowych śrub polimerowych poddanych stałym obciążeniom w warunkach in vitro. Inż. Biomat. 2001, 17, 18, 19, 67-69.

- [7] Konieczna B., Pamuła E.: Polimery termoplastyczne wzmocnione włóknami węglowymi do zastosowań medycznych. Inż. Biomat. 2001, 17, 18, 19, 77-79.
- [8] Pagnetto G., Mazullo S. et al. Poly-L-Lactide amid: biointeraction and processing variable relationship. Biomaterials 1991, 5, 2, 179-181.
- [9] Pamuła E., Chłopek J., Błażewicz M.: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktydu dla celów medycznych. Inż. Biomat. 2001, 20, 23-28.
- [10] Pamuła E., Chłopek J., Błażewicz M., Makinen K., Dobrzyński P., Kasperczyk J., Bero M.: Materiały kompozytowe z nowego biodegradowalnego kopolimeru glikolid-laktydu dla celów medycznych. Inż. Biomat. 2000, 12, 23-28.
- [11] Verheyen C.C.P.M., De Vries J.R. et al.: Evaluation of hydroxyapatite (POLY(L-LACTIDE) composites: mechanical behavior. J. Biomedical Materials Research. 1992, 26, 1277-1296.
- [12] Verheyen C.C.P.M., De Vries J.R. et al.: Hydroxyapatite (POLY(L-LACTIDE) composites: an animal study push-out strengths and interface histology. J. Biomedical Materials Research. 1993, 27, 433-444.

BIOZGODNE I NIE BIOZGODNE PRODUKTY DEGRADACJI WŁÓKIEN WĘGLOWYCH

M. BŁAŻEWICZ*, E. MENASZEK**, E. STASZKÓW***,
A. POWROŹNIK*

*AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW, KRAKÓW

**UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI, COLLEGIUM MEDICUM, KRAKÓW

***SZPITAL IM.S.ŻEROMSKIEGO, KRAKÓW

Streszczenie

Włókna węglowe, otrzymane w różnych postaciach i formach (włókniny, plecionki, faza wzmocniająca polimery) stosowane są w medycynie od wielu lat (1-9).

Znaczna część włókien węglowych używana była jako protezy ścięgien i więzadeł, natomiast węgiel w formie włókien stosowany jest do leczenia ubytków tkanek. Kompozyty z włóknami węglowymi w osnowach węglowych lub polimerowych stosowane są obecnie do leczenia tkanki kostnej. Kompozyty włókniste są z powodzeniem wykorzystywane w ortopedii ponieważ otrzymywane są jako materiały o anizotropii właściwości mechanicznych, identycznej z tkanką kostną. Protezy wykonane z włóknistych materiałów kompozytowych posiadają zdolność przenoszenia naprężeń na otaczające tkanki, która nie powoduje negatywnych reakcji w kości a prowadzi do powstania optymalnego połączenia z implantem (7).

Jednakże opinie o naturze biogodności, implantów wykonanych z włókien węglowych, pozostają nadal różnicowane i kontrowersyjne. Wiele poglądów sprzecznych prowadzi do konkluzji, że włókno węglowe posiada duży potencjał do zastosowań medycznych, jednakże produkty jego degradacji mogą być nie bio-

BIOCOMPATIBLE AND NON - BIOCOMPATIBLE DEGRADATION PRODUCTS OF CARBON FIBERS

M. BŁAŻEWICZ*, E. MENASZEK**, E. STASZKÓW***,
A. POWROŹNIK*

*AGH - UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, CRACOW

** JAGIELLONIAN UNIVERSITY, COLLEGIUM MEDICUM, CRACOW

*** MUNICIPAL HOSPITAL S. ŻEROMSKI, CRACOW

Abstract

Carbon fibers manufactured in different forms and shape (fabrics, braids, reinforcing phase of polymers) have been attempted in medicine for many years. A significant part of carbon fibrous implants were used as prostheses of ligaments and tendons whereas carbon fabrics and tissue for filling of tissue defects. Carbon fibers - based carbon or polymers composites are nowadays considered to be used for the treatment of hard tissue. Such composite implants are useful materials for many orthopedic application because they can be designed and fabricated to possess anisotropic mechanical properties matched to physiological properties of bone. A prosthesis made of such composite can mimic normal transfer of weight bearing forces through to supporting bone and allows for significant reduce bone loss providing long-term stability.

However, opinions on nature of biocompatibility of carbon fibers - based implants are different and controversial. Several data showed that carbon fibers are very promising materials while possible degradation products may be non-biocompatible.