



14.9.2011

STŘEDA

středa 16:00
V. Březina, Monika Homolková
Komplexní primární zkouška
cytotoxicity in vitro

středa 16:45
L. Himmlová, D. Kubies,
V. Pešáková, M. Douděrová,
T. Goldmann
Biologická úprava povrchu
implantačních materiálů

středa 17:30
I. Janda
Neznámá historie nesnímatelných
zubních náhrad v
Rakousku-Uhersku



15.9.2011

ČTVRTEK

čtvrtek 9:00
E. Brynda, T. Riedel
Počáteční fáze kontaktu krve
s umělými povrchy

čtvrtek 9:45
M. Širová, V. Matyášová,
P. Rossmann, S. Van Vlierberghe,
S. Julien, P. Dubruel, E. Schacht
Imunokompatibilita hydrogelů pro
indukci regenerace tkání

čtvrtek 10:15
L. Bačáková
Funkce umělého materiálu v
moderních tkáňových náhradách
a tkáňovém inženýrství

čtvrtek 11:00
K. Novotná, M. Zajdlová, L. Bačáková,
V. Lisá, M. Munzarová, M. Jukličková,
K. Balík
Polylaktidové nanovlákná
modifikované hydroxyapatitem ako
nosiče kostních buněk pro
tkanivové inženýrství

čtvrtek 11:15
S. Catros, B. Guillotin, M. Bačáková,
J.-Ch. Fricain, F. Guillemot
Vliv fyzikálně-chemických parametrů
LAB na buněčnou viabilitu

čtvrtek 11:30
O. Benada
Elektronová mikroskopie a analýza
biologických vzorků



16.9.2011

PÁTEK

pátek 9:00
I. Stulíková, B. Smola
Hořčičkové slitiny - biodegradabilní
materiál

pátek 9:45
F. Hnilica, J. Málek
Současné směry vývoje titanových slitin
pro medicínské aplikace

pátek 10:30
L. Joska, J. Fojt
Korozní chování kovových biomateriálů
a vrstev

pátek 11:00
J. Fojt, L. Joska, P. Hryzák
Nanostrukturování povrchu titanu
a jeho slitin

pátek 11:30
I. Jirka, M. Vandrovcová a kol.
Role Nb v osteointegraci slitiny β -TiNb
s definovaným oxidovaným povrchem

pátek 14:00
M. Šupová
Úvod do problematiky kalcium fosfátů

pátek 14:30
K. Balík, T. Suchý a kol.
Příprava „měkkých“ náhrad kostní tkáně
a její problémy

pátek 15:00
Z. Sucharda
Chování kolagenových kompozitů v SBF

pátek 15:30
J. Ort
In vivo testy biomateriálů

pátek 16:00
D. Marx
Síťování želatina/HAP kompozitů pomocí
elektronového ozáření

pátek 16:30
D. Chvátil, P. Krist
Vybrané experimenty realizované v
poslední době na mikrotroonu MT25

pátek 17:00
P. Bartoš, P. Špatenka a kol.
Plazma sterilization and other "dry"
oxidation processes



17.9.2011

SOBOTA

sobota 9:00
I. Pohl
Allogenní náhrady kosti lebky
a obličejového skeletu – kostní
implantáty pro kranioplastiku a pro
čelistní a obličejovou chirurgii

sobota 9:30
J. Kúr
Měřicí technika ke kontaktní
a bezkontaktní kontrole rozměrů
a kvality povrchu prvků z biomateriálů

sobota 10:00
F. Pešlová, E. Anisimov, J. Horník
Vznik mezních stavů na kontaktním
povrchu materiálu pro implantáty

sobota 10:30
V. Starý, I. Kunka, T. Suchý, J. Podaný
Drsnost a její charakterizace pro
povrch biomateriálů

sobota 11:00
Z. Říhová
Příprava TiO₂ vrstev a jejich
charakterizace

sobota 11:30
V. Lamač, Z. Tolde
Měření tloušťky vrstvy připravené
anodickou oxidací titanu a jeho slitiny



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IV.
Herbertov, Horní Mlýn, 14.-17.9.2011



Vítězslav Březina¹ a Monika Homolková²

Komplexní primární zkouška cytotoxicity in vitro

¹ Laboratoř tkáňových kultur Stomatologického výzkumného centra, LF Brno, brezinavita@gmail.com

² Laboratoř tkáňových kultur Ústavu fyzikální biologie, JČU, Nové Hradce

Zkoušky cytotoxicity jsou primárními testy materiálů, které mají vstoupit do zdravotnických aplikací. Jejich cílem je rozhodnout, zda testovaný materiál je cytotoxický, nebo mutagenní. Upravuje to norma CSN-EU-ISO 10 993 oddíl 3 a 5. Na základě výsledků těchto zkoušek je materiál buď vyřazen z dalších testů, anebo přijat.

Setkáváme se ovšem s materiály, na které buňky nereagují tak ostře. Jsme svědky jakési tolerance, buňky nehynou, ale materiál tolerují a pravděpodobně si vytváří prostor pro jeho dlouhodobou přítomnost. Buňky jsou selektovány. Je otázkou, zda takto se projevující materiál vyřadit z dalších zkoušek, anebo doporučit jeho další testování.

Odpověď na tuto velmi zapeklitou otázku může usnadnit metoda, při níž reakci na materiál, sledujeme na živých buňkách v podmínkách in vitro. Jde o obrazový záznam chování buněk pořízený v režimu sběrného snímání ve zvolených intervalech. Metoda byla vypracována v laboratořích tkáňových kultur na Lékařské fakultě v Brně a v Ústavu fyzikální biologie v Nových Hradech. Byla diskutována na několika seminářích na akademické i neakademické půdě. Z těchto seminářů vyšlo několik cenných podnětů a metoda byla dále upravována. Přivítáme tedy další podněty, které povedou ke zpřesnění, anebo k zamítnutí našeho přístupu.

Základním rysem metody je vyhodnocení obrazového záznamu, k němuž se můžeme kdykoli vrátit a hodnotit z jiného pohledu. Obrazový záznam je pořizován od okamžiku inokulace buněk do testovaného média. Jsou to obvykle výluhy, anebo definované kousky pevných materiálů. Snímání je řízeno programem, stejně jako podmínky prostředí termostátovaného kultivačního prostoru.

Obrazový záznam je hodnocen jak kvantitativně, tak kvalitativně. Znamená to získání kvantitativních údajů tak zvanou okénkovou analýzou, anebo získání kvalitativních údajů prohlídkou záznamu zvolenou projekční rychlostí. Obě tyto metody nám odhalí jak dynamiku procesů, tak i kinetiku jednotlivých buněčných reakcí.

Základní numerické hodnocení spočívá v počítání buněk na jednotlivých snímcích. Z výsledků lze spočítat indexy, které kvantifikují reakci buněk na testovanou složku. V první řadě je to hodnocení dilatace (spreading) (Půža 1976), která prozradí chování cytoskeletu; odečítáno jako procento dilatovaných buněk k celkovému počtu buněk v obrazovém poli.

Lucie Himmlová¹, Dana Kubies², Vlasta Pešáková³, Margita Douděrová⁴ a Tomáš Goldmann⁴

Biologická úprava povrchu implantačních materiálů

¹ Výzkumný ústav stomatologický 1. LF UK a VFN Praha 2, himmlova@seznam.cz

² Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v.v.i., Praha 6

³ Revmatologický ústav Praha, Praha 2

⁴ Laboratoř biomechaniky, FS ČVUT v Praze, Technická 4, Praha 6

Místem prvního kontaktu mezi implantovaným materiálem a živou tkání příjemce je krev. Povrch implantátu je po kontaktu s krví modifikován aktivitou krevních buněk a mechanismem výměny iontů i proteinů. Při interakcích mezi povrchem implantačního materiálu a buňkami in vitro podmínkách předchází adheze proteinů vždy adhezi buněčné. Stejně tak i interakce povrchu



14.9.2011

STŘEDA



materiálu s krví je regulována fyzikálně-chemickými vlastnostmi implantátu. Proto je viabilita buněk v nejbližším okolí implantátu v přítomnosti různých krevních komponent důležitým krokem k porozumění procesu vhojování. Pro vysvětlení základního celulárního a molekulárního mechanismu integrace implantátů byl použit modelový in vitro systém, ve kterém bylo sledováno chování buněčné kultury vložené přímo na materiálový povrch, pokrytý některou z krevních komponent. Tento model implantátu s biologickou úpravou povrchu názorněji imituje situaci in vivo a lépe umožní odpovědět na otázku, které krevní složky stimulují osteoinduktivní procesy, případně evokují zánětlivý efekt při vhojování implantátů do kosti.

Studie sleduje efekt fyzikálně-chemických vlastností povrchu (drsnost, smáčivost ve vodě (kontaktní úhel) a volná povrchová energie (SFE)) necementovaných implantačních materiálů (TiPS, leptaný Ti, Ti-HA, ZrO₂ keramika, uhlíkový kompozit) a vliv jejich biologického povlaku jednou z krevních komponent (sérum, aktivovaná plasma a plasma bohatá na destičky (PRP)) na časnou odpověď lidských osteoblastů v podmínkách in vitro. Proliferační a syntetická aktivita (BAP, RANKL, IL-8) osteoblastů byla měřena pro implantační materiály s klinicky běžnou povrchovou úpravou a pro každou z biologických úprav. Zároveň byla sledována i adheze a aktivace krevních destiček na nepotažených površích hodnocených implantačních materiálů.

Téměř všechny materiály vykazovaly relativně vysokou proliferační aktivitu osteoblastů díky vysoké drsnosti povrchu (Ti-PS, Ti-HA), dostatečné hydrofilitě (Ti-Etch, ZrO₂), přítomnosti funkčních skupin na povrchu (Ti-Etch) nebo osteokonduktivnímu charakteru (Ti-HA, ZrO₂). Nebylo však možné rozlišit vliv povrchové energie na proliferační aktivitu. Na druhé straně nízká proliferace osteoblastů na povrchu C/C kompozitu má pravděpodobně příčinu v téměř nulové hodnotě polární komponenty γ^p volné povrchové energie a vysokou hydrofobicitou povrchu. Biologické povlaky na povrchu implantačních materiálů zlepšují proliferaci osteoblastů u všech testovaných vzorků, avšak v různém rozsahu. Povlakování aktivovanou plasmou vedl k unifikaci povrchů se srovnatelně vysokou proliferací. Stimulační efekt séra nebo PRP nebyl tak evidentní. Při hodnocení syntetické aktivity byla zjištěna vzrůstající tendence v expresi markeru časné osteoblastické aktivity - kostní kyselé fosfatázy (BAP) a IL-8 v řadě Ti-HA → Ti-Etch → Ti-plasma-spray → ZrO₂ → C/C kompozit u všech vzorků. Stejná produkce cytokinů srovnatelná s TCPS kontrolou, ve shodě s proliferací, byla pozorována na površích potažených plasmou, avšak mimo ZrO₂ a C/C kompozitu.

středa 17:30

Ivan Janda

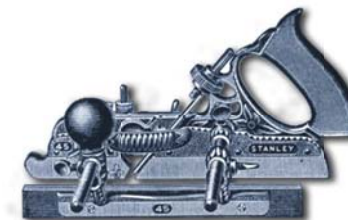
Neznámá historie nesnímatelných zubních náhrad v Rakousku-Uhersku

ivan.janda@gmail.com

V úvodu této studie budou připomenuty výsledky konkurenčního výzkumného týmu týkající se činnosti Járy Cimrmana coby mobilního dentisty na železnici. Železničáři byli tehdy tak přetížení náročnou službou ve dne i v noci, že neměli možnost navštívit zubaře, a jejich zuby tím pádem byly v žalostném stavu. Cimrmanovy slibné terénní výsledky však do značné míry zdiskreditovali potulní dentisté Chlumský a Tahal, a proto se Cimrman rozhodl radikálně změnit přístup k záchraně chrupu postižených železničářů. Spojil se s profesorem Yermakem Godunovem z University of Alabama v Birminghamu a MVDr. Josefou Jarolímovou, která na Lounsku provozovala vynikající veterinární laboratoř. Pomocí implantace tkáňových štěpů z kvalitního dárce do různých modelových příjemců se pokoušeli najít způsob, jak přenést vlohly pro zdravý a pevný chrup do poškozeného jedince v dospělém věku. Velká část přednášky je věnována obrazové dokumentaci těchto experimentů, které probíhaly od května 1910 do března 1911. Pravděpodobně proto, že pokusy nebyly prováděny na úrovni dědičných neidentifikovaných atributů (DNA), nýbrž na tkáňové úrovni u dospělců, nebylo dosaženo uspokojivého výsledku



požitelného v klinické humánní medicíně, a to přes trvajícím společenskou objednávku ze strany zaměstnanců c.-k. drah. Cimrmana lze pokládat za vynálezce nesnímatelných zubních náhrad, navzdory tomu, že vzhledem k chabému stavu základního biomedicínského výzkumu té doby se je nepodařilo prakticky realizovat.





Eduard Brynda a Tomáš Riedel

Počáteční fáze kontaktu krve s umělými povrchy

Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v.v.i., Praha 6, brynda@imc.cas.cz

Studovali jsme kontakt plné lidské krve bez přidaných antikoagulantů s povrchem zlata, uhlíku a grafenu. Podobně jako povrchy většiny umělých materiálů v současnosti používaných v chirurgii jsou tyto povrchy hydrofobní a nenesou záporné nabitě chemické skupiny, které by interakcí s koagulačním faktorem XII iniciovaly intenzivní tvorbu fibrinového gelu aktivací vnitřní dráhy (intrinsic pathway) koagulace. V modelových pokusech byla in situ pozorována adsorpce proteinů z lidské krevní plasmy pomocí resonance povrchových plasmonů (SPR). Během jedné minuty se testované povrchy pokryly ireversibilně adsorbovanou vrstvou proteinů o povrchové koncentraci cca 4 ng/mm² odpovídající koncentraci monomolekulárních vrstev IgG nebo fibrinogenu získaných adsorpcí z modelových roztoků. Skenovací elektronová mikroskopie ukázala, že během prvních čtyř minut kontaktu s plnou krví se na povrchu usazovaly jednotlivé krevní destičky. Postupně se zvyšující adheze destiček k povrchu se projevovala paprskovitými výběžky. Mezi čtvrtou a pátou minutou došlo k enormnímu rozprostření části adherovaných destiček svědčícímu o jejich aktivaci a k adhezi dalších destiček na jejich povrch. Z časového sledu událostí je zřejmé, že kontakt destiček s povrchem se odehrával na primárně adsorbované vrstvě plasmatických proteinů. Během tohoto počátečního stadia kontaktu s krví nedocházelo k pozorovatelné tvorbě fibrinového klotu, který je patrně vytvářen až pomocí trombinu masivně generovaného aktivací koagulační kaskády u povrchu aktivovaných destiček. Ve studované počáteční fázi kontaktu s krví nedocházelo ani k pevnějšímu zachycení erytrocytů nebo jiných krevních buněk na povrchu. Na rozdíl od destiček bylo možné tyto buňky odstranit důkladným opláchnutím povrchu fyziologickým solným roztokem. Erytrocyty bylo možno pozorovat až zachycené ve fibrinové síti trombu vyrostlých po delší době na několika místech povrchu.

čtvrtek 9:45

Milada Šírová¹, Veronika Matyášová¹, Pavel Rossmann¹, Sandra Van Vlierberghe², Sylvie Julien³, Peter Dubruel², Etienne Schacht² a Blanka Říhová¹

Imunokompatibilita hydrogelů pro indukci regenerace tkání

¹ Laboratoř nádorové imunologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha, sirova@biomed.cas.cz

² Polymer Chemistry and Biomaterials Research Group, Ghent University

³ Section for Experimental Vitreoretinal Surgery, Inst. for Ophthalmic Research, Tübingen

Výzkum zaměřený na oblast regenerativní medicíny přinesl v posledních dvou dekáдах řadu nových poznatků i materiálů. Jedním z intenzivně studovaných přístupů je vývoj polymerů a příprava matic, které slouží jako podpůrné struktury pro uchycení a růst buněk při indukci obnovy poškozené tkáně. Testují se syntetické i přirozené se vyskytující polymery. Zdá se, že materiály založené na přirozených polymerech mají řadu významných výhod, jako je podobnost s extracelulární matrix, interakce s buňkami, biokompatibilita a bio-degradovatelnost. Pro získání optimálních vlastností jsou biopolymery často chemicky modifikovány, a využívá se možnost inkorporovat funkční molekuly, např. biologicky aktivní peptidy nebo proteiny. Stále platí, že k získání optimálních materiálů je vedle studia jejich konkrétních funkčních vlastností nutné také důsledné testování jejich imunokompatibility. Aktivace imunitních mechanismů jako je akutní zánět, cytotoxicita nebo produkce protilátek může závažně ohrožovat funkci biomateriálů v organismu.



15. 9. 2011

ČTVRTEK



Hydrogely se studují jako jeden z možných nástrojů pro indukci regenerace tkání. využívají se jako nosiče buněk, k přípravě 3D podpůrných struktur, které jsou postupně nahrazovány obnovou tkání, nebo k pokrytí implantátů z jiných materiálů. Svým vysokým obsahem vody připomínají normální tkáň. Připravují se většinou buď na bázi polysacharidů (chondroitin sulfát, kyselina hyaluronová, chitosan, alginát, deriváty celulózy), nebo proteinů (kolagen, želatina, elastin, fibroin). Studovali jsme hydrogel na bázi želatiny, který může spojit přednosti materiálu biologického původu s výhodami syntetických polymerů díky možnostem chemických modifikací, které ovlivňují stabilitu za fyziologických podmínek a mechanické vlastnosti hydrogelu.

V naší laboratoři jsme se zabývali imunologickou snášenlivostí hydrogelu na bázi metakrylamidem modifikované želatiny. Testovali jsme proliferaci a produkci některých regulátorů zánětu lymfoidními buňkami a makrofágy po kontaktu s hydrogelem a růst různých typů buněčných linií *in vitro*. Případnou imunogenicitu jsme ověřovali *in vivo* pomocí podkožní implantace polyamidových membrán pokrytých hydrogelem inbredním myším. Ultratenké membrány pokryté tímto hydrogelem byly v partnerské laboratoři implantovány subretinálně potkanům s cílem ověřit možnosti, jak léčebně ovlivňovat regeneraci sítnice.

čtvrtek 10:15

Lucie Bačáková

Funkce umělého materiálu v moderních tkáňových náhradách a tkáňovém inženýrství

Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha 4, lucy@biomed.cas.cz

Podle dnes již klasické definice autorů Langer a Vacantiho (1993) [1] je tkáňové inženýrství "interdisciplinární obor, který využívá principy technických a biologických vědních oborů pro vývoj biologické náhrady, která obnoví, zachová nebo zlepší funkci tkáně či celého orgánu". K vývoji biologické náhrady tkáně je zapotřebí mít k dispozici buňky a jejich nosič, který plní funkce extracelulární matrix (ECM). Jako nosiče buněk lze sice v tkáňovém inženýrství použít molekuly přirozené ECM, ale v současné době nabývají velkého rozmachu umělé materiály. Při konstrukci pokročilých tkáňových náhrad již nestačí, aby materiál byl pouze pasivně tolerován buňkami přilehlých i vzdálených tkání, jako tomu bylo u náhrad předchozích generací. Podobně jako přirozená ECM musí umělý materiál regulovat adhezi, rozptřeni, růst, životaschopnost, diferenciaci, fenotypickou maturaci a mnohé další funkce buněk, jako je sekrece specifických molekul, kontraktilita či imunitní aktivace. Ačkoliv se pro konstrukci tkáňových náhrad používá široké spektrum materiálů (polymery, kovy, keramika, uhlíkové materiály a kompozity dvou nebo více typů materiálů), z hlediska adheze buněk lze materiály rozdělit na dvě velké skupiny, a sice materiály primárně osazené ligandy pro adhezni receptory buněk a materiály primárně neosazené. Jako ligandy pro adhezni receptory buněk slouží specifické úseky molekul ECM, například aminokyselinové sekvence (RGD, REDV, VAPG, KRSR apod.) či úseky sacharidové povahy, které se vážou na adhezni receptory buněk (integriny a receptory neintegrinové povahy). Existují dva způsoby, jak materiály osadit ligandy pro adhezni receptory buněk, a sice (1) nanosení celých molekul trvalé či provisionální ECM, jako je kolagen, fibronectin, laminin či fibrin a jejich kombinace, nebo (2) funkcionalizace materiálů přímo specifickými úseky těchto molekul – nejčastěji se používají aminokyselinové sekvence (oligopeptidy), které lze připravit synteticky. První způsob má výhodu v relativní jednoduchosti a možnosti modifikovat poměrně rozsáhlé úseky materiálu v krátkém čase. Poměrně snadno se takto dají potáhnout i stěny pórů v trojrozměrných porézních nosičích buněk. Druhý způsob je však v jistém smyslu preciznější a specifitější. Materiál například můžeme osadit výhradně ligandy rozpoznávanými určitým buněčným typem, např. sekvencí REDV preferovanou cévními endotelovými buňkami, sekvencí VAPG specifickou pro vazbu cévních hladkých svalové buňky a KRSR selektivně rozpoznávanou osteoblasty. Navíc lze oligopeptidické ligandy na povrchy materiálu navázat v definovaných



koncentracích i prostorové distribuci. Pokud jde o materiály primárně neosazené ligandy (což je mimochodem většina materiálů současně využívaných pro tkáňové náhrady), zde dochází k vazbě buněk prostřednictvím molekul ECM spontánně adsorbovaných k materiálu z biologických tekutin, jako je kultivační médium, krev či extracelulární tekutina. Typ adsorbovaných molekul, jejich množství a zejména jejich geometrickou konformaci (kritickou pro dosažitelnost ligandů pro adhezni receptory buněk) lze pak ovlivnit fyzikálními a chemickými vlastnostmi materiálu, jako je jeho polarita, smáčivost, elektrický náboj a elektrická vodivost, povrchová drsnost a topografie, rigidita či deformabilita povrchu apod.

[1] Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. Science 260 (1993) 920.

Podporováno granty GAČR č. 106/09/1000, P108/10/1106, P108/10/1858 a P108/11/1857.

čtvrtek 11:00

Katarína Novotná¹, Martina Zajdlová¹, Lucie Bačáková¹, Věra Lisá¹, Marcela Munzarová², Martina Jukličková² a Karel Balík³

Polylaktidové nanovlákná modifikovaná hydroxyapatitom ako nosiče kostných buniek pre tkanivové inžinierstvo

¹ Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha 4

² Elmarco s.r.o.

³ Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i., Praha 8

Použitie rôznych typov nanovláknenných materiálov ako nosičov buniek pre rekonštrukciu poškodeného tkaniva hraje v súčasnosti v tkanivovom inžinierstve dôležitú úlohu. Mikro porozita nanovláken umožňuje interakcie buniek, prerastanie materiálu a proliferáciu buniek a spolu s rôznou nano-škálou vlákien (100-1000nm) imituje prirodzené tkanivo.

V tejto štúdii sme vyhodnocovali prejavy kostných MG63 buniek, ako je adhézia, proliferácia a fenotypická maturácia a diferenciácia na nanovláknenných materiáloch. Tieto boli pripravené technológiou Nanospider a obohatené 5 alebo 15 hmotnostnými percentami nanočastíc hydroxyapatitu (HA). Rovnako bol vyhodnocovaný aj materiál bez prídavku HA.

Bunky po 7 dňoch kultivácie vytvorili konfluentné vrstvy na každom type nanovláknenného materiálu a ich viabilita bola porovnateľná s viabilitou buniek na kontrolnej polystyrénovej miske. Inkorporácia materiálu s 5 hm.% HA nemala vplyv na adhéziu a rast buniek, neboli zistené významné rozdiely medzi materiálom bez HA a materiálom s 5 hm.% HA. Pri 15 hm.% HA však už bola zaznamenaná znížená hustota živých buniek a koncentrácia osteokalcínu – markeru diferenciácie kostných buniek bola na týchto vzorkách (s 15% HA) naopak zvýšená.

Testované polylaktidové nanovláknenné materiály podporili adhéziu a rast buniek a ich modifikácia hydroxyapatitom (v množstve 15 hm. %) povzbudila aj diferenciáciu buniek smerom k osteogénnemu fenotypu.

Podporené grantom GAČR (grant č.106/09/1000).



čtvrtek 11:15

Sylvain Catros^{1,2}, Bertrand Guillotin¹, Markéta Bačáková^{1,3}, Jean-Christophe Fricain^{1,2} a Fabien Guillemot¹

Vliv fyzikálně-chemických parametrů LAB na buněčnou viabilitu

¹ INSERM, University Victor Segalen, U577, Bordeaux, Francie

² Faculty of Dentistry, University Victor Segalen Bordeaux, Francie

³ Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha 4

Nanášení buněk na vhodný substrát pomocí laseru, tzv. „Laser-Assisted Bioprinting“ (LAB), je novým slibným přístupem tkáňového inženýrství, jehož cílem je konstrukce trojrozměrné struktury složené pouze z biologického materiálu – buněk a biomolekul, např. fibrinu či kolagenu [1]. Tato práce se zabývá studiem fyzikálně-chemických parametrů LAB z hlediska vlivu této metody na buněčnou viabilitu. Vliv energie laseru, tloušťky vrstvy přijímacího substrátu pro buňky a viskozity biologického materiálu byly studovány u linie endotelových buněk Ea.hy926. Energie laseru byla volena v rozmezí 8 – 24 μ J, a jako přijímací substrát byl vybrán MatrigelTM o tloušťce vrstvy 20 – 100 μ m. Viskozita biologického materiálu byla modulována pomocí koncentrace alginátu sodného, která činila 0,5 % a 1 % (m/v). Buněčná viabilita byla hodnocena sledováním živých a mrtvých buněk (tzv. metoda live/dead) vždy 24 hodin po nanesení buněk na přijímací substrát. Výsledky ukazují, že buněčná viabilita roste s klesající energií laseru, s rostoucí tloušťkou Matrigelu a s rostoucí viskozitou biologického materiálu.

[1] Catros S, Guillotin B, Bacakova M, Fricain JC, Guillemot F. Appl. Surf. Sci. 257 (2011) 5142.

čtvrtek 11:30

Oldřich Benada

Elektronová mikroskopie a analýza biologických vzorků

Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha; Přírodovědecká fakulta UJEP, Katedra biologie, Ústí nad Labem, oldrich.benada@ujep.cz

Jedna z mnoha definic elektronové mikroskopie ji definuje následovně: *Elektronová mikroskopie je vědecká metoda při níž se svazkem elektronů o velmi vysoké energii zkoumají velice malé objekty.* Tato zdánlivě jednoduchá definice však obsahuje všechny klady i zápory této metody. Základem elektronové mikroskopie je interakce primárních elektronů generovaných elektronovým zdrojem mikroskopu s atomy preparátu. Interakce, při kterých nedochází k energetickým ztrátám primárních elektronů, označujeme jako elastické. Elektrony, které při interakcích ztrácejí energii, jsou označovány jako neelastické. Výsledkem obou interakcí je široké spektrum signálů, které lze využít k získání obrazových i analytických dat. Zároveň však tyto interakce způsobují poškození analyzovaného vzorku.

Způsob, jakým na preparát působí primární elektrony, určuje dva typy elektronové mikroskopie: *Transmisní elektronovou mikroskopii (TEM)*, kdy je preparát vystaven rozšířenému paprsku elektronů a produkty elektronových interakcí jsou analyzovány pod preparátem. *Rastrovací (Skenovací) elektronovou mikroskopii (SEM)*, kdy je preparát skenován fokusovaným elektronovým paprskem a produkty elektronových interakcí jsou zpravidla analyzovány nad preparátem.

Biologická elektronová mikroskopie je zvláštní kapitolou této metody. Ačkoliv to byly právě biologické preparáty, které byly zobrazovány v prvních prototypch elektronových mikroskopů, jsou neustále vyvíjeny a hledány nové metodické postupy, jak překonat základní problém - tím je obsah vody ve vzorcích a zachování struktury vzorku při jejím odstraňování či imobilizaci. Biologické vzorky jsou tvořeny převážně lehkými prvky (C, H, N, O, P, S) a ty neposkytují



dostatečný kontrast v transmisním elektronovém mikroskopu. Zisk odražených a sekundárních elektronů z povrchu biologického vzorku při skenování elektrony je z tohoto důvodu také malý.

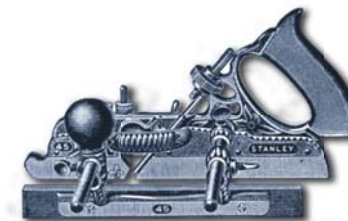
V klasické biologické elektronové mikroskopii se proto prakticky nesetkáváme s nativními biologickými vzorky. Snímek biologické tkáně či pouze samotné buňky z transmisního elektronového mikroskopu je zachycením určitého prostoru a času, pro který je daný prostor charakteristický. Abychom byli schopni připravit preparát biologického vzorku, musíme splnit řadu postupů a kritérií, aby výsledné analýzy charakterizovaly daný stav buňky či tkáně a byly vzájemně srovnatelné. Klasické postupy zahrnují:

TEM: *Fixaci*→*Dehydrataci*→*Zalití do resinu*→*Ultramikrotomii*→*Kontrastování preparátů*

SEM: *±Fixaci*→*±Dehydrataci*→*±Kontrastování preparátů*

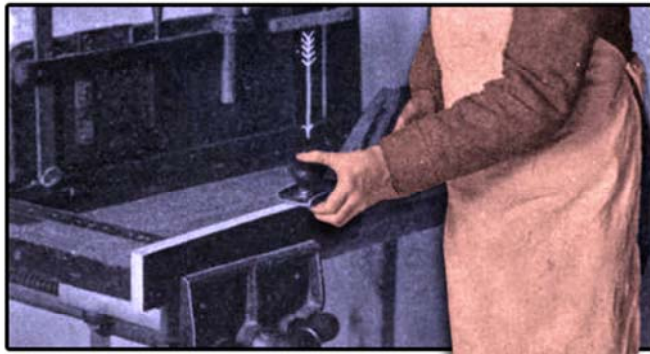
Jako praktický příklad jsem vybral naši spolupráci se Stomatologickým ústavem VFN v Praze, ve které analyzujeme metalické inkluze v měkkých ústních tkáních (gingivy) pacientů se stomatologickými náhradami zubů, které jsou vyrobené ze vzácných slitin.

Práce byla podporována Grantem NT 12206-4 IGA Ministerstva zdravotnictví ČR a výzkumným záměrem Mikrobiologického ústavu AV ČR, v.v.i. č. AV0250200510.



**Ivana Stulíková a Bohumil Smola****Hořčíkové slitiny - biodegradabilní materiál**

Matematicko-fyzikální fakulta UK, Praha 2,
ivana.stulikova@mff.cuni.cz; bohumil.smola@mff.cuni.cz

**16.9.2011****PÁTEK**

V minulých desetiletích se vývoj a použití kovových biomateriálů soustředily na korozně odolné materiály pro trvalé implantáty. V poslední době ale byly navrženy některé materiály pro odbouratelné dočasné zátěžové implantáty s aplikacemi v pediatrii, kardiologii a ortopedii. Očekává se, že tyto materiály vymizí z organismu pomocí koroze v tělních tekutinách poté, co poskytnou po vhodnou dobu strukturní podporu pro hojící se místo [1]. V mnoha případech jsou dočasné implantáty výhodnější než trvalé. není potřeba je vyjmout následným chirurgickým zákrokem, omezují se reakce organismu při dlouhodobé aplikaci, není potřeba jejich adaptace při růstu (pediatrie) a dovolují případné další zákroky na místech již jednou ošetřených [2].

Hořčík má velmi nízkou hustotu srovnatelnou s hustotou kosti a blízkou hodnotu Youngova modulu. Houževnatost pak převyšuje alespoň o řád keramiky. Mg je čtvrtým nejhojnějším kationem v lidském těle a jeho fyziologické množství je zhruba 1 mol v 70 kg dospělém člověku. Přibližně polovina z tohoto množství je uložena v kostech. Jeho nízká korozní odolnost ve zředěných elektrolytech se stává zajímavou výhodou při jeho odbourávání in vivo, které vyžaduje i tvorbu rozpustných, netoxických korozních produktů. Čistý hořčík však pro většinu žádaných aplikací koroduje příliš rychle a navíc jeho napětí potřebné k plastické deformaci je příliš nízké. Je proto potřeba legovat ho dalšími prvky zlepšujícími mechanické vlastnosti a odolnost proti korozi. V současnosti se jako perspektivní jeví vzácné zeminy, mangan, vápník a zinek v koncentracích desetiny až jednotky procent. Mechanické vlastnosti materiálu pro odbouratelný zátěžový implantát mají důležitost nejen pro jeho základní funkci ale i z hlediska jeho výroby.

Hořčíkové slitiny znevýhodňuje jejich hexagonální struktura projevující se omezenou tažností a houževnatostí ovlivněnou počtem činných skluzových systémů. Primárním skluzovým systémem Mg je při pokojové teplotě pouze systém $\{0001\} \langle 11\bar{2}0 \rangle$, sekundárními skluzovými systémy pak systémy v prismatických rovinách $\{10\bar{1}0\} \langle 11\bar{2}0 \rangle$. Při zvýšených teplotách kloužou bazální dislokace ve směrech $\langle 11\bar{2}0 \rangle$ v pyramidálních rovinách $\{10\bar{1}1\}$ a aktivují se i další skluzové systémy $\{10\bar{1}1\} \langle 11\bar{2}3 \rangle$ a $\{11\bar{2}2\} \langle 11\bar{2}3 \rangle$. Toto chování jen málo ovlivňuje příměsi, pokud zůstává hexagonální matrice. Proto je třeba Mg slitiny mechanicky tvářet za zvýšených nebo vysokých teplot.

Cíleným tepelným zpracováním je možno v mnoha případech vytvořit v Mg slitinách částice intermetalických fází, které jsou orientované vůči Mg matici. V závislosti na tvaru, velikosti, číselné hustotě a orientaci precipitátu vůči matici lze měnit precipitační zpevnění v širokém intervalu napětí. Fázové transformace však mohou v Mg slitinách probíhat současně s mechanickým zpracováním za zvýšených teplot, což může negativním způsobem ovlivňovat užité vlastnosti implantátu. Detailní výzkum fázových transformací je proto jedním ze základních požadavků při návrhu implantačních materiálů s definovanými parametry.

- [1] Purnama A, Hermawan H, Couet J, Mantovani D. Acta Biomaterialia 6 (2010) 1800.
[2] Hänzi A.C, Metlar A., Schinhammer M, Aguib H, Lüth T.C., Löffler J.F, Uggowitzer P. J. Mat.Sci.Eng.C 31 (2011) 1098.



pátek 9:45

František Hnilica a Jaroslav Málek

Současné směry vývoje titanových slitin pro medicínské aplikace

UJP Praha, a.s., hnilica@ujp.cz, malek@ujp.cz

Zachování plnohodnotného života stárnoucí lidské populace i ve vysokém věku vyvolává zvýšené nároky na vyřešení otázky náhrady poškozených tkání implantáty vyrobených z materiálů, které mohou být dlouhodobě přítomny v organismu a bezproblémově plnit svou funkci. Materiály užití pro implantáty, zvláště pro aplikace pro nosná zařízení musí mít vynikající chemickou biokompatibilitu (tj. kombinaci vysoké pevnosti, vysoké meze únavy a nízkého modulu pružnosti). Podle účelu použití je požadován také dobrý odpor proti opotřebení a dobrá zpracovatelnost slitin. Prvořadou úlohu hraje jejich oseointegrace. Jako nejvíce perspektivní pro dosažení těchto komplexních požadavků se v současné době jeví titanové slitiny a jejich široké možnosti způsobu zpracování a povrchových úprav.

Příspěvek se věnuje zejména nově vyvíjeným beta titanovým slitinám složeným pouze z netoxických prvků (Ti, Nb, Ta, Zr, Sn), možnostem ovlivnění jejich struktury změnou chemického složení a tepelně mechanického zpracování. Do souvislosti jsou dány struktura a strukturální změny s mechanickými vlastnostmi, zejména z pohledu snahy o dosažení co možná nejvyšší hodnoty Youngova modulu, blízkého modulu kostí, při zachování dostatečných hodnot ostatních mechanických vlastností. Stručněji jsou zmíněny také možnosti ovlivňování dalších požadovaných, výše uvedených vlastností. V závěru jsou ukázány některé snahy o vývoj nových titanových slitin, jakými jsou porézní slitiny a slitiny s ultrajemnou strukturou, resp. nanostrukturou.

pátek 10:30

Luděk Joska a Jaroslav Fojt

Korozní chování kovových biomateriálů a vrstev

Vysoká škola chemicko-technologická, Praha 6, ludek.joska@vscht.cz

Titan, který se vyznačuje vysokou korozní odolností a je v současnosti široce využíván pro výrobu implantátů, je v principu výrazně neušlechtilý kov. Jeho korozní odolnost je dána tzv. pasivitou - povrch titanu je pokryt velmi tenkou oxidickou vrstvou. Organismem většiny pacientů je titan tolerován. Snahou výrobců implantátů je upravovat povrch výrobků z titanu tak, aby se usnadnila osseointegrace, tj. aby se urychlilo spojení povrchu implantátu s kostní tkání. Jednou z nových a potenciálně zajímavých cest je nanostrukturování povrchu. To v daném případě znamená vytvoření, např. elektrochemickou oxidací, uspořádané struktury nanotrubiček s průměrem v řádu desítek nanometrů. Povrch s nanotrubičkami je buňkami ochotně kolonizován. Velká adsorpční plocha nanostruktury umožňuje její další modifikace např. kotvením léčiv.

Diamond-like carbon (DLC) vrstvy jsou povlaky známé hlavně pro své výborné tribologické vlastnosti. DLC je metastabilní formou amorfního uhlíku, vrstvy se skládají z uhlíku a vodíku (v základní formě označované a-C:H). Jejich mechanické vlastnosti jsou dány poměrem uhlíku vázaného sp² (grafit) a sp³ (diamant) vazbou. Chování těchto vrstev lze ovlivnit jejich legováním např. Si, F, N, O, W, V, Co, Mo, Zr atd. Tímto způsobem lze ovlivnit tribologické, fyzikální a povrchové (povrchová energie, smáčivost) vlastnosti a též interakci s buněčným prostředím. V posledním uvedeném případě může být žádoucí, aby nebyl povrch biologickým prostředím kolonizován, což je třeba např. u senzorů, a proto jsou vrstvy legovány prvky s očekávanou cytotoxicitou (Ag, Cu atd.). U implantátů je naopak žádoucí snadná kolonizace povrchu. V současnosti jsou DLC povlaky úspěšně využívány v oblasti implantologie na třecích plochách protéz velkých kloubů. Jejich aplikace by však mohla být, vzhledem k modulovatelnosti složení, další cestou ke snazší integraci kovových implantátů s kostí. Jako nadějně se také jeví použití DLC



pátek 11:00

Jaroslav Fojt, Luděk Joska a Pavel Hryzák

Nanostrukturování povrchu titanu a jeho slitin

Vysoká škola chemicko-technologická, Praha 6, jaroslav.fojt@vscht.cz

Rychlé, stabilní a dlouhotrvající spojení implantátu a kostní tkáně je jedním z hlavních požadavků při vývoji ortopedických biomateriálů. Povrch v současné době nejrozšířenějších materiálů, titanu a jeho slitin je v pasivním stavu, tj. je pokryt tenkou vrstvou složenou z oxidů titanu a legujících prvků. Takový povrch se chová jako bioinertní. Organismus ho neodmítá, ale tvorba přímého (kvalitního) spojení s kostí může být dlouhodobým procesem. Proto se v současné době výzkum zabývá možnostmi "bioaktive" povrchu implantátů. Tvorba nanostruktury se zdá být jedním z možných způsobů, jak docílit bioaktivního povrchu. V případě titanu je nanostruktura tvořena trubkami oxidu titaničitého, v případě jeho slitin pak i oxidy legujících prvků. Mezi nejčastější způsoby tvorby nanotrubek patří anodická oxidace materiálu v prostředí fluoridových iontů. V rámci příspěvku budou prezentovány možnosti tvorby nanostruktur na titanu grade 2 a slitinách Ti-6Al-4V a Ti-39Nb-6Ta. Diskutován bude vliv jednotlivých parametrů anodické oxidace a složení expozičního prostředí na výslednou morfologii vzniklých nanotrubek. V závěru příspěvku budou popsány některé vlastnosti nanostrukturovaných povrchů, například povrchová energie, chování v modelovém tělním prostředí a buněčná interakce.

pátek 11:30

Ivan Jirka¹, Marta Vandrovcová², Otakar Frank¹, Zdeněk Tolde³, Zdeňka Kolská⁴, Lucie Bačáková² a Vladimír Starý³

Role Nb v osteointegraci slitiny β -TiNb s definovaně oxidovaným povrchem

¹ Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského, AVČR, v.v.i., Praha 8, ivan.jirka@jh-inst.cas.cz

² Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha 4

³ FS ČVUT v Praze, Ústav materiálového inženýrství, Praha 2

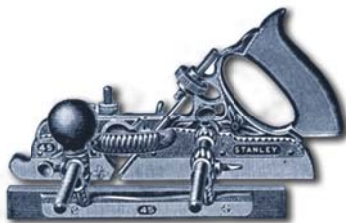
⁴ Universita J.E. Purkyně, Přírodovědecká fakulta, katedra chemie, Ústí nad Labem

Slitina titanu s hliníkem a vanadem Ti6Al4V patří v současné době k nejčastěji užívanému materiálu pro výrobu implantátů. Slévání Ti s Al a V zlepšuje mechanické vlastnosti materiálu. Současně se jedná o materiál vysoce biokompatibilní. Při dlouhodobé expozici implantátu na bázi slitiny Ti6Al4V však bylo prokázáno patogenní uvolňování Al a V do organismu. Recentně byla proto navržena náhrada Al a V za niob, který je z hlediska fyziologického neškodný. Slitina Ti39Nb (39 hm.% Nb) s β - strukturou (β -TiNb) má dále vhodné mechanické vlastnosti pro danou aplikaci. V této práci se zabýváme vlivem chemického složení definovaně oxidovaného povrchu slitiny β -TiNb na jeho osteointegraci. Oxidické vrstvy byly připraveny leptáním vzorků slitiny v Piranha roztoku ($H_2SO_4 + H_2O_2$) a následnou termickou oxidací v proudu suchého vzduchu při teplotě 600°C. Výsledky získané pro slitinu β -TiNb jsou porovnány s analogicky opracovanými povrchy čistého Ti. Povrchy vzorků Ti a slitiny β -TiNb jsme v různém stadiu přípravy charakterizovali současným užitím rentgenovým zářením buzené fotoelektronové spektroskopie (XPS), Ramanovy spektroskopie (RS) a měřením závislosti zeta (ζ) potenciálu na pH. Získali jsme poznatky o mechanismu leptání povrchů vzorků Piranha roztokem a o závislosti užitého způsobu opracování na počet a aciditu vzniklých povrchových hydroxylových (OH) skupin. Oxidované povrchy Ti a slitiny β -TiNb jsou převážně pokryty oxidem niobickým (Nb_2O_5) a oxidem



titanicitým (TiO_2) ve formě rutilu. Leptáním v Piranha roztoku jsme na povrch vzorků zavedli sulfátové skupiny, které tvoří amorfní fázi. Na povrchu Ti lze tuto fázi při ohřevu na 600°C termicky desorbovat za vzniku kladně nabitých poruch povrchové rutilové vrstvy, jež jsou kompenzovány bazickými OH skupinami. Leptání vzorku slitiny $\beta\text{-TiNb}$ v Piranha roztoku a následným ohřevem na 600°C vzniká kompaktní termicky stabilní sulfátová vrstva o tloušťce větší než je hloubka informace XPS (~ 3 nm). Tuto vrstvu lze odstranit sterilisací ve vroucí vodě. Takto připravený vzorek slitiny obsahuje velmi málo povrchových OH skupin, jejichž koncentrace je zanedbatelná. Povrch slitiny $\beta\text{-TiNb}$ oxidovaný bez předchozího leptání v Piranha roztoku obsahuje nejvyšší koncentraci OH skupin, které jsou nejvíce acidické v studované sérii vzorků. Z osteointegračních experimentů plyne pozitivní vliv přítomnosti Nb v povrchové vrstvě vzorku. K hodnocení jsme použili počty buněk ve třech časových intervalech (1., 3. a 7. den po nasazení). Prokázali jsme, že přítomnost Nb zlepšila počáteční adhezi a proliferaci kostních MG 63 buněk. Buňky byly dále 1. i 7. den po nasazení vysoce životaschopné (viabilita se pohybovala mezi 85-95%). Doba zdvojení se na těchto vzorcích v posledním sledovaném intervalu snížila, z čehož lze usuzovat, že buňky pravděpodobně vstoupily do fáze diferenciacce. Tento efekt není závislý na leptání povrchu $\beta\text{-TiNb}$ v Piranha roztoku před oxidací a je interpretován jako důsledek vysoké koncentrace Brönstedovských (OH) i Lewisovských kyselých center souvisejích s přítomností Nb v povrchové vrstvě slitiny.

Tato práce byla vypracována díky grantu č. P108/10/1858 GAČR.



pátek 14:00

Monika Šupová

Úvod do problematiky kalcium fosfátů

Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AVČR, v.v.i., Praha 8, supova@irms.cas.cz

Kalcium fosfáty jsou nedílnou součástí biomateriálů. Především kostní hmota je na kalcium fosfáty velmi bohatá, jejich obsah se pohybuje kolem 60%hm.. Při přípravě biomateriálů pro regeneraci kostní fáze je to tedy jedna z klíčových komponent, která může výrazně ovlivnit jak mechanické vlastnosti tak biokompatibilitu a toxicitu výsledného kompozitu. Tato přednáška se zabývá jednotlivými typy kalcium fosfátů, jejich chemickým složením, stabilitou v různých rozsazích pH, krystalinitou, způsobem přípravy a možností aplikací v biomateriálovém inženýrství.

pátek 14:30

Karel Balík, Tomáš Suchý, Zbyněk Sucharda a Monika Šupová

Příprava „měkkých“ náhrad kostní tkáně a její problémy

Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AVČR, v.v.i., Praha 8, balik@irms.cas.cz

Složky „měkké“ náhrady kostní tkáně byly zvoleny tak, abychom se co nejvíce přiblížili ke složení lidské kosti.

Kalcium fosfáty - jsou ukázány přírodní prekurzory pro přípravu nano prášků, uvedená jejich příprava a diskutovány problémy související zejména s jejich množstvím v konečném kompozitu (náhradě).

Kolagen - uvedeny prekurzory pro přípravu kolagenu, jeho zvláknění na nano-vlákna a problémy s tím související.

Kyselina polymléčná - použity 2 druhy komerční kyseliny polymléčné a ukázány možnosti jejich zvláknění.

Měkká náhrada (kompozit) - navrženy způsoby přípravy kompozitu a diskutováno jeho optimální složení i textura.

pátek 15:00

Zbyněk Sucharda

Chování kolagenových kompozitů v SBF

Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AVČR, v.v.i., Praha 8, sucharda@irms.cas.cz

Pro připravované implantace kolagenových kompozitů bylo testováno jejich chování v simulované tělní tekutině (SBF) z hlediska botnění kolagenu ve vodném prostředí po dobu 60 dnů. Vysoký stupeň botnění kolagenu ve vodném prostředí může být omezujícím faktorem pro aplikování tohoto typu materiálu v implantátech.

Pro testy byly připraveny kompozitní válečky z polyaktidových nanovláken, jako výztuží a kolagenu z kuřecích běháků s přísadkou hydroxyapatitu (HA). Vzorky byly exponovány v SBF při teplotě 37°C . Na exponovaných kompozitech metodou vážení, el. mikroskopem a metodou EDAX byla sledována jejich tvarová stálost a stupeň nabotnění a hmotnostní ztráty a obsah prvků na povrchu.

Bylo zjištěno, že i po 60 dnech expozice si ponechávají svůj tvar, ztráty kolagenu včetně HA jsou okolo 50% hm. z původního obsahu.



pátek 15:30

Jiří Ort¹ a Tomáš Suchý²

In vivo testy biomateriálů

¹ Diagnostické centrum Chodov s.r.o., Praha 4, jiri.ort36@email.cz

² Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AVČR, v.v.i., Praha 8

Při vývoji optimálního rozhraní mezi kostí a ortopedickými nebo zubními implantáty je třeba splnit široké nároky biokompatibility, mechanické stability a bezpečnosti. Splnění těchto požadavků vyžaduje důkladné testování *in vitro* ale také *in vivo*. Výsledky *in vitro* testů samotných je obtížné extrapolovat do *in vivo* prostředí. Z těchto důvodů jsou *in vivo* testy nezbytné před klinickou aplikací. Tato přednáška diskutuje některé běžně užívané *in vivo* modely i faktory ovlivňující jejich užití a předkládá několik konkrétních příkladů jejich aplikací.

pátek 16:00

Daniela Marx

Sít'ování želatina/HAP kompozitů pomocí elektronového ozáření

Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AVČR, v.v.i., Praha 8, hruskova@irsm.cas.cz

Kompozity na bázi želatiny plněné nanoprášky HAP, TCP, popř. jejich směsí jsou navrhovány pro možnou budoucí aplikaci jakožto degradabilní kostní výztuže. Proto je nezbytné, aby alespoň po dobu než začne výstavba nové kostní tkáně plnily opornou funkci. To znamená, že mechanické vlastnosti tohoto kompozitu musí odpovídat vlastnostem nahrazované kosti. Želatina má ale ve vodě tendenci bobtnat, je tedy nutné ji upravit (zesít'ovat) tak, aby změny objemu a mechanických vlastností (které jsou v suchém stavu dostačující) byly minimální. Želatinu lze sít'ovat chemicky i tepelně, nicméně každý z těchto způsobů má své nedostatky. Tyto nedostatky lze eliminovat při sít'ování pomocí elektronového ozáření. Příspěvek je věnován aplikaci této metody při úpravě želatinových biokompozitů.

pátek 16:30

David Chvátíl a Pavel Krist

Vybrané experimenty realizované v poslední době na mikrotronu MT25

Ústav jaderné fyziky AV ČR, v.v.i., Řež u Prahy, chvatil@ujf.cas.cz

V posledních několika letech prošel cyklický urychlovač elektronů mikrotron MT25 zásadní modernizací všech napájecích zdrojů a HF systému. Tyto práce byly prováděny za účelem automatizovaného provozu urychlovače a možnosti jeho řízení průmyslovým počítačem. V návaznosti na tyto práce bylo přistoupeno ještě k výměně již zastaralého vývodu svazku a krokových motorů zajišťujících jeho pohyb. Nový systém vývodu svazku zajistil jednodušší a spolehlivější volbu energie urychlených elektronů. Urychlovač mikrotron MT25 je jednoduchý zdroj primárních elektronových svazků, s energií volitelnou v rozsahu 6 - 25 MeV a proudem ve svazku do cca 20 μ A, a sekundárních svazků elektronů a neutronů. V současné době jsou využívány všechny tři svazky pro zcela různé experimenty, které jsou krátce v tomto příspěvku přiblíženy.



pátek 17:00

Petr Bartoš², Petr Špatenka^{1,2,3}, Zdeněk Michalčík³, Jan Hladík¹, Marta Horáková¹ a Pavel Kříž²

Plasma sterilization and other "dry" oxidation processes

¹ Department of Material Science, Technical University of Liberec, bartos-petr@seznam.cz

² University of South Bohemia, Department of Physics, České Budějovice

³ Masarykova Univerzita Brno, Brno

High-temperature autoclave sterilization meets its limit at temperature-sensitive devices made from polymers. Other physically based methods like gamma, UV or microwave irradiation demand serious security equipments. To solve sterilization problems at ambient temperature, new techniques commonly designed as Advanced Oxidation Processes (AOP) have been developed. They are based on production of very reactive oxidant components as OH, O₂, H₂O₂ or O₃ and the interaction of these radicals with bacteria or viruses. These radicals are also essential for other processes like hydrophilization of polymers or water and/or air cleaning.

Among different methods such as ozonization or chemical treatment, photocatalytic and/or plasma - based sterilization methods are intensively investigated. Short review about principles of these methods will be given. Short summary of results from our laboratories will be presented.

This work was partially supported by the projects MŠMT of the Czech Republic, projects No. KAN101120701 and MSMT 1M0577.

M.Moreau, N.Orange, M.G.J.Freuilloy. Biotechnolgy Advances 26 (2008) 610

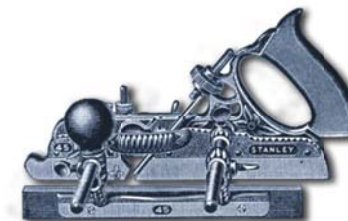
S.Lerouge, M.R.Wertheimer, L'H Yahia. Plasmas and Polymers 6 (2001) 175

A.Doubla et al. Chemosphere 69 (2007) 332

R. d'Agostino ed.. Plasma Deposition, Treatment and Etching of Polymers. Academic Press Inc. 1990

R.d'Agostino, P.Favia and F.Fracassi eds., Plasma Processing of Polymers. Kluwer Academic Publisher 1996

K.S.Siow et al. Plasma Process. Polym. 3 (2006) 392





Ivan Pohl

Allogenní náhrady kostí lebky a obličejového skeletu – kostní implantáty pro kranioplastiku a pro čelistní a obličejovou chirurgii

ELLA-CS, s.r.o., Hradec Králové, ivan.pohl@ellacs.cz

České firmy DUO CZ s.r.o. z Opočna a ELLA-CS s.r.o. z Hradec Králové spojily v r. 2008 své síly, vyvinuly a začaly vyrábět individuální náhrady vyplňující velké defekty kostí lebky a obličejového skeletu. Na vývoji se významně podílela také česká technická i medicínská akademická pracoviště – ČVUT Praha, Fakulta strojní, Laboratoř biomechaniky Ústavu mechaniky, Neurochirurgická klinika ÚVN Praha a Stomatologická klinika 1.LF UK Praha. Zmíněná medicínská pracoviště jsou zatím také jedinými odběrateli těchto unikátních zdravotnických prostředků. Implantáty se vyrábějí z polyetylénu s ultravysokou molekulární hmotností (Chirulenu 1020), titanové slitiny (Ti6Al4V ELI) a slitiny kobaltu, chromu a molybdenu (Co-28Cr-6Mo). Kostní implantáty se vyrábějí „na míru“, tj. jako zakázkové zdravotnické prostředky. Implantující lékař zpracovává předpis, jehož součástí jsou CT snímky defektu. Na jejich podkladě vytváří Laboratoř biomechaniky pomocí speciálního softwaru trojrozměrný model defektu i vyplňující náhrady. Virtuální model předává firmě DUO CZ, která zajistí, aby lékař dostal obrázky náhrady i defektu v elektronické podobě. Podle potřeby mu doručí i levný plastový model náhrady, tak, aby mohl potvrdit správné provedení náhrady. Pak probíhá vlastní výroba náhrady pomocí počítačem řízených obráběcích strojů. Firma ELLA-CS zajišťuje čištění implantátů, jeho balení, označení (štítek, návod k použití), vytvoření formálních náležitostí (Prohlášení o zakázkovém zdravotnickém prostředku), sterilizaci a dodávku zákazníkovi.

V rámci vývoje byla provedena validace výrobního softwaru důkazem rozměrové kompatibility definovaného defektu s vyrobenou náhradou. Bylo testováno chování Chirulenu 1020 při dynamickém rázovém zatížení - jednoosém tlakovém zatížení vzorků s cílem posouzení rizika vzniku ostrých hran při poškození implantátu in vivo. Nakonec bylo provedeno experimentální stanovení otěru pro kluznou dvojici materiálů Chirulenu 1020 a zmíněnou titanovou slitinu. Biokompatibilita materiálů byla ověřena prostřednictvím dokumentů, které předložili dodavatelé.

Od r. 2008 bylo vyrobeno a dodáno něco přes deset těchto individuálních náhrad, které byly úspěšně implantovány a podstatně zlepšily komfort života pacientů.

sobota 9:30

Jan Kůr

Měřicí technika ke kontaktní a bezkontaktní kontrole rozměrů a kvality povrchu prvků z biomateriálů

MESING, s.r.o., Brno, jan.kur@mesing.cz

MESING je firma specializovaná na zakázkovou měřicí a automatizační techniku pro ložiskový a automobilový průmysl. K doplňkovým programům patří různé laboratorní, zejména kalibrační přístroje, a také speciální účelová měřicí zařízení pro jiné obory. K nim patří i měřicí technika pro kontrolu dílů a součástek zdravotnické techniky. Tato zařízení řeší firma MESING často ve spolupráci se specializovanými zahraničními firmami (OptoSurf), ústavy akademie věd (ÚPT AV ČR v Brně, ÚM SAV v Bratislavě) a vysokými školami (VUT FSI, ČVUT FS atd.).

Prezentace firmy MESING je umístěna na závěr sborníku.



17. 9. 2011

SOBOTA



sobota 10:00

Františka Pešlová, Evgeniy Anisimov a Jakub Horník

Vznik mezních stavů na kontaktním povrchu materiálů pro implantáty

ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav materiálového inženýrství, Praha 2, frantiska.peslova@fs.cvut.cz

Příspěvek se zabývá výskytem možných mezních stavů, které vznikají na povrchu materiálů v případě, že jsou tyto povrchy vystaveny kombinovanému zatížení. Pokud se tyto materiály aplikují na implantáty, kdy je povrch zatížen různým typem opotřebení a to ještě v mírně agresivním prostředí podle pH živého organismu, lze předpokládat, že k takovému meznímu stavu dojde.

Z toho důvodu pro predikci mezního stavu porušení musí být zvolený systémový přístup k tomuto problému komplexní a to ne jen z pohledu materiálového, ale i z pohledu deformačně napětových stavů. Vznik jakéhokoliv mezního stavu v implantátu vede k jeho nefunkčnosti, což se může zobrazit i v nepříznivém působení na živý organismus.

Pozornost byla věnována vybraným materiálům na bázi titanu, které se převážně využívají v biomedicině.

Tato práce byla vypracována díky grantu KAN101120701 grantové agentury AV ČR a grantu P108/10/1858 GAČR.

sobota 10:30

Vladimír Starý¹, Igor Kunka¹, Tomáš Suchý² a Jan Podany³

Drsnost a její charakterizace pro povrch biomateriálů

¹ ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav materiálového inženýrství, Praha 2, stary@fsik.cvut.cz

² Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AVČR, v.v.i., Praha 8

³ ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav technologie obrábění, projektování a metrologie, Praha 6

Povrch biomateriálu, tj. rozhraní mezi živou tkání a materiálem, můžeme charakterizovat především jeho morfologií a jeho chemicko-fyzikálním stavem, dále např. i jeho tvrdostí, modulem pružnosti a případně dalšími inženýrskými a chemicko-fyzikálními charakteristikami. Důležité pro biokompatibilitu je však to, jak "vidí" povrch buňky. Drsnost povrchu, nebo v širším smyslu jeho morfologie, má na adhezi, růst (proliferaci) a specializaci (diferenciaci) buněk velmi významný vliv. Hodnoty parametrů drsnosti však závisí nejen na morfologii konkrétního povrchu, ale i na metodě měření, na měřicím přístroji, a na podmínkách zpracování měřených dat – např. na způsobu filtrování a odstranění vlnitosti přímo v softwaru měřicích přístrojů nebo v doplňujících programech nezávislými na konkrétním zařízení. V práci se zabýváme kalibrací a srovnáním dvou výpočtových programů SPIP Imagemet a Gwyddion na etalonu drsnosti ($R_a=6$ um) a dalších materiálech. Sledujeme závislost hlavních parametrů drsnosti a skutečné plochy povrchu (ne projektované plochy) na kritické vlnové délce (nazývané též cut-off, λ_{max} příp. Low-pass filtr) pomocí změny její hodnoty v použitém programu, filtrování pomocí Fourierovy transformace v obou programech a dalších filtrů. V příspěvku uvedeme podrobný popis použitých postupů a výsledky srovnání.

Tato práce byla vypracována díky grantu KAN101120701 grantové agentury AV ČR a grantu P108/10/1858 GAČR.



sobota 11:00

Zuzana Říhová

Příprava TiO₂ vrstev a jejich charakterizace

ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav materiálového inženýrství, Praha 2, zuzana.rihova@centrum.cz

V příspěvku se zabýváme přehledem metod přípravy oxidu titaničitého na titanu a Ti6Al4V a porovnáním vlastností těchto vrstev. Byly srovnávány zejména vlastnosti důležité pro jejich biokompatibilitu, tj. krystalická struktura, smáčivost, drsnost a porozita vrstev příp. povlaků a jejich povrchů a také jejich vliv na růst buněk. Rozlišnou technologií přípravy těchto vrstev a povlaků jako je anodická oxidace, magnetonové naprašování apod. můžeme dosáhnout různé krystalické struktury a různých vlastností vrstvy/povlaku. Konkrétně se porovnávají výsledky měření kontaktních úhlů na vzorcích s různou strukturou. Výsledkem práce je přehled doposud získaných poznatků a výsledků o biokompatibilitě TiO₂.

Tato práce byla vypracována díky grantu KAN101120701 grantové agentury AV ČR a grantu P108/10/1858 GAČR.

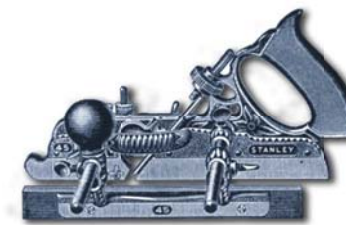
sobota 11:30

Vítězslav Lamač a Zdeněk Tolde

Měření tloušťky vrstvy připravené anodickou oxidací titanu a jeho slitiny

ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav materiálového inženýrství, Praha 2, lamac.v@seznam.cz

V rámci krátké prezentace budou účastníci seznámeni se způsoby měření tloušťky vrstev a povlaků. Konkrétně se jedná o oxidickou vrstvu připravenou na povrchu slitiny titanu s niobem TiNb a čistého titanu Ti anodickou oxidací. Anodická oxidace byla provedena při různém elektrickém napětí 12V, 50V a 100V. Při 12V a 100V byly současně oxidovány také vzorky Ti. Vzorky měly v závislosti na napětí různou barvu. Tloušťka vrstvy byla dále zkoumána elektronovým mikroskopem, kalotestem a spektroskopickou elipsometrií. Z výsledků je možno odhadnout spolehlivost metod měření tloušťky oxidické vrstvy pro daný materiál a další směry hledání vhodných metod měření tloušťky a struktury tohoto typu vrstev a povlaků.



MĚŘICÍ TECHNIKA MESING KE KONTAKTNÍ A BEZKONTAKTNÍ KONTROLE ROZMĚŘŮ A KVALITY PОВRCHU PRVKŮ Z BIOMATERIÁLŮ

MESING je firma specializovaná na zakázkovou měřicí a automatizační techniku pro ložiskový a automobilový průmysl. K doplňkovým programům patří různé laboratorní, zejména kalibrační přístroje, a také speciální účelová měřicí zařízení pro jiné obory. K nim patří i měřicí technika pro kontrolu dílů a součástek zdravotnické techniky. Tato zařízení řeší firma MESING často ve spolupráci se specializovanými zahraničními firmami (OptoSurf), ústavy akademie věd (ÚPT AV ČR v Brně, ÚM SAV v Bratislavě) a vysokými školami (VUT FSI, ČVUT FS atd.)

Uvádíme alespoň některé příklady realizované firmou MESING pro tyto účely.

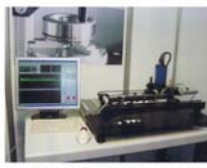
MESING nabízí své zkušenosti s vývojem, konstrukcí a výrobou zakázkové měřicí a automatizační techniky pro kontrolu rozměrů a kvality prvků.



Obr.1 Snímače pro měření tepelné roztažnosti materiálů ve stomatologii



Obr.2 Provozní měřidlo ϕ a rozptylu ϕ kulových ploch



Obr.3 Ruční měření tvarových úchylek, drsnosti a defektů



Obr.4 Automatické měření tvarových úchylek, drsnosti a defektů



Obr.5 Automatická kontrola kulových ploch náhrad kyčelních kloubů



Obr.6 Laboratorní měření kulovitosti kouli



Obr.7 Provozní kontrola kulových čepů vícenásobným komparačním měřicím pracovištěm



Obr.8 Příklad typické vícemístné a vícenásobné stanice MESING/ Čína

jan.kur@mesing.cz

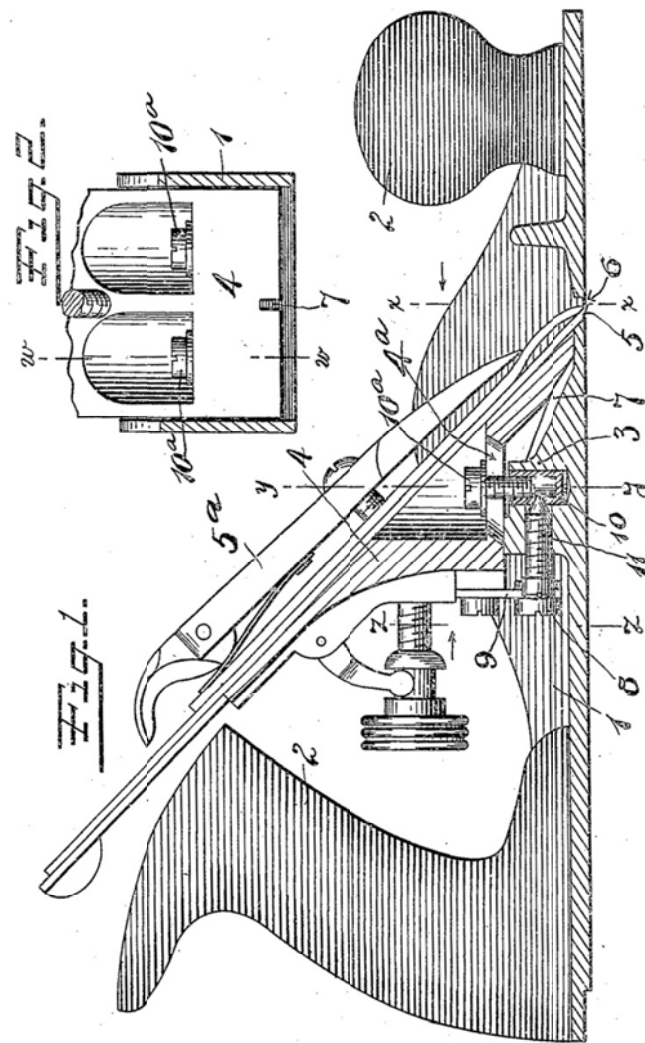
MESING, spol.s r.o., IČO: 25579835, DIČ: CZ25579835, Kontonummer: 1343599339/0800 ČS a.s. Brno
 MESING ist zertifiziert nach CSN ISO 9001 : 2001 und CSN ISO 14001 : 2005
 Gesellschaft ist registriert bei Kreisgericht in Brünn: Abteil C Einlage 35307

E. A. SCHADE.
 PLANE.
 APPLICATION FILED MAR. 18, 1909.

955,556.

Patented Apr. 19, 1910.

2 SHEETS—SHEET 1.



Witnesses:
Charles Beard
Fred. W. Tamm

Inventor
 E. A. SCHADE
By J. S. Ottomey & Co. Attorneys
Paul W. Spence