

OCENA STANU BIŻUTERII METALICZNEJ Z POWŁOKĄ WĘGLOWĄ W BADANIACH *IN VIVO*

DOROTA BOCIĄGA

POLITECHNIKA ŁÓDZKA, INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ,
ZAKŁAD INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ
UL. STEFANOWSKIEGO 1/15, 90-924 ŁÓDŹ, POLSKA
E-MAIL: DOROTA.BOCIAGA1@GMAIL.COM

Streszczenie

Tworzywa metaliczne stanowią szeroką gamę produktów, które służą człowiekowi w każdym aspekcie życia. Odpowiednie właściwości biologiczne oraz optymalne parametry biomechaniczne sprawiają, iż tworzywa metaliczne są wciąż bardzo szeroko stosowane. Są to nie tylko wyroby o charakterze mechanicznym. Równie istotne są te wykorzystywane na biomateriały, które posiadają zespół cech zapewniających im jak największą biogodność i biofunkcjonalność. To właśnie z biomateriałów wykonuje się produkty, z którymi organizm ludzki ma kontakt bezpośredni, takie jak: implanty medyczne, narzędzia chirurgiczne, czy wyroby jubilerskie, które bardzo powszechnie ozdabiają niemal każdą część ludzkiego ciała. Biżuteria przeznaczona do zdobienia ciała to szczególnie rodzaj tworzyw metalicznych.

Ozdoby, będące wyrobami metalicznymi, mają bezpośredni kontakt z żywą tkanką. Stanowią zatem swego rodzaju biomateriały, które powinny spełniać wymogi im adekwatne. Jednak wstępne badania i doniesienia literaturowe wskazują, że nawet biomateriały, powszechnie uważane za nietoksyczne i bezpieczne dla organizmu, mogą uwalniać jony pierwiastków składowych podłoża, wpływając na utrudniony proces gojenia się ran, inicjując odczyny alergiczne, mogą także odkładać się w narządach wewnętrznych (metalozą) a przez to prowadzić do upośledzenia czynności komórek organizmu.

Niniejsza praca jest krótkim przeglądem stanu wiedzy w zakresie wyrobów jubilerskich używanych do zabiegów zdobienia ciała oraz weryfikacją oddziaływania organizmu żywego na ozdoby z tworzyw metalicznych z powierzchnią modyfikowaną powłokami węglowymi.

Słowa kluczowe: jubilerskie tworzywa metaliczne, biomateriały, powłoki węglowe, badania *in vivo*

[*Inżynieria Biomateriałów, 76, (2008), 28-32*]

Wprowadzenie

Tworzywa metaliczne stanowią szeroką gamę półproduktów, z których wytwarza się gotowe wyroby do zastosowań w niemal każdej dziedzinie. Specyficzną grupę materiałów wykonywanych z tworzyw metalicznych stanowią biomateriały. Są one wynikiem prac badawczych interdyscyplinarnych zespołów i stanowią efekt zaawansowanych technologii. Badania nad rozwojem różnego rodzaju metali i stopów do zastosowań medycznych zmierzają w kierunku rozwiązań opartych na materiałach coraz bardziej złożonych, czy to na poziomie atomowym,

EVALUATION OF THE SURFACE OF METALLIC JEWELLERY WITH CARBON COATING AFTER *IN VIVO* TEST

DOROTA BOCIĄGA

TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, INSTITUTE OF MATERIALS
SCIENCE AND ENGINEERING, BIOMEDICAL ENGINEERING DIVISION
1/15 STEFANOWSKIEGO ST., 90-924 LODZ, POLAND
E-MAIL: DOROTA.BOCIAGA1@GMAIL.COM

Abstract

The metallic materials make a wide spectrum of products, which are useful for people in any aspect of life. Suitable biological properties and optimal biomechanical parameters make, that metallic materials are still very broadly applied. Those are not only mechanical products. Also these, which are used as a biomaterials, are very important for the sake of biocompatibility and bio-functionality. Articles staying in a direct contact with living organism, like for example: medical implants, surgical tools or jewellery, which decorates almost each part of human body, should be made of biomaterials. Jewellery is a special kind of metallic materials. They have a contact with tissues and thus constitute a special kind of biomaterials, which should fulfil the requirements adequate for them. The preliminary research and literature reports show that even biomaterials, generally pointed as non-toxic and safe, can release ions of background's elements and thus influence the wound healing process making it more difficult, initiate the allergic response or cause the metalosis.

Present work is a short review of state of the art in the range of jewellery being in use as materials for body modification procedures. It is also a verification of interaction between living organism and metallic materials with carbon coating on the surface.

Keywords: jewellery metallic materials, biomaterials, carbon coatings, *in vivo* investigation

[*Engineering of Biomaterials, 76, (2008), 28-32*]

Introduction

Metallic materials present a wide range of semi-finished articles, which are used in order to produce finished products almost in all disciplines. A very specific group of metallic materials constitute biomaterials, which are a result of work of interdisciplinary teams of scientists and constitutes effect of advanced technologies.

The examinations of development of various kinds of metals and alloys for the medical application head for direction of solutions based on more and more complex materials, both at the atomic and macroscopic level. What's more, their surfaces are modified by elements or compounds of metals or non-metals, like the carbon, hydroxyapatite, titanium or teflon coatings.

Biomaterials constitute a very specific group of materials characterized by a various compound, build and properties outstanding a very specific features making that they are acceptable by the human organism [1]. The system biomaterial-tissue-body fluid should be comprehended as a functional unity.

czy makroskopowym, których powierzchnie modyfikowane są pierwiastkami lub związkami z grupy zarówno metali, jak i niemetali, takimi jak np. powłoki węglowe, hydroksyapatytowe, tytanowe czy teflonowe. Biomateriały stanowią charakterystyczną grupę materiałów o różnym składzie, budowie i właściwościach, wyróżniających się tą specyficzną cechą, że są akceptowane przez organizm ludzki [1]. Układ biomateriał-tkanka-płyn ustrojowy powinien być pojmowany jako funkcjonalna jedność.

W praktyce klinicznej zastosowanie biomateriałów wiąże się zatem z rozwiązywaniem takich problemów i zagrożeń, jak: toksyczność, kompatybilność biologiczna, gojenie tkanek, właściwości mechaniczne i zmęczenie materiałów oraz zagadnienia prawne. Od właściwości biomateriału zależy nasilenie odpowiedzi tkankowej i humoralnej organizmu a w konsekwencji czas prawidłowego funkcjonowania produktu.

Obecnie biomateriały z tworzyw metalicznych wykonywane są w głównej mierze w ortopedii, stomatologii, chirurgii szczękowej, kardiologii, neurochirurgii, chirurgii plastycznej, laryngologii, na instrumentarium chirurgiczne, jak również do produkcji wyrobów jubilerskich.

Najpopularniejszym materiałem stosowanym na ozdoby ciała jest stal medyczna, srebro, złoto, tytan. Jednak wobec braku precyzyjnych przepisów wykonawczych w tej dziedzinie, na rynku spotkać można ozdoby wykonane również z cynku, miedzi z dużą zawartością niklu [2], powierzchniowo chromowane, które właściwie nie spełniają żadnych norm biomedycznych.

Metale szlachetne jak złoto (Au), srebro (Ag) czy platyna (Pt) (również inne platynowce: iryd, pallad, rod), dzięki swoim właściwościom leczniczym znalazły zastosowanie również w medycynie. Srebro stosowane jest głównie w stomatologii do wypełniania ubytków, złoto w kosmetologii, zaś platyna ma szerokie spektrum działania w onkologii [3].

Pomimo pozytywnego działania metale szlachetne lub ich pochodne wykazują również zdolności toksyczne. Chociaż znane są ich właściwości biostymulujące, w większości przypadków ich metaboliczna funkcja nie jest znana. Wiadomym jest, iż ze zmniejszeniem zawartości metali szlachetnych w stopach obniża się ich odporność korozyjna. Jednak względy ekonomiczne sprawiły, że poza metalami szlachetnymi wykorzystuje się w jubilerstwie również stopy innych metali. W głównej mierze są to stale Cr-Ni-Mo o strukturze austenitycznej oraz stopy tytanu. Stanowią one alternatywę dla drogiego złota czy też platyny. Materiały te zaczerpnięte zostały z gamy stopów do zastosowań w inżynierii biomedycznej, gdyż środowisko pracy zarówno w przypadku implantów medycznych jak i wyrobów jubilerskich stanowi tkanka żywa oraz płyny ustrojowe.

Względy ekonomiczne decydują również o fakcie, że w praktyce jubilerskiej stopy tytanowe stosowane są znacznie rzadziej niż stopy metali nieszlachetnych typu Cr-Ni-Mo oraz stopy kobaltu. Spośród tańszych materiałów stal chirurgiczna typu 316L jest najbardziej rozpowszechnionym materiałem na biżuterię do zabiegów modyfikacji ciała (z ang. *body art*). Stal ta, powszechnie nazywana nierdzewną, charakteryzuje się jednak słabą odpornością korozyjną w obecności agresywnego środowiska płynów ustrojowych. Zawiera dość znaczne ilości niklu (w zależności od typu zaw. Ni wynosi odpowiednio od 13% do 15%), który może powodować podrażnienia po uwolnieniu w wyniku wystąpienia korozji.

Prowadzone badania i doniesienia literaturowe wskazują, że nawet materiały powszechnie uważane za nietoksyczne i bezpieczne dla organizmu mogą uwalniać jony swoich pierwiastków składowych podłoża, wpływając na utrudniony proces gojenia się rany, odkładać w narządach wewnętrznych (metalozę), a przez to prowadzić do opóźnienia czynności komórek organizmu [4,5,6].

In the clinical practice the application of biomaterials is connected with the solution of such problems and threats as toxicity, biological compatibility, mechanical properties and material fatigue and legal aspects. On the biomaterial's properties depends the intensification of tissue and humoral response of the organism and, as a result, the time of proper product functionalisation.

At present, the biomaterials made of metallic materials are used mainly in orthopaedics, dentistry, maxillary surgery, cardio-surgery, neurosurgery, anaplasty, laryngology, for the surgical tools and for the jewellery production as well.

The most popular material being applied for body decoration is medical steel, silver, gold, titanium. Nevertheless, taking into consideration the lack of executive regulations precision in this domain, it is possible to buy on the market decorations made of zinc, copper with a big amount of nickel as well [2], which surfaces are coated by chromium, which do not fulfil any biomedical standards.

Noble metals like gold (Au), silver (Ag) or platinum (Pt) (also other platinoids like: iridium, palladium, rhodium), thanks to their curative properties have found an application also in medicine. Silver is applied mainly in dentistry in order to fulfil the cavity, gold in cosmetology, while platinum has a wide effect spectrum in oncology [3].

In spite of the positive effect, the noble metals and their derivatives show also the toxic abilities. Although the biostimulating properties of the noble metals are known, in most cases their metabolic function keeps still unknown. A low content of noble metals in alloys reduces their corrosion resistance. The economic aspects make that in jewellery are used also alloys of other metals. To a large degree that are austenitic Cr-Ni-Mo steels and titanium alloys. These constitute an alternative for costly gold or platinum. These materials were ladled out from the scale of alloys applied in biomedical engineering for the sake of very similar working environment.

The economical aspects decide also about the fact, that in jewellery practice the titanium alloy are applied more rarely than the noble metals alloys type Cr-Ni-Mo and cobalt alloys. From among cheaper materials the AISI 316L stainless steel is the most widespread material for jewellery using for the body modification procedures (so called *body art*). This steel, commonly called rust-proof, is characterized by a weak corrosion resistance in the aggressive environment of body fluids. Moreover it contains considerable amount of nickel, which can cause irritation after releasing as a result of corrosion.

Conducting examinations and literature reports point that even materials, commonly pointed as non-toxic and safe, can release ions of background's elements and thus influence the wound healing process making it more difficult, accumulate in the internal organs (the metalosis) and thus lead up to an defect of cells activity [4,5,6]. It is also known that material can activate in cells the synthesis of inflammatory reaction's transmitters. That makes impossible its lasting stay in organism. This phenomenon can be also a reason of inflammatory reaction development without the infectious factors.

The PACVD techniques (*Plasma Assisted Chemical Vapour Deposition*) are famous for the good adhesion of coatings manufactured using these methods. Simultaneously, the exact parameters steering let control both the thickness of coatings and their structure. The specific physicochemical and mechanical properties of carbon coatings modifying the surfaces of metals and alloys make that they are very useful material for application in industry, medicine and bioengineering [7,8]. These coatings are one of the best biocompatible materials introducing the least unfavourable changes in living system. Moreover, the examinations in

Wiadomo również, że materiał może aktywować w komórkach syntezę mediatorów reakcji zapalnej, co uniemożliwia jego długotrwale przebywanie w organizmie. Zjawisko takie może być przyczyną rozwoju reakcji zapalnych bez udziału czynników infekcyjnych.

Techniki PACVD (z ang. *Plasma Assisted Chemical Vapor Deposition*) znane są z tego, że nałożone warstwy posiadają doskonałą adhezję do podłoża. Jednocześnie dokładna kontrola parametrów procesu pozwala na łatwe sterowanie tak grubością warstw, jak i ich strukturą. Specyficzne właściwości fizykochemiczne i mechaniczne powłok węglowych modyfikujących powierzchnię metali i stopów sprawiają, iż są bardzo użytecznym materiałem dla zastosowań w przemyśle, medycynie i bioinżynierii [7,8]. Warstwy te są jednym z najlepiej tolerowanych materiałów, wprowadzającym najmniej niekorzystnych zmian w ustroju. Ponadto badania w zakresie węglowych powłok ochronnych na implantach medycznych dowodzą, iż mogą one stanowić barierę dla jonów metali uwalnianych w procesach korozyjnych chroniąc tym samym przed ich przenikaniem do organizmu. Dodatkowym atutem warstwy jest jej dekoracyjny charakter. Powłoki węglowe wydają się zatem być doskonałym materiałem do rozwiązania problemów powikłań związanych z jubilerskimi tworzywami metalicznymi, co potwierdziły wcześniejsze badania *in vivo* przeprowadzone na szczurach laboratoryjnych z wykorzystaniem wyrobów jubilerskich modyfikowanych metodami PA CVD [9].

Materiały i metodyka

W badaniach jako podłoża użyto austenitycznej stali chirurgicznej AISI 316L. Wybór podłoża podyktowany był faktem, iż stal ta jest obecnie najbardziej rozpowszechnionym tworzywem metalicznym do wyrobu ozdób używanych w modyfikacji ciała. Poza tym, jako że od dawna stosowana jest w medycynie, została dobrze poznana pod kątem zachowania w środowisku biologicznym. Próbkami stanowiła oryginalna biżuteria powszechnie używana do zabiegów ozdabiania ciała – kolczyki (typ: sztanga) o średnicy kulek 6mm, średnicy pręcika 1,6mm, długości pręcika 30mm.

Do zmodyfikowania powierzchni biżuterii wykorzystano dwie metody chemicznego osadzania z fazy gazowej: RF PACVD wykorzystująca wyładowanie wysokiej częstotliwości oraz MW/RF PACVD z zastosowaniem plazmy dwuczęstotliwościowej MW/RF. Zastosowanie tych dwóch metod dało możliwość regulacji właściwości fizykochemicznych nanoszonych warstw, a tym samym pozwoliło na wskazanie metody właściwej do tego typu zastosowań.

Do przeprowadzenia badań *in vivo* wykorzystano 100 dwumiesięcznych szczurów płci męskiej o wadze 200÷250 g stada niekrewniaczego outbred o symbolu Imp. WIST. Zwierzętom jednorazowo zaimplantowano biżuterię metaliczną modyfikowaną i niemodyfikowaną w tkankę podskórną grzbietową okolicy międzyłopatkowej. Eksperyment prowadzony był w czterech interwałach czasowych: 24 godziny, 1 tydzień, 4 tygodnie i 26 tygodni, co pozwoliło na ocenę skutków implantacji krótko- i długoterminowej (zgodnie z normą PN-EN 30993-6). Po tym czasie wycinano ozdoby wraz z otaczającą tkanką (RYS. 1a).

Po zakończonym eksperymencie w modelu *in vivo* wyjęte ze szczurzych tkanek kolczyki (RYS. 1b) poddano obserwacji używając elektronicznej mikroskopii skaningowej. Oceniano morfologię powierzchni ozdób po różnych okresach kontaktu ozdób ze środowiskiem tkankowym.

the field of protective carbon coatings onto the medical implants proof that they can constitute a barrier against metal ions releasing in the corrosion processes. Contact of body tissues with carbon coating means no metal ions exempted and thus no metalosis nor allergic reaction. So the carbon coatings seem to be a good material to solve complications connected with jewellery, what the *in vivo* tests had proofed [9].

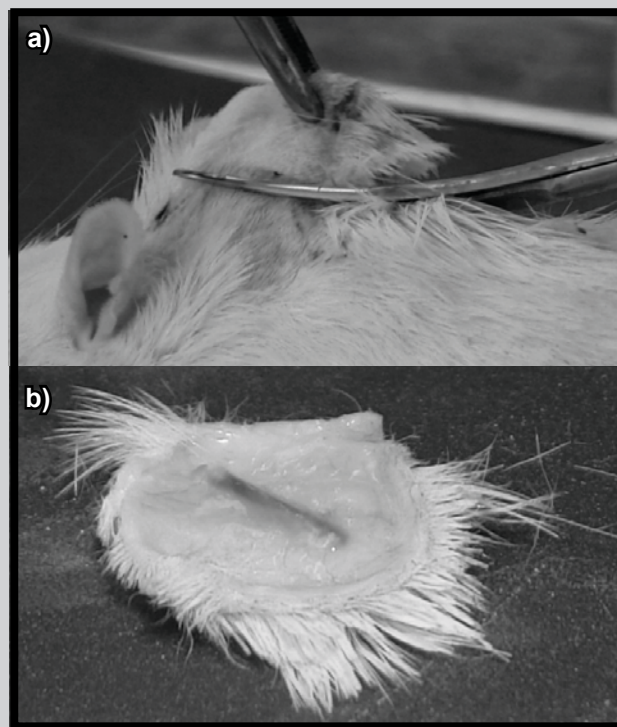
Materials and methods

Earrings, applying in practice (the weight type), made of 316L stainless steel (balls diameter – 6 millimeters, stamen diameter – 1,6 millimeters, length of stamen – 30 millimeters) were modified by carbon coatings. The choice of such kind of basis have taken a place because the statistical examinations show that 316L stainless steel is still very commonly apply in medicine as well as in body piercing salons.

Two methods of PACVD were used for this purpose: radio frequency (RF) and microwave/radio frequency (MW/RF). Application of these two methods gave a possibility of the coated layers physiochemical properties control and thereby let point a better method.

In order to conduct the *in vivo* test the population of 100 male rats of inbred farm, WISTAR stirps in age of 2 months and weight about 210÷220 grammes were used. The modified and non-modified jewellery was implanted into adult male rats subcutaneously. Experiment was being conducted for 24 hours, 1 week, 4 weeks and 26 weeks, what gave a possibility to evaluate the results of short- and long-term implantation (according to the norm EN-30993-6). After the periods of test the implants with surrounding tissues have been taken out (FIG. 1a).

After the end of *in vivo* experiment, the jewellery harvested from rats' tissues (FIG. 1b) have been taken under observation with use of scanning electron microscopy. The morphology of jewellery's surface was estimated.



RYS. 1. Zabieg pobrania tkanki okołimplantowej wraz z wyrobem jubilerskim (a), pobrany wyrób jubilerski wraz z tkanką (b).

FIG. 1. The procedure of implant surrounding tissue collecting (a), collected jewellery (b).

Wyniki i dyskusja

Ocena powierzchni jubilerskich tworzyw metalicznych wyjętych ze szczurów pokazała wysoce zadowalające wyniki w aspekcie oddziaływania organizmu żywego z naniesionymi powłokami węglowymi. Powłoki węglowe nawet po 26 tygodniach przebywania w środowisku tkankowym nie wykazywały delaminacji ani śladów korozji (RYS. 2b,c). Na powierzchni ozdób bez powłok obserwowano liczne wżery korozyjne, które pojawiały się już po 1 tygodniu przebywania w otoczeniu tkanki żywej (RYS. 2a). Wyniki obserwacji przedstawiono na RYS. 2. Na powierzchniach widoczne pozostałości tkankowe.

Określenie skutków oddziaływania jubilerskich wyrobów metalicznych wykonanych ze stali AISI 316L ze środowiskiem biologicznym pozwoliło na weryfikację zagrożeń płynących z ich implantacji oraz użytkowania. Otrzymane wyniki dla ozdób bez naniesionych powłok porównano z wynikami uzyskanymi przy zastosowaniu biżuterii z ochronną powłoką węglową, aby ocenić skuteczność zaproponowanego rozwiązania.

Wnioski

Powłoki węglowe zajmują szczególne miejsce wśród materiałów o dobrej tolerancji biologicznej w środowisku tkankowym, a ich biozgodność została szeroko opisana w literaturze. Wytworzone na biomateriale w sposób optymalnie do niego dopasowany, pozwalają uzyskać produkt biokompatybilny oraz biofunkcyjny, uzupełniając swoimi właściwościami listę wymagań, których samo tworzywo metaliczne nie jest w stanie w pełni zagwarantować.

Uzyskane wyniki dowodzą, iż powłoki węglowe są doskonałym materiałem do rozwiązania problemów związanych z negatywnym oddziaływaniem jubilerskich wyrobów metalicznych na organizm. Spełniają one swoje funkcje ochronne również przy zastosowaniach długoterminowych.

Results and Discussions

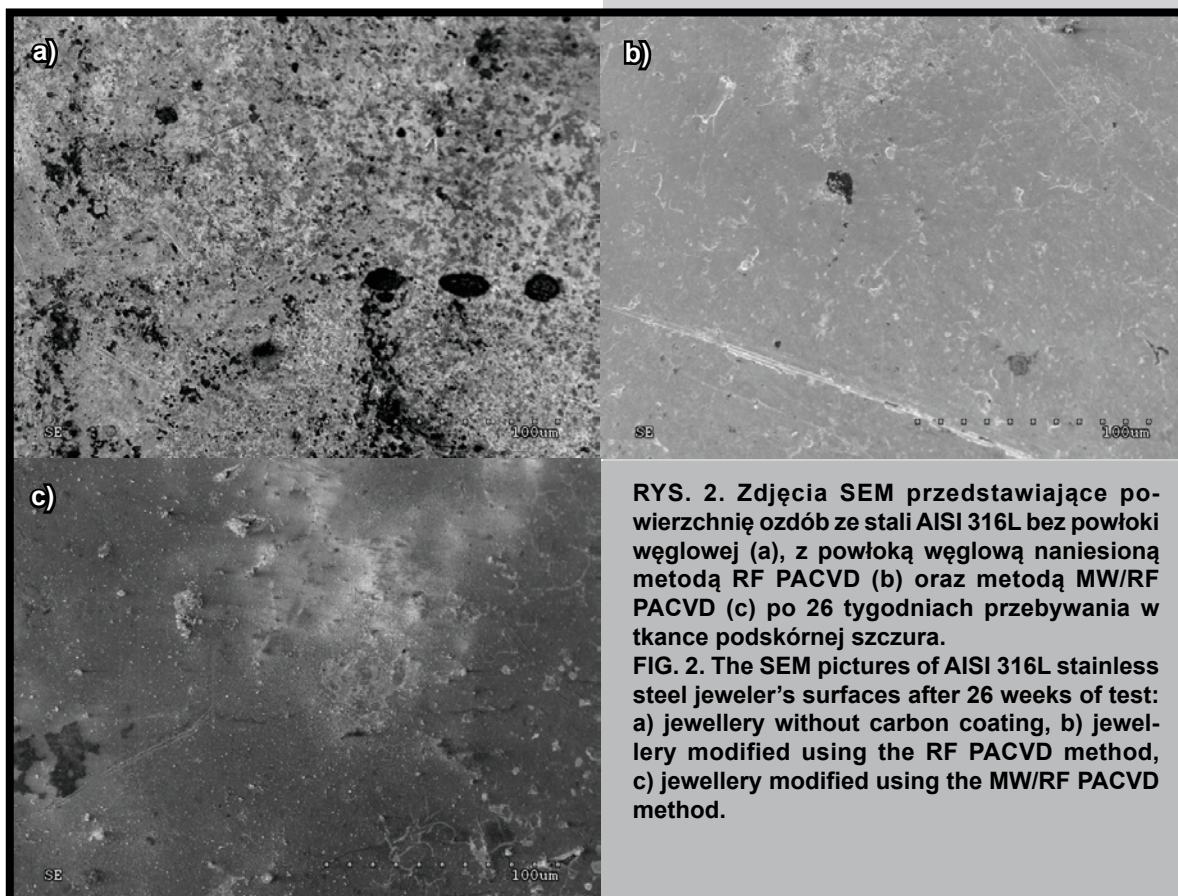
The estimation of surfaces of metallic jewellery harvested from rats has shown very satisfactory results taking into consideration the interactions between living organism and carbon coatings. After 26 weeks of being in tissue environment, the carbon films did not reveal a delamination nor corrosion traces (FIG. 2b,c). On the surface of decorations without coatings numerous pits were observed. These have showed up very fast - after one week staying in contact with living tissue (FIG. 2a). The observation results presents FIGURE 2. The tissues' rests are visible on the samples' surfaces.

Qualification of effects of jeweller's metallic material made of AISI 316L stainless steel on the biological environment let estimate their implantation and use threats. The results we have obtained for decorations without carbon coatings were compared with results we've got for modified jewellery. That let assess the effectiveness of proposed technological solution.

Conclusions

The carbon coatings have a special position among materials which show a good biological tolerance and their biocompatibility was widely described in literature. Carbon films manufactured onto the biomaterial in the perfectly matched way let get the bio-functional and biocompatible product, which complete the list of requirements the metallic material is not able to assure.

The obtained results prove that carbon coatings are a very good material in order to solve problems with negative interaction of jeweller's metallic materials with the organism. They keep their protective functions also in long-term applications.



RYS. 2. Zdjęcia SEM przedstawiające powierzchnię ozdób ze stali AISI 316L bez powłoki węglowej (a), z powłoką węglową naniesioną metodą RF PACVD (b) oraz metodą MW/RF PACVD (c) po 26 tygodniach przebywania w tkance podskórnej szczura.
FIG. 2. The SEM pictures of AISI 316L stainless steel jeweller's surfaces after 26 weeks of test: a) jewellery without carbon coating, b) jewellery modified using the RF PACVD method, c) jewellery modified using the MW/RF PACVD method.

Piśmiennictwo

- [1] Nałęcz, M.: „Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna 2000“, Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT, Warszawa, 2003.
- [2] Bociąga, D., Grabarczyk, J., Niedzielski, P., Krakos, M., Mitura, K.: „Zastosowanie biomateriałów z warstwami węglowymi do przekłuwania ciała“, Inżynieria Biomateriałów, 43-44, 2005, pp 66-70.
- [3] Żelazowska, R., Pasternak, K.: „Metale szlachetne: srebro (Ag), złoto (Au), platyna (Pt) w biologii i medycynie“, BROMAT CHEM TOKSYKOL - XL. 2007;2, pp 205-209.
- [4] Dąbrowska, D., Roszkiewicz, J., Sosnowski, G., Wójcik, T.: „Alergia na metalowe wszczepy stosowane w ortopedii“, Postępy Dermatologii i Alergologii, XXIV(2), 2007, pp 99-103.
- [5] Hanawa, T.: “Metal ion release from metal implants”, Materials Science & Engineering, C24,2004, pp 745-752.
- [6] Rezzani, R., Rodella, L., Tartaglia, G.M., Paganelli, C., Sapelli, P., Bianchi, R.: “Mast cells and the inflammatory response to different implanted biomaterials”, Arch Histol Cytol., 67(3), Sep 2004, pp 211-217.

References

- [7] Bąkowiec, K., Jakubowski, W., Okroj, W., Walkowiak, B., Karczemka, A., Niedzielski, P., Mitura S.: „Biocompatibility of NCD coatings“ In: Schürer A.D.-R.a.C., ed. Surface Engineering of Biomaterials-Properties, Processing and Potentials of Carbon Coatings: Wiley Verlag 2003.
- [8] Niedzielski, P., „Wytwarzanie warstw nanokrystalicznego diamentu na potrzeby medycyny“, Praca doktorska. Politechnika Łódzka; Łódź 1998.
- [9] Bociąga, D., Mitura, K.: „Biomedical effect of tissue contact with metallic material using for body piercing modified by DLC coatings“, Diamond & Related Materials, Vol. 17, 2008, 1410-1415.

Errata

W artykule: T. Cieślík, M. Adwent, J. Chłopek, A. Morawska-Chochół, M. Cieślík, J. Majcherczyk „Ocena wpływu kompozytów P(LLA/GA) z włóknami węglowymi oraz P(LLA/GA) z fosforanem trójwapniowym na proces gojenia tkanki kostnej - badania *in vivo* na podstawie wybranych parametrów” (Numer 81-84, (2008), 21-24) należy dodać:

Podziękowania

Praca finansowana ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (N403/046/32/2419).

Errata

In article: T. Cieślík, M. Adwent, J. Chłopek, A. Morawska-Chochół, M. Cieślík, J. Majcherczyk „The influence of P(LLA/GA) with carbon fibers and P(LLA/GA) with tricalcium phosphate composite materials on the processes of bone healing - *in vivo* studies based on chosen parameters” (Number 81-84, (2008), 21-24) it is necessary to add:

Acknowledgements

This work was financially supported by Polish Ministry of Science and Higher Education (N403/046/32/2419).