



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ
ÚSTAV MATERIÁLOVÝCH VĚD A INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING
INSTITUTE OF MATERIAL SCIENCE AND ENGINEERING

MODERNÍ METODY PŘÍPRAVY PORÉZNÍ BIOKERAMIKY

MODERN PROCESSING METHODS OF POROUS BIOCERAMICS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Přemysl ŠŤASTNÝ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

prof. Ing. Martin TRUNEC, Dr.

BRNO 2014

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství

Ústav materiálových věd a inženýrství

Akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

student(ka): Přemysl Šťastný

který/která studuje v **bakalářském studijním programu**

obor: **Strojní inženýrství (2301R016)**

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma bakalářské práce:

Moderní metody přípravy porézní biokeramiky

v anglickém jazyce:

Modern processing methods of porous bioceramics

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Biokeramika a její kompozity představují jeden z nejdůležitějších typů biomateriálů pro rekonstrukci lidského skeletálního systému. Pro náhradu nezatěžovaných kostních tkání, či opravu poškozených částí se používají porézní keramické materiály podporující obnovu vlastní tkáně. Tyto porézní podpůrné keramické systémy (anglicky označované jako "scaffolds") jsou připravovány z materiálů s různou odezvou vůči lidskému tělu, v různých tvarech a pomocí řady metod. Vzhledem k intenzivnímu vývoji této oblasti je nezbytné provést aktuální rešerši, která bude sloužit jako základ pro následný experimentální výzkum v oblasti porézních biokeramik.

Cíle bakalářské práce:

Cílem práce je vypracovat přehled metod pro přípravu porézních keramických materiálů pro využití v lékařství a u vytypované metody provést úvodní experimenty.

Seznam odborné literatury:

1. RAHAMAN, M. N. Ceramic Processing and Sintering. CRC Press, 2003.
2. SHEN, Z. J. Advanced Ceramics for Dentistry. Butterworth-Heinemann, 2013.
3. KOKUBO, T. Bioceramics and their clinical applications, CRC Press, 2008.
4. STUDART, A. R., GONZENBACH, U. T., TERWOOD, E., GAUCKLER, L. J. Processing Routes to Macroporous Ceramics: A Review, J. Am. Ceram. Soc. 89, 2006, 1771.

Vedoucí bakalářské práce: prof. Ing. Martin Trunec, Dr.

Termín odevzdání bakalářské práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2013/2014.

V Brně, dne 7.10.2013

L.S.

prof. Ing. Ivo Dlouhý, CSc.
Ředitel ústavu

prof. RNDr. Miroslav Doupovec, CSc., dr.h.c
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Práce se zabývá metodami přípravy porézních keramik se zaměřením na biokeramické podpůrné systémy kostních tkání, anglicky nazývané "bioscaffolds". Rešerše je členěna do tří částí. První část je věnována koloidním suspenzím, jejich přípravě a konsolidaci. Druhá část se zabývá metodami výroby porézních struktur a část třetí je věnována problematice využití porézních biokeramik v medicíně. Praktická část práce se věnuje testům gelace.

Klíčová slova

Koloidní suspenze, porézní keramika, scaffolds

ABSTRACT

Bachelor thesis is written with focusing to bioscaffolds. Thesis is divided into three parts. First part is focused to colloid suspensions, their preparation and consolidation. Second part is focused to preparation methods of porous ceramics. The third part describes scaffolds and their use in medicine. Practical part is focused to gels preparation.

Key words

Colloid suspensions, porous ceramics, scaffolds

BIBLIOGRAFICKÁ CITACE

ŠŤASTNÝ, Přemysl. *Moderní metody přípravy porézní biokeramiky*. Brno 2014. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav materiálových věd a inženýrství. s. 48. Vedoucí bakalářské práce prof. Ing. Martin Trunec, Dr.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Moderní metody přípravy porézní biokeramiky vypracoval(a) samostatně s použitím odborné literatury a pramenů, uvedených na seznamu, který tvoří přílohu této práce.

.....
Datum

.....
Přemysl Šťastný

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji prof. Ing. Martinu Truncovi, Dr. za jeho cenné rady a připomínky při vypracování bakalářské práce. Paní Ing. Zdeně Skálové děkuji za odborné vedení při práci v laboratoři. A dále bych rád poděkoval všem, kteří se podíleli na revizi bakalářské práce po jejím vypracování.

OBSAH

ABSTRAKT	4
BIBLIOGRAFICKÁ CITACE	5
PROHLÁŠENÍ.....	6
PODĚKOVÁNÍ	7
OBSAH.....	8
1 ÚVOD.....	10
2 Koloidní suspenze	12
2.1 Síly působící mezi částicemi v koloidních suspenzích	12
2.2 Stabilizace koloidních suspenzí	13
2.2.1 Stabilizace elektrickou dvojvrstvou	14
2.2.2 Sterická stabilizace.....	14
2.2.3 Elektrosterická stabilizace	15
2.2.4 Depleční stabilizace	15
2.3 Reologie koloidních suspenzí.....	15
2.4 Konsolidace koloidních suspenzí.....	16
2.4.1 Konsolidace odstraněním tekutiny.....	16
2.4.2 Konsolidace tokem částic	18
2.4.3 Konsolidace gelací	18
3 Metody výroby porézních keramik	20
3.1 Replikační metoda.....	20
3.1.1 Replikační metoda se syntetickým templátem	20
3.1.2 Replikační metoda využívající přírodní templát.....	21
3.2 Metoda pórotvorné látky	22
3.3 Metoda napěnění <i>in-situ</i>	23
3.4 Metody solid free-form fabrication (SFF).....	25
3.4.1 3D tisk	25
3.4.2 Robocasting	26
3.4.3 Stereolitografie.....	26
3.4.4 Fused deposition of ceramics (FDC).....	27
3.5 Metody přípravy speciálních porézních struktur	27
3.5.1 Extruze.....	27
3.5.2 Spékání dutých kuliček	28
3.5.3 Výroba vláknitých keramických struktur	28
3.6 Využití metod v praxi.....	28

4	Biokeramické podpůrné systémy	29
4.1	Biologické vlastnosti materiálů.....	29
4.1.1	Bioaktivita	29
4.1.2	Vstřebatelnost	30
4.2	Keramické materiály pro porézní implantáty	30
4.2.1	Keramika na bázi fosforečnanu vápenatého	30
4.2.2	Bioaktivní skla a sklokeramiky.....	32
4.3	Porozita, velikost pórů a jejich vliv na srůst implantátu a tkáň	33
4.3.1	Metody výpočtu porozity	33
4.3.2	Vliv porozity na regeneraci kostní tkáň.....	33
4.3.3	Vliv velikosti pórů na osteogenezi.....	34
4.4	Vliv porozity na mechanické vlastnosti porézních biokeramik.....	35
4.4.1	Zlepšení mechanických vlastností porézních biokeramik.....	36
4.5	Vyhodnocení cytotoxicity materiálu	37
4.6	Oblasti použití porézní biokeramiky v současné medicíně	37
5	Úvodní experimenty	40
5.1	Použitý materiál	40
5.2	Postup přípravy	40
5.3	Výsledky.....	40
6	ZÁVĚR	43
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	44

1 ÚVOD

Slovo keramika pochází z řeckého "kerámos", což je výraz označující roh určený k pití. Z tohoto označení je zřejmé, k čemu první keramické výrobky sloužily. V současné době je keramika chápána a definována jako anorganický krystalický nekovový materiál vyrobený ze směsi práškových látek, jež se po vytvarování zpevní vysokoteplotním slinováním. V širším pojetí můžeme do oblasti keramik řadit i uhlíkové materiály a skla.

Z pohledu technologie výroby je oblast keramických materiálů rozdělena do dvou podoblastí. První je keramika tradiční, charakteristická svojí vnitřní heterogenitou, množstvím vad a nečistot. Její místo se tradičně nachází ve výtvarném umění a stavebnictví.

Druhá oblast, označovaná jako pokročilé keramické materiály, vyniká svojí vysokou chemickou čistotou. Minimum vnitřních vad a nečistot ji předurčuje pro užití i v těch technicky a technologicky nejnáročnějších aplikacích. Jedním z nejnáročnějších uživatelů pokročilých keramických materiálů je medicínská praxe.

Použití keramik v medicíně odstartovalo jejich využití ve stomatologii. Následovaly náhrady kloubů a hitem poslední doby jsou keramické podpurné systémy, anglicky zvané "scaffolds".

Vývoj porézních biokeramik a technologie jejich výroby přináší četná úskalí. Porézní biokeramiky jsou téměř výhradně vyráběny pomocí mokrých metod tvarování. Stěžejním krokem je tudíž výroba stabilní koloidní suspenze s dostatečným obsahem keramických částic. Stabilizace těchto roztoků je náročná a této problematice je věnována i část první kapitoly mé práce.

Po stabilizaci suspenze je nutno vhodnou metodou zajistit její konsolidaci. Konsolidace je proces, při kterém suspenze získá manipulační pevnost. Způsobů konsolidace koloidu je celá řada, při výrobě porézních struktur je často využívána metoda gelace.

Kostní náhrady jsou charakteristické porézní strukturou. Porozita umožňuje vrůst tkáně do náhrady a její pevnou biologickou fixaci v těle příjemce. Popřípadě kombinací s vhodným materiálem umožňuje degradaci struktury a její nahrazení kostní tkání. Způsoby vytvoření porézní struktury jsou uváděny v druhé kapitole práce. Z hlediska progresivnosti je budoucnost připisována zejména metodám jednotně označovaným jako "solid free-form fabrication". Ty umožňují vytvoření struktur a tvarů nestvořitelných jinou konvenční tvarovací metodou.

Vlastní jádro práce tvoří kapitola zabývající se vlastnostmi, výrobou a užitím biokeramických porézních struktur. V této části se ukazuje komplexnost problematiky a její interdisciplinárnost. Požadavky medicíny jsou striktní. Jmenujme například to, že materiály využitě pro výrobu nesmí být biologicky závadné a musí projít cytotoxickými testy. Póry v materiálu nemohou mít libovolnou velikost, ta je dána velikostí kostních buněk. V souvislosti s vlastnostmi biomateriálů je nutné si osvojit pojmy bioaktivita a vstřebatelnost materiálu. Pojmy ne úplně standardní ve strojírenské praxi.

V závěru práce se zmiňuji o budoucnosti keramických podpurných systémů. Ta má patřit scaffoldům tzv. "třetí generace". Název označuje skupinu porézních náhrad, které aktivně podpoří vrůst a srůst kostní tkáně s náhradou, její výživu a medikaci. Samotná struktura materiálu v sobě ponese nejen materiál tvořící opěrný systém, ale také kmenové buňky a léčiva.

Ve své práci se snažím shrnout základní poznatky z oblasti vývoje biokeramických kostních náhrad a technologie jejich výroby. Práce má seznámit čtenáře se základy problematiky výroby biokeramických porézních struktur a s možnostmi jejich využití v medicínské praxi.

2 KOLOIDNÍ SUSPENZE

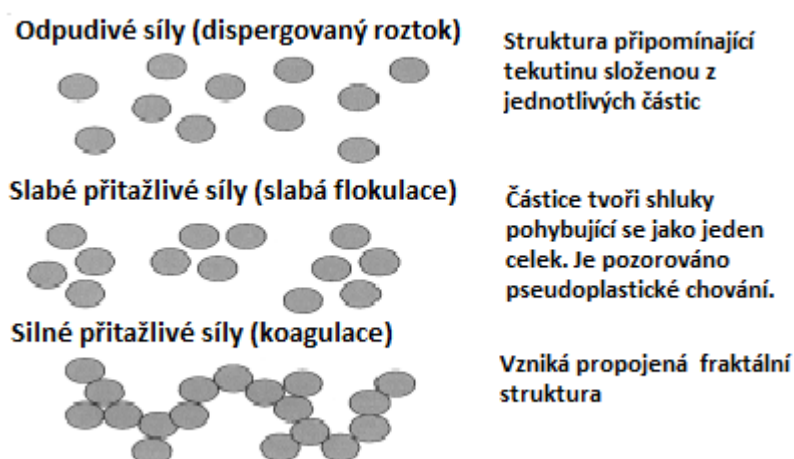
Koloidní suspenze jsou základním vstupem pro výrobu biokeramických porézních materiálů. Termín koloidní označuje roztoky s velikostí keramických částic 10^{-3} - $1 \mu\text{m}$ rozptýlených v rozpouštědle s malou molekulovou hmotností.

Stabilní koloidní suspenze zaručují rovnoměrné rozptýlení keramické hmoty. Výsledkem jsou vysoce homogenní keramické polotovary s vysokou jakostí [1, 2].

Výroba keramik užitím koloidních roztoků je stará tisíce let. Moderní metody přípravy keramických polotovarů používané dodnes: odlévání, extruze, tlakové filtrování atd., se poprvé objevily na přelomu 18. a 19. století. Prvními vědecky popsány koloidními systémy byly vodné roztoky keramických jíílů [1].

2.1 Síly působící mezi částicemi v koloidních suspenzích

Vzhledem k malým velikostem rozptýlených částic je chování koloidních systémů silně ovlivňováno přitažlivými Van der Waalsovými silami (dále jen VdW). VdW síly zapříčiňují nestabilitu suspenze. Při jejich převaze dochází ke vzniku shluků a flokulaci suspenze (obr. 2.1) [1, 2].



Obr. 2.1 Flokulace suspenze [6]

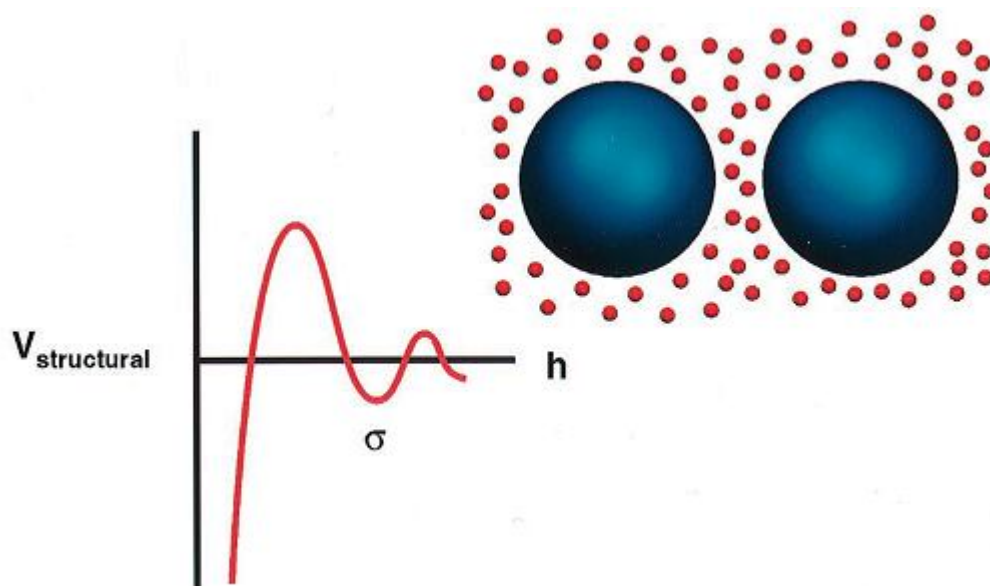
VdW síly lze rozdělit podle podstaty vzniku na síly elektrostatické - Keesomovy, indukční - Debyeovy a disperzní - Londonovy [7].

VdW síly jsou v suspenzích eliminovány silami elektrostatickými, sterickými a deplečními [1].

Elektrostatické síly jsou síly působící mezi nabitými částicemi. Mohou být jak přitažlivé, tak odpudivé v závislosti na náboji interagujících částic [1]. Velikost elektrostatické síly je dána Coulombovým zákonem [8].

Sterické síly vznikají při vzájemném působení povrchů částic „obalených“ nejčastěji polymerní látkou. Výsledkem je vznik většinou odpudivých sil. Při špatně zvolené koncentraci stabilizující látky může dojít k jevu opačnému a částice se shluknou k sobě [9].

Depleční síly vznikají působením neadsorbovaných polymerních molekul v roztoku. Depleční stabilizace není v praxi příliš užívána. Důvodem je průběh potenciální energie při depleční stabilizaci. Ten má za následek vznik buď odpuzivých, či přitažlivých sil v závislosti na vzdálenosti jednotlivých částic (obr. 2. 2) [1].



Obr 2. 2 Průběh potenciální energie při depleční stabilizaci v závislosti na vzdálenosti částic [1]

2.2 Stabilizace koloidních suspenzí

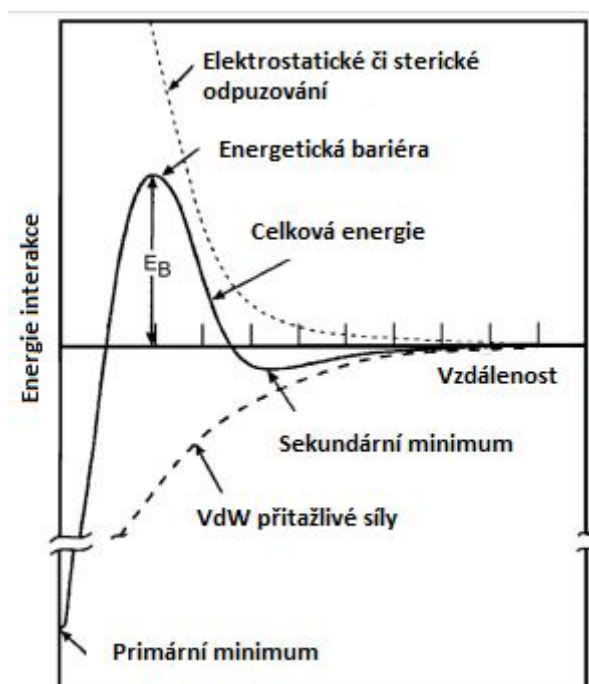
Z technologického hlediska je pro výrobu pokročilých keramik nutná stabilní koloidní suspenze [1, 6].

Celková stabilita je dána součtem potenciálních energií jednotlivých působících sil podle vztahu

$$V_{\text{celková}} = V_{\text{vdW}} + V_{\text{elekt}} + V_{\text{steric}} + V_{\text{strukt}}$$

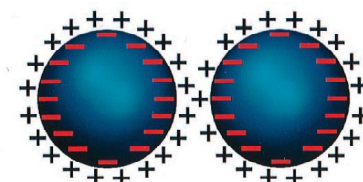
kde V_{vdW} představuje potenciální energii přitažlivé VdW síly, V_{elekt} je potenciální energie vyplývající z elektrostatické interakce mezi dvěma nabitými povrchy, V_{steric} představuje potenciální energii sterické interakce částic a V_{strukt} je potenciální energií deplečních sil [1].

Celkový průběh interakčních energií dvou částic vystihuje obrázek 2. 3.



Obr. 2. 3 Průběh interakčních energií dvou částic [2]

2.2.1 Stabilizace elektrickou dvojrstvou

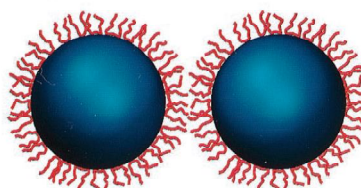


Obr. 2. 4 Stabilizace elektrickou dvojrstvou [1]

Povrch částice je nabit kladně nebo záporně, v závislosti na schopnosti přijmout volné kladné či záporné ionty z rozpouštědla. Vzniká elektricky nabitá vrstva. Při styku částic dochází k odpuzování stejně nabitých povrchových vrstev a celkové stabilizaci suspenze. Stabilitu směsi lze řídit změnou jejího pH [1, 6, 10].

2.2.2 Sterická stabilizace

Přidáním látky polymerního původu a jejím navázáním na keramické částice vzniká



Obr. 2. 5 Sterická stabilizace

[1]

bariéra bránící vzájemnému kontaktu částic. Stericky stabilizovaný koloid musí splňovat:

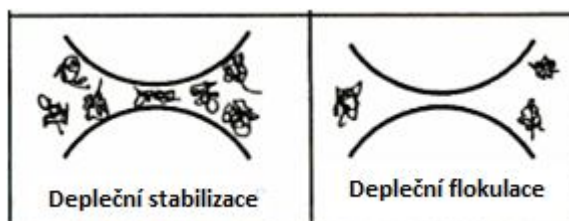
1. Vrstva polymeru musí mít dostatečnou tloušťku, která eliminuje účinky VdW sil.
2. Povrch částice je kompletně obalen polymerem.
3. Polymer je na povrchu částice uchycen pevně. Nedochozí k jeho odlučování z povrchu.
4. Rozpouštědlo musí být dobré, myšleno ve schopnosti rozpustit polymerní látku. V opačném případě dojde k „zamotání“ polymerů do sebe a koagulaci suspenze [1, 6, 10].

2.2.3 Elektrosterická stabilizace

Jde o kombinaci elektrostatické a sterické stabilizace. Ke stabilizaci dochází působením polyelektrolytu obsahujícího ionizovatelnou skupinu. Princip je takový, že polymerní látka se adsorbuje na povrch keramické částice (sterická stabilizace) a díky ionizovatelné skupině vzniká na povrchu polymerního obalu náboj, který stabilizuje koloid elektrostaticky. Výsledkem je kombinovaná elektrosterická stabilizace. [1].

2.2.4 Depleční stabilizace

Neadsorbované polymerní řetězce rozptýlené v suspenzi oddělují částice. Vypuzením částic z mezery dochází k destabilizaci a vzniku aglomerátů (obr. 2. 6) [1].



Obr. 2. 6 Depleční stabilizace a flokulace [11]

2.3 Reologie koloidních suspenzí

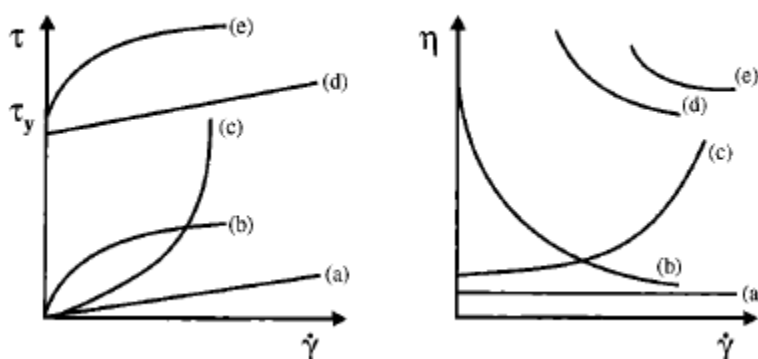
Reologie je vědní obor spadající do mechaniky kontinua. Zkoumá deformační vlastnosti látek, zejména závislost deformace látky na působícím napětí [3].

Typickým chováním tekutin při působení napětí je tečení. Vlastnost popisující tekutost látky je viskozita η (2).

$$\tau = \eta \cdot \dot{\gamma} \quad (2)$$

Kde τ [Pa] je smykové napětí, η [Pa.s] je dynamická viskozita a $\dot{\gamma}$ [s^{-1}] je rychlostní gradient. Viskozita kvantitativně popisuje vlastnosti tekutých soustav a je určující veličinou pro popis disperzních soustav. Mění se viskozita poukazuje na změnu objemu keramických částic v objemu suspenze, což ovlivňuje výsledné vlastnosti polotovaru [1,4].

Jednotlivé tekutiny lze charakterizovat reologickými modely (obr. 2. 7).



Obr. 2. 7 Reologické modely a) Newtonská tekutina
b) Pseudoplastická tekutina c) Dilatantní tekutina d) Binghamská tekutina e) Pseudoplastická s mezí kluzu [1]

Newtonské tekutiny jsou popsány Newtonovým vztahem (2), u kterých je viskozita konstantou. U pseudoplastických látek viskozita klesá s rostoucí rychlostí deformace (roztoky či taveniny polymerů). Dilatantní tekutiny vykazují nárůst viskozity se vrůstající rychlostí deformace (škrobové suspenze) a binghamské tekutiny tečou až po překročení určitého mezního smykového napětí (suspenze křídly) [5, 58].

Kromě časově nezávislých reologických modelů existují i modely s časovou závislostí popisující tixotropní a reopexní chování tekutin.

Tixotropní chování je charakteristické tím, že s rostoucí dobou působení napětí se snižuje viskozita tekutiny (nátěrové hmoty) [5].

Reopexní chování je přesným opakem chování tixotropního [5].

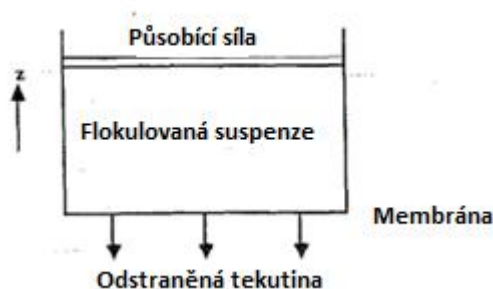
2.4 Konsolidace koloidních suspenzí

Konsolidace neboli zpevnění, je pochod během kterého dochází ke vzniku pevného polotovaru přímo ze suspenze. Ten musí mít dostatečnou pevnost zaručující jeho nepoškození při manipulaci [1, 12].

2.4.1 Konsolidace odstraněním tekutiny

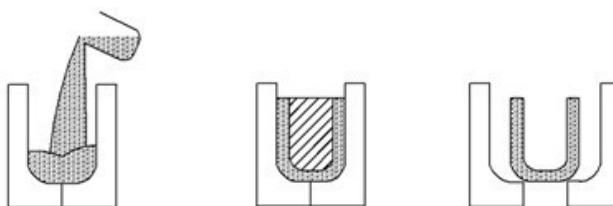
Do této kategorie spadají metody typu tlaková filtrace, slip casting, tape casting a další [1]. Společným jmenovatelem výše uvedených procesů je odstranění rozpouštědla z roztoku do té míry, že výsledný produkt má dostatečnou pevnost a hustotu.

Při **tlakové filtraci** dochází k odstranění tekutiny působením tlaku na suspenzi v uzavřeném válci (Obr. 2. 8). Suspenze je stlačována pístem nebo tlakem plynu. V první fázi dochází k odstranění přebytečného rozpouštědla přes filtr umístěný ve spodní části válce. Keramické částice zůstávají zachyceny nad filtrem. Ve druhé fázi se píst dostává do kontaktu s již konsolidovanými částicemi. Dochází k sekundárnímu zpevnění. V této fázi získává polotovar požadované mechanické vlastnosti a manipulační pevnost [1, 12].



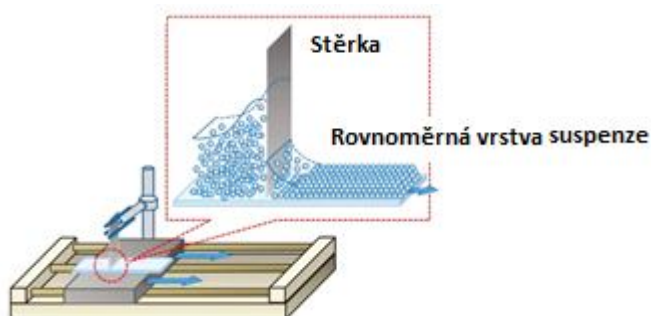
Obr. 2. 8 Tlaková filtrace [13]

Slip casting (obr. 2. 9) spočívá v naplnění formy keramickou suspenzí. Forma, nejčastěji sádrová, je svým tvarem negativem požadovaného výrobku. K odstranění tekutiny dochází pomocí kapilárních sil. Samotné keramické částice, jejichž průměr je větší než průměr kapilár, zůstávají ve formě a vytváří výsledný polotovár [14].



Obr. 2. 9 Slip casting [15]

Tape casting (obr. 2. 10) je důležitá zejména při výrobě tenkých vrstev a keramických povlaků metodou nazývanou „doctor-blade technique“. Princip je založen na vytvoření rovnoměrné vrstvy nanášeného materiálu pomocí stěrky a jeho vysušení.



Obr. 2. 10 Tape casting [16]

2.4.2 Konsolidace tokem částic

Do této skupiny spadají všechny metody, při kterých dochází ke konsolidaci díky pohybu částic zapříčiněnému vnější silou (tíhová, odstředivá ...). Základními metodami jsou sedimentace a odstředování [1].

Sedimentace je proces zapříčiněný působením tíhových sil. Keramické částice se shromažďují na dně nádoby. Ke konsolidaci dochází díky jejich vlastní tíze [1].

Odstředováním lze dosáhnout struktury o vyšší manipulační pevnosti než pouhou sedimentací. Odstředování se provádí v centrifugách, kdy na částice působí odstředivé síly způsobující konsolidaci na stěnách nádoby [1]. Odstředování výrazně urychluje proces sedimentace částic, i když odstředivá síla není homogenní v celém objemu a závisí na poloměru otáčení [12].

Dalším možným způsobem je užití **elektroforetické depozice** (EPD). Charakteristickým znakem procesu je usměrněný pohyb dispergovaných částic v elektrickém poli a jejich depozice na elektrodě. V případě keramik nachází uplatnění zejména při tvorbě tenkých keramických vrstev nanášených na základní materiál [37].

2.4.3 Konsolidace gelací

Jedná se o poslední významný proces konsolidace suspenze. Metoda hraje podstatnou roli při výrobě keramických materiálů. Podstata metody spočívá ve vzniku „sítě“ tvořené buď uskupenými částicemi suspenze (vznik fyzikálního gelu), nebo vznikem polymerní sítě z monomerů přidaných do suspenze (vznik chemického gelu). Charakteristickým průvodním jevem je nárůst viskozity koloidu. Při procesu gelace nedochází k odstranění rozpouštědla ze suspenze. [6].

Fyzikální gely vznikají díky řízené změně sil mezi částicemi. Původně odpudivé síly se zásahem mění na síly přitažlivé a dochází ke vzniku pevné fáze bez odstranění rozpouštědla. Zásahem rozumějme například změnu pH ([17]) u elektrostaticky stabilizovaných suspenzí. U stericky stabilizovaných suspenzí dochází ke vzniku přitažlivých sil změnou rozpustnosti stabilizujícího polymeru. Vznik fyzikálního gelu je teoreticky vratným procesem [6].

Chemické gely vznikají přidáním monomerní či polymerní látky a spojovacích molekul (cross-linking molekules). Polymerní látka vytvoří hustou „sít““. Keramické částice zůstanou v síti zachyceny. Proces vede ke zvýšení viskozity a vytvoření pevné struktury. Chemické gely jsou mnohem pevnější než gely fyzikální. Chemická gelace je na rozdíl od fyzikální nevratným procesem [6].

Nevýhodou systémů zhutněných pomocí gelace bývá vysoký podíl aditiv. Tyto látky je nutno před vlastním slinováním ze struktury vypálit, což přispívá k ekologické náročnosti procesu [6].

Různé metody konsolidace užívající jak fyzikální, tak chemické gely jsou uvedeny v tab. 2. 1.

Tab. 2.1 Metody založené na gelaci [6]

Metoda	Sít' zapříčiňující gelaci tvoří:	Mechanismus vzniku gelu	Vratnost procesu Druh gelu
Metoda přímé koagulace	Částice	Změna pH, nárůst iontové koncentrace	Nevratný Fyzikální gel
TIF (temperature induced flocculation)	Částice	Nárůst iontové koncentrace flokulace	Nevratný Fyzikální gel
AIM (aqueous injection moulding)	Polymerní aditiva	Polymerace gelu zahřátím	Vratný Chemický gel
Gelcasting	Monomerní aditiva	Polymerizace monomerů	Nevratný Chemický gel
Gelcasting	Polymerní aditiva	Cross-linking efekt	Nevratný Chemický gel
Freeze casting	Dispergující medium	Zmrazení rozpouštědla	Vratný Fyzikální gel

Metoda založená na procesu gelace je nazývána **gel-casting**. Jde o poměrně nový, perspektivní způsob konsolidace koloidu užívaný nejen v keramickém průmyslu. Nejčastěji se užívá gelů na chemické bázi. Výchozím materiálem je stabilizovaný koloid. Před odlitím je přidán monomer či polymer. Polymerace monomeru, případně reakce polymerů a vznik gelu je prováděn *in situ* ve formě. Pomocí této metody lze získat velmi složité tvary polotovarů. Díky vysoké pevnosti chemických gelů lze provádět i dodatečné obrábění polotovaru po vyjmutí z formy. Monomerní a polymerní látky mohou být jak organického, tak anorganického původu. Možnou alternativou je i přidání jiných látek, nejčastěji na bázi polysacharidů (škroby). Škrob ve vodném prostředí nabobtnává, což způsobuje gelaci suspenze. Alternativně jde místo škrobů použít i jiné želírující látky (agar, albumin ...). Odstranění gelu probíhá jeho vypálením ze struktury v peci. Teplota zajišťující dokonalé vypálení gelu se liší podle typu použitých monomerů, standardně se pohybuje kolem 1000°C [6, 11].

3 METODY VÝROBY PORÉZNÍCH KERAMIK

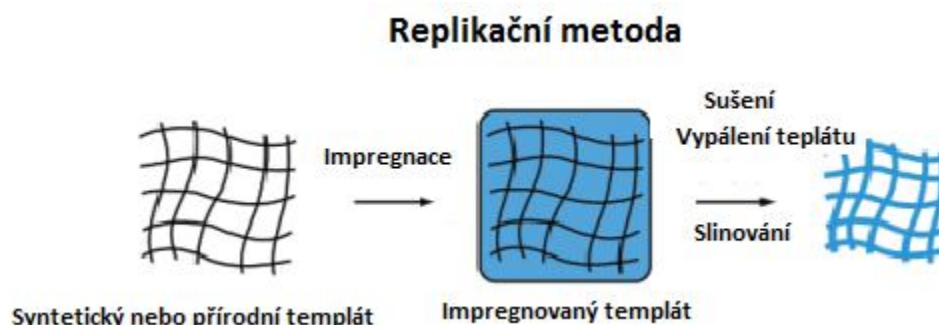
Porézní materiály na bázi keramik nachází v současné době své uplatnění při výrobě filtrů pro odlévání kovů, tepelných izolátorů, katalyzátorů a ve zdravotnictví.

Počátky výroby pokročilých porézních keramických materiálů spadají do období kolem roku 1960, ze kterého pochází první patent [18] postupu výroby porézní keramiky.

Obecně se postup výroby porézní keramiky sestává z vytvoření vstupní směsi (koloid, granulovaná směs), tvarování (získání porézní struktury), vysoušení, odstranění pojiv a slinování. V následující kapitole se budu zaměřovat především na postup získání vlastní porézní struktury. Vysoušení a odstranění pojiv je v případě porézních materiálů úkolem podstatně jednodušším než v případě materiálů hutných. Zejména pak u materiálů s otevřenou porozitou, která nebrání prostupu par z nitra struktury na její povrch. Podmínky slinování jsou obdobné, jako při výrobě hutných struktur.

3.1 Replikační metoda

Replikační metoda je pravděpodobně jednou z nejčastěji užívaných průmyslových metod výroby porézních keramických materiálů. Výhodou je její jednoduchost. Výroba porézní struktury spočívá ve smáčení templátu (šablony) keramickou suspenzí (viz obr. 3. 1) [19]. Slinováním získáváme materiál, jehož struktura je tvořena dutými trámečky. Dutiny vznikají při vypálení polymerního templátu.



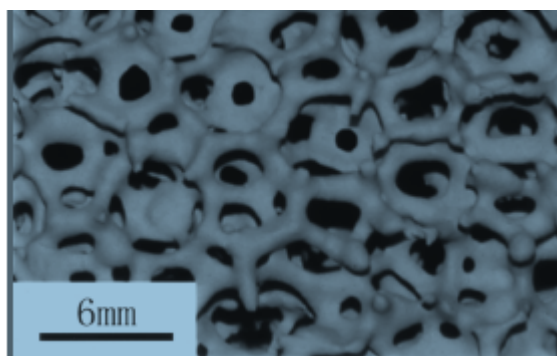
Charakteristický rysem je vznik trhlin ve stěnách trámeček při nevhodné rychlosti dekompozice templátu. Struktura s trhlinami společně s jednotlivými keramickými trámečky, které nemají ideálně kruhový tvar, tvoří efektivní koncentrátory napětí. Tyto skutečnosti ve výsledku vedou ke špatným mechanickým vlastnostem získaného materiálu. Standardní hodnoty pevnosti v tlaku se pohybují kolem 0,5 MPa - 2 MPa. Porozita získané struktury se pohybuje mezi 40 - 90 %. Minimální velikost pórů se pohybuje kolem 200 μm , jelikož templáty s menší velikostí pórů nelze dobře smáčet [59].

Replikační metodu lze dále dělit podle původu templátu na replikační metodu s templátem syntetického a přírodního původu.

3.1.1 Replikační metoda se syntetickým templátem

Templátem je nejčastěji polymerní hubka z polyuretanu, polyvinylchloridu či polystyrenu, která je smáčena v keramickém koloidu. Následně dochází k vymačkání přebytečného roztoku. Při vymačkávání přebytečné suspenze musíme dbát na dostatečnou tekutost použitého roztoku. S výhodou bývá využíváno roztoků vykazujících pseudoplastické

chování. Ideálními koloidy jsou takové, které vykazují pokles viskozity z 10 - 30 Pa. s⁻¹ při smykové rychlosti 5 s⁻¹ na hodnoty 1 - 6 Pa. s⁻¹ při smykové rychlosti 100 s⁻¹ [19]. Vymačkání přebytečné suspenze lze provést pomocí stavitelných válců [22]. Zajímavou alternativou odstranění přebytečného koloidu je užití centrifugy. Výsledkem je rovnoměrnější vrstva keramické břečky nanesená na jednotlivá vlákna templátu



Obr. 3. 2 Al₂O₃ struktura získaná metodou syntetického templátu. Struktura byla vytvořena ve třech fázích, kdy byly postupně nanášeny vrstvy koloidu s rozdílnou viskozitou

[21]

(obr. 3. 2) [21].

Kritickým bodem je tepelná dekompozice polymerní sítě.

Polotovar se pozvolna ohřívá (cca 1°C/min) na teploty mezi 300°C a 800°C a to v závislosti na použitém templátu. Pomalý nárůst je nutný k dokonalé dekompozici templátu a difuzi vznikajícího plynu přes keramickou vrstvu. Při prudkém nárůstu teploty dochází k tvorbě trhlin a prasklin ve stěnách porézní struktury. Pro zlepšení odolnosti proti vzniku trhlin jsou do koloidu přidávána různá pojiva a změkčovadla (fosforečnan hlinitý, draslík ..). Po odstranění polymerní sítě dochází k vlastnímu slinování materiálu za teplot v rozmezí 1100°C – 1700°C dle typu keramiky [19].

Replikační metoda se syntetickým templátem je hojně užívána při výrobě filtrů pro filtraci roztavených kovů a katalyzátorů [23, 24]. K výrobě biokeramické struktury ji využívá např. Belluci a kol. [43].

3.1.2 Replikační metoda využívající přírodní templát

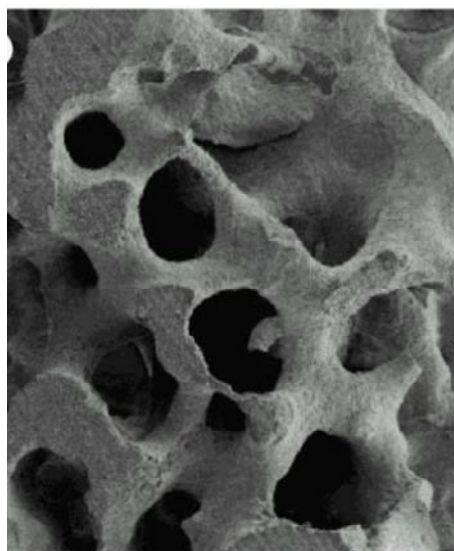
Příroda nabízí mnoho různých porézních materiálů, které svojí strukturou představují ideální templát pro přípravu porézních keramických materiálů. Mezi materiály využívané pro přípravu porézní biokeramiky patří různé rody australských a indických mořských korálů.

Způsob přípravy keramického materiálu z korálů představil v roce 1970 White [25]. Struktura korálu, umístěná ve vakuu, je vyplněna horkým voskem. Po ztuhnutí vosku dojde k rozpuštění matečného materiálu v silné kyselině. Získaný voskový odlitek je použit jako negativ pro výrobu porézní struktury.

Jiný způsob využití korálů spočívá v částečné hydrotermální přeměně CaCO₃ obsaženého ve struktuře korálu na hydroxyapatit (HA). Metoda byla představena poprvé v roce 1974. Výsledným materiálem je takzvaný korálový hydroxyapatit, a to ať už ve formě prášku, či

porézní struktury. Porézní struktury vzniklé přímou přeměnou korálu se vyznačují vhodnou velikostí pórů pro užití v medicínských aplikacích. Resorbce materiálu je řízena poměrem CaCO_3/HA . Nevýhodou je fakt, že ve středu vzorku k přeměně často nedochází. Tato skutečnost vede k různým hodnotám rychlosti resorbce struktury v závislosti na vzdálenosti od povrchu. Špatné mechanické vlastnosti předurčují korálové struktury k případnému použití v oblasti nezátížených implantátů [28]. Podrobnosti o využití korálových struktur, jejich přípravě a vlastnostech, jsou uvedeny například v člancích [26 - 28].

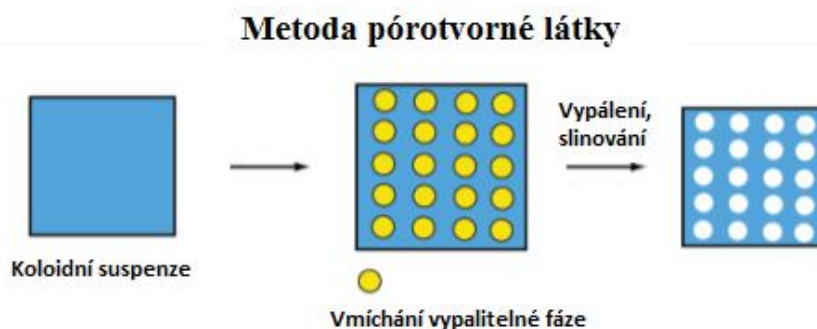
Jako přírodní templát lze využít i dřevo, vaječné membrány, rostlinné stonky, celulosu, latex a další. Výroba keramik užitím dřeva jako templátu je blíže popsána například v [19]. Nevýhodou přírodních templátů je množství příměsí degradujících čistotu implantátu. Z tohoto důvodu je jejich užití velmi omezené.



Obr. 3. 3 Struktura vzniklá přímou transformací korálu na HA biokeramiku [28]

3.2 Metoda pórotvorné látky

Podstata metody spočívá ve vytvoření dvoufázového kompozitu, skládajícího se z koloidní suspenze a templátu, který je rovnoměrně rozmístěn v objemu koloidu. Jeho odstraněním

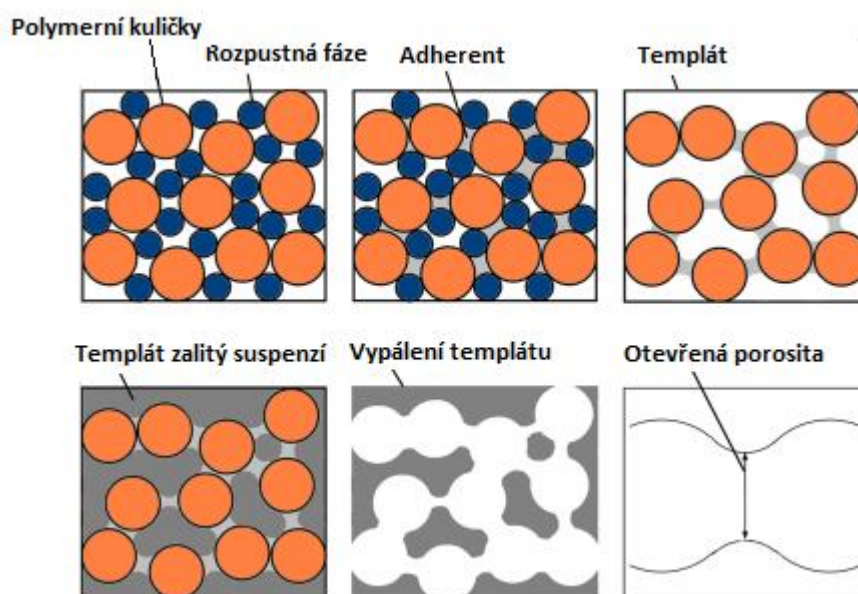


dochází ke vzniku porézní struktury (Obr. 3. 4) [19].

Obr 3. 4 Metoda pórotvorné látky [19]

Nejjednodušším způsobem je vytvoření dvoufázového kompozitu složeného z koloidního keramického roztoku a pórotvorné přísady na bázi polymeru, případně škrobu nebo grafitu. Kompozit je zahříván na teplotu degradace rozptýlené fáze. Dispergovaný materiál je spálen a spaliny difundují základním materiálem do okolí. Výsledkem je keramická struktura obsahující póry v místech, ve kterých se původně nacházely polymerní částice. Výhodou metody je možnost odlévání suspenze do forem. Tudíž odpadají problémy související s jejím napěňováním a stabilizací pěny.[19].

Zajímavý způsob získání nahodilé porézní struktury zkoumá metoda popisovaná Yufei Tangem a kol. [30]. Prvním krokem je vytvoření směsi kuliček polymeru a fáze rozpustné



Obr. 3. 5 Výroba templátu užitím polystyrenových kuliček a chloridu sodného [30]

ve vodě (NaCl). Vzniklá směs je prolita látkou na polymerní bázi, která zajistí jejich slepení. Získaná struktura je proplachována deionizovanou vodou. Dochází k rozpuštění a odplavení NaCl a vzniku templátu. Ten je následně zalit keramickou suspenzí. Ta je slinována. Zvýšením teploty dochází k odstranění polymerní fáze a vzniku porézní struktury s otevřenou porozitou, vhodnou pro přípravu implantátů. Celý děj je názorně vysvětlen na obr. 3. 5. Výsledná porozita materiálu je odhadnutelná jako poměr objemu polymerních částic k objemu nádoby, ve které templát vyrábíme. Průměrná odchylka mezi výslednou porozitou keramického vzorku a hodnotou odhadnutou je 3,52% [30].

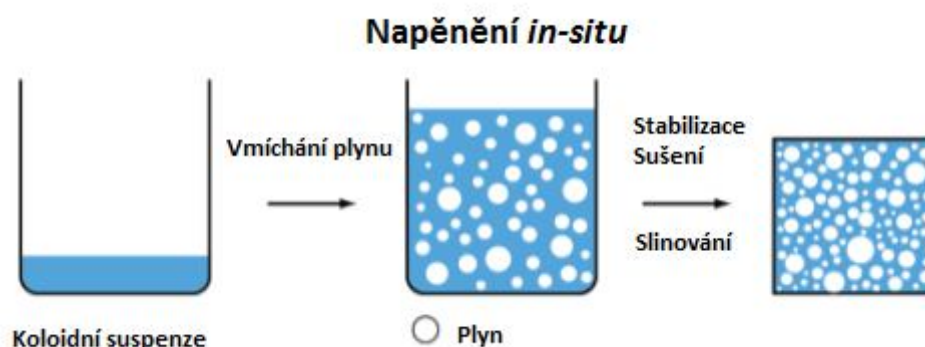
Minoritně se k tvorbě pórů používají i kovy, soli, keramické částice a oleje. Jejich odstranění probíhá většinou chemickou cestou, ne vypálením [19, 31].

3.3 Metoda napěnění *in-situ*

Napěnění je dosaženo přímým vmícháním plynu do koloidu (obr. 3. 6).

Celková porozita je úměrná množství vmíchaného plynu. Vlhké pěny jsou termodynamicky nestabilní a podléhají Ostwaldovu zrání. Tento proces vede k nárůstu velikosti pórů. Kritickým bodem je tudíž stabilizace bublin v napěněném materiálu.

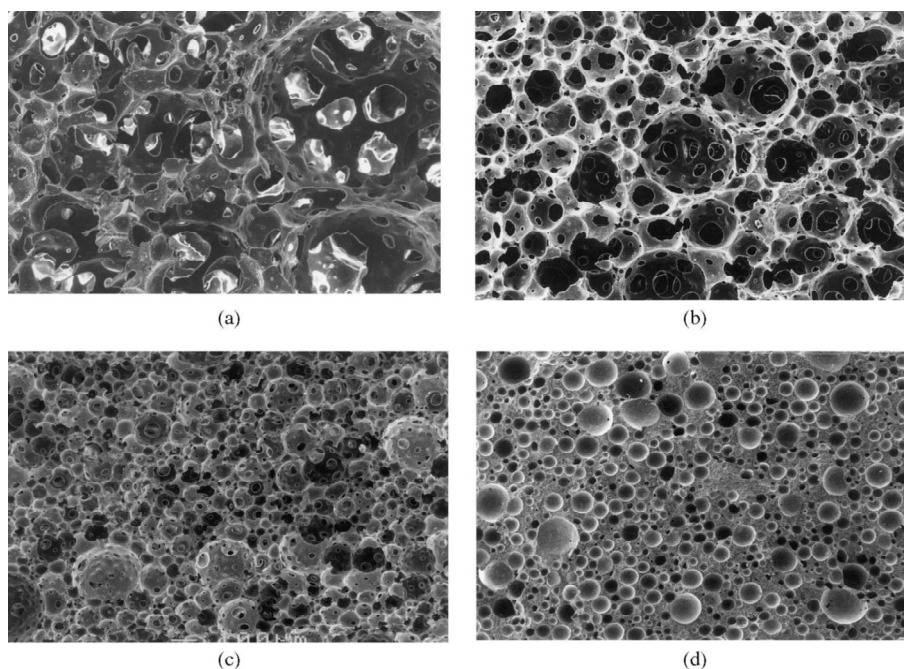
Mechanické vlastnosti materiálů, získaných napěněním *in-situ*, jsou v porovnání s templátovými metodami lepší [19].



Obr. 3. 6 Napěnění *in situ* [19]

Stabilní směsi lze dosáhnout dvěma způsoby. Stabilizací povrchově aktivními látkami nebo stabilizací drobnými částicemi.

Stabilizace povrchově aktivními látkami probíhá díky dlouhým řetězcům s lyofilními a lyofobními skupinami. Příkladem jsou látky s obchodními názvy Triton, Igepal, Lutenson, jejichž molekuly se vážou na mezifázové rozhraní koloid - plyn, snižují napětí na mezifázovém rozhraní a tímto ho stabilizují. Stabilita pěny je dostatečná většinou po desítky minut. Z tohoto důvodu se přidávají ještě tzv. "setting-agents" - látky zpevňující strukturu pěny před zahájením rozsáhlých koalescenčních procesů [19].



Obr. 3. 7 Al_2O_3 pěna stabilizovaná povrchově aktivními látkami s hustotou a) 10% b) 15% c) 20% d) 40% teoretické hodnoty (SEM, zvětšení 55x) [32]

Ke konsolidaci pěny se často užívá principu gelace [34]. Vznik gelu je zajištěn vmícháním vhodných monomerů, polymerů, želatiny, agaru, albuminu, škrobu nebo soli kyseliny alginové v kombinaci s diacetátem hlinitým do keramického koloidu [19].

Proces založený na napěnění in-situ a gelaci využívá například Sepulveda a kol. [34] k získání porézní biokeramické HA struktury. Získaná pěna vykazuje až 90% porozitu s velikostí pórů od 20 μm po 1 mm. Materiál byl vyhodnocen cytotoxickou zkouškou, která prokázala biologickou nezávadnost materiálu a tím i možnost jeho použití v medicíně a tkáňovém inženýrství.

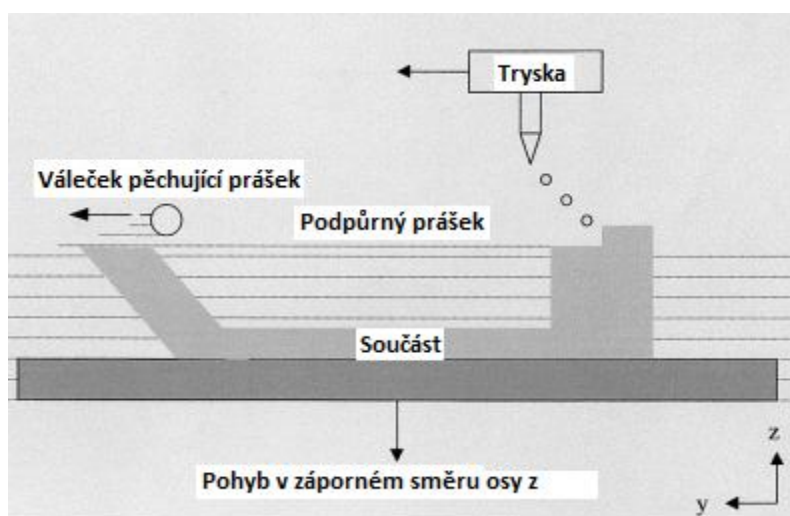
Stabilní pěny je možno dosáhnout i pomocí částic. Drobné částice vázané na fázovém rozhraní tekutina - plyn brzdí koalescenci a disproportionaci pěny. Uchycení částic na mezifázovém rozhraní je způsobeno jejich částečnou nesmáčenlivostí. Za těchto podmínek je pro částici energeticky výhodné nahradit část vysokoenergetického rozhraní pevná látka - tekutina za rozhraní pevná látka - plyn. Stabilita je dostatečná po několik dní. Získaný materiál vykazuje póry menší velikosti a pevnost materiálu je větší než při stabilizaci pomocí povrchově aktivních látek [19, 33].

3.4 Metody solid free-form fabrication (SFF)

Společným jmenovatelem těchto metod je fakt, že pro výrobu polotovaru není potřeba forma. SFF metody přinášejí způsob jak vyrábět 3D keramické díly předem navrhnuté v CAD programech nebo získaných z digitálních dat pomocí zobrazovacích metod typu počítačová tomografie a magnetická rezonance. Polotovar vzniká postupným nanášením jednotlivých vrstev. Jedná se o moderní, progresivní metody, které umožňují výrobu implantátů „na míru“. Výhoda je zřejmá, přesně definovaná velikost dutin a pórů, správná textura a rozměry.

3.4.1 3D tisk

Jde o nejznámější proces (obr 3. 8). Granulovaný keramický prášek, popřípadě vrstvička koloidu, je pomocí trysky rozprostírán vrstvu po vrstvě. Každá keramická vrstva je pokryta vrstvou pojiva (roztok SiO_2 , polymer). Po vytvoření 3D modelu dojde k tepelnému



Obr. 3. 8 3D Tisk [6]

vytvrzení pojiva. 3D model tím získá manipulační pevnost. Následuje vypálení pojiva a slinování [6].

Alternativní metodou je DIP (direkt ink-jet printing). Vytváření polotovaru je obdobné jako u základní metody 3D tisku. Rozdíl spočívá ve smíšení keramických částic, organických rozpouštědel a aditiv do formy inkoustu. Rozpouštědlo funguje jako dopravní prostředek pro keramické částice a řídí rychlost vysoušení polotovaru. Aditivy jsou disperzanty a vodivé soli, které umožňují nepřetržitý tisk. Díky obsahu vodivých solí je možno řídit nanášení inkoustu elektrickým polem. Kritickým bodem je výroba stabilního inkoustu. Nehomogenní struktura s vyloučenými aglomeráty vede ve výsledku ke špatné kvalitě polotovaru. V případě velkých nehomogenit a sraženin obsažených v inkoustu může dojít k zacpání trysky a přerušení tisku [6].

3.4.2 Robocasting

Pro nanášení koloidů s vysokým obsahem keramických částic se využívá metoda robocasting (obr. 3. 9). Koloid je nanášen nepohyblivou tryskou na zahřátou nebo porézní základní rovinu. Ta má tři stupně volnosti ve směrech x, y, z. Pohyb roviny určuje místo nanesení keramické vrstvičky. Obsah pevných částic v koloidu se blíží kritické hodnotě a pomocí obsahu pevných částic je kontrolována reologie roztoku. Minimální obsah rozpouštědla zaručuje malé smrštění. Je možno vyrábět běžné porézní struktury, 3D sítě i struktury s vysoce orientovanou porozitou [6, 35].

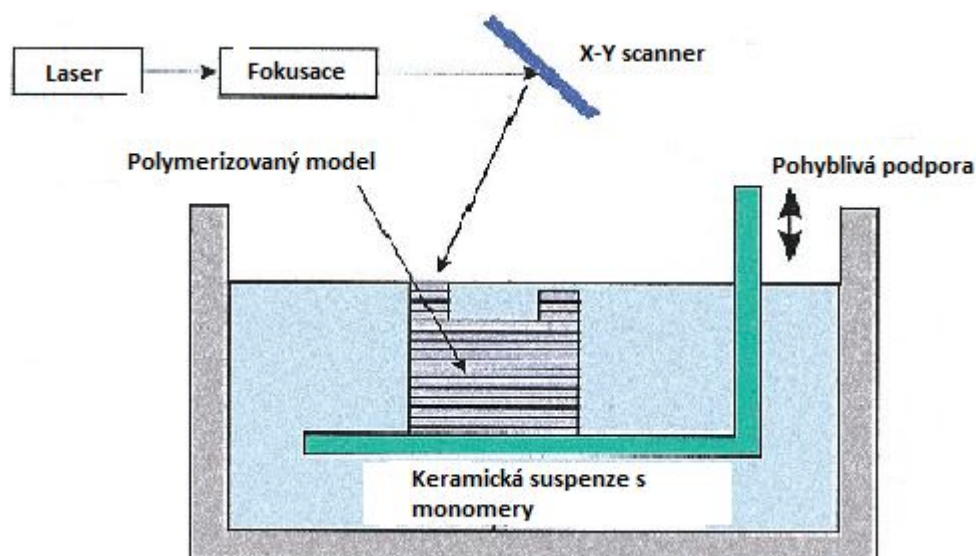


Obr. 3. 9 Robocasting [35]

3.4.3 Stereolitografie

Stereolitografie je metoda, při které dochází ke ztuhnutí koloidu působením ultrafialového záření. Ztuhnutí je vyvoláno polymerizací monomerů citlivých na toto záření.

Záření dopadající na hladinu koloidu vede k tvorbě jednotlivých vrstev polotovaru. Po odstranění polymerního pojiva a slinování vzniká keramický výrobek. Nevýhodou stereolitografie je cena suspenzí ovlivnitelných ultrafialovým zářením, zápach, toxicita a nutnost odstínění ultrafialového záření běžně přítomného v okolí. Jinak dojde k polymerizaci roztoku ještě před jeho použitím [6]. Celý proces lze demonstrovat na obrázku 3. 10 .



Obr. 3. 10 Stereolitografie [6]

3.4.4 Fused deposition of ceramics (FDC)

Materiál ve formě peletek ze směsi keramického prášku a pojiva je nasypán do vyhřívané trysky. Zde dochází k změknutí pelet. Nanášený materiál má těstovitý charakter. Směs zahřátá na cca. 200-260°C je ve formě vláken rozprostírána na pohyblivou základnu. Pevnost získává materiál ochlazením na pokojovou teplotu. Metoda je ve své podstatě velmi podobná robocastingu [6, 36].

3.5 Metody přípravy speciálních porézních struktur

V praxi se často setkáváme s potřebou vytvořit porézní strukturu se speciálními vlastnostmi. Může se jednat o vysoce orientovanou porozitou, přesnou velikost pórů či vláknitou strukturu s výbornými izolačními vlastnostmi. V tomto případě se ke slovu dostávají metody jako extruze, výroba porézní struktury spékáním dutých kuliček a výroba vláknitých keramických desek vrstvením.

3.5.1 Extruze

Extruze se využívá při výrobě lapačů pevných částic, filtrů a katalyzátorů. Výrobek se vyznačuje vysokou prodyšností ve směru kanálek. Samotný princip extruze spočívá v protlačování materiálu s konzistencí těsta přes síťovanou matici. Po vlastní mechanické extruzi přichází na řadu klasické kroky jako vypálení pojiva, vysoušení a slinování.

Strukturu připomínající včelí pláštěv lze získat i skládáním jednotlivých desek, prutů a jejich spojením v porézní strukturu [59].

3.5.2 Spékání dutých kuliček

Metoda pracuje s keramickými polotovary ve formě dutých koulí. Duté kuličky jsou vyráběny metodou vypalování pórotvorné látky. Získané kuličky mají poloměr 1 - 10 mm. Menší průměry jsou vyráběny z koloidních roztoků s využitím gelace. Průměr takto získaných kuliček se pohybuje v rozmezí 1 - 100 μm . Vlastní výrobní proces spočívá v předslinování kuliček umístěných do formy. Získaná struktura může být zpevněna zalitím keramickou suspenzí. Následuje slinování. Tímto způsobem lze získat struktury s hustotou menší než 10% hustoty teoretické. Vnitřní struktura je z většiny tvořena uzavřenou porozitou [59].

3.5.3 Výroba vláknitých keramických struktur

Vláknitá struktura je získána náhodným kladením keramických vláken na pohybující se pás. Potřebná tloušťka je získána přidáváním dalších vrstev vláken. Výsledkem je materiál, jehož vlastnosti se výrazně liší ve směru vrstvy a ve směru kolmém na vrstvu. Morfologii materiálu lze popsat jako nahodilou porézní síťovanou strukturu [59].

3.6 Využití metod v praxi

Obecně nelze definovat jednu metodu, která by svými parametry vždy stoprocentně splnila všechny požadavky na vyráběný implantát. Pokud není vyžadována vysoká geometrická složitost implantátu, lze s výhodou užít templátových metod a metod pění *in-situ*.

Požadujeme-li geometrickou složitost součásti, které není možno docílit výše zmíněnými metodami, lze využít metody SFF. Výhody metod SFF spočívají ve vytvoření implantátů s přesně řízenou velikostí pórů, jejich správnou distribucí a přesným tvarem. Oblasti metod SFF je připisován velký význam v oblasti výroby implantátů.

4 BIOKERAMICKÉ PODPŮRNÉ SYSTÉMY

Podpůrné systémy, anglicky nazývané "scaffolds", mají velkou budoucnost v moderní medicíně. Při úrazech, nádorových onemocněních i vlivem stáří dochází k degradaci kostní tkáně, kterou je nutno odstranit. Vakantní místo je potřeba vyplnit, zde přicházejí ke slovu scaffoldy.

Scaffold tvoří jeden velký bioreaktor. Poskytuje nejen výplň, ale i místo k uchycení kostních buněk, prostor pro jejich proliferaci a růst. V ideálním případě nová tkáň zcela vyplní porušené místo. Velký důraz při vývoji musí být kladen na biologické vlastnosti. Materiál musí být bioaktivní a částečně nebo zcela vstřebatelný. Chemické složení musí být biologicky nezávadné, materiál nesmí vykazovat známky cytotoxicity [38, 39].

Významnou roli má také geometrie scaffoldu a jeho mechanické vlastnosti. Vliv na úspěšnou proliferaci buněk a vaskularizaci tkáně má velikost pórů v materiálu. Jednotlivé póry musí být propojené. Z hlediska mechanických vlastností klademe protichůdné požadavky. Pro aplikace v namáhaných místech je nutná dostatečná pevnost a lomová houževnatost materiálu. Tyto vlastnosti jsou ovšem v přímém rozporu s požadavkem na jeho porozitu [38].

4.1 Biologické vlastnosti materiálů

Správné biologické vlastnosti materiálu jsou nutnou podmínkou výroby kvalitního scaffoldu. V případě inertních materiálů typu Al_2O_3 nedochází k vytvoření chemické vazby mezi implantátem a tkání. Výsledkem může být relativní mikropohyb náhrady a tkáně, vedoucí ke zhoršení funkčnosti implantátu, popřípadě poškození hostitelské tkáně. Nutností je biologická fixace implantátu, spočívající ve vzniku vazby mezi tkání a implantátem [40].

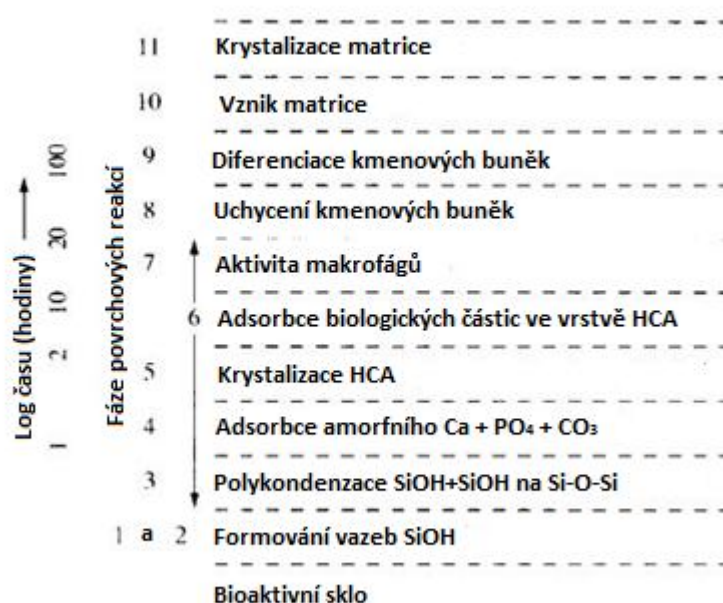
4.1.1 Bioaktivita

Bioaktivní materiál transplantovaný do živé tkáně zapříčiní sérii biofyzikálních a biochemických reakcí vedoucích ke vzniku stabilního mezifázového rozhraní tkáň-náhrada. Se zvyšujícím se průměrným věkem pacientů je nutná fixace funkční po desítky let. Podstata bioaktivity byla objevena v roce 1969 L. L. Henchem [41]. Koncept započatý touto prací vedl ke vzniku mnoha bioaktivních materiálů na bázi keramiky. Jedná se například o bioskla (Bioglass®), sklokeramiky (Ceravital®), fosforečnanové keramiky (HA) a bioaktivní kompozity na bázi HA - PE. Jednotlivé biomateriály se liší mechanismem uchycení, silou mezifázového rozhraní a časem nutným k vytvoření vazby.

Míra bioaktivity je dána časem, během kterého dojde k vytvoření vazby mezi více než 50% mezifázového rozhraní. Index bioaktivity, navržený Henchem, má tvar $I_b = 100/t_{0.5bb}$. Kde $t_{0.5bb}$ je právě čas potřebný k vytvoření vazby mezi 50% rozhraní tkáň - implantát [40].

Mechanismus bioaktivní vazby je popisován jako časově závislá kinetická změna povrchu implantátu započatá v okamžiku implantace. Pro případ dobře prozkoumaného materiálu Bioglass® jde o jedenáct fází. Prvních pět se odehrává na povrchu Bioglass®, nezávisí na přítomnosti tkáně. Reakce vedou ke vzniku hydroxy-karbon apatitové vrstvy (HCA) na povrchu implantátu. Reakce probíhá v destilované vodě nebo ve fyziologickém roztoku. Fáze 6 – 11 jsou nezbytné k uchycení implantátu. V těchto fázích dochází k uchycení kostních buněk na povrch, jejich proliferaci a srůstu s implantátem. Jednotlivé fáze jsou uvedeny v tab. 4. 1 [40].

Bioaktivní materiál



Tab. 4. 1 Průběh reakcí při vytváření biologické vazby mezi biosklem a tkání [40]

4.1.2 Vstřebatelnost

Z myšlenky: „Nejlepší náhrada = žádná náhrada“, vychází koncept vstřebatelných materiálů. Vstřebatelné implantáty jsou navrhovány jako s časem degradující, postupně nahrazované hostitelskou tkání [40]. Funkce ideálního scaffoldu spočívá právě ve dvou fázích. První je vytvoření fixační vrstvy popsané výše. Druhým krokem je degradace scaffoldu probíhající současně se vznikem nové kostní struktury.

Během procesu degradace je uvolněno velké množství materiálu do tkáně. Materiál musí být metabolicky akceptovatelný. To vede k jeho bezpečnému odstranění a zamezení intoxikace tkáně. Stejně tak rychlost resorpce materiálu musí být úměrná rychlosti růstu nové tkáně [40]. V opačném případě dochází k nedostatečnému залечení vakantního místa.

Vstřebání implantátu optimálně řeší problém porézních biomateriálů spojený s jejich nedostatečnou pevností, omezující jejich použití v mechanicky zatížených částech těla (kyčle, kolena).

4.2 Keramické materiály pro porézní implantáty

Materiál tvořící vlastní scaffold musí splňovat biologické požadavky popsané výše. Nejčastěji používanými materiály jsou keramiky na bázi fosforečnanu vápenatého a bioaktivní skla, popřípadě sklokeramiky.

4.2.1 Keramika na bázi fosforečnanu vápenatého

Keramiky tohoto typu mají chemicky velmi blízko k chemickému složení vlastní kosti. Stabilní fáze fosforečnanové keramiky výrazně závisí na teplotě a přítomnosti vody. Při

tělesné teplotě v přítomnosti vody existují jenom dvě stabilní formy. Pokud je $\text{pH} < 4,2$ stabilní fází je $\text{CaHPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (monohydrát hydrogenuhličitanu vápenatého), při $\text{pH} > 4,2$ je stabilní fází $\text{Ca}_{10}(\text{PO})_6(\text{OH})_2$ (hydroxyapatit, HA). Při vyšších teplotách jsou stabilní i jiné formy jako $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, jinak nazývaný TCP. Nehydratovaná vysokoteplotní forma $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ reaguje při tělesné teplotě za přítomnosti vody. Na mezifázovém rozhraní vzniká HA. Nespornou výhodou HA je fakt, že se jedná o hlavní složku kosti [29, 42].

Sintrování probíhá za teplot v rozmezí $1000^\circ\text{C} - 1500^\circ\text{C}$. Fáze vznikající při vysoké teplotě nezávisí pouze na teplotě, ale i na parciálním tlaku vodní páry v sintrovací atmosféře pece. HA může být stabilní i při teplotách 1360°C za předpokladu přítomnosti vodní páry. Bez atmosféry obsahující vodní páru se HA rozkládá na stabilní fáze $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$ a $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Teplotní stabilita HA fáze narůstá s parciálním tlakem vodních par. Díky kinetickým bariérám, které ovlivňují vznik stabilních fosforečnanových fází, je často těžké předpovídat množství vysokoteplotních fází přítomných po slinování. Bez přesného odhadu fázového složení není ovšem možné přesně popsat chování materiálu za pokojové teploty [42].

Mechanické vlastnosti silně omezují oblast použití keramik na bázi fosforečnanu vápenatého. Maximální napětí v tahu a únavová odolnost závisí na porositě materiálu. Závislost pevnosti v tlaku σ_c na objemovém podílu pórů V_p je dán vztahem [42]:

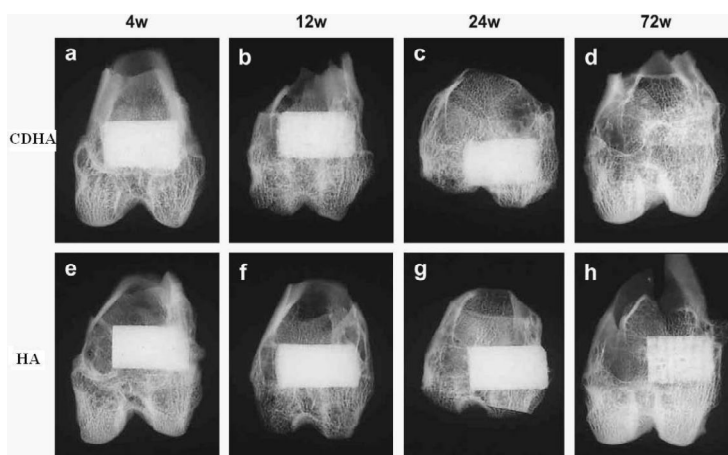
$$\sigma_c = 700 * e^{-5V_p} \text{ [MPa]}$$

Pevnost v krutu σ_t je velmi výrazně závislá na objemovém podílu mikroporéznosti V_m [42].

$$\sigma_t = 220 * e^{-20V_m} \text{ [MPa]}$$

Implantáty na bázi TCP či HA vykazují nízkou spolehlivost při zatížení. Jejich použití je tedy omezeno na případy nezatížených implantátů, kde vrůstající kostní tkáň působí jako zpevňující fáze. Časté je i použití jako bioaktivní vrstvy kovových implantátů [42].

Rychlost vstřebání implantátu lze korigovat užitím dvoufázových kompozitů HA+TCP.



Obr. 4. 1 Implantát v králíčím femuru a) 4 týdny b) 12týdnů c) 24 týdnů d) 72 týdnů po implantaci. Složení kompozit HA + TCP. E-h stejné časové období, implantát je čistý HA [38]

TCP je fáze méně stabilní v přítomnosti fyziologických tekutin. Tudíž vyšší podíl TCP vede k rychlejšímu vstřebání implantátu, viz. obr. 4. 1 [38].

Mechanismus uchycení HA implantátu se od mechanismu pro bioaktivní skla, popsaného výše, liší. V principu jsou uváděny dva základní modely.

První model lze nazvat modelem rozpouštění a precipitace. Po transplantaci dojde na povrchu implantátu ke změně kyselosti. Změna kyselosti vyústí ve zvýšenou buněčnou aktivitu. Buňky produkují enzymy, které vedou k částečnému rozpouštění HA. Rozpouštění zapříčiní uvolnění iontů Ca^{2+} , HPO_4^{2-} a PO_4^{3-} . Dojde k přesycení okolí implantátu těmito ionty. Celý proces vede k vytvoření biologické HCA vrstvy. Ta se vyloučí ve formě tenké vrstvy na krystalech původní HA fáze [40].

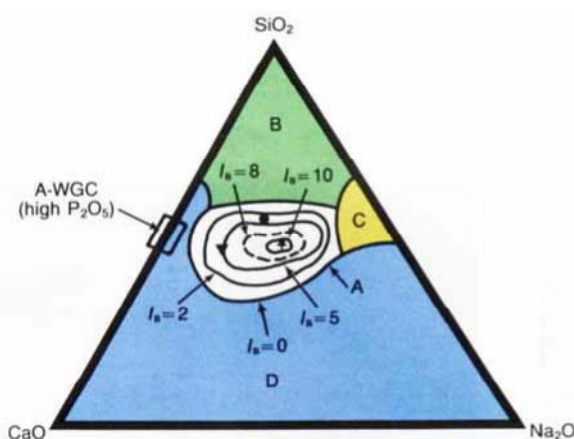
Druhým modelem je model epitaxního růstu. Rozpustnost HA je řízena chemickým složením, strukturou, mikroporozitou a mezní rozpouštěcí rychlostí HA. Při jistých podmínkách implantace nebude HA jevit zřetelné známky degradace a kostní tkáň se bude vázat přímo na scaffold epitaxně. To znamená, že tenká vrstva kostní tkáně bude růst na HA substrátu a bude bezprostředně navazovat na krystalickou mříž substrátu [40].

4.2.2 Bioaktivní skla a sklokeramiky

Speciální druhy skel a sklokeramik mají schopnost vytvářet vazbu s původní kostí, popřípadě i s měkkou tkání. Na povrchu těchto materiálů dochází k chemické reakci vedoucí ke vzniku HCA (hydroxykarbonapatitové) mezní vrstvy. Tato vrstva zprostředkovává uchycení implantátu ve tkáni. Pevnost vazby je srovnatelná i vyšší než kohezivní pevnost implantátu. Všechna bioaktivní skla obsahují SiO_2 , Na_2O , CaO a P_2O_5 smíchané v určitém poměru. Od konvenčních skel je odlišují tři základní rysy:

1. Obsahují méně než 60 mol% SiO_2
2. Mají vysoký obsah Na_2O a CaO
3. Vysoký poměr $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$

Tyto skutečnosti zapříčiňují vysokou reaktivitu povrchu vystaveného rozpouštědla na bázi vody (tělní tekutina). Většina bioaktivních skel je založená na formuli 45S5. Označení poukazuje na materiál se složením: 45 hmot. % SiO_2 , S (síra) a s poměrem $\text{Ca}/\text{P}=5/1$. Při



Obr. 4. 2 Vliv složení na vznik vazby s kostí a měkkou tkání [42]

nižším poměru nedochází ke vzniku vazby s kostí. Velký vliv na vznik vazby implantát - kost má přidání Al_2O_3 . Při pouhých 3 hmot. % nedochází ke vzniku biologické vazby. Vliv složení bioaktivních skel na vznik vazby ukazuje obr. 4. 2.

Oblast A na obrázku 4. 2 je oblast, ve které dochází ke vzniku vazby s tkání. Oblast B je oblast skel používaných v oknech a lahvích atd.... Oblast C jsou vstřebatelná skla. Vstřebatelnost je 10 – 30 dní od transplantace. Oblast D jsou skla technicky nepraktická a nepoužívaná [42].

V praktické medicíně se povlak z Bioglass® užívá například na povlakování kochleárních implantátů. Vrstva 45S5 Bioglass® ukotvuje platinové elektrody implantátu do tkáně. Využití 45S5 Bioglass®, pro přípravu porézní struktury, diskutuje práce Devise Bellucciho [43]. Bellucci užitím replikační metody s polymerní hubkou smáčenou v suspenzi 45S5 Bioglass® získal vysoce porézní bioaktivní keramickou strukturu.

4.3 Porozita, velikost pórů a jejich vliv na srůst implantátu a tkáně

Porozita je definována jako procento volného objemu v pevném materiálu. Jde o morfologickou vlastnost nezávislou na typu materiálu. Z geometrického hlediska rozlišujeme mikroporozitu (velikost pórů < 10 μm) a makroporozitu (velikost pórů > 50 μm). Makroporozita má přímý vliv na osteogenezi. Kromě mikro a makroporozity musíme zohledňovat i drsnost povrchu pórů [44]. Pokusy jasně ukazují, že drsnost a mikrodrsnost povrchu mají přímý vliv na vznik a růst kostní tkáně [45].

4.3.1 Metody výpočtu porozity

Pro výpočet porozity uvedme vztahy z [44]. Celková porozita Π je určena gravimetrií podle rovnice :

$$\Pi = 1 - \rho_{\text{scaffold}}/\rho_{\text{material}}$$

kde ρ_{material} je hustota materiálu, ze kterého je scaffold vyroben, ρ_{scaffold} je zdánlivá hustota scaffoldu měřená jako podíl hmotnosti a objemu scaffoldu.

Metoda založená na intruzi rtuti je užívána k měření porozity i velikosti pórů. Scaffold je umístěn do penetrometru a pod tlakem je do něj vstříkována rtuť. S rostoucím tlakem P poloměr pórů r , které mohou být zaplněny klesá podle Washburnovy rovnice:

$$P = 2\sigma\cos\theta/r$$

kde σ je povrchové napětí rtuti a θ je kontaktní úhel. Otevřená porozita π je definována jako:

$$\pi = V_{\text{intrusion}}/V_{\text{scaffold}}$$

kde $V_{\text{intrusion}}$ je celkový objem pohlcené rtuti a V_{scaffold} je objem scaffoldu. Uzavřená porozita ϖ může být odhadnuta jako :

$$\varpi = \Pi - \pi$$

K výpočtu otevřené porozity může být použita i metoda přesunutého objemu. Scaffold je ponořen do známého objemu V_1 látky, ve které se scaffold nerozpouští. Následuje několik cyklů střídavého podtlaku a přetlaku, který donutí tekutinu natéct do pórů. Po cyklování je zjištěn objem V_2 , což je celkový objem scaffoldu a kapaliny. V nádobě zůstane po odstranění naimpregnovaného scaffoldu objem V_3 . Otevřená porozita je dána vztahem :

$$\pi = (V_1 - V_3)/(V_2 - V_3)$$

4.3.2 Vliv porozity na regeneraci kostní tkáně

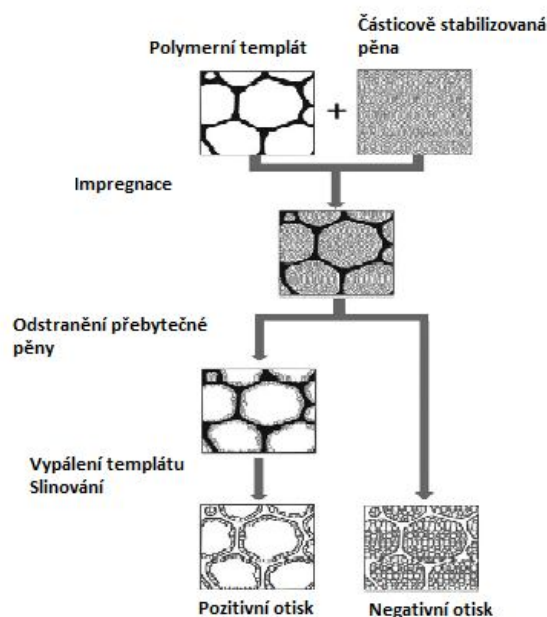
Porozita implantátu znamená více místa pro vytvoření nové tkáně. Logicky by měla vyšší porozita znamenat rychlejší vrůst tkáně a tudíž rychlejší upevnění implantátu v těle

příjemce. Důležité je uvědomit si skutečnost, že samotná vysoká poréznost struktury nezajistí schopnost buněk vrústat do implantátu. Hlavním faktorem ovlivňujícím schopnost buněk implantát osídlit je velikost pórů. Teprve vhodnou kombinací porozity a velikosti pórů dosáhneme vzniku nové kosti s vlastnostmi, které odpovídají kosti původní. [38].

4.3.3 Vliv velikosti pórů na osteogenezi

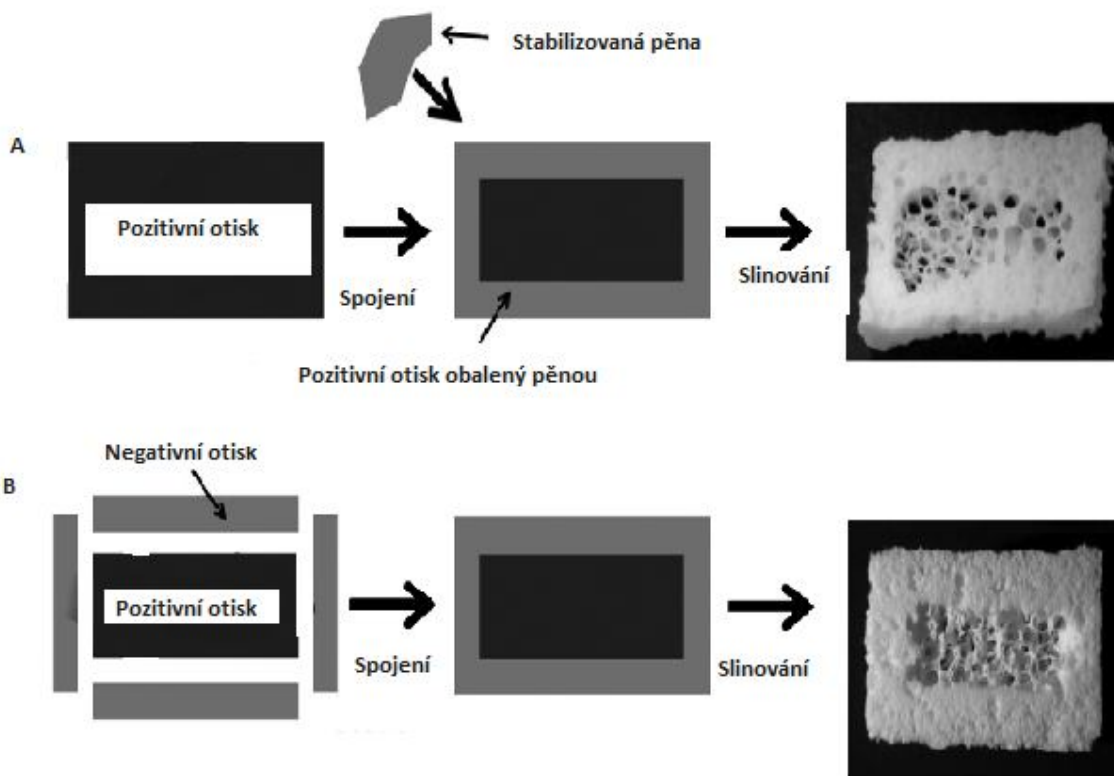
S respektem k průměrné velikosti osteonů v lidském těle ($223\mu\text{m}$) byla optimální velikost pórů stanovena na více než $300\mu\text{m}$ [38]. Tato velikost zajistí dostatečnou hloubku vrústu kostní tkáně a její vaskularizaci. Póry menší velikosti mohou způsobovat zaškrcení vznikajících cév což vede k hypoxii tkáně. Zajímavostí je zjištění, že vznik tkáně je podmíněn i geometrií pórů. Podlouhlé a zakřivené póry zapříčiňují horší vrúst kostní tkáně do implantátu [44]. Vliv radiálního a ortogonálního rozmístění pórů ve struktuře materiálu studuje [46]. Ukazuje se, že ortogonální design implantátu vede k rychlejšímu prorůstání kostní tkáně.

Pro kost je typická změna velikosti pórů s narůstající hloubkou místa pod povrchem kosti. Při vytváření scaffoldu musí být na tato fyziologická specifika brán ohled. Jednou z možností je výroba scaffoldu s proměnnou velikostí pórů uvedená ve [20]. Scaffold je vyroben ze stejného materiálu. Rozdílná velikost pórů je získána pomocí metody pozitivního a negativního otisku templátu. Způsob výroby pozitivních a negativních otisků je názorně vysvětlen na obrázku 4. 3.



Obr. 4. 3 Výroba pozitivního a negativního otisku templátu [20]

Vytvořením scaffoldu, složeného z částí vyrobených ve formě pozitivního a negativního otisku, lze získat materiál s odlišnou velikostí pórů na povrchu a uvnitř materiálu (obr. 4. 4)



Obr. 4. 4 Metoda výroby scaffoldu s odlišnou velikostí pórů v jádře a na povrchu

A- Pozitivní otisk obalený stabilizovanou pěnou

B- Složení scaffoldu z částí vyrobených cestou pozitivního a negativního otisku

[20]

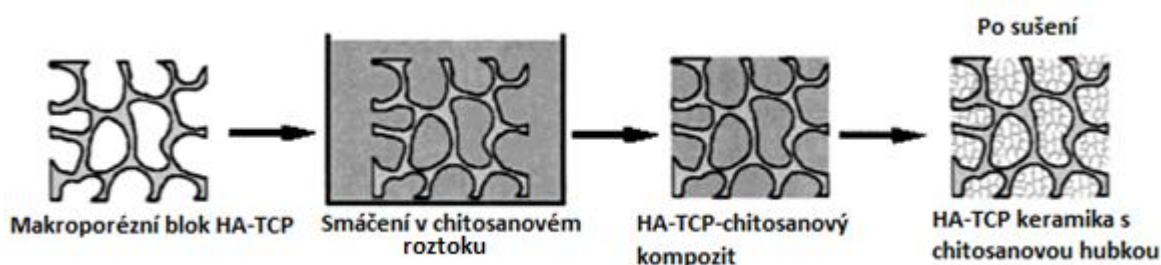
4.4 Vliv porozity na mechanické vlastnosti porézních biokeramik

Ačkoli je vysoká porozita struktury vyžadována, její dopad na mechanické vlastnosti bývá fatální. Se zvyšující se porozitou prudce klesá mechanická pevnost náhrad. Pokles mechanické pevnosti ukazuje Barralet a kol. [47]. Kdy s narůstající porézností klesá pevnost v tlaku fosforečnanové keramiky z 37MPa při celkové poréznosti 31 % na 430 kPa při celkové poréznosti 63 % a Weibulův modul ze 4,2 na 2, kde Weibulův modul je bezrozměrné číslo charakterizující variabilitu měřené pevnosti komponenty vyrobené z křehkého materiálu.

Pro HA je obecně typický vysoký pokles pevnosti v tlaku se vzrůstající porozitou. Příkladem uvádím případ, kdy při porozitě 76,7 % byla naměřena pevnost v tlaku 7,4 MPa, zatímco při hodnotě 80,2 % klesla hodnota na 4,4 MPa [34]. Obecně nejvyšších pevností v tlaku dosahují porézní struktury vyráběné z částicově stabilizovaných suspenzí. U nich se pohybuje pevnost v tlaku nad hodnotami 16 MPa při porozitě dosahující až 90 % [19].

4.4.1 Zlepšení mechanických vlastností porézních biokeramik

Zlepšit mechanické vlastnosti se pokouší ve své práci např. Zhang [48]. Jeho přístup spočívá ve vytvoření HA - TCP porézní struktury. Ta je po slinování namáčena v roztoku chitosanu. Po vakuování je vzorek přemístěn do mrazicího boxu. Vzorek se vysušuje při -5°C. Uvnitř makroporózního materiálu vzniká porézní chitosanová výplň. Ta má za následek zlepšení mechanických vlastností materiálu a vylepšuje biologické vlastnosti scaffoldu (obr. 4. 5).



Obr. 4. 5 Postup výroby kompozitního scaffoldu s chitosanovou výplní [48]

Jinou možností je vytvoření kompozitního scaffoldu podle [49] (obr. 4. 6). Kostra scaffoldu je tvořena z Al_2O_3 . Vysušená kostra byla následně impregnována směsí HA/TCP a vypálena. Běžná HA/TCP struktura vykazuje pevnost v tlaku 0,3 – 3,3 MPa při porozitě 90 – 65 %. Výsledkem procesu v [49] je porézní struktura (90 %) s pevností v tlaku až 6 MPa.

Možností využívanou hlavně u keramických cementů je vyztužení whiskery. Müller a kol. [50] ukazují možnost využití HA whiskerů pro vyztužení HA cementů. Nárůst pevnosti v tlaku je až o 60%.



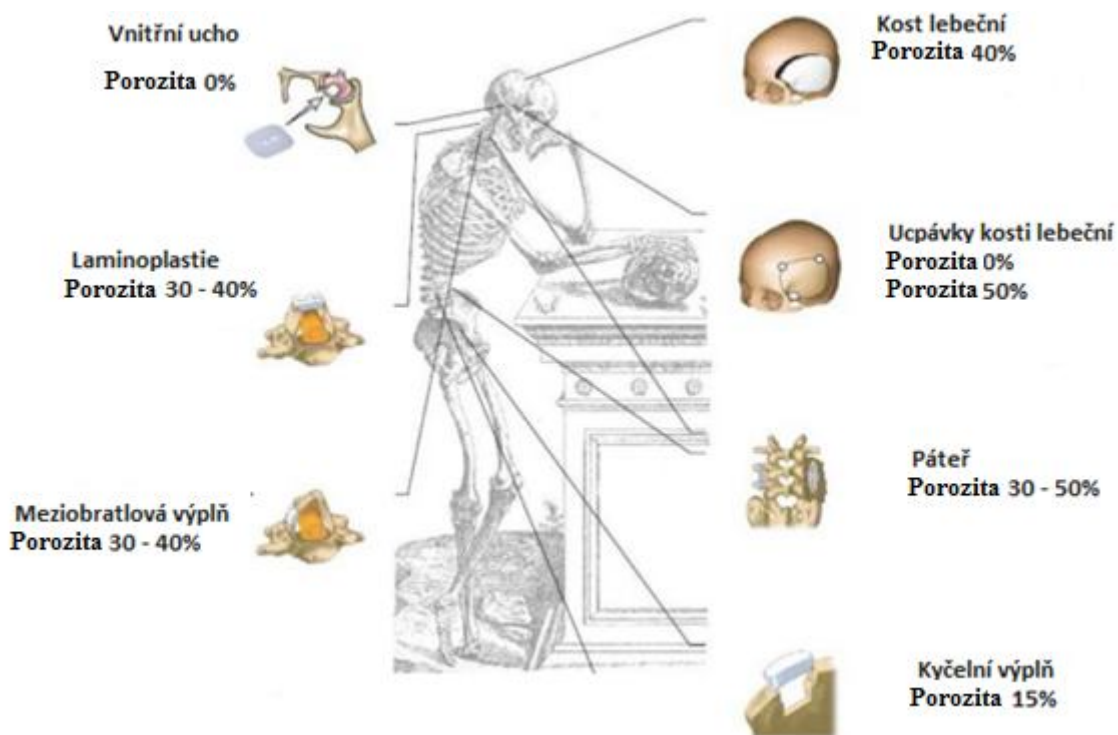
Obr. 4. 6 A- vlákno Al_2O_3 pokryté vrstvou HA, B- pohled na celkovou kompozitní strukturu [49]

4.5 Vyhodnocení cytotoxicity materiálu

Materiály používané pro výrobu scaffoldu samy o sobě cytotoxické nejsou. Samotné ověření biologické nezávadnosti scaffoldu je nutné s ohledem na možné ovlivnění materiálu výrobním procesem. Test cytotoxicity je ve své podstatě jednoduchá zkouška. Na jedné Petriho misce je kontrolní vzorek buněk. Na dalších Petriho miskách jsou kultury buněk rozmíchané ve vodě obsahující nadrcený scaffold. Zjišťuje se zda, a při jaké koncentraci dojde k usmrcení 50 % buněk z populace [34].

4.6 Oblasti použití porézní biokeramiky v současné medicíně

Obrázek 4. 7 názorně ukazuje oblasti lidského těla, ve kterých se počítá s užitím scaffoldů. Požadovaná porozita se odvíjí od typu kosti a požadovaných mechanických vlastností.



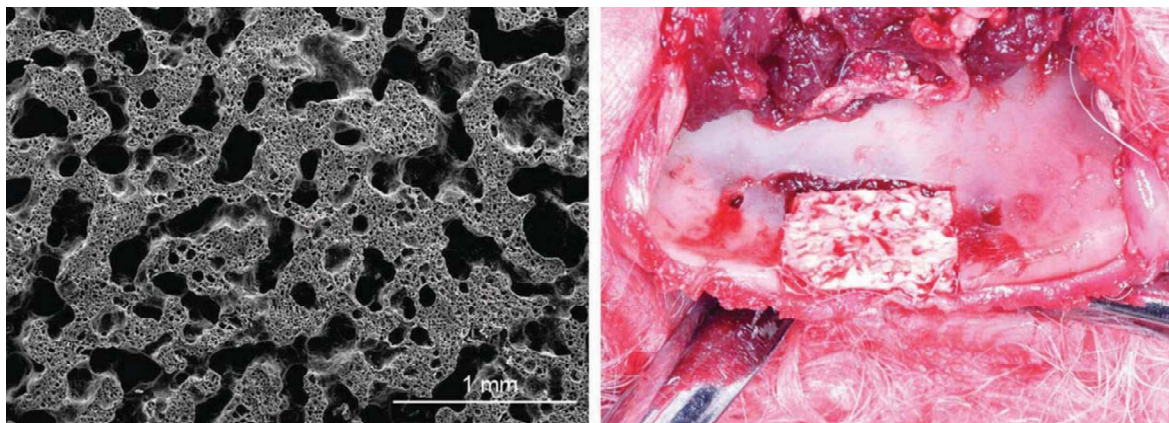
Obr 4. 7 Oblast použití biokeramických scaffoldů [51]

Většina výzkumu v oblasti bioaktivních scaffoldů dnes probíhá hlavně na laboratorní úrovni. Jsou uváděny rozsáhlé studie zabývající se chováním scaffoldů implantovaných do zvířat [51]. Hlavním předmětem studia je vyhodnocení bioaktivity materiálu a jeho biologické nezávadnosti.

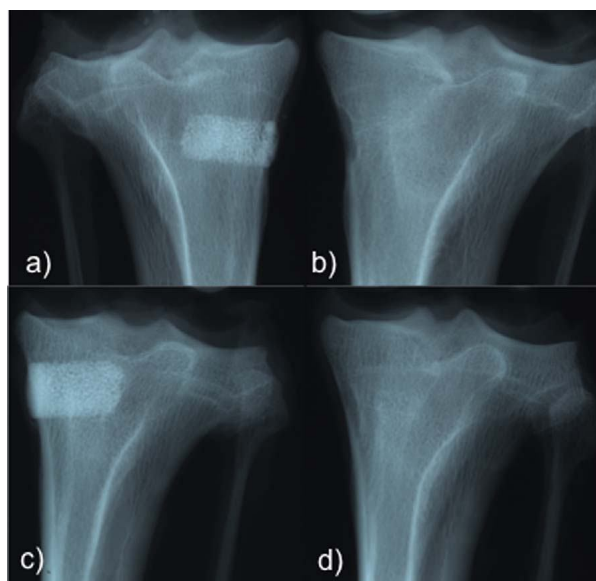
Mezi nejčastěji studované problémy patří mandibulární defekty [52]. Objektem zkoumání byli králci s implantovanými n-HA/PA scaffoldy v oblasti čelisti (obr. 4. 8). Postupně po 4, 8 a 16 měsících byli králci utraceni. Na vzorcích byla zkoumána schopnost proliferace buněk a rychlost osteogeneze.

Scaffoldy nachází své uplatnění i v oblasti léčby dlouhých kostí [53]. Cílem studie bylo zjistit, zda scaffoldy na bázi HA a TCP nahradí chybějící tkáň v oblasti kloubu na holenní kosti německého ovčáka. Struktura tvořená TCP po šesti měsících degradovala a byla

nahrazena kostní tkání. Na HA scaffoldu nebyly ani po 15 měsících známky resorbce (obr. 4. 9).

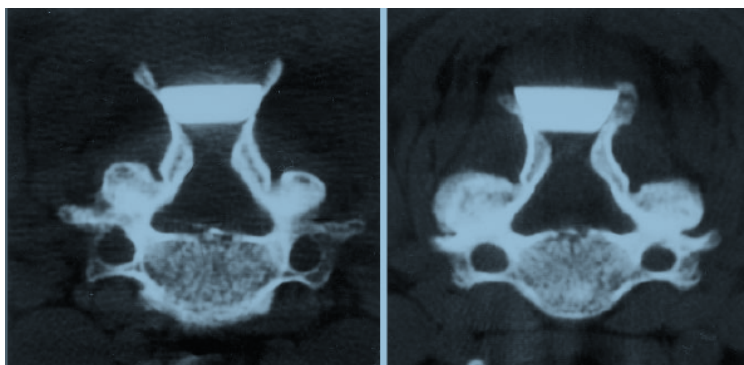


Obr 4. 8 Struktura HA scaffoldu a implantát v čelisti králíka [52]

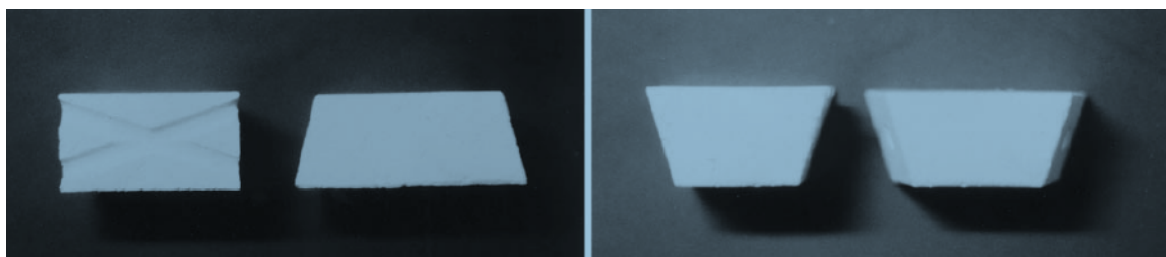


Obr. 4. 9 a) HA scaffold po 5 měsících od transplantace, b) Téměř úplná resorpce TCP scaffoldu po 6 měsících, c) HA scaffold po 15 měsících, d) úplná resorpce TCP scaffoldu po 15 měsících [53]

V oblasti lidské medicíny jsou scaffoldy často užívány při operacích páteře [54, 55, 57] a při ortopedických operacích [56, 57]. Poréznost použitých náhrad bývá kolem 30 % - 40 % pro laminoplastii páteře (obr. 4. 10 a 4. 11). Jako meziobratlové výplně se používá HA keramika s porézností 0 % - 15 %. K výplni dlouhých kostí bývají užívány porézní granulky nebo bloky [38].



Obr. 4. 10 Rentgenový snímek po laminoplastii, zřetelně jdou vidět keramické scaffoldy užívané při operaci [54]



Obr. 4. 11 HA bloky užívané při laminoplastii [54]

Dnešní vývoj směřuje ke scaffoldům tvz. třetí generace [38]. Tyto scaffoldy by měly být již při výrobě osazeny kmenovými buňkami a nadopovány růstovým faktorem. Předpokládá se zrychlený srůst náhrady s tkání a kratší doba rekonvalescence.

5 ÚVODNÍ EXPERIMENTY

Úvodní experimenty se zabývaly testy gelace systémů na bázi epoxidů, které jsou využitelné v metodě gelcasting. Cílem bylo stanovit složení, které povede k výrobě gelu o správných parametrech. Pokusy ověřené složení bude dále použito pro získání porézní keramiky ve spojení s metodou napěňování *in-situ*.

Základním požadavkem je dostatečná rychlost ztuhnutí gelu zajišťující stabilitu pěny. V opačném případě dochází ke kolapsu napěněné struktury a degradaci pěny.

5.1 Použitý materiál

Pro vytvoření jednotlivých vzorků gelu byly použity následující chemikálie:

1. Destilovaná voda, sloužící jako rozpouštědlo.
2. Quetol 651 (EGDGE, Electron microscopy sciences, Hatfield, USA), jedná se o nízko viskózní ve vodě rozpustný epoxidový monomer.
3. DPTA (dipropylenetriamin, Sigma-Aldrich CHEMIE, Německo), jde o síťující monomer, který v kombinaci s EGDGE vytvoří organický gel
4. Dolapix CE 64 (Zschimmer and Schwarz, Německo), disperzant.
Darvan 821A (R.T. Vanderbilt Company, USA), disperzant.
5. Triton X 100 (Sigma-Aldrich, USA), povrchově aktivní látka stabilizující pěnu.

Vážení probíhalo na digitálních vahách Metler-Toledo B303. Homogenizace směsi byla zajištěna mícháním na elektromagnetické míchače Heidolph MR Hei-mix D. Pro udržování stálé teploty u vzorků tuhoucích za zvýšené teploty byla užita sušička Memmert UNB 100.

5.2 Postup přípravy

Přesné složení jednotlivých vzorků společně s časem gelace, popisem morfologie a optickými vlastnostmi gelu jsou uvedeny v tabulce 5. 1.

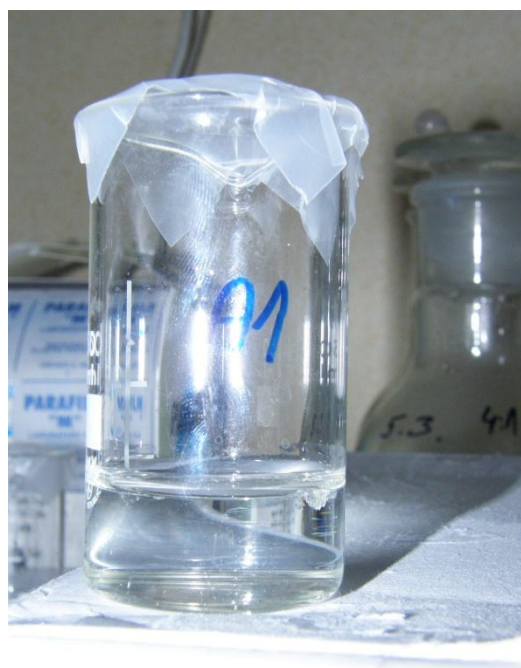
Obecně se postup přípravy vzorku shodoval pro všechna složení. Prvním krokem bylo odvážení destilované vody na laboratorních vahách. Následně byla pipetou přidána stanovená hmotnost EGDGE. Po dobu 5 minut byla směs míchána rychlostí 250 ot.min⁻¹. Po uplynutí tohoto času byly přidány další přísady (dle složení daného vzorku). Nakonec bylo přidáno DPTA. Přidání této látky vede k chemické reakci a ke vzniku gelu. Po promíchání všech přidávaných látek (cca 5 minut), byla kádinka odstavena z míchače. Hrdlo kádinky bylo přikryto fólií, aby nedocházelo k odpaření vody ze směsi. Odstavená směs byla v desetiminutových intervalech kontrolována. U vzorků označených horním indexem 50 probíhala gelace za teploty zvýšené na 50°C. Gelace byla prohlášena za ukončenou ve chvíli, kdy po zatřesení s kádinkou hmota nejevila známky tekutosti.

5.3 Výsledky

Vzorek A ověřil schopnost směsi EGDGE a DPTA vytvořit gel. Bylo zjištěno, že přidáním Dolapixu do směsi shodné se směsí A nedojde ani po 24 h k vytvoření gelu. Toto zjištění je nepříjemné kvůli faktu, že Dolapix jako disperzant udržuje stabilitu keramického koloidu. Vzorek s označením C ukazuje, že přidáním Tritonu ke vzniku gelu dojde. Gel s obsahem Tritonu lze poznat pouhým okem, jelikož Triton způsobuje jeho mléčný zákal. Pro ověření změny rychlosti gelace při zvýšení teploty byl připraven vzorek A1⁵⁰. Výsledný čas jasně

dokazuje její vyšší rychlost při teplotě 50°C (srovnáno s časy gelace systému A a A1). Z důvodu vlivu Dolapixu na vznik gelu byly připraveny ještě vzorky B a D. Dolapix v nich byl nahrazen Darvanem, který nezpůsobil problémy s gelací.

Mechanické vlastnosti gelů byly ověřeny pouze "v ruce". Nejpevnější se jevil vzorek C. Gely s obsahem Darvanu se vyznačovaly tím, že se drobily. Všechny až na ty s obsahem Tritonu byly čiré. Triton způsoboval mléčný zákal. Pro praktické využití se jeví jako nejvhodnější gelaci pěny provádět při teplotě zvýšené na 50°C, která reakci urychluje.



Obr. 5. 1 Vizuální rozdíl mezi systémem C obsahujícím Triton a systémem A1 bez Tritonu

Označení vzorku	Složení	Čas gelace	Optické vlastnosti	Poznámky
A	11,92 g H ₂ O 1,58 g EGDGE 528 μl DPTA	115' zvýšení viskozity 130' Gel	Čirý	
B	11,92 g H ₂ O 1,58 g EGDGE 528 μl DPTA 142μl Dolapix	–	–	Nezgelovalo
C	11,92 g H ₂ O 1,58 g EGDGE 528 μl DPTA 142μl Dolapix 450μl Triton	80' Zakalení 95' Zvýšení viskozity 116' Gel	Mléčný zákal	Nejvyšší tuhost Triton způsobuje zákal
A1	11,92 g H ₂ O 1,58 g EGDGE 528 μl DPTA	105' Geluje 120' Gel	Čirý	Tuhost všech sytémů A pocitově stejná
A1 ⁵⁰	11,92 g H ₂ O 1,58 g EGDGE 528 μl DPTA	30' Gel	Čirý	
B _{darvan}	11,92 g H ₂ O 1,58 g EGDGE 528 μl DPTA 142μl Darvan	155' Gel	Čirý	Zapáchá po amoniaku Křehký, drobný
B _{darvan} ⁵⁰	11,92 g H ₂ O 1,58 g EGDGE 528 μl DPTA 142μl Darvan	40' Gel	Čirý	Zapáchá po amoniaku Křehký, drobný
D _{darv+triton}	11,92 g H ₂ O 1,58 g EGDGE 528 μl DPTA 142μl Darvan 450μl Triton	145' Gel	Mléčný zákal	Zapáchá po amoniaku Křehký, drobný
D _{darv.+triton} ⁵⁰	11,92 g H ₂ O 1,58 g EGDGE 528 μl DPTA 142μl Darvan 450μl Triton	40' Gel	Mléčný zákal	Zapáchá po amoniaku Křehký, drobný

Tab. 5. 1 Složení vzorků a výsledky gelace

6 ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo vytvořit rešerši shrnující poznatky z oblasti výroby porézních keramik a především biokeramických porézních struktur (angl. scaffolds) a provedení prvotních experimentů týkajících se jejich výroby.

V rešeršní části byl shrnut postup přípravy porézních keramik od přípravy stabilních koloidních suspenzí, až po jednotlivé metody konsolidace a tvarování porézních keramických struktur. Metody uvedené v rešeršní části byly diskutovány s ohledem na jejich možné uplatnění při výrobě biokeramických porézních struktur.

V části věnující se využití porézních keramik v medicíně byly shrnuty základní poznatky a požadavky na jejich strukturu, vlastnosti a proveden přehled použití těchto struktur v současné medicíně.

V praktické části se podařilo realizovat pokusy s gely na bázi epoxidů. Z výsledků je možné si utvořit základní představu o rychlosti gelace směsi v závislosti na jejím složení. Výsledky prvotních pokusů budou využity při dalším výzkumu výroby porézních struktur pěněním *in-situ*.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] LEWIS, Jennifer A. Journal of the American Ceramic Society. *Colloidal processing of ceramics*. 2000, roč. 83, s. 2341 -2359
- [2] TRUNEC, Martin, MACA, Karel. Advanced Ceramic Processes. *Advanced Ceramics for Dentistry*. Elsevier, 2014, s. 123
- [3] Reologie. In: [online]. 21. 3. 2013 [cit. 2014-04-01]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Reologie>
- [4] MEWIS, J, WAGNER, Norman Joseph. *Colloidal suspension rheology*. New York: Cambridge University Press, 2012, xxi, 393 p. ISBN 05-215-1599-8.
- [5] KVÍTEK, Libor, PANÁČEK, Aleš. *Základy koloidní chemie*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007, 70 s. ISBN 978-80-244-1669-4.
- [6] SIGMUND, Wolfgang M., BELL, Nelson S., BERGSTRÖM, Lennart. Novel Powder-Processing Methods for Advanced Ceramics. *Journal of the American Ceramic Society*. 2004, roč. 83, č. 7, s. 1557-1574
- [7] Van der Waalsovy síly. In: *Chemvazba.moxo.cz* [online]. [cit. 2014-04-01]. Dostupné z: chemvazba.moxo.cz/Lekce/lekce9.html
- [8] Elektrostatika. In: [Http://cs.wikipedia.org](http://cs.wikipedia.org) [online]. [cit. 2014-04-01]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Elektrostatika>
- [9] BARTOVSKÁ, Lidmila. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 5. přeprac. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005, 244 s. ISBN 80-708-0579-X.
- [10] Koloid. In: [Http://cs.wikipedia.org](http://cs.wikipedia.org) [online]. [cit. 2014-04-01]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Koloid>
- [11] RAHAMAN, Mohamed N. *Ceramic processing*. Boca Raton: CRC Press, 2007, 473 s. ISBN 08-493-7285-2.
- [12] SHIH, Wei-Heng, SEONG IL, Kim. Consolidation of colloidal suspensions. 1990. Dostupné z: http://www.princeton.edu/~cml/assets/pdf/uw_90_180shih.pdf
- [13] LANDMAN, K. A., C. SIRAKOFF, WHITE, L. R. Dewatering of flocculated suspensions by pressure filtration. *Physics of Fluids A: Fluid Dynamics*. 1991, roč. 3, č. 6
- [14] Slip Casting. In: [Http://www.dynacer.com](http://www.dynacer.com) [online]. 2013 [cit. 2014-04-01]. Dostupné z: <http://www.dynacer.com/processing/slip-casting/>
- [15] Slip casting. In: [Http://ofaceramics.com](http://ofaceramics.com) [online]. 2011 [cit. 2014-04-01]. Dostupné z: <http://ofaceramics.com/wp-content/uploads/2011/09/Slip-casting1.jpg>
- [16] <http://web.nchu.edu.tw>. [online]. [cit. 2014-04-01]. Dostupné z: <http://web.nchu.edu.tw/~hyang/hyangRP.html>

- [17] GAUCKLER, L.J., GRAULE, Th., BAADER, F.. Ceramic forming using enzyme catalyzed reactions. *Materials Chemistry and Physics*. 1999, roč. 61, č. 1, s. 78-102.
- [18] *Method of making porous ceramic articles* [patent]. US3090094 A. Uděleno 21. květen 1963. Dostupné z: <http://google.com/patents/US3090094>
- [19] STUDART, Andre R., GONZENBACH, Urs T., TERVOORT, Elena, GAUCKLER, Ludwig J, SCHMIDT, H. K. Processing Routes to Macroporous Ceramics: A Review. *Journal of the American Ceramic Society*. 2006, roč. 89, č. 6, s. 47-67.
- [20] JUILLERAT, Franziska Krauss, ENGELI, Roman, JERJEN, Iwan, STURZENEGGER, Philip N, BORCARD, Françoise, JUILLERAT-JEANNERET, Lucienne, GERBER-LEMAIRE, Sandrine, J. GAUCKLER, Ludwig, GONZENBACH, Urs T, FAHLBUSCH, Nina-Carolin, BECKER, Wilfried. Synthesis of bone-like structured foams. *Journal of the European Ceramic Society*. 2013, vyd. 33, č. 9, s. 549-560.
- [21] PU, Xipeng, LIU, Xuejian, QIU, Fagui, HUANG, Liping. Novel Method To Optimize the Structure of Reticulated Porous Ceramics. *Journal of the American Ceramic Society*. 2004, roč. 87, č. 7, s. 1392-1394.
- [22] ZHU, Xinwen, JIANG, Dongliang, TAN, Shouhong. Preparation of silicon carbide reticulated porous ceramics. *Materials Science and Engineering: A*. 2002, vyd. 323, č. 1-2, s. 232-238
- [23] YUE, Hongzhi, WANG, Xin, TIAN, Jintao. Fabrication of Si₃N₄ reticulated porous ceramics reinforced by needle-like β-Si₃N₄. *Ceramics International*. 2014, roč. 40, č. 6, s. 8525-8532.
- [24] SAGGIO-WOYANSKY, SCOTT, Jeannine, Curtis E, MINNEAR, W.P.. Processing of porous ceramics. *American Ceramic Society Bulletin: The Magazine for Technology, Engineering, Manufacturing*. Westerville: American Ceramic Society Bulletin, 1992, roč. 71, č. 11, s. 1674-1682.
- [25] WHITE, R. A., WEBER, J. N., WHITE, E. W.. Replamineform: A New Process for Preparing Porous Ceramic, Metal, and Polymer Prosthetic Materials. *Science*. 1972, roč. 176, č. 4037, s. 922-924.
- [26] SIVAKUMAR, M., KUMAR, T.S.Sampath, SHANTHA, K.L., RAO, K.Panduranga. Development of hydroxyapatite derived from Indian coral. *Biomaterials*. 1996, roč. 17, č. 17, s. 1709-1714.
- [27] ROY, DELLA M., LINNEHAN, SARI KURTOSSY. Hydroxyapatite formed from Coral Skeletal Carbonate by Hydrothermal Exchange. *Nature*. 1974, roč. 247, č. 5438, s. 220-222.
- [28] BEN-NISSAN, B., KIM, Y. H., KIM, S. R., JUNG, S. J., LEE, Y. J., SONG, H., MANSUR, Herman S., MANSUR, Alexandra A.P., PEREIRA, Marivalda, MITTELMEIER, W., BRAUN, T., GIEBEL, G., GRADINGER R.. Natural bioceramics: from coral to bone and beyond. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. 2003, roč. 7, 4-5, s. 351-355.
- [29] KOSTORZ, Edited by Gernot. *High-tech ceramics: viewpoints and perspectives*. London: Academic Press, 1989. ISBN 01-242-1950-0

- [30] TANG, Yufei, MIAO, Qian, ZHAO, Kang, ZHU, Minke, WU, Zixiang. Random stacking template of polymer spheres and water soluble particles to fabricate porous hydroxyapatite with interconnected pores. *Ceramics International*. 2014, roč. 40, č. 5, s. 6631-6638.
- [31] RITZOULIS, C, SCOUTARIS, N, PAPADEMETRIOU, K, STAVROULIAS, S, PANAYIOTOU, C. Milk protein-based emulsion gels for bone tissue engineering. *Food Hydrocolloids*. 2005, roč. 19, č.3, s. 575-581.
- [32] SEPULVEDA, P, BINNER, J.G.P. Processing of cellular ceramics by foaming and in situ polymerisation of organic monomers. *Journal of the European Ceramic Society*. 1999, roč. 19, č. 12, s. 2059-2066.
- [33] GONZENBACH, Urs T., STUDART, André R., STEINLIN, David, TERVOORT, Elena, GAUCKLER, Ludwig J. Processing of Particle-Stabilized Wet Foams Into Porous Ceramics. *Journal of the American Ceramic Society*. 2007, roč. 90, č. 11, s. 3407-3414.
- [34] SEPULVEDA, P., BINNER, J.G.P., ROGERO, S.O., HIGA, O.Z, BRESSIANI, J.C. Production of porous hydroxyapatite by the gel-casting of foams and cytotoxic evaluation. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2000, roč. 50, č. 1, s. 27-34
- [35] Robocasting: Sandia develops new way to fabricate ceramics. In: [Http://www.sandia.gov/](http://www.sandia.gov/) [online]. 1999 [cit. 2014-04-01]. Dostupné z: <http://www.sandia.gov/media/robocast.htm>
- [36] HUTMACHER, Dietmar W. Scaffold design and fabrication technologies for engineering tissues — state of the art and future perspectives. *Biomaterials science*. 2001, roč. 12, č. 1, s. 107-124.
- [37] Electrophoretic deposition. In: [Http://en.wikipedia.org](http://en.wikipedia.org) [online]. 2014 [cit. 2014-04-01]. Dostupné z: http://en.wikipedia.org/wiki/Electrophoretic_deposition
- [38] DOROZHKIN, Sergey. Calcium Orthophosphate-Based Bioceramics. *Materials*. 2013, roč. 6, č. 9, s. 3840-3942.
- [39] O'BRIEN, Fergal J. Biomaterials. *Materials Today*. 2011, roč. 14, č. 3, s. 88-95.
- [40] CAO, Wanpeng, HENCH, Larry L. Bioactive materials. *Ceramics International*. 1996, roč. 22, č. 6, s. 493-507
- [41] HENCH, L. L., SPLINTER, R. J, ALLEN, W. C., GREENLEE, T. K.. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *Journal of Biomedical Materials Research*. 1971, roč. 5, č. 6, s. 117-141
- [42] HENCH, Larry L. Bioceramics: From Concept to Clinic. *Journal of the American Ceramic Society*. 1991, roč. 74, č. 7, s. 1487-1510.
- [43] BELLUCCI, Devis, CANNILLO, Valeria, SOLA Antonella. Shell Scaffolds: A new approach towards high strength bioceramic scaffolds for bone regeneration. *Materials Letters*. 2010, roč. 64, č. 2, s. 203-206.
- [44] KARAGEORGIU, V, KAPLAN, D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*. 2005, roč. 26, č. 27, s. 5474-5491

- [45] YUAN, Huipin, KURASHINA, Kenji, BRUIJN, Joost, LI, Yubao, GROOT, K DE, ZHANG, Xingdong A preliminary study on osteoinduction of two kinds of calcium phosphate ceramics. *Biomaterials*. 1999, roč. 20, č. 19, s. 1799-1806
- [46] CHU, T.-M.Gabriel, ORTON, David G, J. HOLLISTER, Scott, FEINBERG, Stephen E., HALLORAN, John W. Mechanical and in vivo performance of hydroxyapatite implants with controlled architectures. *Biomaterials*. 2002, roč. 23, č. 5, s. 1283-1293
- [47] BARRALET, J.E., GROVER, L., GAUNT, T., WRIGHT, A.J., GIBSON, I.R. Preparation of macroporous calcium phosphate cement tissue engineering scaffold. *Biomaterials*. 2002, roč. 23, č. 15, s. 3063-3072.
- [48] ZHANG, Yong, ZHANG, Miqin. Three-dimensional macroporous calcium phosphate bioceramics with nested chitosan sponges for load-bearing bone implants. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2002, roč. 61, č. 1, s. 1-8
- [49] JUN, Youn-Ki, KIM, Wan Hee, KWEON, Oh-Kyeong, HONG, Seong-Hyeon. The fabrication and biochemical evaluation of alumina reinforced calcium phosphate porous implants. *Biomaterials*. 2003, roč. 24, č. 21, s. 3731-3739.
- [50] MÜLLER, Frank A., GBURECK, Uwe, KASUGA, Toshihiro, MIZUTANI, Yoichiro, BARRALET, Jake E., LOHBAUER, Ulrich. Whisker-Reinforced Calcium Phosphate Cements. *Journal of the American Ceramic Society*. 2007, roč. 90, č. 11, s. 3694-3697.
- [51] TAL, Edited by Haim. *Bone regeneration*. Rijeka: InTech, 2012, s. 107-124. ISBN 9789535104872.
- [52] LI, Jihua, LI, Yubao, MA, Sancheng, GAO, Ying, ZUO, Yi, HU Jing. Enhancement of bone formation by BMP-7 transduced MSCs on biomimetic nano-hydroxyapatite/polyamide composite scaffolds in repair of mandibular defects. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2010-12-15, 95A, roč. 4, s. 973-981.
- [53] DRAENERT, Miriam, DRAENERT, Alice, DRAENERT Klaus. Osseointegration of hydroxyapatite and remodeling-resorption of tricalciumphosphate ceramics. *Microscopy Research and Technique*. 2013, roč. 76, č. 4, s. 370-380
- [54] HIRABAYASHI, Shigeru, KUMANO, Kiyoshi. Contact of hydroxyapatite spacers with split spinous processes in double-door laminoplasty for cervical myelopathy. *Journal of Orthopaedic Science*. 1999, roč. 4, č. 4, s. 264-268.
- [55] FAUNDEZ, Antonio, TAYLOR, Sophia, KAELIN, Andre, LINDHOLM, T. S., RAGNI, P.. 6: 12186. Histological evidence of bone formation using a bone marrow impregnated hydroxyapatitecollagen scaffold in four patients treated for spinal fracture. *The Spine Journal*. 2005, roč. 5, č. 4, s. 227-228
- [56] GALOIS, L., MAINARD, D., PFEFFER, F., TRAVERSARI, R., DELAGOUTTE, J.P.. Use of β -tricalcium phosphate in foot and ankle surgery: a report of 20 cases. *Foot and Ankle Surgery*. 2001, roč. 7, č. 4, s. 217-227.
- [57] DEMERS, Carolin, HAMDY, C Reggie, CORSI, Karin, CHELLAT, Fatiha, TABRIZIAN, Maryam, YAHIA, L'Hocine. Natural coral exoskeleton as a bone graft substitute: a review. *Bio-Medical Materials and Engineering*. 2002, roč. 12, č. 1, s. 15-35.

[58] Nenevtonská tekutina. In: *Http://cs.wikipedia.org* [online]. 2014 [cit. 2014-04-01]. Dostupné z: http://cs.wikipedia.org/wiki/Nenevtonsk%C3%A1_tekutina

[59] COLOMBO, P., MORENO, Rodrigo, VABEN, Robert, IONESCU, Emanuel, RIEDEL, Ralf. Conventional and novel processing methods for cellular ceramics: A Review. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. 2006-01-15, roč. 364, č. 1838, s. 109-124.

