

Příprava bioaktivních povrchů pomocí fyzikálně-chemických metod a jejich aplikace

František Bílek

Bakalářská práce
2006

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav fyziky a mater. inženýrství
akademický rok: 2005/2006

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **František BÍLEK**
Studijní program: **B 2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Chemie a technologie materiálů**

Téma práce: **Příprava bioaktivních povrchů pomocí fyzikálně-chemických metod a jejich aplikace.**

Zásady pro vypracování:

1. Vypracujte rešerši na zadané téma.
2. Kriticky porovnejte rozdílné metody přípravy bioaktivních povrchů.
3. Shrňte možnosti jejich aplikace.
4. Citujte použitou literaturu.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

Dle doporučení vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Marián Lehocký, Ph.D.**
Ústav fyziky a mater. inženýrství

Datum zadání bakalářské práce: **14. února 2006**

Termín odevzdání bakalářské práce: **13. června 2006**

Ve Zlíně dne 14. února 2006




prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
děkan


14.2.2006
prof. Ing. Lubomír Lapčík, Ph.D.
ředitel ústavu

ABSTRAKT

Polymerní materiály vzhledem ke svým charakteristikám, chemické stabilitě, malé hmotnosti a taky pro množství možností vzhledu mají různé použití. Dokonce i množství medicínských a biotechnologických produktů je kompletně anebo částečně vyrobených z polymerů. Ve spojení s biologickými systémy není vždy daná kompatibilita těchto materiálů. Aby bylo možné splnit požadavky pro medicínské aplikace, povrchy musí být modifikované. Plazmatické techniky jsou demonstrovány jako vhodný nástroj na generování požadovaných vlastností povrchu.

Klíčová slova: biokompatibilita, funkcionalizace povrchu, adheze buněk

ABSTRACT

Polymeric materials can be used in many application areas due to their mechanical (e.g. elastic) characteristics, chemical stability, and their light weight, as well as for their many design possibilities. Even in the field of medicine and biotechnology many products are completely or partly made of polymers. In contact with biological system, compatibility of these materials is not always given. To fulfill the requirements for medical applications, the surface have to be modified. Plasma techniques are demonstrated as an appropriate tool for the generation of the demanded surface properies.

Keywords: Biocompatibility, Surface functionalization, Cell adhesion

Chtěl bych poděkovat Ing. Mariánovi Lehockému, Ph.D. za odborné vedení, ochotné poskytnutí cenné rady a soustavnou pozornost, kterou mi věnoval při vypracovávání méjí bakalářské práce.

OBSAH

ÚVOD	7
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 ÚPRAVA POMOCÍ PLAZMATU	11
1.1 CO JE TO PLAZMA?	11
1.2 JAK VZNIKÁ PLAZMA	11
1.3 REAKCE MEZI PLAZMATEM A POLYMERNÍM POVRCHEM	14
1.3.1 Inertní plazmový plyn	15
1.3.2 Kyslíkaté plazma	15
1.3.3 Dusíkaté a fluoridové plazma.....	15
1.3.4 Uhlovodíkové plazma	15
1.3.5 Organosilikátové plazma.....	16
1.4 PLAZMATICKÉ TECHNIKY	16
1.4.1 Leptání a naprašování plazmy.....	16
1.4.2 Plazmová implantace	16
1.4.3 Plazmová depozice.....	17
1.4.4 Plazmová polymerace	18
2 SAMOORGANIZOVANÉ MONOMOLEKULÁRNÍ VRSTVY: „SELF-ASSAMBLER MONOLAYERS“ (SAM)	20
3 POLYELEKTROLITICKÉ HYDROGELY	22
4 IONTOVÉ NAPRAŠOVÁNÍ	24
5 IONTOVÁ IMPLANTACE	25
6 OZAŘOVÁNÍ UV	26
6.1 SILANIZACE.....	26
7 ÚPRAVA POMOCÍ PULZNÍHO UV-LASERU	28
8 APLIKACE BIOMATERIÁLŮ V MEDICÍNĚ	29
8.1 NÁHRADA KŮŽE	29
8.1.1 Epiteliální náhrady	30
8.1.2 Dermální náhrady.....	30
8.2 REGENERACE CHRUPAVKY	31
8.3 REGENERACE KOSTI	32
8.4 CÉVNÍ ŠTĚPY	34
8.5 REGENERACE JATER	36
ZÁVĚR	37
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	39
SEZNAM OBRÁZKŮ	41
SEZNAM TABULEK	42

ÚVOD

Biomateriály byly zkoumány mnoho let ale o jejich přesné definici se stále vedou spory. Jedna z nich říká, že bio- je každý člověkem nebo přírodou vyrobený materiál, který splňuje celou nebo jen část funkce živé struktury; může se také jednat o biomedicínský přístroj, který vykonává, rozšiřuje, nebo nahrazuje nějakou přirozenou funkci.

Existuje mnoho typů biomateriálů, vyrábí se z kovů, jejich slitin, polymerů, keramiky, kompozitů, a skla. Ty se pak používají jako náhrada srdečních chlopní, jako umělé klouby, zubní implátáty apod. Navzdory velkému a povzbudivému pokroku ve vývoji biomateriálů, je stále v tomto odvětví co zdokonalovat. Například u umělého kyčelního kloubu se očekává, že vydrží velká napětí, umělé srdce zase musí zvládnout milion smrštění bez jediné chyby, předepsaná permeabilita je vyžadována u homodialyzéru. Rozměrové rysy materiálu řídí tyto vlastnosti jen zčásti. Odpověď organismu na vložený cizí materiál záleží hlavně na chemickém složení a struktuře povrchu. Dá se tedy říct, že povrchová charakteristika hraje podstatnou roli ve funkčnosti biomateriálů. Odůvodnění pro úpravu povrchů biomateriálů je zřejmé. Klíčových fyzikálních vlastností může být dosaženo jen pokud je nejsvrchnější vrstva povrchu upravena, tak aby došlo k vytvoření biologických vazeb. Proto pokud je povrchová úprava provedena důkladně, mechanické vlastnosti a funkčnost materiálu zůstávají nezměněny, ale vztah ke tkáni (biokompatibilita) se zlepšuje. Třeba při navrhování lékařských pomůcek je nutné brát v úvahu možnou korozi a degradaci, vzhledem k velké rozmanitosti tělních tekutin [1].

Biologické hodnocení je důležité při testování materiálů zvláště pak určených k použití v lidském organismu. Hlavním faktorem zprostředkujícím jejich biokompatibilitu může být adheze buněk na povrch. Zkoušení biokompatibility specifického materiálu (*in vivo*, *in vitro*) vyjadřuje jeho odmítnutí, jestliže se ukážou jeho účinky na buňky toxické. Fyzikálně-chemické vlastnosti implantovaných povrchů jsou všeobecně považovány za řídicí faktory biokompatibility biomateriálů. Nicméně, znalosti o tom, které povrchové vlastnosti jsou důležité a jak jsou ty vlastnosti měněny biologickým prostředím, stále chybí. Z fyzikálních parametrů se zdají být nejvýznamnější: topografie povrchu, tvrdost, povrchová energie a náboj. Samozřejmě na některých biologických vlastnostech (např. zvýšení vzniku kostní hmoty kolem implantátu, když jsou již vlákna síťoviny přichyceny k povrchu) má spíše zásluhu chemické složení, ale určující roli zde má také topografie. Buňky využívají morfologii povrchu substrátu k migraci a orientaci. Z velkého počtu studií

je zřejmé, že povrchová charakteristika biomateriálu bude určena tím, jakou biologickou molekulu je schopná adsorbovat.

Je známo, že povrchové úpravy biomateriálů mohou podporovat žádoucí reakce (zvýšení buněčné adheze) nebo předejít reakcím nechtěným. Povrchové úpravy vyvolané např. iontovým bombardováním mohou mít za následek: ovlivnění kinetiky připoutání buněk nebo měkkých tkání, pevné spojení okolní tkáně nebo krevní sraženiny k biomateriálu, změny v léčebném procesu, zánětlivost tkáně a nebo reakci tkáně okolo iontově modifikovaného biomateriálu na cizí těleso. Mezi reakcemi krve na upravený a neupravený povrch kardiovaskulárního implantátu byl znatelný rozdíl. Implantát byl složený z polyuretanu na který byly vštípeny buňky vnitřní stěny *Canine femoral a Carotid arteries*. Ačkoliv konečná tloušťka vrstvy krevní sraženiny po 4 dnech byla u upraveného i neupraveného vzorku stejná, počáteční růst sraženiny po 1 dnu byl urychlen na neupravených vzorcích. Podobné výsledky byly získány pro PTFE. Implantáty byly umístěny potkanům do pertioneální dutiny na různá časová období (od 30min po 14dní). Obecně, hladký povrch na sebe naváže méně buněk než upravený iontovým paprskem- iontové rozprašování zlepšuje adhezi buněk. Schopnost zvětšit přichystávání buněk k povrchu biokompatibilních materiálů je, zvláště v prvních fázích implantace velmi důležitý rys iontového rozprašování. Nahrazování orgánů v medicíně stále nabývá na významu. Jedním z přístupů, kterými se vývoj cévních implantátů ubírá spočívá v „uchycení“ endoteliálních buněk na transplantát. Je známo, že adheze, růst a bujení endoteliálních buněk závisí na jejich přilnutí k povrchu. Předpokládalo se, že adheze endoteliálních buněk, které mají ne-tromobogenetickou povahu, může být ovlivněna přítomností nukleačních míst na substrátu.

Stranou od lékařské oblasti ovlivňuje iontové rozprašování topografii a tvrdost, což hraje roli v různých odvětvích vědy a technologií: v povrchové analýze, mikroelektronice při tvorbě integrovaných obvodů [2].

Ideální biomateriál musí tedy splňovat dvě základní vlastnosti: za požadované mechanické odolnosti i dobrou biokompatibilitu. Tyto podmínky mnoho materiálů splnit nemůže, a proto se užívá biologických nebo fyzikálně chemických metod k povrchové úpravě materiálu splňující alespoň vlastnosti mechanické. Povrchové úpravy se rozdělují na dvě skupiny:

-chemická nebo fyzikální záměna atomů, molekul nebo molekul na povrchu (leptání plazmou a chemická záměna).

- pokrytí povrchu tenkou vrstvičkou materiálu majícího jiné složení (nanášení plazmatem, implantace).

Z jiného pohledu můžeme rozdělit úpravy na tři skupiny:

-nanášení materiálu

-odstraňování materiálu

-povrchová substituce [1].

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ÚPRAVA POMOCÍ PLAZMATU

1.1 Co je to plazma?

Plazma je soubor nabitých a neutrálních částic v různých kvantových stavech (elektrony, ionty, excitované stavy, neutrální atomy, molekuly), o kterém platí, že jeho prostorový náboj je přibližně roven nule (tzv. kvazineutralita). Plazma bývá někdy nazýváno čtvrtým skupenstvím hmoty. Jeho chování se navenek nejvíc podobá plynu, od něhož se ale liší hlavně přítomností volných nosičů náboje. Je schopné jako celek svými projevy generovat globální elektrická magnetická pole a na takováto globální pole reagovat. Plazma není v přírodě žádný ojedinělý jev, odhaduje se, že až 99% celkové vesmírné hmoty se nachází právě v tomto skupenství. Jedná se hlavně o hvězdy, ale i různé mlhoviny a galaxie. Na zemi se pak s plazmatem setkáme méně často, jelikož má jeho životnost velké energetické nároky (vysoká teplota, tlak, záření apod.), nevydrží v přirozeném prostředí dlouhou dobu, jsou to např. blesky a jiné výboje.

1.2 Jak vzniká plazma

K vytvoření plazmatu je tedy potřeba, aby se z atomů nebo molekul v plynné fázi uvolnily elektrony a nebo došlo k ionizaci. K ionizaci dojde, když atom nebo molekula získá dostatečné množství energie – může ji přijmout z vnějšího zdroje, ale také díky vzájemným srážkám se sousedními částicemi. Ke generaci a udržení plazmatu je potřebný zdroj energie způsobující ionizaci. Pokud se vybere jako zdroj stejnosměrný proud, musí se použít elektricky vodivé elektrody, v opačném případě by se izolant nabíjel a rušil by výboj. Střídavý proud může tento problém zmírnit, protože kladné náboje akumulované během jedné poloviny cyklu jsou bombardovány elektrony z následujícího cyklu. Avšak konvenčně používaná frekvence střídavého proudu 50 Hz není moc efektivní, protože doba potřebná k nabití izolantu je mnohem menší než polovina cyklu. 50-100kHz je frekvence postačující k poskytnutí trvajících výboje. Za vyšších frekvencí již elektron není schopen sledovat elektrické pole, reaguje ale na časově průměrná pole. Nad 500kHz (radiové frekvence) se poloviční doba cyklu zkrátí na tolik, že elektron již zůstává uvnitř mezielektrodového prostoru, což zabraňuje ztrátám náboje ze systému. Proto je při této frekvenci potřebné k udržení výboje menší napětí. Tento mechanismus nevyžaduje, aby byly elektrody s plazmatem v kontaktu [3]

Obecně se plazma v plynu zapálí při připojení elektrod na el.napětí, přičemž energie průlomu závisí na tlaku plynu a šířce výbojové mezery. Nejlépe (za nejmenší průlomové energie) vzniká plazmatický výboj za nízkých tlaků. Při nízkých připojených prouděch vznikají v plynu jevy jako obloukové a korónové výboje, při zapojení větších proudů (100A) se stává plyn velmi vodivým, takové plasma se ale nemusí nažhřívát jenom přímo pomocí proudu, používají se i jiné způsoby, např. za pomoci radiové frekvence. Za atmosférického tlaku vznikne v plynu obloukový výboj. Mezi katodou a anodou má plyn vysokou teplotu a dosahuje velkých tokových rychlostí, čehož se využívá např. při plazmové depozici a implantaci.

Plazma je velmi chemicky reaktivní prostředí, ve kterém dochází k neobvyklým reakcím. Velká hustota ionizovaných a excitovaných částic může změnit vlastnosti i jinak inertního materiálu jako je např. keramika. Především, plazma modifikuje hodnotu povrchové energie materiálu, což má následný dopad na adhezni sílu, vlastnosti povrchových nátěrů a biokompatibilitu. Požití plazmatu při úpravách biomateriálů skýtá tyto výhody:

- Je spolehlivé, dá se aplikovat na různý tvar vzorku, stejně tak jako na jakýkoli druh materiálu: kovy, polymery, keramiky a kompozity.
- Ošetření povrchu plazmatem může mít ve výsledku vliv na rozdílné povrchové charakteristiky: chemické, tribologii (tření), elektrické, optické, biologické a mechanické.
- Sterilizuje povrchy, využívají se v elektrotechnice, kde se uplatňuje při značení šablon.
- Šetrný k životnímu prostředí.
- Významná výhoda úpravy povrchů plazmou se skrývá v tom, že vlastnosti a biokompatibilitu povrchu lze selektivně zvětšovat, zatímco rozměry materiálu zůstávají nezměněny. Typickým příkladem je například hloubka modifikace, která dosahuje jen několika angströmů.
- Excitované částice v plazmatu mohou modifikovat jakýkoliv typ polymeru, bez ohledu na jeho strukturu a chemickou reaktivitu
- Výběrem používaného plynu je možné zvolit typ chemické úpravy pro povrch polymeru

- Použitím plynného plazmatu můžeme předejít problémům, se kterými se setkáváme ve vlhkých chemických technikách, jako zbytek rozpouštědla nebo bobtnání substrátu.
- Modifikace je poměrně rovnoměrná po celém povrchu

Naopak nevýhodou této metody může být:

- Náročnost na technologické vybavení, na rozdíl třeba od chemických úprav a tím pádem se zvýší i celkové náklady.
- Úprava musí probíhat většinou ve vakuu, což zvyšuje celkový počet operací.
- Parametry jsou pro každý systém specifické, optimální podmínky postačující jednomu systému na další většinou nestačí.
- Uvedení laboratorní produkce do velké průmyslové výroby není jednoduché
- Plazmatický proces je velmi komplexní. Je obtížné dobře porozumět všem interakcím mezi plazmatem a povrchem.
- Je velmi těžké přesně kontrolovat množství funkčních skupin [3].

Tato technika si získává popularitu hlavně v oblasti medicíny. Je totiž možné upravovat velké množství povrchových vlastností: smáčivost, adhezi na kov, barvitelnost, index lomu, tvrdost, chemickou odolnost, tření a již zmiňovanou biokompatibilitu. V lékařství posledně jmenovaná vlastnost hraje nejdůležitější roli. Rozhoduje o tom zda určitá protéza, či jiný voperovaný přístroj budou, nebo nebudou, pro tělo toxické a vyvolají nežádoucí reakce, také však zda budou fungovat správně podle určené funkce a rozumnou dobu. Aplikace úprav plazmou je různorodá, jedná se o čištění a sterilizaci povrchů chirurgických nástrojů, nanášení speciálních nátěrů a povlaků a nebo úpravu chemického složení povrchu vzorku pomocí plazmové implantace. Ortopedické protézy se vyrábí tvrdší a s větší odolností proti obnošení, díky implantaci iontů do povrchu kloubu. V ortopedii i stomatologii je nutné, aby se povrchy titanových implantátů dobře vázaly s kostí, docílí se toho povrchovou implantací Ca^+ iontů. Při přípravě umělých krevních cév je zase řešen problém trombogenicity krve iontovou implantací. V tabulce (tab.I) jsou přehledně vyjmenovány běžné oblasti výzkumu biomateriálů upravovaných plazmatem [1].

Tab. I. Oblasti biomateriálů, v nichž se uplatňují plazmatické úpravy

Povrchy kompatibilní s krví	Cévní štěpy, katétry, stenty, srdeční záklopký, membrány (např. pro hemodialýzu), filtry (např. na třídění krevních buněk), immobilizované molekuly
Neznečišťující se povrchy	Nitrooční prvky, kontaktní čočky, hojení ran, katétry, biosenzory.
Tkáňové inženýrství a kultivace buněk	Růst buněk, produkce protilátek, cévní štěpy
Sterilizace chirurgických nástrojů a zařízení	Řezací nástroje chirurgů, pinzety
Biosenzory	Imobilizované molekuly
Ochranné nánosy	Uvolňování léčivých látek, membrány k výměna plynů, ochrana zařízení, ochrana před korozí, snížení výluhu (např. aditiv, katalyzátorů, změkčovadel, apod.)

1.3 Reakce mezi plazmatem a polymerním povrchem

Obecně se dají tyto reakce rozdělit následovně:

- Povrchové reakce: reakce mezi prvky plynu a povrchu, reakce mezi povrchovými funkčními skupinami na povrchu a sítování. Příklady: úpravy argonem, amoniakem, oxidem uhličitým, vodou, apod.
- Plazmová polymerace: vytvoření tenké vrstvy na povrchu polymeru díky polymeraci organického monomeru, jako CH_4 , C_2H_6 , C_2F_4 a C_3F_6 , přítomných v plazmatu.
- Čištění a leptání: odstraňování materiálu z povrchu polymeru chemickými reakcemi nebo fyzikálním působením. Kyslík obsahující plazma se používá na odstranění organických nečistot. Leptání se liší od čištění pouze v množství odstraněného materiálu, často se k tomu používá kyslíkaté a fluoridové plazma.

1.3.1 Inertní plazmový plyn

Helium, argon a neon, patří mezi inertní plyny používané v technologii plazmatu. Energie, kterou mají částice inertního plynu v plazmatu předávají povrchu hlavně prostřednictvím srážek, které způsobují fyzikální změny, modifikace. Proto je hlavní použití tohoto typu plazmatu v technologii rozprašování. Slouží také jako před-úprava a očištění substrátů ještě než jsou použity reaktivní plyny. Nebo působí jako ředidlo, tam kde je zapotřebí velký tlak plynu a zároveň nižší reaktivita. Inertní plazmový plyn, nebo i nízkohustotní plazma se dále dají využít k vylepšení adhezivních charakteristik povrchů, a nebo různým reakcím, kdy částice plynu odštěpí vodík a vznikne volný radikál nebo nenasycená vazba; dochází k síťování nebo rozštěpení řetězce.

1.3.2 Kyslíkaté plazma

Metody využívající kyslík obsahující plazma jsou nejběžnější v oblasti modifikace polymerních povrchů. Je známo, že kyslík v plazmatu reaguje s celou řadou polymerů za vzniku kyslíkatých funkčních skupin C-O, C=O, O-C=O a podobně. Zároveň za vzniku kyslíkatých skupin, dochází při aplikaci této metody podobně jako u inertních plynů k fyzikálnímu narušování povrchu. Rovnováha těchto dvou procesů závisí na provozních nastaveních daného experimentu. Vedle kyslíku se používají hojně i jeho sloučeniny, jako CO, SO₂, CO₂ nebo H₂O, která začleňují do povrchu hydroxylové skupiny.

1.3.3 Dusíkaté a fluoridové plazma

Tyto metody se používají k vylepšení smáčivosti, tiskuschopnosti, schopnosti tvořit vazby a biokompatibilitu polymerních povrchů. Používají se hlavně plyny N₂ a NH₃. Radikály CF_x hrají významnou roli při polymeraci, jako urychlovače, a také jako leptadlo silikonových oxidů. Fluorové atomy zabudované do struktury povrchu, způsobují jeho hydrofobitu. Používají se třeba F₂, hydrogen fluorid, NF₃, tetrafluor sulfid, apod.

1.3.4 Uhlovodíkové plazma

Uhlovodíky jako metan, etan, etylén, acetylén a benzen jsou často používány při generaci plazmou polymerovaných hydrogenovaných uhlíkatých filmů. Mimořádné fyzikální vlastnosti, jako mikro-tvrдость, optický úhel odrazu a nepropustnost předurčuje tyto vrstvy k mnoha aplikacím, kde je za potřebí pokrýt povrch antireflexní a protioděrovou vrstvou.

Metan, nejjednodušší organický plyn, nemůže být obvyklými metodami polymerovaný. Používá se k tomu technika polymerace v plazmatu. Tenká vrstvička tohoto polymeru se například nanáší na materiál kontaktních čoček. Silikonový kaučuk je dobrý materiál na výrobu kontaktních čoček, díky své propustnosti pro kyslík, měkkosti, velké mechanické pevnosti a odolnosti, má však jednu větší nevýhodu, a to je jeho lepkavost a hydrofobita. Právě napolymerováním tenké vrstvičky polymeru metanu tyto nevýhody zredukujeme.

1.3.5 Organosilikátové plazma

Využívá se hlavně při polymeraci v plazmatu. Takto získaný polymer projevuje vynikající odolnost tepelnou i chemickou a výjimečné elektrické, optické a biochemické vlastnosti. Proto nachází uplatnění v mnoha odvětvích moderní technologie, třeba jako obal na dielektriku, opouzdření v mikroelektronice, antireflexní povlak v optice, tenkovrstevné povlaky vedoucí světlo v integrované optice a nebo slouží jako biokompatibilní materiál v lékařství. Pestré organosilikátové jádra (prekurzory) tvoří silany(Si), disilany (SiSi), disiloxany (SiOSi), disilanazaty (SiNHSi) a disilthiany (SiSSi) [3].

1.4 Plazmatické techniky

1.4.1 Leptání a naprašování plazmy

Využívá se hlavně při čištění povrchů. Při této technice jsou materiály odstraňovány z povrchu pomocí chemických reakcí, nebo fyzickým rozprášením. K čištění se používají inertní plyny jako argon a neon. Na vzorek se připojí vysoké napětí a vygeneruje se plazma. Ionty jsou urychlovány pomocí elektrického pole na vzorek, dokud je energie iontů malá, ionty nepronikají hluboko do vzorku a pozvolna z jeho povrchu odprašují atomy nečistot.

1.4.2 Plazmová implantace

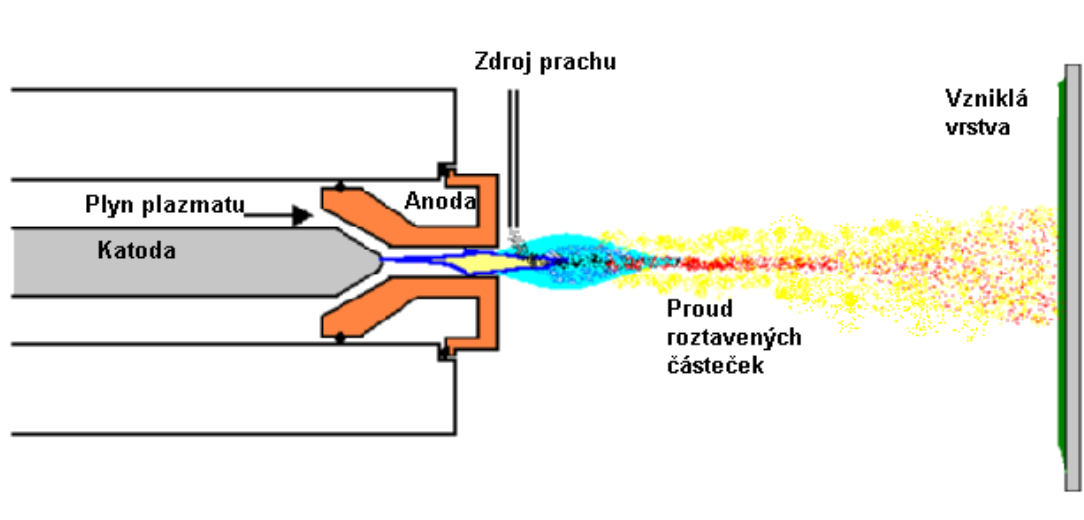
Umožňuje zavádět částice do povrchu materiálu bez termodynamického omezení. Způsob implantace je následující. Vzorek je obklopen plazmatem o vysoké hustotě, které je nastaveno tak, že má vzhledem ke stěnám reakční komory velký záporný potenciál. Ionty vznikající v plazmatu se urychlují a vpravují se do povrchu vzorku. Upravovaným vzorkem může být kov, na kterém vzniká podle typu plazmatu tenká vrstvička tvořená

ionty plazmatu, nebo polymer. Na jeho povrchu může vznikají nová funkční místa, což pak vede např. k zesíťování. Větší roli než ionty zde pak hrají volné radikály. Taková typická reakce při implantaci na polymer probíhá tak, že vodík nacházející se uprostřed polymerního řetězce je od něj oddělený a vytváří se radikál. Radikál vzniklý na polymeru pak rekombinuje s radikály vzniklými v plazmatu, vznikají pak nové funkční skupiny - kyslíkaté, dusíkaté, atd., podle typu použitého plazmatu. Tímto zásahem se mění mnoho povrchových vlastností. Hlavně nachází využití při úpravě biokompatibility a změně hydrofobity na hydrofilitu.

Jako příklad této techniky se dá uvést úprava povrchu PET, pomocí amonného plazmatu. Takto upravený PET je používán jako náhrada nefunkčních lidských cév. Jelikož je nutno připravit cévy malých poloměrů (menší jak 6mm), vzrůstá nebezpečí srážení krve. Ideálním opatřením proti tomuto nebezpečí je vytvořit na umělé cévce vrstvu živých endotelních buněk, přirozeně zabraňujících trombóze. Jenže povrch PET není jako substrát pro růst těchto buněk příznivý - je hydrofobní, proto se jeho hydrofobita mění plazmovou implantací amoniaku na hydrofilitu.

1.4.3 Plazmová depozice

Jedná se o podobnou techniku jako je iontová implantace, na rozdíl od ní se však na povrch upravovaného vzorku nanáší vrstva vlastností naprosto odlišných od neupraveného vzorku. Běžné metody řadící se do této skupiny jsou: polymerace a kopolymerace v plazmatu (vznikají polymery lišící se od těch vzniklých „běžnou cestou“, díky velkému počtu radikálů a iontů), laserová ablace a rozprašování plazmy (tzv. „plazma spraying“). Posledně jmenovaná metoda zaznamenala za posledních 30 let velký rozvoj. Při atmosférickém rozprašování se do proudu plazmy (z netečného plynu, např. argonu) před vzorek předřadí materiál, který chceme rozprášit na povrch vzorku. Díky vysoké teplotě a velké rychlosti toku plazmy se předřazený materiál roztaví nebo rozpráší na malé částice, které bombardují povrch vzorku a vytváří povlak s lamelární strukturou. Vysoká teplota uvnitř jádra plazmového plamene umožňuje vytvářet vrstvy z materiálů, které mají vysokou teplotu tání, jako jsou keramika a ohnivzdorné látky. Nanáší se také látky zabraňující korozi, ablaci a také biokompatibilní filmy. Nevýhodou této metody je slabá adheze mezi vzorkem a nanášeným materiálem, ale různými postupy lze tento problém odstranit.



Obr. 1. Schéma techniky „plasma spraying“ [4]

1.4.4 Plazmová polymerace

Je to jedinečná technika modifikace povrchů polymerů a jiných materiálů nanášením tenké vrstvičky polymeru. Skrývá v sobě mnoho výhod:

- Lehce se vytvoří se vrstva tenká od několika angströmů až do jednoho mikrometru.
- Vrstvička se dá připravit se speciálními fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Taková vrstva, zesíťovaná a bez děr může sloužit jako efektivní bariéra.
- Vrstva se může vytvořit prakticky na jakékoli podložce, včetně polymerů, skla, kovů a keramiky. Obecně, lehce se dosáhne dobré adheze mezi nanášenou vrstvou a substrátem.

Plazmová polymerace je velmi komplexní proces, který ještě nebyl správně pochopen. Struktura polymerové vrstvičky závisí na mnoha faktorech, jako tvar reaktoru, hladina výkonu, frekvence, teplota substrátu, struktura monomeru, jeho tlak, průtok, atd. Polymerace se dá rozdělit do dvou základních skupin. V prvním případě jde polymeraci plazmou iniciovanou. Při ní ale musí monomer obsahovat polymerovatelné jednotky (dvojně, trojně vazby apod.). Druhou skupinu pak tvoří polymerace probíhající přímo ve

stavu plazmatu. Používá se hlavně k polymeraci organických sloučenin, které nemají polymerovatelné jednotky [3].

2 SAMOORGANIZOVANÉ MONOMOLEKULÁRNÍ VRSTVY: „SELF-ASSAMBLER MONOLAYERS“ (SAM)

Jsou to povrchy, které jsou tvořeny jednou jedinou vrstvou molekul nanesenou na podložce (substrátu). Oproti jiným metodám povrchových úprav mají velkou výhodu v tom, že se substrát vystaví účinku roztoku molekul, které chceme na povrch nanášet. Po určité době se vytvoří vrstva o tloušťce jedné molekuly, nadbytek molekul se jednoduše vymyje.

Klasickým příkladem je vrstva s funkčními skupinami alkanthiolů na zlatě.

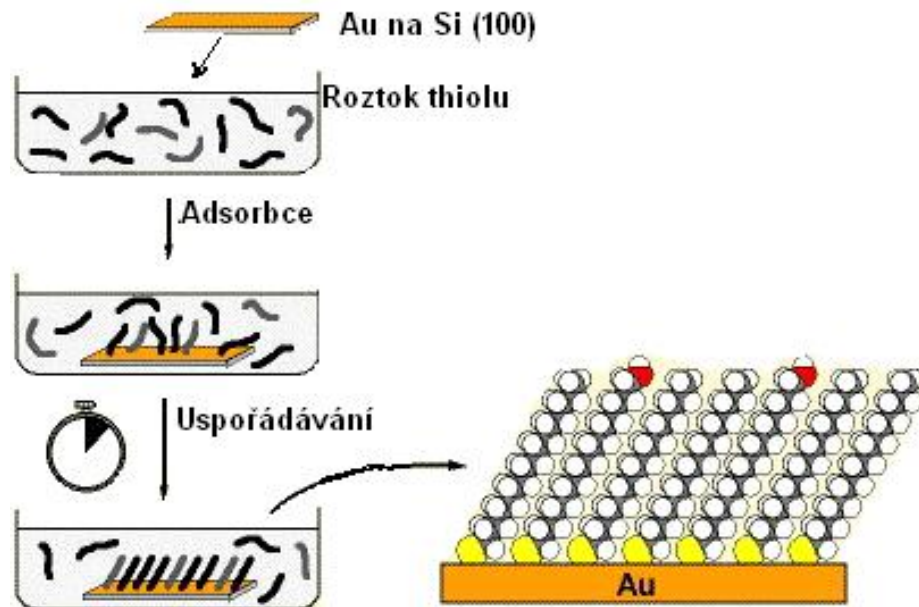
Zlatý substrát je složený pouze z kovového zlata, ale častěji jsou zlaté výpary z kondenzovány na skleněné nebo silikonové podložce. Připraví se roztok thiolů, které mají obecný vzorec:



Jako rozpouštědlo se nejčastěji používá ethanol. Roztok musí mít nízkou koncentraci (1-2 mmol/l), protože při vysokých koncentracích by si řetězce molekul při adsorpci překážely. Délka řetězce se pohybuje mezi 10-20 metylenovými skupinami. Substrát, s důkladně očištěným povrchem (acetonem, kys. sírovou..), se ponoří do thiolového roztoku (viz nákres na obr.2). Začne probíhat adsorpce thiolových konců řetězce na zlato. Na jeden atom síry se vážou tři atomy zlata. Tato fáze trvá několik vteřin. Následuje uspořádací fáze, která trvá i několik dní (minimálně 15 hodin). Je nutná proto, aby se předešlo tvorbě defektů - volných míst na povrchu zlata. Nedochozí k tvorbě více vrstev, proto si tak dlouhou dobu můžeme dovolit. Poté se substrát se vzniklou vrstvičkou oplachuje a suší. Vazba mezi zlatem a thiolem je silná (44 kJ/mol). Na opačném konci řetězce (ve vzorci označeném X) je umístěna skupina, která má pak určovat požadované povrchové vlastnosti. Většinou to bývají tyto skupiny:



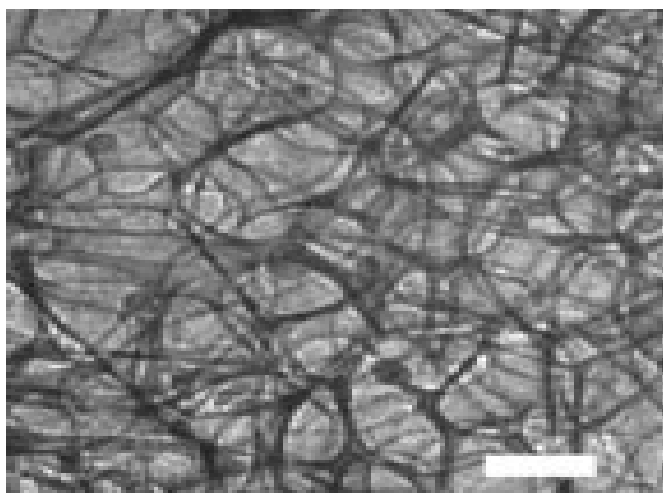
Takto vytvořená vrstva má opět široké pole využití. Používá se v dalším výzkumu, třeba absorpcí látek, hlavně však nachází použití jako biomateriál v lékařských implantátech [5, 6].



Obr. 2. Příprava samoorganizované vrstvy [7]

3 POLYELEKTROLITICKÉ HYDROGELY

Polyelektrolyty jsou polymery, jejichž měry nesou elektrolytickou skupinu, chovají se podobně jako soli ve vodě (např. NaCl), disociují. Je to například kyselina akrylová a poly(natrium styren sulfonát) (viz tabulka II.). Polyelektrolyty mohou být aniontové, kationtové nebo amfoterní, vyskytují se přirozeně (hlavně v mezibuněčném prostředí – proteiny, polynukleotidy, komplexy uhlovodíků) nebo se dají uměle syntetizovat. Mnoho lékařských aplikací, kde jsou polyelektrolyty použity vychází z jejich sklonu spojovat se z opačně nabitým povrchem, nebo tvořit komplexy s opačně nabitým polymerem. Polymerní nabitě části řetězce mohou reagovat mezi sebou, s volnými náboji, které jsou v roztoku přítomny a nebo s přírodními polymery, jako jsou: kolagen, trypsin a insulin. Pokusy se zjistilo, že polymery kationtové vykazují k živým buňkám velmi dobré chování, nejsou pro ně toxické a navíc je na sebe dobře vážou. Nachází tedy využití při léčbě organismu k transportu aktivní léčivé složky na určené místo, nebo v tkáňovém inženýrství. Aniontové polyelektrolyty se použijí tam, kde je adheze buněk škodlivá [8].



Obr. 3. Nanostroktura polymerní sítě hydrogelu. Čtvereček vpravo dole představuje 0.2 mikrometrů [9].

Další využití mohou hydrogely nalézt jako materiál pro náhradu kůže. Poskytují vlhkou pokrývku na rány, která napomáhá v procesu hojení, a také chrání před případnou infekcí. Nevýhodou mnoha hydrogelů jsou však jejich nedostatky v mechanických vlastnostech, což je u materiálů nahrazujících kůži jeden z hlavních požadavků. Hydrogel musí být

schopen odolat každodennímu napětí a námahám, dokud se neobnoví nová tkáň. Dramatického zvýšení požadovaných mechanických vlastností poly(2-hydroxyethylmetakrylátu) lze dosáhnout vyztužením tohoto gelu pomocí různých jemných textilních vláken[2]

Tab. II. Důležité hydrogely v medicíně[10]

<i>Hydrogel polymeru</i>	<i>Použití v medicíně</i>
Polyvinylalkohol (PVA), polyakrylamid (PAAm), Poly(N-vinylpyrolidon) (PNVP), Poly (hydroxymetyl metakrylát) (PHEMA), Polyetylenoxid (PEO)	Hydrogely snášející se s krví
PHEMA kopolimerovaný s: NVP, kys. Metakrylová, methyl metakrylát (MMA), butyl metakrylát (BMA)	Kontaktní čočky
PHEMA kopolimerovaný s PTFE	Umělé šlachy
Acetát celulózy	Umělé ledviny
PVA a PHEMA	Umělá kůže
PVA	Obnova hlasivek
PVA, HEMA, MMA	Umělá chrupavka

4 IONTOVÉ NAPRAŠOVÁNÍ

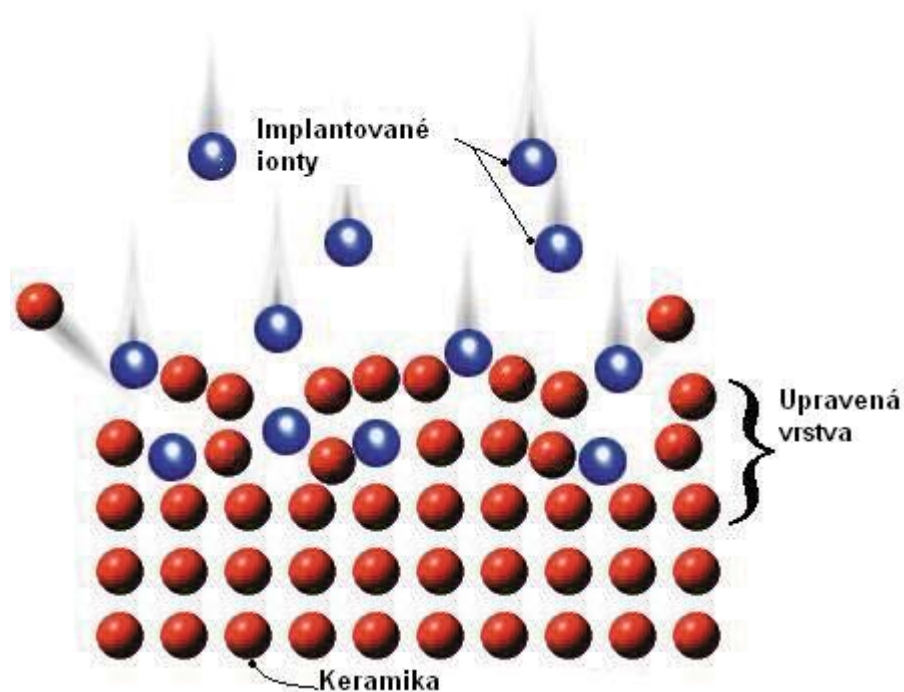
Změny geometrických rysů (povrchová morfologie) mají jak z teoretického, tak z praktického pohledu specifický význam. Povrchová morfologie je určena hlavně povrchovou topografií a drsností povrchu, zvrásnění profilu, chybami ve tvaru, defekty, které jsou méně známé, a ne tak často měřeny musí být vzaty v potaz. Drsnost povrchu, velmi významný morfologický aspekt, částečně v kontextu s leštěním povrchů a zdršňováním, stejně jako makro- a mikroobrábění, mohou být měřeny profilometrií nebo elektronovou mikroskopií pro prvky větší délky jak 1 μ m, a nebo tunelovou mikroskopií, příp. mikroskopií atomárních sil pro mikroskopické až submikroskopické částice (nabízejí jedinečnou příležitost ke kvantitativnímu měření výšek profilů povrchu).

Iontové naprašování je užitečná metoda modifikace morfologie povrchu, která může být použita k vytvoření velmi hladkých povrchů, extrémně drsných nebo k vyleptání komplikovaných vzorů. Tyto znaky mají využití v mnoha odvětvích vědy, techniky a medicíny. Například zhotovení různých nástrojů pro chirurgické implantáty musí splňovat velké množství podmínek. Mechanické, chemické a morfologické charakteristiky těchto materiálů jsou rozhodující vzhledem k výsledné reakci tkáně a životnosti implantátu. Iontové naprašování může tyto rysy měnit (hlavně pak povrchovou morfologii) tak, že vylepší odezvu tkáně. Jedním z nejdůležitějších znaků tohoto procesu je schopnost zvýšit buněčnou přilnavost k iontově upravenému povrchu biokompatibilního materiálu, což může být využito tam, kde je potřeba buňky k povrchu dobře přichytit. Navíc iontové naprašování může samo o sobě sestavit nové lékařské aplikace, např. příprava mikroskopických jehel určených pro dodávku léků [1].

Nedávno, vědci z Georgia Institute of Technology z USA představili velmi zajímavou aplikaci iontového leptání. Použili reaktivní iontové leptání k tomu, aby vytvořily řadu jehliček jen několik mikrometrů velkých určených k aplikaci léků přes kůži. Protože první překážka pro transport léku se nachází v horních 10-15 μ m pokožky a nervy jsou pouze hlouběji v tkáni, použili řadu jehliček dostatečně dlouhých, aby překonaly permeabilitu kůže, ale ne až tak dlouhých, aby stimulovaly nervy a pacient cítil bolest. Tyto jehličky mohou být snadno vloženy do kůže bez porušení, sníží tak její permeabilitu *in vitro* [2].

5 IONTOVÁ IMPLANTACE

Mezi velkým množstvím metod úprav povrchů poskytuje iontová implantace jedinečné výhody, čímž je vhodná zvláště k aplikacím v medicíně. Do jakéhokoli pevného materiálu můžeme přidat jakoukoli látku, teplota tohoto procesu je nízká (blízká pokojové), vytváří se přijatelné modifikace polymerů a předchází se nechtěným změnám v rozměrových znacích nebo změnách na konečném povrchu. Úprava může být selektivně aplikovaná pouze na definovanou oblast tělesa. Hlavní nevýhodou techniky je malá penetrační hloubka a poměrně vysoká cena. Ovšem v případě lékařských aplikací není tato nevýhoda tak závažná, protože implantáty jsou většinou drahé a zaměřeny na nízkou míru opotřebení. V případě problému s buněčnou adhezí nebo snášivostí je úprava nejsvrchnější vrstvy dostačující. Iontová implantace může být použita nejen jako legovací technika, ale i jako metoda přenosu energie do povrchu materiálu. To umožňuje modifikaci materiálu beze změn chemického stavu povrchu. Tato možnost je zvláště významná tam, kde je důležitá chemická inertnost materiálu. Existuje mnoho aplikací iontové implantace aplikovaných na kovy, polymery a keramiku. Nejvýhodnější se pro ni zdá být úprava buněčné adheze a třecích vlastností ve vlhkém prostředí a také v transplantologii [2].



Obr. 4. Průběh iontové implantace [11]

6 OZAŘOVÁNÍ UV

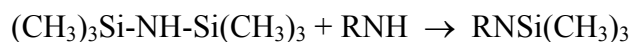
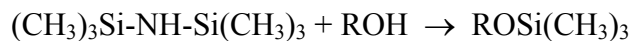
Jednou z hlavních alternativ sterilizačních metod je ozařování UV, používaných v mnoha laboratořích tkáňového inženýrství. Úprava pomocí UV světla představuje levnou, jednoduchou, ale účinnou proceduru. Nicméně, bylo zaznamenáno, že UV záření způsobuje degradaci některých polymerů, např. polyethylenu a polypropylenu. Tudiž, z toho logicky vyplývá nutnost testování polymerů a nosičů buněk na jejich choulostivost na UV záření. Měřeními se zjistilo, že na příklad u modelového typu kopolymeru - poly(etylen glykol)-monomethyl etheru, který je hydrofilní a ve vodě rozpustný, a poly(kyseliny mléčné), která je hydrofobní a biodegradabilní. Doba do 2 hodin je vhodná k sterilizaci povrchu, nad tento čas vystavení UV záření se začíná drasticky zvětšovat adheze buněk na kopolymer. Tento jev se vysvětluje fotooxidací, která nastává u mnoha syntetických polymerů různými cestami, především štěpením esterových vazeb přítomných v řetězci. UV záření hraje důležitou roli jako aktivátor těchto reakcí. Velké množství poly(etylglykol)-monomethyl etheru je z povrchu kopolymeru vyplaveno a zůstává zde větší obsah poly(kyseliny mléčné), která má lepší adhezi proteinů, což v dalším kroku zvyšuje adhezi buněk. Využití nachází tato metoda hlavně v medicíně, např. v dopravě léků, které jsou sterilizovány UV zářením, a kde je proteinová adsorpce nežádoucí [12].

Polymerní povrch vystavený UV záření prodělává fotosíťování, fotooxidaci na vzduchu, nebo fotochemické reakce v reaktivní atmosféře. Rozsah reakce závisí na reaktantech, intenzitě záření a absorpčním koeficientu, což je fotonová absorpce jako funkce penetrační hloubky. Polymethylmetakrylát má například maximální absorpci při 215nm, polyamidy zas kolem 300nm. Tyto procesy se využívají také v mikro-litografii, kde je nutno vytvrdit povrch vzorového obratu, který je pak schopen odolávat zvýšeným teplotám nebo agresivním činidlům. Takové vytvrzení, ale polymeru neposkytne odolnost proti plazmatickému leptání, je proto nutná další úprava [3].

6.1 Silanizace

Aplikace vytvrzení polymeru neposkytne odolnost proti plazmatickému leptání, je proto nutná další úprava zvaná silanizace.

Vzorek se vystaví účinkům par hexamethylsilizanu, který reaguje s různými funkčními skupinami na povrchu.



Tato úprava navazuje na fotooxidaci a tvrzení, proto se na povrchu polymeru nachází hydroxylové skupiny. Silanizovaný povrch je pak odolný proti kyslíkatým plazmatům a reaktivnímu iontovému leptání, čehož se využije v litografii-dostaneme negativní obraz [3].

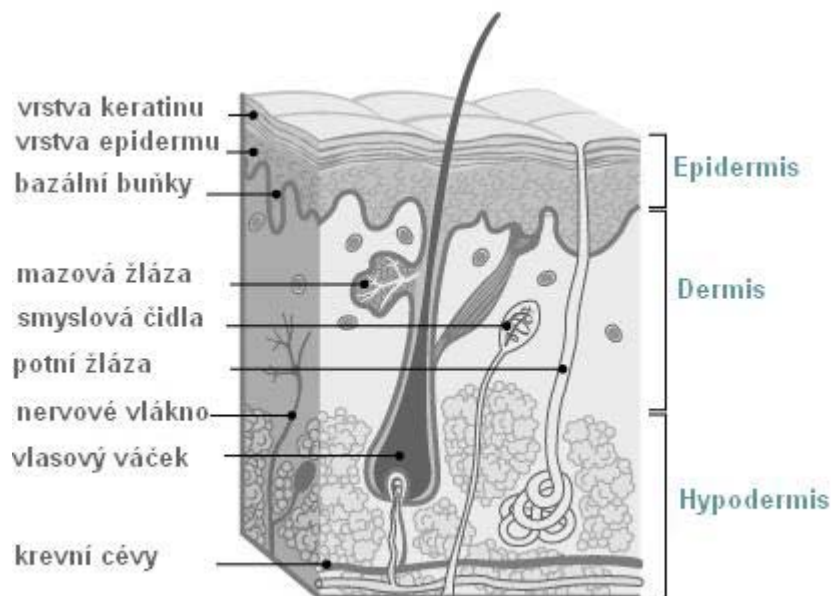
7 ÚPRAVA POMOCÍ PULZNÍHO UV-LASERU

Zdroj pulzního UV-laseru se stává komerčně stále dostupnějším. Použitím jemného paprsku laseru (např. Nd:YAG laser) k vytvoření opakujících se přímkových, nebo tečkovaných vzorů není zapotřebí žádná fotomaska nebo optická čočka, stačí jen jednoduše pohybovat rovinou určenou k pokrytí. Tyto difrakční vzory jsou užitečné ke zvětšení tvrdosti na měkkých plastických površích a k uspořádání molekul v tekutých krystalech. UV-laser je také efektivní úprava pro zlepšení hydrofobicity, smáčivosti a propustnosti plynů. Může být také použit na nanášení kovů na polymerní povrch (PTFE, ABS) [3].

8 APLIKACE BIOMATERIÁLŮ V MEDICÍNĚ

8.1 Náhrada kůže

Kůže je považována za jeden ze základních příkladů implantace, jedná se o krycí systém pokrývající celé tělo. Skládá se ze dvou hlavních vrstev (viz obr.5.). Epidermu, jenž je tvořen šupinatými, rozvrstvenými buňkami epitelu a mezibuněčnou hmotou produkující keratinocyty. Další vrstvou kůže je dermis, kterou tvoří spojovací tkáně a fibrioblasty. Pod dermem můžeme ještě rozlišovat hypodermis. Kůži ještě tvoří různé orgány určené k tepelné regulaci a vyměšování, také sem patří vlasy a chlupy apod., ale ty nás z hlediska regenerace kůže tak nezajímají. Narušená svrchní vrstva kůže (epidermis) má schopnost se sama obnovit, musí však zůstat neporušena vrstva pod ní (dermis). Ideální implantát tedy musí splňovat mechanické vlastnosti podobné kůži, být porézní, aby umožnil difúzi zplodin, živin a také buněk a zabraňovat dehydrataci. Ovšem musí také vyvolat růst epidermu a dermu, aby se zabránilo bakteriální infekci. Současný výzkum se zaměřuje na tři hlavní oblasti, všechny počítají s velkou poškozenou plochou. První typ transplantátu se skládá z epidermálních buněk bez dermální vrstvy. Buňky vytvoří povlak, který se pak přikládá na popálená místa. Druhý přístup obsahuje pouze dermální vrstvu. Jakmile je dermální vrstva zregenerována, následuje autotransplantace epidermální tkáně z jiné části těla. Poslední přístup zahrnuje celou tloušťku profilu kůže tedy epidermis a dermis.



Obr. 5. Vrstvy kůže [13]

8.1.1 Epiteliální náhrady

Jednou z náhrad epitelu, kterou představil Genzym se nazývá Epicel. Epicel se skládá z polyuretanového plátku, na kterém mohou růst keratinocyty, buňky podporující živou část epidermu. Ty pak vytváří malé kolonie nebo celý souvislý pokryv. Plátek se tedy umístí stranou pokrytou buňkami na ránu, která byla předem ošetřena dermálním transplantátem. Tímto způsobem se napomůže k formování nového epitelu. Když se rána uzavře nebo dojde úplnému uzdravení, polyuretanová pokrývka odpadne. V tomto případě je tedy polymer použit jako podpora růstu buněk a také jako obklad. V jiných případech slouží jako kostra pro obnovu tkáně. Epiteliální tkáň je jednou z mála tkání, kde je dvojrozměrná struktura rozložení buněk výhodnější než trojrozměrná. Epitel roste jako monovrstva na povrchu tenké mezibuněčné hmoty zvané „basal lamina“. Basal lamina má specifické chemické složení a morfologické uspořádání, kterému se musí porozumět a nějakým způsobem napodobit.

8.1.2 Dermální náhrady

Existuje mnoho příkladů dermálních implantátů. Jejich rozpětí je od kompletně rozložitelných vrstev po materiály nerozkladné. V jednom z příkladů je zkombinované použití rozložitelné a nerozložitelné polymerní konstrukce, dermální vrstva je tvořena z kolagenu typu I a chondroitinu-6-sulfátu pokrytým vrstvou Silastiku (polydimetylsiloxanu). Po aplikaci do lůžka rány slouží vrstva Silastiku jako ochranná hráz proti infekci a dehydrataci, zatímco kolagen a chondroitin-6-sulfát představuje podklad pro obnovu tkáně. Až regenerace skončí vrchní vrstva Silastiku odpadne. Ačkoliv vrstva Silastiku zlepšuje zacházení z implantátem a poskytuje další potřebné vlastnosti, existují stále nedostatky týkající se vypařování vody. Tento příklad protézy je tedy tvořený jak ze syntetického polymeru, který funguje jako dočasná bariéra a složka podporující mechanickou stabilitu, tak je zde přítomen i biologicky odvozený typ polymeru hrající roli podložky pro regeneraci tkáně. Celá buněčná přestavba začíná u buněk, které se přemístí do nové základní konstrukce ze zraněného místa. Ostatní příklady implantace se spoléhají na buňky, zasazené do polymerní konstrukce a začínají z regenerací tkáně ještě před tím, než se pevně implantují do těla.

Firma Organogenesis, Inc. vyvinula hovězí kolagen typu I a s lidskými keratinocyty a fibrioblasty. Pěstěné keratinocyty produkovaly epitel, zatímco fibrioblasty vytvářely

dermální část. Tento výrobek se na trhu označuje jako „Human Skin Equivalent“ (HSE). Je ze 63% úspěšný pro léčbu bércových vředů, kdežto tradiční obvazová terapie jen ze 49% [2].

8.2 Regenerace chrupavky

Posledních deset byl vývoj polymerních biomateriálů nejintenzivnější právě v oblasti oprav chrupavky. Je to způsobeno tím, že poškozená tkáň chrupavky se nedokáže sama plnohodnotně vyléčit. Lidské tělo obsahuje tři typy chrupavky: elastickou, vazivovou a hyalinní. Nejvíce pozornosti je věnováno posledně jmenovanému typu. Hyalinní chrupavka existuje jako hlavní forma chrupavky v těle, pokrývá povrch všech kloubových spojení, proto bývá často nazývána jako chrupavka kloubní. Skládá se chondrocytů, což jsou vlastní buňky chrupavky. Tvoří však jen 1% objemu této tkáně, zbytek je vyplněn mezibuněčnou hmotou. Tu tvoří dvě hlavní molekuly: kolagen a proteoglykan. Polární povaha proteoglykanu umožňuje molekulám silně vázat vodu, proto z celkové váhy chrupavky připadá 60-80% na vodu. Díky této dynamické vazbě získává tkáň mnoho mechanických a viskoelastických vlastností (např. kyčelní kloub musí odolávat napětím až 20MPa). Proto musí být mnohé náhrady chrupavky na tyto nároky připraveny. V porovnání s ostatními tkáněmi neobsahuje chrupavka žádné cévy, nervy nebo lymfatické kanálky. Chrupavčitá tkáň je tedy relativně tenká (2mm), aby docházelo k řádné výživě a odvádění zplodin.

Polymery používané k opravám chrupavky můžeme rozdělit na dvě skupiny: rozložitelné a nerozložitelné. Mezi nerozložitelné patří například polyvinylalkohol, polyhydroxyetylmakrylát a poly (N-isopropylakrylamid). Nerozložitelné polymery udržují poškozenou tkáň v odpovídajícím uskupení a musí splňovat další řadu parametrů související s dobrou llubricitou, biokompatibilitou a odolností proti oděru a opotřebením. Polyvinylalkohol (PVA) je jedním z prvních synteticky vyrobených polymerů testovaných jako umělá chrupavka. PVA je hydrogel a obsahuje podobné množství vody jako chrupavka, bohužel jako všechny hydrogely tak i PVA postrádá potřebnou mechanickou stabilitu. Jeden způsob jak tento nedostatek odstranit vedl k až k vývoji komerčně dostupného PVA hydrogelu známého jako Salubria™. Salubria™ se vyrábí vykonáváním sérií zmrazovacích a tajících cyklů s PVA a 0,9% fyziologickým roztokem. Změnou poměru vody a PVA, molekulovou hmotností PVA a kvantitě a trvání

zmrazovacích/tajících cyklů můžeme syntetizovat materiál s různými mechanickými vlastnostmi. I přes mnohá další vylepšení se PVA nehodí jako úplná kloubní náhrada, ale ukazuje se jako užitečný při náhradě menších částí chrupavky nebo jako obnova kloubního povrchu. K vytvoření náhrady většího rozsahu nebo celé tkáně se lépe hodí použít polymer na bázi polyetylenů. Z jemných (v průměru 400 μ m širokých) polyetylenových vláken se zhotoví trojrozměrné pletivo a většina povrchu se pokryje hydroxyapatitovým prachem, pro lepší regeneraci chrupavky a také lepší přilnavost ke kosti. Vlastnosti takového materiálu jsou velmi podobné přirozené chrupavce.

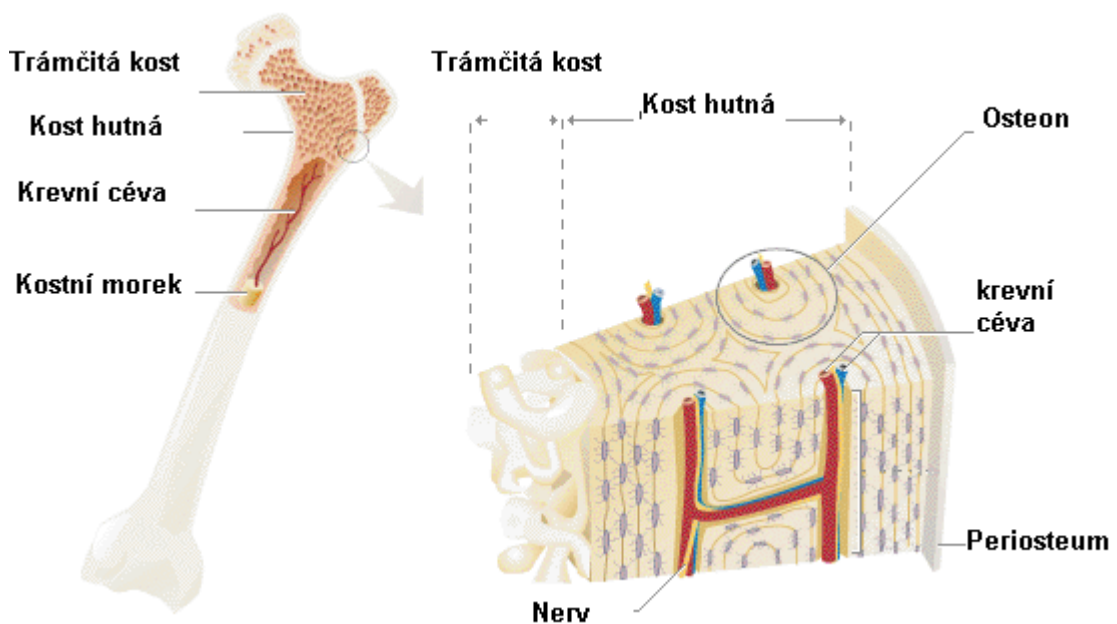
Rozložitelné polymery mohou být jak synteticky vyrobené, jako jsou polyestery- kyselina polyglykolová a polymléčná, tak přírodní reprezentované kolagenem, alginátem, kyselinou hyaluronovou a fibrinovým kličem. V dnešní době se do popředí zájmu dostávají právě rozložitelné náhrady chrupavky i jiných tkání. Jedním z důvodů je, že takový polymer vytvoří pouze dočasnou podpůrnou strukturu poškozené tkáně a jakmile se vytvoří nová tkáň vstřebá se a zůstane jenom samotná chrupavka. Rozklad probíhá například u polyesterů hydrolyticky de-esterifikací. Polymer se rozloží na jednotlivé monomery a ty se pak přirozenými cestami dostanou z těla ven; kyselina glykolová se přeměňuje na další metabolity a kyselina mléčná je odstraněna přes trikarboxylový kyselý cyklus. Přírodní materiály slouží hlavně jako prostředek k udržování fenotypu chondrocytů nebo jako napodobenina mezibuněčného prostředí. Biopolymer je převeden do gelové formy, na které pak rostou buňky chrupavky. Tyto materiály jsou celkem lehce dostupné, dají se lehce zpracovat a mají jedinečnou biokompatibilitu [2].

8.3 Regenerace kosti

Je všeobecně známo, že se tělo dokáže efektivně vypořádat s kostními frakturami. Zacelené místo je pak dokonce pevnější než původně bylo. Větší problémy, jako jsou různé vrozené vady a nemoci, jsou však pro tělo často nepřekonatelné. Tradiční metody, které se snažily řešit takové problémy spočívaly v použití bezbuněčné mrtvolné nebo autologní kosti. Přinášelo to však řadu komplikací spojených s přenosem nemocí a množstvím chirurgických zásahů. Proto se pozornost lékařské obce obrací k slibnému rozvoji v oblasti tkáňového inženýrství.

Kost je velmi hustá, specializovaná forma pojivové tkáně. Kostní hmota se skládá z kolagenu (typ I) a fosforečnanu vápenatého v krystalické formě - hydroxyapatitu (HA).

Vnější oblast kostí je tvořena hustou kortikální vrstvou – kostí hutnou, zatímco vnitřek je vyplněn kostí trámčitou. Hlavní stavební jednotkou hutné kosti je osteon. Jedná se o soustavu lamel tvořících cylindrické komůrky zabezpečující oběhový a nervový systém kosti. Tepny a žíly, do kterých tyto kanálky ústí jsou umístěny v morku kosti. Povrch kosti je, pokud se nebere v úvahu kloubní část, pokryt tenkou spojovací vrstvou, periostem, skládajícího se z kolagenních vláken a kostitvorných buněk. Trámčitou kost, jak už název sám napovídá, tvoří do mřížovité struktury uspořádané trabekulae, což jsou štěpiny kosti obklopené morkem. Uvnitř každé trabekuly jsou osteocyty, podporující kostní hmotu, osteoklasty boří oblasti z již existující struktury a osteoblasty aktivně tvoří nové úseky kosti směrem do prostoru morku. Regenerace tedy není založena jen na syntéze hydroxyapatitu a husté kolagenní síti, ale také na obnově spletité struktury, což vede k lepšímu vnímání a mechanické stabilitě.



Obr. 6. Struktura kosti [14]

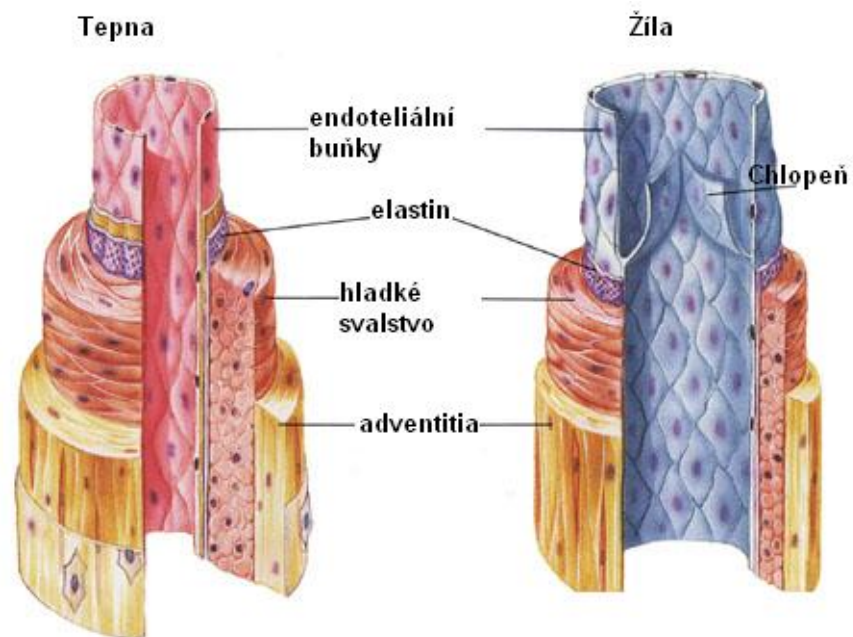
Tak jako všechny materiály implantované do těla, musí i polymery pro kostní regeneraci být biokompatibilní, tvarovatelné a nebo schopné polymerace *in situ*, aby dobře seděly na porušeném místě. Mohou to být materiály, které podporují růst a diferenciaci buněk, poskytují porézní hmotu, skrz kterou snadno probíhá difúze živin a odpadních látek.

Samozřejmě, že materiály musí mít podobné mechanické vlastnosti jako přirozená kost a měly by je udržet tak dlouho dokud se neobnoví nová tkáň. Materiál by neměl být ani příliš pevný, jinak může dojít k vzrůstu napětí na zbývající přirozené kosti a následné kostní erozi. Mnoho způsobů jak nahradit zdegenerovanou nebo zraněnou kost již bylo prozkoumáno. Velký úspěch zažily titanové implantáty kolena a kyčle nebo polylaktid-co-glykolové šrouby. Tyto materiály však mají větší pevnost než přirozená kost, v okolí implantátu dochází k erozi kosti. Tento problém je pro pacienta bolestivý a navíc si vyžaduje dodatečné chirurgické zákroky k odstranění nefunkčního implantátu. Při hledání vhodného „kandidáta“ je nejvýhodnější zaostřit na polymery, protože mohou být nastaveny tak, aby se jejich modul pružnosti pohyboval blízko modulu hutné kosti, tj. 3-50MPa. Nesmí se zapomínat ani na povrchové vlastnosti. *In vivo*, se povrch implantátu rychle pokryje proteiny tíhnoucí vlivem termodynamických vlivů denaturovat. Zároveň musí povrch materiálu být stále nápomocný k vázání buněk (osteoblastů) a jejich vývoji. Při navrhování nového materiálu musíme brát v úvahu potřebný stupeň rozprostření buněk a umožnění jim v migraci, aby se kompletně materiál zaplnil buňkami nebo jejich mezibuněčnou hmotou. Čas potřebný na šíření buněk musí být zhruba stejný jako doba, za kterou tkáň prorostou nové cévy, jinak by tkáňové buňky ztratily zdroj výživy. Ačkoliv se tyto cíle daří úspěšně plnit, samotné chemické úpravy povrchu na to nestačí. V důsledku toho musíme brát ohled i na buněčnou funkci a navrhnout design materiálu tak, aby ovlivnil chování buňky. Jedním ze způsobů jak zabezpečit, aby se osteoblast syntetizoval v mineralizovanou kost je nanášení HA na materiál. Nicméně, zůstávají zde další důležité rysy materiálu, jako morfologie povrchu a celková struktura, na které je nutné při regeneraci kosti pamatovat [2].

8.4 Cévní štěpy

Kardiovaskulární systém člověka zahrnuje srdce, krevní cévy a krev. Cévy ještě můžeme dále rozlišit na tepny a tepénky, přivádějící krev ze srdce, žíly a žilky, krev do srdce přivádí, a kapiláry, přes něž přímo dochází k výměně živin s tkáněmi. Nemoci postihující tepny (zúžení tepen, trombóza nebo arterioskleróza) jsou západním světem nejčastější příčinou úmrtí. Stěna tepny obsahuje tři vrstvy. Nesvrchnější se nazývá adventitia, je složená z tkáňe bohaté na kolagen a několika pružných vláken. Pod touto vrstvou se nachází prostřední, zvaná media, tvoří ji hladké svalstvo uspořádané po obvodu za přítomnosti dalších pružných vláken. Bujení buněk této vrstvy může ve výsledku vést ke

zduření a zúžení tepny. Nespodnější, vnitřní vrstva se nazývá intima. Je sestavena z bazální membrány, na které jsou posazeny v monovrstvě endoteliální buňky.



Obr. 7. Struktura cév [15]

Poruchy cév většinou způsobí, že se naruší jejich základní funkce – zajištění oběhu krve. Tepna se zúží nebo zcela ucpe a časem dochází k odumření nezasobované části tkáně. Léčba spočívá v přemostění (tzv. „bypass“) zasažené oblasti. K tom se používají umělé nebo z nohou pacienta vyoperované žíly, ty však často nevyhovují, svým poloměrem nebo jiným rysem. Současné umělé žíly se vyrábí z polyetyltereftalátu, nebo lehčeného polytetrafluoroethylenu (ePTFE). Klíčovým krokem v přípravě umělého štěpu je nanesení souvislé vrstvy živých endoteliálních buněk na povrch polymeru. Tento povrch musí tedy opět splňovat mnoho přísných podmínek, vyhovující těmto buňkám. Jednou ze zajímavých metod je například aplikace mezenchymálních buněk z kostního morku, které se mohou dále diferencovat na různé typy buněk. Tyto buňky navíc do mezibuněčného prostředí produkují cytokiny, látky napomáhající imunitnímu systému. Bylo také zjištěno, že hydrofilní povrchy napomáhají nanášení endoteliálních buněk. Důležité je také, aby byly cévní štěpy dostatečně porézní čímž umožní zarůstání materiálu do tkáně. Velká poróznost, na druhé straně, klade zvýšený odpor protékající krvi. Problém se řeší tzv. „před-srážením“ [2].

8.5 Regenerace jater

Potřeba nahrazení částečné nebo celé funkce jater je v oblasti medicíny obrovská. Problémy s játry se většinou řeší jejich transplantací. Simulovat funkci jater je velmi obtížné, je to velmi komplexní a rozsáhlý žlázočný orgán. Skládá ze svého cévního systému a navíc zde dochází k detoxikaci krve přiváděného sem ze všech orgánů. Odpad je pak odváděn do žlučových. Buňky jater se nazývají hepatocyty a jsou uloženy ve zvrásněných vrstvách tvaru sinusoidy. Takovéto lalůčky jsou neustále omývány krví. Výměna nečistot mezi krví a žlučí probíhá v prostoru mezi dvěma jaterními lalůčky. Játra tvoří mnoho typů tkání seřazených ve spleť architekturu. Proto, jak je zřejmé, prosté nahrazení hepatocytů nebude zdaleka stačit, nicméně je to krok blíž [2].

ZÁVĚR

Tato bakalářská práce shrnuje dosavadní práci v oblasti polymerních biomateriálů kůže, chrupavky, kosti, cévního systému a jater. Regenerace jater je zde zahrnuta jen jako příklad senzačních materiálů biologických výzev, které před námi leží, jestliže zamýšlíme vytvořit celý orgán. Celkově se používání polymerních materiálů v tkáňové a orgánové regeneraci zvětšuje. Polymerní materiály najdou uplatnění i v jiných stejně důležitých oblastech jak jsou výše jmenované, jsou to např. transport léků po organizmu, buněčné zapouzdření, obnova příčně pruhovaného a srdečního svalstva, nebo srdeční chlopně, rekonstrukce šlachy a jiné.

Vedle obnovy tkání mají polymerní biomateriály mnoho významných použití. Tak například polymetylmakrylátový kostní tmel, polyglykolové odbouratelné stehy, šrouby z kyseliny polylaktid-ko-glykolové do kosti a nebo polyvinylsiloxanové dentální otisky. Polymery, jako třeba polyetylglykol se často používají na prodloužení poločasu distribuce některých léků. Z polyhydroxyetylmakrylátu se vyrábí měkké kontaktní čočky. Oblast působení biomateriálů vzniká propojením mnoha vědeckých disciplín, zahrnujících přírodní vědy, medicínu, materiály a inženýrství. Tento obor není nový; skrz historii existují odkazy na skleněné oči a dřevěné, či zlatem plněné zuby. Avšak relativně nový je vývoj ve vzájemných vztazích mezi zmíněnými disciplínami. Použití biomateriálů k obnově tkání nebo orgánů se nazývá tkáňové inženýrství. Tkáňové inženýři studují vedle polymerů i ostatní materiály, např. hydroxyapatit a mnoho z těchto materiálů jsou rozhodující činitelem v této oblasti vědy.

Význam polymerů je obrovský. Počet rozdílných materiálů, které je schopný polymerní chemik syntetizovat, jde do miliard. Polymery s podobnou chemickou charakteristikou se chovají v jistých situacích rozdílně. Například, polyetylén a polyetylén o velmi vysoké molekulové hmotnosti se jako ortopedická náhrada kolena nebo kyčle chovají jinak. Polyetylén o velmi vysoké molekulové hmotnosti vykazuje nižší opotřebení a tvorbu úlomku než obyčejný polyetylén. Toto široké spektrum materiálů poskytuje vědcům a inženýrům výběr nejen z existujících materiálů, ale i možnost nastavit polymery tak, aby co nejvíce pasovaly ke studované tkáni. Ačkoliv je třeba kůže měkká tkáň, musí být odolná proti velkým smykovým napětím. Na druhé straně, je zase kost relativně tvrdá s vysokou pevností v tlaku, který způsobuje váha těla. Dá se odhadnout, že určitý materiál bude mít vlastnosti vyhovující jedné aplikaci, než aplikaci jiné. Nebudeme, například, vyrábět lahve

na sodovku z křehkého plastu, stejně tak se nehodí na všechny aplikace v medicíně jeden materiál. Navíc se při otázce mechanických vlastností materiálu musíme potýkat s morfologií povrchu, pórovitostí, degradací a chemickým složením. Jak je vidět jsou tato parametry důležité při připojování buňky, jejím bujení, dělení a správnou sekrecí mezibuněčné hmoty. Musíme vzít také v úvahu biologické parametry, materiál musí být biokompatibilní. Znamená to že, materiál nebude hned opouzdřen nebo napaden organismem. Vystává tady proto mnoho otázek. Rozpozná tělo polymer jako plně cizí a zareaguje vytvořením pouzdra? Vyvolá materiál imunitní reakci? Budou buňky, které jsou schopny regenerovat endotel tepen a žil, adherovat a bujet, zůstanou diferencovány jakmile jsou v kontaktu s polymerem? Máme brát v úvahu řízené uvolnění bioaktivních faktorů nebo faktorů pobízejících nasazenou buňku, aby setrvala diferencovaná nebo vylučující dostatečné množství mezimolekulární hmoty? Všechny tyto otázky jsou designové parametry, se kterými musíme počítat při vývoji nové kostry tkáňové regenerace. Musíme porozumět jak materiálním proporcím mezibuněčné hmoty, kterou chceme dočasně nahradit, tak biologii systému abychom mohli přimět buňky těla nahradit dočasnou konstrukci odpovídajícími živými tkáňovými komponenty.

Materiálový vědci a inženýři mají před sebou velký úkol. Musí zvládat nejen tradiční oblasti materiální vědy, ale také biologii. Znalosti v oblasti studia života se rapidně zvětšují. Nyní už známe uspořádání celého lidského genomu. Výzkum kmenových buněk nám nabízí nový pohled na tkáňové inženýrství. Výsledkem může být jejich využití k vytvoření celého orgánu nebo tkáně tak, jak to dělá příroda během vývoje plodu. Jedním z příkladů spojení biologie a syntézy polymerů je použití molekulární biologie k včlenění biologického signálu do hlavního řetězce polymerů [2].

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Chu P.K., Chen J.Y. Wang L.P., Huang N., *Plasma-surface modification of biomaterials: Material science and Engineering* **R 36** (2002), pp. 143-206
- [2] Seal B.L., Otero T.C., Panitch A.: *Polymeric biomaterials for tissue and organ regeneration: Material science and Engineering* **R 34** (2001), pp. 147-230
- [3] Chan C.-M., Ko T.-M., Hiraoka H.: *Polymer surface modification by plasmas and photons: Surface Science Reports* **24** (2001), pp. 1-54
- [4] Gordon England: *Thermal spray coating* [online] Dostupný z :
<<http://www.gordonengland.co.uk/img/ps1.gif>>
- [5] Barbosa J.N., Barbosa M. A., Águas A. P.: *Inflamantory responses and cell adhesion to self-assembled monolayers of alkanethiolates on gold: Biomaterials* **25** (2004), pp.2557-2563
- [6] Scotchford C. A., Cooper E., Leggett G. J., Downes S.: *Growth of human osteoblast-like cells on alkanethiol on gold self-assembled monolayers: The effect of surface chemistry: John Wiley & sons, Inc. J Biomed Mater Res*, **41** (1998), pp. 431-442
- [7] Isak Engquist: *Self assembled monolayers (1996) [online]*, dostupný z:
<<http://www.ifm.liu.se/applphys/ftir/sams.html>>
- [8] Rosso F., Barbarisi A., Barbarisi M., Petillo O., Margarucci S., Calarco A., Peluso G.: *New polyelectrolyte hydrogel for biomedical application: Material Science and Engineering* **C 23** (2003), pp. 371-376
- [9] *Pearson prentice Hall* [online] dostupný na:
<http://www.phschool.com/science/science_news/articles/images/beyond_jello_02.jpg>
- [10] Darrvell Irvine *Molecular principles of biomaterials* (2003) [online] dostupný na:
<<http://ocw.mit.edu/NR/rdonlyres/Biological-Engineering-Division/BE-462JMolecular-Principles-of-BiomaterialsSpring2003/203DCD16-580C-4C22-80C3-CAF73269A553/0/BE462lect07.pdf>>
- [11] *Geraldine Van Esbeck: Irish scientist* (2001): dostupný na:
<<http://www.irishscientist.ie/2001/01images/01p2410102.jpg>>

[12] Fischbach C., Tessmar J., Lucke A., Schnell E., Schmeer G., Blunk T., Göpferich A.: *Does UV irradiation affect polymer properties relevant to tissue engineering?:* Surface Science **491** (2001), pp. 333-345

[13] Chen Z.: *Skin therapy center (2002)* [online], dostupný na:
<<http://www.myskintherapy.com/images/skinlayer.jpg>>

[14] [online] dostupný na:
<<http://images.encarta.msn.com/xrefmedia/aencmed/targets/illus/ilt/T304316A.gif>>

[15] *College of Sciences* [online] dostupný na:
<<http://www.sci.sdsu.edu/class/bio590/pictures/lect5/artery-vein.jpeg>>

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1.	Schéma techniky „plasma spraying“ [4]	18
Obr. 2.	Příprava samoorganizované vrstvy [7].....	21
Obr. 3.	Nanostuktura polymerní sítě hydrogelu. Čtvereček vpravo dole představuje 0.2 mikrometrů [9].....	22
Obr. 4.	Průběh iontové implantace [11]	25
Obr. 5.	Vrstvy kůže [13].....	29
Obr. 6.	Struktura kosti [14].....	33
Obr. 7.	Struktura cév [15].....	35

SEZNAM TABULEK

Tab. I.	Oblasti biomateriálů, v nichž se uplatňují plazmatické úpravy	14
Tab. II.	Důležité hydrogely v medicíně[10].....	23