



**Redakční rada**

Ing. Karel Balík, CSc.  
Tel. +420 2 66009 212

RNDr. František Kolář  
Ing. Jaroslava Svítlová  
Ing. Zuzana Weishauptová, DrSc.

**Adresa redakce**

RNDr. František Kolář  
Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i.  
V Holešovičkách 41  
182 09 Praha 8

**tel.:** +420 2 66009 343  
**fax.:** +420 2 6880105  
**e-mail:** kolar@irms.cas.cz

**Spolupracovali**

Ing. Tomáš Suchý  
suchyt@irms.cas.cz

**Obálka**

Archív TS  
PF Petr Ptáček

**OBSAH**

Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, kontakt	3
K. Balík et al. – Porous composite materials with polyamide reinforcement and siloxane matrix with nano-hydroxyapatite as biomaterials	4
Sborník semináře Biomateriály a jejich povrchy	17
Instrukce pro publikování v časopise Acta Geodynamica et Geomaterialia	31

## Česká společnost pro kompozitní a uhlíkové materiály

### Záměry a cíle

podporovat kontakty mezi odborníky zabývajícími se kompozitními a uhlíkovými materiály  
podporovat studenty  
vytvořit osobní databázi odborníků  
organizovat semináře a konference

### Kontakt

Česká společnost pro kompozitní a uhlíkové materiály  
ÚSMH AV ČR  
V Holešovičkách 41  
182 09 Praha 8  
Česká republika

Ing. Karel Balík, CSc.  
balik@irms.cas.cz  
telefon: (+420)-2-66009212  
fax: (+420)-2-6880105  
[www.irms.cas.cz](http://www.irms.cas.cz)

## Czech Composite and Carbon Materials Society

### Aims and Scope

to promote contacts between composite and carbon materials research specialist  
to support students  
to establish a personal database  
to organise seminars and conferences

### Seat of the Society

Czech Composite and Carbon Materials Society  
ÚSMH AV ČR  
V Holešovičkách 41  
182 09 Praha 8  
Česká republika

Ing. Karel Balík, CSc.  
balik@irms.cas.cz  
telefon: +420-2-66009212  
fax: +420-2-6880105  
[www.irms.cas.cz](http://www.irms.cas.cz)

## Porous composite materials with polyamide reinforcement and siloxane matrix with nano-hydroxyapatite as biomaterials

K. Balík\*, L. Bačáková\*\*, M. Sochor\*\*\*, M. Černý\*, V. Lisá\*\*, E. Filová\*\*, L. Gausová\*\*, R. Sedláček\*\*\*, P. Tichý\*\*, T. Suchý\*\*\*

\*Institute of Rock Structure and Mechanics, Academy of Sciences of the Czech Republic, v.v.i., V holešovičkách 41, 182 09 Prague 8, CR, balik@irms.cas.cz

\*\*Institute of Physiology, Academy of Sciences of the CR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Prague 4, Czech Republic, lucy@biomed.cas.cz

\*\*\*Faculty of Mechanical Engineering, Dept. of Mechanics, Biomechanics and Mechatronics, CTU in Prague, Technická 4, 166 07 Prague 6, CR, miroslav.sochor@fs.cvut.cz

### Abstract

Composite materials based on a polyamide fabric and a polydimethylsiloxane matrix were designed for application in bone surgery. In order to increase the bioactivity, 2, 5, 10, 15, 20 and 25 vol. % of nano/micro hydroxyapatite (HA) and tricalcium phosphate (TCP) were added. The effect of the additives on the mechanical properties was studied. Simultaneously, changes in the inner structure of the composites were investigated by means of image analysis. The effect of the additives on the biocompatibility was determined by both in vitro and in vivo tests. It appears that in comparison with the micro particles, the nano additives have a more favourable effect on mechanical properties. From the point of view of the final application of the composites as substitutes for hard tissues, 10 – 15 vol. % of nano additives is an optimum amount: in this case both the optimization of the toughness and the increase in the ultimate strength in bending occur without any changes in the inner structure of the composite. The results of biological evaluations are in an agreement with the results of mechanical tests.

### 1. Introduction

Artificial substitutes for parts of the human body based on a relatively broad spectrum of materials are investigated. Prostheses of bones made of metals and their alloys, ceramics, bioglass, polymers and various composites, in the form of both fibers and particles, always exhibit certain disadvantages. There is often high toughness, fragility, corrosion, low strength in bending, particle release and insufficient bioactivity (for the given requirements) (Mata, 2002; Rose, 2004; Bačáková, 2001; Suchanek, 1998; Springer, 2001; Kawai, 2004; Chavarria, 2004). Several polymers (for review see (Ramakrishna, 2004; Manikandan, 2001)) are considered as biocompatible and biostable materials within the body, and they are widely applied. However, their specific disadvantage is their low mechanical strength and above all their low Young modulus (Ramakrishna, 2004).

A successful product of tissue engineering must necessarily result from combining several disciplines dealing with mechanical properties, the interaction of the implant with the surrounding tissue, and also practical clinical experience. With composites consisting of a polymer reinforcement and a polymer matrix with the possibility of selecting the volume ratio of the fiber reinforcement to the matrix and also a suitable orientation, mechanical properties identical with those of human bone can be obtained (Ramakrishna, 2004). The reason for their wide use in various medical applications is mainly the availability of materials with various properties in various forms and compositions as well as the fact that

they can be hardened directly into the required shape or structure with the most suitable fiber orientation, e.g., with respect to the direction of the acting load. Their biocompatibility and mechanical properties can also be enhanced by inserting a bioactive component into the matrix. Our study reported in (Suchý, 2007) dealt with preparing fiber composites based on an aliphatic or aromatic polyamide and on a polysiloxane as the matrix to which HA particles 20 – 70 nm in size were added. We also reported on their mechanical properties and moreover their biocompatibility.

Polyamide fabrics were chosen because of their mechanical stability and bioactivity. Polyamide monofilaments were used for constructing a non-resorbable, long-lasting and stress-absorbent reinforcement for designing articular disc substitutes (Springer, 2001). In Springer's study, polyamide also promoted the adhesion of human or porcine fibrocartilage cells in cultures derived from the temporomandibular joint, and showed no toxicity to these cells. In addition, poly(hexamethylene adipamide), i.e., a polyamide containing carboxyl and amide groups similar to collagen, was successfully used for preparing a biomimetic composite with nano-hydroxyapatite, matching well the mechanical properties of the natural bone (Wang, 2002).

Although siloxane materials are hydrophobic, they generally allowed the adhesion, growth and differentiation of osteoblasts. Their osteoinductive behavior was further enhanced when they were rendered hydrophilic by exposure to an oxygen plasma treatment or by microtexturing their surface (Mata, 2002; McFarland, 2000; Liao, 2003; Walboomers, 2004; Balík, 2007). Composites based on polymethylphenyl siloxane resins (produced by Lučební závody, Kolín, Czech Republic) promoted their colonization with human osteoblasts of the line hFOB 1.19 (Gumula, 2004). Another siloxane, i.e. 3-(glycidoxypropyl) trimethoxysiloxane, was used for constructing a bioactive composite with gelatin and  $\text{Ca}^{2+}$  ions, which stimulated the proliferation and differentiation of mouse osteogenic MC3T3-E1 in vitro. When these reinforcements were soaked in a simulated body fluid, apatite was formed by the reaction of a hydrated silica gel surface (Si-OH groups) and  $\text{Ca}^{2+}$  ions (Ren, 2002).

HA and TCP additives were chosen because they can mimic the crystalline mineral component of the bone. Inclusion of HA nanofibers in a beta-tricalcium phosphate ( $\beta$ -TCP) matrix significantly improved the mechanical properties of this material, especially its strength and toughness (Ramay, 2004). HA-containing materials act as sources of calcium ions, which are known to stimulate osteoblast proliferation and differentiation (Ren, 2002). In addition, hydroxyapatite crystals can serve for nanopatterning the pore walls in order to enhance the osteoinductive activity of our newly constructed materials, as mentioned above (Woo, 2003; Wei, 2004). However, HA by itself has an insufficient mechanical property, especially low mechanical strength and increased brittleness. It is mainly applied in the form of bone fillers of several shapes for unloaded implants and in the form of a coating material on metallic prostheses, dental or maxillofacial applications (Fazan, 2005). Application of HA as composite matrix additives should overcome these problems. The rate

of the interaction between the body and the artificial particles depends on their microstructure, morphology and size (e.g. nano/micro size).

## 2. Project objectives

The aim of our study was to develop an advanced porous composite material with suitable mechanical properties for potential use in the bone tissue engineering, hierarchically organized at both micrometer and nanometer scale. The composite consist of polyamide fabrics embedded in polydimethylsiloxane matrix with HA/TCP micro- or nanocrystals. At the same time, the nanocrystals homogeneously dispersed within the matrix protrude on the pore walls and create a bioactive nanopattern on the wall surface. We were looking for a compromise between the optimum of amount fillers of the resulting composite and suitable mechanical properties. The aim of this study was to describe the mechanical behaviour and the changes in the structure of the composite (by image analysis and measurements of open porosity and density), and also essentially the in vitro and in vivo biocompatibility testing (cytotoxicity, bioactivity testing).

## 3. Conceptions, materials, methods and results

### 3.1 Composite Materials Preparation

A composite material based on fabric reinforcement (Aramid balanced fabric, based on aromatic polyamide fibers HM 215, Hexcel, FR) and a polydimethylsiloxane matrix M130 (Lučební závody Kolín, CR) was prepared. HA ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) and/or TCP ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) powder (Berkeley Advanced Biomaterials Inc., San Leandro, CA, USA), average particle size  $100 \pm 50$  nm and/or  $100 \pm 50$   $\mu\text{m}$ , was inserted into the matrix before impregnation in the amount of 0, 2, 5, 10, 15, 20 and 25 vol% (powder/matrix). For this purpose, the DI 18 Basic homogenizer (IKA Werke GmbH) was used. A weighed amount of additive was gradually inserted into a weighed amount of polysiloxane matrix, so that uniform dispersion of the additive filler in the matrix was achieved (running speed of the homogenizer 17 500  $\text{min}^{-1}$ , dispersion time 6 hours). A successful dispersion of additives in the matrix was then verified by SEM examinations, for an illustration, see Fig. 1. This homogenization was followed by kneading in a HAAKE machine (Thermo Electron Corporation, USA), at RT and at a rotation speed of 50  $\text{min}^{-1}$  for 24 hours.

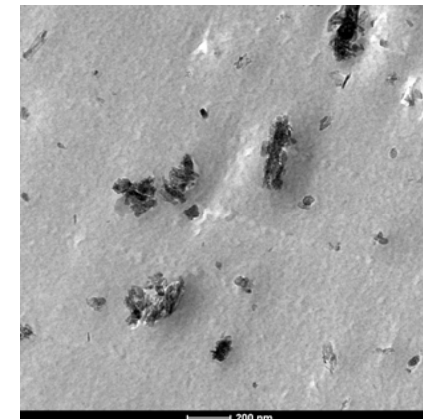


Fig. 1 SEM micrograph of n-HA dispersed in cured matrix

After these procedures, the fabric was impregnated with the matrix/additives blend following by cutting into pieces with desired dimensions after 24 hours. Eleven impregnated layers were placed into the curing mould, taking into account the axis of the fibers (each layer has the same orientation of the warp, with ply direction (0°) and the fill weft, with ply direction (90°)). The green composite was heated in a mould at a temperature of 135°C for two hours and then cured under the pressure of 1.1 MPa at 225°C in the air atmosphere for 4.5 hours and finally cured without applying pressure at the temperature of 250°C for 4 hours. Cured plates were cut by a diamond disc to an appropriate size according to further mechanical and biocompatibility tests.

### 3.2 Physical Properties

The open porosity and the apparent density of all composite samples were measured according to ASTM C-373. An image analysis of the polished sections was performed using NIS-Elements AR software, ver. 2.3 (Laboratory Imaging Inc., CR).

#### 3.2.1 Porosity and bulk density

Twenty six pieces of the samples with various ratio of HA/TCP were examined. The open porosity and the apparent density of all composite samples are listed in Table 1. The open porosity of the composites decreases with the amount of nano powders. This tendency could be explained by the more homogenous distribution of nano fillers. Compared to this fact, in the case of micro fillers it is difficult to establish an explicit tendency. It can indicate inhomogeneous distribution of micro fillers in the matrix and possibly also creation of aggregates as is shown further in micrographs findings.

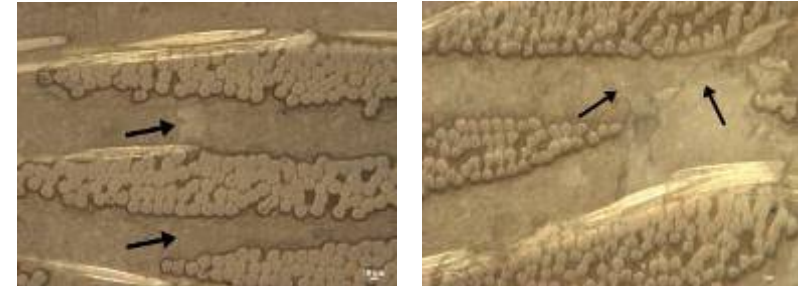
**Table 1** Porosity and bulk density of the examined composites (composite with 0% of additives: porosity 14.5%, bulk density 1.18 g/cm<sup>3</sup>)

	vol.%	porosity [%]	density [g/cm <sup>3</sup> ]		vol.%	porosity [%]	density [g/cm <sup>3</sup> ]
n-HA	2	10.5	1.24	n-TCP	2	14.5	1.17
	5	9.4	1.27		5	14.3	1.19
	10	10.1	1.29		10	10.0	1.29
	15	6.1	1.3		15	9.8	1.33
	20	8.0	1.43		20	10.9	1.39
	25	8.3	1.48		25	11.2	1.46
m-HA	2	7.9	1.14	m-TCP	2	14.1	1.19
	5	8.7	1.2		5	11.1	1.26
	10	8.7	1.3		10	11.5	1.29
	15	12.0	1.38		15	10.3	1.36
	20	13.8	1.46		20	11.5	1.38
	25	10.3	1.57		25	10.8	1.45

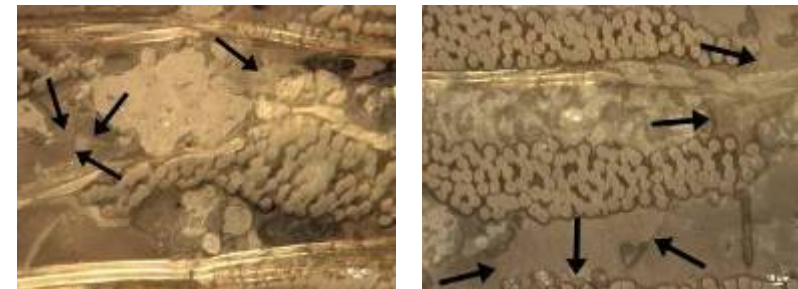
#### 3.2.2 Laminate morphology

The following conclusions can be drawn from the image analysis of all added composite samples. With the composites with both types of added powders, cracks (both horizontal and vertical) appear with volumes higher than 20 and especially 25 % (see Figs. 2 and 3). A greater number of cracks can be observed on polished sections of composites added with micro powders (see Fig. 3). It seems that micro powders form aggregates in the matrix of the composites (see Fig. 3). These findings are illustrated by the decrease of mechanical properties, especially in the case of bending strength. Nano powders exhibit better dispersion with less frequent formation of aggregates ("maps") (see Fig. 2) leading in increase of bending strength. From the prepared polished sections we can draw the conclusion that the nano powders (both HA and TCP), with their better dispersion, are in

closer proximity to the fibers. In general, we can state that the image analysis shows no distinct difference between the HA and TCP fillers: differences are visible only on micrographs with a different particle size of the fillers.



**Fig. 2** Micrographs of polished sections of composite ARAMID+M130 added with nano powders (left: n-HA, 25 vol. %, right: n-TCP, 25 vol. %)



**Fig. 3** Micrographs of polished sections of composite ARAMID+M130 added with micro powders (left: m-HA, 25 vol. %, right: m-TCP, 25 vol. %)

### 3.3 Mechanical Properties

The ultimate strength in bending ( $R_m$ ) and the modulus of elasticity in bending ( $E_f$ ) in the direction of the fiber axis were determined by a four-point bending set-up with the Inspekt 100 HT material tester (Hagewald & Peschke, Germany), in accordance with ISO 14125. Six samples from each group with dimensions of 60x7x2.2mm (length x width x thickness) were applied.

#### 3.3.1 Mechanical Properties - Results

The ultimate strength in bending (modulus of elasticity in bending)/HA (TCP) volume fraction relationships were determined (see Fig. 4, 5). Statistical analysis was carried out via nonparametric analysis of variance, at the significant level of 0.05 (Kruskal-Wallis test, Mann-Whitney as post hoc test). Additions of nano powders in the range of 2 – 5 vol. % increase the strength in bending by 20 – 30 %. With further additions above 15 vol. % the strength in bending decreases slightly, and with 20 – 25 vol. % distinct cracks appear in the matrix. A similar course (with lower values of strength in bending) is observed when micro powders are added. It seems that the optimum amount of additives with both fillings is in the range of 10 – 15 vol. %.

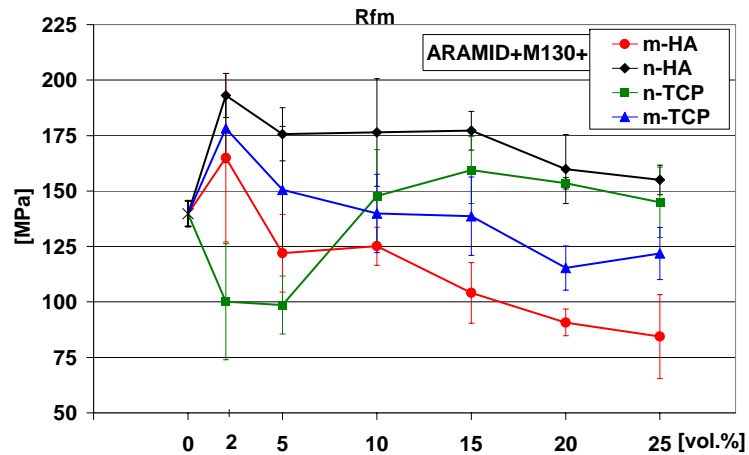


Fig. 4 Effect of nano and micro additives upon the ultimate strength in bending ( $R_{fm}$ )

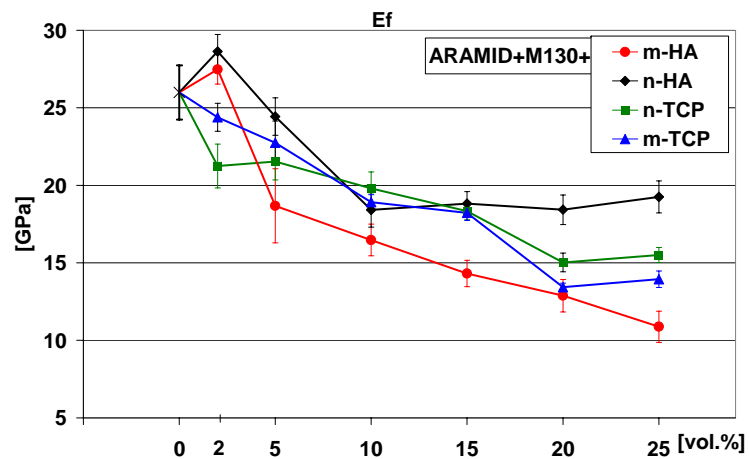


Fig. 5 Effect of nano and micro additives upon the modulus of elasticity in bending ( $E_f$ )

### 3.4 In vitro tests

In vitro tests were carried out on the human osteoblast-like cell line MG-63 (European Collection of Cell Cultures, Salisbury, UK), currently used for studies of cell-material interaction and retaining markers of osteoblastic differentiation, and on the osteogenic cells, including bone marrow progenitor cells, prepared from the calvarias and long bones of newborn rats. Cells on the material samples were cultured using conventional static systems as well as a rotating cell reactor, better allowing the colonization of inner parts of the material. The cells were incubated in standard or modified media supplemented with the factors promoting osteoblastic differentiation. The potential release of microparticles

from the material and their phagocytosis by cells were also monitored (by densitometry of the medium sediment or microscopically).

Initial adhesion and morphology of cells were determined. The cells were visualized by fluorescence staining or scanning electron microscopy, counted, and the size of cell spreading area will be measured using image analysis. Cell number was also determined in haemocytometer after trypsinization, by measurement of DNA content in cell lysates, as well as using MTT test.

Molecules mediating cell-substrate adhesion was studied. The adhesion of cells to artificial materials is mediated by the adsorption of extracellular matrix molecules. Thus, we will follow the adsorption of collagen, an important component of bone extracellular matrix, and vitronectin, selectively promoting the adhesion of osteoblasts, to the cell-free material surface from the serum of the culture media or pure solutions of these proteins. The proteins were visualized by their conjugation with fluorescence labels or immunocytochemical staining. Also the integrin receptors for these proteins on the cell surface (integrins  $\alpha 1\beta 1$  and  $\alpha 2\beta 1$  for collagen, and  $\alpha v\beta 3$  for vitronectin), their recruitment into focal adhesion plaques and association with talin, vinculin and actin cytoskeleton, were investigated by the immunofluorescence staining, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), flow cytometry, electrophoresis, immunoblotting and immunoprecipitation. Also the confocal microscopy, able to perform optical sections through the material in order to visualize cells adhering to the pore bottom and walls, was applied.

Cell proliferation was studied. Proliferation kinetics was evaluated by construction of growth curves, calculation of cell population doubling time. Bromodeoxyuridine (BrdU) incorporation into the newly synthesized DNA and expression of some proliferation antigens (PCNA, Ki-67) was also determined by immunocytochemical and flow-cytophotometric approaches.

Differentiation of osteogenic cells was assessed by the activity of alkaline phosphatase and production of collagen I as well as non-collagenous calcium-binding extracellular matrix proteins osteocalcin and osteopontin. These markers were detected by immunofluorescence, ELISA, electrophoresis and Western blotting in cells as well as in the cultivation media.

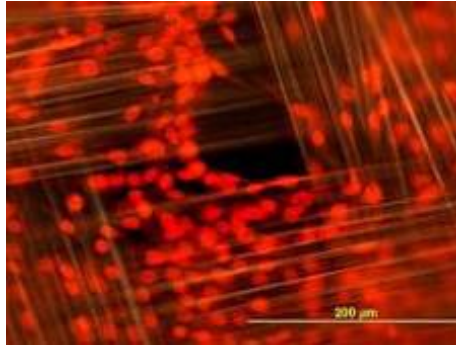
The possible immune activation of cells growing on the material was also tested by monitoring the expression of immunoglobulin and selectin adhesion molecules such as ICAM-1 or ELAM-1, and production of cytokines (i.e., interleukins, tumor necrosis factors). These molecules were detected by immunofluorescence, electrophoresis, Western blotting and ELISA.

#### 3.4.1 Cultivation of cells on basic composite components

Before the preparation proper of the composites the behavior of the cells on the component parts of these composites (i.e. Aramid fabric, polydimethylsiloxane matrix) was investigated systematically.

We can resume that Aramid fabric supported the colonization by osteogenic cells to an extent comparable to standard cultivation materials. Aramide fabric with a small distance between the fibers the cells even managed to bridge these gaps and to form a continuous layer of cells (see Fig. 6). A relatively high colonization by osteogenic cells was attained also

with a polydimethylsiloxane matrix although this material is relatively highly hydrophobic (it is well known that hydrophobic materials do not support the adsorption of proteins which mediate the adhesion of the cells in a suitable geometrical configuration which makes possible to attain specific aminoacid sequences in the molecule by the adhesion receptors in the molecule).



**Fig. 6** Osteogenic cells on Aramide fabric the seventh day after the inoculation, stained with propidium iodide.

#### 3.4.2 Cultivation of cells on fabric reinforced composites with a matrix enriched with HA/TCP additives

For testing modified composites in cell cultures, a series of samples with a varying content in the additives in the matrix, i.e. 2, 5, 10, 15, 20, 25 vol. % of HA or TCP were prepared. The surface of the tested samples was modified in order to obtain optimum open pores with the size of 0.4-0.6 mm. The samples were sterilized in an autoclave, inserted into polystyrene cultivation cells (TPP, Trasadingen, Switzerland) and inoculated with human osteogenic cells of the line. With the cells the adhesion, the growth and the osteogenic differentiation were determined. As an adhesion indicator the number of cells after 24 hours after the inoculation, the surface of their spreading on the material and the formation of the focal adhesion plaques with the content of integrin adhesion receptors and the associated proteins talin and vinculin was used. Further, the formation of beta-actin cytoskeleton in the course of the spreading of the cells was investigated by immunofluorescence. The proliferation of the cells was indicated by the changes in the number of cells in three time intervals after the inoculation, i.e. after 1, 3 and 7 days, as well as by the course, the shape and the slope of the proliferation curves and the cell population doubling time. The osteogenic differentiation was indicated by the production of osteocalcin and osteopontin, glycoproteins of the extracellular matrix which bind calcium. At the same time the viability of cells was followed by using a commercially available kit LIVE/DEAD (Invitrogen) based on the detection of the activity of esterases in living cells and on the penetration of the ethidium homodimer dye into the dead cells as well as by staining with trypan blue when counting the cells with the apparatus ViCell Analyser (similarly as ethidium homodimer this dye penetrates through the membrane of damaged or dead cells).

##### 3.4.2.1 Cultivation of cells on composites with additions of HA

It was found that the adhesion of the MG 63 cells in one day after inoculation on the investigated composite materials was similar to that on the reference surface represented

by a polystyrene cultivation dish (TPP, Trasadingen, Switzerland). The lowest average number of adhering cells was found on the composite with 25 vol. % of micro-HA. The viability of cells was relatively high (> 81.5 %) on all investigated materials and after 3 days after inoculation it rose up to 86-99% which indicates the initial damaging of the cells in the course of their trypsinisation and the manipulation during the inoculation rather than their subsequent damaging caused by the material.

The third day after the inoculation the highest numbers of cells were obtained on composites with 2-15 vol. % of nano-HA where these numbers became equal to the reference values on the polystyrene dishes. With the other types of composites the numbers of cells stayed on values statistically significantly lower than with polystyrene, especially with materials containing 20 and 25 vol. % of micro-HA, where the numbers of cells attained only about one half of the reference value. Nevertheless, even with these samples the viability of cells attained 92-94%.

However, at the end of the experiment, i.e. after 7 days of cultivation, the highest population densities of cells (comparable with those on polystyrene dishes) were attained on surfaces with micro-HA in the concentration of 5-15 vol. %. Contrary to that a very high concentration of micro-HA, i.e. 20 and 25 vol. %, did not support the growth of the cells and was even cytotoxic as it was indicated by low viability values (21-31%) of the cells. Also on composites with nano-HA the cell growth was slower than on the reference polystyrene. However, on composites with the concentration of 5-15 vol. % of nano-HA the concentration of cells per cm<sup>2</sup> was statistically significantly higher in comparison with the pure composite without HA. HA also enhanced the formation of focal adhesive plaques containing talin and vinculin, most with the content of 5-15 vol. %. The cells on all samples exhibited a pronounced immunofluorescence of osteocalcin and osteopontin, i.e. of markers of the osteogenic differentiation.

##### 3.4.2.2 Cultivation of cells on composites with additions of TCP

Similarly as with composites with HA, the number of initially adhered human bone cells MG 63 after 1 day after the inoculation exhibited no statistically significant difference between the individual composites with additives of TCP. However, the number of cells after 1 day after the inoculation on the composite was lower than on the reference surface represented by a microscope cover glass. Also after 3 and 7 days of cultivation the highest population density of MG 63 cells was attained on glass. As far as the composites are concerned, the highest numbers of cells were observed on materials with 20 vol. % micro-TCP and 15 vol. % nano-TCP. On all surfaces MG 63 cells had a well developed beta-actin cytoskeleton. The focal adhesion plaques, visualized by immunofluorescence staining of vinculin (i.e. of the protein associated with the integrin adhesion receptors) were well formed on all surfaces studied. On composites with 15-25 vol. % of TCP the cells exhibited a more intense colouring of osteocalcin, i.e. the glycoprotein of the extracellular matrix which binds calcium and is an important indicator of the osteogenic differentiation.

#### 3.5 In vivo tests

These tests which are performed by the test method applied by the research team in the previous years aimed at the assessment of the influence of modification of the matrix as well as the effect of additional surface treatments of the samples. The research concerned the samples of the original unmodified composite, of the composite enriched with HA or TCP (in both cases nano as well as micro), further of an enriched composite with modified open porosity, where the size of the open pores formed was determined on the basis of the



results of the investigations performed by the research team in the previous years (fraction 0.4-0.6 mm).

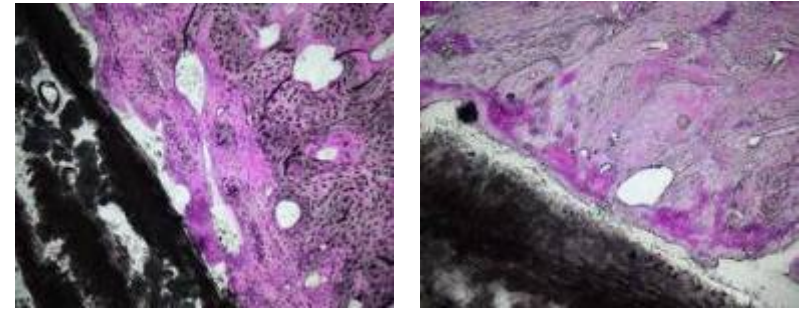
The tests *in vivo* were performed with laboratory animals (rabbit; breed Belgium Giant, age 1 year). The cylindrical samples were implanted under the proximal condyle of the femur of the right hindlimb. The hole is made with a special drill under general anaesthesia and under sterile conditions – see Fig.7. In contrast to the originally implanted samples the dimensions of the hole were reduced and the shape was changed to a cylindrical one in order to reduce the lesion of the bone during the operation. The samples were in the implanted position for eight weeks, after their removal they were together with the surrounding tissue embedded in acrylate, cut to slices, stained with hematoxylin-eosin and histologically evaluated.



**Fig. 7** Implanted sample of the modified composite

### 3.5.1 Histological findings

All samples were examined histologically. From the histological investigation it follows that all implants were incorporated into the bone, in the adjoining adherent tissue no morphological indications of the cell degeneration, inflammation or necrosis were observed. The fact that between the bone and the implant no layer of fibrous connective tissue was formed represents a positive feature. The applied implant material is non-toxic. The original bone tissue is completed by a new more eosinophilic layer. With implants with TCP additives the healing quality seems to be better than with unmodified samples. No difference between the particle sizes of the TCP additives was observed. In the case of samples with HA additives a more exuberant character of newly formed bone tissue is evident, again without traces of inflammation or necrosis. Among all investigated implants just in this case the highest degree of osteointegration is attained. Around the whole implant a homogeneously thick layer of newly formed bone tissue was formed which adheres closely to the surface layer of the implant material (Fig. 8).



**Fig. 8** Histological microsections of composite implants added with micro-HA (on the left) and nano-HA (on the right)

### 4. Exploitation of results

The mechanical properties: In this project the effect of micro and nano powder additives on the mechanical properties of the fiber composite determined for the applications in bone surgery was investigated. The aim was to verify and find a suitable content in powder additives employed for increasing the biocompatibility, aimed at optimum mechanical properties for the planned final application in the form of substitutes for hard tissues especially with regard to the rigidity and the bending characteristics. It appears that in general both the micro and the nano fillers reduce the bending elasticity modulus what seems to be useful in the case of comparison of the values with the cortical bone. The bending strength is increased by adding nano powders whereas the microparticles exhibit a rather negative influence which is probably caused by the nonuniform dispersion in the composite matrix or by the formation of agglomerates as it has been shown by image analysis. In general it can be stated that nano powders have a more favourable effect on mechanical properties than micro fillers. From the point of view of mechanical properties the optimum additive appears to be that of 10-15 vol. %. In this case a suitable optimization of the mechanical properties without any changes in the internal structure of the composite takes place. The formation of cracks with additive contents surpassing 20 vol. % - in the case of micro fillers – also of agglomerates could have a negative effect on long-time properties of the composite, mainly on the propagation of cracks and on the fatigue strength.

The results of the *in vitro* and *in vivo* tests are in a surprising agreement with the results of the investigation of the mechanical properties. Also in these cases adhesion, growth, differentiation and viability of cells had an optimum value in the range of 10-15 vol. % of the additives, whereas with higher concentrations there was the danger of a toxication of the cells. The best results were in both cases attained when nano HA/TCP additives were applied.

### Acknowledgements

This project was supported by the Czech Science Foundation under Grant No. 106//06/1576 and by the Ministry of Education project: Transdisciplinary research in Biomedical Engineering II., No. MSM 6840770012

### References

Bačáková, L., Starý, V., Kofroňová, O., Lisá, V.: 2001, Polishing and coating carbon fibre-reinforced carbon composites with a carbon-titanium layer enhances adhesion and growth

of osteoblast-like MG63 cells and vascular smooth muscle cells in vitro, *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 54, 567-578.

Balík, K., Sochor, M., Hulejová, H., Suchý, T., Černý, M.: 2007, The influence of a short-term tissue culture medium storage on the mechanical properties of composites based on glass fibers and polysiloxane, *Ceramics – Silikáty*, Vol. 51, 198-201.

Chavarria, F., Paul, D.R.: 2004, Comparison of nanocomposites based on nylon 6 and nylon 66, *Polymer*, Vol. 45, 8501-8515.

Fazan, F.: 2005, *Bone Grafts and Bone Substitutes. Basic Science and Clinical Applications*, 1st ed., World Scientific Publishing, London, 489-500.

Gumula, T., Blazewicz, S.: 2004, Study on polysiloxane resin-based composites for bone surgery application, *Polim. Med.*, Vol. 34, No. 3, 49-54.

Kawai, T., Ohtsuki, C., Kamitakahara, M., Miyazaki, T., Tanihara, M., Sakaguchi, Y., Konagaya, S.: 2004, Coating of an apatite layer on polyamide films containing sulfonic groups by a biomimetic process, *Biomaterials*, Vol. 25, 4529-4534.

Liao, H., Andersson, A.S., Sutherland, D., Petronis, S., Kasemo, B., Thomsen, P.: 2003, Response of rat osteoblast-like cells to microstructured model surfaces in vitro, *Biomaterials*, Vol. 24, No. 4, 649-54.

Manikandan, M., Naira, K.C., Thomas, S., Groeninck, G.: 2001, Thermal and dynamic mechanical analysis of polystyrene composites reinforced with short sisal fibres, *Comp. Sci. Tech.*, Vol. 61, 2519-2529.

Mata, A., Boehm, C., Fleischman, A.J., Muschler, G., Roy, S.: 2002, Growth of connective tissue progenitor cells on microtextured polydimethylsiloxane surfaces, *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 62, No. 4, 499-506.

McFarland, C.D., Thomas, C.H., DeFilippis, C., Steele, J.G., Healy, K.E.: 2000, Protein adsorption and cell attachment to patterned surfaces, *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 49, No. 2, 200-210.

Ramakrishna, S., Huang, Z.M., Kumar, G.V., Batchelor, A.W., Mayer, J.: 2004, *An Introduction to Biocomposites*, Vol.1, 1st ed., Imperial College Press, London.

Ramay, H.R.R., Zhang, M.: 2004, Biphasic calcium phosphate nanocomposite porous scaffolds for load-bearing bone tissue engineering, *Biomaterials*, Vol. 25, 5171-5180.

Ren, L., Tsuru, K., Hayakawa, S., Osaka, A.: 2002, Novel approach to fabricate porous gelatin-siloxane hybrids for bone tissue engineering, *Biomaterials*, Vol. 23, No. 24, 4765-4773.

Rose, F.R., Cyster, L.A., Grant, D.M., Scotchford, C.A., Howdle, S.M., Shakesheff, K.M.: 2004, In vitro assessment of cell penetration into porous hydroxyapatite scaffolds with central aligned channel, *Biomaterials*, Vol. 25, 5507-5514.

Springer, I.N.G., Fleiner, B., Jepsen, S., Açı, Y.: 2001, Culture of cells gained from temporomandibular joint cartilage on non-absorbable scaffolds, *Biomaterials*, Vol. 22, 2569-2577.

Suchanek, W., Yoshimura, M.: 1998, Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants, *J. Mater. Res.*, Vol. 13, 94-117.

Suchý, T., Balík, K., Sucharda, Z., Černý, M., Sochor, M.: 2007, Influence of nanoparticles additives on mechanical properties of fabric reinforced composites, *Eng. Biomater.*, Vol. 69-72, 1-3.

Walboomers, X.F., Habraken, W.J., Feddes, B., Winter, L.C., Bumgardner, J.D., Jansen, J.A.: 2004, Stretch-mediated responses of osteoblast-like cells cultured on titanium-coated substrates in vitro. *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 69, No. 1, 131-139.

Wang, X., Li, Y., Wei, J., de Groot, K.: 2002, Development of biomimetic nano-hydroxyapatite/poly(hexamethylene adipamide) composites, *Biomaterials*, Vol. 23, 4787-4791.

Wei, G., Ma, P.X.: 2004, Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering, *Biomaterials*, Vol. 25, 4749-4757.

Woo, K.M., Chen, V.J., Ma, P.X.: 2003, Nano-fibrous scaffolding architecture selectively enhances protein adsorption contributing to cell attachment, *J. Biomed. Mater. Res.*, Vol. 67, 531-537.



Ve dnech 9.-12. září 2009 pořádala Česká společnost pro kompozitní a uhlíkové materiály ve spolupráci s Ústavem materiálového inženýrství, FS ČVUT v Praze, seminář zaměřený na kompozity jako biomateriály, jejich povrchové úpravy a souvislostmi jejich fyzikálních a chemických vlastností s konkrétními aplikačními možnostmi.



## BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY II.

Herbertov, Horní Mlýn, 9. - 12. 9. 2009

**Eduard Brynda**

### **Povlaky zajišťující nulovou nebo specifickou interakci umělých materiálů s biologickým prostředím (Interakce biologického prostředí s umělými povrchy)**

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

Interakce se vždy zúčastní slané vodné tekutiny obsahující rozpuštěné proteiny (krev, lymfa, oční komorová voda, mozkomíšní mok, media pro kultivaci buněk), které jsou více či méně obsažené v každém biologickém prostředí. Díky různým typům fyzikálních interakcí (elektrostatické mezi ionty, vodíkové vazby, Van der Waalsovy, hydrofobní) zprostředkovaných aminokyselinovými zbytky mohou proteiny interagovat mezi sebou, s jinými biologickými molekulami a umělými materiály. Bílkoviny se více či méně adsorbují na všechny umělé povrchy, nejméně na elektroneutrální hydrogely. K adsorpci primární proteinové vrstvy dochází bezprostředně na začátku kontaktu umělého povrchu s biologickým prostředím. Všechny další procesy, jako jsou následné interakce s dalšími aktivními proteiny a buňkami, se pak odehrávají na nějaké adsorbované proteinové vrstvě, která je těmito procesy průběžně modifikována. Kontakt s krví: Bezprostředně po kontaktu krve s cizím povrchem (povrch odlišný od neporušeného endotelia stěny cévy) dochází k adsorpci plasmatických bílkovin a adhezi, aktivaci a agregaci krevních destiček. Současně je aktivována kaskáda molekulárních reakcí mezi vzájemně se aktivujícími koagulačními faktory, na jejímž konci se u povrchu tvoří síť fibrinových vláken. Při poškození cévy vzniká tímto mechanismem krevní zátka (trombus), která zastaví krvácení. Interakce umělých povrchů s buňkami a tkáněmi: Většina savčích buněk přežívá a proliferuje pouze jsou-li ukotveny k nějakému substrátu. V organismu tomuto účelu slouží extracelulární matrix (ECM) obsahující adhesivní bílkoviny (fibronektin, laminin a různé typy kolagenu,) ke kterým jsou buňky uchyceny prostřednictvím vazby svých transmembránových glykoproteinů integrinů. Při poranění slouží jako dočasný substrát pro uchycení buněk opravujících poškozenou tkáň fibrinová síť vytvořená koagulací krve. Specifické interakce povrchu substrátu s integriny neslouží pouze k pasivnímu ukotvení buněk ale dávají buňkám signály ovlivňující jejich další chování.

Povlékání povrchu substrátů pro tkáňové inženýrství a biosenzory v Ústavu makromolekulární chemie AV ČR: Na povrchu jsou imobilizovány umělé soubory biologických makromolekul, proteiny a polysacharidy, napodobujících ECM a fibrinovou síť nebo semisyntetické struktury obsahující prvky specificky interagující s vybranými typy buněk nebo biologických látek. Mezi perspektivní strategie patří pokrytí povrchu substrátu "non-fouling" vrstvou potlačující depozici proteinů a buněk, na jejíž povrch jsou pak kovalentní vazbou připojeny aktivní prvky - peptidické sekvence ECM proteinů, lektiny, protilátky a jejich fragmenty. Pro tento účel byly vyvinuty technologie přípravy polymerních kartáčů z poly(etylenglykolu) a zwitteriontových polybetainů aplikovatelné pro "non-fouling" pokrytí polymerních i anorganických povrchů.



## BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY II.

Herbertov, Horní Mlýn, 9. - 12. 9. 2009

### Vítězslav Březina

#### Interakce živočišných buněk s materiálem studovaná „in vitro“

B.P.Medical s.r.o., brezinavita@gmail.com

Biokompatibilita materiálů a to nejenom pro medicínské účely, zahrnuje řadu normovaných testů, které však ne vždy splní naše výzkumné cíle – totiž poznat nejenom zda materiál vyvolá toxickou, či mutagenní reakci, ale také znát příčinu a možnost omezení negativního působení na živou buňku. To platí nejenom na materiály pro medicínu, ale také například pro odpady, meziproducty výrob, potraviny, potravní doplňky, kosmetiku, a vlastně pro komplexní interakci spektra látek a živých organismů. Vypracovali jsme řadu přístupů k této problematice od screeningových testů, jejichž rozlišení je kvalitativní, až po zkoušky, které určí míru inhibice, anebo stimulace buňky a upřesní buněčnou lokalizaci zkoumaného působku.

V souvislosti s biokompatibilitou, anebo lépe cytocompatibilitou implantátů, ať už biodegradabilních, anebo nosných, se ukazuje jako velmi významný prvek interakce buňka-materiál, charakter povrchu na němž k interakci dochází. Jde o sadu vlastností chemických a fyzikálních, které určují charakter interakce a působí rovněž určitými selekčními mechanismy. Úprava povrchu leptáním, zdrsňením, nebo nanesením různých vrstev na základní materiál implantátu, zvyšuje jeho kvalitu. Například v případě dentálních implantátů značně ovlivňuje osseointegraci. Zajímavé výsledky ukazují první zkoušky na úpravu povrchu plasmou, které by si jistě zasloužily větší vědecké pozornosti.

Z metodického hlediska dáváme přednost záznamu reakce živých buněk, které ukáží změny v chování buněk, nejenom k materiálu, ale také změny v interakci buňka-buňka. Vazbu buněk k povrchům studujeme pomocí rastrovací elektronové mikroskopie a možné mutagenní účinky ověřujeme klastogenitou, to je stupněm poškození chromosomů savčí buňky.

### Luděk Joska, Jaroslav Fojt, Monika Hradilová

#### Kovové biomateriály a koroze

Ústav kovových materiálů a korozního inženýrství, VŠCHT, Praha, joskal@vscht.cz

Kovy používané jako biomateriály, tj. materiály u kterých je požadována vysoká korozní odolnost, jsou buď za daných podmínek termodynamicky stabilní - ušlechtilé nebo je jejich odolnost dána vznikem bariéry na fázovém rozhraní mezi kovem a prostředím. Použitelnost první skupiny, příkladem je zlato, je limitována mechanickými, zpracovatelskými a užitnými vlastnostmi. Převažná většina kovů a slitin aplikovaných v lidském organismu patří do druhé skupiny a odvozuje svoje korozní chování od jevu, který je označován jako pasivita. Do kontaktu s tělním prostředím se nedostává kovový materiál, často neušlechtilý, ale velmi tenká a vysoce odolná pasivní vrstva. Korozní chování pak závisí na jejich vlastnostech a stabilitě.

Kovové biomateriály jsou před nasazením do reálného použití testovány celou škálou technik a je sledována řada vlastností. Hodnocení interakce mezi tělním prostředím a kovem je většinou realizováno na dvou úrovních. První úroveň jsou buněčné testy in vitro, druhou pak testy na zvířatech. Korozní testy in vitro, které by měly být součástí vývojového



## BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY II.

Herbertov, Horní Mlýn, 9. - 12. 9. 2009

procesu, nejsou vždy realizovány. Koroze se pak může uplatnit hlavně při testech in vivo, které jsou dlouhodobější. Řada korozních procesů totiž potřebuje k aktivnímu rozvoji tzv. indukční periodu. Kromě toho může být korozní aktivita vyvolána pouze za určitých podmínek - složení prostředí, pH obsah kyslíku atd., jejichž vytvoření opět může záviset na case.

V příspěvku bude na reálných případech dokumentováno, že zanedbání korozního rozboru může vést při aplikaci materiálů in vivo k nežádoucím následkům. Případ 1. - šterbinová koroze - izoelastická endoprotéza kyčelního kloubu a koroze komponent pro dočasnou fixaci. Případ 2. - vliv léčebných gelů na titan a povlaky. Případ 3. - dentální amalgám. Třetí případ je opakem předchozích, bude dokumentován pozitivní dopad korozních procesů.

### Jaroslav Fojt, Luděk Joska

#### Vliv aplikace léčebného přípravku obsahujícího fluoridy na dlouhodobé korozní chování titanu

Ústav kovových materiálů a korozního inženýrství, VŠCHT, Praha, jaroslav.fojt@vscht.cz

Negativní vliv fluoridových iontů na korozní odolnost materiálů používaných ve stomatologii je jevem známým již řadu let. Negativní účinky léčebných a preventivních stomatologických přípravků na korozní odolnost dentálních výrobků na bázi titanu byly popsány v řadě studií. Ty se zabývají převážně stabilitou pasivní vrstvy v závislosti na koncentraci fluoridů a pH prostředí, to jest, za jakých podmínek materiál odolává, a kdy již dochází k aktivnímu rozpouštění. Cílem naší práce bylo určit korozní chování titanu v prostředí modelových slin po předchozí krátkodobé expozici vzorku v modelovém stomatologickém přípravku s vysokou koncentrací fluoridových iontů.

Měření byla realizována se vzorky titanu grade 2 ve fyziologickém roztoku (pH neupravené, 5,8 a 4,2) s obsahem 5000 ppm fluoridových iontů a v modelovém roztoku slin při teplotě 37°C. Pro popis korozního chování bylo použito snímání časových závislostí samovolného korozního potenciálu, měření polarizačního odporu a elektrochemická impedanční spektroskopie. Stav povrchu po expozici byl zkoumán fotoelektronovou spektroskopií (XPS).

Přítomnost fluoridových iontů vedla k degradaci pasivní vrstvy titanu i při mírně kyselém pH. Po přesunu vzorku z agresivního prostředí do modelových slin docházelo k postupné obnově pasivní vrstvy, vzorky však nedosahovaly korozní odolnosti neovlivněného materiálu. Při poklesu hodnoty pH na 4,2 a v přítomnosti 5000 ppm fluoridových iontů docházelo téměř okamžitě k aktivaci titanu a následné tvorbě povrchové vrstvy bohaté na fluor. Tato vrstva významně ovlivnila korozní chování při následné expozici v modelových slinách. Negativní vliv expozice ve fluoridech byl patrný i po několika desítkách hodin. Výsledky studie ukazují, že i krátkodobá aplikace léčebného přípravku dlouhodobě snižuje korozní odolnost titanu a může mít negativní následky pro organismus.



## BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY II.

Herbertov, Horní Mlýn, 9. – 12. 9. 2009

**Jiří Vyskočil, Ladislav Cvrček**

### Biokompatibilní povlaky a jejich charakterizace

HVM Plasma, s r.o., Praha, Jiri.Vyskočil@hvm.cz

Přijmutí implantátu živou tkání je komplikovaný proces, který je z velké části ovlivněn ději odehrávajícími se na jeho povrchu. Vzájemný kontakt povrchu implantátu s živou tkání vyvolává celou řadu následných reakcí, které vypovídají o jeho snášenlivosti v biologickém prostředí a jsou rozhodující pro stanovení tzv. biokompatibility. Biokompatibilní materiál se posuzuje podle interakce s prostředím, zejména podle cytotoxického působení, podle toxikologických a alergických reakcí, podle karcinogenních či mutagenních reakcí, podle vlivu na infekční procesy, podle rozsahu a kvality biodegradace. Materiál nesmí vyvolávat zánětovou reakci a uvolňovat potenciálně toxické látky. Posuzujeme-li biokompatibilitu ve vztahu povrchu implantátu k živé tkáni lze následně reakce rozdělit do tří hlavních skupin podle aktivity: biotolerantní, bioinertní a bioaktivní. Metodika testování biokompatibility je také pevně stanovena normou ISO 10 993 a je nezbytným krokem pro schválení použití nového materiálu v lékařských aplikacích.

Bez pochopení dějů odehrávajících se na povrchu implantátu by nebylo možné optimalizovat vlastnosti povrchu a proto je hlavní pozornost soustředěna na testování adheze buněk, bioaktivitu povrchu, aplikace povlaku jako difúzní nebo korozní bariéry, tribologie a z estetického hlediska i barvu.

Povrch lze upravit řadou metod od mechanických úprav (broušení, leštění, tryskání) a chemické leptání přes vakuové procesy iontového leptání – nereaktivního nebo reaktivního nebo nanášením povlaků chemickými a elektrochemickými metodami, nástřikem (plazmovým, detonačním dělem), a metodami CVD, PACVD a PVD. Zvláštní pozornost je potřeba zaměřit také na přípravu povrchu před samotnou úpravou (mechanické nebo chemické leštění a zdrsnění). V některých případech lze vlastnosti upravit také následnými procesy (elektrochemie, chemie).

Pro charakterizaci upraveného povrchu lze použít řadu metod, ať už se jedná o základní metody (měření tloušťky a adheze povlaku, chemické složení, drsnost povrchu) nebo specializované (tribologie, reaktivita a difúze, povrchové vlastnosti – smáčivost, barevnost), a měření biokompatibility (růst buněk, adheze proteinů apod.)

Pochopení vztahů mezi reakcí živé tkáně a povrchu implantátu umožnilo zlepšit vlastnosti implantátů a zejména prodloužit jejich životnost. Mezi úspěšné aplikace patří povlakované kovové implantáty kyčelních a kolenních kloubů, dentálních implantátů, srdečních chlopní, stentů, atd. V poslední době se začínají také testovat plastové dentální implantáty, pro které může být povlakování z hlediska biokompatibility nezbytné.

**Lucie Himmllová, Tomáš Goldmann, Dana Kubies, Vlasta Pešáková**

### Analýza povrchu nejčastěji používaných zubních implantátů

VÚ stomatologický, Praha, himmllova@seznam.cz

Povrchové vlastnosti implantačních materiálů ovlivňují adhezi a proliferaci buněk pojivové tkáně i adhezi proteinů. Zároveň přítomnost krve v chirurgické ráně a adheze proteinů na povrch implantátu je nezbytná pro úspěšné hojení. Studie vlivu povrchových úprav



## BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY II.

Herbertov, Horní Mlýn, 9. – 12. 9. 2009

komerčně dostupných zubních implantátů (c.p. titan a slitina Ti<sub>6</sub>Al<sub>4</sub>V s různými povrchovými úpravami, CrCoMo slitina, ZrO<sub>2</sub> keramika, polyethylen a uhlíkový kompozit) byla zaměřena na porovnání vlivu povrchových úprav na buněčné reakce a koagulaci krve. Vliv fyzikálně chemických vlastností povrchů implantátů (drsnost, volná povrchová energie, smáčivost) na adhezi a proliferaci buněk lidské pojivové tkáně byl sledován na fibroblastech a osteoblastech. Syntetická aktivita (TNF- $\alpha$ , IL-8, MMP-I, TIMP-I, BAP) byla hodnocena v supernatantu po kultivaci. Tvorba krevního koagula byla pozorována v SEM na vzorcích jednotlivých materiálů ponořovaných do čerstvě odebrané plné králičí krve.

Proliferace klesala s klesající hodnotou polární složky volné povrchové energie  $\gamma^p$ . Materiály na bázi titanu dosahovaly relativně vysokých hodnot proliferace u obou typů buněk zejména z důvodu vyšší hodnoty  $\gamma^p$ , nízká proliferace uhlíkového kompozitu byla způsobena pravděpodobně téměř nulovou hodnotou  $\gamma^p$ . Nicméně u fibroblastů byla výrazným podpůrným faktorem také nízká drsnost povrchu a hydrofilita. Oproti tomu osteoblasty preferovaly povrchy s vyšší drsností nebo zavedení funkčních skupin do povrchové vrstvy a vliv hydrofility se ukázal jako minoritní. Krevní koagulum se tvořilo až na výjimky nejrychleji na titanových površích.

Mezi sledovanými materiály se jako nejvýhodnější z hlediska rychlého vhojení do kostní tkáně ukázal materiál na bázi titanu s povrchovou úpravou leptáním. Na jeho povrchu osteoblasty proliferovaly nejlépe a produkovaly nejvyšší množství osteogenních markerů a nejnižší množství zánětlivých cytokinů. Fibrinová síť i celé krevní koagulum se na jeho povrchu tvořilo rychleji ve srovnání s ostatními sledovanými materiály. Povrchová úprava plasmatickým nástřikem titanu se ukázala jako slibná z pohledu proliferace. U implantátů s výrazně hrubým povrchem však není možné dodržet požadavek a traumatického zavedení.

Studie vznikla za podpory projektu Interní Grantové Agentury Ministerstva zdravotnictví ČR č. NS 10577-3 a za podpory výzkumným záměrem MŠMT č. 6840770012.

**Miroslav Brtko**

### Koronární stenty

Kardiocentrum, Kardiologická klinika Lékařské fakulty University Karlovy a Fakultní nemocnice, Hradec Králové, brtkom@seznam.cz

Kardiovaskulární onemocnění jsou stále nejčastější příčinou úmrtí v České republice, přičemž více než polovinu kardiovaskulárních úmrtí má na svědomí ischemická nemoc srdeční (ICHS). Ischemickou nemoc srdeční lze v principu léčit třemi způsoby: 1/ medikamentózně, 2/ chirurgickou revaskularizací srdečního svalu („bypassovou“ operací) nebo 3/ perkutánními výkony na srdečních tepnách. Metoda perkutánní transluminální koronární angioplastiky (PTCA) vstoupila do klinické praxe v roce 1977. Nejprve byla prováděna prostá balonková plastika na srdečních tepnách, která byla záhy doplněna o implantaci intrakoronárních stentů. Tím se jednak zlepšily krátkodobé i dlouhodobé výsledky perkutánních intervencí na srdečních tepnách, jednak se vyřešila problematika hrozícího uzávěru srdeční tepny při dilataci prostým balonkem. Koronární stenty jsou nejčastěji vyráběny z nerezové oceli nebo z chrom-kobaltové slitiny; jsou buď pleteny z drátu nebo laserem vyřezávány z kovové trubičky a potom krimpovány na dilatační balonek. Největší nevýhodou těchto tzv. prostých stentů je výskyt restenózy v dilatovaném místě. Jedná se o reakci cévní stěny na dilatační inzult a přítomný materiál stentu, která spočívá ve



## BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY II.

Herbertov, Horní Mlýn, 9. – 12. 9. 2009

vycestování hladkých svalových buněk přes oka stentu do lumina tepny s produkcí mezibuněčné hmoty. Celý tento proces vede k zužování tepny v ošetřeném místě až k jejímu uzavěru. Pravděpodobnost restenózy se zvyšuje s délkou stentu, s tloušťkou strat stentu a inverzně s diametrem stentu. Stenty se navzájem liší nejen použitým materiálem, ale i konstrukcí strat a jednotlivých ok. Konstrukce stentu pak s sebou nese různou flexibilitu stentu při zavádění, radiální sílu, která je důležitá hlavně při ošetřování významně kalcifikovaných stenóz, a velikost a tvar oka stentu, které hrají roli při pronikání okem stentu do boční větve. Problém restenózy téměř vyřešila nová generace stentů – tzv. drug-eluting stenty (lékové stenty). Jedná se o kovové stenty, které mají na svém povrchu vázán polymer s antiproliferativní látkou (nejčastěji sirolimus nebo paclitaxel a jejich analoga). Antiproliferativní látka se po implantaci stentu po určitou dobu uvolňuje do cévní stěny a tím brání reakci, která vede k restenóze. Bohužel antiproliferativní látka brání pokrytí stentu vlastní tkání (cévní výstelkou – endotelem) a tím zvyšují pravděpodobnost pozdního výskytu krevní sraženiny (trombu) v lumen cévy. Toto riziko lze podstatně snížit dlouhodobým užíváním léků, které zabraňují srážení krevních destiček a tím výrazně omezují výskyt trombózy. Možným řešením jak restenózy, tak pozdní trombózy, mohou být biodegradabilní stenty, se kterými jsou zatím jen limitované zkušenosti.

### Marcela Munzarová, Martina Jukličková

#### Zdravotní rizika spojená s výrobou, zpracováním a využíváním nanovláknenných materiálů v průmyslové praxi

Elmarco s.r.o., Liberec, marcela.munzarova@elmarco.com

Příspěvek je věnován výsledkům testování úniku nanovláken při jejich výrobě a výsledkům testování biokompatibility nanovláken v organismu s ohledem na případná zdravotní rizika související s jejich výrobou a zpracováním, případně s použitím produktů s obsahem nanovláken.

Jako nejpravděpodobnější riziko bylo vyhodnoceno riziko související s vdechováním nanovláken. Negativní zdravotní účinky respirabilních vláken jsou způsobené zejména fyzikálními faktory, hlavně tím, že vlákna penetrují do dýchacího ústrojí hlouběji, než by se dalo očekávat na základě jejich geometrických rozměrů. Vlákna se totiž často orientují ve směru proudnic vzduchu a místo jejich deponice je tedy spíše ovlivněno jejich průměrem než délkou. V tenkých kapilárách dolních cest dýchacích se pak mohou zapřičit a dlouhodobě dráždit dýchací cesty (např. azbestóza, fibrózy, atd.). Přehledně se těmito otázkami zabývá např. Spengler et al. (2000).

Únik nanovláken při výrobě byl testován při provozu těchto zařízení - laboratorního zařízení Nanospider NS lab, NS industrial line, NS Melt lab. Použitá metoda měření - určení variability koncentrace aerosolových částic v provozu mapováním lokálních koncentrací pomocí přenosného kondenzačního čítače částic P-trak. Dosažené hodnoty byly porovnány s koncentracemi ve venkovním ovzduší a koncentracemi dosaženými v klidovém stavu.

Biokompatibilita polymerních a anorganických nanovláken byla testována metodou zavedení sterilního implantátu testovaného nanovláknenného materiálu do podkožní tkáně potkana.



## BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY II.

Herbertov, Horní Mlýn, 9. – 12. 9. 2009

### Karel Balík<sup>1</sup>, Tomáš Suchý<sup>1,2</sup>

#### „Měkké“ biokompozity

<sup>1</sup>ÚSMH AV ČR v.v.i., Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, Praha, balik@irms.cas.cz

<sup>2</sup>Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, FS ČVUT v Praze

Éra „tvrdých“ kostních náhrad, kdy úspěšným výsledkem výzkumu byl materiál vykazující stejné mechanické vlastnosti jako lidská kost a prokazující biomechanickou, v lepším případě i jistou bioaktivitu, prakticky skončila. V tkáňovém inženýrství se špičková světová pracoviště (např. NUS Singapur) zabývají vývojem „měkkých“ materiálů, které vykazují bioaktivitu a naprostou degradovatelnost. Smyslem moderních studií je přiblížit se co nejvíce k chemickému a fázovému složení lidské kosti. Základem trojrozměrného scaffoldu je volba vhodného elektrospinningu. Zdá se, že nevhodnější se zatím jeví tažení nanovláken na bázi kolagenu, či směsi kolagenu a kyseliny polyaktidové na vodní hladinu. Vysušená trojrozměrná síť nanovláken je posléze mineralizována hydroxyapatitem či fosforečnanem vápenatým.

### Tomáš Suchý<sup>1,2</sup>, Karel Balík<sup>1</sup>, Zbyněk Sucharda<sup>1</sup>, Martin Černý<sup>1</sup>, Lucie Bačáková<sup>3</sup>, Elena Filová<sup>3</sup>, Miroslav Sochor<sup>2</sup>

#### Modifikace tkaninových kompozitů na bázi polyamidové výtzuže a polysiloxanové matrice pomocí HA/TCP nano/mikro plniv, mechanická analýza a biologické hodnocení

<sup>1</sup>ÚSMH AV ČR v.v.i., Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, Praha

<sup>2</sup>Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, FS ČVUT v Praze

<sup>3</sup>Fyziologický ústav AV ČR v.v.i., Praha

Byly navrženy kompozitní materiály na bázi polyamidové tkaniny a polysiloxanové matrice pro aplikace v kostní chirurgii. Do matrice kompozitních vzorků byl pro zvýšení bioaktivity přidán nano/mikro hydroxyapatit (HA) a fosforečnan vápenatý (TCP) v množství 2, 5, 10, 15, 20 a 25%obj. Byl ověřován vliv aditiv na mechanické vlastnosti a současně byly pomocí obrazové analýzy studovány změny ve vnitřní struktuře kompozitů. Biologické hodnocení vlivu příměsí bylo studováno in vitro pomocí kultivace lidských kostních buněk linie MG 63 a pomocí loužení kompozitů v simulovaném tělním roztoku (SBF) a dále pomocí histologických výbrusů z in vivo testů.

### Ivan Janda

#### Cimrman a biomateriály

Mikrobiologický ústav AVČR v.v.i., Praha, janda@biomed.cas.cz

Tato historická studie dokládá, že první, kdo začal studovat a vyvíjet biomateriály, byl český génius Jára Cimrman, a to již od poloviny roku 1895. V příspěvku budou předneseny důkazy o nesmírné tématické šíři Mistrova záběru a zdůrazněna bude důležitost jeho vynálezů pro soudobou technologii.





## BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY II.

Herbertov, Horní Mlýn, 9. – 12. 9. 2009

**Ladislav Cvrček, Jiří Vyskočil**

### Uhlovodíkové povlaky dopované titanem a jejich bioaktivní povrch

HVM Plasma, s. r.o., Praha, Ladislav.Cvrcek@hvm.cz

Pro úspěšnou aplikaci ortopedických i dentálních implantátů v aplikacích vyžadujících srůstání implantátu s kostí je rozhodující, jakým způsobem bude reagovat okolní tkáň na povrch samotného implantátu. Jednou z možností přizpůsobení povrchových vlastností implantátu těmto požadavkům je jeho povlakování. V případě interakce povrchu implantátu s kostní tkání mohou být vhodným kandidátem uhlovodíkové vrstvy dopované titanem, kde určité množství titanu výrazně ovlivňuje bioaktivitu povrchu. Provedenou optimalizací tohoto množství bylo nalezeno takové chemické složení povlaku, které kromě bioaktivity zajišťuje také dobré mechanické vlastnosti i chemickou stabilitu. Povlak by tedy neměl být resorbován okolní tkání, jako v případě hydroxyapatitu a mohl by se stát jeho perspektivní náhradou.

**Jan Remsa<sup>1</sup>, Miroslav Jelínek<sup>1,2</sup>, Tomáš Kocourek<sup>1,2</sup>**

### Laserová ablace a biomateriály

<sup>1</sup> Fyzikální ústav AV ČR v.v.i., Praha, jremsa@gmail.com

<sup>2</sup> ČVUT v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství, Kladno

Přednáška shrnuje poznatky o pulsní laserové depozici (PLD). Přednosti PLD se projeví hlavně při depozici vícesložkových a dopovaných materiálů jako např. vysokoteplotních supravodičů, feroelektrik, elektrooptických materiálů, aj. Výhodou metody je, že k ablaci materiálu z terče dochází v důsledku jeho interakce s laserovým zářením. Interakce s částicemi plynné fáze v depoziční komoře je poměrně slabá, což umožňuje deponovat vrstvy v širokém rozsahu depozičních tlaků. Další výhodou je, že téměř všechny materiály absorbují záření vlnových délek pod 250 nm, což jsou vlnové délky současně nejběžněji používaných depozičních excimerových laserů. Klíčovými rysy této technologie jsou schopnost reprodukovat složení terče a depozice multivrstvových systémů pomocí jednoduché výměny terčů. Prostorová směrovost plasmového obláčku z terče snižuje riziko kontaminace deponovaných vrstev nežádoucími příměsími. Po hardwarové stránce je PLD velmi jednoduchá. Systém se skládá z laseru, depoziční komory, terče a (ohříváního) držáku podložek. Z hlediska nákladů je podstatná pořizovací cena laseru. Na druhé straně je možné s jedním laserem sdílet depozice různých vrstev (více depozičních komor = více experimentů) a lze realizovat i další technologické operace (laserová litografie, modifikace povrchů, laserové zíhání, vrtání, atd.). Z hlediska omezení PLD technologie se jedná o dva problémy: pokrytí velkých ploch a o vytváření kuliček (nehomogenit) ve vrstvě. Pokrytí velkých ploch je problematické vzhledem k dopředné úhlové směrovosti plazmového obláčku (přenosu materiálu z terče). Velké plochy lze v zásadě pokrýt skenováním laserového svazku po terči a pohybem podložky vzhledem k plasmovému obláčku. Možností jak snížit nehomogenitu povrchu vrstvy je celá řada. Optimální variantu pro docílení dokonalé povrchové morfologie vrstvy je třeba stanovit pro každý materiál a vhodné depoziční podmínky experimentálně. Laserovou depozicí byla deponována škála materiálů s velmi rozdílným aplikačním zaměřením. Nové možnosti otevírá také kombinace PLD s



## BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY II.

Herbertov, Horní Mlýn, 9. – 12. 9. 2009

dalšími technikami. Např. přídavné výboje pro disociaci a aktivaci reakčních plynů v komoře (radiofrekvenční výboj, jeho modulace, atd.) umožňují studium zcela nových materiálů. Kombinace PLD a magnetronu zase umožňuje vytváření gradientních, nanokompozitních a nanokrystalických vrstev. Perspektivní je i kryogenní laserová technologie MAPLE (Matrix Assisted Pulse Laser Evaporation), která zpřístupnila nanášení a studium tenkých vrstev organických materiálů. Dále bude na příkladech demonstrována aplikovatelnost PLD a MAPLE pro studium planárních vlnododových laserů, tenkovrstvových čidel plynů a v lékařství.

V posledních letech se ukazuje, že jen málo materiálů je opravdu biokompatibilní. Proto je cílem vyvinout tenké biokompatibilní vrstvy pro pokrytí materiálu implantátu a touto cestou zlepšit biokompatibilitu a mechanické vlastnosti. Poslední část příspěvku je soustředěna na vrstvy hydroxyapatitu (HA), jeho modifikace dopací stříbrem a na diamantu podobný uhlík (DLC). PLD dovoluje jednoduše kontrolovat obsah dopantů, krystalické a jiné vlastnosti vrstev těchto vrstev. Charakteristiky vrstev jsou určovány pomocí profilometru, SEM, WDX, XRD a optické transmise. Antibakteriální vlastnosti HA, stříbra a dopovaných vrstev HA stříbrem byly studovány "in vivo" pomocí buněk Escherichia coli K12 C600.

Děkujeme za podporu grantu Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky MSM6840770012, a výzkumnému záměru AVOZ 10100522.

**Jevgenij Anisimov, Františka Pešlová**

### Interakce povrchů s prostředím

Ústav materiálového inženýrství, FS ČVUT v Praze, anisimov@seznam.cz

Povrch má funkci přebírat působení okolí na součást, technický objekt (TO) z daného materiálu. Povrch musí zabezpečovat odolnost vůči poškození, se zachováním všech strukturálních, tribologických, optických, geometrických a funkčních vlastností materiálu.

Pokud materiál součásti nebo TO má společný rys, který lze specifikovat jako vnější zatížení povrchu, které vyvolá na povrchu objektu jeho aktivaci je třeba počítat s reakcí daného materiálu. Reakce povrchů se může projevit vznikem nebo rozvinutím degradace, kterou lze na technickém objektu hodnotit jako přípustnou nebo nepřípustnou.

Charakteristickou vlastností každého povrchu pevné fáze je změna symetrie sil působící v mikroobjemu materiálu, podle charakteru struktury. Zatím co uvnitř objemu jsou tyto síly v různých směrech navzájem vykompenzovány, povrchová vrstva je v tomto smyslu „nenасыčená“.

Volný povrch je vystavený působení plynného, kapalného nebo pevného média, v němž je různý obsah chemických prvků, s větší nebo menší aktivitou na strukturu materiálu.

Fyzikální vlastnosti jsou potom dané atomovou i elektronovou strukturou a mohou se projevit jako specifické vlastnosti při zatížení povrchu.

Vlastnosti povrchu jsou dané podmínkami technologie zpracování a samotné výroby. Jednotlivé výrobní operace zanechávají svou stopu ne jen na povrchu, ale i do určité hloubky materiálu, která se mění podle způsobu zpracování i vložené energie.

Odolnost materiálu, v závislosti na vnějším působení, se projeví různou změnou povrchu, která ovlivní celkovou životnost součásti, nebo TO.



## BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY II.

Herbertov, Horní Mlýn, 9. – 12. 9. 2009

**Zbyněk Sucharda, Martin Černý, Monika Šupová, Šárka Rýglová**

### **Problematika metodiky přípravy CaP kompozitních vzorků pro zkoušky in vitro kultivace buněk**

ÚSMH AV ČR v.v.i., Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, Praha, sucharda@irsm.cas.cz

Sledování in vitro kultivace buněk na vzorcích částicových kompozitů je vstupní a rozhodující zkouškou jejich vhodnosti jako biomateriálu. Aplikovaná metodika přípravy se stává kompromisem mezi dostupnou a užitou technologií a předpokládanými ději chemickými (možnými reakcemi mezi pojivem a plnivem), fyzikálními (shlukování částic, sedimentace částic) a požadavky na strukturu a geometrii povrchu vzorku. Příspěvek popisuje řešení této problematiky především na částicových kompozitech siloxanový polymer/CaP částice a vzorcích, jejichž účelem je hodnocení vlivu plniva na kultivaci buněk.

**Vladimír Starý**

### **Uhlovodíkové povlaky dopované titanem a jejich bioaktivní povrch**

Ústav materiálového inženýrství, FS ČVUT v Praze, vladimir.starý@fs.cvut.cz

V práci je studována biokompatibilita materiálů na bázi uhlíku, především její závislost na drsnosti povrchu. Materiály ve formě povlaků na podložkách 2-D C-C kompozitů byly připraveny ve firmách Tesla Vršovice a HVM Plasma s.r.o, Praha, kompozity byly připraveny v ÚSMH AV ČR, v.v.i. v Praze. Připravený povlak pyrolitického uhlíku (PyC) byl broušen a leštěn, na takto připravený povrch byl pak nanesen povlak Ti-C:H nebo DLC (diamantu podobný uhlík). Takto vznikly tři řady vzorků z různou drsností a různým materiálem na povrchu. Na těchto površích pak probíhala kultivace buněk linie MG63. Drsnost povrchu byla charakterizována 2D parametry drsnosti, biokompatibilita byla zjišťována měřením hustoty buněk 1 a 4 dny po začátku kultivace, jejich průměrné plochy po 1 dnu kultivace; z hodnot hustoty po 1 a 4 dnech byla určována doba zdvojnásobení počtu buněk v kultuře. Byla sledována závislost těchto parametrů na parametrech drsnosti. Na pyrolitickém uhlíku a Ti-C:H se vyskytuje určité minimum hustoty při  $R_a \sim 3 \mu\text{m}$ , u DLC hustota buněk po 1 dni kultivace s klesající drsností roste. Toto minimum je spojeno u PyC a Ti-C:H s maximem plochy buněk, které je prokázáno statisticky významně. Pro DLC plocha buněk s klesající drsností statisticky významně roste. Nakonec je ukázáno, že příprava povrchů s různou drsností mechanickým broušením a leštěním je vhodný způsob pro přípravu modelových povrchů ke studiu jejich biokompatibility.



## BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY II.

Herbertov, Horní Mlýn, 9. – 12. 9. 2009

**Daniela Hrušková<sup>1,2</sup>, Zbyněk Sucharda<sup>1</sup>, Karel Balík<sup>1</sup>**

### **Biokompozity s želatinovou maticí**

<sup>1</sup>ÚSMH AV ČR, v.v.i. Praha, danulka.h@seznam.cz

<sup>2</sup>Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky FS ČVUT v Praze

Želatina jako součást degradabilních biomateriálů pro výrobu kostních náhrad se používá zejména kvůli svému chemickému složení. Jde prakticky o derivát kolagenu (tzv. glutin), přičemž vazby, které drží aminokyseliny ve známé kolagenové trojřoubovici pohromadě jsou narušeny, řetězce zkráceny, tím pádem je želatina aktivnější a tělem lépe zpracovatelná než samotný kolagen (rychlejší distribuce aminokyselin).

Základním použitým materiálem pro výrobu těchto kompozitů byla želatina (ve formě prášku, vláken a gelu) reprezentující organickou část kosti a hydroxyapatit (dále jen HAP) zastupující složku anorganickou (nano a mikroprášek).

První skupinou jsou kompozity lisované bez přídavku rozpouštědla, za zvýšené teploty (tlak i teplota konstantní), kde jsou želatina i HAP ve formě prášku.

Druhou skupinu tvoří kompozity z nanovláknenné tkaniny vyrobené firmou Elmarco, Liberec. Vlákna byla plněna nanopráškem HAPu již při samotném zvláknování. Tato tkanina pak byla navrstvena a slisována.

Třetí skupina kompozitů byla vyrobena tzv. mokrou cestou, kdy byl HAP přidán do rozpouštěné želatiny a vzorky pak vysušovány do požadované vlhkosti.

Příspěvek je věnován porovnání několika typů kompozitů stejných materiálově, lišících se strukturou. Dále se zabývá výrobou, použitými postupy, porovnáním materiálových vlastností jednotlivých skupin kompozitů a jejich chováním za různých podmínek.

**Pavla Rybolová, J. L. Lopes, P. L. Granja, J. R. Gomes**

### **Frictional properties of poema-based hydrogels as syntetic cartilage**

FS ČVUT v Praze, ribolka@gmail.com

Polymeric hydrogels have proven their usefulness in biomedicine in a large span of applications, such as contact and intraocular lenses, molecular imprinting, wound dressing, drug delivery systems and tissue engineering. Nowadays, synthetic hydrogel materials, such as poly(glycolic acid) (PGA), poly(vinyl alcohol) (PVA), poly(vinyl pyrrolidone) (PVP), among others, have been gaining further interest in the forms of blends and other combinations that result in improvements in their mechanical and tribological properties. In this work, poly (2-hydroxyethyl methacrylate) (pHEMA)-based hydrogels were studied as potential substitute materials for deteriorated articular cartilage by assessing their in vitro frictional behaviour using a conventional pin-on-plate tribometer. The interest of investigating such materials relies on their biocompatibility as well as on their capability to absorb water and maintain a given mechanical rigidity, as required for this specific utilization.

Several formulations of hydrogels containing pHEMA and poly(methyl methacrylate) (PMMA) were prepared, by varying the starting HEMA monomer content before the polymerization process. Proportions from 10 to 90 (wt-%) of HEMA were used to evaluate the frictional response of the hydrogels. Reciprocating sliding of the polymeric pins against





## BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY II.

Herbertov, Horní Mlýn, 9. – 12. 9. 2009

bovine cartilage was carried out using saline solution (PBS) as lubricating medium. The tests were performed at variable normal applied load ( $10 \leq W \leq 30N$ ) and constant stroke length (8 mm) and frequency of the oscillating motion (2 Hz).

The low friction coefficient values ( $\approx 0.02$ ) combined with the preservation of the mating surfaces (hydrogel and bovine cartilage) indicate the potential of the tested hydrogels to be used as substitutes of natural cartilage.

### Petr Mutafov

#### Studium struktury a mechanických a tribologických vlastností nanokompozitních povlaků

Ústav materiálového inženýrství, FS ČVUT v Praze, petr.mutafov@seznam.cz

Tato bakalářská práce se zabývá experimentálními metodami používanými pro hodnocení mechanických a tribologických vlastností povlaků Ti-C:H.

První kapitola teoretické části popisuje teorii tření, opotřebení a povlakování. Následující kapitola je zaměřená na ucelený přehled nejpoužívanějších experimentálních metod pro hodnocení vlastností povlaků.

V experimentální části jsou zkoumány vzorky s rozdílným způsobem nanosení povlaku. Experiment se skládá z měření chemického složení metodou XPS, měření tvrdosti a měření tribologického chování vzorků.

### Zdeněk Tolde

#### ICDAM-Inovační centrum diagnostiky a aplikace materiálů

Ústav materiálového inženýrství, FS ČVUT v Praze, zdenek.tolde@fs.cvut.cz

V letošním roce se na ústavu materiálového inženýrství na Karlově náměstí otvírá ICDAM. Centrum je zaměřeno na výzkum duplexních vrstev, tribologické zkoušky, elektronovou mikroskopii a další. Cílem tohoto příspěvku bude seznámit účastníky s přístrojovým vybavením a možnostmi centra.

### Šárka Rýglová

#### Částicový kompozit jako možný biomateriál pro meziobratlovou rozpěrku

ÚSMH AV ČR v.v.i., Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, Praha, ryglova@irms.cas.cz

Cílem této experimentální práce byl návrh technologie laboratorní přípravy kompozitů s částicovou výztuží a termosetickou maticí, stanovení vlivu velikosti částic výztuže a objemového plnění v kompozitu na modul pružnosti v tlaku a tlakovou pevnost. Účelem bylo stanovit vhodný typ výztuže a optimální objemové plnění. Jako výztuže bylo použito dvou typů nano/mikro plniv, hydroxyapatit (HA) a fosforečnan vápenatý (TCP), jako matrice byl použit polydimethylsiloxan (PDMS). V experimentální části se jednalo o vyřešení dvou



## BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY II.

Herbertov, Horní Mlýn, 9. – 12. 9. 2009

hlavních problémů, a to dosažení co nejdokonalejší homogenizace částicové výztuže v matici a vypracování takového vytvrzovacího postupu, jehož výsledkem by byl kvalitní kompozitní vzorek. Vzorky s nano částicovou výztuží dosáhly obecně vyšších hodnot modulu a pevnosti. Ty se pohybovaly v rozmezí hodnot udávaných pro lidskou kortikální a spongiózní kost.



**Acta Geodynamica et Geomaterialia** je multidisciplinární časopis s náplní:

- Vybrané aspekty geodynamiky
- Paliva, uhlíkové materiály a úpravnictví

Základní informace naleznete na internetové adrese: <http://www.irsm.cas.cz>

Každá řada časopisu **Acta Geodynamica et Geomaterialia** vychází 4 krát ročně. Cena jednoho výtisku je 100Kč + poštovné.

**Bankovní spojení:** Česká národní banka, Praha 1, Na Příkopě 28, 115 03, č. účtu 635-081/0710, Variabilní symbol 468888

**Adresa redakce:** J. Netrestová  
ÚSMH AV ČR, v.v.i.  
V Holešovičkách 41  
182 09 Prague 8, Czech Republic  
E-mail: [irsm@irsm.cas.cz](mailto:irsm@irsm.cas.cz)  
Tel. +420-2-660 09 318

#### INSTRUKCE PRO ČESKÉ AUTORY

Časopis **Acta Geodynamica et Geomaterialia** přijímá původní příspěvky splňující podmínky výše zmíněných disciplin. Rukopis zašlete e-mailem, resp. 3.5" disketě, ZIP nebo CD-ROM (MS Word libovolné verze), příp. spolu s dalšími soubory (obrázky, tabulky apod.). Dále je třeba dodat vytištěný příspěvek, ve třech vyhotoveních. Redakční rada rozhodne o přijetí příspěvku na základě recenze dvou oponentů. První autor obdrží jeden výtisk **Acta Geodynamica et Geomaterialia** a 20 reprintů svých článků zdarma.

#### Článek musí obsahovat:

Název, celá jména autorů s adresami, včetně telefonních čísel, faxu, příp. e-mailu, abstrakt, klíčová slova, vlastní sdělení (vše v angličtině).

#### Dále může obsahovat:

Tabulky max. velikosti 24x16 cm a min. velikosti písma 9 b., v textu nebo na zvláštních stránkách. Tabulky musí být psány jako skutečné tabulky – ve sloupcích, nikoli jako text v řádcích. Záhlaří všech tabulek musí být na zvláštní stránce. Ilustrace: Přijímají se černobílé fotografie, kresby a mapy v dobré kvalitě (min. 600 dpi). Grafy se přijímají černobílé, velikosti bodů, tloušťka čar a popisy os musí být dostatečně velké kvůli možnému zmenšení. U všech grafů v článku je třeba dodržet stejný styl popisu. Ilustrace mohou být umístěny v textu nebo v samostatných souborech. Přípustné formáty těchto souborů jsou (\*.doc, \*.xls, \*.ppt, \*.bmp, \*.pcx, \*.tif, \*.jpg, \*.gif). Ilustrace jsou číslovány v pořadí tak, jak je o nich referováno. Popis nesmí být umístěn přímo v obrázku, soupis všech popisů musí být na samostatné stránce. U popisu obrázku je třeba uvést jeho požadovanou velikost v textu. Redakce přijímá rovněž barevné ilustrace (min. 1200 dpi, max. velikost vytištěného obrázku je 24x16 cm). Barevné ilustrace jsou tištěny jednostranně a umístěny na konci článku jako příloha. Náklady na tisk těchto barevných příloh hradí autor. (2000 Kč za stranu). Proměnné, konstanty aj. symboly v matematických rovnicích a odkazy na ně v textu je třeba psát výhradně v editorech rovnic MS Equation Editor nebo MathType. Všechny použité symboly musí být vysvětleny v textu nebo v seznamu symbolů.

Odkazy na literaturu v textu musí být ve formě (**autor, rok**), např., (Balík, 2001), (Rudajev et al., 2002). Soupis všech odkazů v abecedním pořadí musí být na samotné stránce ve tvaru:

**Příjmení, iniciály prvního autora**, (příjmení a iniciály dalších autorů, kromě posledního) **and** (příjmení a iniciály posledního autora): **rok, název článku, název časopisu, číslo, stránky od-do**

Např. Mierzejewski, M., Korzak, F. and Kaczalek, M.: 2002, Geodynamic research of recent movements in the Karkonosze Mts, Acta Montana ser.A., 15(126), 56-78

Příspěvek musí být zaslán v konečné verzi. V autorském náhledu je možno opravovat pouze překlepy, jiné zásahy do textu jsou nepřipustné.

**Od roku 2007 je časopis Acta Geodynamica et Geomaterialia indexován (Thomson Institute for Scientific Information) pro pokrytí v citačním rejstříku SCIE.**

**Acta Geodynamica et Geomaterialia** is a multidisciplinary journal concerned with:

- Selected aspects of the geodynamics
- Fuel, carbon and mineral processing

Topical information on internet address: <http://www.irsm.cas.cz>

**Acta Geodynamica et Geomaterialia** issues periodically 4 times per annum.

**Aim:** The main purpose of **Acta Geodynamica et Geomaterialia** enables a possibility to publish the results of scientific works and contribute to information exchange among scientists, engineers and others professionals.

**Issues, price list:** **Acta Geodynamica et Geomaterialia** appears about three times annually for each series. The price of one issue is 15 EUR plus carriage charges. Back issues can be obtained on request.

**Bank connection:** Czech National Bank, Prague 1, Na Příkopě street 28, 115 03, account no. 635-081/0710 Variable Symbol 468888

**Subscription office:** J. Netrestová  
IRSM AS CR, v.v.i.  
V Holešovičkách 41  
182 09 Prague 8, Czech Republic  
E-mail: [irsm@irsm.cas.cz](mailto:irsm@irsm.cas.cz)  
Tel. +420-2-660 09 318

#### INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

**Submissions:** **Acta Geodynamica et Geomaterialia** accepts original papers in English concerning all aspects of mentioned disciplines. Authors should submit three hard copies of their contribution and identical text file in MS Word (any version) and in case of need other files (figures, tables etc.) by e-mail, on 3.5" floppy disc, ZIP or CD-ROM. The Editorial Board on the basis of reviews of at least two referees makes the decision upon their publication. Author first named will receive one volume of **Acta Geodynamica et Geomaterialia** and twenty reprints free of charge.

#### The manuscript must contain:

Title, full names of all authors, their affiliations and addresses including phone number, fax number and e-mail address, abstract, keywords and main body of paper (all in English).

#### It can be included:

Tables at max. size 24x16 cm and min. font size 9 pt, in text or on separate pages. Tables must be written really as tables (in columns), not as text (in rows). Captions of all tables must be on separate page. Figures: Black and white photographs, drawing or maps in good quality (min. 600 dpi) are acceptable. Charts and diagrams must be in black and white, description of axes must be at sufficient size in due to possibility of reducing. Figures may be placed in text or as separate files. Only permitted formats of these files are (\*.doc, \*.xls, \*.ppt, \*.bmp, \*.pcx, \*.tif, \*.jpg, \*.gif). Figures are to be referred as Fig. *Arabic numeral* and should be numbered consecutively, according to their sequence in the text. Caption must not be in placed in the figure area. List of captions of all figures must be on the separate page. Required size of the pictures in the text must be denoted at the list of captions. Color illustrations are tolerable (min. 1200 dpi), but at author's expense 75 EUR per 1 page A4). These pages, (pressed on one side) will be placed on end of the paper as appendix. Variables, constants and other symbols in mathematical functions and also in the text are accepted written exclusively at MS Equation Editor or MS MathType. All used symbols must be explained in text or in the List of symbols.

References quoted in the text must be in form (**author, year**), e.g., (Balík, 2001), (Rudajev et al., 2002). All references should be listed together at the end of the paper in alphabetic order as:

**First name, signatures of surnames**, (names of other authors except last) **and** (First name, signatures of surnames of last author): **year, title, journal, number, pages**  
e.g. Mierzejewski, M., Korzak, F. and Kaczalek, M.: 2002, Geodynamic research of recent movements in the Karkonosze Mts, Acta Montana ser.A., 15(126), 56-78

Paper must be supplied as final version. At press-proof it is possible to correct only typing errors, other changes of text are not acceptable.

**Since 2007 Acta Geodynamica et Geomaterialia has been selected by Thomson Institute for Scientific Information for coverage in the Science Citation Index Expanded (SCIE). At the time the journal is indexed.**