



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE MATERIÁLŮ

INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE

VLIV VNITŘNÍ STRUKTURY NA MECHANICKÉ VLASTNOSTI 3D TIŠTĚNÉHO SEGMENTU FEMURU Z NOVÉHO OPTIMALIZOVANÉHO BOKOMPOZITU

THE INFLUENCE OF INTERNAL STRUCTURE ON MECHANICAL PROPERTIES OF 3D PRINTED FEMORAL
SEGMENT FROM NOVEL OPTIMIZED BIOCOMPOSITE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Aleš Nečas

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Mgr. Radek Přikryl, Ph.D.

BRNO 2023

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1814/2022 Akademický rok: 2022/23
Ústav: Ústav chemie materiálů
Student: **Bc. Aleš Nečas**
Studijní program: Chemie a technologie materiálů
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **Mgr. Radek Přikryl, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Vliv vnitřní struktury na mechanické vlastnosti 3D tištěného segmentu femuru z nového optimalizovaného biokompozitu

Zadání diplomové práce:

- Literární rešerše na téma 3D tisku a mechanických vlastností resorbovatelných náhrad kostní tkáně.
- Příprava biokompozitů a filamentů pro FDM 3D tisk
- Charakterizace testovacích těles (tlak, tah)
- Modelování vnitřní struktury diafýzy femuru a predikce výsledných mechanických vlastností
- Ověření modelu na reálných výtiscích

Termín odevzdání diplomové práce: 8.5.2023:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Aleš Nečas
student

Mgr. Radek Přikryl, Ph.D.
vedoucí práce

doc. Ing. František Šoukal, Ph.D.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá vývojem nového anatomického modelu segmentu femuru na bázi materiálu poly-3-hydroxybutyrátu, kyseliny polylaktické, tricalciumfosfátu a hydroxyapatitu (PHB/PLA/TCP/HA) vytvořeného podle computerové tomografie femuru pacienta ve dvanácti variantách (A1 až A4, B1 až B4, C1 až C4) různé procentuální výplně gyroidem v místě kompakty a spongiózy reálné kosti a jeho 3D tiskem (po předchozí přípravě optimalizované směsi nového biokompozitu (OPT1), výrobě tiskové struny z tohoto biomateriálu, po stanovení jeho chemických a strukturálních charakteristik, respektive po optimalizaci a ověření nevhodnějších parametrů tisku 3D tělesa z tohoto biokompozitu).

Dále byla stanovena únosnost v tlaku všech dvanácti variant vytištěných 3D modelů segmentu femuru s různou procentuální hustotou jejich vnitřní gyroidní výplně. Následně byla studována možnost predikce únosnosti v tlaku nově vyvinutého anatomického segmentu femuru počítačovou simulací s využitím numerického modelu v programu ANSYS a byly zjištěny rozdíly v hodnotách únosnosti v tlaku PHB/PLA/TCP/HA segmentu femuru při jeho reálném mechanickém testování, v porovnání s hodnotami virtuálních testů s využitím programu ANSYS.

Za účelem stanovení možné rychlosti resorpce v tkáni tohoto 3D tělesa z biokompozitu PHB/PLA/TCP/HA byl zkoumán dlouhodobý vliv (po dobu 4 měsíců) simulované tělesné tekutiny na biodegradaci 3D biodegradacních těles z PHB/PLA/TCP/HA s různou procentuální výplní gyroidem (varianta I až V), která byla následně podrobena tlakovým zkouškám a byla provedena analýza jejich povrchu konfokálním mikroskopem.

Nejvyšší průměrnou únosnost vykazovaly segmenty femuru se 75% výplní v místě kompakty (varianta A), a to $22,20 \pm 0,50$ kN, přičemž reálné vzorky segmentu femuru měly o přibližně čtvrtinu nižší únosnost v tlaku v porovnání s počítačovou simulací. Biodegradacní tělesa z PHB/PLA/TCP/HA s více porézní výplní (varianty II až V) degradují pomaleji, než těleso se 100% výplní (varianta I), což je výhodné pro jejich klinické použití. Jejich pomalá degradace měla po 4 měsících příznivý vliv i na jejich únosnost.

PHB/PLA/TCP/HA anatomický model segmentu femuru byl vyvíjen za účelem možného využití v medicíně k náhradě kostní tkáně při rozsáhlých defektech femuru. Před jeho případným využitím v medicíně je však zapotřebí další výzkum.

ABSTRACT

This diploma thesis presents the development of a new anatomical model of the femur segment based on a biocomposite of poly-3-hydroxybutyrate, polylactic acid, tricalcium phosphate and hydroxyapatite (PHB/PLA/TCP/HA). The model was designed using computed tomography of the patient's femur in twelve variants (A1 to A4, B1 to B4, C1 to C4) with different percentages of gyroid filling at the site of the compaction and spongiosis of the real bone. The biocomposite was then 3D printed after the optimized mixture of the new biocomposite (OPT1) was prepared, the printing string's chemical and structural characteristics were determined, and the most suitable parameters for 3D printing of the body from this biocomposite were optimized and verified.

Furthermore, the pressure load capacity of all twelve variants of 3D printed femur segment models with different percentage densities of their internal gyroid filling was determined. Subsequently, the possibility of predicting the pressure load capacity of the newly developed anatomical femur segment was studied by computer simulation using the numerical model in ANSYS, and the differences in the pressure load capacity values of the PHB/PLA/TCP/HA femur segment in its real mechanical testing were found, compared to the values of the virtual tests using ANSYS.

In order to determine the possible tissue resorption rate of this 3D PHB/PLA/TCP/HA biocomposite, the long-term effect (for 4 months) of simulated body fluid on the biodegradation of 3D PHB/PLA/TCP/HA biocomposite bodies with different percentages of gyroid filling (variant I to V) was examined. Subsequently, the biocomposites were subjected to pressure tests while their surface was analyzed by confocal microscopy.

The femur segments with 75% filling at the compaction site (variant A) showed the highest average load capacity of 22.20 ± 0.50 kN, while the real femur segment samples had approximately one-quarter lower pressure load capacity compared to the computer simulation. The PHB/PLA/TCP/HA biodegradable bodies with more porous filling (variants II to V) degraded more slowly than the body with 100% filling (variant I), which offers benefits for their clinical use. Their slow degradation also had a beneficial effect on their load-bearing capacity after 4 months.

The PHB/PLA/TCP/HA anatomical model of the femoral segment was developed for possible medical use in bone replacement for extensive femoral defects. However, further research is needed before its potential use in medicine.

KLÍČOVÁ SLOVA

Biokompozit, femur, gyroid, regenerace kostí, 3D tisk, PHB, PLA, TCP

KEYWORDS

Biocomposite, femur, gyroid, bone regeneration, 3D printing, PHB, PLA, TCP

NEČAS, A. *Vliv vnitřní struktury na mechanické vlastnosti 3D tištěného segmentu femuru z nového optimalizovaného biokompozitu* Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2023. 110 s. Vedoucí diplomové práce Mgr. Radek Přikryl, Ph.D.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT

V Brně dne

Podpis

Poděkování

Rád bych tímto poděkoval panu Mgr. Radku Přikrylovi, Ph.D. za odborné konzultace a metodické vedení v průběhu zpracování této diplomové práce. Poděkování patří také Ing. Veronice Melčové, Ph.D. za pomoc při charakterizaci vlastností materiálů použitých k 3D tisku a cenné rady související s experimentální částí práce, dále pak doc. Ing. Janu Pěňčíkovi, Ph.D. a jeho doktorandovi Ing. Vojtěchu Vaňkovi za možnost využít technického vybavení pracoviště Ústavu pozemního stavitelství (3D tiskárny a mechanický lis) na FAST VUT při zhotovení a testování anatomických vzorků modelového segmentu femuru ve variantách se strukturním detailem, dále pak doc. MUDr. Petru Krupovi, CSc. za poskytnutí CT obrazů femuru jako předloh pro výrobu/tisk anatomických modelů femorálních segmentů a také prof. MVDr. Aloisi Nečasovi, Ph.D., MBA za umožnění přístupu k informacím a podkladům, týkajícím se stavby kosti a problematiky náhrad segmentálních defektů femuru v léčbě zlomenin ve veterinárním lékařství.

Obsah

1. ÚVOD.....	7
2. TEORETICKÁ ČÁST.....	8
2.1 Význam FDM 3D tisku v regenerativní medicíně a implantologii	8
2.2 Charakteristika biomateriálů použitých pro 3D tisk testovaného segmentu femuru...10	
2.2.1 Kyselina polymléčná (PLA).....	10
2.2.2 Poly(3-hydroxybutyrát).....	11
2.3 Specifika 3D tisku kompozitů na bázi poly(3-hydroxybutyrátu) (PHB).....	13
2.4 Význam příměsi β -Tricalcium fosfátu v PHB kompozitech	15
2.5 Tisk 3D anatomického modelu segmentu diafýzy femuru vytvořeného podle CT obrazu skutečného femuru.....	17
2.6 Gyroidní struktura a její vliv na mechanické vlastnosti těles při 3D tisku.....	18
2.7 Vliv gradientu porozity 3D těles na mechanické vlastnosti částicových kompozitů ..	27
2.8 <i>In vitro</i> degradace 3D těles s gyroidní strukturou simulující jejich <i>in vivo</i> chování ..	28
2.9 Současný stav řešené problematiky	29
3. CÍLE	32
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	33
4.1 Použité materiály	33
4.2 Kompaundace a příprava granulátu.....	33
4.3 Příprava struny.....	35
4.4 Stanovení chemických a strukturních charakteristik použitých materiálů	35
4.4.1 Termogravimetrická analýza (TGA)	35
4.4.2 Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC).....	36
4.4.3 Gelová permeační chromatografie (GPC).....	36
4.4.4 Strukturní analýza pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM).....	37
4.4.5 Strukturní analýza pomocí konfokální laserové rastrovací mikroskopie (CLSM)..	37
4.5 Optimalizace parametrů tisku a 3D tisk standardizovaných těles	37
4.5.1 Tisk 3D teplotních věží	38
4.5.2 Warping	39
4.5.3 Tisk 3D standardizovaných tahových, tlakových a biodegradčních těles	40
4.6 Vytvoření PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru podle CT obrazů femuru (ve formátu .STL) ve dvanácti variantách vnitřních struktur gyroidu v místě kompakty a spongiózy reálné kosti, jeho 3D tisk, predikce jeho mechanických vlastností pomocí počítačové simulace a stanovení únosnosti v tlaku u jednotlivých variant reálných 3D těles s různou vnitřní strukturou	41

4. 6. 1 Modelování anatomického modelu segmentu diafýzy femuru podle CT obrazů femuru	41
4. 6. 2 Tisk PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru	44
4. 6. 3 Modelování vnitřní gyroidní struktury segmentu diafýzy femuru v programu Rhinoceros 3D a příprava jeho virtuálního modelu pro ANSYS	46
4. 6. 4 Vytvoření numerického modelu v programu ANSYS pro reálné anatomické segmenty diafýzy femuru s různou hustotou gyroidní výplně	48
4. 7 Testování mechanických vlastností 3D těles z PHB/PLA/TCP/HA kompozitu.....	50
4. 7. 1 Pevnost v tahu a modul pružnosti v tahu 3D standardizovaných tahových těles, pevnost v tlaku a modul pružnosti v tlaku 3D standardizovaných tlakových a biodegradačních těles.....	50
4. 7. 2 Únosnost v tlaku PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru ve dvanácti variantách vnitřních struktur v místě kompakty a spongiózy reálné kosti..	51
4. 8 Biodegradační testy 3D těles z PHB/PLA/TCP/HA biokompozitu.....	51
5. VÝSLEDKY A DISKUZE	54
5. 1 Optimalizace parametrů tisku a 3D tisk standardizovaných těles	54
5. 1. 1 Tisk 3D teplotních věží	54
5. 1. 2 Warping	56
5. 2 Pevnost v tahu a modul pružnosti v tahu 3D standardizovaných zkušebních tahových těles, pevnost v tlaku a modul pružnosti v tlaku 3D standardizovaných tlakových těles z optimalizovaného biokompozitu.....	59
5. 3 Stanovení chemických a strukturních charakteristik použitých materiálů	61
5. 3. 1 Termogravimetrická analýza (TGA)	61
5. 3. 2 Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC).....	63
5. 3. 3 Gelová permeační chromatografie (GPC)	64
5. 3. 4 Strukturní analýza pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM).....	66
5. 3. 5 Strukturní analýza pomocí konfokální laserové rastrovací mikroskopie (CLSM)...	68
5. 4 Únosnost v tlaku PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru ve dvanácti variantách vnitřních struktur v místě kompakty a spongiózy reálné kosti....	71
5. 5 Predikce únosnosti v tlaku anatomického modelu segmentu femuru pomocí počítačové simulace vytvořením numerického modelu v programu ANSYS	79
5. 6 Biodegradační testy 3D těles z PHB/PLA/TCP/HA kompozitu.....	83
6. ZÁVĚR.....	94
7. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	96
8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	110

1. ÚVOD

Ve tkáňovém inženýrství v současné době vývoj a výroba náhrad umělých tkání pro regenerativní medicínu směřuje stále více do oblasti 3D tisku, a to z důvodu možnosti vytisknout komplexní a prostorově složité anatomické struktury napodobující lidské tkáně, navíc s možností využití biokompozitních a biokompatibilních resorbovatelných materiálů.

Technologie trojrozměrného tisku představuje výhodu především v úpravě mechanických vlastností 3D umělých náhrad tkání (např. kostí) vytvořených 3D tiskem a umožňuje také řízení chemických vlastností materiálů před samotným 3D tiskem a mimo jiné lze kombinovat vlastnosti různých materiálů a dosáhnout tak synergického efektu pro požadované vlastnosti výsledného produktu. [1] Jako nadějná se zdá být FDM (fused deposition modeling) technologie 3D tisku z důvodu její velké variability tisknutelnosti pórů a vnitřních struktur 3D tělesa, a také z důvodu nízkých provozních nákladů při vývoji a výrobě 3D tištěných skafoldů. [2] Z hlediska mechanických vlastností náhrad kostních tkání jsou nejvíce prostudovány voštinové (honeycomb) struktury, především z důvodu jejich vysoké pevnosti v tahu a v tlaku. [3] Z pohledu materiálů je pro FDM 3D tisk možno využít vhodné polymerní nanokompozity, které splňují vysoké nároky na mechanické, chemické a tepelné vlastnosti. [4] Ve tkáňovém inženýrství se mezi studované materiály řadí především kompozity na bázi polyhydroxyalkanoátů v kombinaci s anorganickým hydroxyapatitem nebo trikalciem fosfátem, přičemž tyto biokompozity by bylo následně možno využít pro náhradu kostních tkání v ortopedii. [1] Nicméně kvalita a mechanické vlastnosti těchto tištěných 3D těles, sloužících jakožto náhrada poškozených tkání, bývají silně ovlivněny parametry 3D tisku, jako je tloušťka vrstvy, mezery mezi tištěnými vlákny, nastavení odpovídajících teplot 3D tisku apod. [5] Na druhou stranu lze FDM tisk použít pro přípravu personalizovaných a na míru vyrobených anatomických implantátů se složitým tvarem s využitím předchozího vyšetření pacienta počítačovou tomografií. [6] V této práci jsou studovány chemické a mechanické vlastnosti a optimální parametry tisku nově vyvinutého biokompozitu PHB/PLA/TCP/HA za účelem dosažení co možná největší pevnosti v tlaku, jež je u 3D náhrad tkání požadována. Tato práce je zaměřena především na vývoj náhrady kostní tkáně v podobě PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru vytvořeného podle CT obrazu reálné kosti ve 12 variantách s různou hustotou gyroidní výplně v místě kompaktní a spongiózní části reálné kosti. Zkoumán je rovněž vliv zmíněných variant výplně vnitřních struktur vyvinutých PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru na jeho únosnost při zatěžování tlakem, stejně jako možnost predikce stanovení únosnosti v tlaku u numerického modelu segmentu femuru vytvořeného pomocí počítačové simulace v programu ANSYS. Za účelem stanovení rychlosti resorpce 3D těles z PHB/PLA/TCP/HA biokompozitu je v této práci sledován rovněž vliv účinku simulované tělesné tekutiny na tato 3D tištěná biodegradační tělesa z nového biokompozitu s různou hustotou výplně gyroidní struktury, jakožto možné vnitřní výplně 3D tištěných těles sloužících k náhradám kostní tkáně.

2. TEORETICKÁ ČÁST

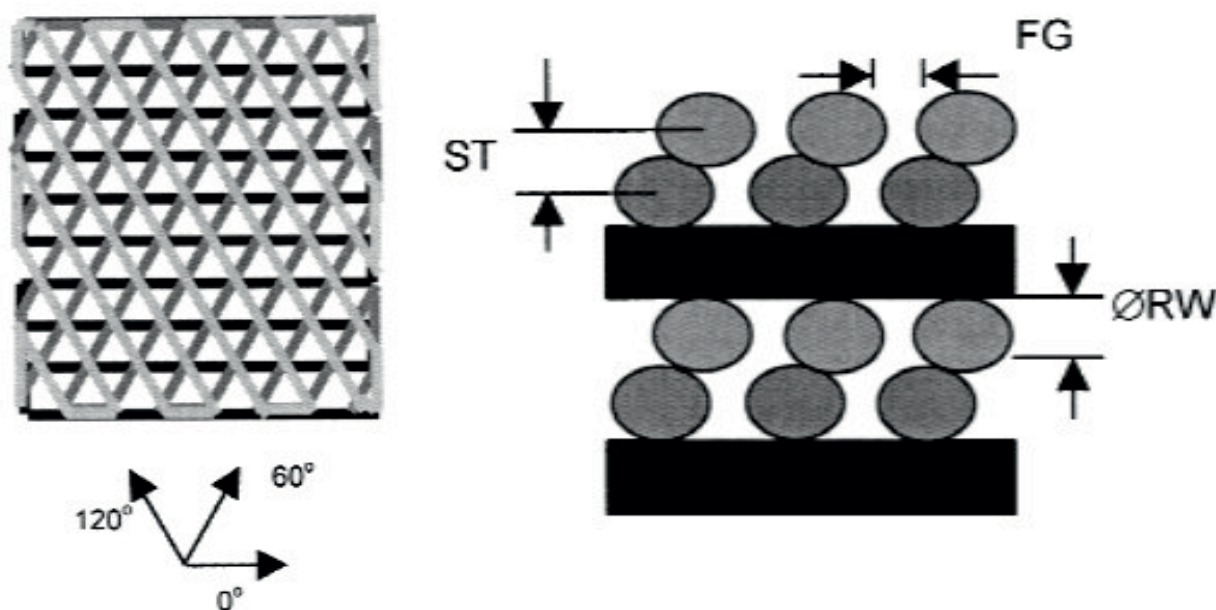
2.1 Význam FDM 3D tisku v regenerativní medicíně a implantologii

Technologie 3D tisku se zdá být nadějnou v oblasti medicíny, kdy je možné pomocí lékařských zobrazovacích technik, jako je počítačová tomografie, magnetická rezonance a ultrazvuk vytvářet velmi přesné struktury částí lidského těla, především kostí. Současné studie se věnují 3D tisku porézních skafoldů pro tkáňové inženýrství. Zaměřují se jak na strukturu jejich pórů, tak na drsnost povrchu, mechanické vlastnosti a biokompatibilitu. Technika 3D tisku FDM neboli *Fused Deposition Modeling*, která funguje na principu vytlačováním taveniny polymeru případně kompozitu malým extrudérem zahřátým na určitou teplotu, jenž je nanášena po jednotlivých vrstvách, které k sobě přilnou díky fyzikálním a chemickým interakcím. Vytištěná (spodní) vrstva tištěného tělesa po určité době ztvdne a na ní je postupně nanášena další. [1] Pro zajištění dobré přilnavosti mezivrstvy, předešlá vytvořená vrstva musí být udržována při teplotách těsně pod teplotou tuhnutí termoplastických materiálů. [2] Poté, co je extrudovaný polymer v polotekuté formě natištěn na podložku, ztuhne a z původně digitálních dat vznikne tištěný objekt. Filament používaný k 3D tisku musí mít vysokou kvalitu, protože podávání filamentu do malého extrudéru je vystaveno velkému tlaku a vysoké teplotě, tištěné vlákno musí vydržet toto napětí kvůli dobré kvalitě tisku. [3; 4; 5]

Mezi hlavní výhody FDM technologie pro navrhování a tisk implantátů, např. pro účely ortopedie a také obecně pro použití v medicíně, patří především nízké náklady, rychlá a snadná produktivita výroby, a především vysoké tiskové rozlišení. Toto rozlišení činí 50-200 μm , někdy se uvádí i 300 μm , přičemž závisí na typu a výrobci tiskárny. [6; 7; 8] Díky tomuto detailu lze tisknout implantáty na míru se složitým tvarem podle počítačové tomografie. Filamenty používané pro tyto aplikace jsou většinou na bázi bioresorbovatelných polyesterů, z nichž je nejvíce prostudována kyselina polymléčná a její kopolymery. [6; 7; 8] Další výhodou FDM tisku v tkáňovém inženýrství je, že nejsou zapotřebí rozpouštědla (používaná při jiných metodách tisku) a zároveň je zachována flexibilita tištěného materiálu při jeho zpracování a manipulaci s ním. Ve tkáňovém inženýrství byla tato technika nejčastěji použita při tisku skafoldů na bázi kyseliny polymléčné (PLA) a polykaprolaktonu (PCL) a struktury v podobě včelích plástů (zvané honeycomb) s velikostí pórů od 160 do 770 μm . [2]

Bylo zjištěno, že FDM technologie 3D tisku neměla, v porovnání se vstříkovaným vzorkem, příliš velký vliv na elasticitu materiálu a jeho tuhost, a to jak v axiálním, tak i příčném směru, a dále, že nastavení parametrů tisku, jako je rychlost toku tištěného materiálu, teplota extrudéru a rychlost extruze, má vliv na výslednou porozitu vytištěného vzorku a že lze pomocí těchto parametrů FDM tisku zmíněnou porozitu výsledného tělesa korigovat. [1] Wurm a kol. sledovali vliv 3D tisku na biokompatibilitu tištěných vzorků a pomocí *in vitro* testů s lidskými fetálními osteoblasty zjistili, že tištěné vzorky na bázi PLA nevykazovaly žádné cytotoxické účinky, a že 3D tisk neměl žádný vliv na biokompatibilitu vyrobených implantátů [1; 9; 10]. Na adhezi (přichycení) a proliferaci osteoblastických buněk k povrchu vytištěného vzorku

(skafoldu) má velký vliv drsnost povrchu, přičemž velkou roli hraje povrchové napětí. [1; 11; 12]. Wang a kol. proto zvýšili drsnost povrchu PLA skafoldu studenou atmosférickou plazmou z 1,22 nm na 27,60 nm. [12] Náhrada kostí za použití vhodného osteokonduktivního a biokompatibilního materiálu, by měla mít správnou velikost a také tvar, který bude vykazovat dobré mechanické vlastnosti a bude odolávat rázovému zatížení v místě implantace do defektu kosti. [13] Preferují se vstřebatelné materiály, které jsou schopny zachovat objem kosti. Pomocí FDM 3D tisku je možné tyto vlastnosti do jisté míry zajistit. Fyzikálně-chemické vlastnosti, jako jsou chemické složení povrchu, drsnost, struktura povrchu, mechanické vlastnosti, dále pak hydrofobní a hydrofilní povaha materiálu, lze pomocí 3D tisku zlepšit. [13] Hutmacher a kol. sledovali buněčnou aktivitu lidských fibroblastů a periostálních buněk na PCL skafoldu vytvořeném FDM 3D tiskem, kdy pozorovali buněčný růst již v prvním týdnu kultivace a po 3–4 týdnech byl skafold zcela zaplněn buněčnou tkání. [14] Na obrázku 1 je zobrazena geometrie skafoldu na základě zvolených parametrů a vytvoření trojúhelníkových a polygonálních pórů pod úhlem $0^\circ/60^\circ/120^\circ$. Statickou analýzou potvrdili, že pentagonální struktura měla nižší tuhost a mez kluzu v porovnání s trigonálním vzorem. [14]



Obr. 1: Charakteristika tisku struktury skafoldu pod úhly $0^\circ/60^\circ/120^\circ$ pomocí FDM 3D tiskárny, kde Road width of rasters (RW) představuje šířku tištěné vrstvy, Fill gap between rasters (FG) výplňovou mezeru a Slice thickness (ST) tloušťku řezu neboli horizontální vrstvy. [14]

Při správně nastavené teplotě trysky je možné dosáhnout vysoce kvalitního tisku s vysokými detaily a velmi hladkým povrchem. Teplota podložky by měla být vyšší než teplota skelného přechodu tištěného materiálu, aby byla zajištěna dostatečná adheze mezi vlákny. [15] Zahřátá podložka zahřívá okolní prostředí a ovlivní především kontakt mezi vlákny a přilnavost mezi vrstvy, což se projeví na mechanických vlastnostech vytištěného vzorku. Chladicí ventilátory u trysky pak zlepšují geometrickou přesnost tisku, ovšem nasávání studeného vzduchu do trysky

může občas v závislosti na materiálu ovlivnit mechanické vlastnosti vytištěného tělesa, buď zhoršit nebo zlepšit. [15] Vhodné procento výplně tištěného tělesa pak může zkrátit (při menší hustotě výplně) dobu tisku a spotřebu materiálu. Vzor tisku může mít také vliv na pevnost tištěného tělesa. [15] Současně většinou platí, že čím je nižší procentuální výplň vnitřních struktur tělesa, tím je nižší i jeho výsledná pevnost. V softwaru Prusa slicer od firmy Prusa Research, lze při tisku zvolit 13 typů vzorů výplně tištěného vzorku. Hustotu výplně tištěného tělesa je možné nastavit v rozmezí 0 % a 100 %, přičemž hustota výplně 0 % je tzv. dutý obrys a hustota výplně 100 % je tzv. zcela vyplněný vzorek. [15]

Nevýhodou FDM 3D tisku v tkáňovém inženýrství a v medicíně obecně je vysoká teplota extruze, která omezuje začlenění buněk či různých biologických molekul a činidel citlivých na teplotu do procesu tisku. [2] Důležitá pro tisk termoplastických materiálů je jejich správná viskozita při tavení v extrudéru, aby nedocházelo k ucpávání trysky, případně vytváření bublin v tištěném vzorku po extruzi. [2] V oblasti FDM 3D tisku biomateriálů pro biomedicínské účely jsou relativně dobře prostudované vlastnosti materiálů na bázi PCL/HA, PLA/HA, PLA/PHB, PLGA s kolagenem, PCL s želatinou, samotné PCL a dále například PMMA. [2]

2. 2 Charakteristika biomateriálů použitých pro 3D tisk testovaného segmentu femuru

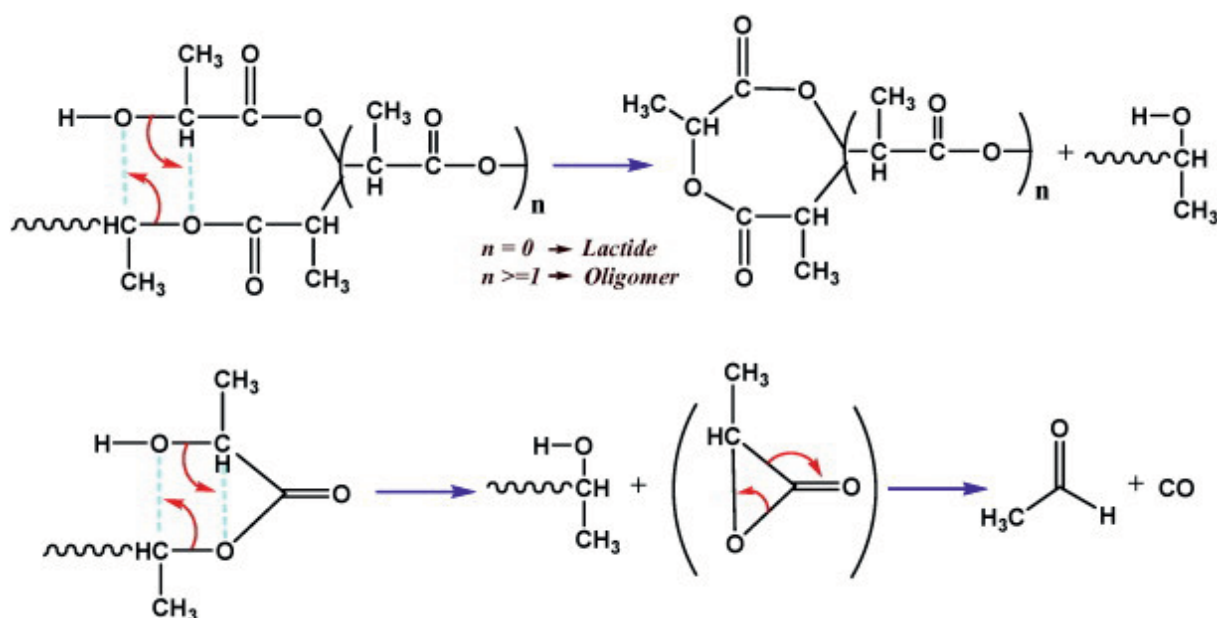
2. 2. 1 Kyselina polymléčná (PLA)

V regenerativní medicíně se jedná o nejpoužívanější bioplast. [16; 17] Jedná se o termoplastický alifatický polyester, jehož vlastnosti jsou velmi závislé na množství enantiomerů. [16; 17] Čistá kyselina poly(L-mléčná) PLLA nebo poly(D-mléčná) PLDA jsou semikrystalické polymery, zatímco PLA s obsahem 50–93 % L-mléčné kyseliny je amorfni. Amorfni PLA vykazuje lepší zpracovatelnost, ale horší mechanické vlastnosti. [16; 17] Vyznačuje se dobrou biokompatibilitou, mechanickými vlastnostmi, číroostí, nepřilnavostí a nízkým koeficientem tepelné roztažnosti. Krystalinita semikrystalických PLA je silně závislá na rychlosti a délce chlazení během zpracování. [1; 16; 17; 18]. Nevýhodou kyseliny polymléčné je její tepelná degradace, která vede ke snížení molekulové hmotnosti a následné ztrátě mechanických vlastností. Jedná se o velmi složitý proces, kdy byly sledovány různé mechanismy jako štěpení řetězce, depolymerace, oxidační degradace, nebo intermolekulární a intramolekulární transesterifikace, které vedou k tvorbě cyklických oligomerů kyseliny mléčné a laktidu a zároveň dochází k rekombinaci cyklických oligomerů s lineárními polyestery. [17]

Skafoldy vyrobené čistě z PLA nenapodobují přesně složení a mechanické vlastnosti kosti, proto je zpravidla nutné přidat další polymery a plniva pro zlepšení jejich tepelných a mechanických vlastností a především biokompatibility. [1; 19] Z pohledu požadovaných mechanických vlastností skafoldů se jako velmi nadějný se jevil 15% hmotnostní přídavek hydroxyapatitu do

matrice z PLA. [1; 19] Po vytištění vzorku byl proveden tzv. creep test, který prokázal vynikající odolnost vytištěného vzorku v porovnání se vzorkem ze samotného PLA, avšak při mechanickém testování vykazovaly oba vzorky stejnou delaminaci ve stejných místech trojrozměrné struktury vzorku. [1; 19] Nicméně bylo zjištěno, že v obou případech docházelo mezi vrstvami k vytváření vzduchových bublin, které mohly mít negativní vliv na mechanické vlastnosti. U kompozitu byla pozorována dobrá disperze plniva, avšak uvnitř struktury se objevily určité aglomeráty plniva, a to při 5 hm % i 15 hm % hydroxyapatitu. Přitom 15 hm% přídavek zvýšil viskozitu polymeru a o 4% modul pružnosti v tlaku. [1; 19]

McNeil a Leiper předpokládali, že tepelná degradace PLA je neradikální esterová intermolekulární reakce zahrnující OH skupiny. [20] Vlivem toho, v jakém bodě reakce probíhá může být výsledným produktem molekula laktidu, oligomerní kruh, případně acetaldehyd a CO₂. Podrobný mechanismus tepelné degradace PLA je znázorněn na obrázku 2. [20]



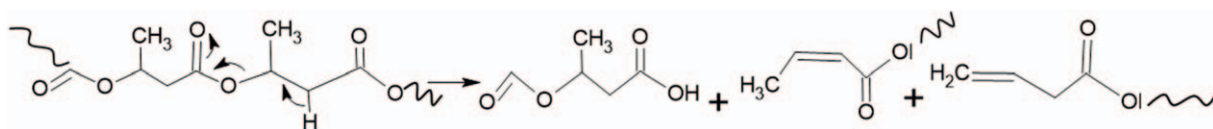
Obr. 2: Mechanismus tepelné degradace PLA. [17; 20]

2. 2. 2 Poly(3-hydroxybutyrát)

Poly(3-hydroxybutyrát) neboli PHB představuje termoplastický lineární alifatický polyester, který se řadí do skupiny polyhydroxyalkanoátů a získává se bakteriální fermentací, kde se postupně akumuluje ve formě hydrofobních granulí, které jsou uloženy v cytoplazmě buněk. [21; 22; 23] Jeho výhodou je biokompatibilita, kdy *in vivo* testy na myších neprokázaly žádné negativní účinky na buňky a jejich růst a tvorbu tkáně. [21; 22; 23] Vyznačuje se však větší křehkostí a špatnou zpracovatelností, proto se z důvodu výsledné kvality tisku kombinuje s kopolymerem nebo jiným polymerem do polymerních směsí. [21; 22; 23] Ty poté vykazují výhodnější vlastnosti než samotný polymer, a jsou dány především termodynamikou

mísitelnosti. Směsi na bázi PHB/PLA vykazovaly dobrou biokompatibilitu, avšak jejich mísitelnost byla problém, který je možné odstranit pomocí změkčovadla přidaného do směsi. [24; 25; 26] Molekulová hmotnost tohoto polymeru se v literatuře liší a může být závislá na mikroorganismu, ze kterého byl polymer izolován, kultivačních podmínkách, a způsobu izolace. Nejčastěji se uvádí 100 000 -750 000 g/mol. [22]

Fyzikální vlastnosti P3HB jsou podobné polypropylenu, avšak P3HB je oproti polypropylenu více tuhý a křehký. Teplota tání se pohybuje mezi 170 až 180 °C, dále se vyznačuje vysokou křehkostí a vysokým stupněm krystalinity, přičemž v literatuře se uvádí až do 80 % krystalinity. Pevnost v tahu tohoto polymeru se uvádí okolo 25,5 MPa a modul pružnosti 1520 MPa. [27] Vzhledem k vlastnostem PHB se tyto hodnoty pevnosti mohou v různé literatuře lišit. [27] Pomocí TGA analýzy bylo zjištěno, že PHB syntetizované v laboratorních podmínkách degraduje v jednom kroku v rozmezí teplot 220 °C až 290 °C. V případě komerčně dostupného PHB, kde mohou být přítomna aditiva (například polybutyladipát) je možné pozorovat více-
stupňovou degradaci právě vlivem těchto aditiv. [28; 29; 30] Tepelná degradace PHB by mohla být řízena koncovými skupinami polymeru. Kawalec a kol. zkoumali dva stejné vzorky PHB se stejnou molekulovou hmotností, jeden s karboxylátovou a druhý s karboxylovou koncovou skupinou. V případě přítomnosti karboxylátové soli na konci řetězce došlo ke snížení teploty tání z 289 °C na 225 °C a v případě karboxylové kyseliny na konci řetězce nedošlo k žádné významné změně v teplotě tání. Zároveň bylo zjištěno, že takticita neměla vliv na tepelnou stabilitu polymeru. [31] Tocháček a kol. zmiňují, že během extruze při teplotách 180–190 °C nedochází k radikálovému štěpení. [32] Některé studie uvádí, že mechanismus tepelného rozkladu PHB probíhá zejména náhodným štěpením řetězce cis-eliminací, která vede ke snížení molekulové hmotnosti a probíhá mezi 170 °C až 200 °C, případně neradikálovým náhodným štěpením řetězce. [28; 33; 34; 35] Na obr. 3 je znázorněn mechanismus cis-eliminace, kde mimo jiné dochází i k tvorbě kyseliny krotonové. [28; 33; 34; 35] Galego a Rozsa došli k závěru, že tato kyselina působí při tepelné degradaci jako autokatalyzátor. [36] Ke stejnému závěru došli i Nguyen a kol. [37] Tyto hypotézy jsou založeny na velkých rozdílech mezi teoretickými a experimentálně naměřenými aktivačními energiemi β-degradace stanovenými při pyrolýze. Tyto hodnoty se nachází v rozmezí 110 až 380 kJ/mol. Také koncové skupiny řetězce polyhydroxybutyrátu urychlují reakci, kdy krotonylová koncová skupina reaguje s esterovou vazbou řetězce a probíhá β-eliminace. Degradace začíná nekatalytickou náhodnou degradací a postupně přechází k autokatalytické degradaci. [28, 38]



Obr. 3: Mechanismus tepelného rozkladu PHB cis-eliminací. [28; 33; 35]

2.3 Specifika 3D tisku kompozitů na bázi poly(3-hydroxybutyrátu) (PHB)

PHB snadno degraduje při zpracování taveniny, tedy již při výrobě filamentu pro FDM 3D tisk. [27] Tento jev se projevuje změnou barvy materiálu, kdy se z bílé přemění na hnědou taveninu a dochází k velmi prudkému poklesu molekulové hmotnosti, což zvýší křehkost daného materiálu po jeho zpracování. [27] Bez přídavku přísady do PHB v extrudéru dojde k výraznému snížení viskozity a po ochlazení je vytištěný vzorek velmi křehký. [27] Tepelně stabilnější a výhodnější je kopolymer poly3-hydroxyvalerát (P3HBV), avšak kompozit s touto maticí vykazoval špatnou kompatibilitu rozhraní mezi maticí a výztuží, což se projevilo negativně na jeho mechanických vlastnostech. Směs PLA až do 20 % příměsi PHA vykazuje lepší tažnost filamentu díky rovnoměrné distribuci fáze PHB v matici PLA. [27; 39; 40] Výsledná krystalická morfologie potlačí křehkost čistého PLA a kompozit vykazuje lepší rázovou houževnatost. [27; 39; 40] Semikrystalický polymer prochází během zpracování procesy jako je tavení, tuhnutí, krystalizace a různé tepelné změny. Veškeré tyto procesy se projeví nejčastěji smrštěním výrobku, případně vedou k mechanickým defektům vytištěného vzorku. [27; 41; 42; 43] Během 3D tisku tělesa z PHB je pak nutné vybrat správné parametry jako jsou struktura vnitřního a externího vzorku, teplota tisku, teplota podložky, orientace tisku, výška vrstvy, tloušťka trysky. Pro zlepšení zpracovatelnosti a mechanických vlastností tištěného výrobku se do směsi z PLA/PHB přidávají různá změkčovadla. [27; 41; 42; 43]

Bylo zjištěno, že směsi PHB/PLA, které jsou v poměru 90/10 % a 70/30 % a byly podrobeny diferenční kompenzační kalorimetrii, vykazovaly nižší teplotu tání, než samotný PHB díky částečné kompatibilitě PHB a PLA. [24] Při složení 70/30 % se na výstupu závislost tepelného toku na teplotě objevil malý endotermní vrchol, který značí vyšší stupeň kompatibility a mísitelnosti této směsi. [24] V jedné studii byl jako plastifikátor použit polypropylenglykol, který zvýšil mobilitu polymerních řetězců a v PHB narušil tvorbu krystalů, což také snížilo teplotu tání materiálu. [24] Plastifikátor zároveň zabraňuje degradaci PHB. [24] Přídavek většiny změkčovadel vede ke snížení teploty skelného přechodu směsi, vyšší flexibilitě a lepší zpracovatelnosti. Díky některým změkčovadlům je dokonce možné dosáhnout lepších mechanických vlastností směsi. [44, 45] Výše zmíněné směsi vykazovaly nejlepší extruzi a průtok při teplotách extrudéru 180–220 °C. Mechanické vlastnosti takové směsi pak velmi závisely na tisknutelnosti, respektive tekutosti při dané teplotě extrudéru. Směsi PHB/PLA v poměru 90/10 % vykazovaly nižší pevnost v ohybu i nižší modul pružnosti, přičemž směs PHB/PLA v poměru 70/30 % naopak vykazovala vyšší pevnost i modul pružnosti, než je tomu v případě samotných polymerů. [24] Přídavek změkčovadel do směsi PHB/PLA vedl ke snížení warping koeficientu při použití 15 hm. % změkčovadla, a rovněž se projevil jeho pozitivní vliv na tisknutelnost a stabilitu těles vytištěných z tohoto filamentu a tělesa vykazovala vyšší rázovou houževnatost a tažnost. [44; 45]

Ve studii Gonzalese a kol. bylo zjištěno, že po vytištění tělesa nedošlo ke změně molární hmotnosti, jak v horizontálním, tak vertikálním směru, a nedošlo tak k významné degradaci polymerní směsi. [46] Na FTIR analýze byl pozorován mírný posun k vyšším vlnovým číslům

u karbonylové skupiny, to značí nárůst krystalické fáze po vytištění filamentu. Tento nárůst krystalické fáze je výraznější ve vodorovných směrech při 3D tisku. To znamená, že 3D tisk vede k orientaci struktury. [46] Bylo zjištěno, že i doba kontaktu s podložkou ovlivňuje krystalickou fázi směsí a jejich následnou biologickou odbouratelnost. [46] Poly(3-hydroxybutyrát) je hydrofobnější, než kyselina polymléčná a snižuje rychlost degradace a také vede ke zvýšení krystalinity systému PHB/PLA. [46] Se zvyšující se výškou tištěného tělesa docházelo k nižší rychlosti krystalizace kvůli nižší teplotě než na zahřáté podložce, na kterou je těleso tištěno. Vlivem teplotního gradientu se liší stupeň krystalizace v závislosti na výšce vzorku s tím, že nejnižší krystalinita je na nejdálší vrstvě od zahřáté podložky. [46] Také se ukázalo, že ve vyšších vrstvách byla slabší soudržnost mezi tištěnými vrstvami a vzorek vykazoval vyšší stupeň hydrolytické degradace. [46] Čisté směsi PHB/PLA mohou být křehké a tuhé se špatnými mechanickými vlastnostmi a především tažností. [47] Přídavek změkčovadla na bázi netěkavých nízkomolekulárních sloučenin může tyto vlastnosti zlepšit, neboť snižuje teplotu tání, teplotu skelného přechodu, snižuje deformační napětí, hustotu, tvrdost a viskozitu, odolnost vůči lomu a odolnost proti biologické degradaci, případně flexibilitu polymerů. [47] V kombinaci s těmito polymery jsou zkoumána změkčovadla na bázi kyseliny adipové, fosforečné a citronové a další nízkomolekulární estery. [47]

Melčová a kol. testovali vlastnosti filamentu na bázi P3HB/PLA modifikovaným biokeramikou fosforečnanu vápenatého, kde byl porovnán vliv dvou změkčovadel. [48] Byly porovnány Citroflex (n-butyryl tri-n-hexyl citrát) a Syncroflex (oligomerní adipátový ester), obě v množství 12 %, kdy Citroflex vykazoval velmi dobrý změkčovací účinek, avšak horší vlastnosti z hlediska jeho tisknutelnosti, a špatné biologické vlastnosti při testování *in vitro*. [48] Syncroflex vykazoval lepší warping a nevykazoval cytotoxicitu a dále vykazoval vhodnou biokompatibilitu. Při tahovém namáhání však biokompozit se Syncroflexem dosahoval vysoké tažnosti, což může být vlivem nežádoucí reakce trikalciem fosfátu, který je citlivý na kyseliny. [48] V případě pevnosti v ohybu dosahoval lepších hodnot biokompozit s Citroflexem. Jako nejvhodnější teplota trysky pro tisk biokompozitů byla v obou případech teplota 190–195 °C s tokem tiskového materiálu 100 %, u Citroflexu pak s tokem tiskového materiálu 90 %. Zároveň byl Citroflex pomocí termogravimetrické analýzy vyhodnocen jako těkavější. Dále bylo zjištěno, že modul pružnosti v tahu je vyšší u vzorku s plnivem na bázi tricalciumfosfátu, avšak s větší statistickou chybovou odchylkou, přičemž jeho pevnost v tahu je nižší. To lze případně vysvětlit nehomogenitou způsobenou přítomností krystalků tricalciumfosfátu. [48]

Findrik Bolagová a kol. zkoumali biodegradaci polymerní směsí na bázi PLA/PHB za použití triacetinu jako změkčovadla za podmínek, které napodobují skutečný organismus. [49] U 3D vytištěných vzorků ze směsí s koncentrací triacetinu 0, 5 a 10 % byly sledovány vlastnosti jako absorpce, ztráta hmotnosti, změna morfologie a mechanické vlastnosti tištěných vzorků. Vzorky byly ponořeny do fyziologického roztoku, fyziologického roztoku pufrovaného fosfátem a do Hankova roztoku (tzv. roztok bez vápníku a hořčíku). Teplota byla udržována vždy při 37 °C

a pH roztoků bylo 7,4. Vyšší absorpci, tedy vyšší zvýšení hmotnosti vzorku, vykazovaly více porézní vzorky a také ty s vyšším obsahem plastifikátoru, a to jak ve fyziologickém roztoku, tak v roztoku pufrovaném fosfátem. Naopak v Hankově roztoku, ve kterém probíhala absorpce tekutiny nejhůře, absorbovaly nejvíce roztoku vzorky bez změkčovadla, a to jak kompaktní, tak porézní. [49] Povrchové trhliny a změna barvy byly patrné u většiny vzorků vyjmutých z roztoků. Vlivem tepla, účinkem roztoků a změkčovadel se na spodní straně vytvořila nová tenká vrstva materiálu. Díky vytvoření této tenké vrstvy bylo u kompaktních vzorků bez obsahu změkčovadla pozorováno výrazné zmenšení šířky tištěného perimetru a po vyjmutí z roztoků se na povrchu projevívaly trhliny a bubliny. U porézních vzorků bylo patrné zvětšení šířky mřížky, a to ve všech třech roztocích a k rozšíření vzdálenosti mezi vlákny. V případě fyziologického roztoku došlo vlivem blokových trhlin po vysušení u kompaktních vzorků k tomu, že vykazovaly vyšší hodnotu deformace oproti porézním. [49] U fosfátem pufrovaného vzorku tomu bylo naopak, a změkčovadlo mělo ve všech případech negativní vliv na mechanické vlastnosti vzorků. [49] Bylo zjištěno, že nejvyšší úbytek hmotnosti nastal u vzorků s 10% koncentrací triacetinu. I přes vysokou odolnost PHB vůči nízkému pH je tedy vzorek tištěného kompozitu po dlouhé době schopen úplného rozkladu v organismu. [49]

Ni a Wang vyhodnocovali biodegradaci směsi PHB/HA v roztoku simulované tělesné tekutiny při 37 °C po dobu 2 týdnů, 1 měsíce, 2 měsíců a 4 měsíců pomocí SEM a DMA analýzy. [50] U všech vzorků došlo k růstu minerálních krystalků již po 1 dni a po 7 dnech byla vrstva výrazná a hladší, po 2, 4 a 8 týdnech byla morfologie minerální vrstvy velmi podobná. [50] Na dynamicko-mechanické analýze pak odhalili, že elastická složka ztrátového modulu nejprve rostla, a to díky tvorbě apatitu na povrchu. Po více než 2 měsících došlo k poklesu vlivem degradace tohoto kompozitu, především PHB. [50]

2. 4 Význam příměsi β -Tricalcium fosfátu v PHB kompozitech

β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ neboli β -TCP se vyznačuje vynikající biodegradací a resorpcí, proto je často používán pro regeneraci tvrdých tkání (kost), kde je resorbován a nahrazen novou kostní tkání. [51; 52; 53] Jeho nevýhodou je, že je špatně slinovatelný a nemá dobré mechanické vlastnosti, ve formě prášku málo odolává vůči šíření růstu trhlin v polymerní matici. [54] Shabnam Shahi a kol. zlepšovali mechanické vlastnosti β -TCP připraveného sol-gel metodou, s velikostí částic menší než 100 nm, pomocí povlakování PHB. [55] Z něj pak připravovali skafoldy s velikostí pórů 300-500 μm . Zvýšením hmotnostního procenta β -TCP došlo v jejich studii u připravených skafoldů ke zvýšení jejich pevnosti v tlaku. Konkrétně u vzorků s obsahem 40 hm.% TCP se pevnost v tlaku pohybovala okolo 0,2 MPa, zvýšením na 50 hm% došlo ke zvýšení pevnosti v tlaku na 0,5 MPa a v případě 60 hm % se pevnost v tlaku pohybovala okolo 1 MPa. Hodnoty modulu pružnosti vzorků vykazovaly poněkud jiný trend, s tím, že u vzorků s nejmenším obsahem TCP dosahoval modul pružnosti 16,1 MPa, dále pak 17,2 MPa a modul pružnosti

u posledních vzorků s obsahem 60 hm % se pohyboval okolo 17,9 MPa. [55] Na transmisním elektronovém mikroskopu pak vykazovaly povlakované částice hladší povrch. [55] V simulované tělesné tekutině pak vykazovaly i vyšší bioaktivitu. Z hlediska bioaktivity vzorků autoři zjistili, že v simulované tělesné tekutině u vzorků PHB/TCP se objevily krystalky hydroxyapatitu již po 4 týdnech a že se v čase jejich koncentrace zvyšovala, a zároveň rostla koncentrace Ca^{2+} a PO_4^{3-} iontů, což vedlo k výhodné nukleaci dalších krystalků. [55] Po dvou měsících došlo ke zvýšení hmotnosti TCP/PHB kompozitu o 4%, v porovnání s β -TCP, který vykazoval nárůst hmotnosti až 9%. Skafoldy nevykazovaly žádné cytotoxické účinky, byť došlo k mírnému snížení pH v PBS roztoku, pravděpodobně vznikem hydrolytických produktů PHB, a to kyseliny krotonové a 3-hydroxybutyrátové kyseliny. Tento pokles byl ovšem kompenzován rozpouštěním alkalických iontů z trikalciumfosfátu. [55]

Sima a kol. prováděli výzkum materiálu složeného z PHB, chitosanu a β -Tricalcium fosfátu a zkoumali jak fyzikální, mechanické tak biologické vlastnosti nanokompozitního skafoldu. [56] Přítomností keramické nanočástice lze dosáhnout zlepšení mechanických vlastností tištěného vzorku, díky vysoké povrchové energii nanočástic. Vlivem iontových skupin přítomných v těchto keramických nanočásticích lze dosáhnout vyšší roztažnosti materiálu, pokud však nedojde k aglomeraci částic uvnitř polymeru a k zeslabení vazby mezi nanočásticemi a polymerní maticí. [57; 58] Tyto aglomerační body mohou způsobit koncentraci napětí v jednom místě tištěného vzorku a mohou být iniciátorem trhliny v materiálu. [59] Ve studii Sima a kol. bylo zjištěno, že přidavkem β -Tricalcium fosfátu došlo u vzorků obsahujících od 5 do 7,5 hm % β -Tricalcium fosfátu ke zvýšení jejich pevnosti v tlaku z 5,8 MPa na 9,4 MPa, zatímco u vzorků obsahujících od 7,5 do 10 hm % β -Tricalcium fosfátu došlo ke snížení jejich pevnosti v tlaku na 4 MPa, a to vlivem aglomerace nanočástic. [56] Stejný trend byl pozorován u modulu pružnosti v tlaku, kde docházelo nejprve k jeho nárůstu z hodnoty 0,7 MPa na hodnotu 1,52 MPa, a poté k poklesu na hodnotu 0,6 MPa. [56] Tito autoři rovněž prováděli test biodegradace, kde u vzorků s vyšším obsahem β -Tricalcium fosfátu docházelo k vyššímu úbytku hmotnosti. [56] Pro sledování degradace byly použity vzorky o velikosti $1 \times 1 \text{ cm}^2$ vložené do 5ml lahvíček s fosfátovým pufrům a umístěné do inkubátoru o teplotě 37 °C. [56] Degradáční testy byly prováděny podle normy ASTM-F1635. Nejrychleji docházelo k degradaci u vzorku PHB/Cs s obsahem 7,5 hm% nanočástic, kdy došlo po 90 dnech ke ztrátě 30% hmotnosti a bylo pozorováno i snížení pH v roztoku. Po 90 dnech došlo k vytvoření trhlin procházejících celou strukturou vzorku a došlo ke zborcení jeho struktury. [56] β -Tricalcium fosfát byl příčinou větší křehkosti skafoldu a na vláknech tištěného vzorku se objevily malé krystalické částice apatitu, a to vlivem bioaktivity a fosfátových iontů v tekutině. [56] PO_4^{3-} skupiny se mohou vázat na karbonylovou skupinu poly(3-hydroxy butyrátu) vodíkovou vazbou za vzniku hydroxylových skupin, které způsobí urychlení degradace, neboť zahájí hydrolýzu ve vodném prostředí. [56]

2. 5 Tisk 3D anatomického modelu segmentu diafýzy femuru vytvořeného podle CT obrazu skutečného femuru

Komerčně vyráběné umělé kosti, mohou být připravovány na bázi β -Tricalcium fosfátu a kolagenu, případně chitosanu, a to jako polymerní matrice, avšak mají nízkou biomechanickou odolnost a modul pružnosti, špatné řízení struktury a vykazují nadměrnou osteokondukci, která může vyvolat ztrátu funkcí původní kosti. Umělé kosti, které přesně napodobují jak chemické složení (anorganická/organická část) a také strukturu kortikální a spongiózní kosti nebyly vyvinuty. [60, 61] Uměle vytvořené kosti by měly mít také podobné biomechanické a tvarové vlastnosti jako kost skutečná, a to z důvodu snížení pravděpodobnosti vzniku kostních defektů v podobě fraktur kosti při její novotvorbě během hojení defektu kostní tkáně. [62] Při modelování budoucích implantátů jakožto náhrady defektů kostní tkáně lze s úspěchem využít počítačovou tomografii (CT – computed tomography). Z pohledu vytvoření co do tvaru přesného anatomického modelu segmentu femuru podle CT obrazů femuru (ve formátu. STL) s různými variantami vnitřních struktur v místě kompakty a spongiózy reálné kosti, s následným 3D tiskem těchto modelů kostí, včetně stanovení jejich pevnosti v tlaku, byly zjištěny nadějně výsledky pro budoucí možnou přípravu implantátů požadovaných pro náhradu tkáně v místě rozsáhlých kostních defektů. [84] FDM 3D tisk modelů kostí na základě obrazů skutečné kosti pacienta vytvořených pomocí počítačové tomografie, jakožto moderní zobrazovací metody hojně využívané v medicíně, se jeví jako vhodná metoda pro vytvoření počítačového návrhu modelu kosti, který následně představuje relativně přesnou předlohu pro výrobu vlastních umělých kostí, které by v závislosti na materiálu zvoleném k 3D tisku mohly současně napodobit jak chemické složení, tak strukturu reálné kosti. Například Xu a kol. použili k tisku diafýzy stehenní kosti kozy FDM 3D tiskárnu a její CT obraz jakožto předlohu pro vytvoření stl. formátu se zachováním maximálního strukturního detailu spongiózní a kompaktní kosti. Jako materiál použili polykaprolakton a hydroxyapatit. [61]

Po vytištění Xu a kol. podrobili vzorky kompresním, *in vitro* a *in vivo* zkouškám a rovněž byla zjištěna porozita vytištěného vzorku v roztoku 10 ml ethanolu podle vzorce:

$$\text{porozita (\%)} = \frac{(V_1 - V_2)}{(V_1 - 10)} \cdot 100 \quad (1) \quad [61]$$

kde V_1 je objem ethanolu v odměrném válci a V_2 je přírůstek objemu kapaliny po ponoření vzorku do ethanolu. [61] Na SEM mikroskopu byla viditelná struktura podobná spongiózní kosti, která byla vymodelována pomocí CT obrazu a zjistili, že velikost pórů se pohybovala okolo $765 \pm 83 \mu\text{m}$, a tloušťka tištěných vláken činila okolo $280 \pm 33 \mu\text{m}$ a porozitu vypočítali na hodnotu $26 \pm 8 \%$. Větší pevnost v tlaku a modul pružnosti v tlaku vykazoval femur dospělé kozy v porovnání s uměle vytvořenou kostí na bázi PCL/HA. [61] To je způsobeno menší pevností polykaprolaktonu v porovnání s pevností kostní tkáně a také strukturou tištěné spongiózní kosti která výrazně snížila pevnost v tlaku. Prokázali, že jejich vytištěné umělé kosti na bázi PCL/HA byly dobře tvarovatelné a biomechanikou se přiblížili reálné kosti právě díky přesnému napodobení kortikální a spongiózní kosti pomocí CT skenu a FDM 3D tiskárny. [61]

2.6 Gyroidní struktura a její vliv na mechanické vlastnosti těles při 3D tisku

Gyroidní struktura je trojrozměrná síť, která se skládá z jednotek vytvořených ze čtyř styčných bodů. Vyznačuje se dobrou absorpcí mechanické energie, robustností a dobrou difúzí živin díky vysoké porositě. Velká povrchová plocha této struktury umožňuje velmi dobrý kontakt v místě kosti a implantátu, a tím zajišťuje snadné rozhraní pro následné vrůstání novotvořené kosti do gyroidní struktury skafoldu. [62; 63; 64] Nízké smykové napětí gyroidní struktury, zvyšuje růst tkáně uvnitř implantátu, přičemž pro lidské tkáně se pohybuje okolo 0,015 Pa. Tvar gyroidní struktury má nízké smykové napětí díky jejím zakřiveným plochám, a proto se tato jeví jako vhodná pro tisk skafoldů. Mechanické vlastnosti gyroidní struktury velmi ovlivňuje poměr dutin. [65]

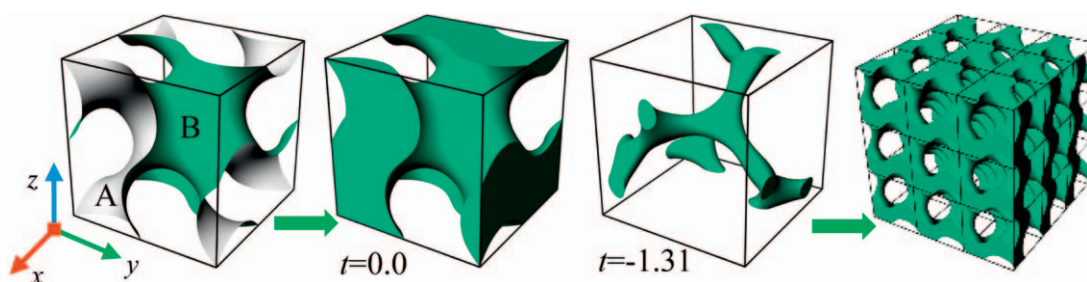
Mezi přednosti gyroidní struktury patří, že její jednotlivé buňky jsou spojitě a póry otevřené, což umožňuje snadné odstranění nadbytečného prášku v případě tisku kompozitního materiálu především u kombinace pryskyřice a prášku při SLA 3D tisku. [66] Další výhodou je, že nejsou při tisku zapotřebí žádné podpěrné konstrukce a specifická tato struktura dále spočívá v tom, že zajišťuje nízkou relativní hustotu těles se zachováním vysoké pevnosti na rozdíl např. od diamantových struktur nebo tzv. Schwarz struktur. [66] Li a kol. prováděli popis gyroidní struktury s typickým trojitým periodickým úrovnovým povrchem, který se vyskytuje i v přírodě. [67] Struktura je popsána skalárními funkcemi tří nezávislých proměnných, jenž můžeme považovat za souřadnice x, y, z v euklidovském prostoru. [67]

Rovnice pro vyjádření povrchu gyroidu je popsána pomocí trigonometrických funkcí, kde $F: \mathbb{R}^3 \rightarrow \mathbb{R}$ v bodech A_i o souřadnicích (x, y, z) [67]:

$$F_{gyroid} = \sin\left(2\pi\frac{x}{L}\right) \cdot \cos\left(2\pi\frac{y}{L}\right) + \sin\left(2\pi\frac{y}{L}\right) \cdot \cos\left(2\pi\frac{z}{L}\right) + \sin\left(2\pi\frac{z}{L}\right) \cdot \cos\left(2\pi\frac{x}{L}\right) - t \quad (2) \quad [67]$$

kde L charakterizuje délku kraje krychlové jednotky gyroidu a t je parametr hladiny, respektive proměnná, která určuje objemový zlomek prázdné oblasti oddělené materiálem. [67]

Matematické vyjádření má největší význam při generování struktur před vytvořením CAD modelu. Většinou platí, že se zvyšujícím se parametrem hladiny roste pak objemová frakce helikální oblasti, také lineárně roste relativní hustota; naopak v případně záporného parametru hladiny klesá objemová frakce viz. obr. 4 [67]



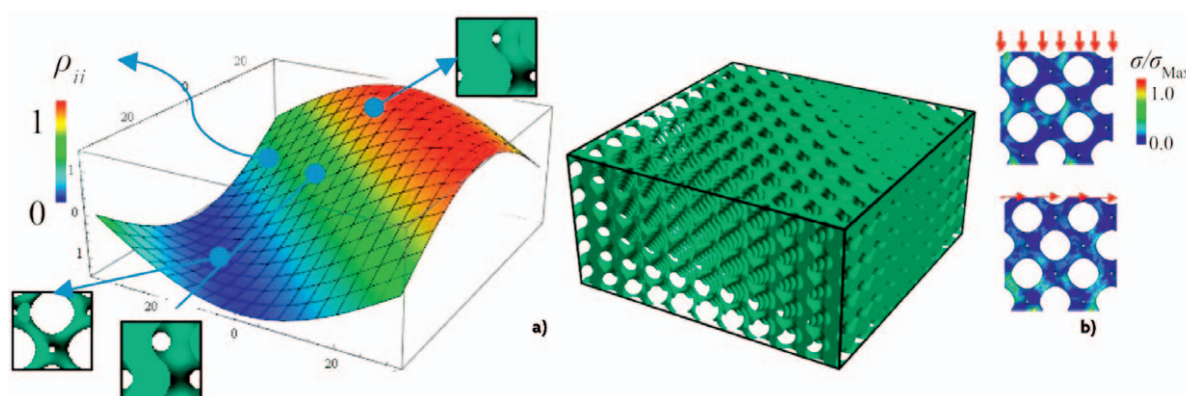
Obr. 4: Geometrie gyroidních struktur s různými relativními hustotami: a) povrch gyroidu pro $t=0$ b) jednotková buňka gyroidu pro $t=0$ c) a d) buňka gyroidu a pole buňek gyroidu pro $t=-1,41$. [67]

Funkcí relativní hustoty jsou modul pružnosti, smykový modul a mez kluzu buněčných struktur podle Gibson-Ashbyho modelu, [68; 69] kdy se tyto funkce nazývají škálovací zákony; v případě modulu pružnosti má škálovací zákon následující tvar: [67; 68; 69]:

$$f(\rho_r) = \frac{E_c}{E^*} (3) \quad [67; 68; 69]$$

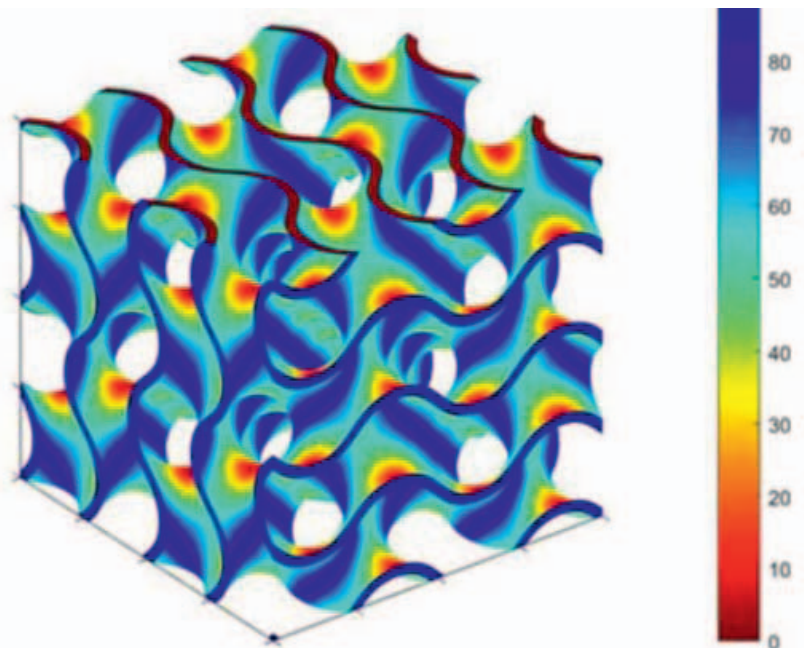
kde E_c je modul pružnosti buněčná struktury a E^* základního materiálu a $f(\rho_r)$ je polynom relativní hustoty. [67; 68; 69]

U gyroidní struktury by měly být její povrch i uzly hladké, při zatížení ve směru osy z je pak jev koncentrace napětí menší, než u jiných struktur a je možné zamezit kolísání tuhosti struktury. Na obr. 5 a) je znázorněno mapování hustoty struktury a na obr. 5 b) rozložení napětí při tlakovém zatížení ve směru osy z a smykové zatížení ve směru osy y. [67]



Obr. 5: a) Diagram materiálových vlastností při mapování mechanických vlastností b) Rozložení napětí gyroidní struktury při tlakovém zatížení ve směru osy z a smykové zatížení ve směru osy x. [67]

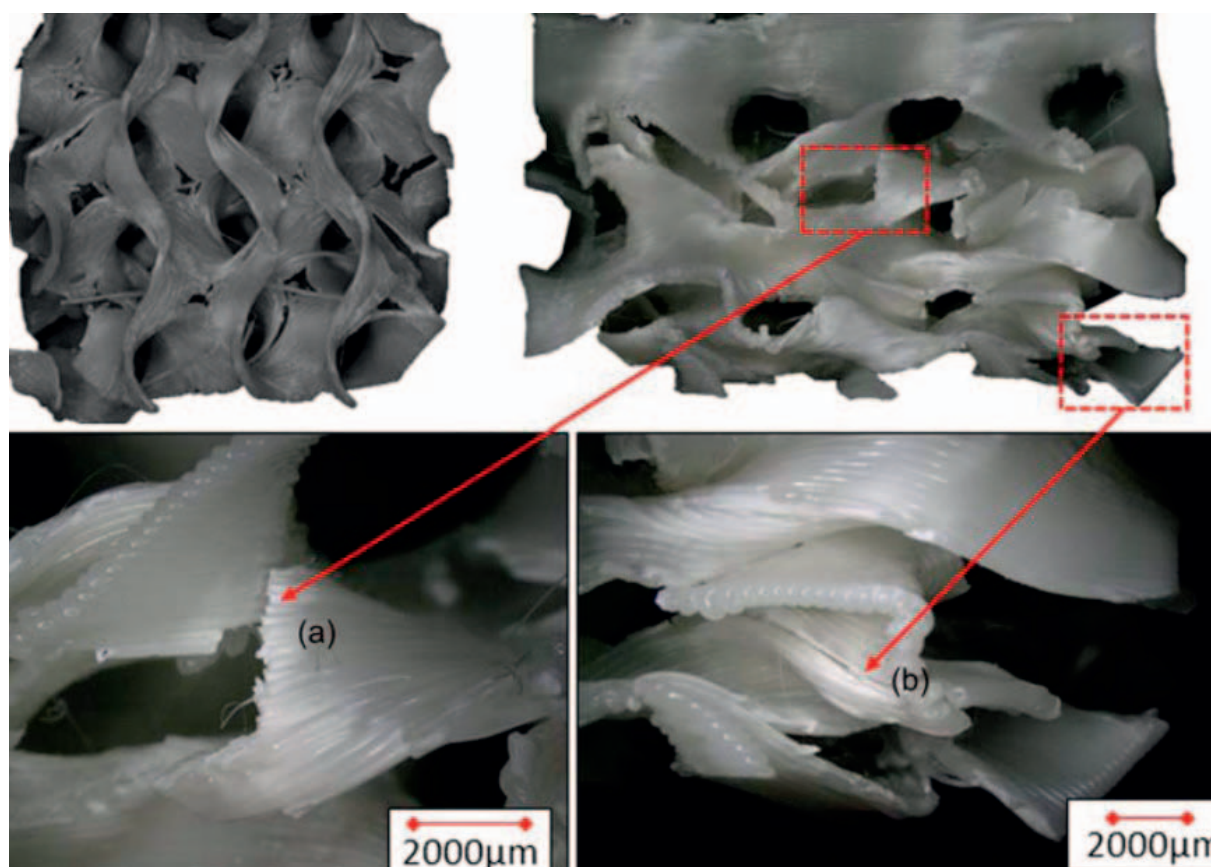
Maskery a kol. zkoumali tlakové chování gyroidu vyrobeného z hliníku a křemíku metodou selektivního laserového tavení-SLM (metoda 3D tisku založená na slinování kovového prášku laserem) a zjistili, že mechanismus selhání gyroidních struktur je silně závislý na velikosti buněk, a proto se doporučují používat menší buňky gyroidu, při větším počtu buněk. [70] To v případě technologie FDM znamená nutnost použít větší hustotu vyplnění, aby se zamezilo selhání struktury při nízkém napětí v důsledku lokalizovaného lomu a šíření trhliny [70]. Yang a kol. popsali rozložení sklonu úhlu gyroidních buněk napříč strukturou a ukázalo se, že existují pouze malé lokální oblasti, které mohou být iniciátorem trhliny ve struktuře tělesa, jež mohou v důsledku způsobit velké defekty této struktury. [71] Velikosti těchto oblastí závisí především na tloušťce tištěné vrstvy, kterou si každý specifikuje před tiskem. Ukázalo se, že menší tloušťka vrstvy vede k lepšímu rozložení napětí mezi těmito oblastmi vrstev. (viz obr.6) Také parametry nastavené při FDM tisku mohou výrazně snížit mechanickou odolnost tištěných těles [72].



Obr. 6: Identifikace úhlu sklonu a oblastí náchylné k velkým defektům při úhlu sklonu <30 stupňů. [72]

Nejčastěji se vyskytují úhly sklonu mezi gyroidními buňkami okolo 55° a nejméně častý je úhel sklonu okolo 0° . [71; 72] V místech, kde dochází k propletení jednotlivých povrchů dochází k vyboulení tištěné struktury tělesa. Při nižším objemovém vyplnění vnitřní struktury 3D tištěného tělesa dochází k prodloužení lineárně-elastické oblasti na křivce závislosti napětí na deformaci, a také dochází k dosažení vyšších deformací v místech maximálního napětí. Jejich navržená struktura splňuje kritéria pevnosti lidské kortikální kosti s konečnou pevností v tlaku nad 300 MPa. [71]. Maconachie a kol. zkoumali vliv počtu buněk gyroidu a vliv tloušťky stěny gyroidu, respektive vliv porozity gyroidních struktur, vyrobených formou FDM 3D tisku z filamentu ABS na mechanické vlastnosti vytištěných těles při jejich tlakovém zatížení. [72] Teplota podložky při tisku byla v jejich případě udržována na hodnotě 90°C a u tištěného materiálu docházelo před ztuhnutím v místech bez podpory k propadu či jiné deformaci tištěného tělesa. S rostoucím počtem elementárních buněk gyroidu se snižoval počet těchto nepodepřených oblastí a snížil se výskyt uvedených defektů. Bylo zjištěno, že tělesa vytištěná s menší tloušťkou stěny gyroidu a s menším počtem buněk gyroidu uvnitř struktury tělesa se porušují při tlakovém zatížení nejčastěji ve spodní části tělesa, a to v horizontální rovině, kdy toto porušení struktury ve spodních vrstvách vytištěného tělesa je způsobeno jednak málo pevným spojením mezi jednotlivými vrstvami tištěného vlákna a jednak nerovnostmi okrajů jednotlivých vrstev tištěného vlákna daného materiálu při 3D tisku tělesa metodou FDM. [72] Tělesa vytištěná s větší tloušťkou stěny gyroidu a s menším počtem buněk gyroidu uvnitř struktury tělesa vykazují při tlakovém zatížení trhliny probíhající tělesem spíše ve vertikálním směru, než horizontálně (jak je tomu v případě malého počtu buněk gyroidu a malé tloušťky stěny gyroidu). Naopak vzorky těles s větším počtem buněk gyroidu a větší tloušťkou stěny gyroidu (tedy s menším počtem pórů v jejich vnitřní struktuře) vykazují tzv. „soudkovatění“ neboli

barrel-effect. [72] Tyto výsledky naznačují, že na mechanické vlastnosti gyroidu z ABS vyrobeného technologií FDM má vliv především geometrie výsledného tělesa s gyroidní strukturou (tj. počet buněk gyroidu a tloušťka jeho stěny), než samotný výrobní proces založený na technologii FDM. Jinak řečeno, při tlakovém zatížení takto vyrobených 3D těles s vnitřní strukturou gyroidu se na jejich pevnosti a odolnosti proti působení sil tlaku nijak významně neprojeví nedostatky výrobního procesu FDM tisku (při němž může docházet k menší pevnosti spojení mezi jednotlivými vrstvami tištěného vlákna a k nerovnoměrnosti okrajů jednotlivých vrstev tištěného vlákna), ale větší odolnost těchto 3D těles proti tlakovým silám je dána větším počtem buněk gyroidu a větší tloušťkou stěny gyroidu. [72] Přitom platí, že z uvedených dvou parametrů dodá vytištěným tělesům větší odolnost proti působení sil tlaku zvětšující se tloušťka stěny gyroidu. Současně platí, že v případě tloušťky stěny gyroidu 0,3 mm méně signifikantně klesá schopnost vytištěných těles odolávat působení tlaku. [72] Během působení tlakového zatížení na vytištěný vzorek gyroidu se rovněž přeuspořádávají a protahují jeho polymerní řetězce, až dojde k jejich porušení, a během tohoto tlakového zatěžování se na struktuře mechanicky testovaného vzorku se strukturou gyroidu v důsledku působících sil stříhu objeví nejprve tzv. smykové pásy v podobě bílých linií (což značí, že daný materiál dosáhl své maximální odolnosti proti působícím silám) a následně dojde k porušení jeho struktury. [72; 73]



Obr. 7: Oblasti porušení 3D tištěné struktury gyroidu při působení tlakového zatížení a) zlomená vlákna b) rozpojení vláken mezi natištěnými vrstvami. [72]

Z obrázku 7 je patrné, že příčinou mechanického selhání vytištěného gyroidního tělesa při jeho tlakovém namáhání je zlomení vláken gyroidu, nikoliv selhání adheze mezi natištěnými vlákny vzorku, jež souvisí s výrobní technologií vlastního FDM tisku. [72] Jak tlustší stěna gyroidu, tak i větší počet buněk v gyroidu vytištěného vzorku, zvyšují plochu navzájem propletených gyroidních vláken a vzorek je proto schopen odolat většímu zatížení. Při tisku tedy dochází i ke zvýšení množství (objemu) vytištěného materiálu. Avšak ani jeden z výše uvedených parametrů nepostačuje k tomu, aby bylo možno předpovědět sílu únosnosti gyroidu. Odolnost vytištěného tělesa s vnitřní strukturou gyroidu při jeho opakovaném tlakovém zatížení může zlepšit jeho vyrovnání s rovinou podložky, na které je zatěžováno, což následně může vést ke zvýšení tuhosti vytištěného tělesa. [72]

Při porovnání výsledků mechanického testování těles s gyroidem, kdy se zvyšuje počet buněk gyroidu a také tloušťka stěny gyroidu, bylo oproti očekávání zjištěno, že se mechanické vlastnosti těchto vytištěných gyroidních těles zlepšují při zvyšující se porozitě gyroidu, neboť tuhost i modul pružnosti rostou se zvyšující se pórovitostí vytištěného 3D tělesa, což je dáno skutečností, že se při tisku tělesa s větším počtem gyroidních buněk a větší tloušťce jeho vláken zvětšilo také množství (objem) vytištěného materiálu, který v důsledku toho pak lépe odolává deformaci a porušení struktury tělesa. [72] Avšak při větší prostorové složitosti vnitřní struktury tištěného objektu a velkého množství materiálu v každé vrstvě se zvýší také možnost vzniku dutin uvnitř, protože se tiskne více buněk gyroidu, mezi kterými je více dutin. Vnitřní prostorová složitost (detail) tištěného objektu se zvyšuje a v tištěném objektu vzniká více „prázdných míst“, než by tomu u těles s nižším počtem buněk gyroidu.

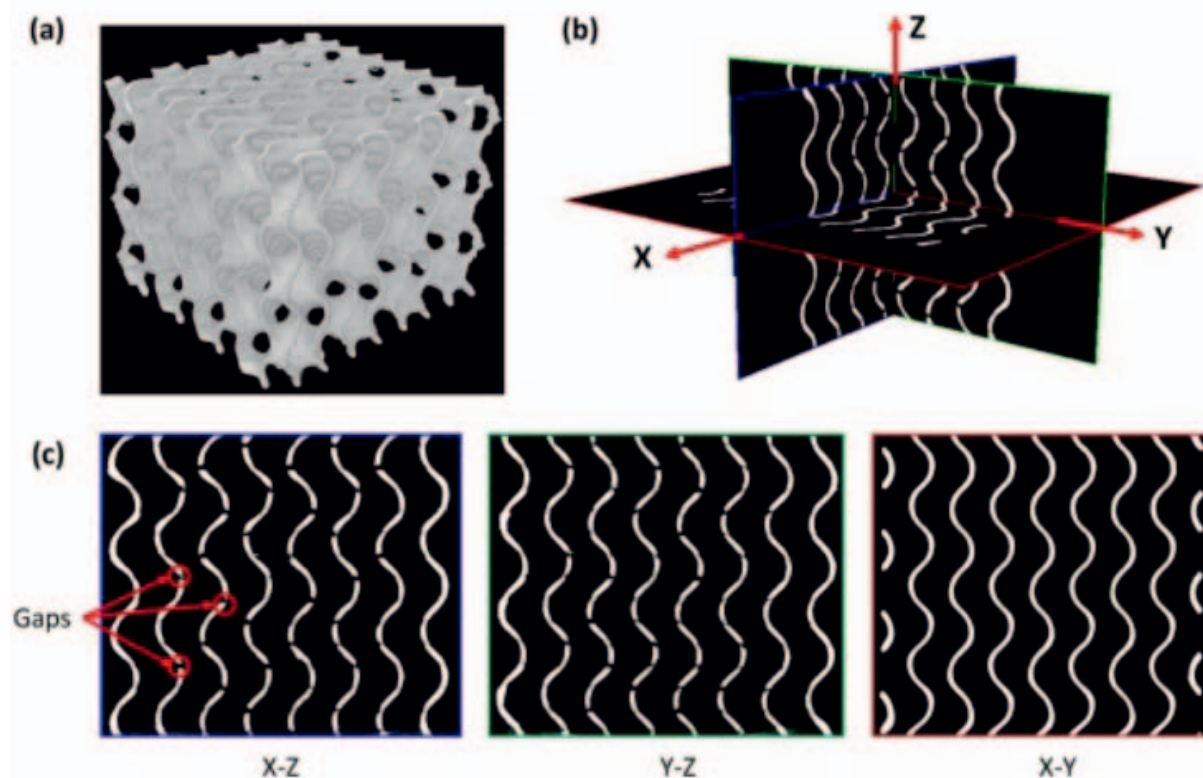
Nicméně větší množství tištěného materiálu, a tím i větší výsledný objekt, má za následek zlepšení mechanických vlastností tištěného vzorku a ve výsledku dominuje jeho geometrie (tedy tloušťka vlákna gyroidu, která je u FDM 3D tisku závislá na velikosti trysky a také počtu gyroidních buněk uvnitř objektu) a tzv. topologie (topologický prostor tělesa, který nezávisí na geometrii, ale vzdálenosti, křivosti a podobně), spíše než vlastnosti materiálu použitého k tisku. [72] Bylo rovněž prokázáno, že Gibson-Ashbyho matematické modely [68; 69] umožňují spolehlivě předpovědět relativní hustotu uzavřených a otevřených buněk gyroidu na základě znalosti celkového počtu buněk uvnitř gyroidu, tloušťky stěny gyroidu a délky hrany krychlové struktury. Bylo zjištěno, že tloušťka stěny gyroidu má větší vliv na relativní hustotu gyroidu, a také na jeho mechanické vlastnosti oproti počtu „prázdných“ buněk uvnitř struktury. [72] Relativní hustota gyroidu je pak přímo úměrná mechanickým vlastnostem tělesa. [72]

Na mechanické vlastnosti však může mít vliv také rozložení gradientu porozity gyroidního tělesa (viz kapitola 2.7).

Mechanické vlastnosti 3D tištěných těles z pohledu jejich odolnosti a chování ve smyslu jejich deformace a porušení struktury při působení kompresních sil se liší nejen ve vztahu k počtu buněk gyroidu a tloušťce stěny gyroidu, ale také v závislosti na směru působení komprese vzhledem ke směru, v němž je při tisku 3D tělesa nanášeno tryskou tiskárny tiskové vlákno. Například Peng a kol. zkoumali kompresní vlastnosti, absorpci energie a deformační mechanismy

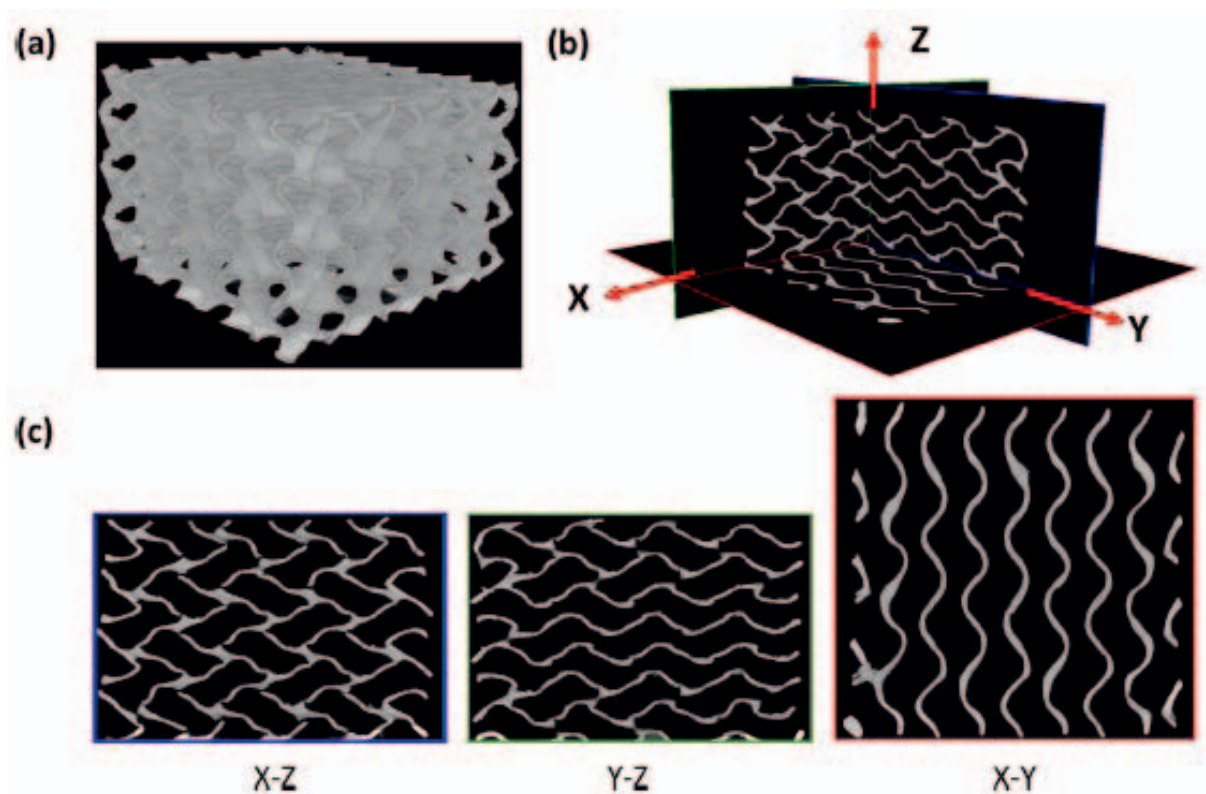
3D tištěných gyroidních struktur z kompozitního materiálu na bázi nylonu vyztuženého uhlíkovými vlákny. [74] Provedli kompresní zkoušky gyroidních struktur s různým počtem jednotkových buněk. Na křivce napětí-deformace se projevila počáteční lineární elastická oblast, poté oblast „plató“ s víceméně konstantním napětím a fáze zhušťování materiálu, která se projevila rychle rostoucím napětím na deformační křivce. Tvar křivky se nijak výrazně nelišil u mřížky sestávající z jedné buňky gyroidu a mřížky složené z několika takových buněk. Zatížení kolmo na směr tisku gyroidu vykazovalo tužší chování vytištěného tělesa v porovnání se situací při stlačení vzorku ve směru tištěných vláken. [74]

Při tisku gyroidní struktury byly rovněž odhaleny pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM – scanning electron microscope) mezery ve směru tisku gyroidu vlivem nanášení tištěného vlákna (filamenta) vrstvu po vrstvě metodou FDM (viz obr. 8, kde je znázorněn proces FDM tisku gyroidu, a to jak ve 3D řezu, tak ve 2D řezu pomocí CT obrazů). Na obr. 8 jsou černě znázorněny mezery mezi tištěnými vlákny materiálu. Tyto mezery způsobují výsledný nižší modul pružnosti gyroidní struktury při jejím stlačení ve směru tisku, oproti jejímu zatížení kolmo ke směru tisku. Nižší fúzní spojení tištěného vlákna vlivem vytvoření těchto dutin vede ke snadnějšímu rozpojování vláken při vysokém zatížení, především ve směru kolmo na směr tisku. Tyto mezery lze pozorovat v příčných řezech ve směru osy x-z a osy y-z (viz obrázek 8 c). [74]



Obr. 8: Proces FDM tisku gyroidu v a) 3D rekonstrukci b) 3D příčném řezu c) 2D příčném řezu před kompresí a mezery mezi vrstvami, které představují izolovanou mezifázovou diskontinuitu. [74]

Ve struktuře gyroidu se ve směru osy x - y , tedy ve směru tisku, tyto mezery neobjevují, neboť v tomto případě dochází ke kontinuálnímu tisku vlákna v rámci jedné vrstvy výsledného tělesa. Po tlakovém zatížení vytištěného tělesa dochází ke zborcení a zhutnění buněk gyroidu, dále pak k rozpojení vláken mezi vrstvami v průřezech os x - z a y - z vlivem slabší vazby v místě spojení vláken tištěného materiálu. Chování gyroidní struktury při působení komprese je znázorněno na obr. 9. [74]



Obr. 9: Konstrukce FDM tištěné gyroidní struktury a) 3D rekonstrukce, b) 3D příčný řez a c) 2D příčné řezy vzorku gyroidu po kompresi. [74]

Se zvyšující se relativní hustotou tištěné gyroidní struktury docházelo ke zvyšování modulu pružnosti, a to téměř exponenciálně. [74] Metodou konečných prvků byla provedena predikce mechanických vlastností gyroidu pomocí matematického výpočtu s využitím Gibson-Ashbyho modelu. Výsledky této matematické predikce téměř odpovídaly elastické oblasti deformace gyroidu na křivce závislosti napětí na deformaci, avšak oblast platů na křivce závislosti napětí na deformaci se mírně lišila, protože matematický model zanedbával defekty a dutiny, které se reálně vyskytují ve vytištěných vzorcích těles s vnitřní strukturou gyroidu. Tento matematický model rovněž nepředpovídal konečné zhuštění materiálu a také lom, který nebyl uvažován v numerickém modelu. [74] Při vlastním experimentu se vzorky gyroidu „zborstily“ a došlo k jejich porušení, což způsobilo rychlý nárůst napětí na deformační křivce. Při nízkých zatíženích je energie rovnoměrně rozptýlena a před zborcením struktury gyroidu se objevují smykové pásy, při dalším zatížení v oblasti relativní deformace 0,1 až 0,2 už dochází k plastické deformaci a k lomu uvnitř struktury gyroidu. [74]

Dudescu a kol. také zjistili, že Youngův modul pružnosti je pozitivně ovlivněn relativní hustotou výplně vytištěného 3D tělesa, a dále, že je možné stanovit upravený modul pružnosti gyroidu, který se získá vynásobením zdánlivého modulu pružnosti a procentem výplně tištěného gyroidu. [75] U vytištěných těles s vyšší hustotou jejich výplně se zvýší také jejich upravený modul pružnosti. [75]

Catarina Silva a kol. použili ke zjištění mechanických vlastností 3D tělesa s různě velkou vnitřní procentuální výplní (hustotou) gyroidních struktur vyrobených z kyseliny polymléčné pomocí FFF 3D tisku. [76] Pro 3D tisk byly použity krychle o velikosti 20×20×20 mm s takovým vnějším perimetrem neboli obvodem, který by se choval jako výztuž u kompozitu. Pro porovnání byly vytištěny vzorky s lineárním vzorem a 100% hustotou výplně, a dále byly zvoleny čtyři různé úhly rastrů, a to 0°, 90°, 45°, 45°/-45° s rychlostí tisku 5 mm/s, přičemž byly následně provedeny tahové a tlakové zkoušky těchto těles podle ISO norem. Poté byly vytištěny vzorky 3D těles s gyroidní strukturou s hustotou výplně 20%, 50% a 80%, definované v programu pro Slic3r. [76]

Největšímu tlakovému napětí odolaly vzorky tištěné pod úhlem rastru 0°, maximální modul pružnosti v tlaku pak vykazovaly vzorky tištěné pod úhly 45°, které v porovnání s modulem pružnosti v tahu vykazovaly nižší hodnoty napětí. Naopak tlakové napětí bylo při mezi kluzu vyšší než napětí tahové. Vzorky testovaných těles byly umístěny vždy kolmo ke směru zatížení. Při tahovém zatížení se gyroidní tělesa s 20% hustotou výplně zlomila v místě změny průřezu tělesa, tedy v místě, kde docházelo k největší koncentraci napětí. Vzorky s 20% hustotou výplně jsou obecně velmi porézní a vyskytuje se u nich mnoho oblastí, které jsou náchylné na koncentraci napětí, a to především v místě zaoblení tělesa. Vzorky s 50% hustotou výplně praskly rovněž v místě, kde se jevila, byť sebemenší, vada způsobená 3D tiskem. Největší tahové síly při přetržení tělesa vykazovaly vzorky s 80% hustotou výplně jejich vnitřní struktury, přičemž tyto se pohybovaly okolo 880 N; naopak nejmenší tahové síly při přetržení byly zaznamenány u těles s 20% hustotou výplně, kdy se jejich hodnoty pohybovaly okolo 260 N; v případě těles s hustotou výplně 50% se velikost této tahové síly pohybovala okolo 500 N s tím, že zdánlivé moduly pružnosti testovaných těles byly 500 MPa, 1000 MPa, respektive 2000 MPa. [76] Všechny tyto výše uvedené hodnoty sil jsou však významně menší v porovnání se silami, kterým odolaly vzorky se 100% výplní vnitřní struktury tělesa, což je dáno především menším množstvím vytištěného materiálu v případě těles s nižší procentickou výplní vnitřních struktur, přičemž velký vliv na velikost výsledné síly má i směr pod kterým zatížení na těleso působí. V případě tlakové zkoušky těchto 3D těles došlo naopak k největšímu nárůstu velikosti tlaku u vzorků s 50% výplní, k menšímu nárůstu u vzorků s 20% výplní a nejmenšímu u vzorků s 80% výplní vnitřních struktur. [76] I přesto, že velikost zatížení a hodnota modulu pružností koreluje přímo úměrně s relativní hustotou vnitřní výplně tělesa, není možné ověřit, jestli se uvnitř vnitřní struktury tělesa objevují nějaké mikro defekty, či nikoliv. Zdánlivý modul pružnosti tělesa v případě tlakové zkoušky dosahoval 416 MPa u vzorků s 20% výplní, 833 MPa u vzorků s 50% výplní, respektive 1785 MPa u vzorků s 80% výplní vnitřních struktur. [76] U vzorků 3D těles tvaru krychle o velikosti 20×20×20 mm došlo v případě přidání perimetru k nárůstu relativního modulu pružnosti

u každé z výše uvedených procentuálních výplní vnitřní struktury tělesa o téměř 20 MPa, konkrétně u vzorků s 20% výplní z hodnoty 6,3 MPa na hodnotu 29,5 MPa, u vzorků s 50% hustotou výplně jejich vnitřní struktury pak k nárůstu relativního modulu pružnosti z 30,2 MPa na 56,1 MPa. U vzorků bez perimetru s 50% výplní vnitřní struktury byla zaznamenána větší statisticky významná chybová odchylka. [76] Mechanické testy v této studii ukázaly, že gyroidní struktura vytištěných 3D těles se chová jinak v případě jejich tlakového a tahového namáhání. V případě rázové zkoušky u těles s 20 % výplní došlo v případě působení sil zátěže ke křehkému lomu ve struktuře 3D tělesa, naopak vzorky s 50% výplní a tělesa s 80% výplní jejich vnitřní struktury vykazovaly porušení struktury vzorku způsobené diagonálním smykem. [76]

Serrano-Cinchilla a kol. zjišťovali vliv různé hustoty výplně tištěného tělesa, a to 25 %, 50 %, a 75 %, a to v případě kubické, trihexagonální a gyroidní vnitřní struktury vzorků tištěných z kyseliny polymlečné pomocí FDM 3D tiskárny. [77] U vzorků s gyroidní vnitřní strukturou bylo zjištěno, že se zvyšující se procentuální výplní jejich vnitřní struktury gyroidem dochází k zvýšení hodnot pevnosti v tlaku i meze kluzu pro tyto gyroidní vzorky, avšak s většími statistickými odchylkami v nárůstu uvedených hodnot mezi jednotlivými vzorky; u vzorků s trihexagonální a kubickou vnitřní strukturou se tyto hodnoty rovněž zvyšují, avšak bez větších odchylek mezi jednotlivými vzorky. [77] Modul pružnosti byl rozdílný mezi jednotlivými gyroidními výplněmi, například vykazoval nižší hodnotu u těles se 75% výplní, než tomu bylo u vzorků s výplní 50 %. [77]

S rostoucí procentuální výplní vnitřní struktury 3D tištěného tělesa se zmenšuje velikost gyroidní buňky, což má za následek horší rozlišení v případě tisku pomocí FDM tiskárny. Dále je známo, že nejnižší hodnotu Poissonova poměru [78] (poměru prodloužení tělesa ve vodorovné ose a jeho zkrácení ve vertikální ose) vykazují vytištěná tělesa s výplní jejich vnitřní struktury 25 % a 75 %, naopak nejvyšší hodnotu Poissonova poměru vykazují vzorky s výplní 50 %, a to v případě přítomnosti perimetru (respektive obvodu), avšak v případě použití gyroidu jakožto výplně 3D tělesa bez perimetru se u hodnot Poissonova poměru zjišťují větší odchylky mezi jednotlivými testovanými vzorky, což je dáno mechanickými vlastnostmi samotného materiálu. [78]

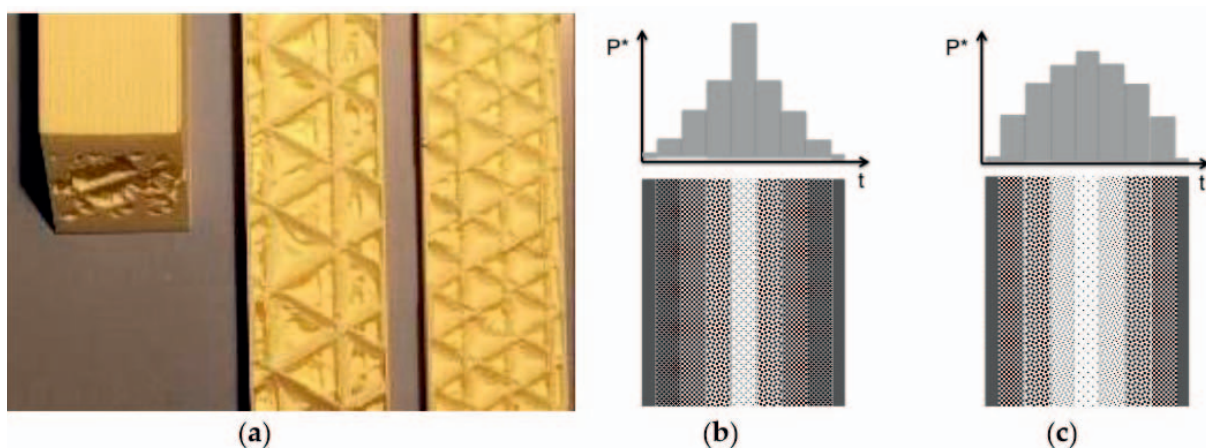
Germain a kol. provedli DSC analýzu krystalinity tištěných vzorků PLA gyroidních struktur, kdy jeden vzorek byl vytištěn a vyžhán přes noc při teplotě 80 °C a druhý žhán nebyl. [65] Zjistili, že PLA u nežháných vzorků nestihla vykristalizovat před zchlazením pod teplotu skelného přechodu a bez ohledu na struktury se vytiskly vzorky v amorfním stavu s absencí krystalinity. U vzorků žháných po určitou dobu při 80 °C bylo dosaženo 37% krystalinity PLA po vytištění gyroidní struktury a 40% krystalinity po tisku kontrolní struktury (těleso tištěné s vnitřní strukturou v podobě přímočarého vzoru). Tato skutečnost je způsobena tím, že při žhání se polymer udržuje určitý čas nad teplotou skelného přechodu, a řetězce se začnou splétat do krystalických zón tzv. sférolitů a začnou vznikat další uspořádané domény. [65] Gyroid připomíná svým tvarem pružinu a z hlediska mechanických vlastností by měl poskytovat izotropní odolnost vůči působení tlakových sil a vysokou elasticitu díky svému tvaru. Toto izotropní chování je žádoucí ve tkáňovém inženýrství, neboť by implantát odolával tlaku přicházející z jakéhokoliv směru. Germain a kol. [65] podrobili tuto strukturu mechanickým zkouškám, aby zjistili, jaký má

vliv směr stlačení k paralelně tisknutým vrstvám, rozlišení tisku a krystalinita polymeru. [65] Pro krystalické a amorfni tištěné gyroidní struktury měly křivky závislosti napětí na deformaci téměř podobný průběh. Současně bylo zjištěno, že při kompresi testovaného vzorku ve směru paralelním se směrem tisku vláken tělesa nebyl průběh křivek závislosti napětí na deformaci kontinuální, ale že se v jejich průběhu objevilo několik vrcholů křivky. Příčinou těchto tvarových změn v průběhu křivky závislosti napětí na deformaci byla skutečnost, že se zvyšujícím se tlakovým zatížením testovaného 3D tělesa s vnitřní gyroidní strukturou došlo k jeho deformaci v podobě soudkovitosti (tzv. *barrel efekt*). Soudkovitá deformace 3D tělesa je nejvíce ovlivněna krystalinitou k tisku použitého materiálu a tloušťkou tištěných vláken a dochází k ní při zatížení nižšími hodnotami tlaku. [65] Přitom mez kluzu vykazovala vyšší hodnoty v případě krystalických vzorků (oproti amorfním) a tenčích vláken tištěného vzorku. [65] Na straně druhé, menší tloušťka tiskové vrstvy vytváří slabší tištěné vlákno, a tím menší styčnou plochu mezi jednotlivými vlákny tištěného tělesa a má za následek snížení jeho tuhosti. Při kontinuálním tisku tělesa, nedochází ke vzniku uzlových bodů uvnitř jeho struktury a kontinuální zakřivení tištěného vlákna pozitivně ovlivňuje mechanické vlastnosti tělesa, kdy nedochází ke koncentraci napětí a vzniku trhlin. [65]

2. 7 Vliv gradientu porozity 3D těles na mechanické vlastnosti částicových kompozitů

Jančář a kol. připravili různé gradienty porozity a nové syntetické pěny pomocí FDM 3D tiskárny s vertikálním rozlišením [79]. Byla připravena tělesa napodobující strukturu bambusu s konvexním a konkávním gradientem pórovitosti a autoři zkoumali mechanické a rázové vlastnosti vytištěných vzorků lišících se gradientem porozity. Zjistili, že „nemonotónnost“ chování porozity závisí především na tvaru porézního gradientu, spíše než na samotném použitém materiálu. Na obrázku 10 jsou znázorněny tvary tělesa s konvexním a konkávním gradientem pórovitosti. Z hlediska mechaniky docházelo u modulu pružnosti v tahu k monotónnímu poklesu se zvyšující se porozitou, bez ohledu na gradient. Pevnost v tahu a v tlaku buněčných nanokompozitů s konkávní porézností klesala monotónně se zvyšující se relativní porozitou. V případě konvexní poréznosti pevnost tlaku i v tahu dosahovala maxima okolo hodnoty relativní porozity 0,4. [79]

V důsledku toho docházelo ke snižování tuhosti tělesa směrem do středu vzorku, kde byly větší póry. Došlo k porušení vzorku, a to ve vícero krocích. V případě jednoosého stlačení se objevilo porušení vzorku v podobě trhliny, která se začala šířit od středu tělesa (kde byla pórovitost vzorku největší) směrem k jeho vnějšímu okraji (kde byla porozita nižší). Buněčné inkluze pak významně ovlivňovaly zvýšení pevnosti v tlaku a tělesa více odolávala proti nárazu. Lomová houževnatost buněčných nanokompozitů je řádově vyšší v porovnání s tuhými polymerními pěny. [79]



Obr. 10: Fotografie průřezu vzorku s gradientem konvexní pórovitosti (vlevo), trojúhelníková architektura syntaktické pěnové vzpěry ve středu vzorku (uprostřed) a s progresivním snižováním velikost pórů blízko okraje vzorku (vpravo). Podélný řez zkušebními tělesy (b) konvexní a (c) konkávní gradienty poréznosti. [79]

2. 8 *In vitro* degradace 3D těles s gyroidní strukturou simulující jejich *in vivo* chování

Germain a kol. podrobili tištěné vzorky s vnitřní gyroidní strukturou z amorfni a semikrystalické PLA *in vitro* degradačním zkouškám v pufrovaném fyziologickém roztoku s malým obsahem NaN_3 (kvůli zamezení růstu mikroorganismů), a to po dobu 84 týdnů. [65] Od obou typů PLA (amorfni a semikrystalické) byly zkoumány 4 vzorky s výškou tištěné vrstvy 0,1 mm a 0,4 mm a stejné kontrolní vzorky tištěné s vnitřní strukturou v podobě přímočarého vzoru, přičemž velikost pórů a vzorků autor neuvádí. Vzorky byly inkubovány při 37 °C. Hmotnost vzorků byla neměnná po dobu 50 týdnů a od 52 týdne začaly velmi rychle degradovat s tím, že amorfni gyroidní struktura a stejně tak kontrolní vzorky degradovaly nejrychleji, přičemž v případě vzorků amorfniho typu zbylo po degradaci 43 % jejich původní hmotnosti, a v případě vzorků semikrystalického typu zbylo z jejich původní hmotnosti 20%. [65] U vzorků o výšce tištěné vrstvy 0,4 mm probíhala degradace výrazně pomaleji, neboť silnější tištěné vrstvy zpomalují proces degradace. [65] Krystalinita vyžíhaných vzorků gyroidu nijak významně neovlivnila proces jejich degradace. Kontrolní testované vzorky s vnitřní strukturou v podobě přímočarého vzoru degradovaly tak, že u nich docházelo k úbytku hmotnosti v důsledku postupné ztráty jednotlivých vrstev (docházelo k degradaci jedné vrstvy po druhé), zatímco vzorky s gyroidní strukturou ztrácely hmotnost, avšak zachovávaly si svoji integritu a tvar. Tato skutečnost může souviset s typickým prostorovým uspořádáním gyroidu, pro nějž jsou charakteristická variabilita úhlů vnitřní struktury (rozdílný sklon), které se mění při zvyšující se výšce tělesa. V důsledku změn úhlů gyroidu dochází k určité změně plochy a polohy mezi sousedními vytištěnými vrstvami tělesa. [64; 65] Vlivem tisku této struktury jsou tištěné vrstvy ve větším kontaktu a tím jsou pevněji propojeny; nicméně u amorfniých gyroidů vznikají mezi těmito vrstvami často trhliny. [65]

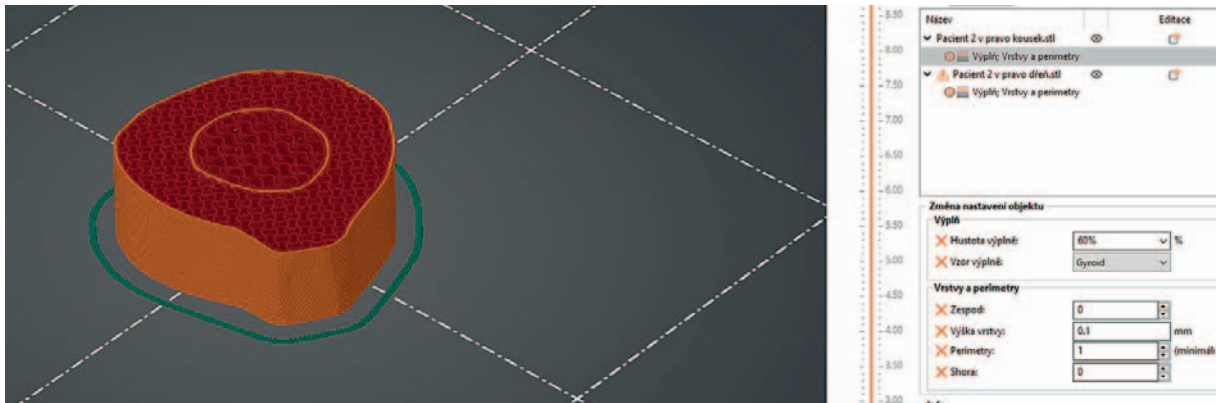
2. 9 Současný stav řešené problematiky

V medicíně i ve veterinárním lékařství při chirurgické léčbě zlomenin se k hojení rozsáhlých kostních defektů dlouhých rourovitých kostí (jako je femur) v klinické praxi běžně používají autogenní spongiózní kostní štěpy, jež se odebírají většinou z jiné, než operované kosti pacienta, a které jsou z hlediska podpory hojení poraněné kosti velmi efektivní. Jejich dostupnost v dostatečném množství však může být omezená, mimo jiné vyžadují vytvoření další operační rány v místě jejich odběru, což prodlužuje dobu operace, působí pacientovi další trauma spojené s bolestivostí v místě odběru, vzniká také možnost infekce rány případně může být autogenního štěpu nedostatek (například při osteoporóze starších pacientů). [61; 80; 81; 82; 83; 84]

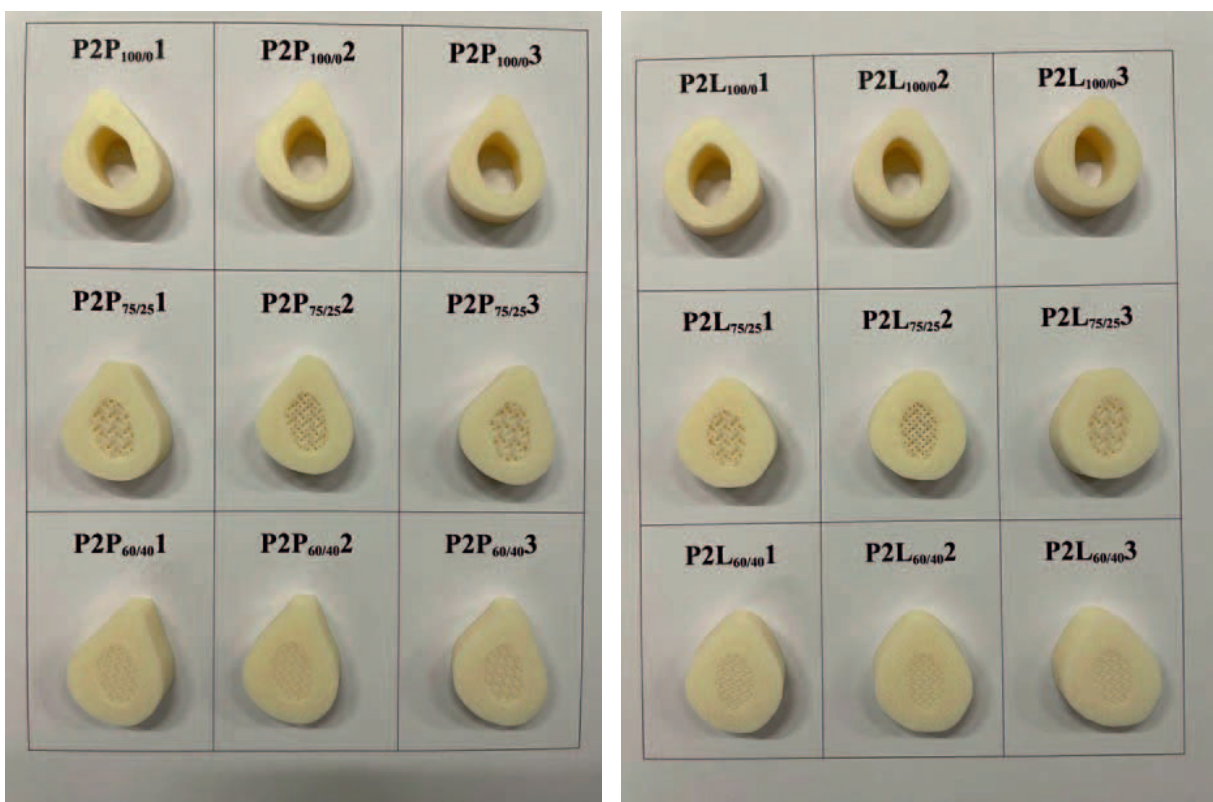
Z toho důvodu se vyvíjí vhodné kostní náhrady a nosiče buněk (skafoldy) z různých biomateriálů, které by nahradily výše uvedené autogenní spongiózní štěpy a které by neměly nevýhody komerčně vyráběných kostních náhrad a které by navíc podpořily hojení kosti. Jejich možné klinické využití v medicíně, a také ve veterinární chirurgii, se ověřuje na vhodných modelových zvířatech. [82; 83; 85; 86; 87; 84] Tento vývoj se v současnosti přesouvá také do oblasti 3D tisku a zkoumají se mechanické vlastnosti 3D tiskem vyrobených těles, jakožto možných náhrad některých částí kostí. [61;76;84; 88; 89; 90; 91; 92; 93; 94; 95]

Pro náhrady kostí se jeví jako nadějně odbouratelné anorganické materiály (hydroxyapatit, β -tricalciumfosfát) v kombinaci s biodegradabilními polymery (kolagen, polykaprolakton, chitosan apod.), případně biokompozitní skafoldy z polykaprolaktonu a β -tricalciumfosfátu v kombinaci s kostním morfogenetickým proteinem (BMP), který dodá skafoldu osteoinduktivní potenciál. [61;84; 96; 97; 98; 99; 100; 101]

Na našem pracovišti se věnujeme vývoji 3D tištěného modelu segmentu femuru (obr. 11), jakožto možné náhrady kosti při rozsáhlých defektech femuru. Nečas [84] v rámci bakalářské práce vyvinul PLA anatomický model segmentu femuru ve 3 variantách (obr. 12) lišících se denzitou výplně vnitřních struktur v místě kompakty a spongiózy reálné kosti (varianta A: kompakta výplň 100 % - spongióza výplň 0 %; varianta B: kompakta výplň 75 % - spongióza výplň 25 %; varianta C: kompakta výplň 60 % - spongióza výplň 40 %), u nichž byla porovnána jejich pevnost v tlaku. Průměrná hodnota tlakové síly způsobující porušení vnitřní struktury u varianty A tohoto modelu segmentu femuru dosáhla hodnoty 35,48 +/- 4,63 kN, v případě varianty B 19,42 +/- 1,60 kN a varianty C 14,41 +/- 1,19 kN. Největší rozptyl závislosti tlakové síly na deformaci byl patrný u varianty A, zatímco v případě variant B a C nebyl rozptyl tlakové síly způsobující porušení vnitřní struktury tělesa tak výrazný a vlastní geometrie modelů nevykazovala tak výrazný vliv výsledné tlakové síly způsobující porušení vnitřní struktury tělesa. V případě variant B a C byl tištěný segment femuru v prvotní fázi zatěžování tužší a tuhost „systému kompakta – spongióza“ se jevila tím vyšší, čím vyšší bylo procento vyplnění tělesa v místě spongiózy.



Obrázek 11_Příprava 3D modelů střední části diafýz femurů byla provedena v programu PrusaSlicer [84].



Obrázek 12:3D tiskem vyrobené PLA anatomické modely segmentů pravých a levých femurů pacienta č. 2 s popisy (např. pacient 2, levý femur – označeno P2L) s variantami A, B, C lišícími se vnitřním uspořádáním kompakty a spongiózy modelů a geometrií [84].

Následně také Eryildiz [102] připravil pomocí 3D tisku femorální segmenty podle CT obrazů za použití FDM 3D tiskárny a PLA filamentu, který byl namočen v nasyceném roztoku ibuprofenu s ethanolom. [102] V této studii byly nejprve v programu Slic3r připraveny skafoldy s různým radiálním gradientem vnitřní výplně gyroidní struktury s označením G100-20 v závislosti na zvoleném stupni výplně. Tloušťka každé z oblastí výplně gyroidu byla 4 mm. Byly také vtištěny přechodové skafoldy s procentuální výplní 100-40-20% s označením G100-40-20. Výška vzorku byla 12 mm a jeho průměr 24 mm. Gyroidní struktura byla zvolena z důvodu dobré adheze

buněk a vysokého specifického povrchu, dále kvůli sinusovým čarám a odlišnosti jednotlivých struktur, které vykazují vysokou mechanickou odolnost ve všech směrech. Radiální gradienty napodobují svoji geometrií skutečnou kost, a to jak z kortikální, tak spongiózní. Póry ve střední zóně vytvářejí ideální prostředí pro pohyb buněk a živin a zlepšují následnou tvorbu cév. Vnější zóny tištěného tělesa pak napodobují mechanické vlastnosti reálné kosti. Spongiózní kost lze vymodelovat pomocí přechodové zóny a vnitřní oblasti tělesa. Takový gradient může vykazovat vhodné biologické a mechanické vlastnosti kostí. Tloušťku zón si lze upravit podle potřeb pacienta. Tlaková zkouška ukázala největší pevnost v případě 100% vyplněného tělesa, pórovitost pak snižuje jeho mechanické vlastnosti. Tištěné těleso s gradientem G100-40-20 mělo ze všech nejnižší porozitu (54%) a vykazovalo ze všech porézních těles největší pevnost v tlaku i tahu. Větší pórovitost vzorku způsobila koncentraci napětí okolo pórů a snížila jeho pevnost. Poréznější části podpoří růst tkání, méně porézní oblasti podpoří mechaniku tělesa. [102] Dosud však nebyly prozkoumány různé procentuální výplně vnitřní struktury podobného tělesa za použití kompozitního materiálu, který by také napodobil složení kosti i z chemického hlediska.

Před případnou klinickou aplikací podobných skafoldů v podobě implantace do defektů kostí v medicíně je zapotřebí další výzkum nejen z pohledu mechanických vlastností a biokompatibility, ale rovněž z pohledu vhodné vnitřní struktury implantátu a parametrů jeho biodegradace. Na některé z uvedených vlastností možného skafoldu určeného k hojení rozsáhlých defektů femuru se zaměřuje tato diplomová práce.

3. CÍLE

V rámci experimentální části této diplomové práce, zabývající se vlivem vnitřní struktury na mechanické vlastnosti 3D tištěného segmentu femuru z nového optimalizovaného biokompozitu, byly stanoveny následující cíle:

1. Připravit na dvoušnekovém extruderu optimalizovanou směs pro biokompozitní tiskovou strunu na bázi PHB/PLA/TCP/HA a změkčovadla typu Syncroflex do formy granulátu.
2. Zpracovat granulát do podoby tiskové struny s definovaným průměrem 1,75 mm na jednošnekovém extrudéru.
3. Optimalizovat teploty a parametry tisku pro připravené tiskové struny pomocí 3D tištěných teplotních věží a zjistit tzv. warping koeficient pomocí speciálních 3D tištěných těles.
4. Analyzovat chemické, tepelné a strukturní vlastnosti optimalizovaného biokompozitu pomocí metod DSC, TGA, GPC a SEM a porovnat je s kontrolní směsí.
5. Vytisknout normovaná standardizovaná mechanická tělesa pro tahovou a tlakovou zkoušku a zjistit jejich mechanické vlastnosti.
6. Na základě zjištěných mechanických vlastností vytvořit numerický model v programu ANSYS pro reálné anatomické modely segmentu femuru vyrobené 3D tiskem podle CT obrazů reálného femuru.
7. Vytisknout a stanovit velikost tlakových sil na mezi únosnosti PHB/PLA/HA anatomického modelu segmentu femuru vyrobeného 3D tiskem podle CT obrazů femuru v různých variantách vnitřních struktur gyroidu v místě kompakty a spongiózy reálné kosti, jakožto možného biodegradabilního implantátu potenciálně využitelného v medicíně jako náhrady kostní tkáně při rozsáhlých defektech femuru.
8. Vyhodnotit výsledné mechanické vlastnosti tištěných femorálních segmentů a porovnat s modelem vytvořeným v programu ANSYS.
9. Zjistit vliv biodegradace na hmotnost testovaného tělesa a na jeho únosnost v tlaku pro jednotlivé výplně tištěné gyroidní struktury.

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité materiály

V experimentální práci byly připraveny 2 biokompozitní struny, jejichž složení bylo optimalizováno v předchozí studii na FCH VUT tak, aby směsi vykazovaly co největší pevnost v tlaku a nejnižší warping koeficient při 3D tisku [103]. Tyto struny byly použity této práci z důvodu jejich vhodných mechanických vlastností. Pro již optimalizovanou směs byly v práci použity následující materiály: Poly(3-hydroxybutyrát) (P3HB) od firmy TianAn Biologic Materials Co. s označením šarže 2394; dále pak amorfni kyselina polymléčná (PLA) od firmy NatureWorks® s označením Ingeo™ 4060D, dále směs tricalciumfosfátu (TCP) a hydroxyapatitu (HA) od firmy Glentham s označením GX3982; a polymerní změkčovadlo Syncroflex 3114 od firmy Croda. Pro biodegradční testy byly pro syntézu simulované tělesné tekutiny [104] použity následující chemikálie:

NaCl – Chlorid sodný od firmy Lach-Ner s.r.o.

KCl – Chlorid sodný od firmy Lach-Ner s.r.o.

CaCl₂ – Chlorid vápenatý od firmy Lach-Ner s.r.o.

1 mol/l HCl – Kyselina chlorovodíková od firmy Penta

NaHCO₃ – Hydrogen uhličitán sodný od firmy Penta

MgCl₂·6H₂O – Hexahydrát chloridu hořečnatého od firmy Lach-Ner s.r.o.

K₂H(PO₄)₃ – Hydrogenfosforečnan didraselný od firmy Penta

C₄H₁₁NO₃ – Tris-hydroxymethyl aminomethan od firmy Roth

Na₂SO₄ – Síran sodný od firmy Acros Organics

4.2 Kompaundace a příprava granulátu

Pro přípravu optimalizovaných směsí byly naváženy výše zmíněné biopolymery s minerálem obsahující TCP/HA a změkčovadlem. Pro optimalizovanou recepturu s označením OPT1 bylo naváženo 3,52 kg P3HB, dále 3,08 kg amorfni PLA, poté 2,83 kg směsi TCP/HA a nakonec 0,53 kg změkčovadla Syncroflex. Dále pro kontrolní recepturu s označením RP4 bylo naváženo 0,38 kg P3HB, 0,31 kg amorfni PLA, dále 0,24 kg TCP/HA a nakonec 0,07 kg změkčovadla Syncroflex. Navážené komponenty byly ručně velmi důkladně promíchány ve velké plastové nádobě a celkově bylo připraveno k extruzi 10,00 kg směsi OPT1 a 1,00 kg směsi RP4. Procentuální a hmotnostní poměry jednotlivých komponent jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: Procentuální a hmotnostní složení směsi pro přípravu tiskové struny:

Označení receptury	Procentuální složení a hmotnost použitého materiálu			
	PHB	PLA	TCP/HA	SF S3114
OPT1	35,20 %	30,80 %	28,30 %	5,60 %
	3,52 kg	3,08 kg	2,83 kg	0,56 kg
RP4	38,00 %	31,00 %	24,00 %	7,00 %
	0,38 kg	0,31 kg	0,24 kg	0,07 kg

Připravená a navážená optimalizovaná směs na bázi PHB/PLA/TCP/HA a změkčovadla typu Syncroflex pro biokompozitní tiskovou strunu s označením OPT1 byla dávkována do dvoušnekového extrudéru od firmy Labtech Engineering Company LTD (D=20 mm, L/D=40) pomocí šnekového dávkovače od stejné firmy s označením M250 (obr. 13). Rychlost šneku při extruzi byla nastavena na hodnotu 175 ot·min⁻¹. Teploty jednotlivých zón na extrudéru byly nastaveny od násypky ke trysce na 60–150–170–170–170–170–170–170–170 °C. Použitý extrudér je znázorněn na obrázku 14. Extrudovaná struna měla finální hmotnost 9,00 kg. Ztráty materiálu oproti naváženému množství vznikají při promytí extrudéru a nájezdu materiálu. Připravená struna byla následně nagraulována na granulátoru od firmy Labtech Engineering Company LTD. Směs s označením RP4 po namíchání byla rovněž nadávkována ručně do dvoušnekového extrudéru Labtech, na kterém byly nastaveny teploty na 75–115–180–190–190–190–190–170–160–160 °C a otáčky na hodnotu 150 ot·min⁻¹. Následně byla směs rovněž nagraulována. Výsledná hmotnost receptury s označením RP4 byla přibližně 0,90 kg, ztráty materiálu nastaly ze stejného důvodu jako v případě směsi OPT1 (viz výše).



Obr. 13: Dvoušnekový extrudér značky Labtech Engineering Company LTD.

4.3 Příprava struny

Připravený optimalizovaný granulát směsi s označením OPT1 byl nejprve nadávkován do násypky a následně postupně dávkován do jednošnekového extrudéru od firmy Everplast Machinery Co LTD. Rychlost šneku při extruzi byla nastavena na hodnotu $41,2 \text{ ot}\cdot\text{min}^{-1}$. Teploty jednotlivých zón na extrudéru byly nastaveny ve směru od násypky ke trysce na $173\text{--}176\text{--}180\text{--}188\text{--}185\text{--}175 \text{ }^\circ\text{C}$. Rychlost odtahu a návínu struny na cívku byla $36,7 \text{ m}\cdot\text{min}^{-1}$. Struna byla tažena skrz 2 vodní lázně. První, která byla přímo u trysky extrudéru, byla temperována na teplotu $55 \text{ }^\circ\text{C}$ a druhá lázeň, vzdálenější od trysky, byla udržována při teplotě $32 \text{ }^\circ\text{C}$. Průměr struny byl regulován pomocí laserového zařízení a byl udržován na hodnotě $1,80 \text{ mm}$. Na obr. 14 je znázorněn proces výroby na jednošnekovém extrudéru s chladicí lázní. Bylo připraveno celkem 7 cívek receptury s označením OPT1, každá o hmotnosti cca $1,50 \text{ kg}$. Receptura kontrolní směsi s označením RP4 byla připravena na extrudéru od firmy Thermo Scientific a teploty na extrudéru byly nastaveny na $170\text{--}175\text{--}180\text{--}180 \text{ }^\circ\text{C}$, přičemž extrudér měl jen 4 vyhřívací zóny. Rychlost extruze byla $38 \text{ ot}\cdot\text{min}^{-1}$ a kroutící moment $28 \text{ N}\cdot\text{m}^{-1}$. Teplota vodní lázně byla $60 \text{ }^\circ\text{C}$.



Obr. 14: Jednošnekový extrudér značky Everplast Machinery Co., LTD.

4.4 Stanovení chemických a strukturních charakteristik použitých materiálů

4.4.1 Termogravimetrická analýza (TGA)

Pro zjištění charakteristik námi připravených filament byla, z důvodu zjištění jejich změn hmotnosti v čase anebo v závislosti na teplotě, provedena termogravimetrická analýza těchto vzorků. K uvedeným změnám může docházet vlivem odparu vody, rozkladem měřeného

materiálu, z důvodu chemických reakcí, sublimací, absorpcí a oxidací. Vliv na termogravimetrické křivky materiálu mají plniva, která mají vyšší teploty tání a rozkladu. Vlivem atmosféry dusíku může v polymeru při vyšší teplotě vznikat pyrolytický uhlík, který se následně v oxidační atmosféře přetváří na oxid uhličitý.

Byla provedena termogravimetrická analýza pomocí termogravimetru TGA Q500 od firmy TA instruments, New Castle, De, USA). Malé množství vzorku filamentu bylo umístěno do nosiče vzorku (platinové pánvičky) při průtoku dusíku 60 ml/min. Během měření nedošlo ke změně atmosféry za vzduch. Po ustálení teploty na 40 °C byly vzorky zahřáty na teplotu 600 °C při konstantní rychlosti ohřevu 10 °C/min v dusíkaté atmosféře. Termogravimetrické analýze byly podrobeny 2 filamenty, a to optimalizovaný OPT1 a kontrolní RP4.

4. 4. 2 Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC)

Tepelné projevy fyzikálních a chemických dějů probíhajících v námi připravených vzorcích filament byly charakterizovány pomocí diferenční skenovací kalorimetrie, kdy se teplo neměří přímo (z podstaty fyzikální veličiny to ani není možné), ale měří se rozdíl teplot mezi referenčním (prázdný nosič vzorku) a měřeným vzorkem. Výstupem z DCS měření je pak DSC křivka, která se skládá ze základní linie (baseline) a jednotlivých vrcholů křivky (pro přeměny I. druhu jako tání, nebo krystalizace) a náhlých skoků (způsobených přeměnami II. druhu, jako je skelný přechod).

Byla provedena analýza námi připravených vzorků filament diferenční skenovací kalorimetrií pomocí kalorimetru DSC 2500 (TA Instruments). Měření bylo provedeno v dusíkaté atmosféře s hliníkovými pánvičkami. DSC analýze byly podrobeny 2 filamenty, a to optimalizovaný OPT1 a kontrolní RP4, které byly předem naváženy na cca 10,00 mg. Vzorky filament byly nejprve stabilizovány na 30 °C a následně byly provedeny dva zahřívací cykly na 200 °C s rychlostí ohřevu 10 °C/min. Krystalinita vzorků z DSC měření byla vypočítána pomocí následující rovnice:

$$X_c = \frac{\Delta H_m}{\Delta H^0_m} \cdot 100 (\%) [4]$$

kde X_c je stupeň krystalinity, ΔH_m a H^0_m (J/g) je entalpie z cyklu druhého ohřevu a entalpie 100 % krystalického polymeru, což pro P3HB odpovídá 146 J/g.

4. 4. 3 Gelová permeační chromatografie (GPC)

Z důvodu posouzení změn molekulové hmotnosti námi připravených vzorků filament OPT 1 a RK4 byla provedena gelová permeační chromatografie, přičemž byly stanoveny hodnoty střední číselné molekulové hmotnosti (M_n), hmotnostně střední molekulové hmotnosti (M_w) a koeficient polydisperzity (PDI).

Měření bylo provedeno na přístroji Agilent Technologies 1100 Series s kolonou PLgel 5 μm mixed C column s průtokem 1 ml/min, a teplotou 30 °C. Na rozpuštění testovaného vzorku byl použit 1 ml chloroformu. Vzorky byly před měřením přefiltrovány přes 0,2 μm teflonový filtr. Kalibrace přístroje byla provedena na 10 vzorcích lineárního standardu polystyrenu. Detekce testovaných vzorků procházející kolonou byla provedena refraktometricky.

4. 4. 4 Strukturní analýza pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM)

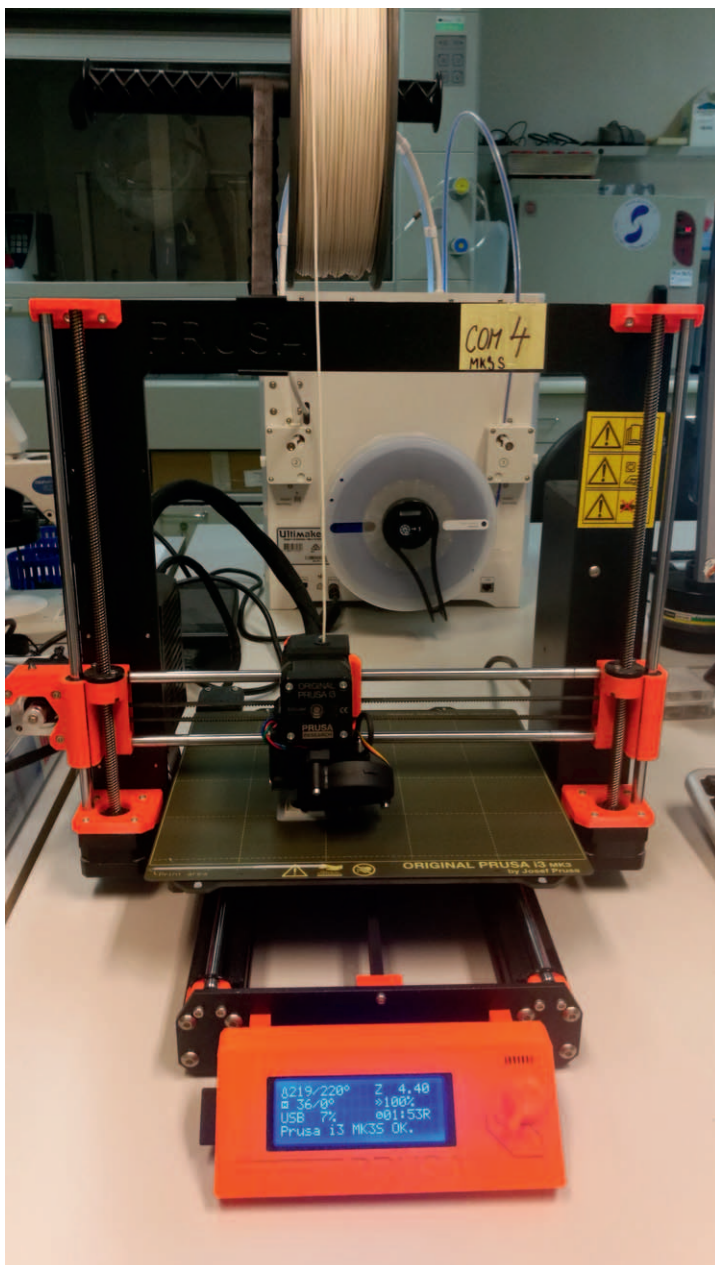
Vzorky filament OPT1 a RP4 byly nejprve zlomeny, a to tak, aby bylo možno pozorovat strukturu napříč celým lomem vzorku, a to jak na tlakové straně, tak na tahové straně lomu. Poté bylo provedeno pozlacení vzorků v zařízení od firmy Polaron, a to technikou naprašování pod argonovým plazmatem, konkrétně po dobu 1 minuty. Poté byly vzorky filament vloženy do komory elektronového mikroskopu a následovalo pozorování jejich struktury na přístroji ZEISS EVO LS10, detekovány byly sekundární elektrony kvůli získání informace o topografii vzorku. Dále byl použit energeticky disperzivní spektrometr X-MAX 80 mm² Oxford Instruments. Vyhodnocení struktury vzorků bylo provedeno pomocí programů SmartSEM a programu AZtec EDX (rentgenová fluorescenční analýza).

4. 4. 5 Strukturní analýza pomocí konfokální laserové rastrovací mikroskopie (CLSM)

Vzorky vytištěných 3D segmentů femurů z biokompozitu PHB/PLA/TCP/HA s různou hustotou jejich gyroidní výplně byly sledovány pomocí konfokální laserové rastrovací mikroskopie jak před, tak po provedení mechanických tlakových zkoušek a byla pozorovaná změna jejich struktury. Rovněž byly analyzovány póry ve vnitřní struktuře gyroidní výplně testovaných segmentů femuru u jednotlivých hustot výplní struktury (viz kapitola 4.6.2.). Snímky vnitřní struktury vzorků byly pořízeny na konfokálním mikroskopu Olympus OLS 3000 se softwarem LEXT. Při strukturní analýze vzorků pomocí CLSM bylo použito zvětšení 5 \times a jas přístroje byl nastaven v závislosti na dané hustotě testovaného vzorku, neboť často docházelo k silným odleskům vlivem sinusového zakřivení pozorované struktury. Od každého vzorku s určitou vnitřní strukturou byly zhotoveny alespoň dva snímky a velikost pórů každého testovaného vzorku byla stanovena jako průměr \pm SD, a to vždy alespoň z 10 měření.

4. 5 Optimalizace parametrů tisku a 3D tisk standardizovaných těles

Parametry optimalizace FDM tisku s využitím teplotních věží, a dále s nově vytvořeným tělesem pro zjištění warping koeficientu, [47] stejně jako 3D tisk vzorků standardizovaných tahových, tlakových a biodegradačních těles byl realizován na FDM tiskárně MK3S od firmy Prusa Research a.s. [105] (viz obr. 15). Maximální tisková plocha v osách $x \times y \times z$ činila 25 \times 21 \times 21 cm,



Obr. 15: FDM 3D Tiskárna od firmy Prusa Research a.s. [105]

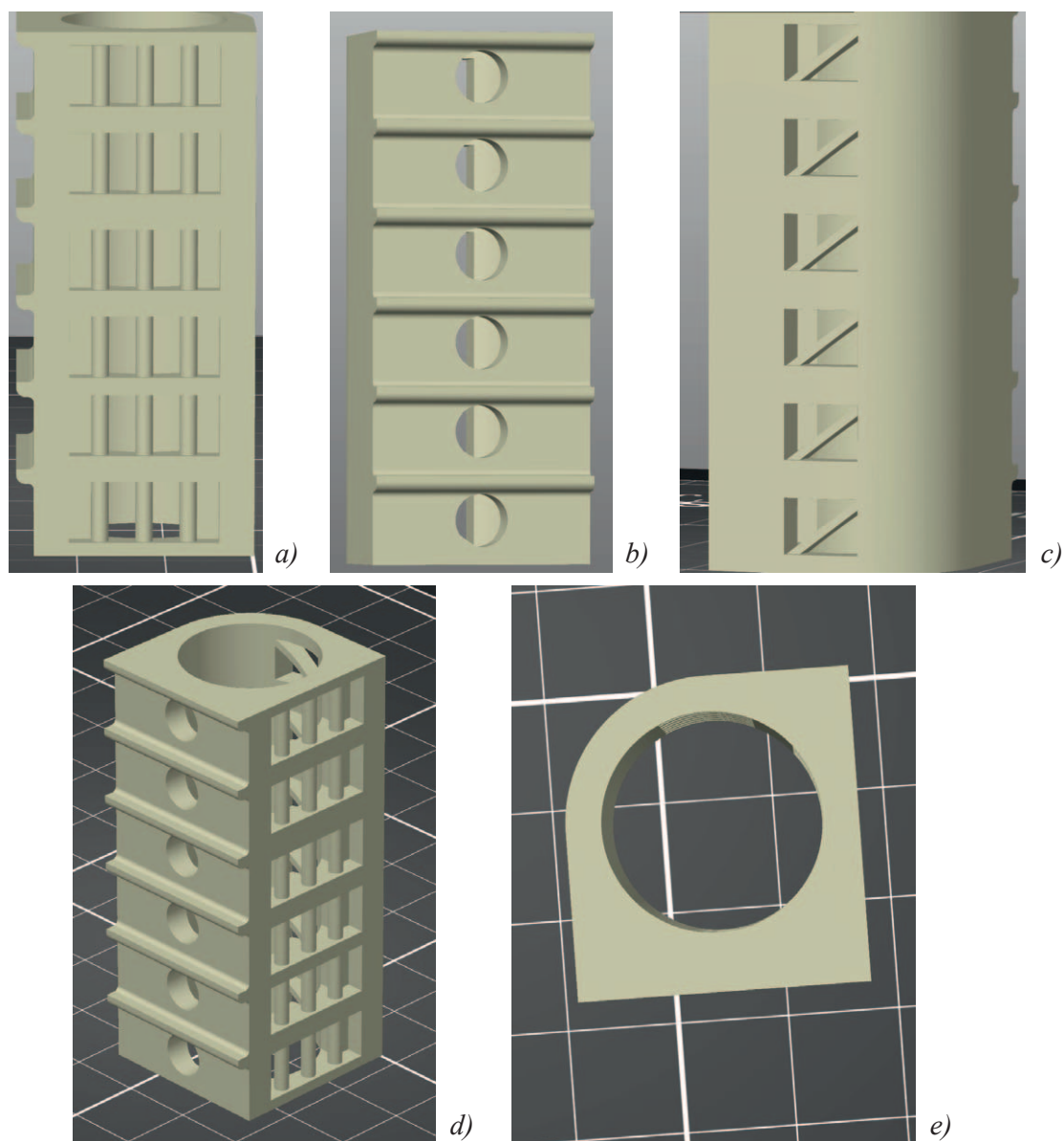
4. 5. 1 Tisk 3D teplotních věží

Pro optimalizaci teploty tisku a zjištění tisknutelnosti materiálu byla použita teplotní věž, pomocí které lze zjistit vhodné teploty tiskové trysky pro různé materiály pro FDM 3D tisk. Její rozměry jsou $60 \times 25 \times 25$ mm. U každého patra je možné nastavit různou teplotu tisku [47]. V práci byly použity G-kódy 3 teplotních věží pro strunu na bázi PHB/PLA s tím, že první byla tištěna v rozmezí teplot 220 °C do 195 °C, kde první patro má nejvyšší teplotu 220 °C a každé další o 5 °C méně a poslední 195 °C. Druhá věž byla tisknuta v rozmezí teplot 195 °C až 170 °C a třetí 180 °C až 155 °C. Následně byla mezi sebou porovnávána různá patra a geometrické nepřesnosti, dále přemostění, převisy, kruhové a diagonální otvory a zaoblení stěn. Také byla sledována barva, přičemž tmavší zbarvení

dále pak přesnost tisku v osách x a y odpovídala $10 \mu\text{m}$ a v ose z $5 \mu\text{m}$. [105] Pro tisk jednotlivých vrstev zkušebních těles byla (z důvodu zjištěné vhodnosti tloušťky vrstvy při tisku tělesa z hlediska jeho pevnosti v tlaku a modulu pružnosti v tlaku, a současně z důvodu relativně únosné doby trvání tisku zkušebního tělesa) zvolena výška vrstvy tisku $0,2$ mm [84].

Pro tisk všech těles byla použita tryska s průměrem $0,4$ mm, výška tištěné vrstvy byla vždy volena na $0,2$ mm a tok (flow) materiálu byl nastaven na hodnotu 95% . Tato hodnota toku byla zvolena na základě průměru tiskové struny, která činila $1,75$ mm. Teplota tiskové podložky byla nastavena na hodnotu 60 °C z důvodu dobré přilnavosti použitého materiálu, jež byla zjištěna na základě warping testu (viz kapitola 5.1.2.). Rychlost tisku 3D těles a perimetrů byla ponechána na předdefinované hodnotě rychlosti tisku v programu PrusaSlicer a v tiskárně (80 mm/s).[84; 105]

indikovalo degradaci materiálu. Sledované prvky byly porovnány se softwarovým modelem. Na obrázku 16 jsou znázorněny různé pohledy na 3D model teplotní věže. Kde na obr. 16a) jsou zobrazeny kolonády a přemostění mezi patry tělesa; 16b) horizontální kruhové otvory a převisy mezi patry tělesa; 16c) pravoúhlé otvory s diagonální příčkou a 16d) a e) zaoblení stěn tělesa. Na základě těchto geometrií v teplotní věži byla následně vyhodnocena nejlepší teplota pro extruder 3D tiskárny.



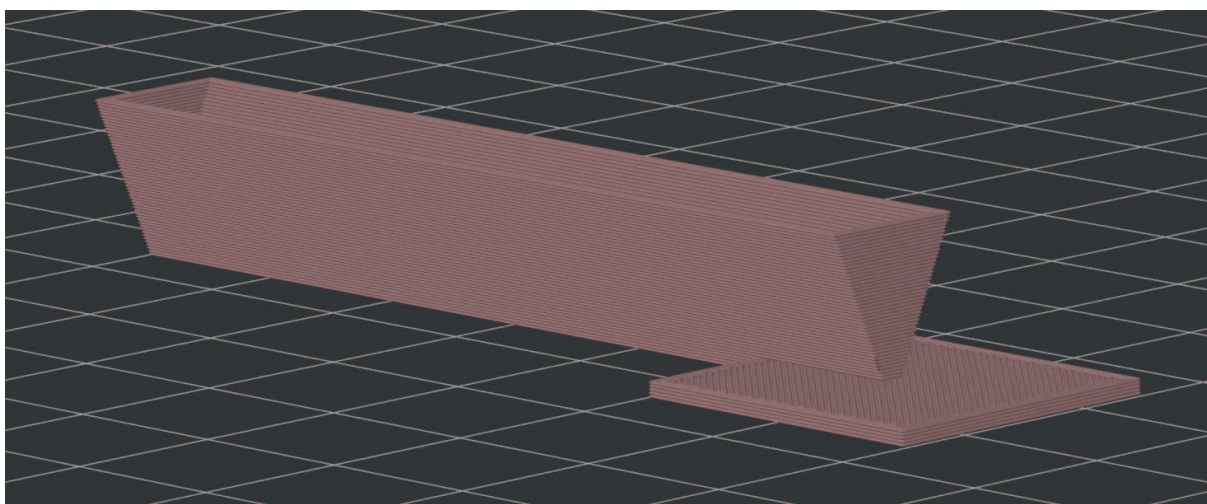
Obr. 16: Model teplotní věže, kde a-c jsou boční pohledy na věž, d je axonometrický pohled a e je pohled shora. [47]

4. 5. 2 Warping

Warping neboli pokřivení, případně zkroucení, materiálu je možné pozorovat při tisku, kdy materiál při nanášení na podložku tuhne a dochází k jeho smrštění, jehož míra se liší v závislosti na materiálu a nastavených tiskových podmínkách. Standardizovaná metoda pro zjištění zmíněných

vlastností materiálu zatím není k dispozici, avšak byla navržena speciální tělesa, pomocí kterých lze zjistit zkroucení během tisku. [47] Toto těleso má čtvercovou podložku o rozměrech 20 × 20 mm a k tomu napojený nosník ve tvaru V o rozměrech 60 × 10 × 10 mm. Nosník přilne k podložce jednou tištěnou vrstvou, která se při tisku v určitou dobu nadzvedne. V okamžiku, kdy dojde k odlepení této části vzorku od podložky, odečte se hodnota výšky extruderu na ose z na tiskárně. Výška tištěného vzorku, konkrétně 10 mm, se následně vydělí námi zaznamenanou hodnotou výšky extruderu v ose z. Získáme hodnotu warping koeficientu, nebo též deformačního koeficientu (viz rovnice 5). V případě, že se těleso (nosník) odlepe od podložky za delší časový interval, je hodnota warping koeficientu nižší a materiál vykazuje lepší tisknutelnost. [47] 3D model tělesa je znázorněn na obr. 17. V rámci této práce byly sledovány teploty vrstev s výjimkou první vrstvy, kde byla teplota nastavena vždy na 195 °C z důvodu přilnavosti. Teplota, u které byl warping koeficient nejnižší, byla následně použita při tisku těles testovaných v této experimentální práci.

$$\text{warping koeficient} = \frac{\text{výška modelového tělesa}}{\text{zaznamenaná hodnota osy z při odlepení tištěného tělesa}} \quad (5) \quad [47]$$



Obr. 17: 3D model zkušební tělesa pro zjištění warping koeficient.

4. 5. 3 Tisk 3D standardizovaných tahových, tlakových a biodegradačních těles

Z obou námi připravených tiskových strun (optimalizované OPT1 a kontrolní RP4) byla vytištěna standardizovaná 3D zkušební tahová tělesa s označením 5 A o průřezu krčku 4 × 2 mm podle ČSN EN ISO 527-2, dále standardizovaná tlaková zkušební tělesa o rozměrech 10 × 4 × 10 mm podle ČSN EN ISO 604 a také biodegradační tělesa o velikosti 10 × 4 × 10 mm podle ČSN EN ISO 604. Před vlastním 3D tiskem byly nejprve v programu Autodesk Inventor [106] vytvořeny STL soubory pro tato tělesa a ty byly převedeny do programu Prusa Slicer, v němž byly vytvořeny příslušné G-kódy a nadefinovány optimalizované teploty tisku (viz kapitola 4.5) pro tisk v tiskárně Prusa MK3S, jak bylo publikováno Menčíkem a kol. [45] Na základě uvedených parametrů tisku

byl proveden vlastní tisk vzorků 3D těles (tahových, tlakových a biodegradačních). V případě zkušebních 3D těles pro biodegradační zkoušky byla v programu PrusaSlicer navíc vytvořena jejich vnitřní gyroidní struktura s různou procentuální hustotou výplně těles gyroidem, a to varianta I (s výplní gyroidu 100 %); varianta II (s výplní gyroidu 75 %); varianta III (s výplní gyroidu 60 %); varianta IV (s výplní gyroidu 50 %); varianty V (s výplní gyroidu 25 %). Jednotlivé procentuální výplně vnitřní gyroidní struktury těles pro biodegradační zkoušky byly voleny podle publikovaných údajů a také podle odhadovaných vlastností 3D těles z pohledu jejich požadovaných mechanických vlastností (dostatečné pevnosti) a současně z pohledu vhodné „pórovitosti“ jejich vnitřní struktury, která by umožňovala růst buněk kosti uvnitř vnitřní struktury 3D tělesa coby nosiče buněk [75; 76; 77; 78]. Stejně procentuální hustoty výplně vnitřních gyroidních struktur (vyjma výplně 100%) byly voleny i při tisku reálného PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru v místě buď kompakty a nebo spongiózy skutečné stehenní kosti (viz kapitola 4.6.2). Parametry tisku (rychlost, teplota trysky apod.) standardizovaných tahových, tlakových a biodegradačních těles odpovídaly hodnotám uvedeným v kapitole 4.5.

Zkušební tělesa byla vytištěna na FDM tiskárně MK3S od firmy Prusa Research a.s. [105] Při tisku těchto 3D těles byla zvolena tloušťka stěny gyroidu 0,4 mm (což odpovídá průměru trysky extrudéru), která je z pohledu výsledné pevnosti proti působení sil tlaku na tištěná tělesa považována za dostatečnou. [72; 73]

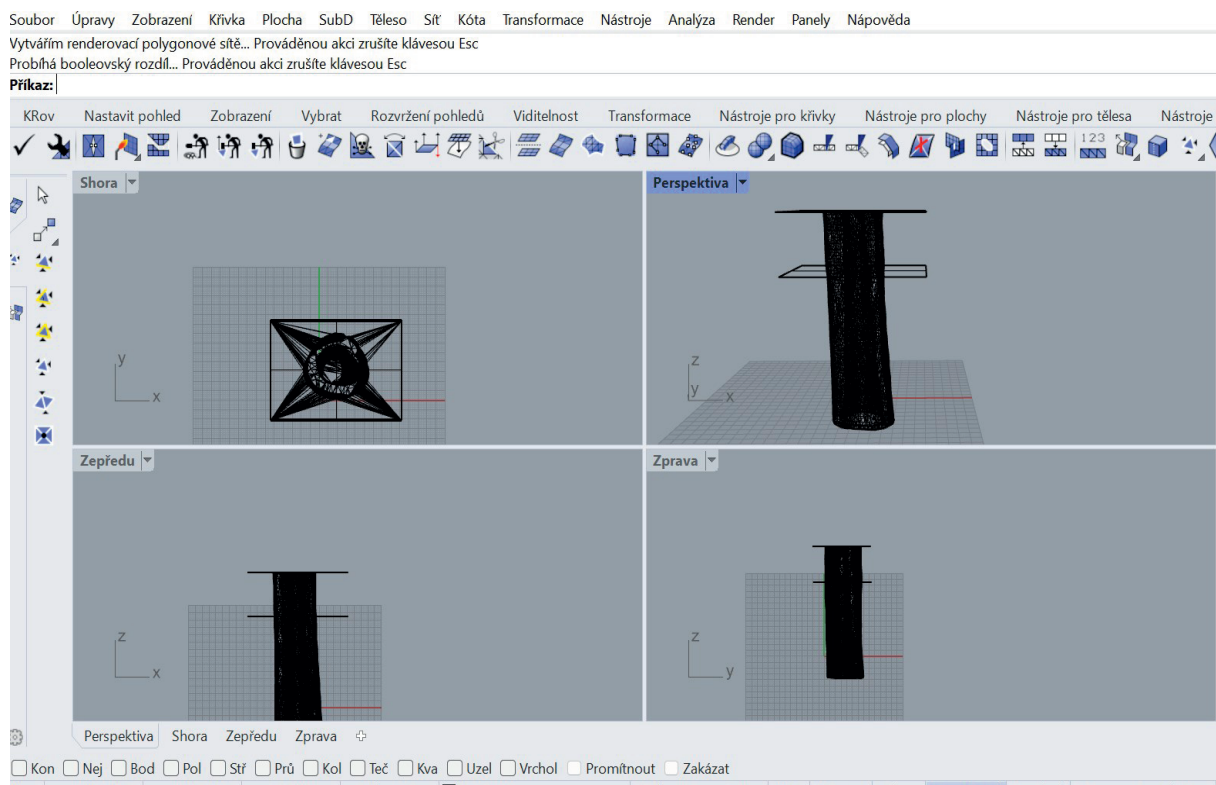
Vytištěno bylo celkem 30 standardizovaných tahových těles, 30 standardizovaných tlakových těles a celkem 75 vzorků biodegradačních těles z optimalizovaného biokompozitu OPT1 s 5 různými procentuálními výplněmi vnitřní struktury gyroidu, a to v těchto procentuálních poměrech: varianta I (s výplní gyroidu 100 %); varianta II (s výplní gyroidu 75 %); varianta III (s výplní gyroidu 60 %); varianta IV (s výplní gyroidu 50 %); varianty V (s výplní gyroidu 25 %). Bylo tedy vytištěno 5 variant testovaných biodegradačních těles, vždy po 15 vzorcích od každé z variant.

4. 6 Vytvoření PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru podle CT obrazů femuru (ve formátu .STL) ve dvanácti variantách vnitřních struktur gyroidu v místě kompakty a spongiózy reálné kosti, jeho 3D tisk, predikce jeho mechanických vlastností pomocí počítačové simulace a stanovení únosnosti v tlaku u jednotlivých variant reálných 3D těles s různou vnitřní strukturou

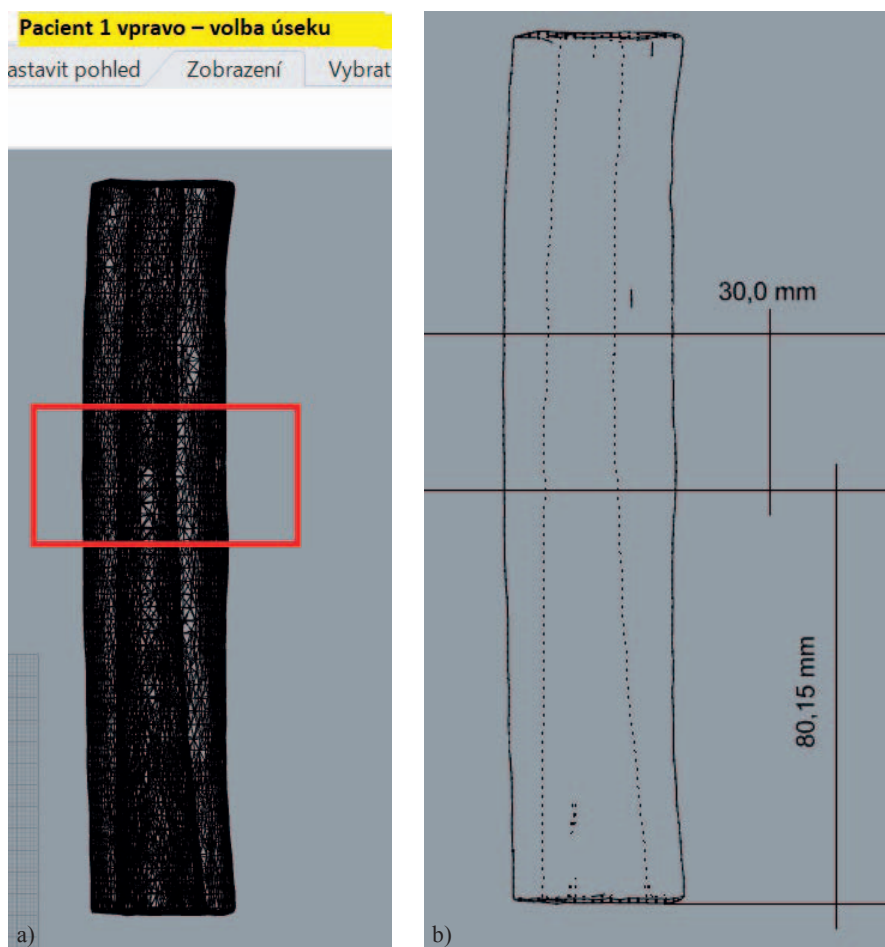
4. 6. 1 Modelování anatomického modelu segmentu diafýzy femuru podle CT obrazů femuru

V rámci experimentální práce byl vybrán náhodný pacient s CT angiografií pravé dolní končetiny na přístroji SIEMENS FORCE s tloušťkou vrstvy přepočítanou na řez 1 mm („slice“).

Od uvedeného pacienta byla k tvorbě modelu použita střední část diafýzy pravého femuru – tedy obrazový vzorek prezentovaný v axiálním řezu ve formátu DICOM 3 v rozsahu délky přibližně 120 mm, který byl zpracován v programu 3DimViewer od firmy 3D Digital Imaging and Modeling Laboratory. [84] Byla provedena segmentace struktur kostní tkáně a 3D rekonstrukce, tj.: vektorizace segmentovaných CT dat metodou Marching cubes, [107] vyhlazování povrchu modelů s eliminací zmenšování modelů a redukce počtu polygonů povrchu modelů podle Garlanda. [108] Výsledný 3D virtuální model obrazového vzorku byl uložen do stereolitografického formátu STL, a soubor *.stl byl poté exportován do software Rhinoceros 3D (obr. 18), v němž byl vytvořen 3D anatomický model výseku (segmentu) diafýzy femuru. [84] Celková výška segmentu diafýzy femuru 30 mm byla zvolena tak, aby co nejvíce odpovídala klinickým indikacím k implantaci náhrady kostní tkáně. Na obr. 19 je znázorněna přesná výšková poloha výsekového modelu femuru vůči obrazovým vzorkům 3D virtuálního modelu s uvedením výšky vytvořeného zkušební tělesa. V programu Rhinoceros 3D bylo následně provedeno oříznutí zvoleného segmentu diafýzy femuru pomocí booleovské operace a poté byly na jeho povrchu vymazány přebytečné plošky sítě obrazového vzorku části femuru. Tento proces vytvoření segmentu diafýzy femuru je znázorněn na obr. 18. Přesná výška a průměrná plocha segmentu diafýzy femuru je uvedena v tabulkách 2 a 3.



Obr. 18: Proces vytváření modelového segmentu diafýzy femuru v programu Rhinoceros 3D.



Obr. 19: a) Výsek na CT obrazu diafýzy pravého femuru náhodného pacienta zvolený tak, aby odpovídal klinickým indikacím k implantaci náhrady kostní tkáně. b) Přesná výšková poloha výsekového modelu femuru vůči obrazovým vzorkům 3D virtuálního modelu s uvedením výšky vytvořeného zkušebního tělesa. [84]

Tabulka 2: Plocha tělesa PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru v místě kompakty kosti.

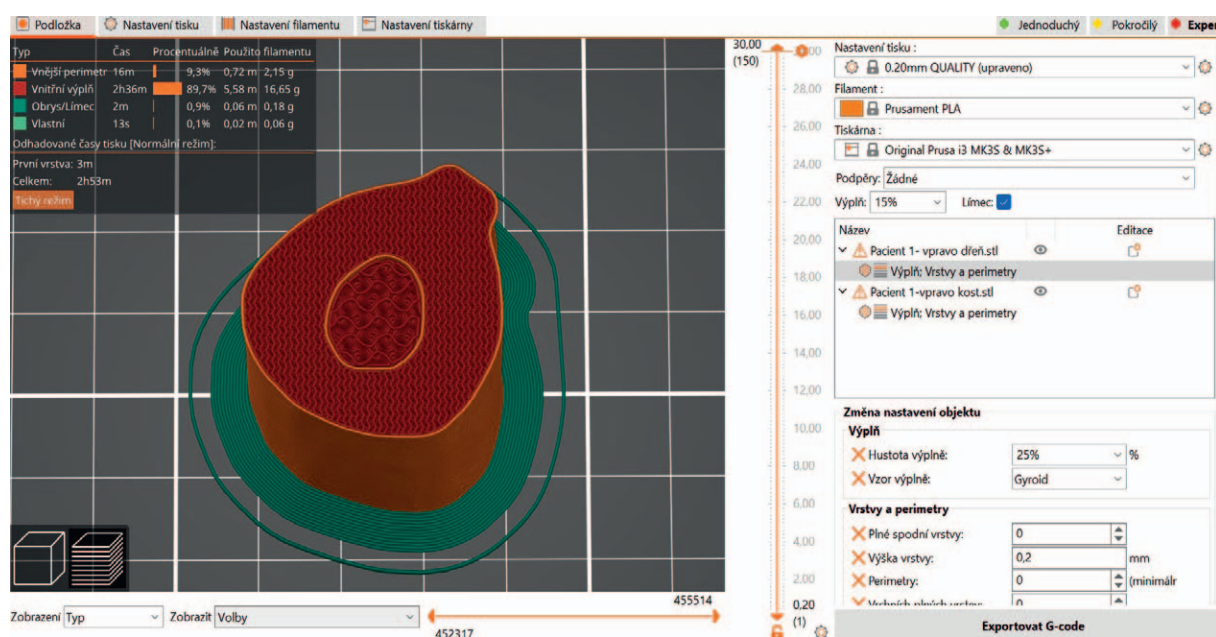
Vzorek	OZN výška	Výška modelu	Plocha horní A_h [mm ²]	Plocha dolní A_d [mm ²]	Plocha průměrná A_p [mm ²]
PIP (75, 60, 25, 0)	h1P	30,00	598,29	582,45	590,37

Tabulka 3: Souhrnná plocha tělesa PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru v místě kompakty a spongiózy.

Vzorek	OZN výška	Výška modelu	Plocha horní A_h [mm ²]	Plocha dolní A_d [mm ²]	Plocha průměrná A_p [mm ²]
PIP (75, 60, 25, 0)	h1P	30,00	764,29	768,92	766,61

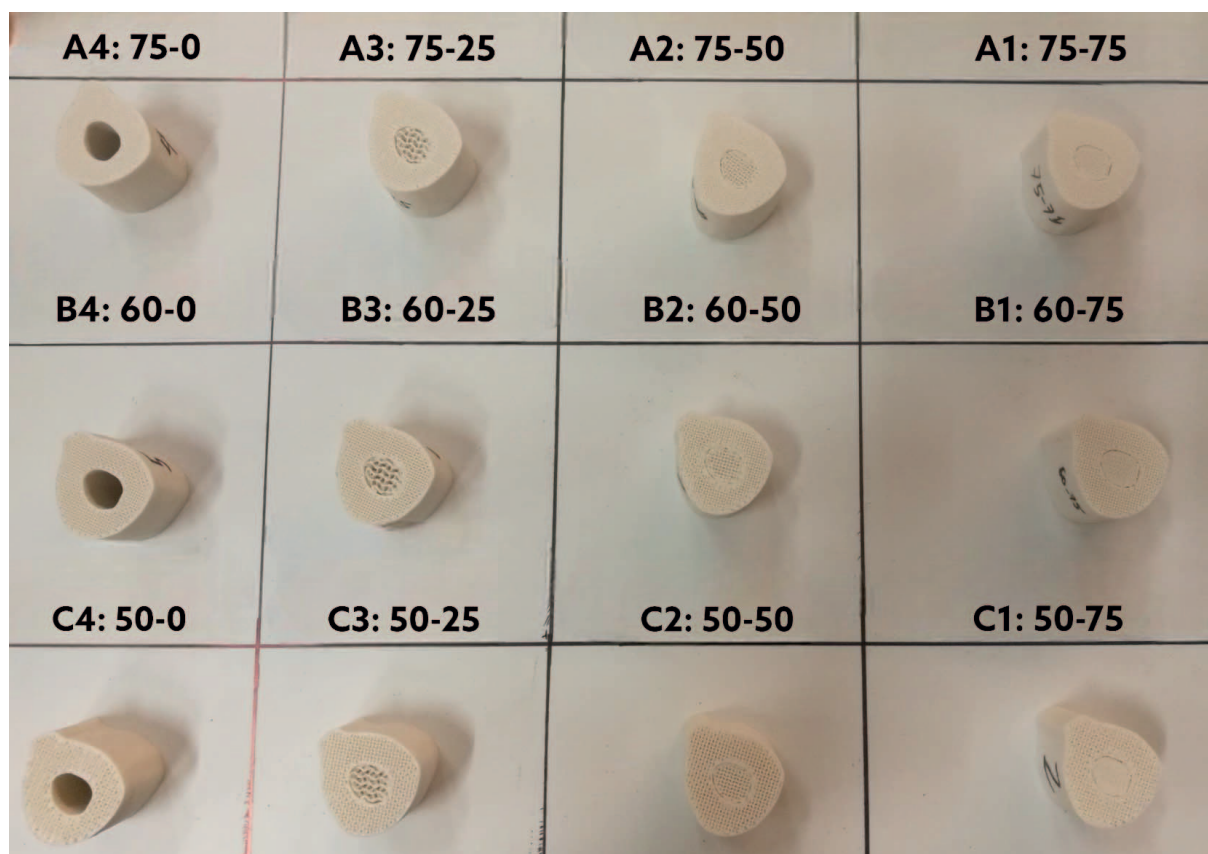
4. 6. 2 Tisk PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru

Výsledný model segmentu diafýzy femuru podle CT obrazů femuru ve formátu STL byl převeden do programu PrusaSlicer (viz obr. 20), kde byly naefinovány jednotlivé procentuální výplně vnitřní gyroidní struktury těles, a to podle publikovaných údajů a také podle odhadovaných vlastností 3D těles z pohledu jejich požadovaných mechanických vlastností (dostatečné pevnosti) a současně z pohledu vhodné „pórovitosti“ jejich vnitřní struktury, která by umožňovala růst buněk kosti uvnitř vnitřní struktury 3D tělesa coby nosiče buněk [75; 76; 77; 78; 102]. Zkušební tělesa PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru se vzájemně lišila procentuálním vyplněním zkušební tělesa v místě kompakty a spongiózní kosti vnitřní strukturou gyroidu, a to v následujících procentuálních poměrech. V místě kompakty modelu kosti byla zvolena vnitřní struktura gyroidu s odlišnou hustotou výplně kompakty gyroidem, a to konkrétně s procentuální výplní 50 %, 60 % a 75 %; v místě spongiózy modelu kosti pak byly naefinovány procentuální výplně gyroidní struktury na 0 %, 25 %, 50 % a 75 %. Pro tisk jednotlivých vrstev PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru byla z důvodu zjištění vhodnosti tloušťky vrstvy při tisku tělesa z hlediska jeho pevnosti v tlaku a modulu pružnosti v tlaku, a současně z důvodu relativně únosné doby trvání tisku jednoho 3D segmentu femuru zvolena výška vrstvy tisku 0,2 mm. [72; 73] Dále byly nastaveny krajní perimetry a také obrys okolo tělesa (z důvodu zvýšení přilnavosti tělesa k vyhřívané podložce). Teplota extruze materiálu byla nastavena na teplotu 185 °C a teplota podložky na 60 °C. Tyto teploty byly optimalizovány přímo na námi vyrobený filament (viz kapitola 4.5.) tak, aby vzájemná přilnavost vrstev tištěného materiálu byla co nejvyšší. Vytvořené G-kódy v programu PrusaSlicer (obr. 20) byly následně převedeny do FDM tiskárny Prusa model MK3S a byl realizován vlastní tisk testovaných 3D vzorků segmentu diafýzy femuru z vytvořeného biokompozitu PHB/PLA/TCP/HA (obr. 21).



Obr. 20: Tvorba G-kódu v programu PrusaSlicer

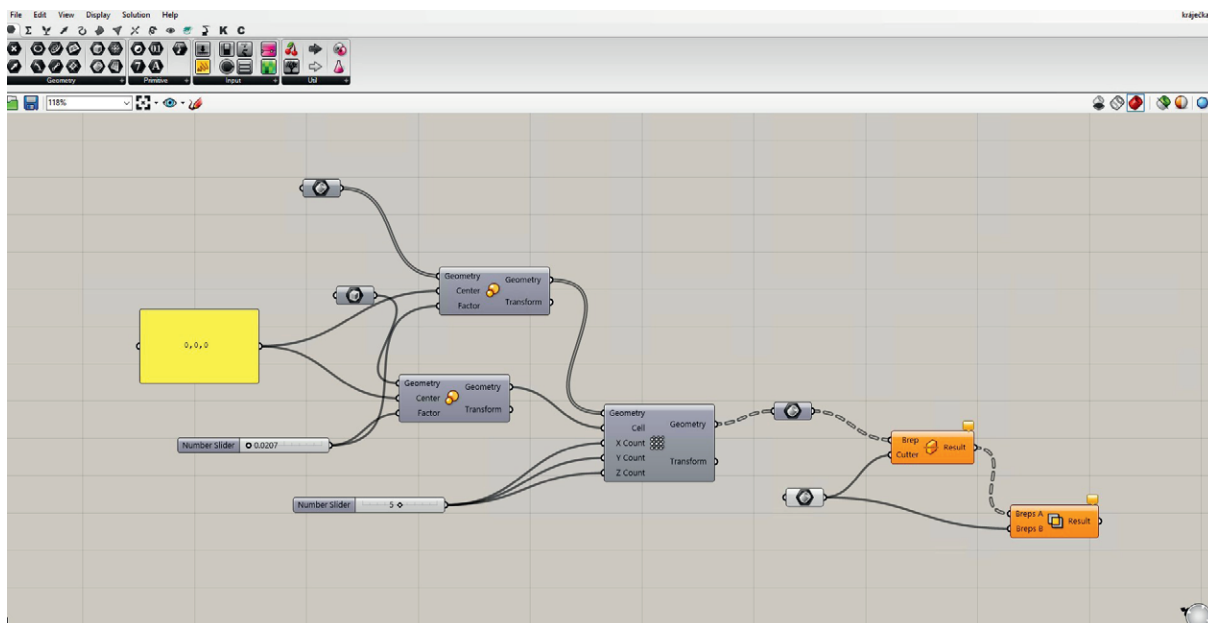
Při tisku těchto 3D těles byla zvolena tloušťka stěny gyroidu 0,4 mm (což odpovídá průměru trysky extrudéru), která je z pohledu výsledné pevnosti proti působení sil tlaku na tištěná tělesa považována za dostatečnou. [72; 73] Celkem bylo vytištěno 120 těles z optimalizovaného biokompozitu OPT1 s různou kombinací procentuální výplně kompakty a spongiózy vnitřní strukturou gyroidu u jednotlivých vzorků PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru (obr. 21), a to v těchto procentuálních poměrech: varianta A1 (kompakta s výplní 75% - spongiózní kost s výplní 75%); varianta A2 (kompakta s výplní 75% - spongiózní kost s výplní 50%); varianta A3 (kompakta s výplní 75% - spongiózní kost s výplní 25%); varianty A4 (kompakta s výplní 75% - spongiózní kost s výplní 0%); varianta B1 (kompakta s výplní 60% - spongiózní kost s výplní 75%); varianta B2 (kompakta s výplní 60% - spongiózní kost s výplní 50%); varianta B3 (kompakta s výplní 60% - spongiózní kost s výplní 25%); varianty B4 (kompakta s výplní 60% - spongiózní kost s výplní 0%); varianta C1 (kompakta s výplní 50% - spongiózní kost s výplní 75%); varianta C2 (kompakta s výplní 50% - spongiózní kost s výplní 50%); varianta C3 (kompakta s výplní 50% - spongiózní kost s výplní 25%); varianty C4 (kompakta s výplní 50% - spongiózní kost s výplní 0%). Bylo tedy vytištěno 12 variant testovaných modelu segmentu femuru, vždy po 10 vzorcích od každé z variant.



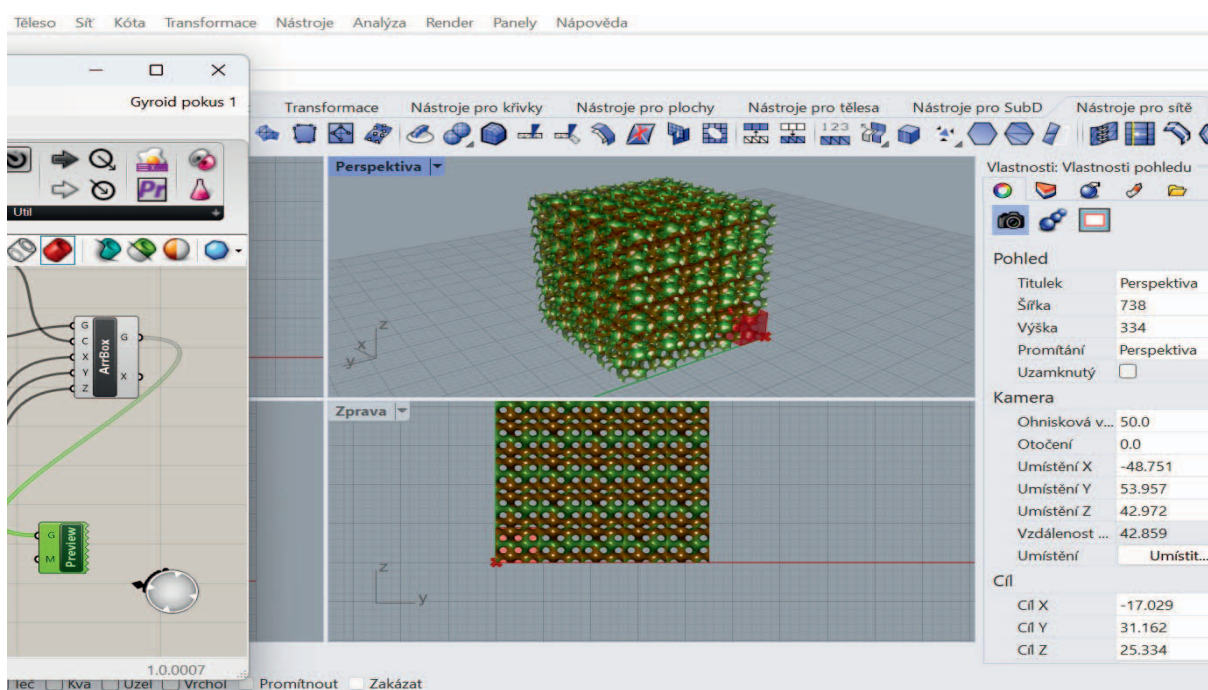
Obr. 21: Vytištěné 3D modely segmentu diafýzy femuru s různou procentuální vnitřní výplní gyroidem v místě kompaktní a spongiózní kosti.

4. 6. 3 Modelování vnitřní gyroidní struktury segmentu diafýzy femuru v programu Rhinoceros 3D a příprava jeho virtuálního modelu pro ANSYS

Pomocí programu Rhinoceros 3D byla vymodelována buňka gyroidu, která byla následně propojena do více buněk spojitými ploškami. Následně byla pomocí softwarového modulu (plug-in) Grasshoper vygenerována geometrie gyroidní struktury pomocí funkce, podle které je popsána buňka gyroidu (2) (viz kapitola 2.6). Ve stejném softwarovém modulu (plug-in) byly vytvořeny jednotlivé plochy (stěny) gyroidní struktury. Tvorba gyroidní struktury je znázorněna na obrázcích 22 a 23.

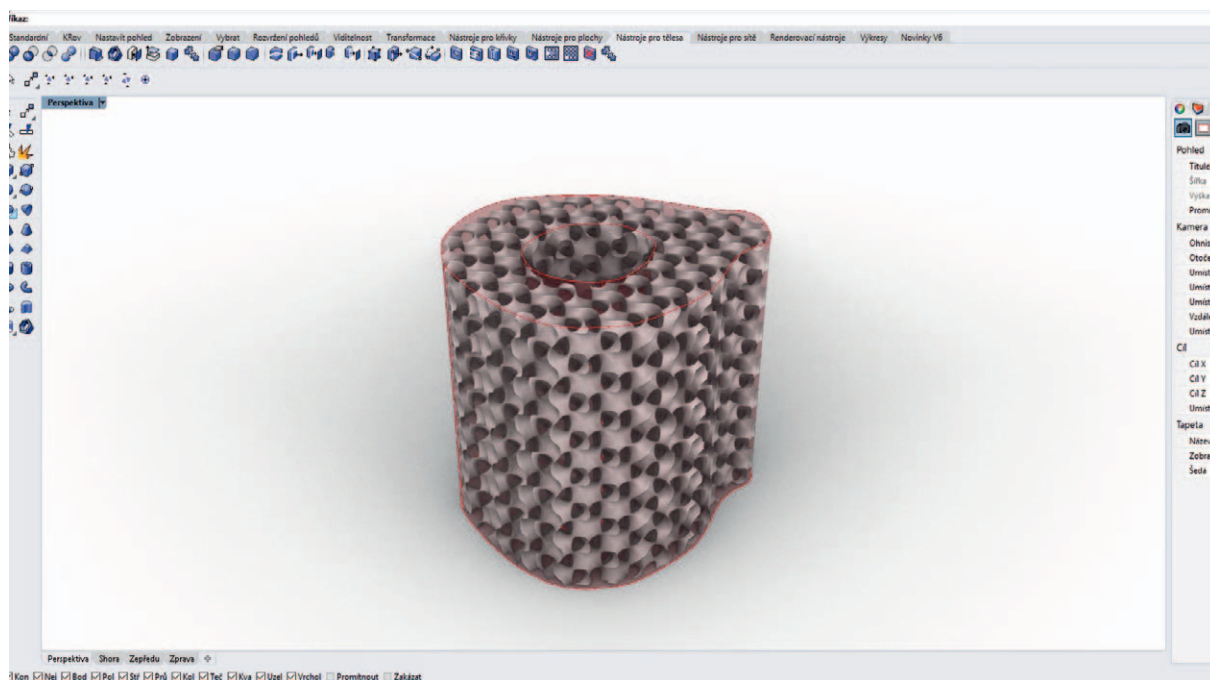


Obr. 22: Úprava gyroidních buněk v softwareovém modulu (plug-in) Grasshoper programu Rhinoceros 3D.



Obr. 23: Vzniklé plochy (vnitřní stěny) gyroidní struktury zobrazené v programu Rhinoceros 3D.

Následně byl vymodelován tvar anatomického modelu segment diafýzy femuru vytvořený v této experimentální práci podle CT obrazů reálného femuru pacienta a gyroidní struktura byla podél jeho vnějších ohraničení oříznuta tak, aby nepřesahovala (a přesně kopírovala) stěny 3D objektu. Velikost gyroidních buněk a jejich hustota uvnitř gyroidní struktury tělesa byla nastavena tak, aby co nejvíce odpovídala procentuální výplni kompaktní a spongiózní části modelu dvanácti variant segmentu diafýzy femuru (viz kapitola 4.6.2), jež byly virtuálně vytvořeny (vymodelovány) v programu PrusaSlicer. Velikost pórů uvnitř struktury gyroidem vyplněného tělesa byla změřena u jednotlivých variant procentuálních výplní segmentu diafýzy femuru pomocí konfokálního mikroskopu. Pro účely vymodelování virtuálního počítačového modelu segmentu femuru s vnitřní gyroidní strukturou (v uvedených dvanácti variantách), byla ve všech případech zvolena tloušťka stěny gyroidu 0,4 mm, a to z důvodu signifikantně vyšší schopnosti tištěných těles s uvedenou tloušťkou stěny gyroidu odolávat působení tlaku, a tím lepších mechanických vlastností vzorku (viz kapitola 2.6.). [72; 73] Na základě takto zjištěných dat byl vytvořen numerický model segmentu diafýzy femuru pro každou z dvanácti variant lišících se hustotou gyroidních buněk a velikostí pórů uvnitř gyroidu, který tak odpovídal vždy jedné z těchto dvanácti variant. Připravený model sítě ve formátu STL byl poté importován do výpočtového programu ANSYS, v němž byla následně stanovována predikce maximální síly, které příslušný virtuální model segmentu femuru je schopen při tlakovém zatížení odolat. Zjištěné hodnoty byly následně porovnány s hodnotami tlakové síly, kterým je schopen odolat reálný, 3D tiskem vyrobený, vzorek PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru, mající stejnou procentuální hustotu vnitřní gyroidální struktury tvořící výplň kompakty a spongiózy, jako příslušný virtuální model femorálního vzorku vytvořený softwarem v programu Rhinoceros 3D.

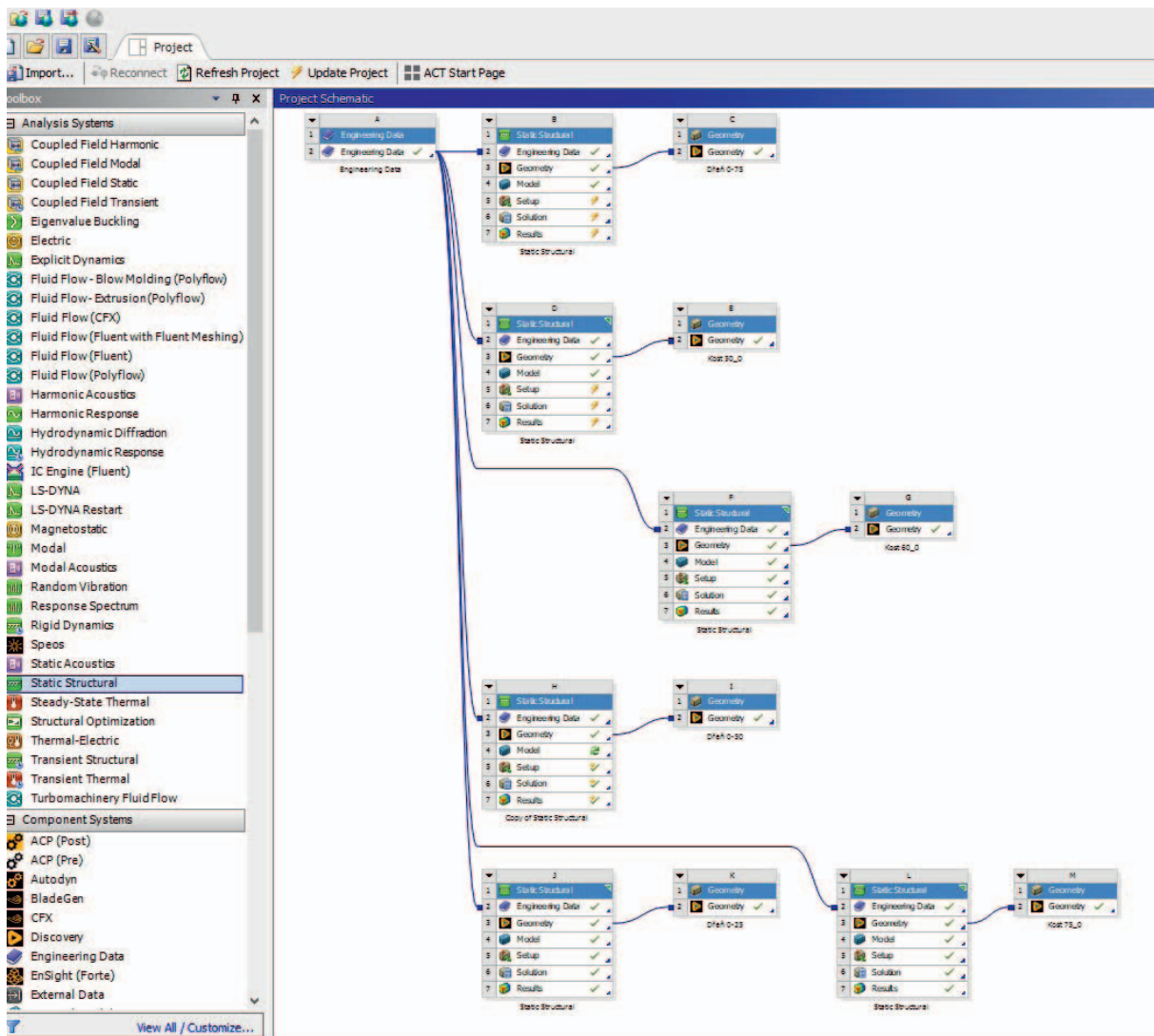


Obr. 24: Oříznutí gyroidní struktury podél reálného segmentu femuru v programu Rhinoceros 3D.

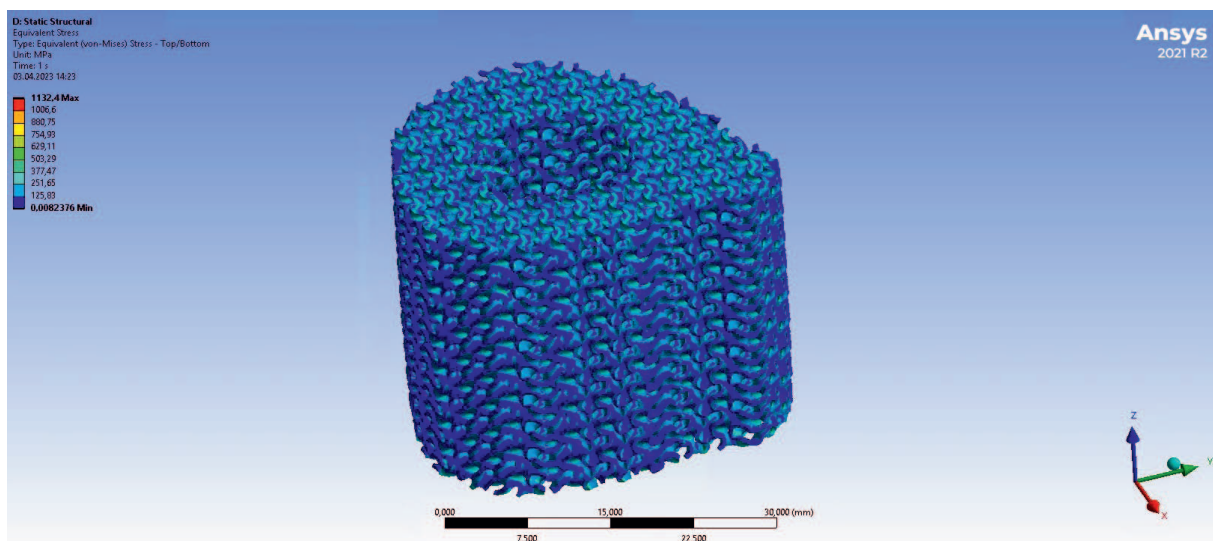
4. 6. 4 Vytvoření numerického modelu v programu ANSYS pro reálné anatomické segmenty diafýzy femuru s různou hustotou gyroidní výplně

Modely anatomického segmentu diafýzy femuru s různou hustotou gyroidní výplně vytvořené v programu Rhinoceros 3D byly převedeny do výpočtového programu ANSYS (software sloužící pro virtuální modelování a výpočetní analýzy v oblasti inženýrských simulací a umožňující řešit kombinované modely dynamiky mechanismů tuhých těles) [109] a pomocí tohoto programu byly vytvořeny jednotlivé geometrie střednicových rovin anatomického segmentu diafýzy femuru. Ve výpočtovém programu ANSYS bylo provedeno zdrojové rozdělení dat v prostředí Workbench a nadefinován geometrický a matematický model uvedeného 3D tělesa. Byla vytvořena data pro námi zkoumaný optimalizovaný kompozit OPT1. V této studii námi zjištěné a reálně naměřené hodnoty jednotlivých veličin charakterizujících mechanické vlastnosti materiálu (jako je modul pružnosti optimalizovaného biokompozitu OPT1, pevnost v tahu a pevnost v tlaku) byly rovněž zadány (implementovány) do programu ANSYS. Dále byly v programu definovány potřebné parametry strukturní analýzy, a to zejména procentuální deformace testovaného 3D vzorku a dále směr zatěžování, respektive v jakém směru má příslušná síla zátěže působit.

U všech testovaných vzorků PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru s různou hustotou gyroidní výplně byla v programu ANSYS následně provedena simulace jejich tlakového zatížení. V průběhu této simulace zatěžování tělesa tlakem docházelo k vykreslování koncentrace napětí v jednotlivých místech modelu anatomického segmentu femuru. Práce při vytváření modelu v prostředí Workbench je znázorněna na obr. 25. Vlastní simulace mechanického testování analyzovaného reálného anatomického modelu segmentu diafýzy s vnitřní gyroidní výplní při tlakovém zatížení je pak znázorněna na obr. 26. Na obr. 26 je rovněž zobrazeno rozložení koncentrace napětí při tomto virtuálním počítačovém tlakovém zatěžování modelu testovaného vzorku, z něhož je patrné, že k největší koncentraci napětí docházelo v místech testovaného modelu 3D tělesa, která neležela přímo kolmo ke směru působení sil zátěže. Ve výpočtovém programu ANSYS byla získána data z pohledu možné predikce pevnosti testovaných 3D těles, tedy virtuální hodnoty odolnosti PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru s různou hustotou gyroidní výplně proti působení tlakové síly, které mohly být následně porovnány s reálnými hodnotami naměřenými při vlastním mechanickém testování zatížení v tlaku PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru v různých variantách vnitřních struktur v místě kompakty a spongiózy reálné kosti (viz kapitola 5.5).



Obr. 25: Nadefinování geometrie modelu anatomického segmentu diafýzy femuru a zdrojové rozdělení dat v prostředí Workbench.



Obr. 26: Příklad výstupu ekvivalentního napětí v Pascalech při tlakovém zatěžování anatomického modelu segmentu diafýzy femuru (vytvořeného podle CT obrazů femuru) s vnitřní gyroidní strukturou ve výpočtovém programu ANSYS.

4. 7 Testování mechanických vlastností 3D těles z PHB/PLA/TCP/HA kompozitu

V rámci této experimentální práce bylo provedeno mechanické testování standardizovaných tahových a tlakových těles, a to vždy po 7 dnech od vytištění vzorků z důvodu dokončení krystalizace tištěných polymerů. V případě mechanického testování PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru byly mechanické testy provedeny po vytištění všech vzorků (tj. nejméně 20 dnů po vytištění posledního vzorku a nejvíce 156 dnů po vytištění prvního vzorku), tedy v okamžiku, kdy bylo pro testování dostupných všech 120 vzorků anatomického segmentu diafýzy femuru v jeho dvanácti variantách vnitřních struktur v místě kompakty a spongiózy reálné kosti.

4. 7. 1 Pevnost v tahu a modul pružnosti v tahu 3D standardizovaných tahových těles, pevnost v tlaku a modul pružnosti v tlaku 3D standardizovaných tlakových a biodegradacních těles

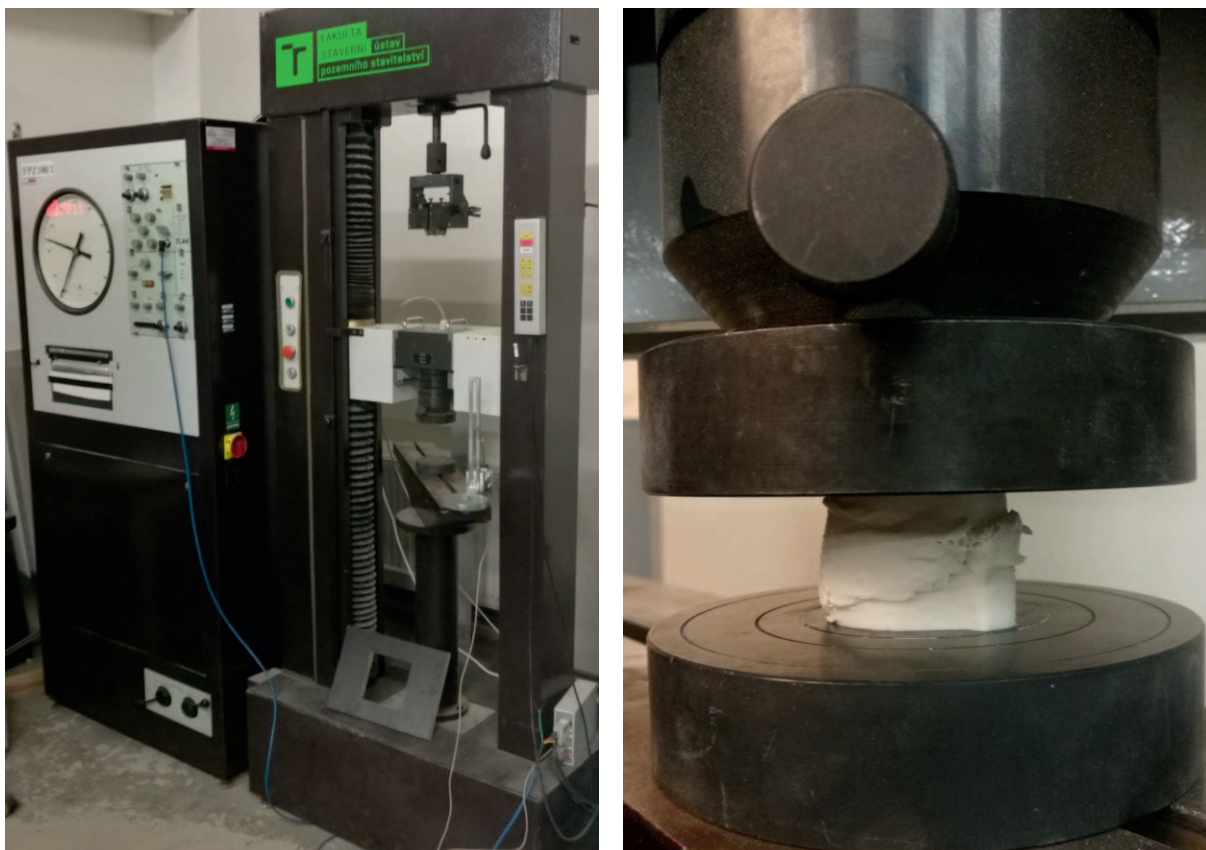
Pro mechanické testy standardizovaných tlakových a tahových těles byl použit přístroj Zwick Roell Z010 se zatěžovací hlavou do 10 kN. Vzdálenost geometrie (*grip to grip separation*) byla nastavena na 1,4 cm a *preload* 1 N. Modul pružnosti byl vyhodnocován z oblasti 1,25–1,50 % deformace a zatěžovací rychlost byla nastavena na 1 mm·min⁻¹. Limitní hodnota deformace byla nastavena na 20 %. Zkoušky standardizovaných tlakových a biodegradacních těles byly provedeny podle normy ČSN EN ISO 604. U standardizovaných tahových těles byla použita zatěžovací hlava do 1 kN a zkouška byla provedena podle normy ČSN EN ISO 527-2. Rychlost zatěžování byla nastavena na 5 mm·min⁻¹ a Youngův modul pružnosti byl poté vyhodnocen z oblasti deformace 0,25–0,5 %.



Obr. 27: Mechanické testování standardizovaných tlakových těles na přístroji Zwick Roell Z010.

4. 7. 2 Únosnost v tlaku PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru ve dvanácti variantách vnitřních struktur v místě kompakty a spongiózy reálné kosti

U 3D tištěných PHB/PLA/TCP/HA anatomických modelů segmentu femuru ve dvanácti variantách vnitřních struktur v místě kompakty a spongiózy reálné kosti (12 variant po 10 vzorcích; celkem tedy 120 testovaných vzorků 3D těles) byly provedeny mechanické zkoušky jejich pevnosti v tlaku na mechanickém lisu FPZ 100/1, který je znázorněn na obr. 28 vlevo. Pro zatěžování byla zvolena zatěžovací hlava s dosahem maximální síly 100 kN. Posun příčnicku byl snímán potenciometrickým snímačem dráhy WDS-500-P60. Data byla zaznamenávána do měřicí ústředny Ahlborn 809-9 a to s frekvencí 5 Hz, tedy s časovým intervalem 0,2 s. Rychlost zatěžování byla nastavena na hodnotu $1 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$. Parametry zatěžování byly nastaveny podle normy pro tlakovou zkoušku ČSN EN ISO 604, a vzdálenost příčnicku na základě velikosti vytištěných segmentů. Na obr. 28 vpravo je pohled na zkoušený vzorek s detailem na místo porušení.



Obr. 28: Mechanický lis FPZ 100/1 (vlevo) a zkoušený 3D tištěný segment femuru (vpravo).

4. 8 Biodegradční testy 3D těles z PHB/PLA/TCP/HA biokompozitu

Pro biodegradční testy 3D těles z PHB/PLA/TCP/HA biokompozitu bylo nutné připravit simulovanou tělesnou tekutinu, do které byly následně ponořeny vytištěné vzorky zkušebních 3D těles pro biodegradční zkoušky vyrobené z PHB/PLA/TCP/HA s vnitřní gyroidní strukturou s různou procentuální hustotou výplně těles gyroidem, a to 100%, 75%, 60%, 50%, respektive 25% výplně

gyroidem (varianta I až V) (viz kapitola 4.5.3). Pro přípravu simulované tělesné tekutiny bylo do plastové nádoby s míchadlem odměřeno 700 ml destilované vody (obr. 29). Poté byla nádoba zakryta hodinovým sklem a tekutina byla udržována na teplotě 37 °C. Dále byly postupně odváženy jednotlivé chemikálie, jakožto složky simulované tělesné tekutiny (viz tabulka 4), a to vždy po úplném rozpuštění předešlé složky, až po složku síranu sodného. [104] Následně byla do nádoby doplněna destilovaná voda do objemu 900 ml a byl vložen pH metr. Tris(hydroxymethyl)amino-methan (Tris) byl přidáván vždy do ustálení hodnoty pH a jakmile bylo dosaženo pH $7,30 \pm 0,01$, bylo jeho další přidávání zastaveno, dokud se teplota neustálila na 37 °C. Následně byl tris přidáván až do hodnoty pH $7,45 \pm 0,01$, a poté byl roztok okyselen 1 mol/l HCl na pH $7,42 \pm 0,01$. Hodnota pH byla udržována v tomto rozmezí pomocí Tris a HCl, dokud nebyl spotřebován veškerý navážený Tris. Tekutina byla doplněna destilovanou vodou, aby její celkový objem byl 1 l. Následně byla tekutina ochlazená na laboratorní teplotu. [104] Na analytických vahách byla zjištěna hmotnost biodegradačních těles z PHB/PLA/TCP/HA před zahájením biodegradačního testu. Poté bylo 15 ml této tekutiny odměřeno do malých vialek, do kterých byla následně vložena vytištěná 3D zkušební tělesa pro biodegradační zkoušky vyrobená z PHB/PLA/TCP/HA, a to vždy po 15 kusech od každé z pěti variant I až V (s výplní gyroidem 100 %, 75 %, 60 %, 50 %, respektive 25 %); celkem tedy bylo takto testováno 75 zkušebních těles. Nakonec byly vialky uzavřeny plastovým víčkem a vloženy do inkubátoru s konstantní teplotou 37 °C. Test biodegradace byl prováděn celkem po dobu 4 měsíců s tím, že vždy v intervalu 1 měsíce bylo z inkubátoru vyjmuta 15 vzorků (vždy 3 vzorky od každé z pěti variant (varianta I až V) testovaných těles) a na analytických vahách byla zjištěna jejich hmotnost. Tak bylo možno sledovat měsíční úbytek hmotnosti u všech variant (I až V) testovaných vzorků (tzn. úbytek jejich hmotnosti za 1, 2, 3, respektive 4 měsíců od počátku inkubace). Dále byla biodegradační tělesa podrobena mechanickým tlakovým zkouškám a byla stanovena maximální velikost tlakové síly způsobující porušení vnitřní struktury biodegradačního tělesa z PHB/PLA/TCP/HA s různou procentuální výplní gyroidem (varianta I až V) v průběhu degradace v simulované tělesné tekutině, a to po uplynutí doby 1 až 4 měsíců. Provedena byla rovněž analýza povrchu biodegradačních vzorků konfokálním mikroskopem a bylo změřeno vyvýšení povrchu zkoumaných vzorků v místě tvorby krystalků hydroxyapatitu.

Tabulka 4: Navážená množství jednotlivých složek přidávaných postupně do zahřáté destilované vody při přípravě simulované tělesné tekutiny pro biodegradační testy 3D těles z PHB/PLA/TCP/HA biokompozitu.

Složka	Množství
NaCl (M_w : 58,44 g/mol)	8,04 g
KCl (M_w : 74,55 g/mol)	0,23 g
NaHCO ₃ (M_w : 84,01 g/mol)	0,36 g
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O (M_w : 228,22 g/mol)	0,23 g
MgCl ₂ ·6H ₂ O (M_w : 203,30 g/mol)	0,31 g
1M HCl	39 ml
CaCl ₂ (M_w : 110,98 g/mol)	0,29 g
Na ₂ SO ₄ (M_w : 142,04 g/mol)	0,07 g
Tris (M_w : 121,14 g/mol)	6,12 g



Obr. 29: Příprava simulované tělesné tekutiny pro biodegradční testy 3D těles z PHB/PLA/TCP/HA biokompozitu.

5. VÝSLEDKY A DISKUZE

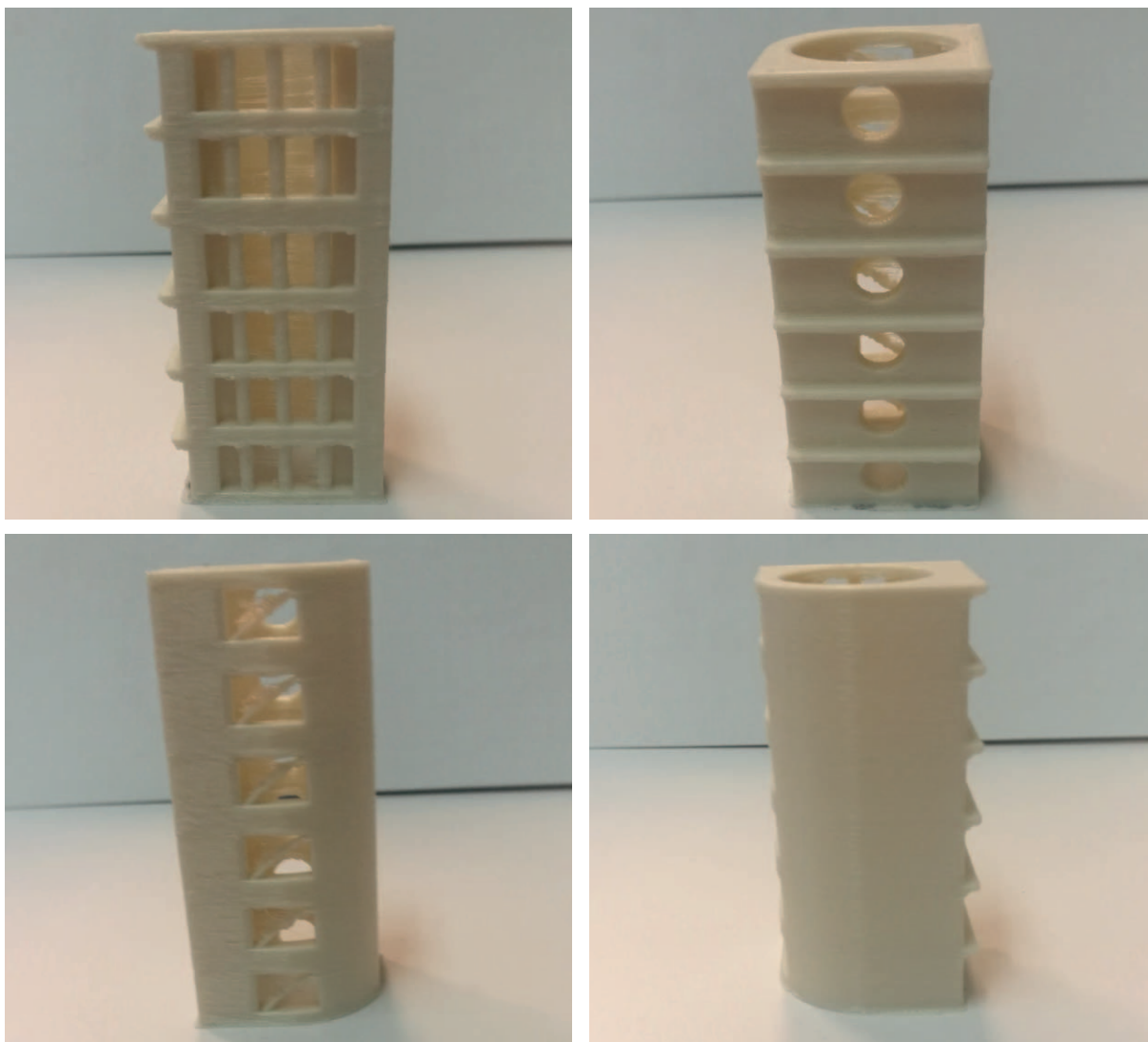
5.1 Optimalizace parametrů tisku a 3D tisk standardizovaných těles

5.1.1 Tisk 3D teplotních věží

Ze studie na vytištěných 3 teplotních věžích s rozsahem teplot v případě první teplotní věže 220 °C až 195 °C, druhé teplotní věže 195 °C až 170 °C, respektive u třetí teplotní věže 180 °C až 155 °C, bylo zjištěno, že neoptimálnější teplota extruze biokompozitu OPT1 při použití 3D tiskárny FDM Prusa MK3S (stanovena subjektivním posouzením) činí 185 °C. Stanovení optimální teploty bylo nezbytné pro zajištění kvality tiskového procesu vytvářející detaily struktury s dostatečným rozlišením. Proto byla na teplotních věžích vyhodnocena výsledná kvalita sledovaných geometrických struktur, tvarů či obrysů: a) kolonády a přemostění mezi patry tělesa; b) horizontální kruhové otvory a převisy mezi patry tělesa; c) pravoúhlé otvory s diagonální příčkou; d) zaoblení stěn tělesa (obr. 30), v jednotlivých patrech a tím tedy v závislosti na teplotě extrudéru při 3D tisku (tabulka 5).

Tabulka 5: Rozsah teploty extrudéru při tisku, optimální teploty extruze z hlediska nejvyšší kvality tisku u sledovaných geometrických struktur, tvarů či obrysů, respektive výsledná optimální teplota 3D teplotní věže jako celku vytištěné z biokompozitu OPT1.

Rozsah teploty extrudéru při tisku	Kolonády a přemostění mezi patry tělesa (optimální teplota)	Horizontální kruhové otvory a převisy mezi patry tělesa (optimální teplota)	Pravoúhlé otvory s diagonální příčkou (optimální teplota)	Zaoblení stěn tělesa (optimální teplota)	Výsledná optimální teplota tisku 3D teplotní věže
220-195 °C	-	195 °C	-	-	185 °C
195-170 °C	185 °C	185 °C	185–180 °C	185–175 °C	
175-155 °C	175 °C	-	175 °C	-	



Obr. 30: Pohled ze čtyř stran na jednu z 3D tištěných teplotních věží z biokompozitu OPT1 na tiskárně FDM Prusa MK3S při nejvíce vyhovujícím rozsahu teploty extrudéru v rozmezí 195 °C - 170 °C; kolonády a přemostění mezi patry tělesa (vlevo nahoře); horizontální kruhové otvory a převisy mezi patry tělesa (vpravo nahoře); pravouhlé otvory s diagonální příčkou (vlevo dole); zaoblení stěn tělesa (vpravo dole).

Z tabulky 5 vyplývá, že výsledná optimální teplota tisku 3D teplotní věže z optimalizovaného biokompozitu OPT1 byla (dle subjektivního posouzení co možná nejvyšší kvality tisku a nejlepších detailů jednotlivých tištěných geometrických struktur, tvarů a obrysů 3D tělesa) 185 °C.

V případě této studie použitého teplotního rozsahu teploty extrudéru při tisku první teplotní věže (v rozmezí teplot 220–195 °C) byla z pohledu kvality vytištěných struktur výsledného 3D tělesa jako optimální hodnocena teplota extruze 195 °C, a to jen pro geometrický prvek horizontálních kruhových otvorů a převisů mezi patry tělesa. U ostatních geometrických prvků této první teplotní věže se po jejím vytištění objevovalo „přetékání“ materiálu přes okraje 3D struktur teplotní věže, které byly způsobeny relativně dlouhotrvajícím ochlazením vytištěného materiálu a pomalou krystalizací polyhydroxybutyrátu obsaženého ve směsi biokompozitu OPT1.

Tento jev byl zaznamenán převážně u vyšších teplot extruze, přesahujících hodnotu 200 °C. Kontárová a kol. [47] uvádí, že u vyšších teplot extruze se u teplotních těles tištěných z filamentu složeného z PHB a PLA projevila tepelná degradace materiálu, a to tmavším zbarvením pater u 3D tištěných teplotních věží. V případě námi použitého optimalizovaného kompozitu OPT1 s přídavkem hydroxyapatitu a změkčovadla Syncroflex, nebyl v průběhu této studie podobný jev tmavého zbarvení pater 3D vzorku pozorován u žádného z vytištěných teplotních těles, což může být dáno přítomností práškové formy hydroxyapatitu v použitém biokompozitu OPT1, jež může dodat výslednému tělesu odstín světlejší barvy. Podobně také Shishatskaya a kol. [110] prokázali, že hydroxyapatit v PHB neovlivňuje krystalinitu a teplotní vlastnosti polymeru, ale pouze zvyšuje hydrofilní vlastnosti povrchu tištěných těles a jejich světlejší zbarvení. Z uvedeného lze tedy dovodit, že hydroxyapatit spolu s PLA a PHB mohl mít vliv na světlejší zbarvení námi vytištěné první teplotní věže, a že případná degradace materiálu projevující se při vyšších teplotách jeho tmavším odstínem, tak nebyla zaznamenána (obr. 30).

Při tisku druhé teplotní věže (tištěné v rozmezí teplot extrudéru 195-175 °C) v této studii byla z pohledu kvality vytištěných struktur tohoto 3D tělesa jako optimální hodnocena teplota extruze 185 °C, a při této teplotě extruze byl následně (dle posouzení výsledné kvality tisku věže jako celku a současně nejvyšší kvality detailů jednotlivých tištěných geometrických struktur, tvarů a obrysů) tento druhý zkušební vzorek teplotní věže v této studii hodnocen jako vzorek s nejvyšší kvalitou. V daném případě nebyly zaznamenány barevné změny, tvarové změny v podobě „přetékání“ materiálu apod.

3D vzorek třetí teplotní věže vytištěný na FDM tiskárně Prusa MK3S z biokompozitu OPT 1 při rozsahu teplot extrudéru 175-150 °C byl hodnocen z pohledu kvality struktur výsledného tělesa optimálně při teplotě extruze 175 °C, i když ani při této teplotě nebyla kvalita tisku ideální a docházelo v některých místech tělesa k nevyplnění celého tištěného objektu optimalizovaným materiálem (OPT1), mezi vytištěnými vrstvami se objevily mezery a k tisku použitý biokompozit velmi rychle po extruzi tuhnul. Při nižších teplotách extruze (okolo 160 °C) už nebylo vůbec možné 3D těleso vytisknout, neboť docházelo k zatuhnutí filamentu v ústí trysky 3D tiskárny.

Z obr. 30 a tabulky 5 vyplývá, že při využití FDM tisku na tiskárně Prusa MK3S lze za nejoptimálnější pro 3D tisk těles z biokompozitu OPT1 považovat teplotu extruze 185 °C. S ohledem na skutečnost, že při hodnocení výše uvedených parametrů a hledisek kvality tisku teplotních věží z biokompozitu OPT1 se jednalo o hodnocení subjektivní, jak také uvádí Kontárová a kol. [47] v jiné studii, byl za účelem dalšího pohledu na kvalitu výsledného produktu, a více objektivního posouzení vlastností důležitých pro kvalitu tištěného 3D tělesa pomocí FDM tisku, proveden rovněž tzv. warping test v rozsahu teplot 195 °C až 160 °C (viz kapitola 5.1.2).

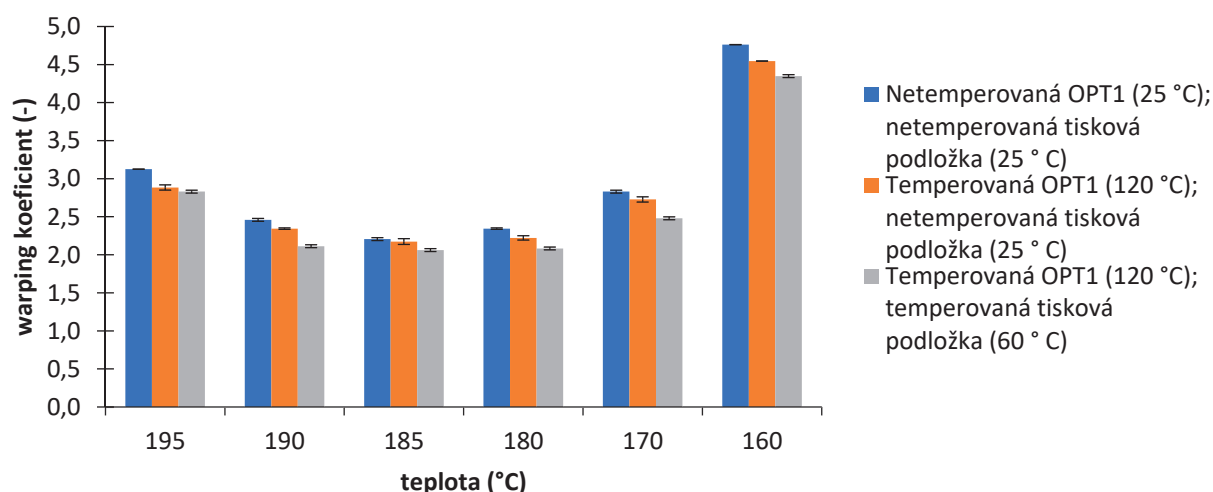
5. 1. 2 Warping

Z důvodu nalezení co možná nejvyšší přilnavosti tištěného 3D tělesa k vyhřívané tiskové podložce při FDM tisku vzorků z optimalizovaného biomateriálu OPT1 byl proveden tzv.

warping test. Hodnoty warping koeficientu (jako bezrozměrné veličiny) pro různé teploty extruze biokompozitu OPT1 byly stanoveny jakožto hodnoty výšky tištěné vrstvy (v mm), odečtené z osy z na displeji FDM tiskárny Prusa MK3S, při kterých došlo k odchlípnutí tištěného vzorku od tiskové podložky, které byly zaznamenány a použity k matematickému výpočtu. Pomocí rovnice (5) (viz kapitola 4.5.2.) byl vypočten tzv. *warping koeficient* pro různé teploty tiskové struny a vyhřívané tiskové podložky před a během tisku 3D tělesa při FDM tisku optimalizované receptury OPT1 (tabulka 6).

Tabulka 6: Warping koeficienty pro optimalizovanou recepturu biokompozitu OPT1 vypočtené dle rovnice (4) pro různé teploty tiskové struny a vyhřívané tiskové podložky před a během tisku 3D tělesa pro určení warping koeficientu.

Warping koeficient pro různé teploty tiskové struny a vyhřívané tiskové podložky (-)			Teplota extruderu 3D tiskárny (° C)
Netemperovaná OPT1 (25 °C); netemperovaná tisková podložka (25 ° C)	Temperovaná OPT1 (120 °C); netemperovaná tisková podložka (25 ° C)	Temperovaná OPT1 (120 °C); temperovaná tisková podložka (60 ° C)	
3,12±0,00	2,88±0,03	2,83±0,01	195
2,46±0,02	2,34±0,00	2,11±0,01	190
2,20±0,02	2,17±0,04	2,06±0,03	185
2,34±0,00	2,22±0,02	2,08±0,04	180
2,83±0,02	2,73±0,03	2,48±0,00	170
4,76±0,01	4,55±0,00	4,34±0,00	160



Obr. 31: Graf závislosti warping koeficientu na teplotě extruderu 3D tiskárny pro různé teploty tiskové struny a vyhřívané tiskové podložky (tabulka 6).

Platí, že čím je hodnota warping koeficientu nižší, tím je tisknutelnost materiálu lepší, respektive je tím lepší přilnavost tištěného materiálu k povrchu tiskové podložky. [47] Z dat

naměřených v naší studii vyplývá, že optimalizovaná tisková struna OPT1 má lepší přilnavost k tiskové podložce při zahřátí před tiskem na 120 °C, a to na rozdíl od stejné tiskové struny, která není před tiskem předehřátá. Gonzalez a kol. [46] uvádí že, se zvyšující se vzdáleností tištěného materiálu (v daném případě PHB/PLA) od předehřáté tiskové podložky klesá krystalinita a rychlost krystalizace směsi PHB/PLA. Z uvedeného lze dovodit, že také v této naší studii, zabývající se parametry warping koeficientu biokompozitu OPT1, se při zahřátí tiskové podložky na 60 °C zvýšila krystalinita a přilnavost tištěného materiálu k podložce. Podobně lze tedy dovodit, že i v případě předehřátí tiskové struny před 3D tiskem 3D tělesa se mírně zvýší krystalinita směsi PHB/PLA a zvýší se přilnavost tištěného materiálu. Z naměřených dat vyplývá, že nejmenší přilnavost vykazovala tisková struna z OPT1, která nebyla před 3D tiskem temperovaná. Naopak při předehřátí tiskové struny OPT1 na 120 °C, kde byla hodnota warping koeficientu v případě všech testovaných teplot extrudéru nižší, byla přilnavost materiálu k podložce při jeho tisku vyšší. Tento trend chování tištěného biokompozitu OPT1 je patrný z obr. 31, kde jsou rovněž přehledně znázorněny všechny varianty provedených tepelných úprav tiskové struny při tisku (v rozmezí 160-195 °C). Lze tedy konstatovat, že nejlepších výsledků z hlediska nejvyšší přilnavosti tištěné směsi OPT1 k tiskové podložce bylo dosaženo při temperování tiskové podložky na teplotu 60 °C v kombinaci s předehřátím tiskové struny na teplotu 120 °C a teplotou extruze 3D tisku 185 °C. Z toho důvodu, byla teplota tiskové struny 185 °C zvolena jako nejvhodnější pro tisk 3D těles z optimalizovaného biokompozitu OPT1, vyrobených v rámci této experimentální studie pro ověření jejich mechanických vlastností, včetně námi vyvinutého PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu diafýzy femuru (viz kapitola 4.6.2.), jakožto potenciálního implantátu využitelného k náhradě kostní tkáně a při hojení rozsáhlých defektů při komplikovaných zlomeninách diafýzy femuru v medicíně. Melčová a kol. [48] uvádí jako nejvhodnější tiskovou teplotu pro biokompozit PHB/PLA/TCP/HA teploty v rozsahu 190–195 °C. Z námi zjištěných dat s ohledem na vypočítané hodnoty *warping koeficientu* pro směs OPT1 se jako nejvhodnější jevila teplota 185 °C, tedy o něco málo nižší. To může být způsobeno rozdílnou molekulovou hmotností různých směsí v těchto dvou studiích, případně rozdílným hmotnostním podílem hydroxyapatitu a trikalci-umfosfátu ve výrobcem dodávaném keramickém prášku použitém k výrobě směsi. Vyšší podíl hydroxyapatitu a vápenatých iontů mohl zčásti negativně ovlivnit vlastnosti PHB v optimalizovaném biokompozitu OPT1 z pohledu vyšší křehkosti tohoto materiálu, neboť i před vlastním tiskem vykazovala tisková struna velmi vysokou křehkost a prakticky nebylo možno bez jejího předehřátí 3D tělesa na FDM tiskárně Prusa MK3S tisknout.

Na základě výsledků naší studie se při optimalizaci parametrů tisku 3D těles podařilo, s využitím jednak teplotních věží (viz kapitola 5.1.1) a jednak warping koeficientu, zjistit a definovat nejdůležitější parametry tisku 3D těles z optimalizovaného biokompozitu OPT1, včetně optimální teploty tiskové struny při extruzi a teploty tiskové podložky.

5.2 Pevnost v tahu a modul pružnosti v tahu 3D standardizovaných zkušebních tahových těles, pevnost v tlaku a modul pružnosti v tlaku 3D standardizovaných tlakových těles z optimalizovaného biokompozitu

V rámci stanovení mechanických vlastností 3D tištěných těles z optimalizovaného biokompozitu OPT1 (viz kapitoly 4.7.1. a 4.7.2) byly provedeny mechanické testy a naměřeny hodnoty pevnosti v tahu a modulu pružnosti v tahu (a stanoveny jejich průměrné hodnoty a směrodatné odchylky) u 30 vytištěných vzorků standardizovaných tahových těles, respektive byly naměřeny hodnoty pevnosti v tlaku a modulu pružnosti v tlaku (a stanoveny jejich průměrné hodnoty a směrodatné odchylky) u 30 standardizovaných tlakových těles. Zjištěné údaje posloužily nejen k charakteristice sledovaných mechanických vlastností těchto 3D zkušebních těles (neboť ty se liší od mechanických vlastností materiálu jako takového – tiskové struny), ale mají potenciál rovněž při vytváření numerických modelů v programu ANSYS při virtuálním testování 3D tištěných těles. Bylo zjištěno, že pevnost v tahu 3D standardizovaných tahových těles s označením 5 A o průřezu krčku 4×2 mm (podle ČSN EN ISO 527-2) je $20,41 \pm 2,82$ MPa a jejich modul pružnosti v tahu $1,40 \pm 0,06$ GPa. Pevnost v tlaku standardizovaných tlakových těles o rozměrech $10 \times 4 \times 10$ mm (podle ČSN EN ISO 604) činí $50,97 \pm 1,14$ MPa a jejich modul pružnosti v tlaku $1,55 \pm 0,00$ GPa.

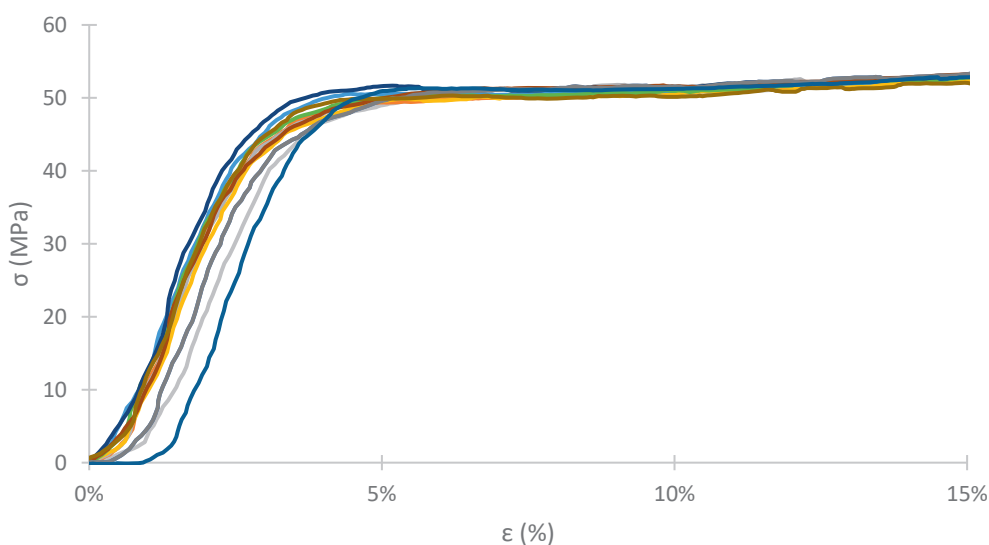
Průměrné hodnoty uvedených mechanických vlastností zkušebních tahových a tlakových těles shrnuje tabulka 7.

Tabulka 7: Průměrné hodnoty pevnosti v tlaku a tahu a průměrné hodnoty modulů pružnosti v tlaku a tahu pro 3D standardizovaná tahová a tlaková tělesa z optimalizovaného biokompozitu OPT1.

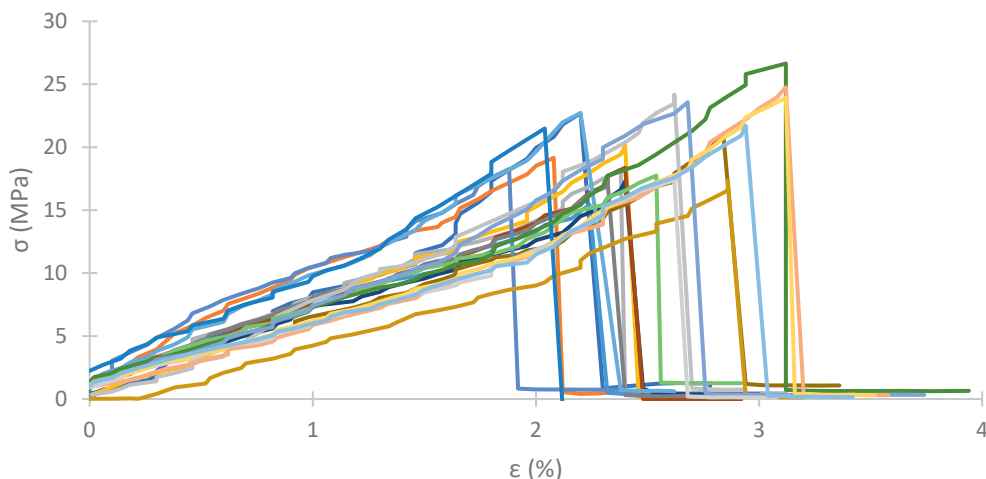
	σ_{tlak} (MPa)	E_{tlak} (GPa)	σ_{tahu} (MPa)	E_{tahu} (GPa)
OPT1	$50,97 \pm 1,14$	$1,55 \pm 0,00$	$20,41 \pm 2,82$	$1,40 \pm 0,06$

Z tabulky 7 vyplývá, že standardizovaná tělesa vyrobená z optimalizovaného biokompozitu OPT1 jsou schopna odolávat větším silám tlaku, než je tomu v případě jejich odolnosti při tahovém zatížení. Průměrná pevnost v tlaku těchto vzorků ($50,94 \pm 1,14$ MPa) je téměř dvojnásobně vyšší, než jejich pevnost v tahu ($20,4 \pm 2,8$ MPa). Také jejich modul pružnosti v tlaku ($1,55 \pm 0,00$ GPa) je o něco vyšší, než modul pružnosti v tahu ($1,40 \pm 0,06$ GPa) a dosahuje vyšších hodnot. Melčová a kol. [48] vysvětlují tuto skutečnost nehomogenitou krystalků tricalciumfosfátu. U naměřených hodnot pevnosti v tlaku a v tahu testovaných 3D těles se objevují mírně vyšší směrodatné odchylky. To může být způsobeno, jak uvádí Gonzalez [46] rozdílným teplotním gradientem tištěného tělesa, který se promítá následně do jeho mechanických vlastností. Jednak byla zaznamenána rozdílná krystalinita ve spodní a v horní části vytištěného tělesa, jednak toto bude záviset i na soudržnosti mezi tištěnými vrstvami. [46] Jednotlivé tištěné vzorky se tedy mohou chovat odlišně, neboť na vyhřívání tiskové podložky jsou oblasti 3D tělesa, kde dochází k většímu vyhřívání tištěného objektu, ale také oblasti, jejichž vyhřívání prostřednictvím podložky je horší. Tento trend lze pozorovat již při samotném 3D tisku těles, kdy dochází v různých místech

na podložce k odlepování vzorku (*warping*) a teplotní gradient při 3D tisku se následně projeví i na mechanických vlastnostech tištěných těles. Přítomnost keramických nanočástic v 3D tištěném vzorku může vést ke zlepšení jeho mechanických vlastností, pokud však nedochází k aglomeraci těchto nanočástic. [59] Problematika nanočástic je diskutována také v kapitole 5.3.4. V grafu na obr. 32 je znázorněna závislost pevnosti v tlaku na deformaci v případě standardizovaných tlakových těles z optimalizovaného biokompozitu OPT1, z níž je patrné, že se všechna testovaná 3D tištěná tělesa chovala z pohledu jejich závislosti pevnosti v tlaku na deformaci téměř stejně, a to i v případě počáteční fázi jejich zatěžování tlakem, kdy pouze u několika těles docházelo v této počáteční fázi působení sil tlaku k menším odchýlkám, které byly způsobeny výše uvedenými vlivy. V grafu závislosti pevnosti v tahu na deformaci standardizovaných tahových těles vyrobených z optimalizovaného biokompozitu OPT1 (obr. 33) jsou pak dobře patrné výraznější rozdíly v mechanickém chování těchto těles, jež mohou být způsobeny buď chybami při vlastním měření či spíše nerovnoměrným vyplněním 3D tělesa tiskovým materiálem, kdy při tisku docházelo k tvorbě mezer mezi tištěnými vlákny. Toto nerovnoměrné plnění vzorku zkušebního tahového tělesa mohlo být způsobeno daným nastavením toku (*flow*) na 3D tiskárně. Tato nepřesnost v nastavení toku tisku nově vyvinutého optimalizovaného biokompozitu OPT1 na FDM tiskárně byla při tisku dalších 3D zkušebních tahových těles upravena a nastavena na přesnou velikost tiskové struny směsi OPT1, aby se zamezilo tvorbě těchto z pohledu kvality tisku nežádoucích vzduchových mezer ve struktuře tištěného 3D tělesa.



Obr. 32: Graf závislosti pevnosti v tlaku (MPa) na deformaci (%) optimalizovaného biokompozitu OPT1.



Obr. 33: Graf závislosti pevnosti v tahu (MPa) na deformaci (%) optimalizovaného biokompozitu OPT1.

5.3 Stanovení chemických a strukturních charakteristik použitých materiálů

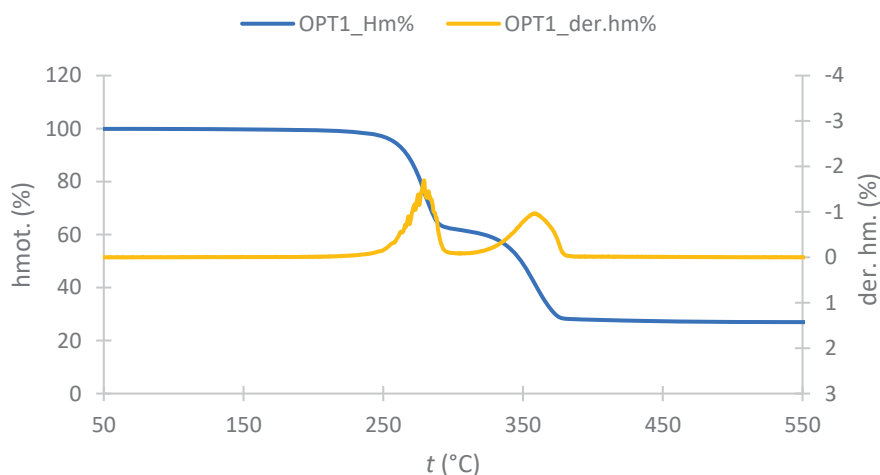
5.3.1 Termogravimetrická analýza (TGA)

Prvním testovaným vzorkem pomocí termogravimetrické analýzy byl optimalizovaný vzorek směsi OPT1 složený z PHB, PLA, změkčovadla a plniva s obsahem 28,3 %, konkrétně směsi hydroxyapatitu a β -tricalciumfosfátu. Hmotnost odváženého vzorku byla 0,0180 g. Z grafu na obr. 34 je patrné, že se jednalo o dvoustupňový rozklad zkoumaného vzorku s tím, že první úbytek hmotnosti vzorku odpovídal rozkladu PHB, a to při 279,3 °C a druhý úbytek hmotnosti vzorku pak rozkladu PLA při teplotě 358,4 °C. Změny křivky týkající se rozkladu plastifikátoru nejsou na grafickém znázornění závislosti hmotnostních % a derivovaných hmotnostních % na teplotě viditelné, protože se změkčovadlo rozložilo společně s polymery.

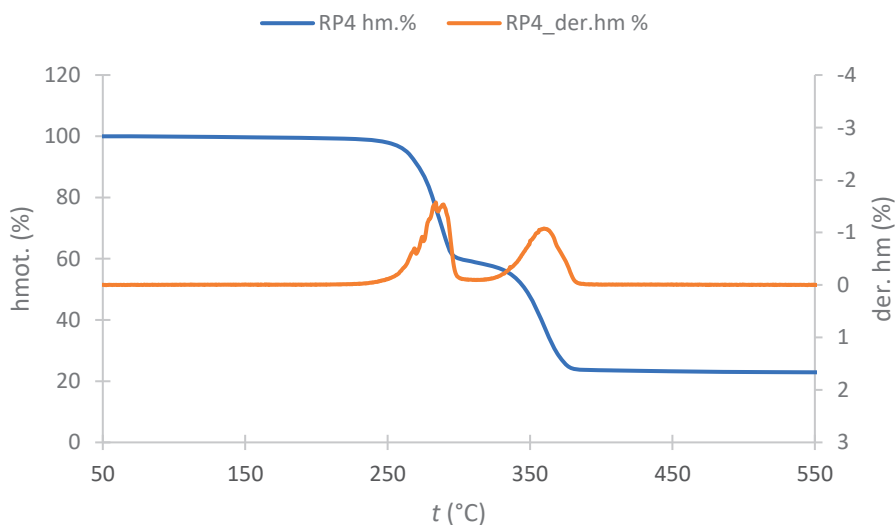
Druhým, termogravimetrickou analýzou testovaným vzorkem, byla směs PHB, PLA, změkčovadla a plniva s obsahem 24 %, tedy vzorek kontrolní s označením RP4. Hmotnost vzorku RP4 byla 0,0189 g. Také v tomto případě je z grafu na obr. 35 patrné, že se rovněž jedná o dvoustupňový rozklad vzorku s tím, že první úbytek hmotnosti vzorku odpovídal rozkladu PHB při teplotě 286,2 °C a druhý úbytek hmotnosti vzorku rozkladu PLA při teplotě 360,3 °C. Krok odpovídající rozkladu plastifikátoru, jakožto složky směsi, nebyl ani v tomto případě na křivce závislosti hmotnostních % a derivovaných hmotnostních % na teplotě viditelný. Hydroxyapatit a TCP se rozkládají až při teplotách 1300 °C, proto není tento přechod na grafu viditelný. Obsah směsi hydroxyapatitu a TCP byl stanoven na základě nespáleného zbytku směsi v případě optimalizované vzorku OPT1 na hodnotu 26,9 %; v případě kontrolního vzorku RP4 pak na 22,6 %. Takto stanovená procenta obsahu směsi hydroxyapatitu a TCP téměř odpovídají obsahu uvedených složek, na který byly vzorky testovaných směsí namíchány. Drobné odchylky v procentu obsahu směsi hydroxyapatitu a TCP mohou být způsobeny ztrátami materiálu při výrobním procesu. Dále bylo

v naší studii potvrzeno, že větší obsah keramických nanočástic je obsažen v optimalizované směsi s označením OPT1. Uvádí se, že PHB se rozkládá v jednom kroku, a to v rozmezí teplot 220 °C až 290 °C. [28; 29; 30] Toto potvrzují i výsledky naší studie, v níž se PHB rozložilo ve stejném teplotním rozmezí, a to jak ve směsi OPT1, tak v kontrolní směsi RP4. Podobně také teplotní rozklad PLA proběhl v naší studii při teplotách uváděných v literatuře. [28; 29; 30]

Cílem termogravimetrické analýzy směsí OPT1 a RP4 bylo ověřit množství plniva v biokompozitu, a to na základě zjištěných výsledků odpovídalo danému množství. Dále byla stanovena tepelná degradace jednotlivých složek obsažených v biokompozitu OPT1, což přispělo k objasnění neobvyklé křehkosti optimalizovaného biokompozitu. Záměrem bylo rovněž ověřit, zda některá z obsažených složek směsi nevykazuje z hlediska složení námi testovaných směsí významnější odchylky teplot rozkladu od publikovaných údajů. Na základě výsledků termogravimetrické analýzy byla potvrzena shoda s publikovanými skutečnostmi.



Obr. 34: Graf závislosti hmotnostních % a derivovaných hmotnostních % na teplotě (°C) optimalizovaného biokompozitu OPT1.



Obr. 35: Graf závislosti hmotnostních % a derivovaných hmotnostních % na teplotě (°C) kontrolní receptury s označením RP4.

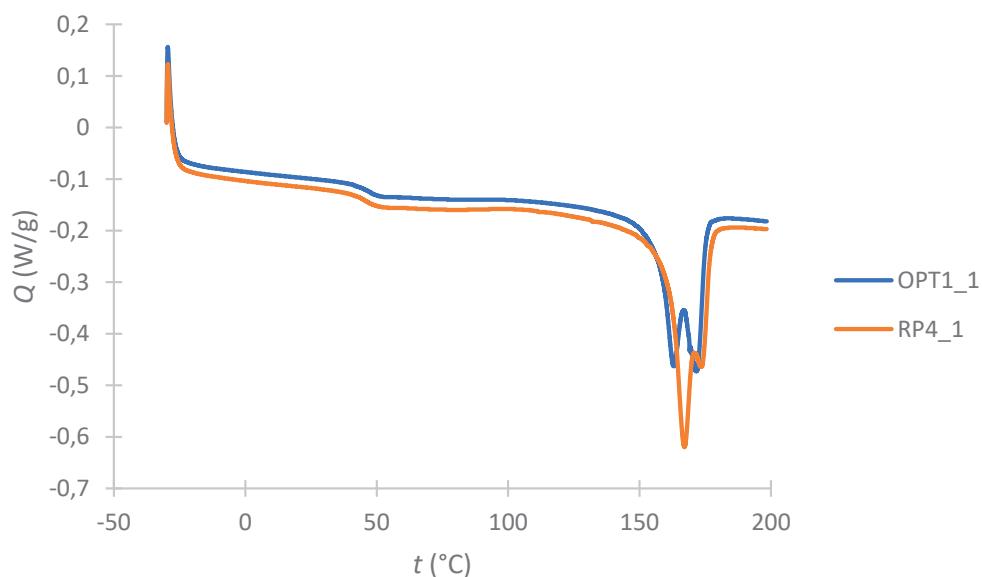
5.3.2 Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC)

Výsledky diferenční skenovací kalorimetrie graficky vyjadřují DSC křivky závislosti tepelného toku Q na teplotě t , a to jak pro námi zkoumaný nový optimalizovaný biokompozit OPT1, tak pro kontrolní směs RP4 (obr. 36). V případě obou cyklů ohřevu měřených vzorků OPT1 i RP4 byly stanoveny následující parametry: skelný přechod, teplota tání a krystalizace. Z výsledného grafu (obr. 36) lze vyhodnotit teplotu skelného přechodu PLA, která v případě vzorku OPT1 byla $46,90 \pm 0,92$ °C a v případě vzorku RP4 pak $46,43 \pm 0,74$ °C. Lze vypořadovat, že u vzorku s vyšším podílem amorfní fáze PLA (vzorek RP4) byla teplota skelného přechodu nižší. Na hodnotu teploty skelného přechodu PLA může mít vliv přítomnost změkčovadla, ale nikoliv směs TCP a HA. [48] Při teplotě $162,7 \pm 0,01$ °C došlo k tání PHB u vzorku OPT1, tzn., teplota tání OPT1 v porovnání s RP4 (s teplotou tání $166,92 \pm 0,14$ °C) byla nižší s tím, že při uvedené teplotě $162,71 \pm 0,01$ °C vykazoval vzorek na křivce závislosti tepelného toku na teplotě vrchol („peak“) křivky. Jak bylo uvedeno, k tání PHB, u vzorku RP4 došlo při teplotě $166,92 \pm 0,14$ °C, tedy teplota tání tohoto vzorku v porovnání s OPT1 ($162,71 \pm 0,01$ °C) byla vyšší. Kromě toho je na křivce závislosti tepelného toku na teplotě patrný jejich dvojitý vrchol vzorků optimalizovaného biokompozitu OPT1 („peak“), a pro PHB je viditelný typický pokles pro danou hodnotu teploty tání, jak také uvádí Melčová a kol. [48] U obou námi testovaných vzorků byla teplota tání ve směsi (vzorek OPT1 i vzorek RP4) nižší než v případě samotného PHB. Toto zjištění již bylo publikováno a je vysvětlováno vysokou kompatibilitou a mísitelností směsi na bázi PHB a PLA. [24] Krystalinita námi testovaných vzorků směsí (OPT1 a RP4) byla vypočtena a v případě OPT1 dosahovala hodnoty $53,17 \pm 0,73$ %, v případě směsi RP4 pak $56,72 \pm 1,14$ %. Nižší krystalinita směsi OPT 1 se ve výsledku projeví nižší pevností materiálu, což se potvrdilo jak u vyrobené tiskové struny z tohoto materiálu, tak také u vytištěných 3D těles. Bylo publikováno, že vyšší krystalinita PHB snižuje křehkost PLA. [27; 39; 40] V tabulce 8 je uvedena teplota skelného přechodu PLA, teplota tání PHB a krystalinita PHB pro optimalizovaný biokompozit OPT1 a kontrolní recepturu RP4.

Metodou diferenční skenovací kalorimetrie byly zjištěny nižší teploty tání směsí OPT1 i RP4 v porovnání se samotným PHB. Lze konstatovat, že u optimalizované receptury OPT1 byla zjištěna její větší křehkost, a to v důsledku přítomnosti amorfního podílu PLA. Pro další charakteristiku testované OPT1 byla zvolena gelová permeační chromatografie (GPC) (viz kapitola 5.3.3.).

Tabulka 8: Teplota skelného přechodu PLA, teplota tání PHB a krystalinita P3HB vzorků OPT1 a RP4.

Teplota skelného přechodu PLA (°C)		Teploty tání PHB (°C)		Krystalinita PHB (%)	
OPT1	RP4	OPT1	RP4	OPT1	RP4
T_g PLA	T_g PLA	T_m PHB	T_m PHB	X_c PHB	X_c PHB
46,90	46,43	162,71	166,92	53,17	56,72
0,92	0,74	0,01	0,14	0,73	1,14



Obr. 36: Graf závislosti tepelného toku Q (W/g) na teplotě t (°C) pro optimalizovaný biokompozit s označením OPT1 a kontrolní směs RP4.

5. 3. 3 Gelová permeační chromatografie (GPC)

Pomocí gelové permeační chromatografie byly stanoveny střední číselné molekulové hmotnosti (M_n) a střední molekulové hmotnosti (M_w) testovaných vzorků ze směsi OPT1, jejíž složení bylo následující: 35,2 % P3HB, 30,8 % PLA, 28,3 % HaP a 5,6 % S3114; a vzorků směsi RP4 o složení: 38 % P3HB, 31 % PLA, 24 % HaP a 7 %. Tisková struna vyrobená z optimalizované směsi OPT1 vykazovala číselnou molekulovou hmotnost 70583 ± 2449 g/mol a střední molekulovou hmotnost okolo hodnoty 128233 ± 2776 g/mol. (tabulka 9) Výrazně vyšší molekulové hmotnosti byly zaznamenány u tiskové struny vyrobené z kontrolní směsi RP4, kdy se hodnoty číselné molekulové hmotnosti pohybovaly okolo 108033 ± 125 g/mol a střední molekulové hmotnosti u hodnoty 211933 ± 759 g/mol s tím, že tyto hodnoty vykazovaly v porovnání s hodnotami naměřenými u tiskové struny OPT1 menší směrodatnou odchylku (tabulka 9 a 10). Z daného zjištění vyplývá, že v případě tiskové struny vyrobené ze směsi OPT1 došlo, vlivem většího objemu keramických nanočástic v této optimalizované receptuře, k výraznému snížení molekulové hmotnosti tiskové struny, jež se následně projevila i v jejích mechanických vlastnostech zvýšením křehkosti struny, což mělo také za následek vyšší křehkost konečných výrobků 3D těles. Vliv na snížení molekulové hmotnosti tištěné struny z OPT1 mohla mít i samotná technologie výrobního procesu při výrobě struny, a to především z důvodu rychlejšího ochlazování tiskové struny během extruze. Tento faktor týkající se technologie výroby struny však nezpůsobuje tak výrazné snížení číselných a středních molekulových hmotností, jak je tomu z důvodu vyššího podílu tricalciumfosfátu a hydroxyapatitu ve směsi sloužící k výrobě struny. To se tedy jeví, jako hlavní faktor zvýšení křehkosti struny z OPT1. Z hlediska koeficientu polydisperzity vykazovala vyšší hodnotu tohoto koeficientu tisková struna vyrobená ze

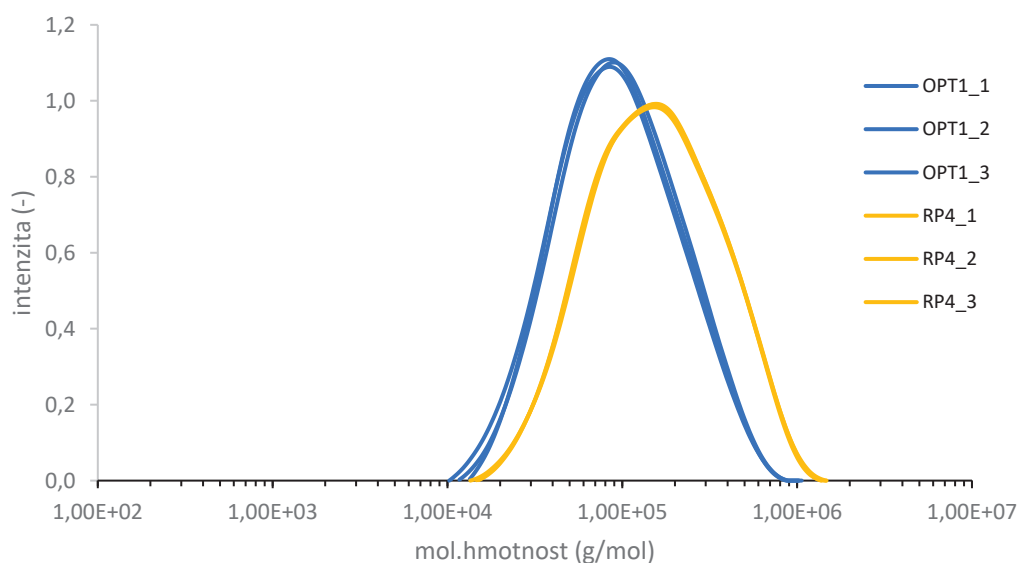
směsi RP4, a to $1,96 \pm 0,01$, v porovnání s nižším koeficientem polydisperzity u OPT1, jehož průměrná hodnota byla o přibližně jednu desetinu nižší a směrodatná odchylka průměru byla naopak v porovnání s recepturou RP4 u OPT1 vyšší ($1,82 \pm 0,03$). Křivky grafu závislosti intenzity signálu na molekulové hmotnosti optimalizovaného biokompozitu OPT1 a kontrolní směsi RP4 (obr. 37) potvrzují předešlé tvrzení, že distribuce molekulové hmotnosti je nižší u tiskové struny z OPT1, než u struny vyrobené z RP4.

Tabulka 9: Molekulové hmotnosti vzorků OPT1.

	OPT1_1	OPT1_2	OPT1_3	Průměr	SD
Mn (kg/mol)	72,80	67,20	71,80	70,60	2,40
Mw (kg/mol)	131,60	124,80	128,30	128,20	2,80
D (-)	1,81	1,86	1,79	1,82	0,03

Tabulka 10: Molekulové hmotnosti vzorků RP4.

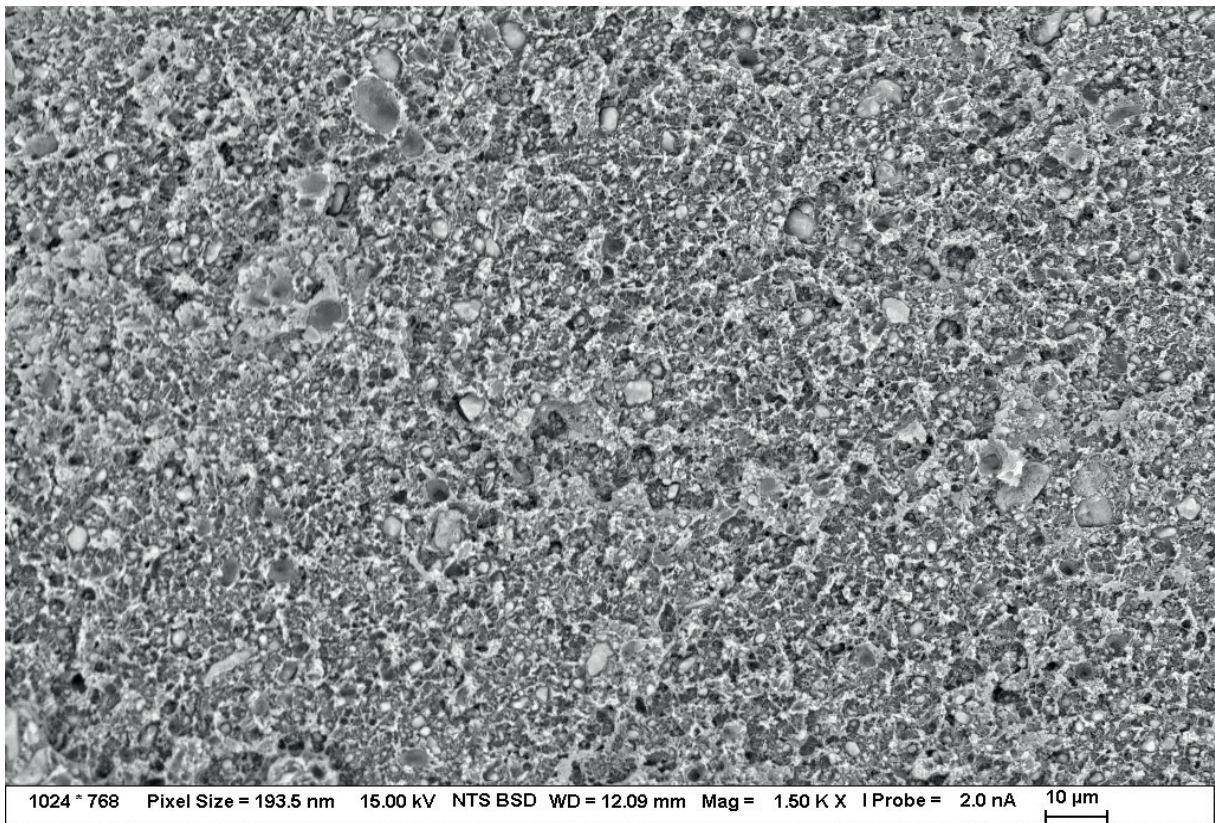
	RP4_1	RP4_2	RP4_3	Průměr	SD
Mn (kg/mol)	107,90	108,20	108,00	108,00	0,10
Mw (kg/mol)	212,20	212,70	210,90	211,90	0,80
D (-)	1,97	1,97	1,95	1,96	0,01



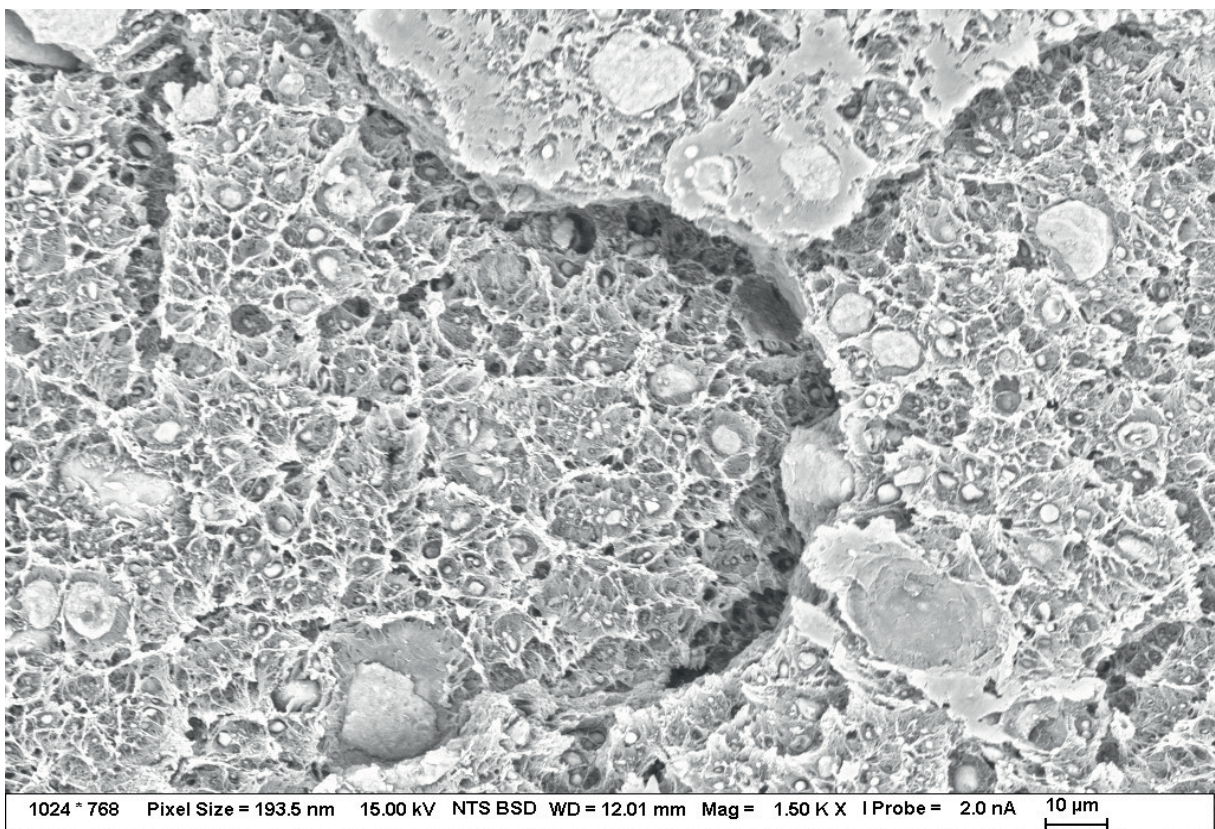
Obr. 37: Graf závislosti intenzity (-) na molekulové hmotnosti (g/mol) optimalizovaného biokompozitu OPT1 a kontrolní směsi RP4.

5.3.4 Strukturní analýza pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM)

Na snímcích z rastrovacího elektronového mikroskopu je zobrazena plocha lomu tiskové struny optimalizovaného biokompozitu OPT1 po jejím zlomení (obr. 38), respektive plocha lomu tiskové struny vyrobené z kontrolní směsi RP4 (obr. 38). Lze na nich pozorovat poměrně členitý povrch plochy lomu příslušné tiskové struny na tahové straně lomu vzorku. Členitost povrchu lomu je dána jednak tím, že součástí obou analyzovaných směsí byly polymery PHB/PLA, které jsou omezeně mísitelné. Ze strukturní analýzy snímků zhotovených rastrovacím elektronovým mikroskopem je dále patrná rozdílná distribuce směsi hydroxyapatitu a β -TCP, kdy v případě struny z OPT1 je tato směs anorganických materiálů distribuována rovnoměrněji a kdy jsou na snímku dobře viditelné jemnější částice této směsi (obr. 38). Zmíněná rovnoměrná distribuce keramických nanočástic by se měla projevit vyšší pevností tiskové struny z připraveného biokompozitu OPT1, avšak při manuálním lámání struny se struna z OPT1 jevila (v porovnání se strunou z RP4) subjektivně křehčí. Roli v tom může sehrávat i poněkud slabší mezipovrchová adheze mezi keramickou a polymerní fází kompozitu OPT1, než je tomu u směsi RP4. Pro slabší mezipovrchovou adhezi v případě struny z OPT1 svědčí i velmi dobře viditelné rozhraní mezi částicemi HA/TCP a maticí polymeru (obr. 38). Částice HA/TCP téměř vystupují směrem k povrchu lomu a jejich povrch není dostatečně pokryt směsí polymeru PHB/PLA. To znamená, že může snadno docházet ke koncentraci napětí u povrchového rozhraní částice/polymer a že se tisková struna může snadno zlomit. Distribuce částic HA/TCP u vzorku struny z optimalizovaného kompozitu OPT1 však může mít vliv na lepší krystalizaci polymerní směsi. Naopak u vzorku kontrolního kompozitu RP4 (obr. 39) lze pozorovat nerovnoměrnou distribuci částic HA/TCP a rovněž velmi rozdílnou velikost částic směsi hydroxyapatitu a β -TCP, což napovídá horším mechanickým vlastnostem z pohledu větší křehkosti struny, protože je však v případě kontrolní struktury z RP4 mezi částicemi HA/TCP a maticí PHB/PLA vyšší mezipovrchová adheze, neboť jsou částice více obaleny směsí polymeru PHB/PLA (obr. 39). Koncentrace napětí u rozhraní mezi částicemi HA/TCP a maticí PHB/PLA bude tedy v případě RP4 minimální a budou spíše vznikat tzv. aglomerační body (shluky částic). Ty pak způsobí koncentraci napětí v jednom místě vnitřní struktury tiskové struny, což s největší pravděpodobností povede k iniciaci trhliny v materiálu a vzniku lomu. Ze zhotovených SEM snímků ploch lomu tiskových strun z OPT1 a RP4 (obr. 38 a 39) lze usoudit, že více křehká je struna z biokompozitu OPT1, a to z důvodu, že v jejím případě vznikne při mechanickém namáhání více míst na rozhraní částic HA/TCP a polymerem náchylných na koncentraci napětí. Příčinou slabé mezipovrchové adheze mezi částicemi HA/TCP a maticí PHB/PLA bude pravděpodobně přítomnost většího množství zásaditých iontů v keramických částicích HA/TCP, jež mohou způsobovat degradaci štěpením polymerních řetězců. Tato skutečnost se potvrdila při gelové permeační chromatografii, kdy vyšší přítomnost částic hydroxyapatitu a tricalciumfosfátu způsobila výrazné snížení molekulové hmotnosti tiskové struny z biokompozitu OPT1 (viz kapitola 5.3.3.).



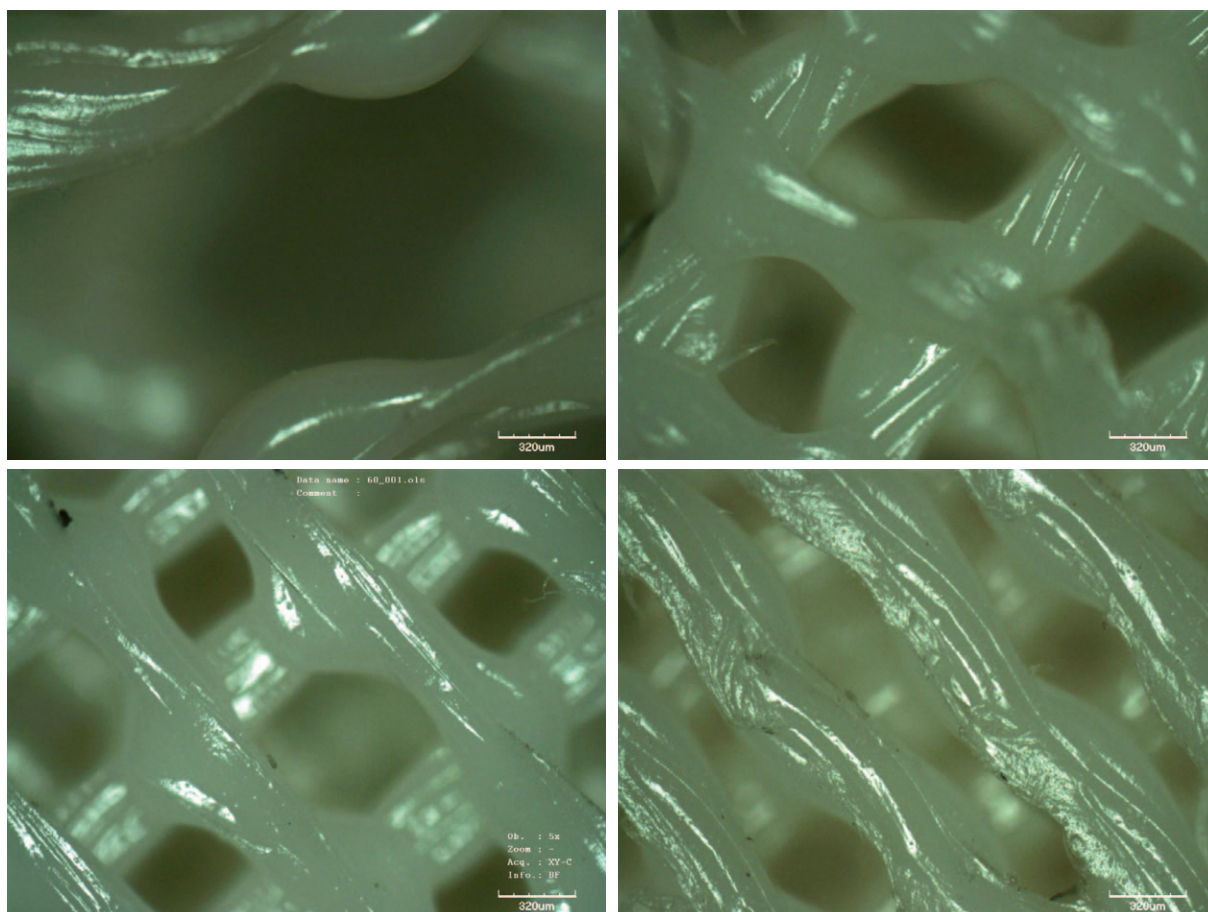
Obr. 38: SEM snímek plochy lomu optimalizovaného filamentu OPT1 po zlomení vzorku na tahové straně lomu při zvětšení 1500x.



Obr. 39: SEM snímek plochy lomu kontrolního filamentu RP4 po zlomení vzorku na tahové straně lomu při zvětšení 1500x.

5. 3. 5 Strukturální analýza pomocí konfokální laserové rastrovací mikroskopie (CLSM)

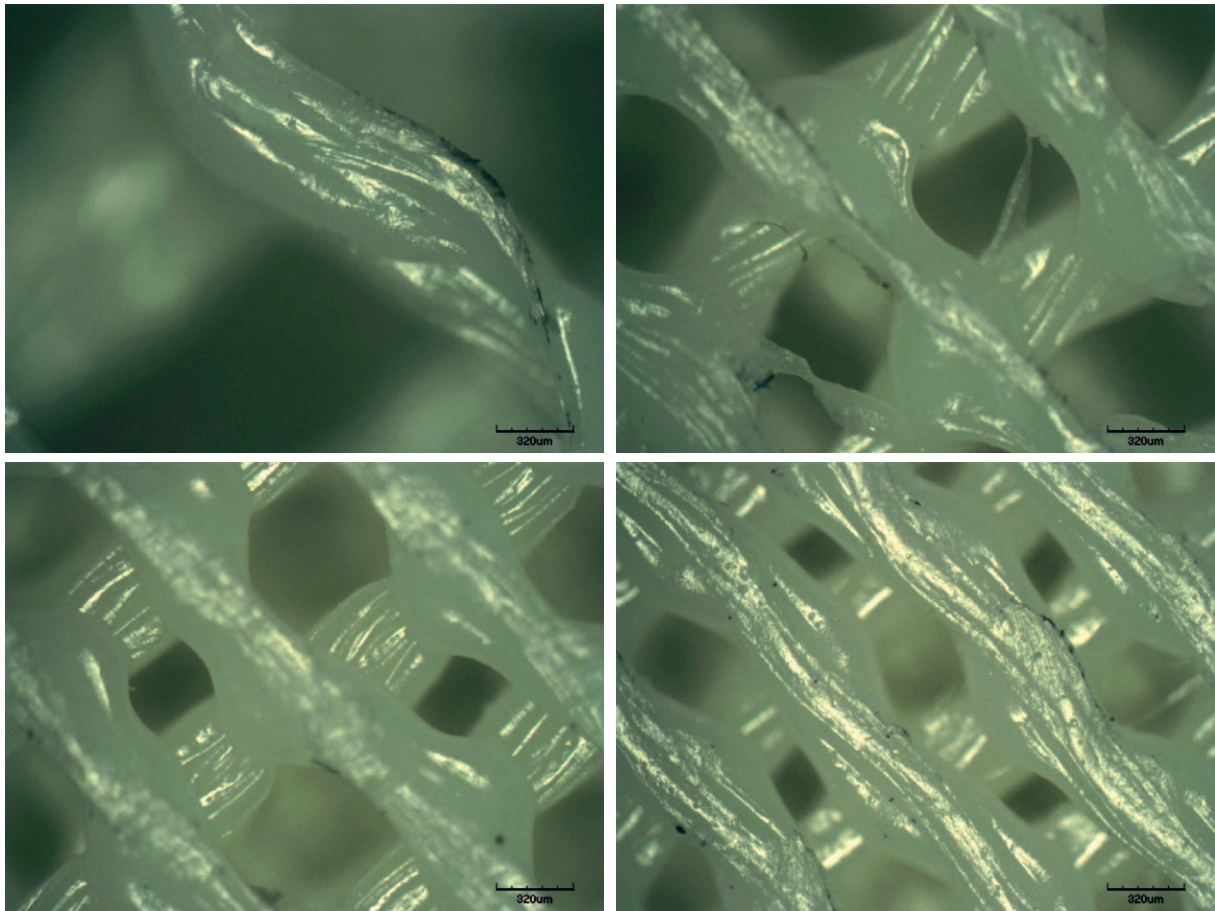
Na snímcích konfokální laserové rastrovací mikroskopie vzorků vytištěných 3D segmentů femurů z biokompozitu PHB/PLA/TCP/HA s různou hustotou jejich výplně gyroidní strukturou (konkrétně s procentuální výplní 25 %, 50 %, 60 %, respektive 75 %) před provedením jejich mechanických tlakových zkoušek je dobře viditelná pravidelnost vytištěných stěn gyroidu, jejich stejná tloušťka, pravidelné buňky gyroidu a stejnoměrná kvalita povrchu gyroidního vzoru (obr. 40). Z obr. 40 je současně patrné, že se jednotlivé vzorky 3D těles s odlišnou hustotou liší velikostí pórů v gyroidní struktuře, a to v závislosti na procentuální výplni tělesa gyroidem. Za účelem stanovení velikost pórů v gyroidní struktuře tělesa, odpovídající dané procentuální výplni příslušného vzorku PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru gyroidem, byly od každého testovaného vzorku s danou procentuální hustotou výplně 3D zkušební tělesa s gyroidní strukturou na konfokálním mikroskopu zhotoveny alespoň dva snímky, z nichž byla měřena velikost pórů každého testovaného vzorku (vždy alespoň z 10 měření). Následně byla stanovena průměrná velikost pórů pro každou z daných procentuálních hustot výplně gyroidem. Bylo prokázáno, že velikost pórů se úměrně zvětšuje se snižujícím se procentem hustoty výplně tělesa gyroidem, přičemž velikost pórů v gyroidní struktuře tělesa s výplní 75 % byla $331,00 \pm 34,10 \mu\text{m}$, v případě tělesa s výplní 60 % byla $411,50 \pm 96,90 \mu\text{m}$, u vzorku s výplní 50 % pak byla $635,50 \pm 127,60 \mu\text{m}$, respektive v případě tělesa s procentuální výplní 25 % byla $1180,90 \pm 91,90 \mu\text{m}$ (tabulka 11). Námi zjištěné hodnoty velikosti pórů ve vnitřní struktuře gyroidního vzoru byly následně použity jako vstupní data zadávaná do programu Rhinoceros 3D při vytváření virtuálního modelu chování reálného PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru za účelem predikce jeho pevnosti v tlaku pomocí počítačové simulace využívající numerický model v programu ANSYS (viz kapitoly 4.6.3. a 4.6.4.).



Obr. 40: Snímky povrchů vzorků PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru s různou hustotou jejich výplně gyroidní strukturou (vlevo nahoře procentuální výplň 25%; vpravo nahoře procentuální výplň 50%, vlevo dole procentuální výplň 60% a vpravo dole procentuální výplň 75%) před provedením tlakových zkoušek pořízené konfokálním mikroskopem Olympus OLS 3000 se softwarem LEXT ukazují detail struktury gyroidu s různou velikostí pórů, které se úměrně zvětšují se snižujícím se procentem hustoty výplně tělesa gyroidem (zvětšení 5x).

Tabulka II: Velikost pórů v gyroidní struktuře tělesa odpovídající dané procentuální výplni příslušného vzorku PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru gyroidem.

Procentuální hustota výplně vzorku gyroidní strukturou femuru (%)	Velikost pórů v gyroidní struktuře tělesa (µm)
75	331,00 ± 34,10
60	411,50 ± 96,90
50	635,50 ± 127,60
25	1180,90 ± 91,90



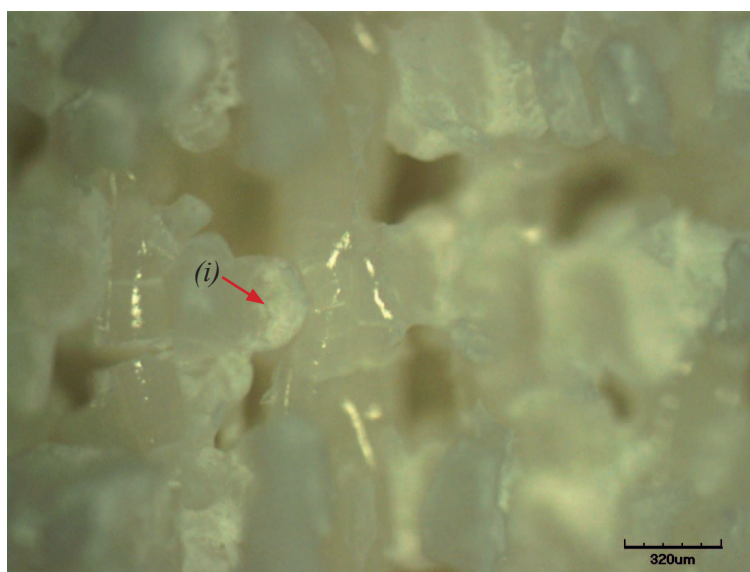
Obr. 41: Snímky povrchů vzorků PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru s různou hustotou jejich výplně gyroidní strukturou (vlevo nahoře procentuální výplň 25%; vpravo nahoře procentuální výplň 50%, vlevo dole procentuální výplň 60% a vpravo dole procentuální výplň 75%) po provedení tlakových zkoušek pořízené konfokálním mikroskopem Olympus OLS 3000 se softwarem LEXT ukazují detail struktury gyroidu s různou velikostí pórů, které se úměrně zvětšují se snižujícím se procentem hustoty výplně tělesa gyroidem (zvětšení 5x).

Na snímcích konfokální laserové rastrovací mikroskopie vzorků vytištěných 3D segmentů femurů z biokompozitu PHB/PLA/TCP/HA s různou hustotou jejich výplně gyroidní strukturou (konkrétně s procentuální výplní 25%, 50%, 60%, respektive 75%) po provedení mechanických tlakových zkoušek (obr. 41) je (stejně jako před provedením mechanických zkoušek) dobře viditelná pravidelnost vytištěných stěn gyroidu, jejich stejná tloušťka, pravidelné buňky gyroidu a stejnoměrná kvalita povrchu gyroidního vzoru.

Snímky byly pořízeny z důvodu zjištění, zdali dojde k porušení vytištěných gyroidních vláken na povrchu vzorku (při pohledu shora na 3D těleso) po působení tlakové síly.

Z pořízených snímků povrchů PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu femuru (při pohledu shora na horní plochu 3D tělesa) je zřejmé, že u žádné ze sledovaných hustot výplní (25%, 50%, 60%, respektive 75%) nedošlo k porušení povrchu gyroidní struktury tělesa (obr. 41). Zjevná deformace tohoto testovaného 3D tělesa však byla zaznamenána v jeho střední části s tím, že důsledkem koncentrace působícího napětí uprostřed tělesa došlo k šíření účinku tohoto napětí směrem

k jeho obvodu (perimetru), což se projevilo deformací zevního pláště testovaného segmentu femuru. Přes trhliny, které se v plášti tělesa po jeho obvodu objevily bylo možno pozorovat porušení struktury vláken gyroidu vyplňujícího testované těleso (obr. 42) a trvalou deformitu testovaného vzorku. Ze snímku konfokální laserové mikroskopie při pohledu z boku na 3D anatomický segment femuru s hustotou gyroidní výplně 75% v místě kompakty, zhotoveném po provedení mechanických tlakových zkoušek, je patrné porušení gyroidních vláken (viz. šipka (i) na obr. 42) a vnitřní struktury tělesa. Mezi vlákny docházelo k viditelnému křehkému lomu, který byl způsoben koncentrací napětí v místě tělesa, kde došlo k jeho největší příčné deformaci, s porušením zevního pláště tělesa. Kromě toho došlo mezi vlákny i ke změně velikosti pórů uvnitř gyroidní struktury, což bylo dobře patrné při strukturní analýze pomocí konfokální laserové rastrovací mikroskopie.



Obr. 42: Snímek z konfokálního laserového rastrovacího mikroskopu zachycující porušení vnitřní struktury gyroidní výplně (i) PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru (s výplní v místě kompakty 75%) v místě zevního pláště 3D tělesa v jeho střední části.

5. 4 Únosnost v tlaku PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru ve dvanácti variantách vnitřních struktur v místě kompakty a spongiózy reálné kosti

Na obr. 43 je zobrazen průběh závislosti tlakové síly na deformaci (stlačení) zkušební vzorku PHB/PLA/TCP/HA anatomického segmentu femuru (varianta A1, A2, A3, respektive A4) v závislosti na procentu jeho výplně v místě kompakty (75%) s lišící se hustotou výplně v místě spongiózy (75%, 50%; 25%, 0%). Ze vzájemného porovnání grafických průběhů křivek závislosti tlakové síly na deformaci je patrné, že u všech testovaných variant (A1 až A4) se 75% hustotou výplně v místě kompakty a s lišící se procentuální výplní spongiózní části anatomického segmentu femuru, to jest u varianty A1 (kompakta s výplní 75% – spongióza s výplní 75%), varianty A2 (kompakta s výplní 75% – spongióza s výplní 50%), varianty A3 (kompakta s výplní 75% - spongióza s výplní 25%) a také varianty A4 (kompakta

s výplní 75 % - spongióza s výplní 0 %) dochází k dosažení síly na mezi únosnosti při deformaci pohybující se v intervalu 3 % až 6 %. Z průběhů těchto křivek závislosti tlakové síly na deformaci (obr. 43) je možné dovodit, že při dalším zatěžování testovaného PHB/PLA/TCP/HA anatomického segmentu femuru ve variantě A1 až A4 dochází k postupnému porušení vnitřní struktury těchto zkušebních vzorků, což je dáno tím, že již nedochází k nárůstu působící tlakové síly, avšak dochází ke zvyšování deformace testovaného vzorku při působení konstantní tlakové síly. Velikosti sil na mezi únosnosti jsou uvedeny v tabulce 12. Průměrná síla na mezi únosnosti dosahuje hodnoty $22,20 \pm 0,50$ kN v případě zkušebního 3D tělesa varianty A1, $19,10 \pm 1,10$ kN u tělesa varianty A2, $18,30 \pm 0,30$ kN v případě varianty A3 a $18,00 \pm 0,50$ kN u tělesa varianty A4. Z porovnání těchto hodnot je zřejmé, že nejvyšší únosnost v tlaku vykazují zkušební vzorky PHB/PLA/TCP/HA anatomického segmentu femuru s nejvyšší hustotou výplně jejich vnitřní struktury gyroidem, a to jak v místě kompakty, tak v místě spongiózy tohoto tištěného 3D anatomického modelu reálné kosti.

Tabulka 12: Průměrná velikost maximální tlakové síly na mezi únosnosti v tlaku při různých deformacích způsobující porušení vnitřní struktury PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru u zvolených 12 variant (varianta A1 až A4; B1 až B4; C1 až C4) vnitřní struktury v místě kompakty a spongiózy reálné kosti vypočtená vždy z 10 křivek měření (viz kapitola 4.6.2.).

Varianta hustoty výplně gyroidu	A (kompakta 75 %) [kN]	B (kompakta 60 %) [kN]	C (kompakta 50 %) [kN]
1 (spongióza 75 %)	$22,20 \pm 0,50$	$15,80 \pm 1,20$	$12,50 \pm 0,80$
2 (spongióza 50 %)	$19,10 \pm 1,10$	$14,50 \pm 1,00$	$12,00 \pm 0,50$
3 (spongióza 25 %)	$18,30 \pm 0,30$	$13,00 \pm 0,60$	$13,30 \pm 1,00$
4 (spongióza 0 %)	$18,00 \pm 0,50$	$12,80 \pm 0,30$	$10,10 \pm 0,40$

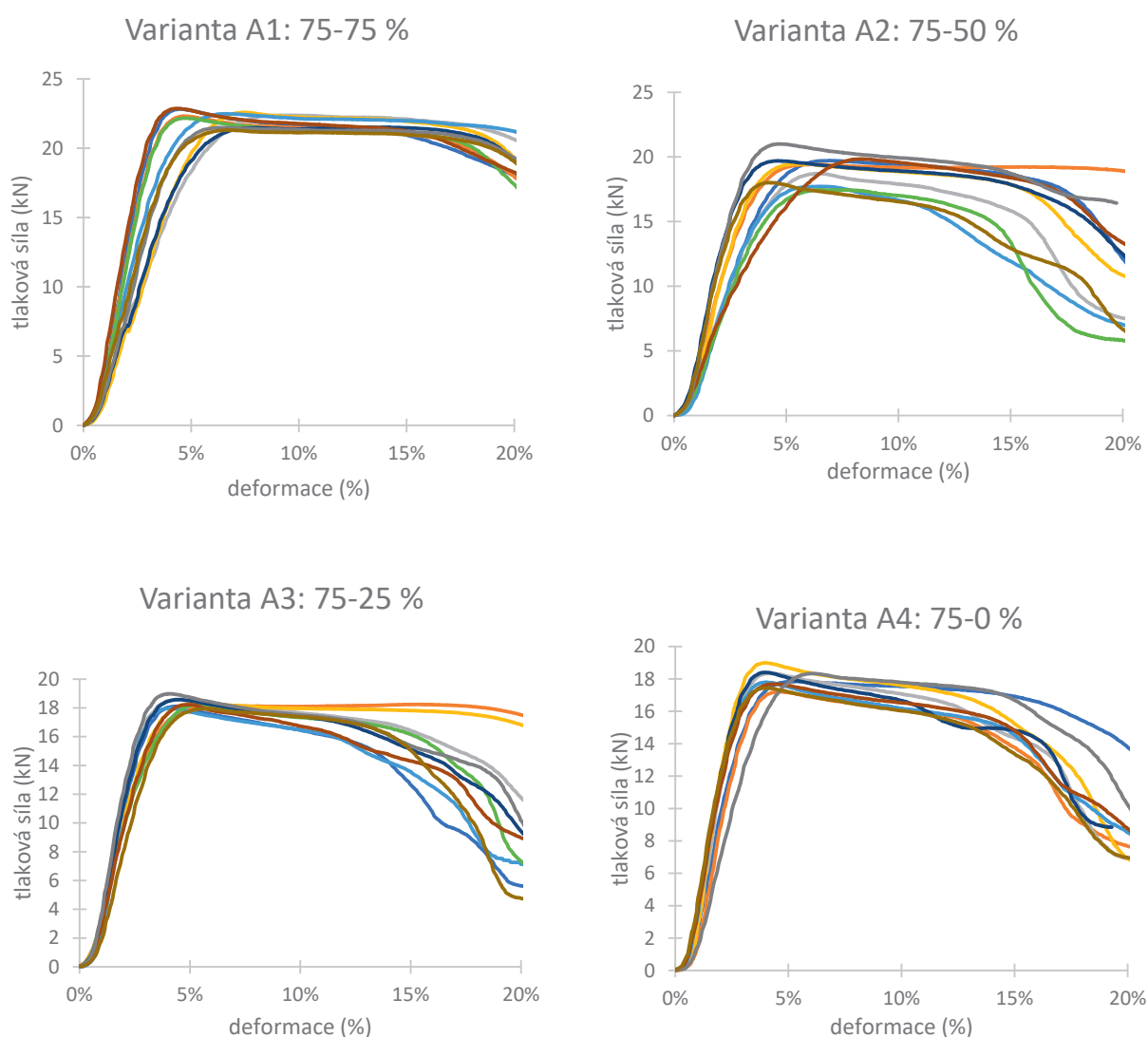
V tabulce 13 jsou, pro průběhy závislosti tlakové síly na deformaci zkušebních vzorků PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru, uvedeny hodnoty průměrů jejich počátečního modulu pružnosti. V kontextu této mechanické zkoušky a jejího vyhodnocení se nejedná o počáteční modul pružnosti zkoušeného materiálu, avšak o počáteční modul pružnosti celého tělesa v podobě komplexní struktury PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru, tedy trojrozměrné konstrukce tištěného 3D modelu kosti s jeho vnitřní strukturou gyroidu v místě kompakty a spongiózy reálné kosti.

Tabulka 13: Průměrná velikost modulu pružnosti v tlaku PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru u zvolených 12 variant (varianta A1 až A4; B1 až B4; C1 až C4) vnitřní struktury v místě kompakty a spongiózy reálné kosti (viz kapitola 4.6.2.).

Varianta hustoty výplně gyroidu	E_A (kompakta 75 %) [GPa]	E_B (kompakta 60 %) [GPa]	E_C (kompakta 50 %) [GPa]
1 (spongióza 75 %)	$1,19 \pm 0,00$	$0,95 \pm 0,00$	$0,80 \pm 0,00$
2 (spongióza 50 %)	$1,19 \pm 0,00$	$0,95 \pm 0,00$	$0,79 \pm 0,00$
3 (spongióza 25 %)	$1,18 \pm 0,00$	$0,95 \pm 0,00$	$0,79 \pm 0,00$
4 (spongióza 0 %)	$1,17 \pm 0,00$	$0,94 \pm 0,00$	$0,79 \pm 0,00$

Ke ztrátě stability vnitřní struktury testovaných PHB/PLA/TCP/HA anatomických modelů segmentu femuru dochází u vzorků varianty A při dosažení deformace 15 % až 20 % (viz grafy pro varianty A1 až A4 na obr. 43). Průběhy závislosti tlakové síly na deformaci nad úroveň deformace 20 % by u testovaných 3D vzorků byly pouze informativní, jelikož při tak velkých deformacích je již vnitřní struktura vzorků zcela porušena.

Při porovnání průběhů závislosti tlakové síly na deformaci zkušebních vzorků v závislosti na procentu výplně kompaktní a spongiózní části lze také dovodit příznivý vliv procentního vyplnění spongiózní části. Lze konstatovat, že se zvyšujícím se poměrem výplně spongiózní části tištěného 3D modelu femuru gyroidem odolává zkušební vzorek působícímu tlakovému zatížení déle, než je tomu v případech, kdy má spongiózní části segmentu femuru nižší procentuální hustotu gyroidem.



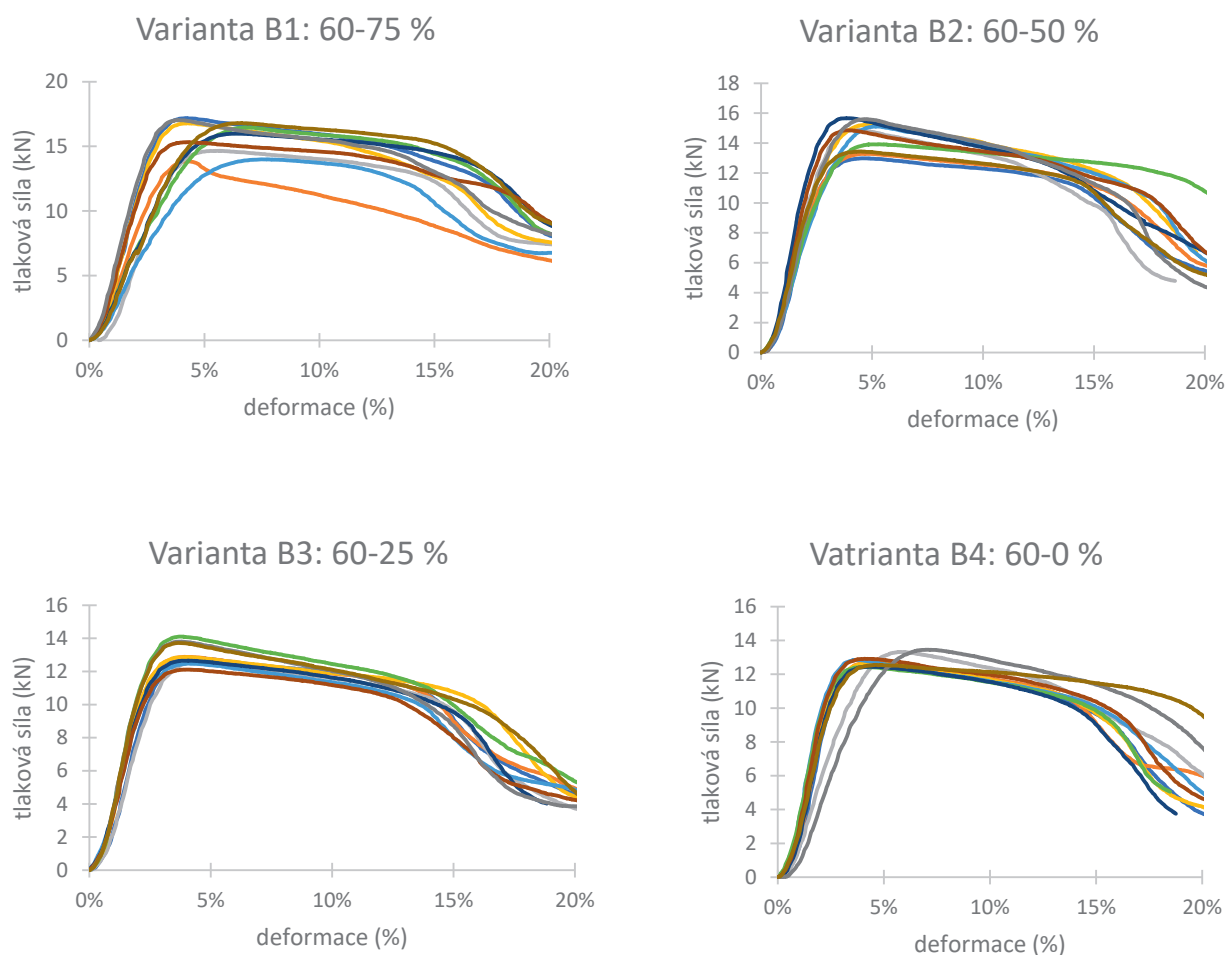
Obr. 43: Průběh závislosti tlakové síly na deformaci (stlačení) zkušebního vzorku PHB/PLA/TCP/HA segmentu femuru (varianta A1, A2, A3, respektive A4) v závislosti na procentu jeho výplně v místě kompakty (75 %) s lišící se hustotou výplně v místě spongiózy (75 %, 50 %, 25 %, 0 %).

Na obr. 44 je zobrazen průběh závislosti tlakové síly na deformaci (stlačení) zkušební vzorku PHB/PLA/TCP/HA anatomického segmentu femuru (varianta B1, B2, B3, respektive B4) v závislosti na procentu jeho výplně v místě kompakty (60 %) s lišící se hustotou výplně v místě spongiózy (75 %, 50 %, 25 %, 0 %). Ze vzájemného porovnání grafických průběhů křivek závislosti tlakové síly na deformaci je patrné, že u všech testovaných variant (B1 až B4) se 60% hustotou výplně v místě kompakty a s lišící se procentuální výplní spongiózní části anatomického segmentu femuru, to jest u varianty B1 (kompakta s výplní 60 % - spongióza s výplní 75 %), varianty B2 (kompakta s výplní 60 % - spongióza s výplní 50 %), varianty B3 (kompakta s výplní 60 % - spongióza s výplní 25 %) a také varianty B4 (kompakta s výplní 60 % - spongióza s výplní 0 %) dochází k dosažení síly na mezi únosnosti při deformaci pohybující se v intervalu 4 až 5 %. Z průběhů těchto křivek závislosti tlakové síly na deformaci (obr. 44) je možné dovodit, že při dalším zatěžování testovaného PHB/PLA/TCP/HA anatomického segmentu femuru ve variantě B1 až B4 dochází k postupnému porušení vnitřní struktury těchto zkušebních vzorků, což způsobuje, že již nedochází k nárůstu působící tlakové síly, avšak dochází ke zvyšování deformace testovaného vzorku při působení konstantní tlakové síly. Velikosti sil na mezi únosnosti jsou uvedeny v tabulce 12. Průměrná síla na mezi únosnosti dosahuje hodnoty $15,80 \pm 1,20$ kN v případě zkušební vzorku varianty B1, $14,50 \pm 1,00$ kN u vzorku varianty B2, $13,00 \pm 0,60$ kN v případě varianty B3 a $12,80 \pm 0,30$ kN u vzorku varianty B4. Z porovnání těchto hodnot je zřejmé, že nejvyšší únosnost v tlaku vykazují zkušební vzorky PHB/PLA/TCP/HA anatomického segmentu femuru s nejvyšší hustotou výplně jejich vnitřní struktury gyroidem, a to jak v místě kompakty, tak v místě spongiózy tohoto tištěného 3D anatomického modelu reálné kosti. Hodnoty počátečního modulu pružnosti celého tělesa v podobě komplexní struktury PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru, tedy trojrozměrné konstrukce tištěného 3D modelu kosti s jeho vnitřní strukturou gyroidu v místě kompakty a spongiózy reálné kosti jsou uvedeny v tabulce 13.

Ke ztrátě stability vnitřní struktury testovaných PHB/PLA/TCP/HA anatomických modelů segmentu femuru dochází u vzorků varianty B při dosažení deformace 15 % (viz grafy pro varianty B1 až B4 na obr. 44). Průběhy závislosti tlakové síly na deformaci nad úroveň deformace 20% by u testovaných 3D vzorků byly pouze informativní, jelikož při tak velkých deformacích je již vnitřní struktura vzorků zcela porušena.

Při porovnání průběhů závislosti tlakové síly na deformaci zkušebních vzorků PHB/PLA/TCP/HA anatomických modelů segmentu femuru v závislosti na procentu výplně kompaktní a spongiózní části (obr. 44) u vzorků varianty B lze také dovodit příznivý vliv zvyšující se hustoty procentuální výplně gyroidem v místě spongiózy tohoto tištěného 3D anatomického modelu reálné kosti, jako v případě vzorků varianty A. Lze i v tomto případě konstatovat, že se zvyšujícím se procentem výplně spongiózní části tištěného 3D modelu femuru gyroidem odolává zkušební vzorek působícímu tlakovému zatížení déle, než je tomu v případech, kdy má spongiózní část segmentu femuru nižší procentuální hustotu výplně gyroidem.

Pokles velikostí sil na mezi únosnosti má u zkušebních vzorků PHB/PLA/TCP/HA anatomických modelů segmentu femuru varianty B stejný trend, jako je tomu v případě vzorků varianty A. Žádná z variant B zkušebních vzorků testovaných 3D těles nevykazuje tak velkou dlouhodobou únosnost, jakou má PHB/PLA/TCP/HA anatomický model segmentu femuru ve variantě A1 (kompakta s výplní 75 % - spongióza s výplní 75 %).



Obr. 44: Průběh závislosti tlakové síly na deformaci (stlačení) zkušebního vzorku PHB/PLA/TCP/HA segmentu femuru (varianta B1, B2, B3, respektive B4) v závislosti na procentu jeho výplně v místě kompakty (60 %) s lišící se hustotou výplně v místě spongiózy (75 %, 50 %, 25 %, 0 %).

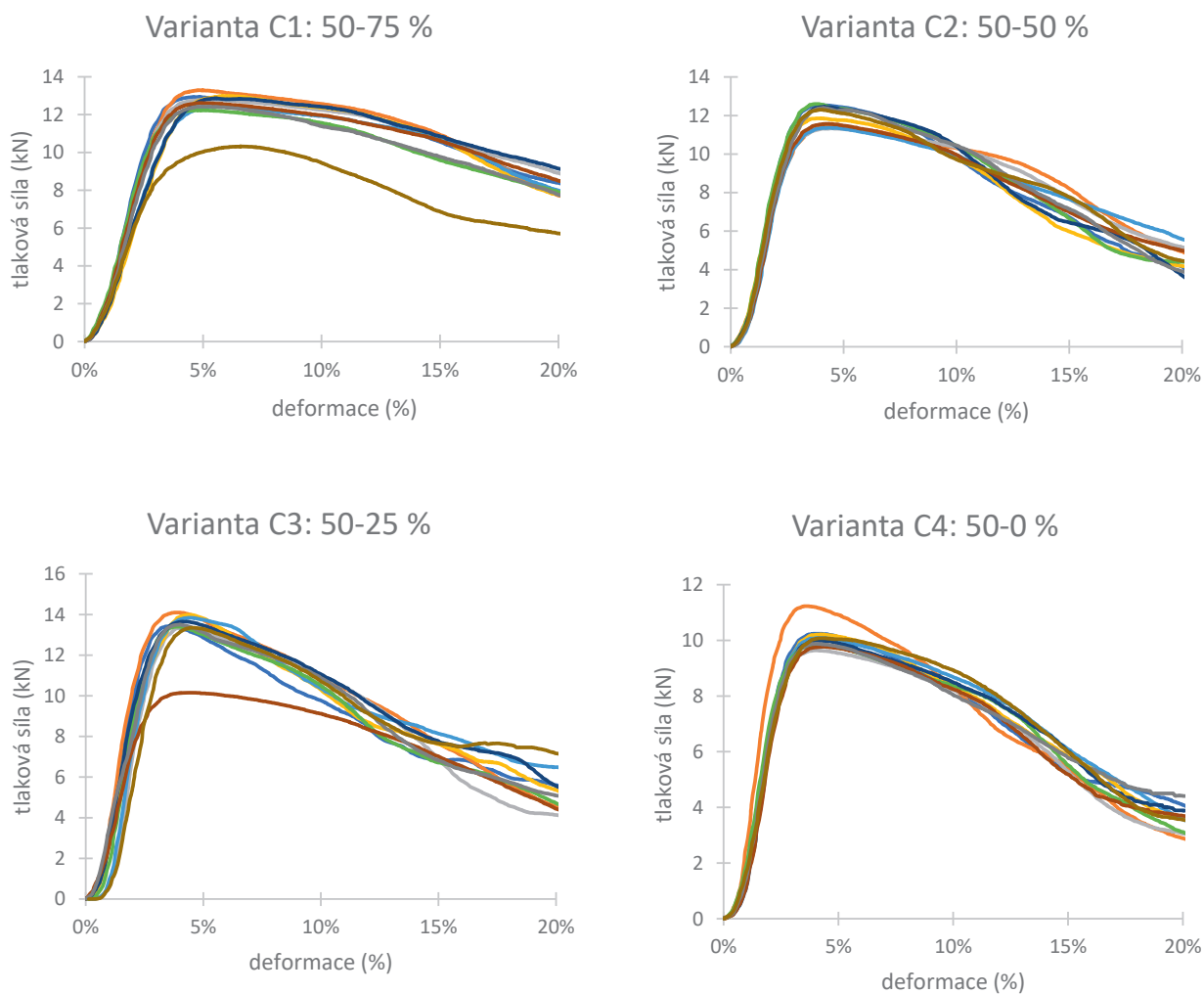
Na obr. 45 je zobrazen průběh závislosti tlakové síly na deformaci (stlačení) zkušebního vzorku PHB/PLA/TCP/HA anatomického segmentu femuru (varianta C1, C2, C3, respektive C4) v závislosti na procentu jeho výplně v místě kompakty (50 %) s lišící se hustotou výplně v místě spongiózy (75 %, 50 %, 25 %, 0 %). Ze vzájemného porovnání grafických průběhů křivek závislosti tlakové síly na deformaci je patrné, že u všech testovaných variant (C1 až C4) s 50% hustotou výplně v místě kompakty a s lišící se procentuální výplní spongiózní části anatomického segmentu femuru, to jest u varianty C1 (kompakta s výplní 50 % – spongióza s výplní 75 %), varianty C2 (kompakta s výplní 50 % – spongióza s výplní 50 %), varianty C3

(kompakta s výplní 50 % - spongióza s výplní 25 %) a také varianty C4 (kompakta s výplní 50 % - spongióza s výplní 0 %) dochází k dosažení síly na mezi únosnosti při deformaci pohybující se okolo 3 %. Z průběhů těchto křivek závislosti tlakové síly na deformaci (obr. 45) je možné dovodit, že při dalším zatěžování testovaného PHB/PLA/TCP/HA anatomického segmentu femuru ve variantě C1 až C4 dochází k postupnému porušení vnitřní struktury těchto zkušebních vzorků, což je provázáno tím, že již nedochází k nárůstu působící tlakové síly, avšak dochází ke zvyšování deformace testovaného vzorku při působení konstantní tlakové síly. Velikosti sil na mezi únosnosti jsou uvedeny v tabulce 12. Průměrná síla na mezi únosnosti dosahuje hodnoty $12,50 \pm 0,80$ kN v případě zkušebního 3D tělesa varianty C1, $12,00 \pm 0,50$ kN u tělesa varianty C2, $13,30 \pm 1,00$ kN v případě varianty C3 a $10,10 \pm 0,40$ kN u tělesa varianty C4. Z porovnání těchto hodnot je zřejmé, že nejvyšší únosnost v tlaku vykazují zkušební vzorky PHB/PLA/TCP/HA anatomického segmentu femuru s nejvyšší hustotou výplně jejich vnitřní struktury gyroidem, a to jako v místě kompakty, tak v místě spongiózy tohoto tištěného 3D anatomického modelu reálné kosti. Hodnoty počátečního modulu pružnosti celého tělesa v podobě komplexní struktury PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru, tedy trojrozměrné konstrukce tištěného 3D modelu kosti s jeho vnitřní strukturou gyroidu v místě kompakty a spongiózy reálné kosti jsou uvedeny v tabulce 13.

Ke ztrátě stability vnitřní struktury testovaných PHB/PLA/TCP/HA anatomických modelů segmentu femuru dochází u vzorků varianty C, oproti vzorkům varianty A a B, bezprostředně po dosažení síly na mezi únosnosti (viz grafy pro varianty C1 až C4 na obr. 45). Průběhy závislosti tlakové síly na deformaci nad úroveň deformace 20 % by u testovaných 3D vzorků byly pouze informativní, jelikož při tak velkých deformacích je již vnitřní struktura vzorků zcela porušena.

Při porovnání průběhů závislosti tlakové síly na deformaci zkušebních vzorků PHB/PLA/TCP/HA anatomických modelů segmentu femuru v závislosti na procentu výplně kompaktní a spongiózní části (obr. 45) u vzorků varianty C lze opět dovodit příznivý vliv zvyšující se hustoty procentuální výplně gyroidem v místě spongiózy tohoto tištěného 3D anatomického modelu reálné kosti, jak je tomu v případě vzorků varianty A a B. Lze tedy i v tomto případě konstatovat, že se zvyšujícím se procentem výplně spongiózní části tištěného 3D modelu femuru gyroidem odolává zkušební vzorek působícímu tlakovému zatížení déle, než je tomu v případech, kdy má spongiózní části segmentu femuru nižší procentuální hustotu výplně gyroidem.

Pokles velikostí sil na mezi únosnosti má u zkušebních vzorků PHB/PLA/TCP/HA anatomických modelů segmentu femuru varianty C stejný trend, jako je tomu v případě vzorků variant A a B. Anomálií je PHB/PLA/TCP/HA anatomický model segmentu femuru ve variantě C3 (kompakta s výplní 50 % – spongióza s výplní 25 %), kdy došlo při tisku ke zpevnění 3D tištěného tělesa pravděpodobně tiskem těles za jiných podmínek. Uvedené varianty C3. Žádná z variant C zkušebních vzorků testovaných 3D těles nevykazuje tak velkou dlouhodobou únosnost, jakou má PHB/PLA/TCP/HA anatomický model segmentu femuru ve variantě A1 (kompakta s výplní 75 % – spongióza s výplní 75 %).



Obr. 45: Průběh závislosti tlakové síly na deformaci (stlačení) zkušební vzorku PHB/PLA/TCP/HA segmentu femuru (varianta C1, C2, C3, respektive C4) v závislosti na procentu jeho výplně v místě kompakty (50 %) s lišící se hustotou výplně v místě spongiózy (75 %, 50 %; 25 %, 0 %).

Z tabulky 12 je rovněž patrné, že mezi variantami A4 a A3 došlo k největšímu poklesu únosnosti testovaného PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru, kdy při působení tlakové síly byl zjištěn mezi vzorky segmentů femuru s variantou výplně A4 (kompakta 75 % - spongióza 75 %) a vzorky s variantou výplně A3 (kompakta 75 % - spongióza 50 %) téměř 14% pokles odolnosti vůči působení tlakové síly vlivem vysokého procenta výplně vnitřní struktury gyroidu u varianty A4. V tomto případě je toto 3D těleso schopno lépe odolat působení tlakových sil na těleso (bez ohledu na vzor výplně a tloušťku stěny) vlivem většího objemu natištěného materiálu a „prostorové nedokonalosti“ 75% výplně, která se svojí únosností bude blížit 100% hustotě výplně tělesa materiálem, a to z důvodu velkého kontaktu mezi tištěnými vrstvami, a navíc bude vlivem pomalého tuhnutí materiálu docházet ve větší míře ke spojování jednotlivých vrstev tištěného tělesa a v tomto 3D tělese bude vznikat méně prázdných míst. Těleso v tomto případě bude více vyplněno materiálem, než je tomu ve všech ostatních námi testovaných variantách PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru.

Z výše uvedeného je zřejmé, jak také uvádí Maconachie a kol. [72], že větší počet buněk gyroidu vytištěného vzorku zvyšuje plochu kontaktu navzájem propletených gyroidních vláken, a vzorek s větší hustotou výplně je proto schopen odolávat většímu tlakovému zatížení, a kromě toho dochází při tisku ke zvýšení množství (objemu) vytištěného materiálu.

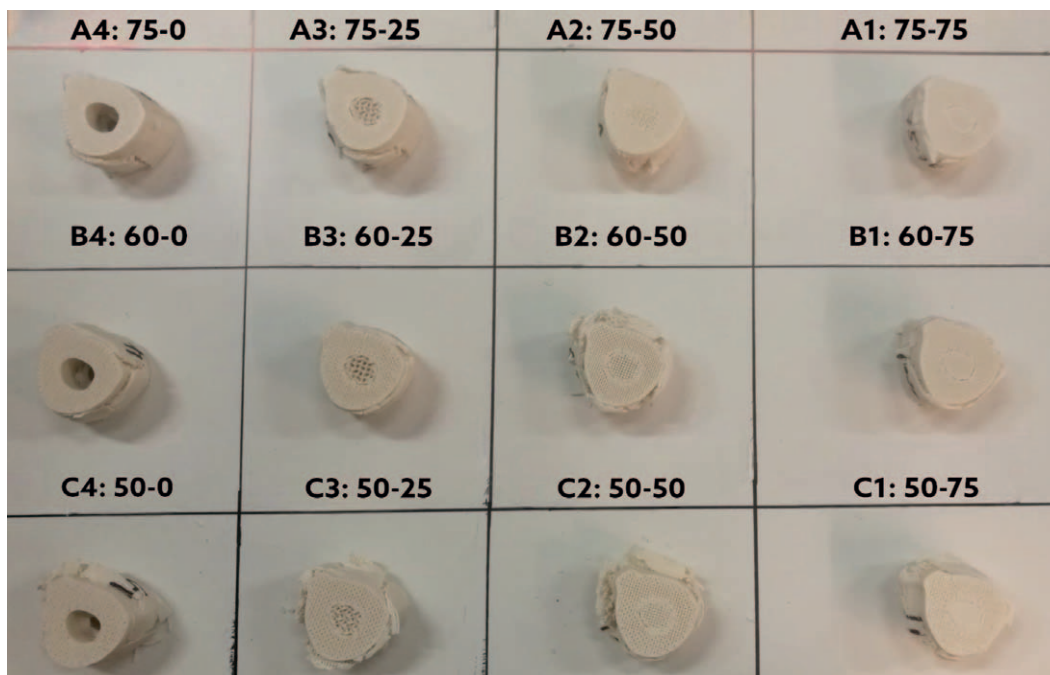
Přítom, tloušťka stěny gyroidu má větší pozitivní vliv na pevnost v tlaku tištěného tělesa oproti většímu počtu buněk uvnitř jeho struktury, což potvrzuje Maconachie a kol. [72].

Eryildiz [102] uvádí, že větší pórovitost 3D tělesa vede ke koncentraci napětí uvnitř porézní struktury tělesa, a tím se snižuje pevnost tělesa v tlaku, což potvrzují také výsledky naší studie týkající se PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru, jak je patrné z tabulky 12 a z grafů na obr. 43 až 45. Z námi zjištěných hodnot se gyroidní struktura PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru ve variantách s 25% výplní (A3, B3, C3) a 0% výplní (A4, B4, C4) v místě spongiózy reálné kosti natištěná pomocí tiskárny FDM Prusa MK3S, jeví jako nejméně vhodná ke zpevnění námi testovaného modelu segmentu femuru v porovnání s ostatními sledovanými hustotami procentuální výplně tělesa v místě spongiózy.

Na základě výsledků naší studie bylo zjištěno že tělesa s menším počtem buněk gyroidu uvnitř struktury tělesa se při tlakovém zatížení poruší nejčastěji ve spodní části tělesa, spíše než uprostřed jeho výšky (obr. 46), jak bylo možno pozorovat, a to z důvodu, že v tomto úseku 3D tělesa dochází k největší příčné deformaci testovaného tělesa. Porušení struktury námi testovaných vzorků ve spodních vrstvách vytištěného tělesa, při jeho 3D tisku metodou FDM, je způsobeno jednak málo pevným spojením mezi jednotlivými tištěnými vrstvami a jednak nerovnostmi styčných ploch jednotlivých vrstev z nichž se výsledné tištěné těleso skládá. [72] Avšak tento jev bude pravděpodobně způsoben spíše vyšší krystalinitou ve spodních vrstvách tištěného a vlivem zahřátí tiskové podložky, kdy se zvyšující se výškou tištěného tělesa od tiskové podložky dochází k nižší rychlosti krystalizace tištěného materiálu. V horních vrstvách tištěného tělesa je pak výsledná krystalinita nejnižší, a tím je také křehkost horních vrstev 3D tělesa malá. Ve spodních vrstvách tělesa je naopak jeho křehkost vyšší a spojení mezi jednotlivými tištěnými vrstvami je slabé [46], což se projevilo také u námi sledovaného PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru.

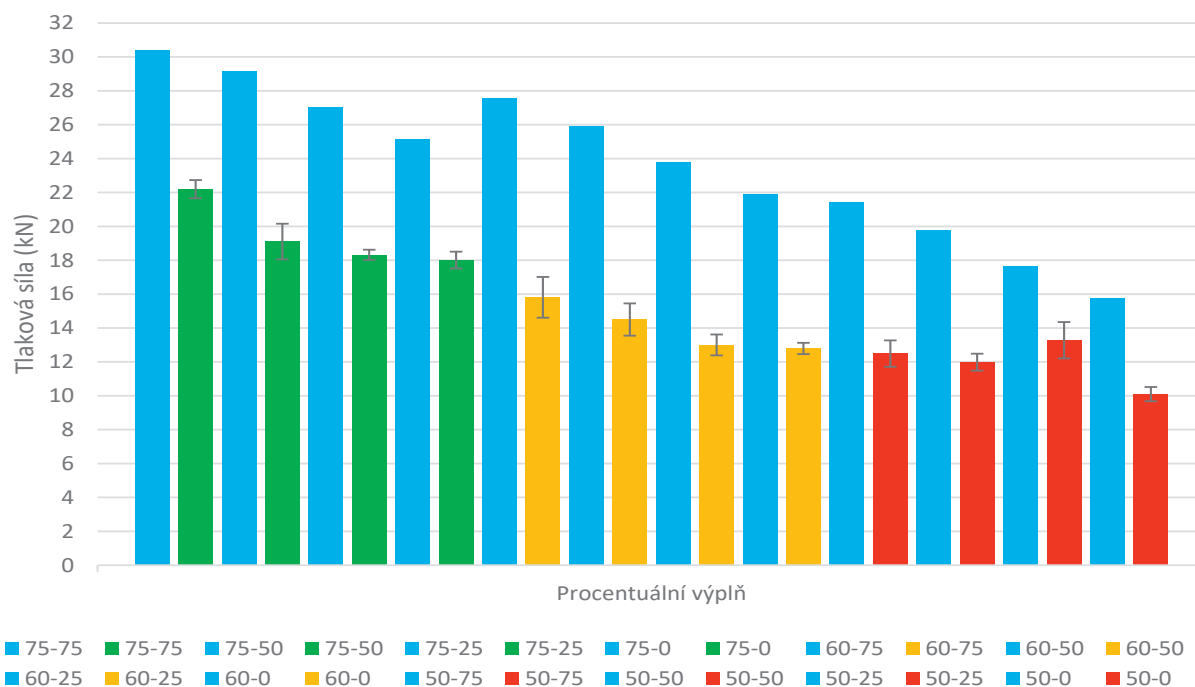
U vytištěných segmentů femurů došlo k porušení struktury tělesa v jeho spodních vrstvách pouze u zkušebních těles PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru s 0% výplní v místě spongiózní kosti, tedy u varianty A4 (kompakta s výplní 75% - spongiózní kost s výplní 0%), B4 (kompakta s výplní 60% - spongiózní kost s výplní 0%) a C4 (kompakta s výplní 50% - spongiózní kost s výplní 0%) (obr. 46). V případě všech ostatních těles (varianty A1 až A3, B1 až B3, C1 až C3) došlo k výraznějšímu rozložení působícího napětí uvnitř tělesa, což způsobilo, že těleso se začalo deformovat v polovině jeho výšky, a to na jeho vnějším obvodu (obr. 46), kde docházelo k vyšší příčné deformaci.

Z výsledků této studie také vyplývá, že u všech anatomických 3D tištěných PHB/PLA/TCP/HA segmentů femurů s různou hustotou výplně v místě kompakty a spongiózy reálné kosti nedošlo k porušení struktury v místě tlakového zatěžování, jak uvádí Jančář a kol. [79], avšak došlo k viditelnému porušení struktury tělesa po jeho obvodu (perimetru) uprostřed výšky tělesa. (obr. 46).



Obr. 46: Porušení PHB/PLA/TCP/HA tištěných segmentů femurů s různou hustotou výplně gyroidem (varianty A-C) po tlakovém zatěžování.

5.5 Predikce únosnosti v tlaku anatomického modelu segmentu femuru pomocí počítačové simulace vytvořením numerického modelu v programu ANSYS



Obr. 47: Graf závislosti průměrné tlakové síly na mezi únosnosti zkušebního vzorku PHB/PLA/TCP/HA segmentu femuru (varianta A1 až A4, B1 až B4, respektive C1 až C4) v závislosti na procentu jeho výplně v místě kompakty a spongiózy u reálných 3D výtisků a numerických hodnot získaných z programu ANSYS (modře).

Na grafu (obr. 47) je uvedena závislost dosažených průměrných tlakových sil na mezi únosnosti při tlakovém zatěžování zkušebních vzorků PHB/PLA/TCP/HA segmentu femuru v porovnání s predikovanými hodnotami tlakové síly, získanými na základě vytvoření numerického modelu pomocí výpočtového programu ANSYS. Z výsledných hodnot získaných predikcí v programu ANSYS (zobrazené na obr. 47 modře) lze pozorovat pokles tlakové síly v závislosti na klesající procentuální výplni, a to vždy v rámci strukturní výplně v místě kompaktní kosti (tedy pokles vždy u variant A1 až A4, B1 až B4, respektive C1 až C4). V případě predikovaných hodnot tlakových sil na mezi únosnosti získaných z numerického modelu, způsobující porušení vnitřní struktury anatomického modelu segmentu femuru, nedocházelo přímo k poklesu maximální tlakové síly v závislosti na nižší procentuální výplni, neboť např. varianta B1 (kompakta s výplní 60 % – spongióza s výplní 75 %) vykazovala vyšší hodnoty průměrných tlakových sil, oproti hodnotám v případě výplní A3 (kompakta s výplní 75 % – spongióza s výplní 50 %) a A4 (kompakta s výplní 75 % – spongióza s výplní 0 %). Téměř stejných hodnot tlakových sil na mezi únosnosti získaných z výpočtového programu ANSYS vykazovaly výplně B4 (kompakta s výplní 60 % – spongióza s výplní 0 %) a C1 (kompakta s výplní 50 % – spongióza s výplní 75 %), kdy docházelo ke korelaci mezi těmito hodnotami tlakových sil u těles varianty B4 a C1. V případě tlakových sil naměřených u reálných výtisků segmentů femurů, u nichž docházelo k poklesu maximální tlakové síly v závislosti na nižší procentuální výplni v místě kompakty a spongiózy, s výjimkou varianty C3 (kompakta s výplní 50 % – spongióza s výplní 25 %) (viz kap. 5.4.), byl také patrný téměř lineární pokles tlakové síly na mezi únosnosti v závislosti na procentuální výplni 3D tělesa, přičemž hodnoty průměrných tlakových sil reálných 3D tištěných těles varianty B1 (kompakta s výplní 60 % – spongióza s výplní 75 %) nepřesahovaly hodnoty tlakových sil varianty A3 (kompakta s výplní 75 % – spongióza s výplní 50 %) a A4 (kompakta s výplní 75 % – spongióza s výplní 0 %), jako tomu bylo u predikce tlakových sil na mezi únosnosti získané při měření s využitím výpočtového programu ANSYS.

Z hlediska 3D tištěných segmentů femurů docházelo vždy ke korelaci hodnot tlakových sil mezi vnitřními výplněmi 50 %, 25 % a 0 % v místě spongiózní kosti, tedy mezi variantami A2 až A4, B2 až B4, respektive C2 až C4. Z trendu poklesu tlakové síly v závislosti na snižujícím se procentu výplně lze také vyvodit, že v případě výplně 75 % v místě kompaktní kosti neměla vnitřní výplň gyroidu v místě spongiózy tak výrazný vliv na nárůst průměrných tlakových sil 3D tištěných těles, jako u variant B1 až B4 a C1 až C4. Naproti tomu, v případě predikce tlakových sil, získaných pomocí programu ANSYS, je patrný větší rozdíl mezi jednotlivými výplněmi v místě spongiózní kosti, přičemž gyroidní výplň v místě spongiózy výrazněji zvyšuje únosnost 3D tělesa oproti hodnotám u 3D tištěných těles. Z uvedeného grafu na obr. 47 lze také usoudit, že na mechanické vlastnosti 3D tištěných těles měla vliv spíše hmotnost tištěného tělesa, než jeho samotná vnitřní struktura, což odpovídá lineárnímu trendu poklesu snižující se tlakové síly v závislosti na nižší procentuální výplni gyroidem u 3D segmentů femurů. Oproti tomu hodnoty tlakových sil získaných v programu ANSYS vykazují trend

lineárního poklesu vždy pouze v rámci jednotlivých variant výplně v místě kompakty, tedy variant A, B, respektive C. V tabulce 14 jsou uvedeny získané hodnoty tlakových sil na mezi únosnosti dosažené při tlakové simulaci jednotlivých variant segmentů femurů v programu ANSYS. Tlaková síla na mezi únosnosti dosahuje hodnoty 30,40 kN v případě zkušebního 3D tělesa varianty A1, 29,10 kN u tělesa varianty A2, 27,00 kN v případě varianty A3 a 25,10 kN u tělesa varianty A4. U variant B těles dosahuje hodnotu tlakové síly 27,50 kN v případě zkušebního 3D tělesa varianty B1, 25,90 kN u tělesa varianty B2, 23,80 kN v případě varianty B3 a 21,90 kN u tělesa varianty B4. U variant C dosahuje hodnotu tlakové síly 21,40 kN v případě zkušebního 3D tělesa varianty C1, 19,80 kN u tělesa varianty C2, 17,60 kN v případě varianty C3 a 15,80 kN u tělesa varianty C4. Z porovnání těchto hodnot je zřejmé, že stejně jako u reálných výtisků PHB/PLA/TCP/HA anatomického segmentu femuru (tabulka 12) nejvyšší únosnost v tlaku vykazují zkušební vzorky 3D těles s nejvyšší hustotou výplně jejich vnitřní struktury gyroidem, a to jak v místě kompakty, tak v místě spongiózy tohoto tištěného 3D anatomického modelu reálné kosti.

Výpočet pomocí výpočtového programu ANSYS byl deterministický, proto nebylo možno stanovit statistickou chybovou odchylku. Nicméně z uvedeného grafu (obr. 47) je patrné, že hodnoty získané z programu ANSYS dosahovaly výrazně vyšších hodnot tlakových sil, než tomu bylo v případě reálných výtisků segmentů femuru. Rozdíl mezi hodnotami tlakových sil získanými v programu ANSYS a naměřenými při tlakových zkouškách reálných vzorků PHB/PLA/TCP/HA segmentu femuru byl ± 8 kN. Tento relativně velký rozdíl (přibližně čtvrtinový) byl způsoben především nedokonalostí 3D tisku vzorků PHB/PLA/TCP/HA segmentu femuru na tiskárně Prusa MK3S, kdy nedocházelo k vytištění centrální části buňky gyroidu, a uvnitř tištěného tělesa tím vznikalo mnohonásobně více dutin v jeho vnitřní struktuře, než tomu bylo u numerického modelu vytvořeného počítačovou simulací v programu ANSYS. Literatura uvádí, že pro zamezení vzniku trhlin uvnitř tištěného 3D tělesa je nutný tisk většího počtu gyroidních buněk s menší velikostí pórů. [70] To v případě 3D tištěných těles znamená použít větší procentuální výplň tělesa. Lze tedy konstatovat, že gyroidní struktura bude u vyšších procentuálních výplní jejich vnitřní struktury, vzhledem k hmotnosti 3D tělesa, vykazovat větší únosnost v tlaku, a to jak v místě kompakty, tak v místě spongiózy.

Skutečnost, že se zamezilo vzniku trhlin při hustší výplni vnitřní struktury tělesa byla patrná především u 3D tištěných těles s výplní gyroidní strukturou v místě spongiózy 75 % (varianty A1, B1 až C1), kdy docházelo k výraznějšímu zpevnění celé struktury 3D tištěných segmentů femurů. U 3D tištěných segmentů femurů lze mimo jiné pozorovat různě velikou směrodatnou odchylku v rámci zjištěné tlakové síly na mezi únosnosti (obr. 47), kdy největší hodnota směrodatné odchylky vykazovala tělesa variant A3 (kompakta s výplní 75 % – spongióza s výplní 50 %) a B1 (kompakta s výplní 60 % – spongióza s výplní 75 %) (tabulka 12).

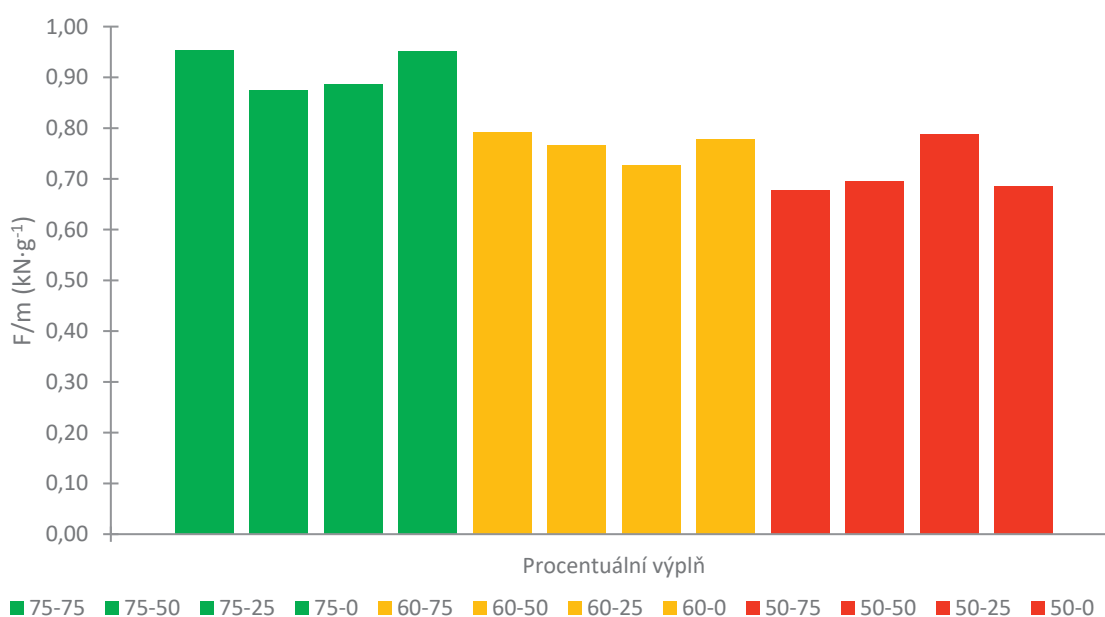
Tabulka 14: Velikost tlakové síly způsobující porušení vnitřní struktury PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru v programu ANSYS u zvolených 12 variant (varianta A1 až A4; B1 až B4; C1 až C4) vnitřní struktury v místě kompakty a spongiózy reálné kosti (viz kapitola 4.6.2. a 4.6.4.).

Varianta hustoty výplně gyroidu	A (kompakta 75 %) [kN]	B (kompakta 60 %) [kN]	C (kompakta 50 %) [kN]
1 (spongióza 75 %)	30,40	27,50	21,40
2 (spongióza 50 %)	29,10	25,90	19,80
3 (spongióza 25 %)	27,00	23,80	17,60
4 (spongióza 0 %)	25,10	21,90	15,80

V tabulce 15 jsou uvedeny průměrné hmotnosti jednotlivých variant PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru, kdy je také patrný lineární pokles hmotnosti tělesa v rámci snižující se procentuální výplně 3D tištěného tělesa. Pokud je tlaková síla tištěných 3D těles dosažená při tlakovém zatěžování (tabulka 12) vztažená k těmto hmotnostem 3D tělesa (tlaková síla vydělená hmotností tělesa), dostáváme hodnoty veličiny u níž dochází ke korelaci velikosti kolem hodnoty $1,00 \text{ kN}\cdot\text{g}^{-1}$. Z výše uvedeného vyplývá, že hodnota naměřených tlakových sil způsobujících porušení vnitřní struktury PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru víceméně koresponduje s hodnotou hmotností vytištěného PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru ve 12 variantách gyroidní výplně. Tzn., například naměřené tlakové síle způsobující porušení vnitřní struktury PHB/PLA/TCP/HA segmentu femuru o hodnotě $22,20 \pm 0,50 \text{ kN}$ (tabulka 12) odpovídá přibližně numerická velikost hodnoty hmotnosti 3D tělesa varianty A1 ($23,26 \pm 0,09 \text{ g}$) (tabulka 15). Z grafu na obr. 48 je rovněž patrné, že nejvíce se hodnotě $1,00 \text{ kN}\cdot\text{g}^{-1}$ přibližují varianty anatomického segmentu femuru A4 (kompakta s výplní 75 % – spongióza s výplní 0 %), B4 (kompakta s výplní 60 % – spongióza s výplní 0 %) a C4 (kompakta s výplní 50 % – spongióza s výplní 0 %), a kromě toho také těleso varianty A1 (kompakta s výplní 75 % – spongióza s výplní 75 %). Lze tedy konstatovat, že závislost průměrné tlakové síly na mezi únosnosti vztažená na hmotnost zkušební vzorku PHB/PLA/TCP/HA segmentu femuru zobrazená graficky na obr. 48, s výjimkou variant těles A4, B4 a C4, odpovídá numerické velikosti hodnot patrných z grafu závislosti průměrné tlakové síly na mezi únosnosti zkušební vzorků PHB/PLA/TCP/HA segmentu femuru (varianta A1 až A4, B1 až B4, respektive C1 až C4) v závislosti na procentu jejich výplně v místě kompakty a spongiózy. Jinak řečeno, tlaková síla na mezi únosnosti způsobující porušení vnitřní struktury tělesa je tím větší, čím větší je hmotnost tohoto 3D tělesa a naopak.

Tabulka 15: Průměrná velikost hmotnosti PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru u zvolených 12 variant (varianta A1 až A4; B1 až B4; C1 až C4) vnitřní struktury v místě kompakty a spongiózy reálné kosti.

Varianta hustoty výplně gyroidu	A (kompakta 75 %) [g]	B (kompakta 60 %) [g]	C (kompakta 50 %) [g]
1 (spongióza 75 %)	23,26 ± 0,09	19,96 ± 0,07	18,46 ± 0,13
2 (spongióza 50 %)	21,87 ± 0,89	18,91 ± 0,15	17,25 ± 0,15
3 (spongióza 25 %)	20,69 ± 0,63	17,87 ± 0,20	16,85 ± 0,67
4 (spongióza 0 %)	18,94 ± 0,40	16,45 ± 0,29	14,72 ± 0,10



Obr. 48: Graf závislosti průměrné tlakové síly na mezi únosnosti vztážené na hmotnost zkušební vzorku PHB/PLA/TCP/HA segmentu femuru (varianta A1 až A4, B1 až B4, respektive C1 až C4).

5.6 Biodegradční testy 3D těles z PHB/PLA/TCP/HA kompozitu

V tabulce 16 jsou uvedeny průměrné změny hmotnosti 3D zkušebních biodegradčních těles o velikosti $10 \times 4 \times 10$ mm vyrobených z PHB/PLA/TCP/HA v pěti variantách (I až V) s různou procentuální výplní gyroidem, a to v případě varianty I se 100% výplní, u varianty II se 75% výplní, u varianty III se 60% výplní, u varianty IV se 50% výplní, respektive s výplní 25% v případě varianty V), u nichž byla zkoumána rychlost (míra) jejich biodegradace v důsledku působení simulované tělesné tekutiny v inkubátoru po dobu 1 až 4 měsíců (viz kapitola 4.8.). Průměrná hmotnost biodegradčních těles z PHB/PLA/TCP/HA před zahájením biodegradčního testu byla v případě varianty I tělesa $521,8 \pm 3,1$ mg, u varianty II tělesa $422,0 \pm 1,6$ mg, u varianty III tělesa $408,2 \pm 2,4$ mg, u varianty IV tělesa $384,2 \pm 1,8$ mg, respektive v případě varianty V tělesa $299,6 \pm 2,5$ mg. Testovaná biodegradční tělesa byla vyrobena ze stejného optimalizovaného biokompozitu OPT1 jako námi nově vyvinutý a mechanicky testovaný PHB/PLA/

TCP/HA anatomický model segmentu diafýzy femuru (viz kapitola 4.6.2.) a také v podobných procentuálních výplních gyroidním vzorem (vyjma výplně 100 %), aby bylo možno přibližně predikovat rychlost biodegradace optimalizovaného biokompozitu jakožto 3D tělesa. Vzorky biodegradačních těles se 100% výplní gyroidem (varianta I) byly zvoleny jako kontrolní („plně“) vzorky z důvodu porovnání s 3D tělesy s lišící se různě hustou výplní gyroidem, konkrétně 75 % (varianta II), 60 % (varianta III), 50 % (varianta IV), respektive 25 % (varianta V).

Z údajů v tabulce 16 vyplývá, že 1 měsíc po inkubaci (tedy po účincích degradace na testovaná tělesa v trvání 1 měsíce) vykazovala nejvyšší úbytek průměrné hmotnosti tělesa vyrobená ve variantě IV s 50% výplní vnitřní struktury gyroidem, kdy průměrná hodnota úbytku hmotnosti tělesa činila $3,7 \pm 0,1$ mg, druhý nejvyšší úbytek hmotnosti byl pak zaznamenán u tělesa varianty III s 60% výplní gyroidem ($3,4 \pm 0,2$ mg), v pořadí třetí nejvyšší úbytek byl zaznamenán u těles varianty II se 75% výplní ($2,6 \pm 0,2$ mg) a shodně také u varianty V s 25% výplní vnitřní struktury gyroidem ($2,6 \pm 0,3$ mg). Vůbec nejnižší úbytek hmotnosti byl zaznamenán u těles variant I se 100% výplní gyroidem, a to $1,6 \pm 0,4$ mg. Výše uvedené výsledky jsou graficky znázorněny na obr. 49. Po jednom měsíci degradace testovaných biodegradačních PHB/PLA/TCP/HA těles s různou hustotou gyroidní výplně byla tedy zjištěna nejpomalejší degradace (tedy nejmenší úbytek hmotnosti) u těles se 100% výplní (varianta I), a to v porovnání se všemi „více porézními“ biodegradačními zkušebními tělesy vyrobenými výplní 75 % (varianta II), 60 % (varianta III), 50 % (varianta IV), respektive 25 % (varianta V) gyroidem (obr. 49). Tato zjištění mohou souviset s hustší vrstvou tištěného materiálu 3D tělesa, která, jak uvádí Germain a kol. [65], zpomaluje proces jejich degradace.

Po 2. měsíci degradace se, v porovnání se situací po 1. měsíci degradace (obr. 49), průměrný úbytek hmotnosti u všech testovaných těles (varianta I až V) výrazně zvýšil (obr. 50), přičemž se hodnota úbytku jejich hmotnosti u vzorků variant I, II, III, a IV pohybovala v podobném intervalu hodnot, a sice v rozmezí od $7,1 \pm 0,2$ mg u varianty III, přes $6,8 \pm 0,1$ mg u varianty IV a $6,6 \pm 0,3$ mg u varianty II, po $6,4 \pm 0,2$ mg u varianty I (tab. 16). Nejmenší průměrný úbytek hmotnosti po 2. měsíci degradace byl zaznamenán u těles varianty V, a to $4,7 \pm 0,1$ mg (tab. 16). Lze tedy pozorovat, že u biodegradačních vzorků varianty II, varianty III a varianty IV procentuální výplně vnitřní struktury gyroidem, byl jejich průměrný úbytek hmotnosti víceméně pravidelný a v porovnání se situací po 1. měsíci degradace (obr. 49) se přibližně zdvojnásobil (obr. 50), kdežto v případě vzorků varianty I došlo, v porovnání se situací po 1. měsíci degradace (obr. 49), ke skokovému nárůstu průměrného úbytku hmotnosti, a to z hodnoty $1,6 \pm 0,4$ mg na hodnotu $6,4 \pm 0,2$ mg, což je nárůst úbytku hmotnosti (degradace těles) dokonce čtyřnásobný (obr. 50). Naopak u vzorků s 25% výplní gyroidem (varianta V) došlo, v porovnání se situací po 1. měsíci degradace (obr. 49), k nejmenšímu úbytku průměrné hmotnosti v průběhu 2. měsíce degradace, a to o hodnotu $4,7 \pm 0,1$ mg, tzn. tento úbytek hmotnosti byl v 2. měsíci degradace zhruba 1,8 násobný oproti 1. měsíci kdy se úbytek pohyboval okolo $2,6 \pm 0,3$ mg (obr. 49).

Po 3 měsících degradace došlo, v porovnání se situací po 2. měsíci degradace (obr. 50), k výrazné změně v trendu velikosti úbytku průměrné hmotnosti testovaných biodegradačních

zkušebních těles s tím, že velikost úbytku průměrné hmotnosti klesala při porovnání všech testovaných variant od varianty s nejvíce hustou výplní (varianta I se 100% výplní gyroidem) až po variantu „nejvíce porézní“ (varianta V s 25% výplní gyroidem) téměř lineárně (obr. 51), přičemž nejvyšší úbytek průměrné hmotnosti tělesa byl zaznamenán u varianty I, o něco nižší pak u varianty II, dále o něco nižší u varianty III, následně o něco nižší u varianty V a nejnižší u varianty IV zkušebních biodegradačních těles (tab. 16). V porovnání se situací po 2. měsíci degradace (obr. 50) v případě tělesa varianty I došlo po 3 měsících degradace k přibližně trojnásobnému úbytku průměrné hmotnosti, oproti 2 měsíci z hodnoty $6,4 \pm 0,2$ mg na hodnotu $19,1 \pm 0,8$ mg u varianty II došlo k přibližně dvojnásobku úbytku hmotnosti, a to z hodnoty $6,6 \pm 0,3$ mg na hodnotu $14,5 \pm 0,4$ mg, u varianty III došlo přibližně k 1,8 násobku úbytku průměrné hmotnosti, a to z hodnoty $7,1 \pm 0,2$ mg na hodnotu $12,7 \pm 2,3$ mg, u varianty V došlo přibližně k 1,7 násobku úbytku průměrné hmotnosti, a to z hodnoty $4,7 \pm 0,1$ mg na hodnotu $7,9 \pm 0,4$ mg, u varianty IV pak došlo k přibližně 1,6 násobku úbytku hmotnosti, a to z hodnoty $6,8 \pm 0,1$ mg na hodnotu $10,6 \pm 2,2$ mg (tab. 16).

Po dokončení 4. měsíce degradace pokračoval stejný trend lineárního poklesu úbytku průměrné hmotnosti biodegradačních těles, který byl pozorován po 3 měsících degradace (obr. 51), opět s podobným charakterem chování zkušebních těles, kdy velikost úbytku průměrné hmotnosti klesala při porovnání všech testovaných variant od varianty s nejméně porézní výplní (varianta I se 100% výplní gyroidem) až po variantu nejvíce porézní (varianta V s 25% výplní gyroidem) téměř lineárně (obr. 52). Nejvyšší úbytek průměrné hmotnosti tělesa byl přitom zaznamenán u varianty I, o něco nižší pak u varianty IV, dále o něco nižší u varianty II, následně o něco nižší u varianty III a nejnižší u varianty V zkušebních biodegradačních těles (tab. 16).

V porovnání se situací po 3. měsíci degradace (obr. 51) došlo v případě tělesa varianty I po 4 měsících degradace k téměř trojnásobnému úbytku průměrné hmotnosti, a to z hodnoty $19,1 \pm 0,8$ mg na hodnotu $52,8 \pm 0,5$ mg, u varianty IV pak došlo k přibližně 2,1 násobku úbytku hmotnosti, a to z hodnoty $10,6 \pm 2,2$ mg na hodnotu $22,5 \pm 1,3$ mg, u varianty II došlo k přibližně 2,0 násobku úbytku hmotnosti, a to z hodnoty $14,5 \pm 0,4$ mg na hodnotu $29,5 \pm 0,5$ mg, u varianty III došlo přibližně k 1,9 násobku úbytku průměrné hmotnosti, a to z hodnoty $12,7 \pm 2,3$ mg na hodnotu $25,0 \pm 1,5$ mg, u varianty V došlo přibližně k 1,8 násobku úbytku průměrné hmotnosti, a to z hodnoty $7,9 \pm 0,4$ mg na hodnotu $14,4 \pm 0,1$ mg (tab. 16).

Celkový relativní úbytek průměrné hmotnosti zkušebních těles po 4 měsících jejich degradace, v porovnání s úbytkem hmotnosti těles po počátečním 1. měsíci jejich degradace (obr. 49), byl výrazně nejvyšší u varianty I, u těles varianty II pak byl zhruba třetinový (v porovnání s variantou I), a dále se relativní úbytek průměrné hmotnosti po 4 měsících degradace postupně snižoval, a to u varianty III, následně varianty IV a konečně nejnižší byl u varianty V zkušebních biodegradačních těles (tab. 16), kdy došlo (obr. 52) v případě tělesa varianty I po tomto časovém intervalu k 33 násobnému úbytku průměrné hmotnosti v porovnání se situací po 1. měsíci degradace, a to z hodnoty $1,6 \pm 0,4$ mg na hodnotu $52,8 \pm 0,5$ mg, u varianty II došlo k přibližně 11,3 násobku úbytku hmotnosti, a to z hodnoty $2,6 \pm 0,2$ mg na hodnotu

29,5±0,5 mg, u varianty III došlo přibližně k přibližně 7,4 násobku úbytku průměrné hmotnosti, a to z hodnoty 3,4±0,2 mg na hodnotu 25,0±1,5 mg, u varianty IV pak došlo k přibližně 6,1 násobnému úbytku hmotnosti, a to z hodnoty 3,7±0,1 mg na hodnotu 22,5±1,3 mg, a v případě varianty V došlo přibližně k přibližně 5,5 násobku úbytku průměrné hmotnosti, a to z hodnoty 2,6±0,3 mg na hodnotu 14,4±0,1 mg (tab. 16)

Ze zjištěných výsledků v průběhu prvních čtyř měsíců degradace lze z grafického znázornění výsledků biodegradačních zkoušek rámcově dovodit, že v 1. měsíci došlo k nejmenšímu úbytku hmotnosti u nejméně porézního tělesa varianty I se 100% výplní materiálem, zatímco tělesa variant II, III a IV vykazovala relativně vyrovnaný úbytek průměrné hmotnosti v prvním měsíci biodegradace (obr. 49). Trend velikosti úbytku průměrné hmotnosti se následně začal vyrovnávat po 2 měsících trvání degradace, kdy v případě tělesa varianty I se 100% výplní úbytek průměrné hmotnosti skokově narostl a z hlediska vzájemných poměrů rychlosti úbytku hmotnosti došlo v případě tělesa varianty I k vyrovnání počátečního pomalého nástupu degradace (tedy úbytku průměrné hmotnosti) v porovnání s variantami II, III, IV a V (obr. 50). Trend degradace těles se však výrazně změnil ve 3. měsíci trvání pokusu biodegradace (obr. 51), kdy skokový nárůst úbytku hmotnosti byl i nadále zvýrazněn u tělesa varianty I se 100% výplní a byl v tomto případě významně nejvyšší, zatímco u ostatních těles s variantami II, III, IV a V výplně gyroidem byl zaznamenán postupně se snižující pokles jejich průměrné hmotnosti, a to přibližně lineárně v závislosti úbytku průměrné hmotnosti na procentuální výplni tělesa (obr. 51) s tím, že čím nižší byla procentuální výplň tělesa varianty I až V, tím k menšímu úbytku hmotnosti tělesa docházelo. Podobný průběh křivky závislosti úbytku průměrné hmotnosti tělesa na jeho procentuální výplni klesající byla zaznamenána i 4 měsíce po začátku biodegradačních zkoušek (obr. 52).

Závěrem lze tedy dovodit, že od 3. měsíce degradace námi testovaných vzorků byla rychlost degradace těchto 3D zkušebních těles z PHB/PLA/TCP/HA přímo úměrná jejich procentuální výplni, a že tělesa s menší procentuální výplní vnitřních struktur gyroidem (s variantami II, III, IV a V) degradují relativně pomaleji, než je tomu u těles s vyšší „denzitou“ výplně (varianta I). Rozdíl mezi „denzním“ tělesem se 100% výplní (varianta I) a tělesy variant II, III, IV a V s „více porézní“ strukturou výplně je v tom, že varianty s „porézní“ strukturou degradují pomaleji, což je výhodné pro jejich možné budoucí klinické použití. Současně je při rozhodování o vlastnostech 3D těles vyvíjených pro implantaci do poškozené kostní tkáně třeba brát v úvahu také jejich mechanické vlastnosti a odolnost proti působení především tlakových sil. Z našeho pohledu vývoje možného využití biokompatibilního anatomického modelu segmentu femuru pro implantaci do defektů diafýzy femuru v případech komplikovaných zlomenin této kosti hrají důležitou roli nejen biodegradační vlastnosti skafoldu, ale také jeho odolnost proti působení sil tlaku v místě kostního defektu (viz kapitola 5.4.), avšak při volbě vhodného implantátu pro klinické použití je třeba vzít v úvahu i jeho „porozitu“ (procentuální výplň vnitřní struktury tělesa gyroidem) důležitou z pohledu růstu buněk v tomto skafoldu.

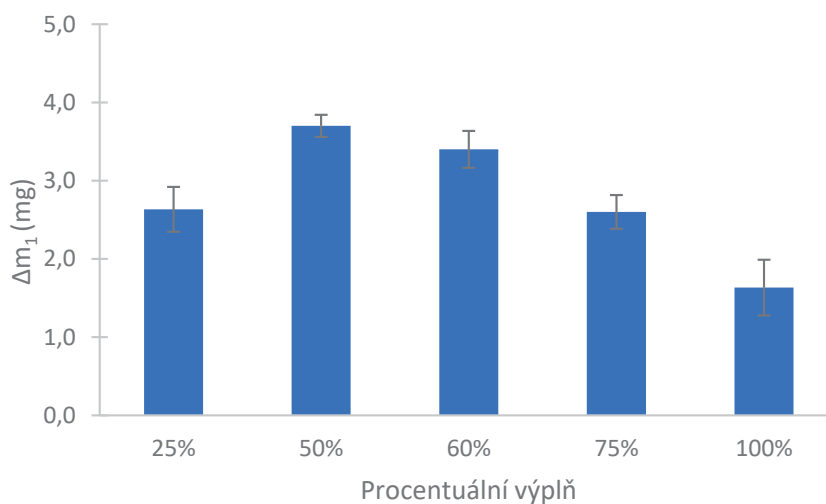
Poněkud pomalejší nástup degradace těles varianty I v 1. měsíci jejich degradace v simulované tělesné tekutině může být způsobena velkou hustotou tištěného materiálu v 3D tělese. Přičemž zprvu dochází k degradaci materiálu pouze na povrchu tělesa, kdy jeho vnitřní struktury jsou v důsledku denzity vzorku skryty účinkům degradace simulovanou tělní tekutinou v inkubátoru. Teprve po určité době, v našem případě 3 měsíce od zahájení biodegradačního testu, kdy se účinkem degradačních podmínek začnou vytvářet drobné póry uvnitř zprvu 100% vyplněného tělesa a toto začne nabývat pórovitou strukturu, „zpřístupní“ se pod povrchem tělesa ležící vnitřní struktury pro účinky simulované tělesné tekutiny a rychlost degradace zde skokově zvýší s tím, jak začne degradovat (a hmotnostně ubývat) stále více hmoty tělesa s původně nejvyšší denzitou vytištěného materiálu. Kromě toho, v případě biodegradačního tělesa varianty I se 100% výplní, bylo velké množství tištěného materiálu deponováno na jeho spodní straně, což mohlo rovněž být příčinou jeho počáteční pomalé degradace v 1. měsíci degradační zkoušky.

Z námi zjištěných údajů shrnutých v tabulce 16 a z grafického znázornění úbytku hmotnosti testovaných biodegradačních těles (obr. 49 až 52) pak vyplývá, že gyroidní struktura s výplní 75% (varianta II), 60% (varianta III), 50% (varianta IV), respektive 25% (varianta V) měla, ve srovnání se vzorky se 100% výplní materiálem (varianta I), pozitivní vliv na rovnoměrnou degradaci zkoumaných biodegradabilních těles, a to ve smyslu jejich pomalé a postupné degradace, a nikoliv „skokové“ degradace, jak tomu bylo v případě vzorků se 100% výplní (varianta I) PHB/PLA/TCP/HA biokompozitem. Postupná a pomalá biodegradace pozorovaná u zkušebních těles s 75% (varianta II), 60% (varianta III), 50% (varianta IV), respektive 25% (varianta V) hustotou výplně gyroidem je důležitá vlastnost požadovaná chirurgy při implantaci 3D nosičů buněk jakožto kostních náhrad tkáně při komplikovaných zlomeninách, neboť je třeba zajistit jejich pozvolnou degradaci v místě implantace, aby byla, do doby než se příslušný defekt kosti zahojí, zachována jejich potřebná pevnost a současně, aby nedošlo k předčasnému „kolapsu“ vnitřní gyroidní struktury skafoldu, jež umožňuje v pórech gyroidního vzoru růst nových kostních buněk.

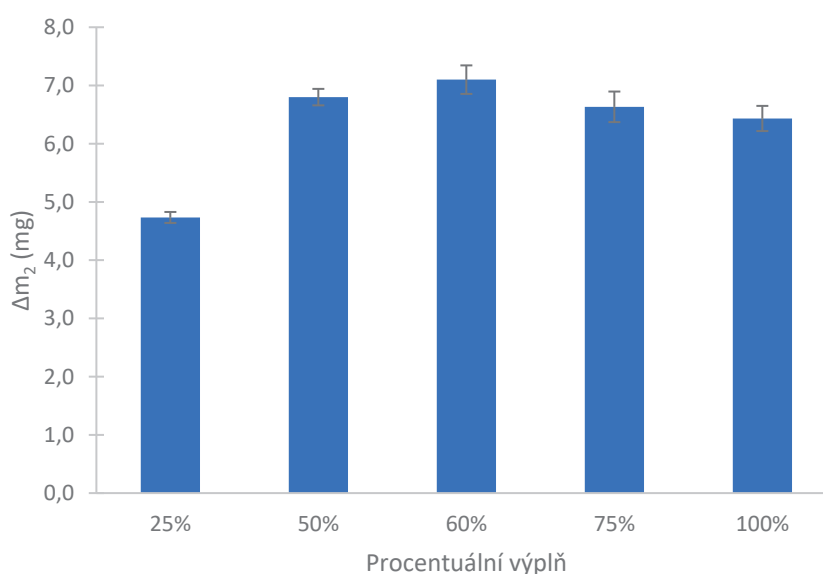
Tabulka 16: Průměrný úbytek hmotnosti PHB/PLA/TCP/HA biodegradačního tělesa s různými procentuálními variantami gyroidní výplně (varianta I až V) v průběhu degradace v simulované tělesné tekutině po uplynutí doby 1 až 4 měsíců (viz kapitola 4.5.3.).

	Procentuální výplň gyroidu u 3D tištěného biodegradačního tělesa				
Průměrný úbytek hmotnosti biodegradačního tělesa po uplynutí 1 až 4 měsíců	Varianta I (100%)	Varianta II (75%)	Varianta III (60%)	Varianta IV (50%)	Varianta V (25%)
Δm_{1M} (mg)	1,6 ± 0,4	2,6 ± 0,2	3,4 ± 0,2	3,7 ± 0,1	2,6 ± 0,3
Δm_{2M} (mg)	6,4 ± 0,2	6,6 ± 0,3	7,1 ± 0,2	6,8 ± 0,1	4,7 ± 0,1
Δm_{3M} (mg)	19,1 ± 0,8	14,5 ± 0,4	12,7 ± 2,3	10,6 ± 2,2	7,9 ± 0,4
Δm_{4M} (mg)	52,8 ± 0,5	29,5 ± 0,5	25,0 ± 1,5	22,5 ± 1,3	14,4 ± 0,1

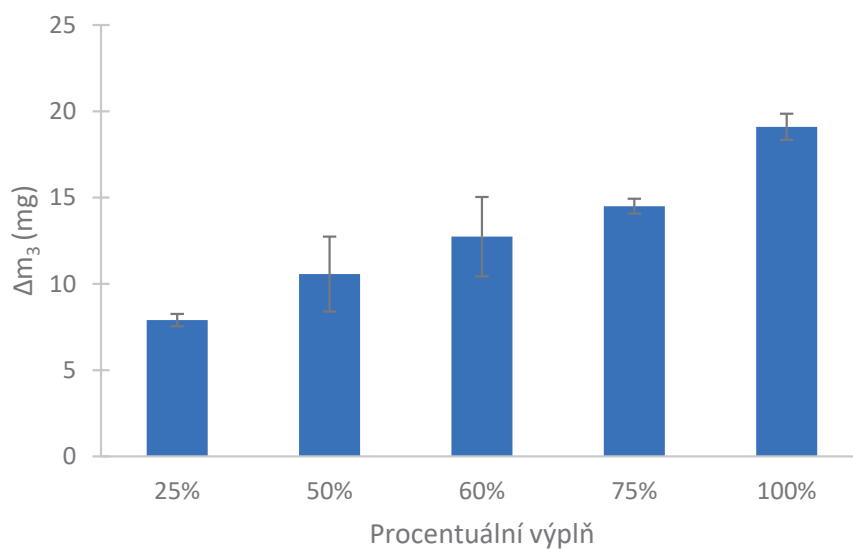
Germain a kol. [65] uvádí, že gyroid si během degradace zachovává svoji integritu a tvar, a to z důvodu variability úhlů sklonu jednotlivých stěn (vláken) gyroidního vzoru vnitřní výplně tělesa, které se mění při zvyšující se výšce tělesa. Díky změnám úhlů sklonu stěn gyroidu dochází k určité změně vzájemné polohy vnitřních struktur gyroidního vzoru a také změně plochy kontaktu mezi sousedními tištěnými vrstvami tělesa. [64, 65] To se potvrdilo při působení simulované tělesné tekutiny na námi připravená 3D biodegradační tělesa, kdy po 4. měsíci degradace nedocházelo k tak velkému úbytku hmotnosti jako v případě těles se 100% výplní.



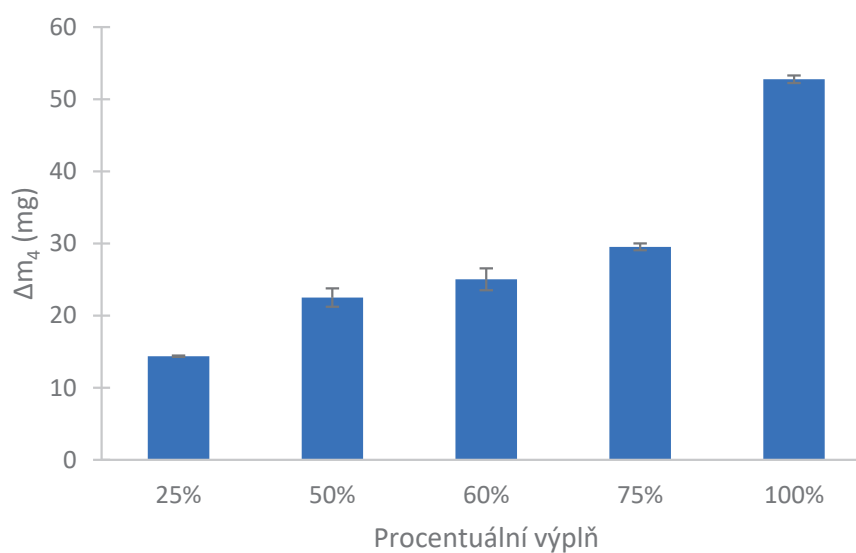
Obr. 49: Graf závislosti úbytku hmotnosti po 1. měsíci (M_1) na procentuální výplni biodegradačního tělesa.



Obr. 50: Graf závislosti úbytku hmotnosti po 2. měsíci (M_2) na procentuální výplni biodegradačního tělesa.



Obr. 51: Graf závislosti úbytku hmotnosti po 3.měsíci (M3) na procentuální výplni biodegradčního tělesa.



Obr.52: Graf závislosti úbytku hmotnosti po 4.měsíci (M4) na procentuální výplni biodegradčního tělesa.

Tab.17: Maximální velikost tlakové síly způsobující porušení vnitřní struktury biodegradabilního tělesa z PHB/PLA/TCP/HA s různou procentuální výplní gyroidem (varianta I až V) v průběhu degradace v simulované tělesné tekutině po uplynutí doby 1 až 4 měsíců (viz kapitola 4.5.3.).

	Procentuální výplň gyroidu u 3D tištěného biodegradabilního tělesa				
Maximální tlaková síla při porušení gyroidní výplně tištěného biodegradabilního tělesa po uplynutí 1 až 4 měsíců	Varianta I (100 %)	Varianta II (75 %)	Varianta III (60 %)	Varianta IV (50 %)	Varianta V (25 %)
$F_0 \text{ max(N)}$	2134,1 ± 13,0	1214,8 ± 16,0	1117,8 ± 22,5	963,5 ± 9,1	626,5 ± 8,8
$F_1 \text{ max (N)}$	992,3 ± 86,6	917,1 ± 150,6	831,1 ± 103,7	693,2 ± 26,8	564,6 ± 81,1
$F_2 \text{ max (N)}$	787,3 ± 59,4	728,5 ± 60,2	667,3 ± 73,6	578,9 ± 57,8	511,5 ± 25,6
$F_3 \text{ max (N)}$	580,6 ± 21,1	578,6 ± 69,7	497,4 ± 79,1	416,8 ± 52,1	365,5 ± 49,5
$F_4 \text{ max (N)}$	365,1 ± 7,8	365,6 ± 26,9	333,8 ± 34,7	300,2 ± 20,7	278,8 ± 21,2

Z údajů v tabulce 17 vyplývá, že stejně jako u tlakového působení sil na anatomické modely segmentu femuru z PHB/PLA/TCP/HA biokompozitu docházelo k postupnému poklesu průměrné síly na mezi únosnosti biodegradabilních těles. Přičemž průměrná síla na mezi únosnosti klesala od nejméně porézních (varianta I se 100% výplní gyroidem) těles až po variantu „nejvíce porézní“ (varianta V s 25% výplní gyroidem) téměř lineárně. S tím, že nejvyšších hodnot sil na mezi únosnosti dosahovala tělesa varianty I, o něco nižší pak u varianty II až IV a nejnižší u varianty V zkušebních biodegradabilních těles.

Před provedením degradačních testů dosahovala nejvyšší průměrné síly na mezi únosnosti tělesa vyrobená ve variantě I tedy se 100% výplní vnitřní struktury gyroidem, kdy tato průměrná síla dosahovala hodnoty $2134,1 \pm 13,0$ N, druhé nejúnosnější vzorky varianty II se 75% výplní gyroidem dosahovaly hodnot $1214,8 \pm 16,1$ N. Ze zjištěných hodnot však lze konstatovat, že varianty I a II se velmi lišily co do dosažení tlakové síly na mezi únosnosti, na rozdíl od variant II až V. V pořadí třetí nejvyšší únosnosti dosahovala tělesa varianty III s 60% výplní ($1117,8 \pm 22,5$ N) a dále výrazně nižší dosahovaly tělesa varianty IV s 50% výplní vnitřní struktury gyroidem $963,5 \pm 9,1$ N. Skokově menších průměrných hodnot sil na mezi únosnosti byl u těles varianty V s 25% výplní gyroidem, a to $626,5 \pm 8,8$ N (tab. 17).

Po 1.měsíci inkubace (tedy po účincích degradace na testovaná tělesa v trvání 1 měsíce) vykazovala nejvyšší průměrné síly na mezi únosnosti tělesa vyrobená ve variantě I tedy se 100% výplní vnitřní struktury gyroidem, kdy tato průměrná síla dosahovala hodnoty $992,3 \pm 6,6$ N, druhé nejúnosnější byly vzorky varianty II se 75% výplní gyroidem, které dosahovaly hodnot $917,1 \pm 150,6$ N. Ze zjištěných hodnot však lze konstatovat, že varianty I a II se téměř nelišily v průměrné tlakové síle na mezi únosnosti neboť varianta II vykazovala velký chybový rozptyl. Vyšší chybový rozptyl byl pravděpodobně způsoben velmi malou velikostí zkušebních

biodegradačních těles, kdy vlivem 3D tisku docházelo k přetokům mezi tištěnými vrstvami, které se velmi projeví na únosnosti takto malého tělesa. Avšak oproti hodnotám dosažených před provedením inkubačních testů (tab. 17) byl u varianty I pozorován až poloviční pokles průměrné tlakové síly na mezi únosnosti, konkrétně z hodnoty $2134,1 \pm 13,0$ N na hodnotu $992,3 \pm 86,6$ N. U variant II až V (tedy u výplní s gyroidní strukturou 75 % až 25 %) nebyl pozorován výraznější pokles v průměrné tlakové síle na mezi únosnosti. Lze tedy konstatovat, že gyroidní struktura měla pozitivní vliv na únosnost 3D tištěných těles po působení simulované tělesné tekutiny. V pořadí třetí nejvyšší únosnosti dosahovala tělesa varianty III s 60% výplní ($831,1 \pm 103,7$ N) a dále skokově menších hodnot dosahovaly tělesa varianty IV s 50% výplní vnitřní struktury gyroidem $693,2 \pm 26,8$ N. Vůbec nejnižší únosnosti byl zaznamenán u těles variant V s 25% výplní gyroidem, a to $564,63 \pm 81,04$ N. Po jednom měsíci degradace testovaných biodegradačních PHB/PLA/TCP/HA těles s různou hustotou gyroidní výplně byla tedy nejvyšší únosnost u těles se 100% výplní (varianta I), a to v porovnání se všemi „více porézními“ biodegradačními zkušebními tělesy vyrobenými s výplní 75 % (varianta II), 60 % (varianta III), 50 % (varianta IV), respektive 25 % (varianta V) gyroidem.

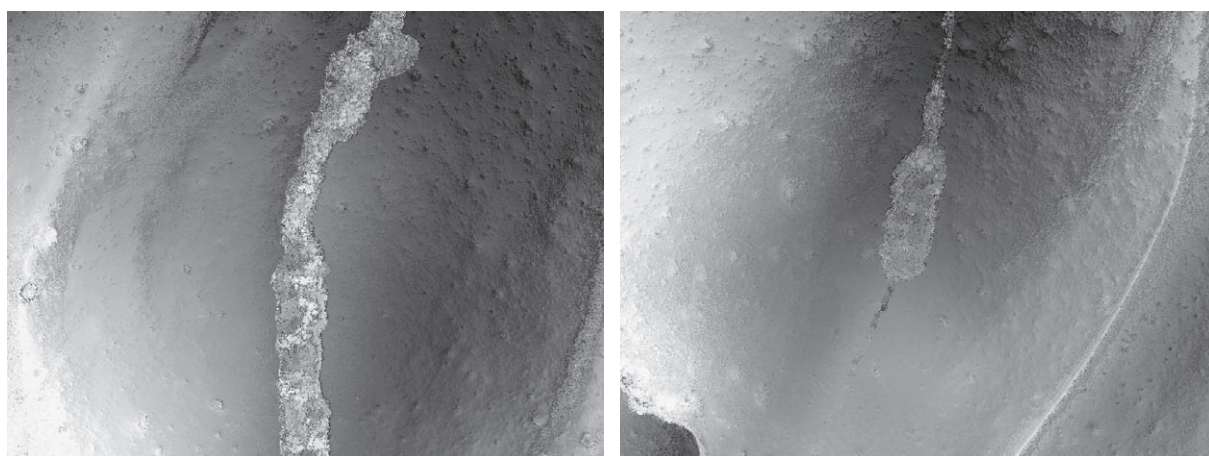
Poté 2. měsíc po inkubaci vykazovala nejvyšší průměrné síly na mezi únosnosti tělesa vyrobená ve variantě I tedy se 100% výplní vnitřní struktury gyroidem ($787,3 \pm 59,4$ N), druhé nejúnosnější byly vzorky varianty II se 75% výplní gyroidem, konkrétně $728,5 \pm 60,2$ N. Podobně jako v případě jednoho měsíce po biodegradaci (tab. 17), varianty I a II se téměř nelišily v průměrné tlakové síle z důvodu velkého chybového rozptylu. V porovnání s hodnotami dosaženými před provedením inkubačních testů a po 1 měsíci degradace (tab. 17) nebyl u varianty I a II patrný tak velký pokles průměrné tlakové síly na mezi únosnosti. Rozdíl mezi 1. a 2. měsícem byl přibližně o 200 N konkrétně z hodnoty $992,3 \pm 86,6$ N na hodnotu $787,3 \pm 59,4$ N u varianty I. V případě variant II až V (tedy u výplní s gyroidní strukturou 75 % až 25 %) byl patrný obdobný rozdíl o 200 N v průměrné tlakové síle na mezi únosnosti, v porovnání s 1. měsícem. V pořadí třetí nejvyšší únosnosti dosahovala tělesa varianty III s 60% výplní ($667,3 \pm 73,6$ N) a dále skokově menších hodnot dosahovaly tělesa varianty IV s 50% výplní vnitřní struktury gyroidem $578,9 \pm 57,8$ N a tělesa variant V s 25% výplní gyroidem, a to $511,5 \pm 25,6$ N. Rozdíl mezi variantami IV a V byl po 2. měsíci biodegradace výrazně menší.

Z údajů získaných po 3.měsíci inkubace, nebyl téměř patrný rozdíl mezi variantou I a II kdy jejich průměrné síly na mezi únosnosti činily $580,6 \pm 21,1$ N a $578,6 \pm 69,7$ N. Naopak mezi variantami III až V (tedy u výplní s gyroidní strukturou 60 % až 25 %) byly patrné větší rozdíly mezi naměřenými hodnotami, avšak se stejnou sestupnou tendencí jako v případě 1. a 2. měsíce. Varianta III vykazovala hodnotu $497,4 \pm 79,1$ N, varianta IV poté $416,8 \pm 52,1$ N a varianta V opět nejnižší hodnotu, konkrétně $365,5 \pm 49,5$ N. Rozdíly v úbytku průměrných sil na mezi únosnosti byly téměř stejné jako mezi 1. a 2. měsícem, cca 200 N (tab. 17).

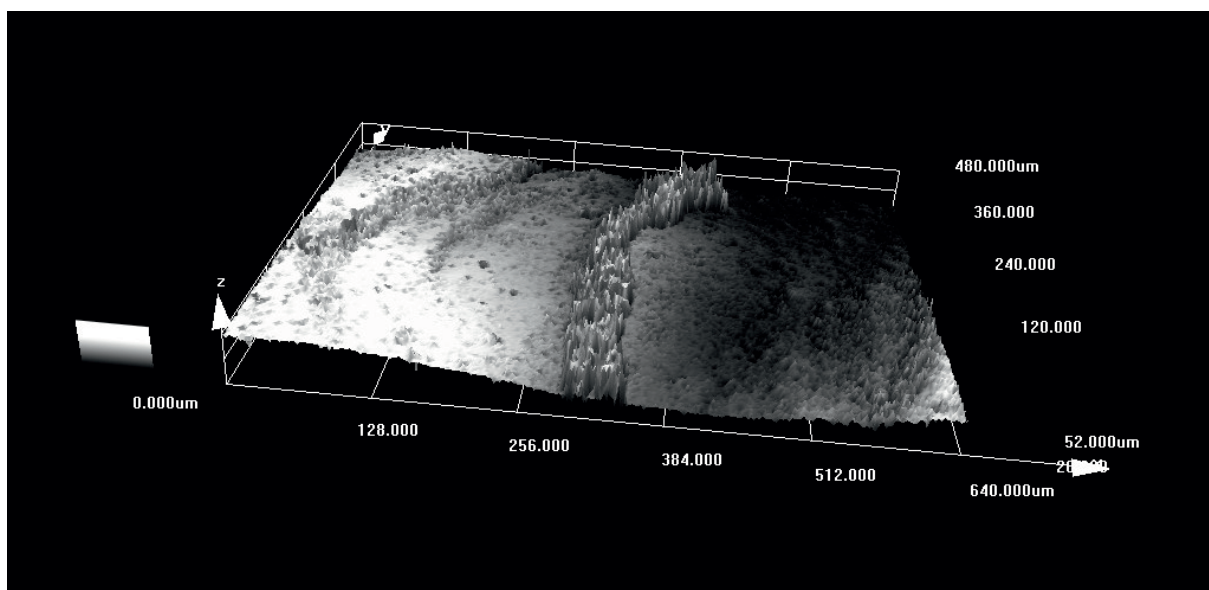
Po uplynutí 4.měsíce nejvyšší průměrné síly na mezi únosnosti dosahovala tělesa vyrobená ve variantě II tedy se 75% výplní vnitřní struktury gyroidem, kdy tato průměrná síla dosahovala hodnoty $365,6 \pm 26,9$ N, druhé nejúnosnější byly vzorky varianty I se 100% výplní gyroidem,

kteřé vykazovaly hodnotu $365,1 \pm 7,8$ N. Po této době lze tedy pozorovat výhodnější únosnost těles s gyroidní strukturou, které pravděpodobně lépe odolávaly účinkům simulované tělesné tekutiny (obr. 49 až 52). Poté tělesa vykazovala sestupnou tendenci v poklesu průměrné síly jako v předchozích případech, varianta III $333,8 \pm 34,7$ N, varianta IV $300,2 \pm 20,7$ N a varianta V $278,8 \pm 21,2$ N, s tím že zde se již vytrácel vliv gyroidní struktury na únosnost 3D těles a největší vliv na únosnost měla převážně míra degradace jednotlivých těles. Což je patrné i z velké korelace mezi jednotlivými hodnotami variant III až V.

Z údajů v tabulce 17 vyplývá, že gyroidní struktura s výplní 75% (varianta II), 60% (varianta III), 50% (varianta IV), respektive 25% (varianta V) měla, ve srovnání se vzorky se 100% výplní materiálem (varianta I) po 4. měsíci degradace příznivý vliv na únosnost biodegradabilních těles, vlivem pomalé degradace viz výše.



Obr. 53: Krystalky hydroxyapatitu na povrchu biodegradčního vzorku z PHB/PLA/TCP/HA po 2 měsících inkubace v simulované tělesné tekutině.



Obr. 54: Snímek povrchu vzorku biodegradčního tělesa z PHB/PLA/HA/TCP zhotovený konfokálním mikroskopem při analýze povrchu zkoumaných vzorků s patrným vyvýšením (120 až 480 μm) v místě tvorby krystalků hydroxyapatitu.

Na obr. 53 jsou vyobrazeny krystalky hydroxyapatitu, které se vytvořily na povrchu biodegradčních těles z PHB/PLA/HA/TCP, které se na povrchu námi zkoumaných vzorků začaly objevovat za 2 měsíce od inkubace 3D těles v simulované tělesné tekutině. Vytvořené krystalky hydroxyapatitu byly zjevně patrné i na snímcích z konfokálního mikroskopu při analýze povrchu zkoumaných vzorků a dosahovaly výšky od 120 μm do 480 μm (obr. 54).

Shahi a kol. [55] u vzorků z PHB/TCP, zkoumaných z hlediska biodegradace, rovněž pozorovali tvorbu krystalků hydroxyapatitu, a to již po 1 měsíci sledování, přičemž v čase jejich koncentrace rostla. Mimo jiné se zvyšovala také koncentrace iontů Ca^{2+} a PO_4^{3-} , což vedlo k nukleaci dalších krystalků hydroxyapatitu a po 2 měsících pak došlo ke zvýšení hmotnosti vzorku z TCP/PHB kompozitu o 4%. [55] V našem případě nedocházelo ke zvyšování hmotnosti u žádného z pěti variant (varianta I až V) biodegradčních vzorků, naopak byl zjištěn úbytek jejich hmotnosti, který mohl být způsoben tvorbou hydrolytických produktů PHB a PLA, kdy dochází k mírnému snížení pH roztoku vlivem tvorby těchto hydrolytických produktů PHB, konkrétně kyseliny krotonové a kyseliny 3-hydroxybutyrové, přičemž tento pokles pH bývá kompenzován rozpouštěním alkalických iontů z trikalciumpfosfátu. [55]

6. ZÁVĚR

Teoretická část této diplomové práce se zabývá významem FDM 3D tisku v regenerativní medicíně a implantologii, charakteristikou biomateriálů použitých pro 3D tisk testovaného segmentu femuru (kyselina polymléčná, poly3-hydroxybutyrát), dále specifiky 3D tisku kompozitů na bázi poly(3-hydroxybutyrátu), a významem příměsi β -trikalcium fosfátu v PHB kompozitech, zmíněn je rovněž vliv gyroidní struktury na mechanické vlastnosti těles při jejich 3D tisku, vliv gradientu porozity 3D těles na mechanické vlastnosti částicových kompozitů a in vitro degradace 3D těles s vnitřní gyroidní strukturou. Experimentální část má devět dílčích cílů, které jsou zaměřeny na přípravu tiskové struny a optimalizaci použitých materiálů a parametrů tisku námi vyvinuté 3D náhrady kostní tkáně. Hlavním cílem této diplomové práce bylo vytvoření nového PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu diafýzy femuru podle CT obrazů femuru ve dvanácti variantách (A1 až A4, B1 až B4, C1 až C4) různé procentuální výplně jeho vnitřní struktury gyroidem v místě kompakty a spongiózy reálné kosti. Před vlastním tiskem vyvíjených 3D těles byla nejprve připravena optimalizovaná směs nového biokompozitu (OPT1), z něž byla vyrobena tisková struna a byly stanoveny chemické a strukturní charakteristiky k tisku použitého materiálu s využitím termogravimetrické analýzy, diferenční skenovací kalorimetrie, gelové permeační chromatografie, strukturní analýzy rastrovacím elektronovým mikroskopem a konfokální laserovou rastrovací mikroskopií. Byly sledovány také tepelné a chemické charakteristiky biokompozitní tiskové struny, optimalizované na nejvyšší možnou pevnost v tlaku po jejím vytištění. Parametry optimalizace 3D tisku na zvolené FDM tiskárně Prusa MK3S pro námi použitý biokompozit byly ověřeny pomocí teplotních věží a také stanovením optimálního warping koeficientu. Bylo zjištěno, že neoptimálnější teplota extuze při tisku 3D tělesa z optimalizovaného biokompozitu OPT1, z pohledu výsledné kvality sledovaných geometrických struktur, tvarů či obrysů na 3D tištěných teplotních věžích a současně vysoké přilnavosti materiálu k tiskové podložce, je 185 °C a teplota podložky 60 °C. Za účelem mechanického testování bylo vytištěno (po předchozí optimalizaci a ověření nejvhodnějších parametrů tisku nového biokompozitu) celkem 120 vzorků PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru v uvedených 12ti variantách (A1 až A4, B1 až B4, C1 až C4), vždy po 10 vzorcích od každé z variant. Byla stanovena únosnost v tlaku všech dvanácti variant vytištěných modelů segmentu femuru s různou procentuální hustotou jejich vnitřní gyroidní výplně. Z testovaných vzorků vykazovaly nejvyšší průměrnou sílu na mezi únosnosti segmenty femuru se 75% výplní v místě kompakty (varianta A), a to $22,20 \pm 0,50$ kN v případě zkušebního 3D tělesa varianty A1, $19,10 \pm 1,10$ kN u tělesa varianty A2, $18,30 \pm 0,30$ kN v případě varianty A3 a $18,00 \pm 0,50$ kN u tělesa varianty A4. Z porovnání těchto hodnot je zřejmé, že nejvyšší únosnost v tlaku vykazují zkušební vzorky PHB/PLA/TCP/HA anatomického segmentu femuru s nejvyšší hustotou výplně jejich vnitřní struktury gyroidem, a to jak v místě kompakty, tak v místě spongiózy tohoto tištěného 3D anatomického modelu reálné kosti. Následně byla zjištěna také predikce únosnosti v tlaku anatomického modelu segmentu femuru pomocí počítačové simulace s využitím numerického modelu

v programu ANSYS. Bylo zjištěno, že reálné výtisky PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru měly o přibližně čtvrtinu nižší únosnost v tlaku v porovnání s počítačovou simulací vytvořeným numerickým modelem tohoto tělesa v programu ANSYS, což bylo dáno zejména nedokonalostí 3D tisku, při němž vzniká, na rozdíl od ideálního počítačového modelu, uvnitř tělesa více dutin. Zkoumán byl rovněž dlouhodobý vliv (po dobu 4 měsíců) simulované tělesné tekutiny na biodegradaci 3D biodegradačních těles z PHB/PLA/TCP/HA s různou procentuální výplní gyroidem (varianta I až V), která byla následně podrobena tlakovým zkouškám a provedena byla rovněž analýza jejich povrchu konfokálním mikroskopem. Rozdíl mezi tělesem se 100% výplní (varianta I) a tělesy variant II, III, IV a V s porézní strukturou výplně je v tom, že varianty s porézní strukturou degradují pomaleji, což je výhodné pro jejich možné budoucí klinické použití. Navíc pomalá degradace těles s vyšší porozitou po 4 měsících biodegradace měla příznivý vliv na jejich únosnost. PHB/PLA/TCP/HA anatomický model segmentu femuru byl vyvíjen pro budoucí možné využití v medicíně, jakožto potenciální náhrada kostní tkáně při rozsáhlých defektech femuru či nedostatku autogenního spongiózního štěpu hojně využívaného v ortopedii k podpoře hojení poraněných kostí. Před případným využitím v klinické praxi bude, kromě mechanických vlastností, biokompatibility a rychlosti resorpce námi testovaného PHB/PLA/TCP/HA anatomického modelu segmentu femuru, zapotřebí zkoumat ještě další aspekty této náhrady tkáně, a to zejména v oblasti preklinických a klinických zkoušek z pohledu jeho interakce s buňkami za situace in vivo. Bude tak hledáno optimum určující finální porozitu segmentu femuru zabezpečující nejen dostatečné mechanické vlastnosti ale zároveň i vhodnou porozitu struktury pro proliferaci buněk.

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] CHIULAN, Ioana, Adriana FRONE, Călin BRANDABUR a Denis PANAITESCU. Recent Advances in 3D Printing of Aliphatic Polyesters. *Bioengineering* [online]. 2018, **5**(1) [cit. 2022-08-06]. ISSN 2306-5354. Dostupné z: doi:10.3390/bioengineering5010002
- [2] RAEISDASTEH HOKMABAD, Vahideh, Soodabeh DAVARAN, Ali RAMAZANI a Roya SALEHI. Design and fabrication of porous biodegradable scaffolds: a strategy for tissue engineering. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* [online]. 2017, **28**(16), 1797-1825 [cit. 2022-09-15]. ISSN 0920-5063. Dostupné z: doi:10.1080/09205063.2017.1354674
- [3] DIZON, John Ryan C., Alejandro H. ESPERA, Qiyi CHEN a Rigoberto C. ADVINCULA. Mechanical characterization of 3D-printed polymers. *Additive Manufacturing* [online]. 2018, **20**, 44-67 [cit. 2022-08-29]. ISSN 22148604. Dostupné z: doi:10.1016/j.addma.2017.12.002
- [4] DE LEON, Al C., Qiyi CHEN, Napolabel B. PALAGANAS, Jerome O. PALAGANAS, Jill MANAPAT a Rigoberto C. ADVINCULA. High performance polymer nanocomposites for additive manufacturing applications. *Reactive and Functional Polymers* [online]. 2016, **103**, 141-155 [cit. 2022-08-29]. ISSN 13815148. Dostupné z: doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2016.04.010
- [5] SOOD, Anoop Kumar, R.K. OHDAR a S.S. MAHAPATRA. Parametric appraisal of mechanical property of fused deposition modelling processed parts [online]. 2010, **31**(1), 287-295 [cit. 2023-04-25]. ISSN 02613069. Dostupné z: doi:10.1016/j.matdes.2009.06.016
- [6] DUBINENKO, Gleb, Aleksey ZINOVIEV, Evgeny BOLBASOV, Anna KOZELSKAYA, Evgeniy SHESTERIKOV, Victor NOVIKOV a Sergei TVERDOKHLEBOV. Highly filled poly(l -lactic acid)/hydroxyapatite composite for 3D printing of personalized bone tissue engineering scaffolds. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2021, **138**(2) [cit. 2022-08-06]. ISSN 0021-8995. Dostupné z: doi:10.1002/app.49662
- [7] TAPPA, Karthik a Udayabhanu JAMMALAMADAKA. Novel Biomaterials Used in Medical 3D Printing Techniques. *Journal of Functional Biomaterials* [online]. 2018, **9**(1) [cit. 2022-10-24]. ISSN 2079-4983. Dostupné z: doi:10.3390/jfb9010017
- [8] GROSS, Bethany C., Jayda L. ERKAL, Sarah Y. LOCKWOOD, Chengpeng CHEN a Dana M. SPENCE. Evaluation of 3D Printing and Its Potential Impact on Biotechnology and the Chemical Sciences. *Analytical Chemistry* [online]. 2014, **86**(7), 3240-3253 [cit. 2022-08-22]. ISSN 0003-2700. Dostupné z: doi:10.1021/ac403397r

- [9] WURM, Matthias C., Tobias MÖST, Bastian BERGAUER, Dominik RIETZEL, Friedrich Wilhelm NEUKAM, Sandra C. CIFUENTES a Cornelius von WILMOWSKY. In-vitro evaluation of Polylactic acid (PLA) manufactured by fused deposition modeling. *Journal of Biological Engineering* [online]. 2017, 11(1) [cit. 2023-04-25]. ISSN 1754-1611. Dostupné z: doi:10.1186/s13036-017-0073-4
- [10] GUDURIC, Vera, Carole METZ, Robin SIADOUS, et al. Layer-by-layer bioassembly of cellularized polylactic acid porous membranes for bone tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* [online]. 2017, 28(5) [cit. 2023-04-25]. ISSN 0957-4530. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-017-5887-6
- [11] CHIULAN, Ioana, Denis MIHAELA PANAITESCU, Adriana NICOLETA FRONE, Mircea TEODORESCU, Cristian ANDI NICOLAE, Angela CĂȘĂRICĂ, Vlad TOFAN a Aurora SĂLĂGEANU. Biocompatible polyhydroxyalkanoates/bacterial cellulose composites: Preparation, characterization, and in vitro evaluation. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2016, 104(10), 2576-2584 [cit. 2023-04-25]. ISSN 15493296. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.35800
- [12] WANG, Mian, Pelagie FAVI, Xiaoqian CHENG, Negar H. GOLSHAN, Katherine S. ZIEMER, Michael KEIDAR a Thomas J. WEBSTER. Cold atmospheric plasma (CAP) surface nanomodified 3D printed polylactic acid (PLA) scaffolds for bone regeneration. *Acta Biomaterialia* [online]. 2016, 46, 256-265 [cit. 2023-04-25]. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2016.09.030
- [13] SASKA, Sybele, Luana Carla PIRES, Mariana Aline COMINOTTE, et al. Three-dimensional printing and in vitro evaluation of poly(3-hydroxybutyrate) scaffolds functionalized with osteogenic growth peptide for tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2018, **89**, 265-273 [cit. 2022-09-15]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2018.04.016
- [14] HUTMACHER DW, Schantz T, Zein I, et al. Mechanical properties and cell cultural response of polycaprolactone scaffolds designed and fabricated via fused deposition modeling. *J Biomed Mater Res.* 2001;55(2):203–216 [cit. 2022-09-15]. ISSN 0021-9304. Dostupné z: doi:10.1002/1097-4636(200105)55:2<203::AID-JBM1007>3.0.CO;2-7
- [15] HSIANG LOH, Giselle, Eujin PEI, Joamin GONZALEZ-GUTIERREZ a Mario MONZÓN. An Overview of Material Extrusion Troubleshooting. *Applied Sciences* [online]. 2020, **10**(14) [cit. 2022-09-16]. ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app10144776
- [16] PANAITESCU, D.; Frone, A.N.; Chiulan, I. Green Composites with Cellulose Nanoreinforcements. In *Handbook of Composites from Renewable Materials*; Thakur,

V.K., Thakur, M.K., Kessler, M.R., Eds.; Scrivener Publishing LLC: Beverly, MA, USA, 2017; Volume 7, pp. 299–338.

- [17] FARAH, Shady, Daniel G. ANDERSON a Robert LANGER. Physical and mechanical properties of PLA, and their functions in widespread applications — A comprehensive review. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2016, 107, 367-392 [cit. 2023-04-25]. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2016.06.012
- [18] PANAITESCU, Denis Mihaela, Adriana Nicoleta FRONE a Ioana CHIULAN. Nanostructured biocomposites from aliphatic polyesters and bacterial cellulose. *Industrial Crops and Products* [online]. 2016, 93, 251-266 [cit. 2023-04-25]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2016.02.038
- [19] ESPOSITO CORCIONE, Carola, Francesca GERVASO, Francesca SCALERA, Francesco MONTAGNA, Alessandro SANNINO a Alfonso MAFFEZZOLI. The feasibility of printing polylactic acid-nanohydroxyapatite composites using a low-cost fused deposition modeling 3D printer. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2017, 134(13) [cit. 2023-04-25]. ISSN 00218995. Dostupné z: doi:10.1002/app.44656
- [20] MCNEILL, I.C. a H.A. LEIPER. Degradation studies of some polyesters and polycarbonates—2. Polylactide: Degradation under isothermal conditions, thermal degradation mechanism and photolysis of the polymer. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 1985, 11(4), 309-326 [cit. 2023-02-21]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/0141-3910(85)90035-7
- [21] MORONI, Sofia, Shiva KHORSHID, Annalisa ALUIGI, Mattia TIBONI a Luca CASETTARI. Poly(3-hydroxybutyrate): A potential biodegradable excipient for direct 3D printing of pharmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2022, 623 [cit. 2022-08-31]. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2022.121960
- [22] MÜLLER, Hans-Martin a Dieter SEEBACH. Poly(hydroxyalkanoates): A Fifth Class of Physiologically Important Organic Biopolymers. *Angewandte Chemie International Edition in English* [online]. 1993, 32(4), 477-502 [cit. 2022-08-31]. ISSN 0570-0833. Dostupné z: doi:10.1002/anie.199304771
- [23] GOGOLEWSKI, S., M. JOVANOVIĆ, S. M. PERREN, J. G. DILLON a M. K. HUGHES. Tissue response and in vivo degradation of selected polyhydroxyacids: Polylactides (PLA), poly(3-hydroxybutyrate) (PHB), and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHB/VA). *Journal of Biomedical Materials Research* [online]. 1993, 27(9), 1135-1148 [cit. 2022-08-31]. ISSN 0021-9304. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.820270904
- [24] SURISAENG, Jiratchaya, Warrayut KANABENJA, Nichaphat PASSORNRAPRASIT, Chuanchom AUMNATE a Pranut POTIYARAJ'. Polyhydroxybutyrate/polylactic acid

- blends: An alternative feedstock for 3D printed bone scaffold model. *Journal of Physics: Conference Series* [online]. 2022, **2175**(1) [cit. 2022-08-31]. ISSN 1742-6588. Dostupné z: doi:10.1088/1742-6596/2175/1/012021
- [25] FERREIRA, B.M.P., C.A.C. ZAVAGLIA a E.A.R. DUEK. Films of poly (L - lactic acid) / poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) blends: in vitro degradation. *Materials Research* [online]. 2001, **4**(1), 34-42 [cit. 2022-08-31]. ISSN 1516-1439. Dostupné z: doi:10.1590/S1516-14392001000100008
- [26] GONZALEZ AUSEJO, Jennifer, Joanna RYDZ, Marta MUSIOŁ, et al. A comparative study of three-dimensional printing directions: The degradation and toxicological profile of a PLA/PHA blend. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2018, **152**, 191-207 [cit. 2022-08-31]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2018.04.024
- [27] KOVALCIK, Adriana. Recent Advances in 3D Printing of Polyhydroxyalkanoates: A Review. *The EuroBiotech Journal* [online]. 2021, **5**(1), 48-55 [cit. 2022-08-31]. ISSN 2564-615X. Dostupné z: doi:10.2478/ebtj-2021-0008
- [28] KERVRAN, Mael, Christelle VAGNER, Marianne COCHEZ, Marc PONÇOT, Mohammad Reza SAEB a Henri VAHABI. Thermal degradation of polylactic acid (PLA)/polyhydroxybutyrate (PHB) blends: A systematic review. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2022, 201 [cit. 2023-02-21]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2022.109995
- [29] PANAITESCU, Denis Mihaela, Cristian Andi NICOLAE, Adriana Nicoleta FRONE, Ioana CHIULAN, Paul Octavian STANESCU, Constantin DRAGHICI, Michaela IORGA a Mona MIHAILESCU. Plasticized poly(3-hydroxybutyrate) with improved melt processing and balanced properties. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2017, **134**(19) [cit. 2023-02-21]. ISSN 00218995. Dostupné z: doi:10.1002/app.44810
- [30] GARCÍA-QUILES, CUELLO a CASTELL. Sustainable Materials with Enhanced Mechanical Properties Based on Industrial Polyhydroxyalkanoates Reinforced with Organomodified Sepiolite and Montmorillonite. *Polymers* [online]. 2019, **11**(4) [cit. 2023-02-21]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym11040696
- [31] KAWALEC, Michal, Grażyna ADAMUS, Piotr KURCOK, Marek KOWALCZUK, Ismaela FOLTRAN, Maria Letizia FOCARETE a Mariastella SCANDOLA. Carboxylate-Induced Degradation of Poly(3-hydroxybutyrate)s. *Biomacromolecules* [online]. 2007, **8**(4), 1053-1058 [cit. 2023-02-21]. ISSN 1525-7797. Dostupné z: doi:10.1021/bm061155n
- [32] TOCHÁČEK, Jiří, Radek PŘIKRYL, Přemysl MENČÍK, Veronika MELČOVÁ a Silvestr FIGALLA. The chances of thermooxidation stabilization of poly

- (3-hydroxybutyrate) during processing—A critical evaluation. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2021, 138(27) [cit. 2023-02-21]. ISSN 0021-8995. Dostupné z: doi:10.1002/app.50647
- [33] ARRIETA, Marina, María SAMPER, Miguel ALDAS a Juan LÓPEZ. On the Use of PLA-PHB Blends for Sustainable Food Packaging Applications. *Materials* [online]. 2017, 10(9) [cit. 2023-02-21]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma10091008
- [34] GRASSIE, N., E.J. MURRAY a P.A. HOLMES. The thermal degradation of poly(-(d)- β -hydroxybutyric acid): Part 3—The reaction mechanism. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 1984, 6(3), 127-134 [cit. 2023-02-21]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/0141-3910(84)90032-6
- [35] MOUSAVIOUN, Payam, Graeme A. GEORGE a William O.S. DOHERTY. Environmental degradation of lignin/poly(hydroxybutyrate) blends. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2012, 97(7), 1114-1122 [cit. 2023-02-21]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2012.04.004
- [36] GALEGO, Norma a Chavati ROZSA. Thermal decomposition of some poly(β -hydroxyalkanoates). *Polymer International* [online]. 1999, 48(12), 1202-1204 [cit. 2023-02-21]. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0126(199912)48:12<1202::AID-PI223>3.0.CO;2-D
- [37] NGUYEN, Sophie, Ga-er YU a R. H. MARCHESSAULT. Thermal Degradation of Poly(3-hydroxyalkanoates): Preparation of Well-Defined Oligomers. *Biomacromolecules* [online]. 2002, 3(1), 219-224 [cit. 2023-02-21]. ISSN 1525-7797. Dostupné z: doi:10.1021/bm0156274
- [38] ARIFFIN, Hidayah, Haruo NISHIDA, Yoshihito SHIRAI a Mohd Ali HASSAN. Determination of multiple thermal degradation mechanisms of poly(3-hydroxybutyrate). *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2008, 93(8), 1433-1439 [cit. 2023-02-21]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2008.05.020
- [39] ECKER JV, Burzic I, Haider A, Hild S, Rennhofer H. Improving the impact strength of PLA and its blends with PHA in fused layer modelling. *Polym Test* 2019;78:105929.
- [40] KAYGUSUZ B, Özerinç S. Improving the ductility of polylactic acid parts produced by fused deposition modeling through polyhydroxyalkanoate additions. *J Appl Polym Sci* 2019; 136(43):48154.
- [41] KOVALCIK, Adriana, Katharina MEIXNER, Matthias MIHALIC, et al. Characterization of polyhydroxyalkanoates produced by *Synechocystis salina* from digestate supernatant. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2017, **102**, 497-504 [cit. 2022-08-31]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.04.054

- [42] KOVALCIK, Adriana, Leire SANGRONIZ, Michal KALINA, Katerina SKOPALOVA, Petr HUMPOLÍČEK, Maria OMASTOVA, Norbert MUNDIGLER a Alejandro J. MÜLLER. Properties of scaffolds prepared by fused deposition modeling of poly(hydroxyalkanoates). *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2020, **161**, 364-376 [cit. 2022-08-31]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.06.022
- [43] SAVENKOVA, L, Z GERBERGA, I BIBERS a M KALNIN. Effect of 3-hydroxy valerate content on some physical and mechanical properties of polyhydroxyalkanoates produced by *Azotobacter chroococcum*. *Process Biochemistry* [online]. 2000, **36**(5), 445-450 [cit. 2022-08-31]. ISSN 13595113. Dostupné z: doi:10.1016/S0032-9592(00)00235-1
- [44] PLAVEC, Roderik, Vojtech HORVÁTH, Slávka HLAVÁČIKOVÁ, et al. Influence of Multiple Thermomechanical Processing of 3D Filaments Based on Polylactic Acid and Polyhydroxybutyrate on Their Rheological and Utility Properties. *Polymers* [online]. 2022, **14**(10) [cit. 2022-09-06]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym14101947
- [45] MENČÍK, Přemysl, Radek PŘIKRYL, Ivana STEHNOVÁ, Veronika MELČOVÁ, Soňa KONTÁROVÁ, Silvestr FIGALLA, Pavol ALEXYS a Ján BOČKAJ. Effect of Selected Commercial Plasticizers on Mechanical, Thermal, and Morphological Properties of Poly(3-hydroxybutyrate)/Poly(lactic acid)/Plasticizer Biodegradable Blends for Three-Dimensional (3D) Print. *Materials* [online]. 2018, **11**(10) [cit. 2022-09-06]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma11101893
- [46] GONZALEZ AUSEJO, Jennifer, Joanna RYDZ, Marta MUSIOŁ, et al. Three-dimensional printing of PLA and PLA/PHA dumbbell-shaped specimens of crisscross and transverse patterns as promising materials in emerging application areas: Prediction study. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2018, **156**, 100-110 [cit. 2022-09-06]. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymdegradstab.2018.08.008
- [47] KONTÁROVÁ, Soňa, Radek PŘIKRYL, Veronika MELČOVÁ, et al. Printability, Mechanical and Thermal Properties of Poly(3-Hydroxybutyrate)-Poly(Lactic Acid)-Plasticizer Blends for Three-Dimensional (3D) Printing. *Materials* [online]. 2020, **13**(21) [cit. 2022-09-16]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma13214736
- [48] MELČOVÁ, Veronika, Kateřina SVORADOVÁ, Přemysl MENČÍK, et al. FDM 3D Printed Composites for Bone Tissue Engineering Based on Plasticized Poly(3-hydroxybutyrate)/poly(d,l-lactide) Blends. *Polymers* [online]. 2020, **12**(12) [cit. 2022-09-16]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12122806
- [49] FINDRIK BALOGOVÁ, Alena, Marianna TREBUŇOVÁ, Gabriela IŽARÍKOVÁ, et al. In Vitro Degradation of Specimens Produced from PLA/PHB by Additive

- Manufacturing in Simulated Conditions. *Polymers* [online]. 2021, **13**(10) [cit. 2022-10-11]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym13101542
- [50] NI, J. a M. WANG. In vitro evaluation of hydroxyapatite reinforced polyhydroxybutyrate composite. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2002, **20**(1-2), 101-109 [cit. 2022-10-19]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/S0928-4931(02)00019-X
- [51] SANTOS, Carlos F.L., Abílio P. SILVA, Luís LOPES, Inês PIRES a Ilidio J. CORREIA. Design and production of sintered β -tricalcium phosphate 3D scaffolds for bone tissue regeneration. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2012, **32**(5), 1293-1298 [cit. 2022-10-24]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2012.04.010
- [52] LIN, Kaili, Lei CHEN, Haiyun QU, Jianxi LU a Jiang CHANG. Improvement of mechanical properties of macroporous β -tricalcium phosphate bioceramic scaffolds with uniform and interconnected pore structures. *Ceramics International* [online]. 2011, **37**(7), 2397-2403 [cit. 2022-10-24]. ISSN 02728842. Dostupné z: doi:10.1016/j.ceramint.2011.03.079
- [53] KIM, Young-Hee, M Anirban JYOTI, Min-Ho YOUN, Hyung-Sun YOUN, Hyung-Seok SEO, Byong-Taek LEE a Ho-Yeon SONG. In vitro and in vivo evaluation of a macro porous β -TCP granule-shaped bone substitute fabricated by the fibrous monolithic process. *Biomedical Materials* [online]. 2010, **5**(3) [cit. 2022-10-24]. ISSN 1748-6041. Dostupné z: doi:10.1088/1748-6041/5/3/035007
- [54] ZHANG, Yin, Deshuang KONG a Xia FENG. Fabrication and properties of porous β -tricalcium phosphate ceramics prepared using a double slip-casting method using slips with different viscosities. *Ceramics International* [online]. 2012, **38**(4), 2991-2996 [cit. 2022-10-24]. ISSN 02728842. Dostupné z: doi:10.1016/j.ceramint.2011.11.078
- [55] SHAHI, Shabnam, Saeed KARBASI, Tahmineh AHMADI, Farid NAEIMI, Vahabodin GOODARZI a Somayeh EBRAHIMI-BAROUGH. Evaluation of physical, mechanical and biological properties of β -tri-calcium phosphate/Poly-3-hydroxybutyrate nano composite scaffold for bone tissue engineering application. *Materials Technology* [online]. 2021, **36**(4), 237-249 [cit. 2022-10-24]. ISSN 1066-7857. Dostupné z: doi:10.1080/10667857.2020.1747806
- [56] KEIKHAEI, Sima, Zahra MOHAMMADALIZADEH, Saeed KARBASI a Ali SALIMI. Evaluation of the effects of β -tricalcium phosphate on physical, mechanical and biological properties of Poly (3-hydroxybutyrate)/chitosan electrospun scaffold for cartilage tissue engineering applications. *Materials Technology* [online]. 2019, **34**(10), 615-625 [cit. 2022-10-26]. ISSN 1066-7857. Dostupné z: doi:10.1080/10667857.2019.1611053

- [57] MINUTH, Will W., Raimund STREHL a Karl SCHUMACHER. *Tissue Engineering* [online]. 2005-01-26 [cit. 2022-10-26]. Dostupné z: doi:10.1002/3527604782
- [58] ZARE, Yasser, Kyong Yop RHEE a David HUI. Influences of nanoparticles aggregation/agglomeration on the interfacial/interphase and tensile properties of nanocomposites. *Composites Part B: Engineering* [online]. 2017, **122**, 41-46 [cit. 2022-10-26]. ISSN 13598368. Dostupné z: doi:10.1016/j.compositesb.2017.04.008
- [59] AYATOLLAHI, M. R., A. NEMATI GIV, S. M. J. RAZAVI a H. KHORAMISHAD. Mechanical properties of adhesively single lap-bonded joints reinforced with multi-walled carbon nanotubes and silica nanoparticles. *The Journal of Adhesion* [online]. 2016, **93**(11), 896-913 [cit. 2022-10-26]. ISSN 0021-8464. Dostupné z: doi:10.1080/00218464.2016.1187069
- [60] MARSH, David. Concepts of Fracture Union, Delayed Union, and Nonunion. *Clinical Orthopaedics and Related Research* [online]. 1998, **355S**, S22-S30 [cit. 2022-10-26]. ISSN 0009-921X. Dostupné z: doi:10.1097/00003086-199810001-00004
- [61] XU, Ning, Xiaojian YE, Daixu WEI, Jian ZHONG, Yuyun CHEN, Guohua XU a Dannong HE. *3D Artificial Bones for Bone Repair Prepared by Computed Tomography-Guided Fused Deposition Modeling for Bone Repair* [online]. 2014, **6**(17), 14952-14963 [cit. 2022-10-26]. ISSN 1944-8244. Dostupné z: doi:10.1021/am502716t
- [62] WÄHNERT, Dirk, Konrad L. HOFFMEIER, Kajetan KLOS, Yves STOLARCZYK, Rosemarie FRÖBER, Gunther O. HOFMANN a Thomas MÜCKLEY. Biomechanical Characterization of an Osteoporotic Artificial Bone Model for the Distal Femur. *Journal of Biomaterials Applications* [online]. 2012, **26**(5), 565-579 [cit. 2022-11-02]. ISSN 0885-3282. Dostupné z: doi:10.1177/0885328210378057
- [63] YAN, Chunze, Liang HAO, Ahmed HUSSEIN a David RAYMONT. Evaluations of cellular lattice structures manufactured using selective laser melting. *International Journal of Machine Tools and Manufacture* [online]. 2012, **62**, 32-38 [cit. 2022-11-07]. ISSN 08906955. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijmachtools.2012.06.002
- [64] TORRES-RENDON, Jose Guillermo, Tim FEMMER, Laura DE LAPORTE, et al. Bioactive Gyroid Scaffolds Formed by Sacrificial Templating of Nanocellulose and Nanochitin Hydrogels as Instructive Platforms for Biomimetic Tissue Engineering. *Advanced Materials* [online]. 2015, **27**(19), 2989-2995 [cit. 2022-11-07]. ISSN 0935-9648. Dostupné z: doi:10.1002/adma.201405873
- [65] GERMAIN, Loïc, Carlos A. FUENTES, Aart W. VAN VUURE, Anne DES RIEUX a Christine DUPONT-GILLAIN. 3D-printed biodegradable gyroid scaffolds for tissue engineering applications [online]. 2018, **151**, 113-122 [cit. 2022-11-21]. ISSN 02641275. Dostupné z: doi:10.1016/j.matdes.2018.04.037

- [66] QIN, Zhao, Gang Seob JUNG, Min Jeong KANG a Markus J. BUEHLER. The mechanics and design of a lightweight three-dimensional graphene assembly. *Science Advances* [online]. 2017, 3(1) [cit. 2022-11-26]. ISSN 2375-2548. Dostupné z: doi:10.1126/sciadv.1601536
- [67] LI, Dawei, Wenhe LIAO, Ning DAI, Guoying DONG, Yunlong TANG a Yi Min XIE. Optimal design and modeling of gyroid-based functionally graded cellular structures for additive manufacturing. *Computer-Aided Design* [online]. 2018, 104, 87-99 [cit. 2022-11-23]. ISSN 00104485. Dostupné z: doi:10.1016/j.cad.2018.06.003
- [68] ASHBY, M.F. The properties of foams and lattices. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* [online]. 2006, 364(1838), 15-30 [cit. 2022-11-27]. ISSN 1364-503X. Dostupné z: doi:10.1098/rsta.2005.1678
- [69] SIMONE, A.E. a L.J. GIBSON. The effects of cell face curvature and corrugations on the stiffness and strength of metallic foams. *Acta Materialia* [online]. 1998, 46(11), 3929-3935 [cit. 2022-11-27]. ISSN 13596454. Dostupné z: doi:10.1016/S1359-6454(98)00072-X
- [70] MASKERY, I., N.T. ABOULKHAIR, A.O. AREMU, C.J. TUCK a I.A. ASHCROFT. Compressive failure modes and energy absorption in additively manufactured double gyroid lattices. *Additive Manufacturing* [online]. 2017, 16, 24-29 [cit. 2022-11-27]. ISSN 22148604. Dostupné z: doi:10.1016/j.addma.2017.04.003
- [71] YANG, Eric, Martin LEARY, Bill LOZANOVSKI, et al. Effect of geometry on the mechanical properties of Ti-6Al-4V Gyroid structures fabricated via SLM: A numerical study [online]. 2019, 184 [cit. 2022-11-28]. ISSN 02641275. Dostupné z: doi:10.1016/j.matdes.2019.108165
- [72] MACONACHIE, Tobias, Rance TINO, Bill LOZANOVSKI, et al. The compressive behaviour of ABS gyroid lattice structures manufactured by fused deposition modelling. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology* [online]. 2020, 107(11-12), 4449-4467 [cit. 2022-11-27]. ISSN 0268-3768. Dostupné z: doi:10.1007/s00170-020-05239-4
- [73] BUCKNALL, C.B. a R.R. SMITH. Stress-whitening in high-impact polystyrenes. *Polymer* [online]. 1965, 6(8), 437-446 [cit. 2022-12-25]. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/0032-3861(65)90028-5
- [74] PENG, Chenxi, Phuong TRAN a Adrian P. MOURITZ. Compression and buckling analysis of 3D printed carbon fibre-reinforced polymer cellular composite structures. *Composite Structures* [online]. 2022, 300 [cit. 2022-11-28]. ISSN 02638223. Dostupné z: doi:10.1016/j.compstruct.2022.116167

- [75] DUDESCU, Cristian a Laszlo RACZ. Effects of Raster Orientation, Infill Rate and Infill Pattern on the Mechanical Properties of 3D Printed Materials. *ACTA Universitatis Cibiniensis* [online]. 2017, 69(1), 23-30 [cit. 2022-12-26]. ISSN 1583-7149. Dostupné z: doi:10.1515/aucts-2017-0004
- [76] SILVA, Catarina, Ana Isabel PAIS, Gabriela CALDAS, Barbara P. P. A. GOUVEIA, Jorge Lino ALVES a Jorge BELINHA. Study on 3D printing of gyroid-based structures for superior structural behaviour. *Progress in Additive Manufacturing* [online]. 2021, 6(4), 689-703 [cit. 2022-12-28]. ISSN 2363-9512. Dostupné z: doi:10.1007/s40964-021-00191-5
- [77] SERRANO-CINCHILLA, Luis, Liliana BUSTAMANTE-GÓEZ a Junes Abdul VILLARRAGA-OSSA. Influencia de la densidad y de los parámetros de relleno en las propiedades mecánicas compresivas de probetas fabricadas en manufactura aditiva de PLA. *Revista UIS Ingenierías* [online]. 2022, 21(2), 107-114 [cit. 2023-01-01]. ISSN 2145-8456. Dostupné z: doi:10.18273/revuin.v21n2-2022009
- [78] BEAN, Philip, Roberto A. LOPEZ-ANIDO a Senthil VEL. Numerical Modeling and Experimental Investigation of Effective Elastic Properties of the 3D Printed Gyroid Infill. *Applied Sciences* [online]. 2022, 12(4) [cit. 2023-01-02]. ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app12042180
- [79] JANCAR, Josef, Klara ZARYBNICKA, Jan ZIDEK a Frantisek KUCERA. Effect of Porosity Gradient on Mechanical Properties of Cellular Nano-Composites. *Polymers* [online]. 2020, 12(3) [cit. 2023-01-03]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12030681
- [80] GIANNOUDIS, Peter V., Haralambos DINOPOULOS a Eleftherios TSIRIDIS. Bone substitutes: An update. *Injury* [online]. 2005, 36(3), 20-27 [cit. 2023-04-30]. DOI: 10.1016/j.injury.2005.07.029. ISSN: 00201383. Dostupné z: doi:10.1016/j.injury.2005.07.029
- [81] PAPE, Hans Christoph, Andrew EVANS a Philipp KOBBE. Autologous Bone Graft: Properties and Techniques. *Journal of Orthopaedic Trauma* [online]. 2010, 24(Supplement 1), S36-S40 [cit. 2023-04-30]. DOI: 10.1097/BOT.0b013e3181cec4a1. ISSN: 0890-5339. Dostupné z: doi:10.1097/BOT.0b013e3181cec4a1
- [82] NEČAS, Alois, Pavel PROKS, Lucie URBANOVÁ, et al. Healing of Large Segmental Bone Defect after Implantation of Autogenous Cancellous Bone Graft in Comparison to Hydroxyapatite and 0.5% Collagen Scaffold Combined with Mesenchymal Stem Cells. *Acta Veterinaria Brno* [online]. 2010, 79(4), 607-612 [cit. 2023-04-30]. ISSN 0001-7213. Dostupné z: doi:10.2754/avb201079040607

- [83] NEČAS, Alois, Pavel PROKS, Lucie URBANOVÁ, et al. Radiographic Assessment of Implant Failures of Titanium 3.5 LCP vs. 4.5 LCP Used for Flexible Bridging Osteosynthesis of Large Segmental Femoral Diaphyseal Defects in a Miniature Pig Model. *Acta Veterinaria Brno* [online]. 2010, 79(4), 599-606 [cit. 2023-04-30]. ISSN 0001-7213. Dostupné z: doi:10.2754/avb201079040599
- [84] NEČAS, Aleš. Vliv technologie 3D tisku na mechanické vlastnosti modelového segmentu femuru [online]. Brno, 2021 [cit. 2023-04-30]. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/11012/201305>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická. Ústav chemie materiálů. Vedoucí práce Josef Jančář.
- [85] PLANKA, Ladislav, NECAS, Alois, CRHA, Michal, PROKS, Pavel, VOJTOVA, Lucy, GAL, Petr Treatment of a Bone Bridge by Transplantation of Mesenchymal Stem Cells and Chondrocytes in a Composite Scaffold in Pigs. Experimental Study. *Acta Chirurgiae Orthopaedicae et Traumatologiae Cechoslovaca*, 2011, **78**(6), 528-536
- [86] PROSECKÁ, Eva, Michala RAMPICHOVÁ, Lucy VOJTOVÁ, et al. Optimized conditions for mesenchymal stem cells to differentiate into osteoblasts on a collagen/hydroxyapatite matrix. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2011, 99 A (2), 307-315 [cit. 2023-04-30]. ISSN 15493296. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.33189
- [87] SRNEC, Robert, Andrea NEČASOVÁ, Pavel PROKS, Miša ŠKORIČ, Zita FILIPEJOVÁ, Lucy VOJTOVÁ a Alois NEČAS. Femoral bone defect healing using two novel biocompatible degradable materials. *Acta Veterinaria Brno* [online]. 2020, 89(2), 163-169 [cit. 2023-04-30]. ISSN 0001-7213. Dostupné z: doi:10.2754/avb202089020163
- [88] HUANG, Huajun, Chunling XIANG, Canjun ZENG, Hanbin OUYANG, Kelvin Kian Loong WONG a Wenhua HUANG. Patient-specific geometrical modeling of orthopedic structures with high efficiency and accuracy for finite element modeling and 3D printing [online]. 2015, 38(4), 743-753 [cit. 2023-04-30]. ISSN 0158-9938. Dostupné z: doi:10.1007/s13246-015-0402-1
- [89] CHEN, Xibao, Gang CHEN, Gang WANG, Peizhi ZHU a Chunxia GAO. Recent Progress on 3D-Printed Polylactic Acid and Its Applications in Bone Repair. *Advanced Engineering Materials* [online]. 2020, 22(4) [cit. 2023-04-30]. ISSN 1438-1656. Dostupné z: doi:10.1002/adem.201901065
- [90] ESMAEILI, Saeid, Hossein AKBARI AGHDAM, Mehdi MOTIFIFARD, Saeed SABER-SAMANDARI, Amir Hussein MONTAZERAN, Mohammad BIGONAH, Erfan SHEIKHBAHAEI a Amirsalar KHANDAN. A porous polymeric–hydroxyapatite scaffold used for femur fractures treatment: fabrication, analysis, and simulation

- [online]. 2020, 30(1), 123-131 [cit. 2023-04-30]. ISSN 1633-8065. Dostupné z: doi:10.1007/s00590-019-02530-3
- [91] BAHRAMINASAB, Marjan. Challenges on optimization of 3D-printed bone scaffolds. *BioMedical Engineering OnLine* [online]. 2020, 19(1) [cit. 2023-04-30]. ISSN 1475-925X. Dostupné z: doi:10.1186/s12938-020-00810-2
- [92] KOBBE, Philipp, Markus LAUBACH, Dietmar W. HUTMACHER, Hatem ALABDULRAHMAN, Richard M. SELLEI a Frank HILDEBRAND. Convergence of scaffold-guided bone regeneration and RIA bone grafting for the treatment of a critical-sized bone defect of the femoral shaft. *European Journal of Medical Research* [online]. 2020, 25(1) [cit. 2023-04-30]. ISSN 2047-783X. Dostupné z: doi:10.1186/s40001-020-00471-w
- [93] MCGOVERN, Jacqui Anne, Michelle GRIFFIN a Dietmar Werner HUTMACHER. Animal models for bone tissue engineering and modelling disease [online]. 2018, 11(4) [cit. 2023-04-30]. ISSN 1754-8411. Dostupné z: doi:10.1242/dmm.033084
- [94] MEI, Hui, Xiaokang YIN, Jiongjiong ZHANG a Wenyu ZHAO. Compressive Properties of 3D Printed Polylactic Acid Matrix Composites Reinforced by Short Fibers and SiC Nanowires. *Advanced Engineering Materials* [online]. 2019, 21(5) [cit. 2023-04-30]. ISSN 1438-1656. Dostupné z: doi:10.1002/adem.201800539
- [95] SHOKOUHIMEHR, Mohammadreza, Andrea S. THEUS, Archana KAMALAKAR, et al. *Polymers* [online]. 2021, 13(7) [cit. 2023-04-30]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym13071099
- [96] SOPYAN, I., M. MEL, S. RAMESH a K.A. KHALID. Porous hydroxyapatite for artificial bone applications. *Science and Technology of Advanced Materials* [online]. 2016, 8(1-2), 116-123 [cit. 2023-04-30]. ISSN 1468-6996. Dostupné z: doi:10.1016/j.stam.2006.11.017
- [97] YUAN, Jie, Lei CUI, Wen Jie ZHANG, Wei LIU a Yilin CAO. Repair of canine mandibular bone defects with bone marrow stromal cells and porous β -tricalcium phosphate. *Biomaterials* [online]. 2007, 28(6), 1005-1013 [cit. 2023-04-30]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2006.10.015
- [98] KIKUCHI, Masanori, Soichiro ITOH, Shizuko ICHINOSE, Kenichi SHINOMIYA a Junzo TANAKA. Self-organization mechanism in a bone-like hydroxyapatite/collagen nanocomposite synthesized in vitro and its biological reaction in vivo. *Biomaterials* [online]. 2001, 22(13), 1705-1711 [cit. 2023-04-30]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-9612(00)00305-7
- [99] LEI, Y., B. RAI, K.H. HO a S.H. TEOH. In vitro degradation of novel bioactive polycaprolactone—20% tricalcium phosphate composite scaffolds for bone engineering.

- Materials Science and Engineering: C [online]. 2007, 27(2), 293-298 [cit. 2023-04-30]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2006.05.006
- [100] LIU, Huanhuan, Hongju PENG, Yan WU, et al. The promotion of bone regeneration by nanofibrous hydroxyapatite/chitosan scaffolds by effects on integrin-BMP/Smad signaling pathway in BMSCs. *Biomaterials* [online]. 2013, 34(18), 4404-4417 [cit. 2023-04-30]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2013.02.048
- [101] REICHERT, Johannes C., Amaia CIPITRIA, Devakara R. EPARI, et al. A Tissue Engineering Solution for Segmental Defect Regeneration in Load-Bearing Long Bones. *Science Translational Medicine* [online]. 2012, 4(141) [cit. 2023-04-30]. ISSN 1946-6234. Dostupné z: doi:10.1126/scitranslmed.3003720
- [102] ERYILDIZ, Meltem. Fabrication of Drug-Loaded 3D-Printed Bone Scaffolds with Radial Gradient Porosity. *Journal of Materials Engineering and Performance* [online]. [cit. 2023-01-03]. ISSN 1059-9495. Dostupné z: doi:10.1007/s11665-022-07490-0
- [103] CHALOUPKOVÁ, Kateřina. Optimalizace biokompozitu na bázi poly(3-hydroxybutyrátu) s ohledem na tisknutelnost a mechanické vlastnosti [online]. Brno, 2022 [cit. 2023-01-17]. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/11012/204428>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická. Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Radek Přikryl.
- [104] KOKUBO, Tadashi a Hiroaki TAKADAMA. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. *Biomaterials* [online]. 2006, 27(15), 2907-2915 [cit. 2023-01-17]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2006.01.017
- [105] 3D TISKÁRNA ORIGINAL PRUSA I3 MK3S+. Prusa research by Josef Prusa [online]. [cit. 2023-01-18]. Dostupné z: <https://www.prusa3d.com/cs/produkt/3d-tiskarna-original-prusa-i3-mk3s-3/>
- [106] Autodesk.co.uk. 2023. 3D CAD Modelling Software Features | Inventor 2023 | Autodesk. [online] Available at: <<https://www.autodesk.co.uk/>>
- [107] LORENSEN, William E. a Harvey E. CLINE. Marching cubes: A high resolution 3D surface construction algorithm. *Proceedings of the 14th annual conference on Computer graphics and interactive techniques - SIGGRAPH '87* [online]. New York, New York, USA: ACM Press, 1987, 1987, 163-169 [cit. 2023-04-30]. ISBN 0897912276. Dostupné z: doi:10.1145/37401.37422
- [108] GARLAND, Michael a Paul S. HECKBERT. Surface simplification using quadric error metrics. *Proceedings of the 24th annual conference on Computer graphics and interactive techniques – SIGGRAPH '97* [online]. New York, New York, USA: ACM

- [109] Ansys® Academic Research Mechanical, Release 2021 R2, Help System, Coupled Field Analysis Guide, ANSYS, Inc. [online] Available at: <<https://www.ansys.com/>>
- [110] SHISHATSKAYA, E. I., I. A. KHLUSOV a T. G. VOLOVA. A hybrid PHB–hydroxyapatite composite for biomedical application: production, in vitro and in vivo investigation. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* [online]. 2012, 17(5), 481-498 [cit. 2023-03-27]. ISSN 0920-5063. Dostupné z: doi:10.1163/156856206776986242

8. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

Zkratka	Její význam
ABS	akrylonitril-butadien-styren
CAD	počítačem podporované projektování
CLSM	konfokální laserová rastrovací mikroskopie
CT	computerová tomografie
DSC	diferenční skenovací kalorimetrie
FDM	výroba taveného vlákna
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
GPC	gelová permeační chromatografie
HA	hydroxyapatit
ISO	mezinárodní organizace pro normalizaci
OPT 1	označení optimalizované směsi biokompozitu
P1P	pacient 1, pravý femur
PCL	polykaprolakton
PHB	poly(3-hydroxybutyrát)
PHBV	poly(3-hydroxyvalerát)
PLA	kyselina polyléčná
PLGA	kopolymer kyseliny glykolové a kyseliny mléčné
PMMA	polymethylmetakrylát
RP 4	označení kontrolní směsi biokompozitu
TCP	tricalciumfosfát
TGA	termogravimetrická analýza
SEM	rastrovací elektronový mikroskop
SLA	stereolitografický 3D tisk
STL	standardní teslační jazyk
SLM	selektivní laserové tavení