

# BADANIA NAD BIOZGODNOŚCIĄ KOPOLIMERU PTFE/PVDF/PP I JEGO KOMPOZYTU Z WŁÓKNEM WĘGLOWYM

MARTA BŁĄŻEWICZ\*, BARBARA CZAJKOWSKA\*\*

\*AGH, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, Al. Mickiewicza 30, Kraków.

\*\*Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum Katedra Immunologii, ul. Czysza 25, Kraków

## Streszczenie

*W pracy analizowano biozgodność dwóch materiałów, jeden z nich był polimerem PTFE/PVDF/PP a drugi kompozytem uzyskanym z tego polimeru i z włókien węglowych. Materiały scharakteryzowano przy użyciu spektroskopii wibracyjnej i mikroskopii SEM. Wykazano że materiały indukują odmienną odpowiedź u osteoblastów i u fibroblastów oraz że obecność włókien w materiale wpływa na odpowiedź komórkową w warunkach in vitro.*

## Wprowadzenie

Włókna węglowe stosowane są w wielu dziedzinach medycyny. W formie plecionek do rekonstrukcji więzadeł i ścięgien, w formie włókien jako materiały do leczenia ubytków tkanek lub jak podłoża dla potrzeb inżynierii tkankowej [1]. Jednakże najbardziej przydatne okazały się dla konstrukcji kompozytów z polimerami do wytwarzania implantów przenoszących obciążenia mechaniczne. Materiały kompozytowe stosowane do leczenia tkanek posiadają szereg u właściwości takich jak transparentność dla promieni Rentgena, brak ograniczeń w stosowaniu nowoczesnej diagnostyki, możliwość otrzymywania złożonych kształtów, oraz znacznego ograniczania wielkości implantów, to wszystko sprawia, że w coraz większym wypierają tradycyjne implanty metaliczne stosowane w chirurgii kostnej..

W inżynierii biomateriałów znane są kompozyty w których włókno węglowe łączone jest z różnymi polimerami takimi jak: PSU (polisulfon), PE (polietylen), PMMA (polimetakrylan metylu), PP (polipropylen) PEEK (polietereterketon) oraz z polimerami resorbowanymi takimi jak polilaktyd czy poliglikolid.

Kopolimer o nazwie PTFE/PVDF/PP, w skład którego wchodzi politetrafluoroetylen, fluorek winylidenu oraz polipropylen jest interesującym materiałem, który w połączeniu z włóknem węglowym może znaleźć zastosowanie jako materiał implantacyjny [2, 3].

Sam kopolimer ma niską wytrzymałość (0.5-0.8 MPa) i duże odkształcenie zniszczenia ok. 100%. Połączony z włóknem węglowym w kompozyt, w zależności od ilości włókien ich rodzaju sposobu rozmieszczenia może stać się idealnym materiałem do konstrukcji implantów o właściwościach mechanicznych zbliżonych do tkanek.

Jednakże umieszczenia włókien węglowych w osnowie polimeru nie tylko wpływa na właściwości mechaniczne ale również na mikrostrukturę powierzchni, na ilość i charak-

# BIOCOMPABILITY RESEARCH OF PTFE/PV/DVPP POLYMER AND THEIR COMPOSITE WITH CARBON FIBRES

...3...

MARTA BŁĄŻEWICZ\*, BARBARA CZAJKOWSKA\*\*

\*AGH, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Biomateriałów, Al. Mickiewicza 30, Kraków.

\*\*Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum Katedra Immunologii, ul. Czysza 25, Kraków

## Abstract

*In the work biocompatibility of two materials, namely PTFE/PVD/PP polymer and the composite of this polymer with carbon fibres has been examined. Materials have been investigated using vibrational spectroscopy as well as scanning electron microscopy (SEM). It has been shown that these materials induce different responses of osteoblasts and fibroblasts as well as that the presence of fibres in the materials influences the in vitro cell response.*

## Introduction

Carbon fibres are applied in various fields of medicine. Braids are used to reconstruct ligaments and tendons, fabrics are used to treat the tissue losses or as substrates in tissue engineering. Carbon fibres have proved to be the most useful materials for the fabrication of composites with polymers for implants which carry mechanical load. Composites applied in the tissue treatment exhibit a number of properties, such as transparency to X-rays, no limitations in the use of modern diagnostic methods, possibility to obtain complex shapes as well as small implant sizes. All these features cause that now these materials often substitute metallic implants.

In the biomaterials engineering there are composites in which carbon fibres are combined with various polymers, such as: PSU (polysulfone), PE (polyethylene), PMMA (poly(methyl methacrylate)), PP (polypropylene) PEEK (polyetheretherketone) as well as resorbable polymers, such as polylactide and polyglycolide.

PTFE/PVDF/PP copolymer contains tetrafluoroethylene, vinylidene fluoride as well as propylene units. It is an interesting material which in the composite with carbon fibres can be applied as an implant material.

The PTFE/PVDF/PP copolymer shows low mechanical strength (0.5-0.8 MPa) and high elongation at break (ca. 100%). Its composite with carbon fibres (depending on the fibres contents and distribution in the polymer matrix) should be an ideal material for the construction of implants whose mechanical properties are close to those of the tissue. However, dispersion of carbon fibres in the polymer matrix influences not only mechanical properties but also its microstructure and the number and types of surface groups, magnetic and electric properties of the material.

The aim of the work has been to study biocompatibility of the polymer and its composite with carbon fibres in the in vitro conditions.

ter grup powierzchniowych, właściwości magnetyczne i elektryczne materiału.

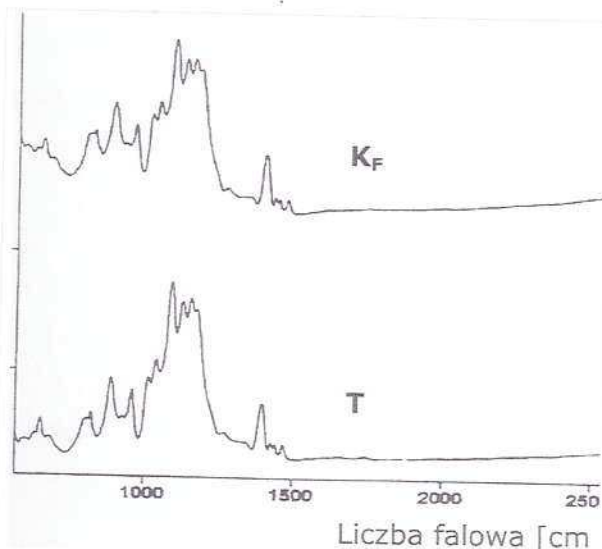
Wszystkie z wymienionych powyżej cech materiałowych wpływają również na właściwości biologiczne tworzyw syntetycznych [4, 5].

Celem pracy były badania biogodności w warunkach in vitro, polimeru oraz kompozytu utworzonego przez dodanie do niego włókien węglowych.

## Materiały i metody

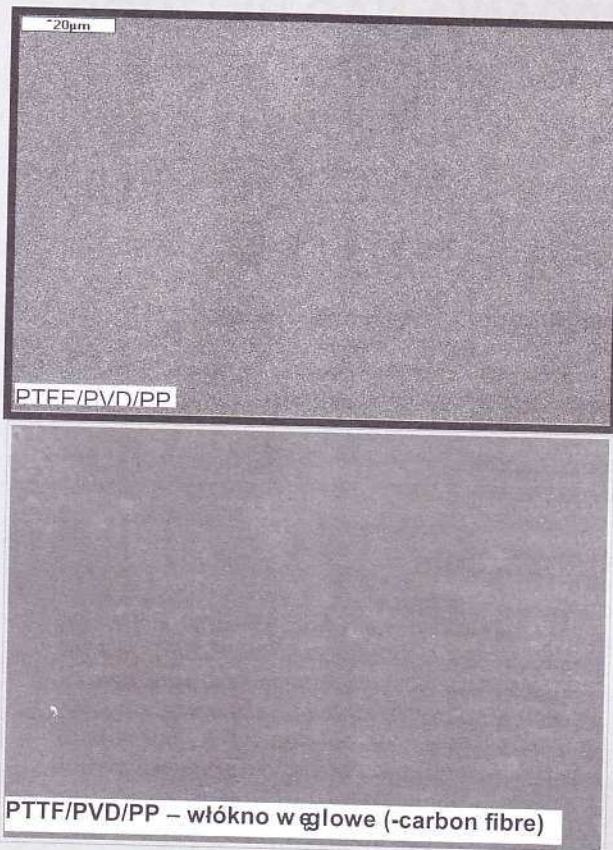
Do konstrukcji osnowy tworzyw kompozytowych wykorzystano kopolimer PTFE/PVDF/PP produkcji Aldrich Chemical Company, Inc.USA oraz włókna węglowe, niskomodulowe FT 300, Soficar Torayca. Polimer rozpuszczano w acetonie, dodawano 2% wag. rozdrobnionych włókien, homogenizowano i wlewano na szalki Petriego. Materiał suszono w suszarce próżniowej przez okres jednej doby w temp. 600C. Z tak przygotowanych próbek wycinano płytki do badań komórkowych. W analogiczny sposób przygotowywano próbkę z samego polimeru. Mikrofotografie SEM obu powierzchni przedstawiono na RYS. 1.

Powierzchnie obu próbek przeznaczone do kontaktu z żywymi komórkami poddano badaniom przy zastosowaniu spektroskopii wibracyjnej w podczerwieni, stosowano metodę ATR, pomiarów dokonywano na aparacie FTS Digilab FTS 60, RYS. 2.



RYS. 2. Widma w podczerwieni (ATR), powierzchni kopolimeru - 1, powierzchni kompozytu - 2.  
FIG. 2. FTIR ATR spectra of copolymer surface - 1, composite surface - 2.

Do badania żywotności komórek, kontaktowanych z materiałami zastosowano metodą zaadoptowaną dla potrzeb oznaczania przeżywalności, wykorzystującą metabolizm barwnika MTT w mitochondriach żywych komórek. Oznaczano żywotność komórek pochodzących z linii, fibroblastów i osteoblastów. Stosowano linie komórek o nazwach: ludzka linia osteoblastyczna hFOB 1.19, ludzka linia fibroblastyczna HS - 5. Żywotność komórek oznaczano po upływie 7 dniach hodowli, w tym samym czasie oznaczono ilość wyprodukowane przez komórki kolagenu typ I, stosowano w tym celu test ELISA. Wyniki żywotności i ilości kolagenu przedstawiono w % przyjmując za 100% zarówno ilość przeżyjących w tym samym czasie komórek kontroli, jak i za



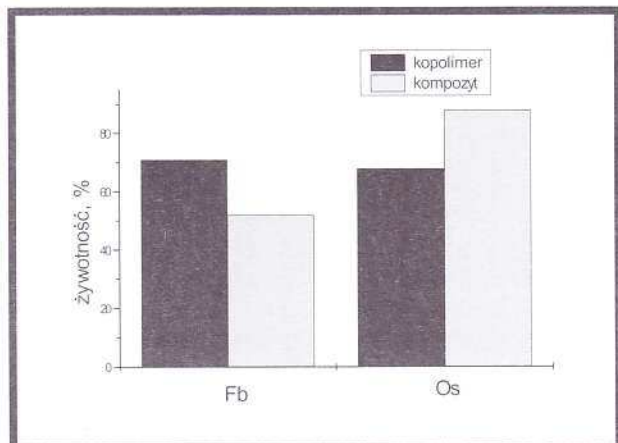
RYS. 1. Mikrofotografia SEM powierzchni kopolimeru PTFE/PVDF/PP i powierzchni kompozytu PTFE/PVDF/PP - włókno węglowe (pow. 200x).

FIG. 1. SEM micrograph of surface of copolymer PTFE/PVDF/PP and, surface of composite; PTFE/PVDF/PP - carbon fibers (magn. 200x).

## Materials and methods

For the fabrication of composite materials PTFE/PVDF/PP copolymer purchased from Aldrich Chemical Company, Inc.USA as well as the low modulus carbon fibres FT 300, Soficar Torayca were used. The polymer was dissolved in acetone, 2% of ground fibres were added, vigorously stirred and poured onto Petri glasses. The material was dried in a vacuum oven for 24 hours at 600C. Such samples were cut into plates for cellular studies. In similar way the samples of the polymer were prepared. SEM micrographs of both surfaces are presented in FIG. 1. Surfaces of both samples before contact with the living cells were investigated using vibrational spectroscopy in the IR range. In these studies the ATR method was applied and a FTS Digilab FTS 60 spectrometer, FIG. 2.

Viability of the cells contacted with the materials was studied by MTT method. Viability of the cells originating from fibroblasts and osteoblasts lines was determined. Human cells lines called hFOB 1.19, and HS 5 were used. Viability of the cells was determined after a 7 day period. At the same time the amount of collagen type A produced by the cells was analyzed using the ELISA test. Results of vitality studies and the amount of collagen determinations were expressed in % assuming that the number of the control cells surviving at the same time as well as the amount of collagen produced by these cells were equal to 100%. Results of the in vitro studies are presented in FIG. 3, 4.



**RYS. 3. Przeżywalność fibroblastów i osteoblastów na powierzchni kopolimeru i kompozytu.**

**FIG. 3. Viability of fibroblasts and osteoblasts on the surfaces of copolymer and composite.**

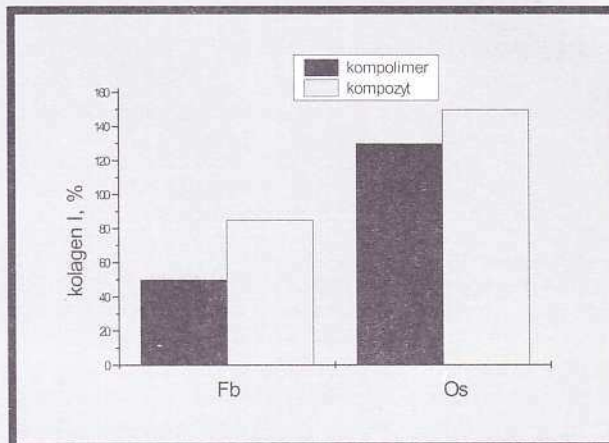
100% ilość wyprodukowanego przez nie kolagenu. Wyniki badań in vitro przedstawiono na RYS. 3, 4.

## Wyniki i dyskusja

Powierzchnie obu materiałów tzn. próbki polimerowej oraz kompozytu wykonanego z polimeru i włókien węglowych, nie różnią się od siebie, zarówno jeżeli chodzi o wyniki spektroskopii i mikroskopii skaningowej. Obrazy obu widm są identyczne jak również na zdjęciach nie widać istotnych różnic dotyczących mikrostruktury powierzchni. Natomiast z badań biologicznych wynika że odpowiedź na oba materiały jest różna. Obydwa materiały różnią się biogodnością z fibroblastami i osteoblastami. W obu przypadkach zarówno poziom kolagenu jak i przeżywalność jest znacznie gorsza dla fibroblastów niż dla osteoblastów. Na charakter odpowiedzi ma również wpływ rodzaj próbki (polimer, kompozyt). Jest to widoczne zwłaszcza w przypadku przeżywalności i poziomu wydzielanego kolagenu przez osteoblasty, kontaktowane z materiałem kompozytowym, w tym wypadku jeden i drugi parametr jest wyższy w porównaniu z wynikami uzyskanymi dla samego polimeru. Wyniki przedstawione w pracy wskazują, że badane próbki w sposób selektywny oddziałują z komórkami tkanek. Widać również że wpływ na odpowiedź komórkową ma fakt umieszczenia włókien w osnowie polimeru. Jednakże wytłumaczenie obu wniosków w oparciu o cechy materiałowe oznaczane w oparciu o użyte metody jest niemożliwa. Wytłumaczenie różnic w biogodności analizowanych materiałów, uzyskać będzie można analizując budowę powierzchni w nano skali lub wykorzystując metody przeznaczone do badań cech materiałowych innych niż chemiczna budowa powierzchni i mikrostruktura.

## Podziękowania

Praca finansowana z grantu Komitetu Badań Naukowych - PBZ - KBN - 082-T08/2002.



**RYS. 4. Poziom kolagenu (%) wydzielonego przez fibroblasty i osteoblasty hodowane na powierzchni kopolimeru i kompozytu. W odniesieniu do ilości wyprodukowanej przez komórki kontroli.**

**FIG. 4. The level of the collagen (%), which was produce by the fibroblast and osteoblast on the copolymer and composite surfaces, normalized considering the level of control.**

## Results and discussion

According to spectroscopic and microscopic studies surfaces of both materials, i.e. the polymer sample and the polymer - carbon fibre composite sample do not differ. IR spectra of both samples are identical, SEM micrographs do not show significant differences in the surface microstructure. However, the biological response to both materials is different. Both materials differ in biocompatibility with fibroblast and osteoblasts. In both cases collagen level and survival ratio are lower for fibroblasts than osteoblasts. Type of the response is also influenced by the sample (polymer, composite). It is particularly marked in the case of survival and collagen level produced by osteoblasts upon contact with the composite material. In this case both parameters are higher in comparison with the polymer alone. Results presented in the work indicate that the samples studied show selective interaction with the tissue cells. It is also clear that the cell response is also influenced by the presence of carbon fibres in the polymer matrix. It is impossible, however, to explain the observed phenomena based on the experimental methods applied in the studies. Such explanation should be possible after a nano-scale analysis of the surface composition or using the methods which allow to verify the materials properties other than the chemical composition and microstructure of the surface.

## Acknowledgements

This reaserch was supported by the Science Research Committe KBN, Grant no. PBZ - KBN - 082-T08/2002.

## Piśmiennictwo

- [1] Błażewicz M.: Węgiel jako biomateriał, Prace Komisji Ceramicznej PAN, Ceramika 63, 2001.  
 [2] Klee D., Ademovic Z., Bosserhoff A., Hoecker H., Maziolis G., Erii H.J.: Surface modification of poly(vinylidene fluoride) to improve the osteoblast adhesion. *Biomaterials* 2003, 24, 3663-3670.  
 [3] Laroche G., Marios Y., Guidoin R., King M.V.: Polyvinylidene fluoride (PVDF) as a biomaterial: from polymeric raw material to monofilament vascular suture. *J.Biomed.Mater.Res.* 1995, 29, 1525-1536.

## References

- [4] Morra M., Della Volpe C.: Correlation between substratum roughness and wettability, cell adhesion, and cell migration. *J.Biomat. Mater.Res.* 1998, 42, 473-474.  
 [5] Scotchford C.A., Cooper E., Leggett G.J., Downes S.: Growth of human osteoblast-like cells on alkanethiolon gold self-assembled monolayers: the effect of surface chemistry. *J.Biomed. Mater.Res.* 1998, 41, 431-442.

# OTRZYMYWANIE I BADANIE BIORESORBOWALNYCH GĄBEK DLA INŻYNIERII TKANKOWEJ Z TERPOLIMERU L-LAKTYDU, GLIKOLIDU I $\epsilon$ -KAPROLAKTONU

ELŻBIETA PAMUŁA\*, SOLEDAD SIMON\*\*, PIOTR DOBRZYŃSKI\*\*\*

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

\*\*UNIVERSITÉ DU MAINE,  
 INSTITUT UNIVESTIARE DE TECHNOLOGIE LE MANS,  
 DEPARTAMENT DE CHIMIE, LE MANS, FRANCJA

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

## Streszczenie

Gąbki przeznaczone dla inżynierii tkankowej wytworzone zostały z nowego terpolimeru glikolidu, L-laktydu i  $\epsilon$ -kaprolaktonu, zsyntezowanego przy użyciu relatywnie niskotoksycznego acetyloacetonienu cyrkonu. Scharakteryzowano mikrostrukturę, porowatość i właściwości powierzchniowe otrzymanych gąbek. Gąbki miały pory o rozmiarze około 700  $\mu\text{m}$ , nasiąkliwość 550% ( $\pm 40\%$ ) i porowatość 87% ( $\pm 1.2\%$ ). Degradację gąbek *in vitro* (w buforze fosforanowym) oceniano za pomocą SEM, FTIR i badań wiskozymetrycznych. Wykazano, że chociaż gąbki zaczynają ulegać degradacji natychmiast po kontakcie z buforem, zachowują one swoje wymiary i porowatą mikrostrukturę przez 5 tygodni *in vitro*.

## Wprowadzenie

Poli(L-laktyd), polimer resorbowlany należący do grupy poli( $\alpha$ -hydroksyestrów), jest materiałem biozgodnym wykorzystywanym m.in. na elementy do osteosyntezy [1]. Nie-

# MANUFACTURING AND INVESTIGATION OF BIORESORBABLE FOAMS FOR TISSUE ENGINEERING FROM TERPOLYMER OF L-LACTIDE, GLYCOLIDE AND $\epsilon$ -CAPROLACTONE

ELŻBIETA PAMUŁA\*, SOLEDAD SIMON\*\*, PIOTR DOBRZYŃSKI\*\*\*

\*AGH - UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,  
 FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,  
 DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,  
 30 MICKIEWICZA AVE., 30-059 KRAKÓW, POLAND

\*\*UNIVERSITÉ DU MAINE,  
 INSTITUT UNIVESTIARE DE TECHNOLOGIE LE MANS,  
 DEPARTAMENT DE CHIMIE, LE MANS, FRANCE

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

## Abstract

Foams intended for tissue engineering were produced from a new terpolymer of glycolide, L-lactide and  $\epsilon$ -caprolactone, synthesized with the use of relatively low-toxic zirconium acetate. The microstructure, porosity and surface properties of the foams were characterized. The foams had the pore size of 700  $\mu\text{m}$ , water uptake of 550% ( $\pm 40\%$ ) and porosity of 87% ( $\pm 1.2\%$ ). The degradation of foams *in vitro* (in PBS) was studied by SEM, FTIR and viscosity measurements. It was shown that the foams start to degrade immediately after contact with PBS, but they maintain their dimensions and porous microstructure for 5 weeks *in vitro*.

## Introduction

Poly(L-lactide), a resorbable polymer belonging to a group of poly( $\alpha$ -hydroxy ester)s, has been regarded as