

ustrojowymi.

Z przeprowadzonych prac wynika, że wytwarzane struktury są przyjazne dla różnego typu komórek jak np. komórek tarczycy, krwinek czerwonych, fibroblastów czy *Sacharomyces Cerevisiae*. Z powyższych względów struktury te uważamy również za interesujące do wytwarzania matryc do zasiedlania komórkami w konstruowaniu szkieletów kostnych.

## Podziękowania

Praca była finansowana ze środków KBN, grant 05/PBZ-KBN-082/2002/06

# POROWATE WŁÓKNA WĘGLOWE DLA CELÓW MEDYCZNYCH

IZABELLA PIEKARCZYK\*, ELŻBIETA MENASZEK\*\*,  
LUCYNA ZAMORSKA\*\*, MARIA ŻOLNIEREK\*\*

\*AKADEMIA GÓRNICZO - HUTNICZA,  
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW, KRAKÓW

\*\*WYDZIAŁ CYTOBIOLOGII I HISTOCHEMII, COLLEGIUM MEDICUM,  
UNIwersytet Jagielloński, KRAKÓW.

## Streszczenie

Praca prezentuje wyniki badań nad otrzymywaniem włókniny węglowej, zbudowanej z porowatych włókien. W literaturze opisywane są liczne próby stosowania włókien węglowych w medycynie. Przedmiotem badań były włókna węglowe, różniące się stopniem krystaliczności, ilością heteroatomów, właściwościami mechanicznymi, jednakże wszystkie z tych włókien były materiałami nieporowatymi. Włókna węglowe, pomimo biozgodności, nie posiadają, w zadawalającym stopniu cech, które stymulowałyby regenerację tkanki chrzęstnej. Z doniesień literaturowych wynika, że proces odbudowy chrząstki w obecności implantu węglowego trwa wiele miesięcy [1, 2]. Porowata włóknina węglowa stosowana jako implant do regeneracji tkanek mogłaby jednocześnie być nośnikiem różnego rodzaju leków lub aktywnych biologicznie cząstek przyspieszających odbudowę tkanki. W pracy przedstawiono analizę mikrostruktury włókien węglowych oraz wyniki badań biozgodności w warunkach *in vivo*. Wykazano, że biozgodność włókien porowatych jest lepsza w porównaniu z włóknami nieporowatymi.

## Wprowadzenie

Największą zaletą włókien węglowych, z punktu widzenia inżynierii biomateriałów jest możliwość modyfikowania w szerokim zakresie ich własności. Najbardziej rozpowszechnione jest pokrywanie włókien powłokami lub war-

sule that is supposed to be resistant to body fluids.

The research we carried out confirms usefulness of the structures for encapsulation of various types of cells, e.g. thyroid cells, blood corpuscles, fibroblasts or *Sacharomyces Cerevisiae*. This also impelled us to examine the possibility of preparation of such the matrix for cell support in construction of bone scaffolds.

## Acknowledgements

This work was supported by the State Committee of Scientific Research, grant No. 05/PBZ-KBN-082/2002/06.

## Piśmiennictwo

## References

Lim F., Sun A.M. (1980) Microencapsulated Islets as Bioartificial Endocrine Pancreas, *Science*, 210, 908-910

# POROUS CARBON FIBRES FOR MEDICAL APPLICATIONS

IZABELLA PIEKARCZYK\*, ELŻBIETA MENASZEK\*\*,  
LUCYNA ZAMORSKA\*\*, MARIA ŻOLNIEREK\*\*

\*AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY  
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS, CRACOW, POLAND

\*\*JAGIELLONIAN UNIVERSITY, COLLEGIUM MEDICUM,  
DEPARTMENT OF CYTOBIOLOGY, CRACOW, POLAND

## Abstract

The work describes the preparation of carbon fabrics composed of porous fibres. In the literature a number of studies devoted to the applications of carbon fibres in medicine can be found. They deal with fibres which differ in the degree of crystallinity, the number of heteroatoms, mechanical properties but all of them have been the nonporous materials. In spite of their biocompatibility, carbon fibres do not exhibit satisfactory features which would stimulate the regeneration of cartilage tissue. From literature data it follows that in the presence of a carbon implant tissue growth is a long-lasting process [1, 2]. Porous carbon fabrics used as an implant for tissues regeneration could simultaneously serve as a support for delivery of drugs or biologically active agents which would stimulate the tissue growth. In the work the microstructure of carbon fibres as well as the results of *in vivo* biocompatibility studies are presented. It is shown that biocompatibility of porous fibres is higher than that of nonporous ones.

## Introduction

Possibility to modify their properties in the wide range is the most important advantage of carbon fibres from the biomaterials engineering point of view. Covering the fibres with coatings or layers, ion exchange or alteration of their chemical composition at the precursor level are the most popular methods of modification. Application of carbon fab-

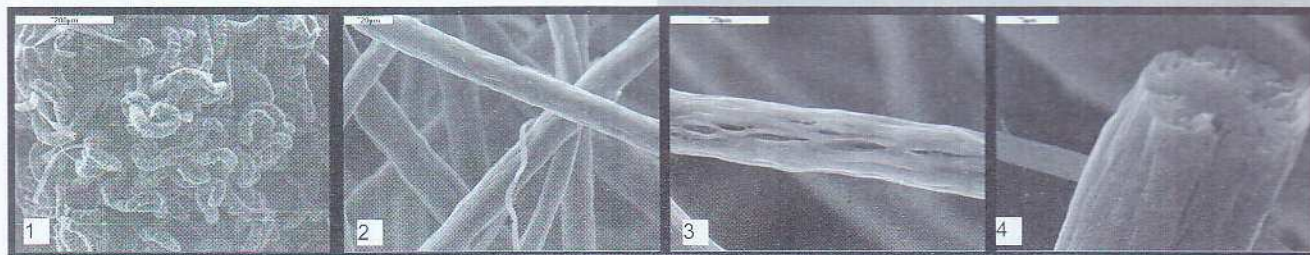
stwami, wymiana jonowa lub modyfikacja składu chemicznego materiału na poziomie prekursora. Zastosowanie włókniyny węglowej zbudowanej z porowatych włókien pozwoliłoby na jej późniejszą modyfikację bez konieczności rezygnacji ze specyficznych właściwości powierzchni, jakie posiadają materiały węglowe [1, 2]. Właściwości włókien węglowych zależą od rodzaju prekursora oraz od parametrów procesu wytwarzania, stabilizacji i karbonizacji.

Jednym z podstawowych etapów otrzymywania włókien węglowych z prekursora poliakrylonitrylowego jest etap utleniania (zwany etapem stabilizacji). Efekt procesu utleniania zależy od czasu i temperatury utleniania, szybkości ogrzewania, środowiska utleniającego, składu chemicznego prekursora i naprężeń mechanicznych zapobiegających kurczeniu się włókna [3-9].

Celem pracy było opracowanie sposobu przetwarzania prekursora poliakrylonitrylowego (PAN) we włókniinę węglową o porowatych włóknach oraz ocena jej zachowania się w środowisku biologicznym.

## Materiały i metody

Prekursorem włókniyny węglowej była włókniina poliakrylonitrylowa opracowana przez KWS WliMT Politechniki Łódzkiej, o zawartości: 93-94% wagowych merów akrylonitrylu, 5-6% wagowych merów metakrylanumetylu i 1% wagowy merów alilosulfonianu sodowego. Mikrostrukturę wyjściowego materiału przedstawiono na RYS.1.



RYS. 1. Obraz mikroskopowy (SEM) włókniyny poliakrylonitrylowej (PAN).

FIG. 1. Microscope image (SEM) of polyacrylonitrile fabrics (PAN).

RYS. 2-4. Obrazy mikroskopowe (SEM) włókniyny węglowej.

FIGS. 2-4. Microscope images (SEM) of carbon fabrics.

Włókniinę wykorzystaną do dalszych badań stabilizowano w temperaturze najpierw 150°C, 200°C przez jedną godzinę, potem 220°C przez 4 godziny, a następnie 240°C przez 2 godziny. Tak przygotowaną próbkę karbonizowano w temperaturze 1000°C przez 15 minut w atmosferze argonu, przy postępie temperatury 50 C/min. Mikrostrukturę porowatych włókien węglowych scharakteryzowano przy użyciu mikroskopii skaningowej, stosując mikroskop Jeol- 5400 (RYS. 2-4), porowatość wyznaczono w oparciu o metodę porozymetrii rtęciowej (Carlo - Erba 2000), zaś powierzchnię rozwinięcia elementarnych włókien oznaczano metodą BET (TAB. 1).

W badaniach in vivo wykorzystano dwa rodzaje włókniyny węglowej różniące się mikrostrukturą. Pierwszy rodzaj implantowanego materiału stanowiła opisana wcześniej włókniina posiadająca porowate włókna, (oznaczana dalej jako PAN P). Dla porównania drugą próbkę stanowiła włókniina węglowa otrzymywana również z prekursora poliakrylonitrylowego, jednakże posiadająca włókna nieporowate (PAN).

Obydwie próbki sterylizowano i następnie wszczepiono w mięsień szkieletowy szczurów.

Badania obejmowały mikroskopowe obserwacje strefy wlgajania implantów, zwłaszcza kontakt implantu z tkanką

rics composed of porous fibres would allow its further modification without the loss of specific properties of carbon material surfaces [1, 2]. Properties of carbon fibres depend on the type of precursor as well as the parameters of their preparation, stabilization and carbonization processes.

Oxidation (also called stabilization) is one of the main steps in the preparation of carbon fibres from the polyacrylonitrile precursor. Its results depend on the duration and temperature of oxidation, heating rate, oxidizing medium, chemical composition of the precursor and mechanical stress which prevents the fibre from contraction [3-9].

The aim of the work was to fabricate porous carbon fabrics using polyacrylonitrile (PAN) precursor as well as to establish its performance in the biological environment.

## Materials and methods

Polyacrylonitrile fabrics prepared by KWS WliMT of Technical University of Łódź containing 93-94% wt. of acrylonitrile repeat units, 5-6% wt. of methyl methacrylate repeat units and 1% wt. of sodium allylsulfate repeat units was used as the carbon fabrics precursor. Microstructure of the starting material is presented in FIG. 1.

Polyacrylonitrile in the form of fabrics used in further studies was stabilized first at the temperature of 150°C, 200°C for 1 hour, then at 220°C for 4 hours, and finally at 240°C for 2 hours. The sample prepared in such a way was then carbonized at 1000°C for 15 minutes in an argon atmos-

Powierzchnia właściwa BET BET surface area [m <sup>2</sup> /g]	Objętość mezoporów Volume of mesopores [x10 <sup>-3</sup> cm <sup>3</sup> /g]	Średni promień porów Average pore diameter [nm]
3,7	11,9	6,4

TABELA 1. Wyniki porowatości otrzymane metodami BET i BJH.

TABLE 1. Porosity of the materials studied determined using BET and BJH methods.

phere at the heating rate 50 C/min. Microstructure of porous carbon fibres was characterized using a Jeol - 5400 scanning microscope (FIG. 2-4), porosity was determined by mercury porosimetry (Carlo - Erba 2000), surface area of the elementary fibres was studied using BET method (TABLE 1).

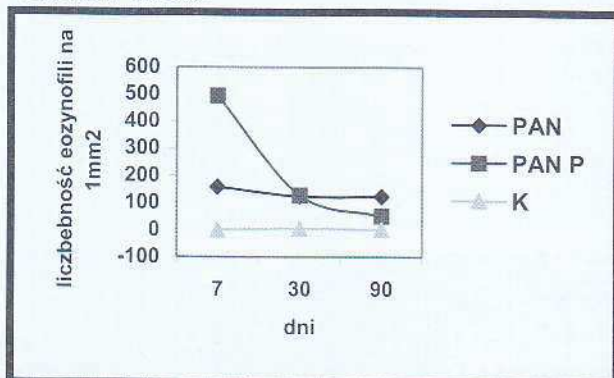
Two types of carbon fabrics which differed in microstructure were applied in the in vivo studies. The described above fabrics composed of porous fibres (further on denoted as PAN P) constituted the first type of the implant material. For comparison, fabrics containing the non-porous fibres also

[10, 11]. Przeprowadzono je dla implantów po 7,30 i 90 dniach od ich wszczepienia. W oparciu o preparaty mikroskopowe przeprowadzono ocenę ilościową mastocytów, eozynofili a także zbadano zawartość kolagenu w obrębie wszczepu (RYS. 5-9).

## Wyniki i dyskusja

Z badań mikroskopowych wynika, że na powierzchni włókien karbonizowanych występują podłużne pory o zróżnicowanej wielkości, natomiast analiza przekroju włókna wskazuje, że pory występują przede wszystkim w zewnętrznej warstwie włókien i tworzą nieregularne kanaliki biegnące wzdłuż osi włókien (RYS. 2-4).

Analizę porowatości prowadzono w ten sposób, że wyznaczano w pierwszej kolejności porowatość całej włókniny a dopiero potem wykonano doświadczenia, w których wyznaczono porowatość samych włókien. Porowatość całej włókniny oceniono na ok. 90% natomiast porowatość włókien na ok. 5%.



RYS. 5. Liczebność eozynofili w 1 mm<sup>2</sup> przekroju w miejscach wszczepów biomateriału w grupach PAN i PAN P oraz w miejscu rozcięcia mięśnia (grupa K) bez wprowadzania wszczepów.

FIG. 5. The amount of eosinophils on 1 mm<sup>2</sup> of the cross-section in the implanted PAN i PAN P biomaterial areas as well as in the area of the muscle without the implant section (group K).

Powierzchnia właściwa porowatej włókniny węglowej charakteryzuje się wysoką wartością, która znacznie przekracza wartości tego parametru dla typowych włókien węglowych. Badania metodą adsorpcji BET wykazały, że badane materiały posiadają również pory o średniej wielkości ok. 6nm, których oznaczenie było niemożliwe przy zastosowaniu porozymetrii rтęciowej.

Jak wykazały badania biologiczne, implanty węglowe PAN i PAN P wszczepione do mięśnia szkieletowego szczurów ulegały fragmentacji (głównie włóknina węglowa PAN P). Zjawisko to obserwowano zwłaszcza w pierwszych dniach doświadczenia. Mogło to być przyczyną znacznie większego napływu eozynofili (RYS. 5). Liczebność mastocytów była największa w seriach 30-dniowych dla obu włókien węglowych. Oznacza to, że etap 30-dniowej regeneracji może być krytycznym okresem w procesie gojenia mięśnia szkieletowego. W seriach 90-dniowych ilość mastocytów znacznie zmniejszyła się (RYS. 6). Ponadto zaobserwowano rozwój tkanki łącznej i wzrost ilości włókien kolagenowych, zwłaszcza w mięśniach z wszczepionym biomateriałem PAN P (RYS. 7-9). Porównując wyniki doświadczenia wszczepienia do mięśnia szkieletowego szczurów włókniny węglowej PAN oraz PAN P stwierdzono, że drugi materiał dzięki swej znacznej porowatości pozwala na szyb-

prepared from polyacrylonitrile precursor (denoted as PAN) was the second type.

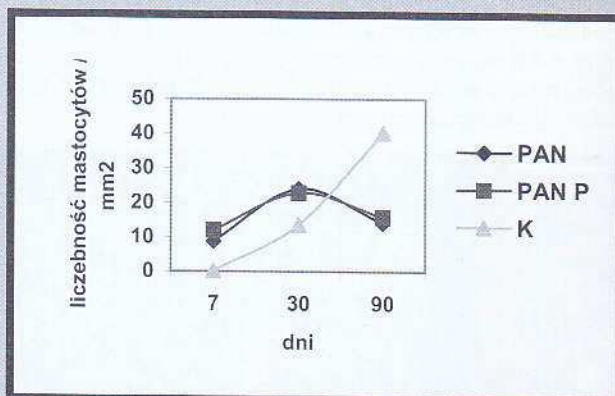
Both samples were sterilized and then implanted into the skeletal muscle of rats.

The studies involved microscopic observations of the implant healing site, particularly the tissue - implant interface [10, 11]. These studies were carried out on the 7th, 30th and 90th day from the the implant introduction into the rat body. Based on the microscopic images the numbers of mastocytes and eosinophils was determined as well as the collagen content within the implant was studied (FIG. 5 - 9).

## Results and discussion

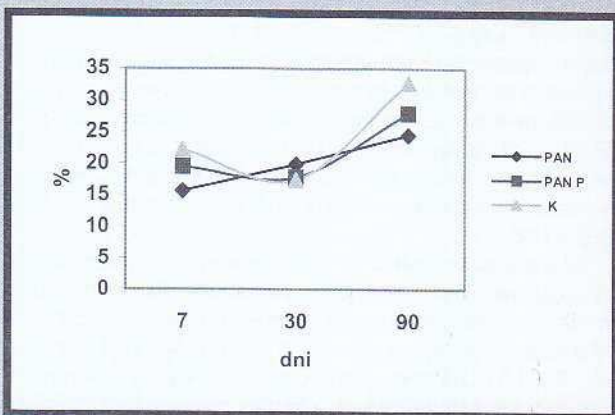
From the microscopic studies it follows that prolonged pores of various sizes exist on the carbonized fibres, whereas the analysis of the fibre cross-section area shows that the pores occur at the outer layer of the fibres and form irregular channels along the fibre axis. (FIG. 2-4).

In the porosity measurements, porosity of the whole fabrics has been determined first. In the following experiments porosity of the fibres has been established. They have been equal to ca. 90% and ca. 5%, respectively.



RYS. 6. Liczebność mastocytów w 1 mm<sup>2</sup> przekroju w miejscach wszczepów biomateriału w grupach PAN i PAN P oraz w miejscu rozcięcia mięśnia (grupa K) bez wprowadzania wszczepów.

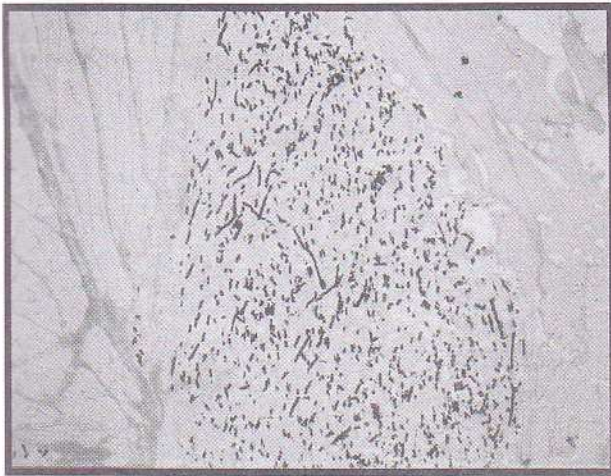
FIG. 6. The amount of mastocytes on 1 mm<sup>2</sup> of the cross-section in the implanted PAN i PAN P biomaterial areas as well as in the area of the muscle without the implant section (group K).



RYS. 7. Procentowa zawartość kolagenu w 1 mm<sup>2</sup> przekroju poprzecznego wszczepu biomateriału.

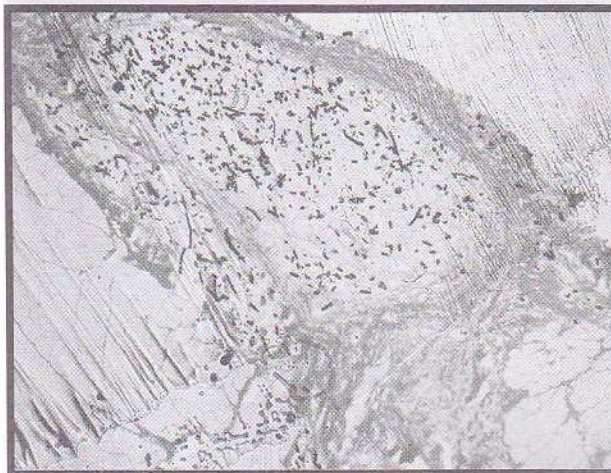
FIG. 7. Content of collagen (in %) on 1 mm<sup>2</sup> of the cross-section of the implanted biomaterial.

sze wnikanie elementów komórkowych i przerastanie tkanką łączną. Struktura tego biomateriału przyspiesza regenerację tkanki. Badania świadczą o wysokiej biogodności porowatych włókien węglowych oraz o ich stymulującym działaniu na wzrost tkanki łącznej nawet w przypadku, gdy nie są one modyfikowane aktywnymi biocząstkami..



**RYS. 8.** Fragment przekroju miejsca wszczepu porowatej włókniny węglowej, w mięśniu szkieletowym szczura w 30 dniu od momentu operacji. Powiększenie 4x.

**FIG. 8.** Part of the cross-section of the porous carbon fabrics implanted into the rat skeletal muscle on the 30th day from the operation. Magnification 4x.



**RYS. 9.** Fragment przekroju miejsca wszczepu materiału węglowego typu PAN P w mięśni szkieletowym szczura w 90 dniu od momentu operacji.

**FIG. 9.** Part of the cross-section of the PAN P implanted into the rat skeletal muscle on the 90th day from the operation.

## Podziękowania

Praca została dofinansowana z grantu nr. PBZ - KBN - 082 - T08 / 2002.

Surface area of the porous carbon fabrics is high and significantly exceeds the values of typical carbon fibres. BET adsorption studies have shown that the pores of average diameter equal to ca. 6nm, whose determination using mercury porosimetry is impossible, are also present in these materials.

Biological studies have shown that PANI and PAN P implanted into skeletal muscle of rats undergoes fragmentation (this concerns mainly PAN P fabrics). This phenomenon has been particularly pronounced on the first days of the experiment. This could be the reason for the increased number of eosinophils (FIG. 5). For both types of fabrics the highest amount of mastocytes has been recorded in the 30 day series. This means that the 30 day regeneration may be the critical period in the skeletal muscle healing. In the 90 day series the number of mastocytes significantly decreased (FIG. 6). Additionally, development of the connective tissue and the increased amount of collagen fibres, especially in the muscles with the implant PAN P material have been observed (FIG. 7-9). When the results obtained for PAN and PAN P implants introduced into the rat skeletal muscle are compared it becomes evident that owing to its significant porosity the latter material allows for faster inclusion of cell components and thus it stimulates the connective tissue growth. Structure of this biomaterial promotes tissue regeneration. Studies prove high biocompatibility of the porous carbon fabrics as well as their stimulating influence on the connective tissue growth even without modification with bioactive substances.

## Acknowledgements

The investigation was partly financed from the grant no.: PBZ-KBN-082-T08/2002.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] M. Błażewicz "Węgiel jako biomateriał" Vol. 63, 2001.
- [2] R. Pampuch, S. Błażewicz, J. Chłopek, A. Górecki, W. Kuś "Nowe materiały węglowe w technice i medycynie".
- [3] S. Błażewicz "Otrzymywanie i modyfikacja fizyczno - chemicznych właściwości włókien węglowych" Ceramika Vol. 60, 1991.
- [4]. pod red. R. Pampuch "Włókna Węglowe" wyd. AGH, Kraków 1986.
- [5]. E. Fitzer, W. Frohs, M. Heine "Optimization of stabilization and carbonization treatment of PAN fibres and structural characterization of the resulting carbon fibres" Carbon Vol. 24, No. 4, (1986) s. 387-395.
- [6]. A. Gupta, I.R. Harrison "New aspects in the oxidative stabilization of PAN-based carbon fibers" Carbon Vol. 34, No. 11, (1996) s. 1427-1445.
- [7]. A. Gupta, I.R. Harrison "New aspects in the oxidative stabilization of PAN-based carbon fibers: II" Carbon Vol. 35, No. 6, (1997) s. 809-818.
- [8] U. Zielke, K.J. Huttinger, W.P.Hoffman "Surface-oxidized carbon fibres: I. Surface structure and chemistry" Carbon Vol. 34, No. 8, (1996) s. 983-998.
- [9] J.S. Lee, T.J. Kang "Changes in physico - chemical and morphological properties of carbon fiber by surface treatment" Carbon Vol. 35, No. 2, (1997) s. 209-216.
- [10]. L. Stryer Biochemia. PWN W-wa 2000.
- [11] J.A. Kiernan "Histological and histochemical methods. Theory and practice. 271-272, 1992.