

DISS. ETH NO. 21241

**Polymeric Implants for Biomedical Engineering:
Tailoring, Functionalising and Applying**

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

for the degree of

DOCTOR OF SCIENCES

presented by

NORA HILD

MSc ETH Chem. Bio. Eng.

born November 9th 1986

citizen of Luxembourg

accepted on the recommendation of

Prof. Dr Wendelin J. Stark, examiner

Prof. Dr Detlef Günther, co-examiner

Zurich, 2013

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersucht biomedizinische Implantate für orthopädische und dentale Applikationen. Diese Implantate basieren auf abbaubaren oder nicht-abbaubaren Polymeren. Implantate wurden gemäss heutigem Wissensstand bezüglich Anforderungen an die Implantatstruktur gestaltet. Neben dem Design wurde die Funktionalität von porösen, bioabbaubaren reinen Polymerimplantaten ermittelt. Zudem wurden Implantaten durch Zugabe bioaktiver Nanopartikel osteokonduktive Eigenschaften hinzugefügt, sowie ein Gradient in der Funktionalität.

Kapitel 1 gibt eine Einführung in die Anatomie des menschlichen Knochengewebes, der Gelenke und in degenerative Gelenkerkrankungen. Aktuelle Methoden der Arthroplastik sind zusammengefasst. Zudem wird eine Übersicht über Metalle, Keramiken und Polymere gegeben, die drei Klassen der Biomaterialien in der heutigen Medizintechnik, welche vor allem im Tissue Engineering zum Zuge kommen. Kombinationen dieser Biomaterialien werden betrachtet, ebenso die Zugabe von Zellen, Arzneimitteln und Wachstumsfaktoren.

In Kapitel 2 wird das Ausarbeiten der Membranporosität durch trockene Hitzebehandlung anhand elektrogesponnener, purer Poly(lactid-co-glycolid) (PLGA) Fasern getestet. Der Effekt auf die fibröse Struktur wurde mit Hinblick auf die Morphologie überprüft. Diese bringt das fortschreitende Verschmelzen der Fasern mit der Behandlungstemperatur und -dauer in Korrelation. Die Zugeigenschaften und die Porosität als Funktion der Behandlung liefern Einblicke in die Möglichkeit, Hitze als Werkzeug zu benutzen, um die Implantate während der Herstellung an ihre Applikation anzupassen.

Implantate aus purem PLGA stehen unter Verdacht, durch ihren sauren Abbau, welcher den pH in der Umgebung der Implantate heruntersetzt, Immunreaktionen auszulösen. Jedoch fehlt bisher eine Evaluierung hinsichtlich antibakteriellen Wirkens durch diese pH-Verschiebung. In Kapitel 3 wurden die Reduktion oraler Bakterien und die Veränderung der oralen bakteriellen Flora in Richtung des Genus *Lactobacillus* durch Inkubation mit reinem PLGA beobachtet. Als Referenz diente ein Komposit aus PLGA und bioaktiven Glasnanopartikeln. Letztere sind bekannt für ihre antibakteriellen Eigenschaften. Zudem wird die Addition von bioaktivem Glas oder anderen Biokeramiken zum PLGA oftmals als Option zur Vermeidung der Entzündungsreaktionen genannt. Dies, weil sie der pH-Abnahme,

induziert durch die Abbauprodukte der Polymerdegradation, entgegenwirken. Hier wurde die Veränderung der koloniebildenden Bakterienzahl mit dem pH-Verlauf der Medien während der Inkubation in Verbindung gebracht. Es zeigte sich, dass der antibakterielle Effekt des bioaktiven Glases, welcher auf einer pH-Erhöhung beruht, verloren geht, da die Kombination mit dem Polymer die Ausmasse wie Dauer und Intensität der Erhöhung beeinflusst.

Für orthopädische Anwendungen ist die Bioaktivität von Kalziumphosphatnanopartikeln eine attraktive Eigenschaft. Daher wurden diese Nanopartikel in elektrogesponnene Polymerfasern eingebaut und ergaben ein watteähnliches, stopfbares Knochenersatzmaterial. Das Verhältnis von anorganischer zu organischer Materie in der natürlichen Zusammensetzung des Knochens (70 Gewichts% Hydroxyapatit, 30 Gewichts% Kollagen) wurde in Implantaten imitiert, welche in Kapitel 4 beschrieben sind. Nanofasern aus amorphem Kalziumphosphat und Kollagen Typ I wurden mit PLGA verstärkt und mit einer reinen PLGA-Schicht kombiniert. Dies ergab eine flexible, anisotrope Doppelmembran, welche bezüglich ihrer *in vitro* biomedizinischen Leistungen evaluiert worden ist. Untersucht wurde neben der Biomineralisierung auch die Interaktion mit humanen mesenchymalen Stammzellen. Akute zytotoxische Effekte konnten ausgeschlossen werden und aufgrund der biochemischen Resultate ist eine mögliche Applikation der Doppelmembran als Wundverband zur Behandlung von Knochendefekten mit komplexer Geometrie naheliegend.

Im Gegensatz zu bioabbaubaren Materialien, müssen biomedizinische Implantate in der Arthroplastik abnutzungsresistente, nicht-abbaubare Oberflächen, wie zum Beispiel ultrahochmolekulares Polyethylen (PE), aufweisen. Anisotrope Materialien mit ultrahochmolekularem PE auf einer Seite und bioaktivem PE auf der andern Seite könnten neue Implantate zum Gelenkoberflächenersatz liefern. Der erste Schritt zu diesem Ziel war es PE durch Zugabe von amorphen Kalziumphosphatnanopartikeln bioaktiv zu machen, wie in Kapitel 5 beschrieben. Mittels *in vitro* Biomineralisierung und einer Zellkulturstudie, wurden extrudierte Komposite aus PE und den genannten Nanopartikeln, neben ihren mechanischen Eigenschaften, auch in Bezug auf ihr biomedizinisches Applikationspotential analysiert.

Kapitel 6 beinhaltet eine allgemeine Betrachtung des Fertigungs und der Funktionalisierung von Implantaten. Zudem werden derzeit erforschte Applikationsmöglichkeiten der Implantate, welche mit den zuvor diskutierten Materialien und Designmöglichkeiten hergestellt wurden, aufgegriffen.

Summary

The present thesis examines biomedically engineered implants intended for orthopaedic and dental applications. These implants are based on either degradable or non-degradable polymers. Next to the design of the scaffolds according to present knowledge on implant architecture requirements, the functionality of porous biodegradable pure polymer implants was investigated. Furthermore, implants were rendered osteoconductive through incorporation of bioactive nanoparticles and functionally graded.

Chapter 1 introduces the reader to the anatomy of human bone tissue, joints and explains degenerative joint diseases. Current arthroplasty techniques are summarised as well as the implementation of metals, ceramics and polymers, the three classes of biomaterials used nowadays in biomedical engineering, especially in tissue engineering. Implants made from combinations of these biomaterials are looked at and their combination with cells, pharmaceutical ingredients and growth factors is studied.

In Chapter 2, the tailoring of membrane porosity through dry heat treatment was tested with electrospun pure poly(lactide-*co*-glycolide) (PLGA). The effect on the fibrous structure was investigated in terms of morphology, illustrating the continuously increased fibre fusion in correlation with treating temperature and treatment time. The recorded tensile properties and porosity data throughout the treatment have delivered insights on heat as a designing tool for customised scaffolds intended for cell culture in tissue engineering.

Scaffolds made of pure PLGA are suspected to cause immune responses because of their acidic degradation lowering the pH in the vicinity of the implants. However, up to now this acidic change has never been evaluated as potential bacterial-killing agent. In Chapter 3, the reduction of oral bacteria and the shift of the oral bacterial flora towards *Lactobacillus* genus were observed through incubation with pure polymeric scaffolds. A composite material made of PLGA and bioactive glass nanoparticles known to be antimicrobial served as a reference. In fact, the addition of bioceramics like bioactive glass to PLGA is often advanced as providing a possible solution to the issue of inflammation. They buffer the acidity induced by the polymer degradation by-products. In our experiments, the variation in colony-forming units of the bacteria was correlated with the pH evolution of the medium during incubation. It

turned out that the antibacterial effect of bioactive glass through pH increase was lost as the combination with the polymer reduced duration and intensity of the increase.

In orthopaedic applications the bioactivity of calcium phosphate nanoparticles is an attractive feature for implants. Therefore, these nanoparticles have been incorporated into electrospun polymer fibres to give a cotton wool-like compressible bone substitute material. The ratio of mineral to organic phase in the composition of natural bone tissue (70 wt% hydroxyapatite, 30 wt% collagen) was imitated in the scaffolds presented in Chapter 4. Nanofibres containing amorphous calcium phosphate and collagen Type I were strengthened with PLGA and combined with a pure PLGA layer to give a flexible, anisotropic bilayer. The *in vitro* biomedical performance in terms of biomineralisation and a cell culture study with human mesenchymal stem cells was evaluated. Acute cytotoxic effects could be excluded and the biochemical findings suggest possible application of these double membranes as wound dressing material in treatment of bone defects with complex geometries.

As opposed to biodegradable PLGA-containing biomaterials, biomedical implants in arthroplasty need to present wear-resistant, non-degradable surfaces like for example ultra-high molecular weight polyethylene (PE). Anisotropic materials with ultra-high molecular weight PE on one side and bioactive PE on the other side might deliver new joint resurfacing implants. The first step towards this goal was to render PE bioactive through incorporation of amorphous calcium phosphate nanoparticles as described in Chapter 5. Extruded composites of high-density PE and the mentioned nanoparticles were investigated with regard to their mechanical properties as well as biomedical application potential through *in vitro* biomineralisation and with a cell culture study.

Chapter 6 includes general considerations on the tailoring and functionalising of implants. Moreover, it highlights the currently investigated applications of scaffolds produced with the materials and the design options discussed in the previous chapters.