

Biokompozitní náhrady kostní tkáně



Ústav struktury
a mechaniky hornin
Al. Št. 1362



Akademie věd
České republiky

věda 21

kolem
nás
výzvy
a otázky

Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v. v. i., je jedním z 52 vědeckých ústavů Akademie věd České republiky. Předchůdci dnešního ústavu byly především Ústav pro vědecký výzkum uhlí založený v roce 1927, jehož ředitelem byl Dr. Hans Tropsch, spoluautor známé Fisherovy–Tropschovy syntézy tekutých paliv z uhlí, a posléze Hornický ústav Československé Akademie věd, činný od roku 1958. V sedmdesátých a osmdesátých letech minulého století došlo k několika změnám názvu ústavu a následně počátkem devadesátých let, kdy v roce 1992 vznikla Akademie věd České republiky, byl ústav přejmenován na Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v. v. i.

V dnešní době je Ústav struktury a mechaniky hornin moderně vybaveným pracovištěm, které se zabývá studiem struktury a vlastností horninového prostředí, hornin, odvozených materiálů a speciálních kompozitních materiálů. Ústav je rozdělen do pěti vědeckých oddělení, a to:

- Oddělení geochemie
- Oddělení inženýrské geologie
- Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů
- Oddělení seismotektoniky
- Oddělení struktury a vlastností materiálů.

Zkoumá přírodní i indukované jevy a procesy působící na chování, vývoj a stabilitu hornin v jejich přirozeném uložení v zemské kůře a širokou škálu anorganických a organických materiálů jak *in situ*, tak vytvořených v laboratorních podmínkách. Uplatňuje pokročilé monitorovací i laboratorní metody výzkumu s cílem formulovat vědecké poznatky a stanovit podmínky jejich využití v praxi. Ústav se ve spolupráci s vysokými školami podílí na školení doktorandů a vedení jejich dizertačních prací v oborech aplikovaná geologie, fyzika a geofyzika, energetické a chemické zpracování paliv, chemie a technologie anorganických materiálů; vydává časopis *Acta geodynamica et geomaterialia* a podílí se na vydávání dalšího časopisu *Ceramics – Silikáty*.

Biomateriálové inženýrství

Biomateriálové inženýrství je poměrně novou, přes padesát let se vyvíjející vědeckou disciplínou. Nahrazování měkkých či tvrdých tkání lidského těla však není nové. Již ve starověku Indové a Číňané používali pro odstranění tělních defektů různá lepidla, tmely i vlastní tkáně a na egyptských mumiích byly nalezeny umělé oči, uši, nosy a zuby. Místa lidského těla, která byla a jsou středem dlouhodobého zájmu materiálových inženýrů a vědců, vidíme na obr. 1.

Lidská kost je v podstatě také kompozitní materiál, zřejmě jeden z nejdokonalějších, který existuje. O to je však obtížnější jej plně nebo částečně funkčně nahradit. Jaké jsou, velice stručně uvedeno, základní funkce kosti v lidském těle? Kost je oporou lidského těla, ochranou řady orgánů, umožňuje pohyb, vytváří červené a bílé krvinky, krevní destičky, je zásobníkem fosforu a vápníku. Kostní tkáň je dobrým příkladem dynamické tkáně, má do určitého rozsahu jedinečné regenerační a remodelační schopnosti. Z různých důvodů si mnohé případy traumatických nebo netraumatických poškození kosti vyžadují léčbu pomocí náhrad nebo štěpů. Potřeba umělé náhrady kosti závisí na komplikovanosti defektu. V případě postižení malého rozsahu má kost schopnost vlastní regenerace. Naopak v případech těžkých, rozsáhlejších defektů a ztráty objemu vyvstává potřeba aplikace kostních náhrad, štěpů. V současné době je pro léčbu onemocnění spojených s úbytkem kostní tkáně nebo traumatických poškození kosti používána řada přístupů. Asi nejčastější je použití autologního štěpu, tedy transplantace kostního štěpu od stejného pacienta. Tento přístup s sebou však přináší celou řadu vážných nevýhod, organizmus pacienta je zatížen dalším operativním zákrokem, což vede také k prodloužení doby hojení a rehabilitace, zvyšuje se také riziko možné infekce a především je tento zákrok limitovaný dostupností kostní tkáně, resp. dalším možným poškozením způsobeným odběrem. Alogenní (dárcovská kost) nebo xenogenní (kost jiného druhu: prasečí, telecí) štěpy jsou obecně nevhodné vzhledem k možnosti vzniku imunitní reakce a následného nepřijetí organismem pacienta, ale i vzhledem k riziku přenosu nemocí. Právě z těchto důvodů je kladen důraz na vývoj umělých materiálů pro náhrady kostní tkáně.

Pro konstrukci umělých kostních náhrad se používá celá řada materiálů, které lze rozdělit do tří hlavních skupin na kovové, keramické a polymerní. Každý z těchto materiálových typů má své specifické výhody a omezení. Pokud jsou použity samostatně, žádný z nich nedosahuje shodných mechanických a dalších fyzikálních vlastností jako kost, stejně tak ani jejího chemického složení.

Vůbec prvními a dodnes asi nejčastěji používanými jsou náhrady na bázi kovů a jejich slitin, například korozi odolné oceli, titanové slitiny, chrom-kobaltové slitiny, které však vykazují několikanásobně vyšší tuhost ve srovnání s kostní tkání (kortikální kost má Youngův modul přibližně 7–28 GPa). Příliš vysoká tuhost kovových náhrad (Youngův modul kovových slitin se pohybuje v rozmezí přibližně 110–210 GPa) způsobuje nevhodný přenos zatížení, který může vést ke snížení hustoty kosti a změnám v její architektuře. Tento jev může například při osteosyntéze zlomenin vést ke zvýšení rizika opakovaného zlomení kosti po vyjmutí implantátu, např. kostní dlahy. Kovové náhrady navíc v tělním prostředí často podléhají různým formám koroze.



Obr. 1 Nejčastější místa umělých náhrad a dlah v lidském těle

Keramické materiály, např. hydroxyapatit, bioaktivní skelná keramika či oxid zirkoničitý nebo hlinitý, vykazují vysokou pevnost, zejména v tlaku (0,9–3,9 GPa), mají Youngův modul 50–390 GPa, vykazují také výborné vlastnosti při biologickém hodnocení, ale jsou křehké.

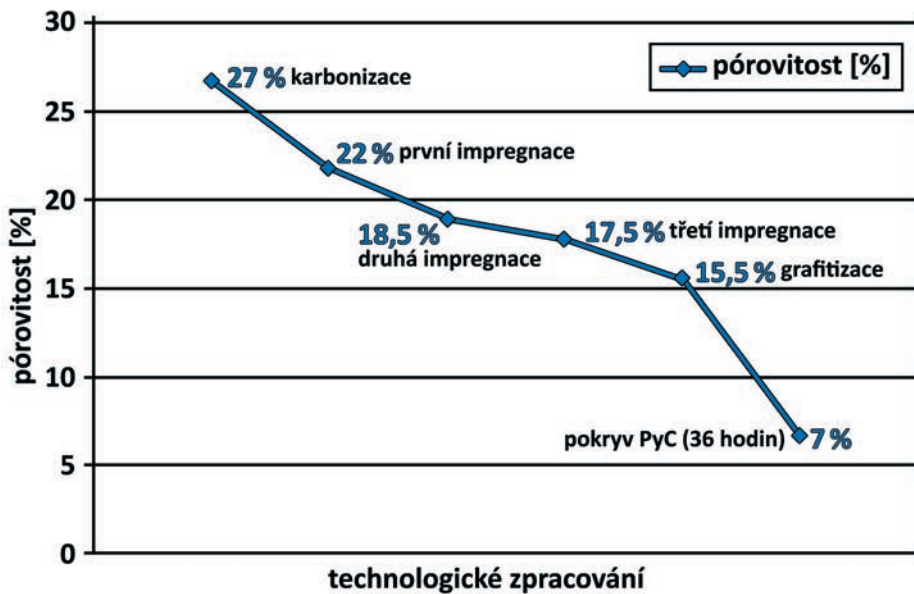
Polymerní náhrady, jako jsou např. polylaktidy, polykaprolaktany, polyethyleny a polyuretany, vykazují vhodnou biokompatibilitu, ale současně nízkou tuhost (Youngův modul přibližně 0,5–3 GPa) a také poměrně malou ohybovou pevnost ve srovnání s kortikální kostí.

Možným řešením mohou být vlákna vyztužené polymery, resp. polymerní kompozity, které nabízejí spojení vhodného nízkého modulu a současně vysoké pevnosti. Další výhodou pak může být možnost volby objemového podílu vláken, lokálního i globálního uspořádání vyztužující fáze tak, aby byly splněny nároky na mechanické i fyziologické podmínky konkrétních aplikací. Kompozitní materiály tedy nabízejí větší potenciál strukturální biokompatibility než homogenní monolitické materiály. Nabízejí velké množství dalších podobných výhod v porovnání s kovovými i keramickými materiály: například absenci koroze a uvolňování alergenních iontů kovů (nikl, chrom), vysokou lomovou houževnatost a vyšší únavovou pevnost. Polymerní kompozity jsou vysoce kompatibilní s moderními diagnostickými metodami (CT, MRI) a jejich transparentnost při použití rentgenového záření lze upravit přidáním kontrastního média do polymeru. K výhodám patří také lepší estetické vlastnosti (např. při použití v zubní chirurgii) a díky výkonným technologiím (např. vstříkávání, síťování, vysokorychlostní obrábění) také cena srovnatelná s kovovými materiály.

Při návrhu biomateriálu je nutné vycházet ze znalostí různých oborů. Biomateriál musí splňovat nejen požadavky na vhodné mechanické vlastnosti. Další neméně důležité faktory určující jeho úspěšné uplatnění vycházejí z jeho interakce s okolním prostředím v organismu pacienta, v případě kostních náhrad především ze schopnosti osteointegrace, a jeho chemické, strukturní a tvarové stálosti v agresivním tělním prostředí. Chování buněk v kontaktu s implantovaným materiálem závisí především na vlastnostech povrchu materiálů, zvláště pak na jeho chemickém složení a fyzikálních vlastnostech, jmenovitě smáčivosti, povrchové energii, topografii, drsnosti a tuhosti povrchu, přičemž tyto vlastnosti neovlivňují chování buněk jednotlivě, ale vždy se jedná o komplexní působení několika faktorů společně.

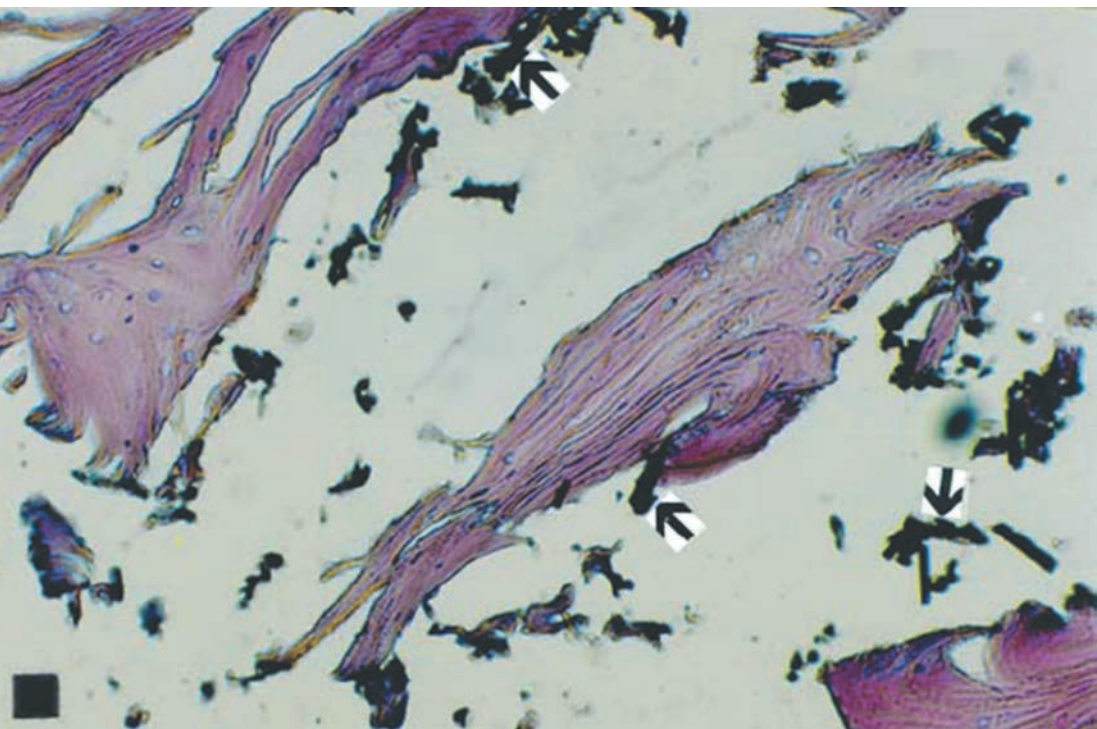
Problematikou kompozitů se na našem pracovišti od poloviny devadesátých let zabývala řada grantových projektů podporovaných Grantovou agenturou České republiky, Grantovou agenturou AV ČR, Technologickou agenturou ČR a Ministerstvem průmyslu a obchodu. Šlo například o projekty:

- Úloha uhlíkových textilií při vyztužování kompozitů uhlík–uhlík
- Studium vlivu povrchových vlastností kompozitních materiálů na jejich biokompatibilitu
- Mezitělové rozpěrky na bázi kompozitů uhlík–uhlík
- Kompozitní materiály na bázi skelných vláken a siloxanové matrice jako náhradní a spojovací prvky v ortopedii
- Řešení problematiky páteřních onemocnění z pohledu degenerativních a poúrazových stavů s využitím poznatků tkáňového inženýrství, biomechaniky obratlů, osseointegrace umělých náhrad a studia důvodů jejich selhání
- Porézní kompozitní materiály s polyamidovou výtuzí a siloxanovou maticí s nano-hydroxyapatitem jako biomateriály
- Bioinspirativní nanokompozitní struktury pro obnovu kostní tkáně
- Kompozitní materiály transparentní vůči rentgenovému záření a vysoce odolné proti opakované sterilizaci pro použití v lékařství
- Vývoj resorbovatelné kolagen–kalcium fosfátové nanovrstvy s řízenou elucí antibiotik pro zvýšení životnosti implantátů



Obr. 2 Závislost otevřené pórovitosti kompozitu uhlík-uhlík na technologickém zpracování

Obr. 3 Mikrosnímek prasečí tkáně po implantaci kompozitu uhlík-uhlík demonstruje uvolňování uhlíkových částic (viz šipky)



Kompozity uhlík–uhlík

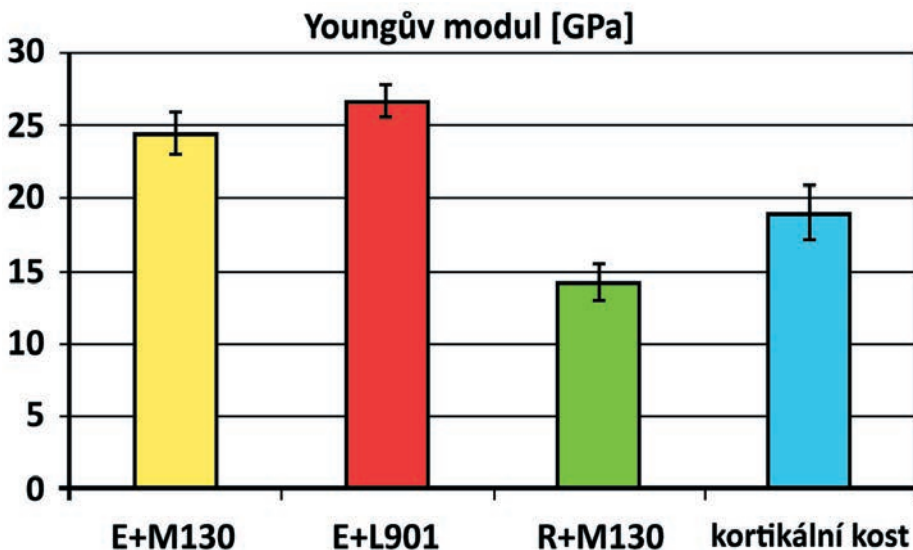
Kompozity uhlík–uhlík byly jako biomateriály intenzivně zkoumány již od sedmdesátých let minulého století. Kompozit uhlík–uhlík je složen z výztuže tvořené uhlíkovými vlákny, která jsou uložena v uhlíkové matici. Výztuž se skládá z pramenců uhlíkových vláken obsahujících 1000–12 000 tzv. monofilů, tj. vláken o průměru 5–13 μm . V případě, kdy jsou pramence uloženy v matici v jednom směru, se jedná o kompozit jednosměrný, tzv. 1D. Když jsou však pramence před uložení textálně zpracovány na plátno, kepr či satén, jedná se o kompozit dvousměrný, značený 2D. Analogicky lze pramenci procházejícími skrz jednotlivé vrstvy kolmo na ně vytvořit také kompozit třísměrný – 3D.

Příprava kompozitů uhlík–uhlík byla navržena tak, aby mohly sloužit jako náhrady kostí, dlahy pro jejich spojování či výplně do mezitělových rozpěrek pro léčbu páteře – viz též dále částicové kompozity. Ohybová pevnost by měla dosahovat minimálně 200 MPa s co nejmenším Youngovým modulem pružnosti, aby nedocházelo k nevhodnému přenosu zatížení na ošetřenou kost. Uhlíková tkanina (typ plátno), nasycená fenolformaldehydovou pryskyřicí jako prekurzorem matrice, byla vylišována a podrobena dalšímu zpracování. Důležitým krokem přípravy byla pomalá karbonizace, při které došlo k přeměně formaldehydové pryskyřice na biokompatibilní uhlík (*glass-like carbon*, tedy sklu podobný uhlík). K dosažení uspokojivých mechanických vlastností, ohybové pevnosti a Youngova modulu pružnosti, však bylo třeba více výrobních stupňů, jak je ilustrováno na obr. 2, ze kterého je zřejmé, že nejmenší hodnoty otevřené pórovitosti (7 %) bylo dosaženo až při pokryvu pyrolytickým uhlíkem. Těto hodnotě pórovitosti odpovídá uspokojivá ohybová pevnost 240 MPa. Za účelem snížení možného uvolňování uhlíkových částic z kompozitu byly vzorky dále impregnovány speciálním hydrogelem p(HEMA), tj. poly(2-hydroxyethylmetakrylátem). Materiály byly biologicky hodnoceny pomocí testů *in vitro* a *in vivo*. Testy *in vitro* prokázaly, že kompozity pokryté p(HEMA) vykazují zvýšenou metabolickou aktivitu tkáňových buněk, naopak testy *in vivo* bohužel potvrdily riziko uvolňování uhlíkových částic a následně jejich přítomnost v tkáni pokusných zvířat (obr. 3). Závěrem lze říci, že příprava kompozitů uhlík–uhlík byla značně materiálně a časově náročná, z toho pak plynula i vysoká cena těchto materiálů. Uvolňování uhlíkových částic do tkáně pak již zcela vylučuje použití tohoto materiálu pro zamýšlené lékařské aplikace.

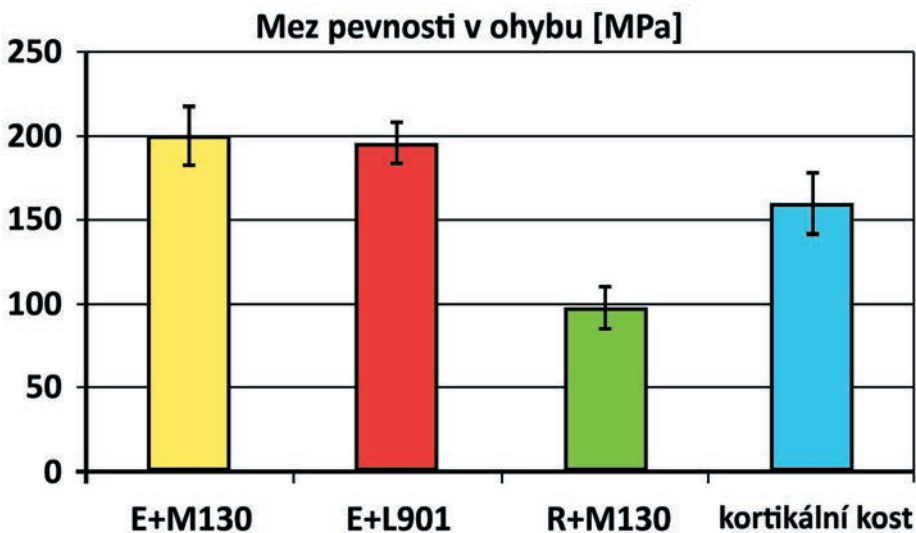
Kompozity sklo–polydimethylsiloxan

Pro zkušenostech se složitou přípravou kompozitů uhlík–uhlík a z toho vyplývající vysokou cenou a po zjištění uvolňování uhlíkových částic do tkáně převládla tendence pokusit se navrhnout jednoduchou přípravu kompozitu na bázi relativně levných prekurzorů. Jako výztuž byla vybrána skelná tkanina ve formě plátna na bázi skelných vláken E-skla a ve formě saténu na bázi R-skla o průměru vlákna 10–15 μm . Tato výztuž uložená ve dvou typech polydimethylsiloxanové matrice byla jednoduchým jednostupňovým vytvrzením přetvořena na kompozit s překvapivými vlastnostmi. Z obr. 4 a 5 je patrné, že kompozity vykazují téměř stejnou hodnotu Youngova modulu, tedy tuhosti, jakou má kortikální lidská kost, a vyšší

mechanickou pevnost. Na těchto kompozitech byl dále ověřován vliv velikosti otevřených pórů v rozsahu 200 až $\geq 600 \mu\text{m}$ na osídlování lidskými buňkami a zdá se, že optimální je velikost 400–600 μm .



Obr. 4 Závislost Youngova modulu na druhu siloxanové matrice M130 a L901 a skelné výztuže tvořené E a R skly



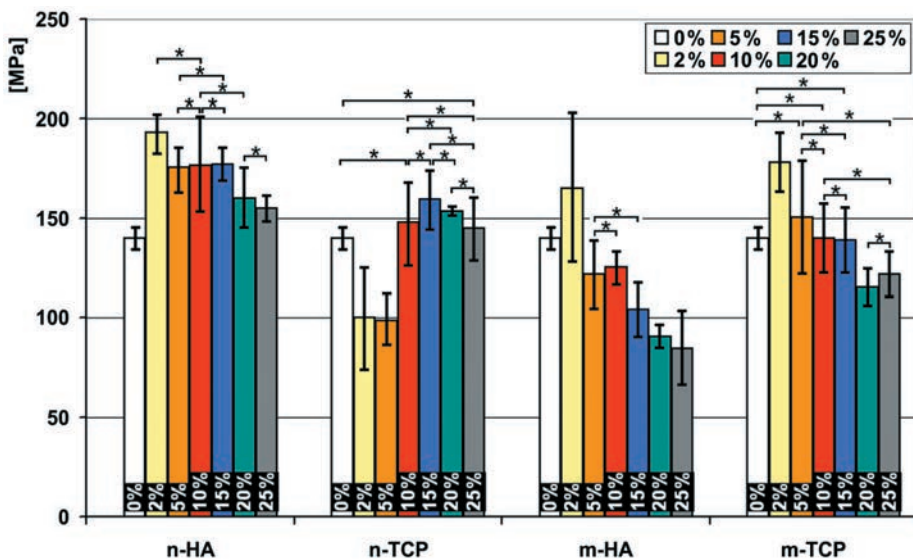
Obr. 5 Závislost pevnosti v ohybu na druhu siloxanové matrice M130 a L901 a skelné výztuže tvořené E a R skly

Kompozity polyamid-siloxan

Kompozity byly připraveny s polyamidovou výztuží ve formě plátka uloženou opět v siloxanové matrici a vytvrzenou jednorázově při 350 °C. Matrice byla modifikována přidávkou hydroxyapatitu a fosforečnanu vápenatého o velikosti částic 100–150 μm a 100–150 nm. Vytvořili jsme tak kompozit vláknový i částicový zároveň a mohli ověřit vliv přidávků dvou typů kalciumfosfátových prášků, co se týká nejen chemického složení, ale i velikosti částic na mechanické vlastnosti kompozitu a na osídlování buňkami. Z obr. 6 je patrné, že výrazný vliv na ohybovou pevnost i tuhost kompozitu má zejména hydroxyapatit ve formě nanočástic. Je však zřejmé, že od 10 až 15 objemových procent přidávku v matrici obě hodnoty sledovaných mechanických vlastností klesají. To je způsobeno křehnutím (keramizací) matrice, jejímž důsledkem je vznik rozsáhlých trhlin v kompozitu. Větší přídavek bioaktivních prášků má i negativní vliv na osídlování testovaných kompozitů lidskými buňkami v průběhu testů *in vitro*, kdy byl sledován vliv přidávku mikrohydroxyapatitu. Zde je vidět výrazný pokles aktivity kultivovaných buněk od přidávku 15 objemových procent. Zdá se tedy, že větší přídavek biokompatibilního a částečně i biodegradabilního materiálu, který je běžnou složkou lidské kosti, může působit cytotoxicky (obr. 7).

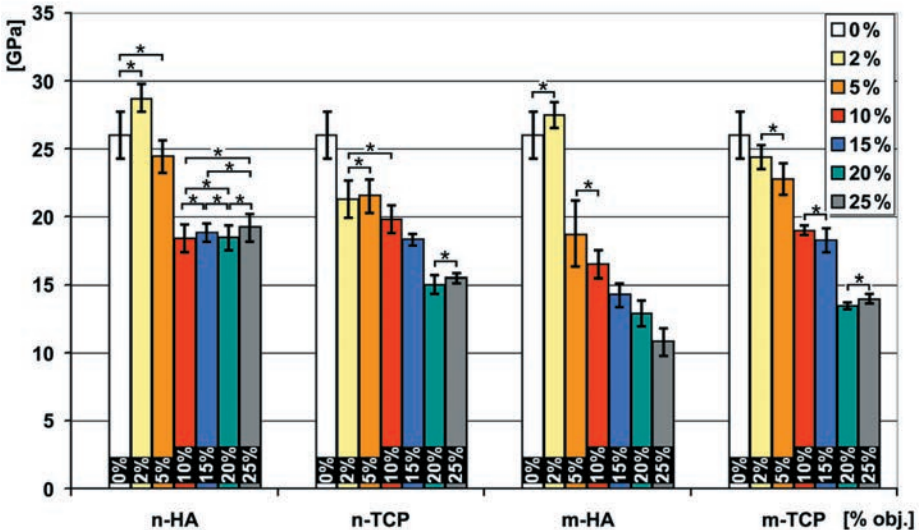
Kompozity fosforečnan vápenatý - siloxan

Tyto kompozity s částicovou výztuží na bázi hydroxyapatitu a fosforečnanu vápenatého o velikosti mikro a nano s polysiloxanovou matricí byly vyvinuty jako možné náhrady výplní mezitělových rozpěrek pro léčbu páteře, kde by mohly nahradit



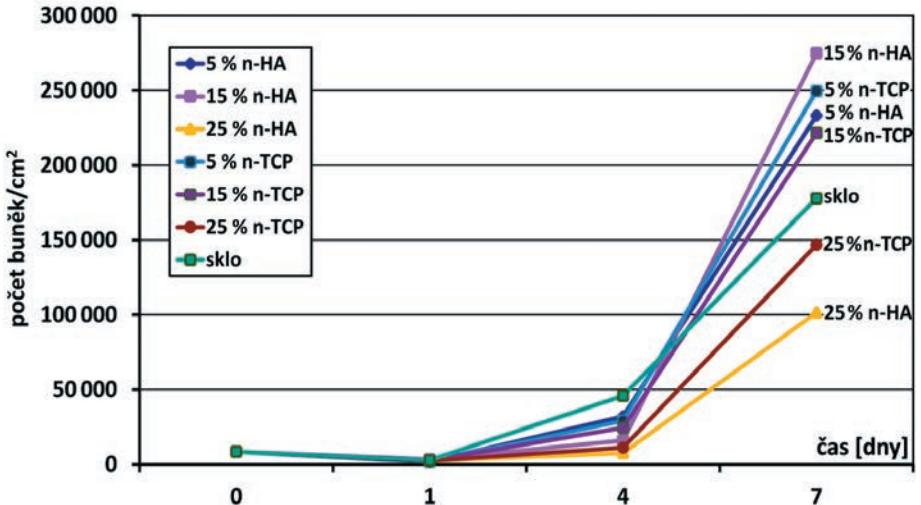
Obr. 6a Závislost hodnoty pevnosti v ohybu kompozitu na přidávku nano a mikro prášků hydroxyapatitu a fosforečnanu vápenatého do matrice

výplně rozpěrek připravené ze štěpu pacienta, a tak ho ušetřit jedné operace. Příprava kompozitů spočívala zejména v distribuci mikročásteček a nanočástic v polysiloxanové matici pomocí míchání, které trvalo až 12 hodin, a vytvrzení kompozitu při teplotě 220 °C po dobu 24 hodin. Mechanické testy kompozitů byly



Obr. 6b Závislost Youngova modulu kompozitu na přidavku nano a mikro prášků hydroxyapatitu a fosforečnanu vápenatého do matrice

Obr. 7 Testy *in vitro* částicových kompozitů se zvyšujícími se přidavky nanohydroxyapatitu a nanofosforečnanu vápenatého



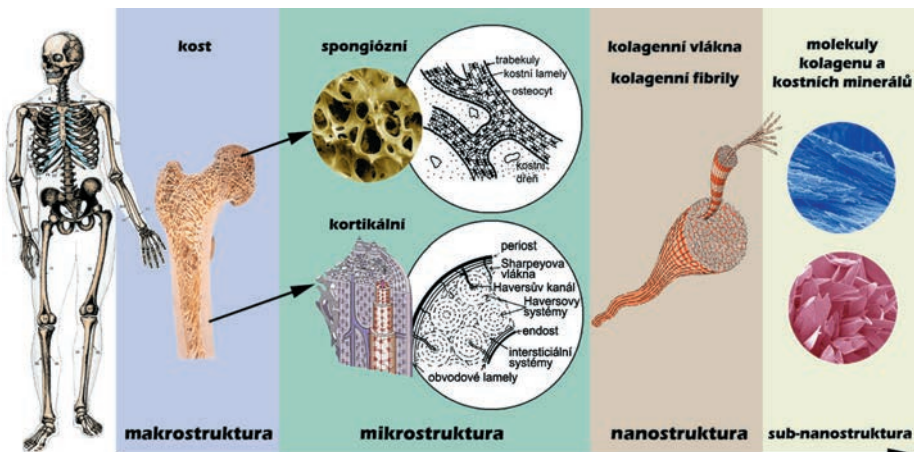
zaměřeny, vzhledem k namáhání rozpěrky uložené v páteři, na pevnost v tlaku a tlakový modul pružnosti. Hodnoty pevnosti v tlaku 30–55 MPa (s vyšší hodnotou pro hydroxyapatit) a modulu pružnosti okolo 2GPa byly uspokojivé. Zajímavé byly však výsledky testů osídlování kompozitů lidskými buňkami – testy *in vitro*. Ty jednoznačně potvrdily výsledky již výše uvedené, tj. cytotoxicitu kompozitů s přísadkou hydroxyapatitu a fosforečnanu vápenatého vyšším než 15 objemových procent. (viz obr. 7).

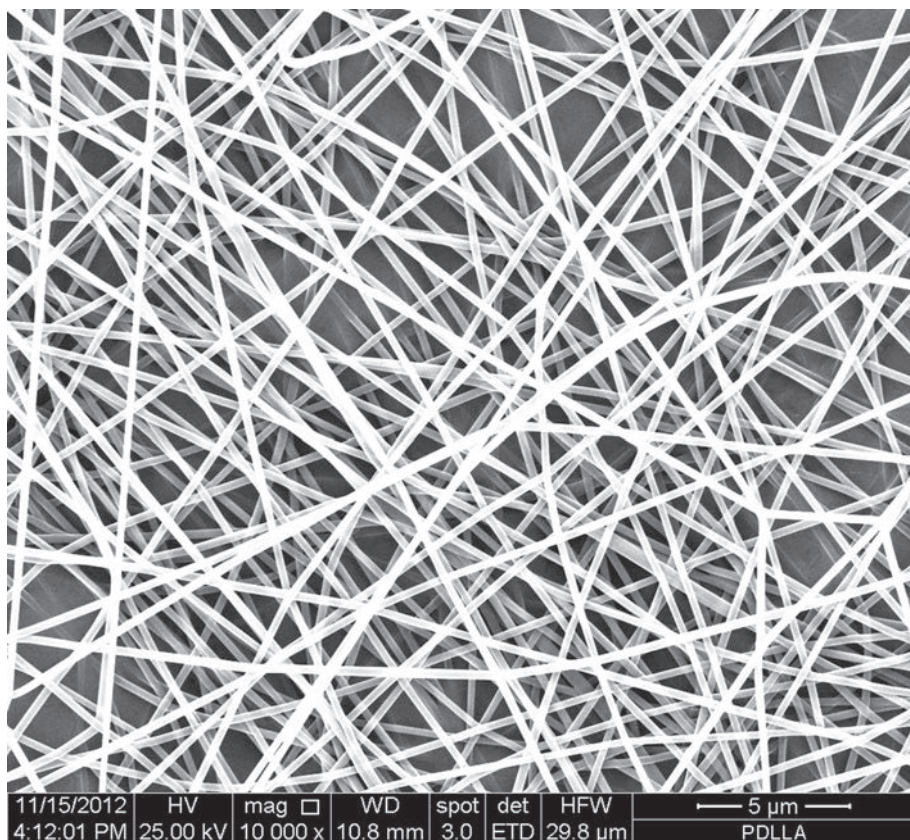
Nanokompozity pro rekonstrukci kostní tkáně

Struktura kosti je uvedena na obr. 8. Lidská kost jako nanokompozit, a to vláknový i částicový, obsahuje 60 hmotnostních procent minerální složky, především na bázi fosforečnanu vápenatého, a přibližně 30 hmotnostních procent organické složky. Ta je asi z 90 % tvořena kolagenem typu I, (10 % proteoglykanů a nekolagenických proteinů). V závislosti na umístění a typu kosti pak obsahuje ještě přibližně 10 hmotnostních procent vody.

Od doby výzkumu kompozitů uhlík–uhlík před 20 lety se však výrazně změnil i nároky na biomateriály. Nestačí již splnit dříve široce používaný výraz biokompatibilita, ale v případě náhrady kostí musí materiály vykazovat bioaktivitu, tzn. podporovat vrůstání okolních kostních buněk z nepoškozené tkáně do implantátu, a dále biodegradabilitu, což znamená, že současně s vrůstáním a tvorbou nových buněk implantát degraduje, je organismem resorbován. Kostní implantát může být navržen jako vláknový a nanokrystalický materiál s použitím kolagenu a hydroxyapatitu. Vláknová struktura na bázi kolagenu typu I, který je již dobře znám zejména pro vynikající osídlování a rozmnožování buněk, se dále vyznačuje vedle bioaktivity též biodegradabilitou. Tento materiál má širokou škálu velikostí pórů a vysoký poměr povrchu k objemu, což výrazně podporuje výše zmíněné vlastnosti. Další složkou kostní náhrady mohou být nanočástice hydroxyapatitu,

Obr. 8 Struktura lidské kosti





Obr. 9 Připravená nanovláčna kyseliny polylaktidové (PLA)

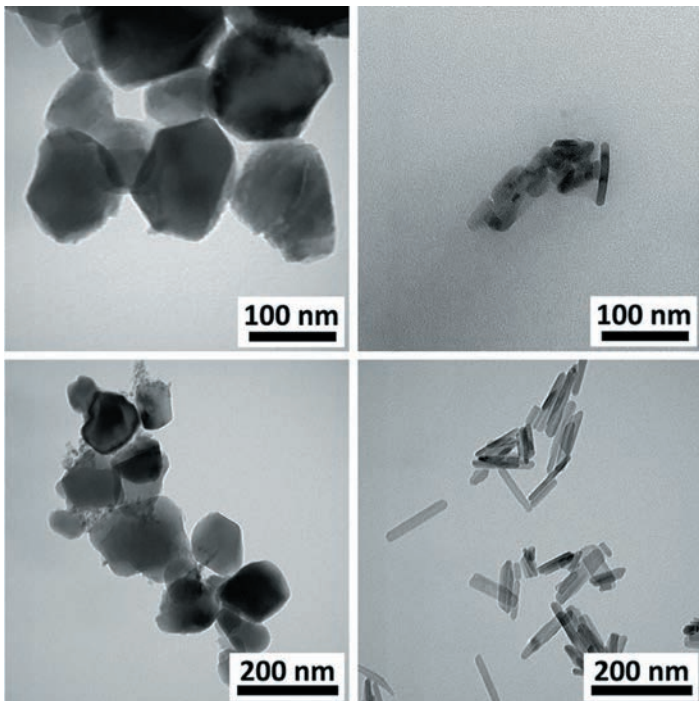
kteří též podporují adhezi, osídlování a rozmnožování kostních buněk – osteoblastů. Neméně významným kandidátem pro přípravu vláknitých složek umělých kostí mohou být některé syntetické polymery. Tyto materiály na bázi polylaktidů nebo polyglykolidů se vyznačují především různou dobou biodegradace, což umožňuje navrhnout kostní náhrady pro pacienty různého věku.

Možnost pokusit se napodobit složení lidské kosti přinesl v poslední době i vývoj a výroba přístrojů pro přípravu nanovláken jak ve světě, tak v České republice. Za nejperspektivnější se považuje metoda elektrostatického zvláknování, tzv. *electrospinning*, která se již nějakou dobu používá pro přípravu nanovláken z organických i anorganických prekurzorů. Tato metoda používá vysokého stejnosměrného napětí mezi tryskou, do které je přiveden roztok polymeru, a sběrnou elektrodou, přičemž rozpouštědlo se z roztoku odpaří ještě před dopadem vláken na sběrnou elektrodu. Vlastnosti takto připravených nanovláken tj. rozměry, orientace, porozita, přítomnost nepravidlostí atd., lze ovlivňovat mnohými parametry jak procesu zvláknování, tak parametry prekurzoru.

Nanobiokompozit jako kompozit vláknový i částicový byl připraven s výztuží tvořenou nanovláknky kyseliny polylaktidové (syntetická složka kompozitu, viz obr. 9), jejíž výběr může určit dobu biodegradace náhrady (např. 6 a 12 měsíců), a matricí na bázi kolagenu obsahující nanočástice hydroxyapatitu. Nanovláknka kyseliny polylaktidové o tloušťce 50–150 nm byla vytvořena pomocí elektrostatického zvláknování přístrojem ELECTROSPUNRA 210 (obr. 10). Kolagenovou matrici jsme získali z ploutví a kůže ryb. Vlastní izolace kolagenu byla provedena při teplotě 20–40 °C. Nanočástice hydroxyapatitu byly připraveny z telecích kostí, kdy v konečné fázi přípravy byl materiál žíhán na teploty 500–700 °C (obr. 11). Toto tepelné zpracování má vliv nejen na strukturu materiálu, ale také odstraní případně přítomné priony – infekční bílkoviny, které mohou způsobit řadu nemocí. Z takto připravených složek byl posléze homogenizací a vakuovým vymrazováním (lyofilizací) připraven tvar implantátu vhodný pro implantaci do kostí pokusných zvířat (viz obr. 12). Z biotestů uveďme výsledek testů *in vivo*, které byly provedeny na zvířecím modelu prasete. Je patrné, že materiál splňuje očekávání a již po první fázi odběru (6 měsíců od implantace) je patrný přechod kompozitu v kost a prorůstání v celém rozsahu implantátu. Na obr. 13 je snímek vyjmutého implantátu po 12 měsících od implantace, kde je vidět dokonalé prorůstání a téměř nezatelný implantát s dokonalou kostní novotvorbou.

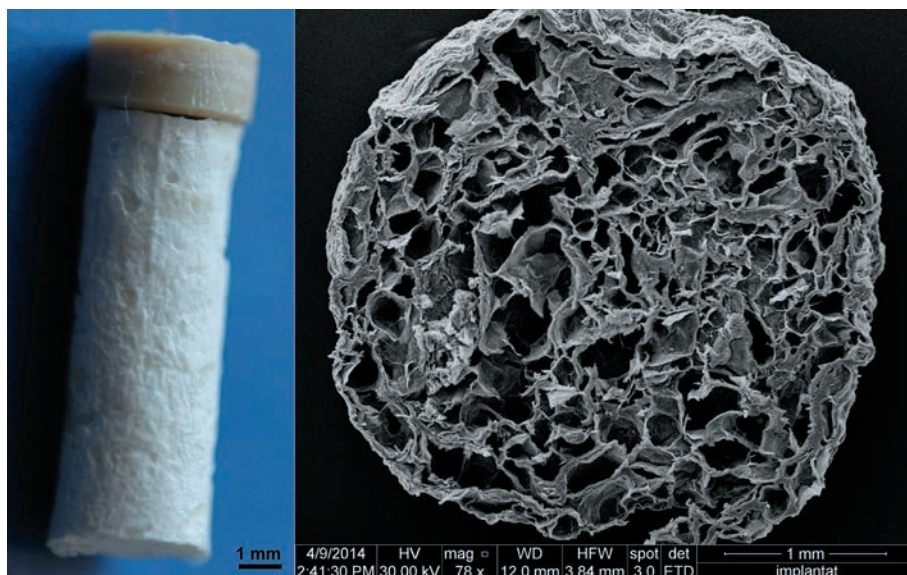
Obr. 10 Přístroj ELECTROSPUNRA 210 pro přípravu nanovláken





Obr. 11 Nanočástice hydroxyapatitu

Obr. 12 Implantát do kostí pokusných zvířat. Vlevo implantát se zátkou zamezující uvolnění z kosti pokusných zvířat, vpravo mikrosnímek řezu implantátem dokumentující přítomnost pórů



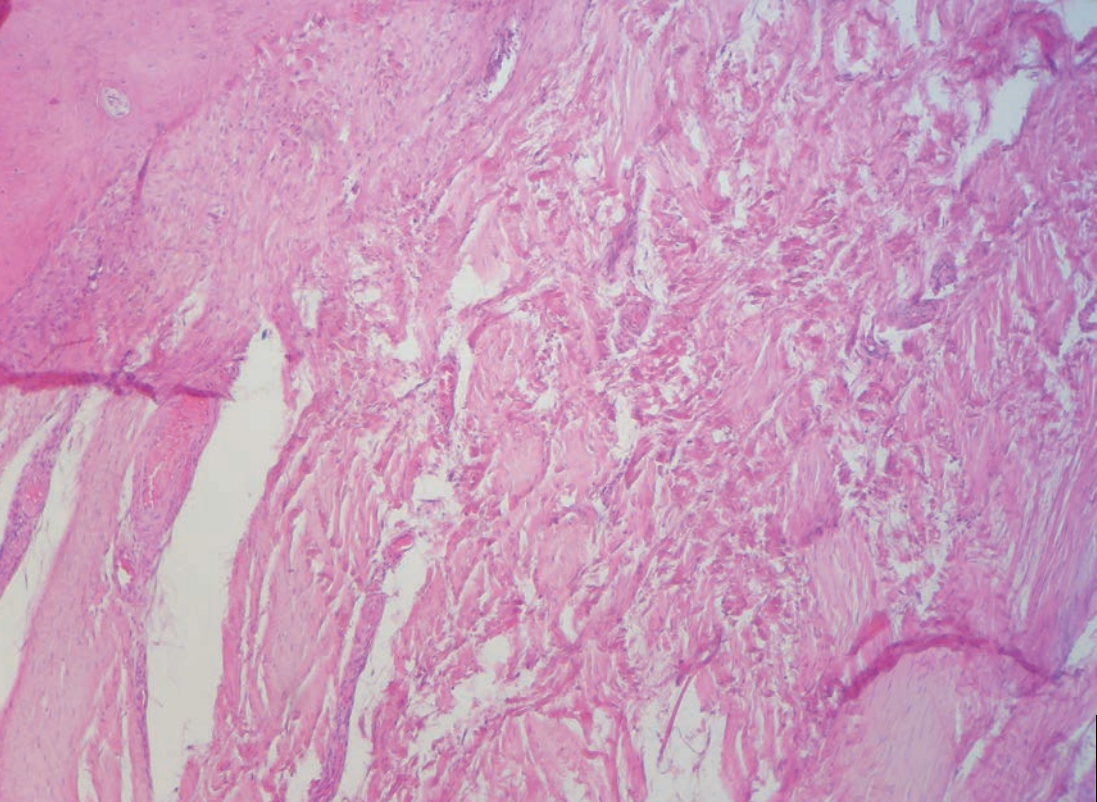
Interdisciplinární přístup při výzkumu v tkáňovém inženýrství a regenerativní medicíně

K řešení výzkumu a uplatnění biomateriálů, zejména nanobiomateriálů, je třeba vytvořit interdisciplinární kolektiv, a to nejen v základním výzkumu, ale také pro jejich aplikace. Spektrum výběru vědců je velice široké, od materiálových odborníků, chemiků a strojařů, přes fyziology, histology a farmaceuty, až po široký výběr lékařských odborníků. Dále je třeba si uvědomit, že tento velký kolektiv bude spolupracovat na výzkumu biomateriálu nejméně deset let. Příprava nanovláken na speciálních přístrojích je poměrně mladý obor, který se v současnosti velmi rozvíjí. Na nutných úpravách komerčně získaného přístroje se podílejí především strojní inženýři, chemici nebo fyzici.

Nanovláknenná výztuž může být připravena jako všesměrná (viz výše náš kompozit), nebo jako jednosměrná, dvousměrná, či trojsměrná. Orientace výztuže ovlivní nejen mechanické vlastnosti kompozitu, ale také tvar, orientaci, četnost a rozměry porů, které mohou dále výrazně ovlivňovat reakci okolních buněk s implantátem.

Mimo různé struktury nano nebo submikronové vláknenné výztuže lze vlastnosti kompozitu ovlivňovat také volbou materiálu, nejčastěji polymeru, pro přípravu vláken. Vlastnosti samotných vláken jsou ovlivněny také například použitým rozpouštědlem, koncentrací roztoku a dalšími parametry zvláknování. Nezastupitelné místo v přípravě kompozitů pro náhrady kostní tkáně má použití degradabilních materiálů. Použitým prekurzorem pro jejich přípravu lze ovlivňovat rychlost degradace kompozitu; rychlost degradace v organizmu lze také řídit použitím koaxiálních vláken. Pomocí speciálních trysek nebo jehel lze připravit vláknna složená z několika různých typů biodegradabilních materiálů. Obdobně lze vlákna modifikovat také integrovanými nano nebo submikronovými částicemi. Tyto částice lze do vláken aplikovat pomocí speciálních dávkovačů nebo prostou přípravou disperzí těchto částic v roztocích polymeru. Musí být ale vhodně dispergovány, což může být v případě nanočástic poměrně složité. Integrovaní nanočástic do vláken pak nabízí celou řadu uplatnění: mohou například sloužit jako nosiče léčiv nebo lze využít jejich osteoinduktivních vlastností, jako v případě kalciumfosfátových materiálů. Při návrhu těchto materiálů se opět uplatní celá řada odborností, ať už z oblasti materiálového inženýrství nebo chemie, ale také biologie nebo mechaniky.

Při hledání optimálních vlastností biomateriálu nebo optimálního rozhraní mezi kostí a ortopedickými nebo ortodontickými implantáty je třeba splnit široké nároky biokompatibility, mechanické stability a bezpečnosti, materiál musí být detailně charakterizovaný z pohledu chemického složení, struktury, mechanických vlastností, degradačních produktů apod. Splnění všech nároků kladených na cytotoxicitu, hemokompatibilitu, mutagenitu nebo genotoxicitu vyvíjeného materiálu lze dosáhnout jedině časově i finančně náročným testováním, které spočívá mimo jiné i v biologickém hodnocení materiálu v *in vitro* a *in vivo* podmínkách. V první fázi biologického hodnocení jsou vždy prováděny *in vitro* testy, tedy testy „ve zkumavce“ za použití vybraného typu buněk. *In vitro* testy jsou oproti *in vivo* testům snadnější a rychlejší a jsou také méně finančně náročné, mají ale vždy nižší vypovídací hodnotu, protože jde často o testy na monokulturách v uzavřených, mnohdy



Obr. 13 Mikrosnímek histologického nálezu implantátu po 12 měsících implantace, zvětšeno 40x

statických systémech. Jejich výsledky může být obtížné extrapolovat do skutečného *in vivo* prostředí. Při biologickém hodnocení nových materiálů je potřeba opět uplatnit široké spektrum znalostí z různých oborů. Pro interpretaci jejich výsledků jsou nepostradatelní biologové, chemici, ale také lékaři nebo materiálův inženýři.

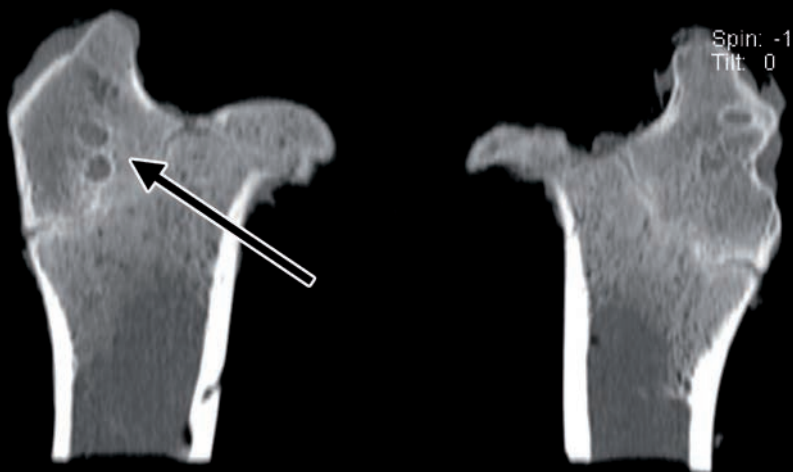
Implantace testovaného materiálu do těla laboratorního zvířete je nejpřímější a komplexní způsob hodnocení materiálu zdravotnického prostředku s jeho možnými účinky na okolní živé tkáň. Před uvedením do klinické praxe jsou tyto testy, při nichž se ověřuje nezávadnost látek nebo výrobků pro zdraví člověka, podmínkou. V případě materiálového výzkumu v oblasti kostních implantátů je důležitá volba živočišného modelu vhodného zejména z pohledu mikro a makro struktury kosti a její remodelace. Přes nepatrné rozdíly mezi složením kosti používaných živočišných druhů (například myši, potkani, morčata, králíci, psi, prasata, primáti a další) a lidskou kostí lze konstatovat, že žádný druh není ideální. Vždy je nutné znát rozdíly v architektuře kostí u člověka a vybraného živočišného modelu. Důležitá je také volba vhodných rozměrů implantovaného materiálu, jeho tvaru, umístění a samozřejmě počtu implantačních míst. Výběrem velikosti, hmotnosti a stáří zvířete by se pak mělo zajistit, že vložení implantátu nedojde k patologické zlomenině. U mladších zvířat je důležité zajistit, aby implantáty nepronikly do epifyzeální růstové oblasti nebo jiné nezralé kosti. Testy *in vivo* jsou připravovány kolektivem složeným z chemiků, chovatelů pokusných zvířat a lékařů nebo také například

biomechaniků. Hodnocení testů pak provádějí především histologové. Významné je i použití moderních zobrazovacích metod a technologií potřebných pro získání informací o úspěšnosti náhrad po implantaci. Postup biologického hodnocení je určen normou ČSN EN ISO 10993, která popisuje obecné principy biologického hodnocení zdravotnických prostředků v rámci procesu řízení rizika, řazení zdravotnických prostředků do kategorií podle povahy a doby trvání jejich styku s tělem, hodnocení existujících důležitých dat ze všech zdrojů, stanovení dalších dat nezbytných k analýze biologické bezpečnosti zdravotnického prostředku.

Je všeobecně známo, že testy *in vivo*, tj. preklinickými testy, projde úspěšně asi 50 % zkoušených materiálů. Před klinickými testy bývají často realizovány pilotní studie na dobrovolnících.

Následné klinické testy lze rozdělit na tři etapy: v první etapě se ověřuje bezpečnost testovaného materiálu, v druhé jeho žádané účinky a ve třetí to, zda nový léčebný způsob je účinnější než současný. Klinické testy probíhají často na stovkách až tisících pacientů po dobu zhruba pěti let a jejich cena se může pohybovat od desítek k stovkám milionů dolarů. Klinické zkoušky jsou prováděny v souladu s Helsinskou deklarací. Povolení a kontrolu klinické zkoušky vydává a provádí Státní ústav pro kontrolu léčiv.

Obr. 14 Rentgenový snímek implantátů v kosti pokusného zvířete (viz šipku)





Obr. 15 Zavádění implantátu do kosti laboratorního zvířete

Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů se v současnosti věnuje výzkumu speciálních kompozitních materiálů. Co jsou vlastně, velice stručně řečeno, kompozity? Jsou složené ze dvou i více materiálů (složek) odlišných vlastností (mechanických, fyzikálních, chemických), přičemž tyto složky zůstávají diskontinuální a určitým způsobem zkombinované tvoří „nový“ materiál s vhodnějšími vlastnostmi, než bychom získali pouhou kombinací jednotlivých materiálů – jinými slovy je dosaženo synergického efektu. Vlastnosti kompozitů jsou tedy zřetelně odlišné od vlastností jejich složek. Nespojité složky či fáze je obvykle tvrdší a pevnější, nazývá se výztuží a nejčastěji má formu vláken či částic, zatímco spojitá fáze se nazývá matricí. V případě matric se nejčastěji setkáváme se syntetickými pryskyřicemi, které jsou podrobeny tepelnému vytvrzení. Hlavní předností použití kompozitů v lékařství jako materiálů plně či částečně nahrazujících nebo podporujících přirozené tkáně je možnost volby jednotlivých složek kompozitu, jejich skladby, materiálových a chemických charakteristik, kterými je možno dosáhnout širokého rozsahu vlastností, a také možnost optimalizace struktury a chování implantátů a jejich interakce s okolními tkáněmi.

Historie Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů začala v roce 1992 ustavením Oddělení uhlíku. To se v rámci základního výzkumu v oblasti biomateriálů jako prvním materiálem zabývalo kompozitem uhlík–uhlík se zaměřením na kompozitní náhrady a spojovací prvky v kostní a páteřní chirurgii. Během dvaceti let se výzkum postupně dostal přes kompozity sklo–polydimethylsiloxan, polyamid–siloxan či fosforečnany vápenaté – siloxan až k dnes zkoumaným nanokompozitům se zaměřením nejen na biokompatibilitu, ale také biodegradabilitu.

V EDICI VĚDA KOLEM NÁS PŘIPRAVUJEME:

Markéta Pravdová: **Jak se mluví mezi živly**

Hana Müllerová: **Právní ochrana zvířat**

Jiří Padevět: **Transport smrti**

DOSUD VYŠLO:

Pavel Peterka a kol.: **Vláknové lasery**

Václav Hořejší: **Jak (ne)funguje imunitní systém**

Václav Cílek: **Nové počasí**

Edice Věda kolem nás | Výzvy a otázky

Biokompozitní náhrady kostní tkáně | Karel Balík, Tomáš Suchý

Vydalo Středisko společných činností AV ČR, v. v. i., pro Ústav struktury a mechaniky hornin Akademie věd ČR, v. v. i., V Holešovičkách 94/41, 182 09 Praha 8. Grafická úprava dle osnovy Jakuba Krče a sazba Serifa. Technická redaktorka Monika Chomiaková. Odpovědná redaktorka Petra Královcová. Vydání 1., 2015. Ediční číslo 11795. Tisk **SERIFA**®, s. r. o., Jínonická 80, 158 00 Praha 5.

Další svazky získáte na:

www.vedakolemнас.cz | www.academiaknihy.cz | www.eknihy.academia.cz