

ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

FAKULTA STROJNÍ

Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Analýza mechanických vlastností kostního cementu
při akcelerované degradaci

Praha 2019

Barbora Hrušková

Anotační list

Jméno autora: Barbora Hrušková

Fakulta: Fakulta strojní

Zadávací ústav: Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky

Studijní program: Teoretický základ strojního inženýrství

Studijní obor: bez oboru

Rok: 2019

Název bakalářské práce: Analýza mechanických vlastností kostního cementu při akcelerované degradaci

Název bakalářské práce anglicky: The Analysis of the Mechanical Properties of Bone Cement During Accelerated Degradation

Vedoucí práce: Ing Radek Sedláček, Ph.D.

Konzultant práce: Ing. Tomáš Suchý, Ph.D.

Bibliografické údaje: počet stran	45
počet obrázků	33
počet tabulek	5
počet rovnic	7
počet příloh	2

Klíčová slova: kostní cement, náhrada kostní tkáně, kalcium fosfát, hydroxyapatit

Key words: bone cement, bone substitutes, calcium phosphate, hydroxyapatite

Anotace: Bakalářská práce se zabývá analýzou mechanických vlastností kostního cementu při akcelerované degradaci. V teoretické části je popsána vnitřní stavba kosti, využití kostních náhrad, používané materiály pro náhrady kostních tkání. Experimentem byla tlaková zkouška porézních materiálů používaných k náhradám kostní tkáně. Zkouška byla provedena na dvou typech materiálu, v práci značených jako P a PCL. V experimentální části jsou vyhodnoceny mechanické vlastnosti zkoušených materiálů. Vyhodnocovanými parametry byl elastický gradient (modul pružnosti), mez pevnosti v tlaku, absorbovaná energie a účinnost absorbování energie. Statisticky významné rozdíly bylo možné pozorovat u meze pevnosti

v tlaku a u množství absorbované energie. U vzorků PCL byly zjištěny nižší hodnoty těchto dvou parametrů.

Abstract: The bachelor thesis deals with the analysis of mechanical properties of bone cement during accelerated degradation. The theoretical part describes the internal structure of bone, the use of bone substitutes, the materials used for bone tissue replacement. The experiment was a pressure test of porous materials used to replace bone tissue. The test was performed on two types of material, marked P and PCL. The mechanical properties of the tested materials are evaluated in the experimental part. The parameters evaluated were elastic gradient (modulus of elasticity), ultimate compressive strength, absorbed energy and energy absorbing efficiency. Statistically significant differences were observed for the ultimate compressive strength and the amount of absorbed energy. Lower values of these two parameters were found for PCL material.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala zcela samostatně a použila jsem pouze podklady uvedené v příloženém seznamu.

Nemám výhrady proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorských zákon).

V Praze dne

.....

podpis autora

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce panu Ing. Radku Sedláčkovi, Ph.D. za odbornou pomoc při realizaci experimentu, za rady při vyhodnocování a zpracování výsledků zkoušky, za zasvěcení do oboru biomechaniky a za možnost osobně se účastnit některých příprav a implantací. Poděkování patří také panu Ing. Tomášovi Suchému, Ph.D. za odborné konzultace k teoretické části a k statistickému vyhodnocení práce. V neposlední řadě chci poděkovat i mé rodině za neustálou podporu při studiu a psaní této práce.

Obsah

Seznam použitých symbolů a zkratek	- 7 -
1 Úvod	- 8 -
2 Teoretická část	- 9 -
2.1 <i>Kost</i>	- 9 -
2.2 <i>Ideální vlastnosti kostní náhrady</i>	- 11 -
2.3 <i>Využití kostních náhrad</i>	- 11 -
2.4 <i>Materiály vhodné pro kostní náhrady</i>	- 13 -
2.4.1 <i>Kostní štěpy</i>	- 13 -
2.4.2 <i>Materiály biologického původu</i>	- 13 -
2.4.3 <i>Syntetické kostní náhrady</i>	- 14 -
3 Experimentální část	- 16 -
3.1 <i>Příprava vzorků</i>	- 16 -
3.2 <i>Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)</i>	- 18 -
3.3 <i>Metodika mechanické zkoušky</i>	- 19 -
3.3.1 <i>Postup zkoušky</i>	- 19 -
3.3.2 <i>Použitá zařízení zkoušky</i>	- 20 -
3.3.3 <i>Vyhodnocované parametry</i>	- 20 -
3.3.3.1 <i>Pracovní diagram</i>	- 21 -
3.3.3.2 <i>Elastický gradient</i>	- 22 -
3.3.3.3 <i>Mez pevnosti v tlaku</i>	- 23 -
3.3.3.4 <i>Absorbovaná energie</i>	- 23 -
3.3.3.5 <i>Účinnost absorbování energie</i>	- 24 -
3.3.4 <i>Statistické zpracování dat</i>	- 24 -
3.4 <i>Realizace experimentu</i>	- 26 -
3.4.1 <i>Měření velikosti vzorku</i>	- 26 -
3.4.2 <i>Odhad maximální zatěžovací síly F_{max} a hodnot - F_{20} a F_{70}</i>	- 26 -
3.4.3 <i>Zatěžování s odlehčovací hysterezní smyčkou</i>	- 27 -

4	Výsledky zkoušky a diskuse	- 28 -
4.1	<i>Pracovní diagram</i>	- 28 -
4.2	<i>Elastický gradient</i>	- 31 -
4.3	<i>Mez pevnosti v tlaku</i>	- 33 -
4.4	<i>Absorbovaná energie</i>	- 35 -
4.5	<i>Účinnost absorbování energie</i>	- 37 -
5	Závěr	- 39 -
6	Seznam literatury	- 41 -
	Seznam obrázků	- 42 -
	Seznam tabulek	- 43 -
	Seznam rovnic	- 43 -
7	Přílohy	- 44 -

Seznam použitých symbolů a zkratek

F	[N]	síla
ε	[-]	poměrná deformace
ε_{50}	[-]	50 % deformace
σ	[MPa]	napětí
σ_{max}	[MPa]	mez pevnosti v tlaku (maximální napětí)
S_0	[m ²]	průřez (počáteční)
h	[mm]	výška
d	[mm]	průměr
T	[°C]	teplota
E	[MPa]	elastický gradient (modul pružnosti)
W	[MJ · m ⁻³]	absorbovaná energie
W_e	[%]	účinnost absorbování energie

PCL	polykaprolakton
DKM	demineralizovaná kostní matrice
CPC	cement kalcium fosfátu
HA	hydroxyapatit
DCPD	hydrogen fosforečnan vápenatý dihydrát
α -TCP	alfa – trikalcium fosfát
PLGA-PEG-PLGA	termosenzitivní kopolymer

1 Úvod

Kostní náhrady se používají zejména v onkologické chirurgii, traumatologii, ortopedii, v protetické chirurgii, čelistní a obličejové chirurgii. Náhrada kostní tkáně je druhou nejčastější náhradou tkáně na celém světě hned po transplantaci krve. Každoročně se provádí přes 2 miliony transplantací. V dnešní době existuje několik materiálů, které se dají pro náhradu kostní tkáně využít. Podstatné je, aby použitý materiál měl stejné nebo podobné vlastnosti jako kost samotná a byl organismem tolerovaný. Pro správnou funkci náhrad kostních štěpů je také důležitá míra jejich degradace. Ta by měla ideálně odpovídat době, kterou kost potřebuje k vlastnímu zhojení defektu. Pro konstrukci náhradní kostní tkáně se v dnešní době používá celá řada materiálů, které můžeme rozdělit do tří hlavních skupin na kovové, keramické a polymerní. Každý z používaných materiálů má ale své nedostatky a je potřeba najít takový materiál, který se vlastnostem kosti co nejvíce přiblíží.

Cílem této bakalářské práce je určit mechanické vlastnosti kostního cementu při akcelerované degradaci simulující kyselé mikroprostředí pod adhezujícími makrofágy a osteoklasty, které se účastní resorpce kosti. Zkoušeny byly dva typy vzorků kostního cementu. Jedním byl základní kostní cement míchaný pomocí šlehání, druhý byl také šlehaný cement s přidanými PCL vlákny. Vzorky byly zkoušeny tlakovou zkouškou ve třech stavech – ve stavu po minimální expozici v roztoku a ve stavech po 4 a 8 hodinách expozice v roztoku, který simuluje prostředí zánětu, resp. odbourávání kosti. Expozice proběhla při 37 °C v nízko molárním roztoku kyseliny chlorovodíkové a chloridu sodného. Z výsledků tlakové zkoušky byl sestaven pracovní diagram materiálu a byly vyhodnoceny čtyři vybrané parametry – elastický gradient (modul pružnosti), mez pevnosti v tlaku, absorbovaná energie a účinnost absorbování energie. Výsledkem práce je zhodnocení vlivu PCL vláken na změnu chování materiálu po expozici v simulovaných podmínkách. Předpokládáme, že PCL vlákna budou mít pozitivní vliv na pevnost materiálu. S dobou expozice naopak předpokládáme, že kvalita mechanických vlastností se bude snižovat.

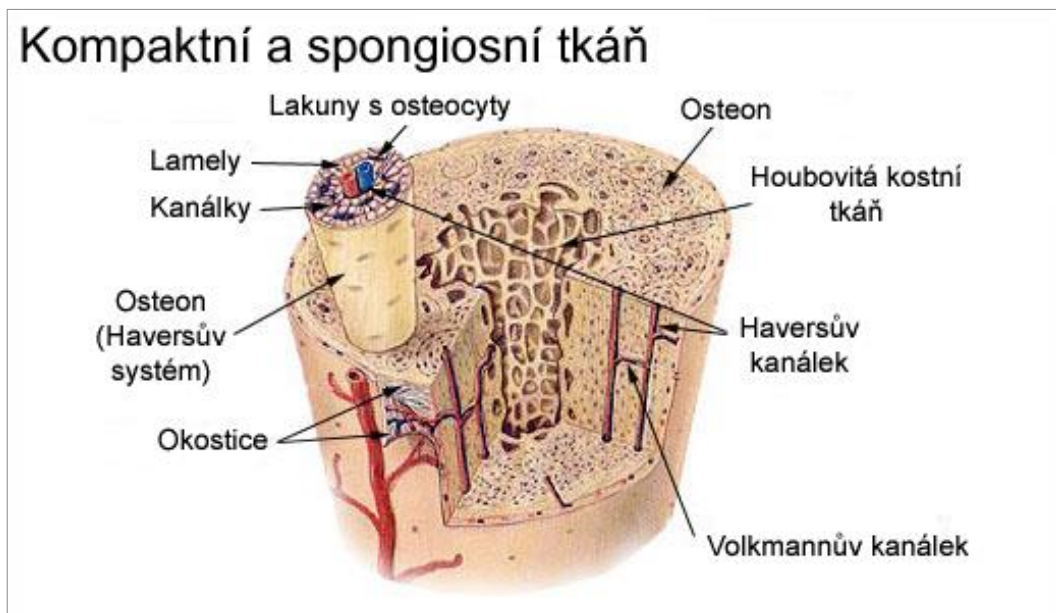
2 Teoretická část

2.1 Kost

Kosti tvoří kosterní (skeletní) soustavu. Jsou to tvrdé, pevné a v jistém rozmezí i pružné orgány žlutobílé barvy. Spolu s připojenými chrupavkami a s kloubními spoji kostí tvoří pasivní pohybový aparát. Podle tvaru rozeznáváme tři typy kostí: dlouhé kosti, krátké kosti a ploché kosti. Na úplném povrchu kosti se nachází okostice. Okostice je tenká bělavá vazivová blána. Plní funkci krycí, růstovou a zásobovací. Zásobuje kostní tkáň kyslíkem a živinami. Z toho důvodu je okostice protkána sítí cév a nervů. Kosti všech typů jsou tvořeny dvěma formami kostní tkáň: hutnou (asi 80 %) a trámčitou (houbovitou, 20 %). Hutná kostní tkáň je tvrdá a hustá. Vyskytuje se ve formě lamel na povrchu kostí hned pod tenkou okosticí. Lamely jsou uspořádány do válcových útvarů – osteonů. Trámčitá kostní tkáň se nachází především v dutinách dlouhých kostí v oblastech kloubních hlavic. Tvoří hustou síť, která je protkána krevními cévami a nervy. Skládá se z trámců a plotének, jejichž rozložení kostem umožňuje odolávat vyvolanému tlaku a tahu. Kost je díky trámčité tkáni porézní. Další vrstvou kosti je kostní dřevina neboli morek. Prochází dřevnou dutinou, která je vystlána tenkou vazivovou blánou, nazývanou endost, která se podílí na remodelaci kostí a při procesu hojení. Kostní dřevina má na starosti tvorbu většiny krevních částic od červených krvinek po krevní destičky (Čihák, 2009).

Obecně všechny pojivové tkáň se skládají z buněk a mezibuněčné hmoty. Mezibuněčná hmota kosti se skládá ze dvou složek – ze složky ústrojné a neústrojné. Ústrojná složka je složkou organickou, také nazývanou ossein, která je tvořena kolagenními vlákny. Neústrojnou složku tvoří krystaly solí, proto je také nazývána složkou minerální. Tvořena je krystaly kalcium fosfátu neboli bioapatitu. Minerální složka dodává kosti tvrdost a pevnost a do určité míry i pružnost. Rozeznáváme tři typy kostních buněk – osteoblasty, osteocyty a osteoklasty, z nichž každá má svou specifickou funkci. Osteoblasty mají na starosti vznik a růst kosti. Produkují organickou část kosti, kterou je kolagen. Kolagenem se postupně obklopují až jsou jím plně pohlceny, čímž se mění v osteocyty. Osteocyty se nacházejí mezi lamelami hutné tkáň, jak je vidět na obrázku (viz Obrázek 1). Osteocyty již nevytváří novou kostní hmotu (matrix), ale podílejí se aktivně na uvolňování minerálů ze základní hmoty a regulují tak hladinu vápníku v tělních tekutinách. Posledním typem buněk jsou osteoklasty-mnohobuněčné

buňky, které naopak kost odbourávají. Osteoklasty vytváří nízké pH, čímž rozpouštějí minerální složku kosti. Dochází tak k přestavbě kosti, která pak probíhá víceméně po celý život (Čihák, 2009).



Obrázek 1 - Vnitřní stavba kosti
(převzato z www.wikiskripta.eu/w/Kost)

2.2 Ideální vlastnosti kostní náhrady

Existuje mnoho výzkumů, které se snaží najít ideální materiál vhodný pro náhradu kostní tkáně. Je potřeba, aby takový materiál měl podobné, nebo nejlépe stejné vlastnosti jako kost samotná.

Materiál vhodný pro transplantaci kosti by měl být v první řadě biokompatibilní. Biokompatibilita popisuje snášenlivost látek v biologickém prostředí. Materiál se posuzuje podle interakce s prostředím podle cytotoxického působení, podle karcinogenních, toxikologických a alergických reakcí. Důležité je, aby materiál nevyvolával zánětlivou reakci, neuvolňoval toxické látky apod. (Fernandez de Grado a kolektiv, 2018).

Neméně důležitou vlastností je biologická vstřebatelnost materiálu. Během celého života dochází k opakované přestavbě struktury kosti. Tento proces odbourávání a znovu vytvoření mají na starosti osteoblasty a osteoklasty. Proto i náhradní materiál musí být ideálně schopný podlehnout těmto tělu přirozeným procesům. S touto vlastností souvisí i pojmy osteokonduktivní a osteoinduktivní materiál. Osteoinduktivní materiál je takový, který svou přítomností vyvolává růst okolních buněk, stimuluje vývoj nové kostní tkáně. Osteokonduktivní materiál podporuje vrůstání okolních kostních buněk a ovlivňuje regeneraci kosti (Zhang a kolektiv, 2014).

Další podstatnou vlastností je porozita (pórovitost) materiálu. Pórovitost kosti samotné způsobuje z převážné části houbovitá tkáň. Pórovitost je podstatnou vlastností při regenerativním procesu, který vyžaduje vhodný nosič, který by vytvořil skelet pro budoucí kostní tkáň a poskytl by vhodné prostředí pro zúčastněné buňky. Materiál je díky této vlastnosti lépe vstřebatelný, je vhodným nosičem pro podávání léčiv (Fernandez de Grado, a další, 2018); (Zhang a kolektiv, 2014).

Při jakékoliv operaci je na prvním místě bezpečnost pacienta, proto se klade velký důraz na sterilitu prostředí, nářadí a všech používaných a náhradních materiálů. Vyžadujeme proto, aby i náhradní materiál byl lehce použitelný a veškerá práce a manipulace s ním byla co nejjednodušší (Fernandez de Grado a kolektiv, 2018).

2.3 Využití kostních náhrad

Kostních náhrad se využívá v mnoha odvětvích lékařství. Při některých onemocněních je kostní tkáň zasažena natolik, že není jiného řešení než kostní tkáň nahradit.

Kostních náhrad se s velkou četností využívá v případě traumatického poškození kosti, tedy v případě zlomeniny nebo vykloubení. Používají se také k fixaci endoprotéz, tj. při výměně kyčelního nebo kolenního kloubu.

Umělého materiálu se využívá také při operaci meziobratlového disku, kdy je nutné z páteře vyjmout jednu z plotének. Mezi dva obratle se pak vloží rozpěrka, která zachová rozestup mezi obratli a vzniklý prostor je potřeba vyplnit umělým materiálem. Nejlépe takovým, který se postupně rozloží a bude ho moci prorůst novotvořená kost.

Při onkologických onemocněních kost nejčastěji trpí onemocněním kostní tkáně, která vede k následnému lokálnímu zvětšení nebo redukci kosti. Na kostech se objeví tzv. nádorové léze, které se pomalu zvětšují až postihnou větší část kosti. Nutný je pak chirurgický zákrok, kdy se léze odstraní a kost je potřeba doplnit kostní náhradou (Kozáková, 2010).

Při léčbě onkologických onemocnění kostí se pacientům často předepisují tzv. bisfosfonáty. Základní princip jejich účinku spočívá ve vytvoření ochranné bariéry proti kostní destrukci. S jejich použitím se však objevilo značné porušení kvality kostní tkáně zejména v čelisti, dochází k její osteonekróze. Mezi příznaky patří bolest, otok a poškození čelisti v okolí zubního lůžka. V místě poškození může dojít k úbytku kosti, což vede ke ztrátě zubu, podráždění kosti úlomky poškozené kosti nebo k úplnému umrtvení části (www.myeloma.cz).

Další z poměrně častých onemocnění je osteoporóza neboli řidnutí kostí. Charakteristickým znakem je úbytek kostní hmoty, poruchy stavby kosti a následné zvýšení jejich křehkosti, a proto i rizika zlomeniny. Hlavní příčinou je stav nerovnováhy mezi novotvorbou kosti a jejím úbytkem. Stává se pak, že dojde ke zlomenině kosti bez předchozího úrazu (Kozáková, 2010).

Osteoartróza se řadí mezi civilizační choroby. Podstatou je přetížení kloubní chrupavky. Z počátku jde o mechanické poškození, kdy chrupavka ztrácí svou pružnost a začnou se v ní tvořit malé štěrbin, které se začnou postupně zvětšovat. Do kloubu se začnou uvolňovat drobné části chrupavky, což má za následek další negativní vlivy. Časem se objeví kloubní zatuhlost, zánět a otok kloubu až dojde ke vzniku výrůstků, které brání pohyblivosti kloubu a způsobují bolest.

2.4 Materiály vhodné pro kostní náhrady

Materiály lze rozdělit podle původu následujícím způsobem:

- Kostní štěpy
- Kostní náhrady biologického původu
- Syntetické kostní náhrady

2.4.1 Kostní štěpy

Kostní štěpy můžeme dále podle původu rozdělit na:

- Autologní materiály (vlastní tkáň pacienta)
- Alogenní (dárce a příjemce nejsou totožní)
- Xenogenní (dárce je jiný živočišný druh)

Autologní kostní tkáň je dlouho považována za tzv. zlatý standard pro kostní transplantace z mnoha důvodů. Materiál především splňuje mechanické a biologické požadavky. Navíc použitím autograftu se dá vyhnout jakékoliv autoimunitní reakci, odmítnutí nebo přenosu onemocnění. Avšak tato technika vykazuje jisté nevýhody a celkově je pro organismus zátěží. Pacient kvůli druhotnému zákroku pro získání štěpu trpí bolestí nebo hrozí riziko infekce. Pacient je také vystavován riziku při celkové anestezii, která se např. při operaci ruky nejeví nutná, ale pro získání štěpu z kyčelního kloubu už nutná je (Fernandez de Grado a kolektiv, 2018).

První alternativou pro autograft můžeme uvažovat alograft – dárce štěpu je další pacient. Existuje však riziko přenosu nemocí. Bylo zaznamenáno několik výjimečných případů přenosu HIV nebo žloutenky typu B a C. Mimo tohoto rizika jsou nevýhodou i náklady na údržbu a skladování alograftu po jeho vyjmutí z jednoho pacienta a před operací pacienta druhého (Fernandez de Grado a kolektiv, 2018).

Xenograft, štěp odebraný z těla jiného živočišného druhu, se nabízí jako další alternativa. Nevýhody a rizika jsou podobné jako v případě alograftu nebo autograftu. Může dojít k přenosu nemocí nebo vyvolání infekce. Zpracování, ošetření a uchování štěpu je také nákladné a obtížné (Fernandez de Grado a kolektiv, 2018).

2.4.2 Materiály biologického původu

Do skupiny materiálů odvozených od biologických materiálů patří například:

- Demineralizovaná kostní matrice (DKM)

DKM je kost ošetřena kyselinou, aby se odstranila minerální matrice a zachovala se pouze organická matrice, kolagen. Zachovávají se růstové

faktory, DKM vykazuje osteokonduktivní a osteoinduktivní vlastnosti. Matrice však ztrácí své kvality už během jejího zpracování. DKM je sice snadno dostupná, ale její získání je poměrně nákladné. Ve výsledku se DKM používá pro plnění, ne jako samotná kostní náhrada (Fernandez de Grado a kolektiv, 2018).

- Kostní minerál

Zachováním minerální složky kosti a odbouráním složky organické můžeme získat minerální kostní matici. Dalšími jejími úpravami a přidáním dalších složek lze vytvořit vhodný materiál pro náhradu kostní tkáně.

- Korál

Korály mají podobně pórovitou strukturu jako houbovitá kost. Náhrady na bázi korálu jsou tvořeny hlavně uhličitanem vápenatým, který může být uměle upraven na hydroxyapatit (Fernandez de Grado a kolektiv, 2018).

2.4.3 Syntetické kostní náhrady

Jedním ze syntetických materiálů, který by se mohl používat pro náhradu kostní tkáně je cement na bázi kalcium fosfátu (CPC).

CPC jsou hydraulické cementy. Obecně jsou všechny CPC tvořeny kombinací jednoho nebo více práškových fosforečnanů vápenatých, které po smíchání s kapalnou fází, obvykle vodou nebo vodným roztokem vytvoří pastu, která je schopna po implantování ztvrdnout. Uvnitř směsi dochází k vytvrzující polymerační reakci, jejíž výsledkem je vytvoření krystalů, které materiál zpevňují. V současné době se při výzkumu CPC věnuje pozornost především dvěma hlavním konečným produktům, kterými jsou vysrážený hydroxyapatit (HA), nebo brushite (hydrogen fosforečnan vápenatý dihydrát, DCPD). V obou případech jde o sloučeninu vápníku (Ca) a fosforu (P). CPC se skládají ze sítě kalcium fosforečnanu vápenatého s velikostí krystalů, které mohou být přizpůsobeny tak, aby odpovídaly přesně biologickému HA vyskytujícímu se v živé kosti (Zhang a kolektiv, 2014).

CPC mohou být rozděleny do dvou skupin podle toho, v jakém poměru je ve vysráženém krystalu obsah Ca a P. Monokomponentní CPC, ve kterých je obsažena jediná vápník fosfátová sloučenina, kterou je alfa trikalciem fosfát (α -TCP),

nebo vícesložkové CPC, ve kterých jsou dvě nebo více vápník fosfátových sloučenin (Zhang a kolektiv, 2014).

CPC jsou vysoce porézní materiály vzhledem k prostoru mezi krystaly. Díky pórovitosti je materiál lépe vstřebatelný, biologicky odbouratelný, a navíc můžou být CPC použity jako nosiči léčiv. Celkovou pórovitost ovlivňuje několik faktorů. Záleží na poměru kapaliny a prášku a na velikosti částic prášku (ta ovlivňuje velikost vysrážených krystalů). Na základě těchto poznatků bylo dokázáno, že vhodnější variantou CPC je varianta směsi HA a α -TCP, tedy monokomponentní CPC (Zhang a kolektiv, 2014).

Jednou z nejdůležitějších vlastností CPC je biologická aktivita. To znamená, že CPC jsou schopny vázat se přímo na okolní kost. Bioaktivita spolu s dokonalou adaptabilitou cementové pasty během implantace vede ke stabilnímu spojení postiženého místa a implantátu, což urychluje proces hojení kostí. Po implantaci mohou být CPC resorbovány dvěma mechanismy. Aktivní resorpcí regulovanou živými buňkami, jako jsou makrofágy nebo osteoklasty, nebo pasivní resorpcí chemickým rozpuštěním nebo hydrolýzou tělesných tekutin v organismu (Zhang a kolektiv, 2014).

Vytvrzení CPC probíhá při pokojové nebo tělesné teplotě. Tato skutečnost spolu s jejich vnitřní pórovitostí umožňuje zabudování léčiv, biologicky aktivních molekul nebo dokonce buněk bez ztráty aktivity během přípravy nebo implantace. To nabízí možnost použít CPC nejen jako osteokonduktivní kostní štěpy, ale také pro řízené podávání léčiv (Zhang a kolektiv, 2014); (Diez-Escudero a kolektiv, 2017).

Samotné CPC mají několik vlastností, které jejich ideální použití limituje. Jsou křehké, mají nízkou injektabilitu, rozpadají se v tělních tekutinách a mají nízkou biologickou rozložitelnost. Bylo zjištěno, že přidáním termocitlivého kopolymeru je možné zajistit vytvoření nové skupiny CPC s vlastnostmi bližšími živé kosti. Toto aditivum je biologicky odbouratelný, netoxický, termosenzitivní kopolymer na bázi kyseliny mléčné, kyseliny glykolové a ethylenglykolu (PLGA-PEG-PLGA, poly (lactic acid), poly(glycolic acid) a poly(ethylene glycol)). PLGA-PEG-PLGA kopolymer pak může nahradit kapalnou část směsi (Vojtová a kolektiv, 2019).

CPC mohou také být obohaceny o vlákna z polykaprolaktonu (PCL). Jedná se o semikrystalický polyester, který se vyznačuje svou elasticitou, biodegradabilitou a biokompatibilitou. Vyznačuje se mechanickou pevností a odolností a možností modifikace tvaru a stupně degradace.

3 Experimentální část

3.1 Příprava vzorků

Cílem experimentu je porovnání dvou skupin kostního cementu. Vzorky byly zhotoveny ze směsi kopolymeru a směsi dvou kalcium fosfátů, které byly smíchány šleháním. Díky šlehání směsi vzrostla velikost a množství pórů. Jedna skupina je základní našlehaný kostní cement, zatímco do druhé skupiny byla přidána vlákna PCL.

Základní kostní cement (dále značen jen P) se skládá ze směsi PLGA-PEG-PLGA kopolymeru (syntetizován na pracovišti CEITEC VUT Brno, doc. Ing. Lucy Vojtová, Ph.D.) a směsi dvou kalcium fosfátů, jmenovitě CDHA a alfa-TCP (CEITEC VUT Brno, doc. Ing. Lucy Vojtová, Ph.D.). Cement je připravený smícháním všech složek. Druhý typ vzorků byl připravený smícháním směsi P s PCL vlákny (dále značen PCL), (InoCure, Česká republika). Vlákna byla připravena elektrostatickým zvlákňováním (InoSPIN, InoCure). Polykaprolakton se rozpustí ve 20 % hm. roztoku chloroformu a ethanolu (9:1 objemově), dokud nevznikl homogenní roztok. Vlákna byla nejprve ručně homogenizována v kapalně fázi, pak byl přidán zbytek práškového alfa-TCP. Takto připravené směsi (P i PCL) byly důkladně promíchány míchacím přístrojem XENOX Roti. Připravená cementová pasta byla postupně přivedena do stříkačky a vstříkována do silikonových forem o průměru 6 mm. Připravené vzorky pak byly přeneseny do inkubátoru, kde byla udržována teplota 37 °C a 100% vlhkost. Po dokončení nastavení v inkubátoru byly vzorky vyjmuty z inkubátoru. Silikonová forma byla nařezána na 12 mm dlouhé válečky a poté byl kostní cement vyjmut. Jak vzorky vypadaly je zobrazeno níže (viz Obrázek 2).



Obrázek 2 - Nařezané vzorky

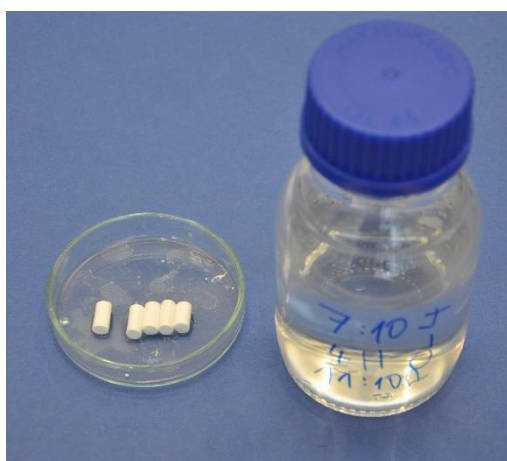
Po nařezání a vyjmutí z forem bylo potřeba válečky vizuálně zkontrolovat a vyřadit ty, jejichž tvar se příliš vymykal např. zkosením podstav nebo délkou a mohly by tak negativně ovlivnit výsledky zkoušky. Pro každou skupinu bylo vybráno 10 vzorků.

Všechny vzorky byly naloženy a plně ponořeny do nízko molárního roztoku kyseliny chlorovodíkové (0,01M HCl, Penta ČR) a chloridu sodného (0,14M NaCl, Penta, ČR) a ve skleněných lahvičkách uzavřeny do inkubátoru, kde byla po celou dobu expozice udržována teplota 37 °C tak, aby expozice co nejlépe simulovala tělní prostředí. Pro lepší orientaci byly lahvičky označeny i časem naložení a časem, kdy je potřeba začít měřit (viz Obrázek 3 a Obrázek 4). Vzorky s označením P0 a PCL0 byly naloženy pouze po dobu deseti minut. Zkoušet vzorky v suchém stavu by nemělo žádný smysl, jelikož v takovém stavu se materiál prakticky využívat nebude.

Značení jednotlivých skupin je shrnuto v tabulce (viz Tabulka 1).

Tabulka 1 - Označení vzorků

P	PCL	0	4	8
základní kostní cement	základní kostní cement s PCL vlákny	minimální expozice v mediu po dobu 10 minut	expozice v mediu po dobu 4 hodin	expozice v mediu po dobu 8 hodin



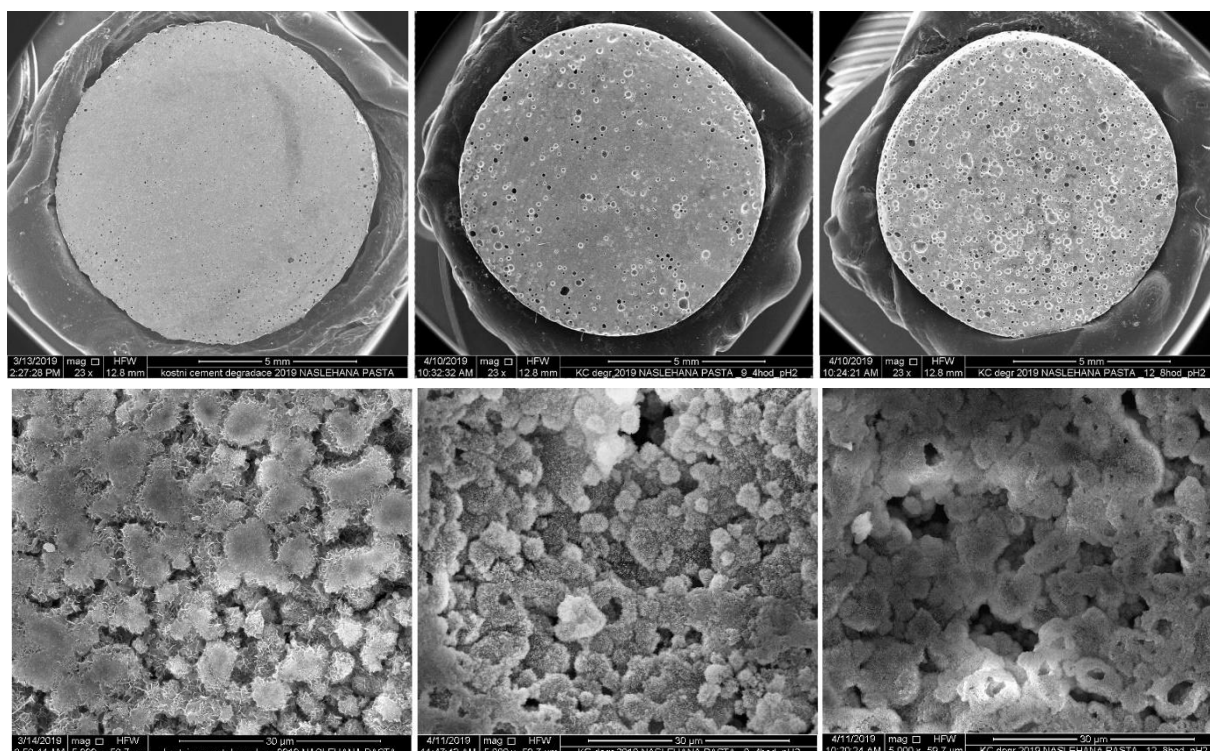
Obrázek 3 - Rozdělení vzorků podle skupin



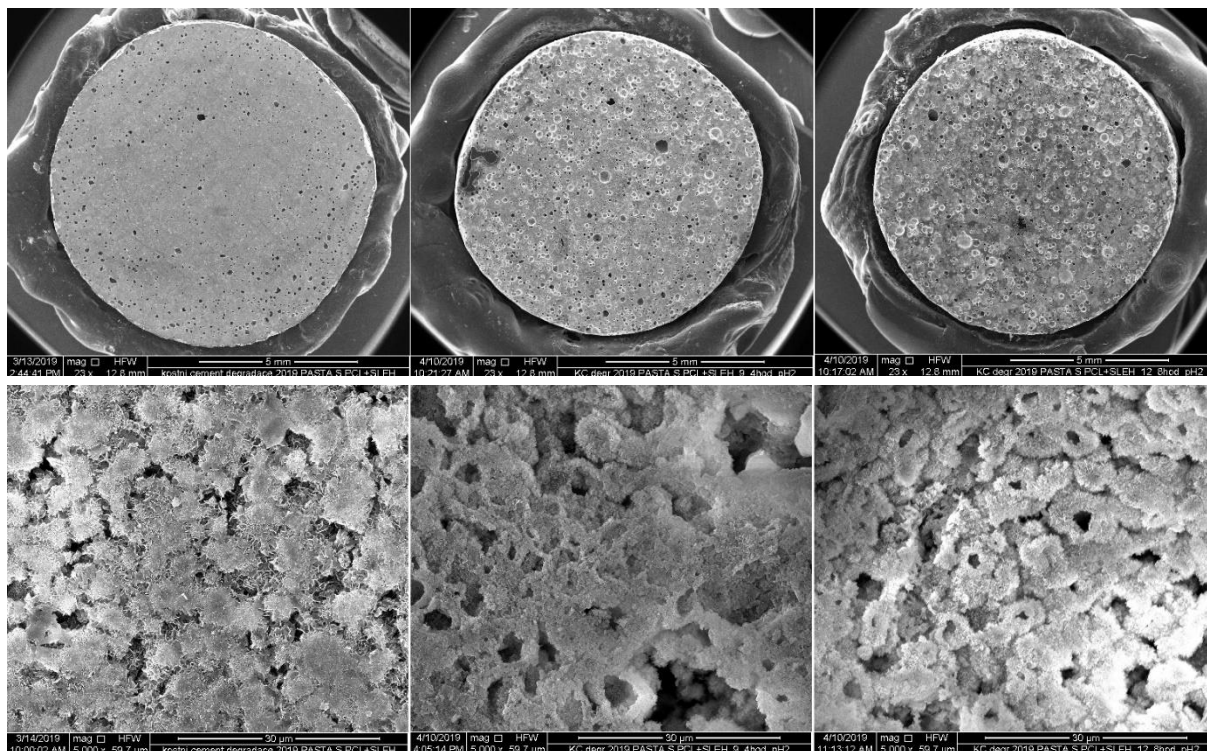
Obrázek 4 - Naložené vzorky v inkubátoru

3.2 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)

Pro představu o vzhledu vzorků a vzhledu jejich vnitřní struktury byla provedena skenovací elektronová mikroskopie (SEM). Snímky byly pořízeny se zvětšením 23x a 5 000x (viz Obrázek 5 a Obrázek 6). SEM snímky byly pořízeny na Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AV ČR, v.v.i. Byl použit elektronový mikroskop Quanta 450 (FEI, USA). Všechny vzorky byly před nasnímáním pokryty tenkou vrstvou uhlíku (Emitech K550X, Quorum Technologies, UK).



Obrázek 5 - Mikroskopické snímky vzorku skupiny P ve všech zkoušených stavech (zleva: 0, 4 a 8 hodin; horní řádek zvětšení 23x, dolní řádek 5000x).



Obrázek 6 - Mikroskopické snímky vzorku skupiny PCL ve všech zkoušených stavech (zleva: 0, 4 a 8 hodin; horní řádek zvětšení 23x, dolní řádek 5000x).

3.3 Metodika mechanické zkoušky

Metodika použitá pro hodnocení mechanických vlastností vychází z normy ČSN ISO 13314 - Mechanické zkoušení kovů - Zkoušení tváritelnosti - Zkouška porézních a pěnových kovů tlakem.

Princip zkoušky spočívá ve stlačování válečků vložených mezi dvě kovové desky zatěžovacího přístroje. Tlakové zatěžování probíhalo konstantní rychlostí 3,6 mm/min, přičemž bylo dosahováno rychlosti deformace cca $0,005 \text{ s}^{-1}$ (tj. v souladu s požadavkem normy 10^{-3} až 10^{-2} s^{-1}). Všechny experimenty byly prováděny v laboratorním prostředí při teplotě vzduchu $23 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$.

3.3.1 Postup zkoušky

Zkouška byla realizována v následujících krocích:

- Změření rozměrů vzorku
- Stanovení maximální zatěžovací síly F_{max} a hodnot pro odlehčovací hysterezní smyčku - F_{20} a F_{70}
- Vložení vzorku mezi zatěžovací desky
- Zatěžování s odlehčovací hysterezní smyčkou

3.3.2 Použitá zařízení zkoušky

K testování byl použit systém MTS Mini Bionix 858.02 (metrologické označení PM 00, viz Obrázek 7) se silovým snímačem s rozsahem 100 N (metrologické označení PM 00/16), který se používá při stlačení suchých vzorků a snímačem s rozsahem 10 N (metrologické označení PM 00/08) pro měření hydratovaných vzorků. Relativní chyba snímače s rozsahem 100 N je 0,09 %, u snímače 10 N je to 0,07 %. Pro řízení testu se používá program vytvořený v software FlexTest GT (metrologické označení PM 00/11). Pro měření rozměrů vzorků využíváme digitální mikrometr MAHR 40EX (PM 02). Dále pak pro záznam podmínek prostředí používáme digitální teploměr-vlhkoměr COMET (metrologické označení PM 07).

Všechna měřidla používaná k provádění experimentů v akreditované Laboratoři mechanických zkoušek na ČVUT v Praze, Fakultě strojní jsou navázána nepřerušným řetězcem na národní etalony a jsou pravidelně kalibrována.



Obrázek 7 - Zatěžovací systém
MTS Mini Bionix 858.02

3.3.3 Vyhodnocované parametry

Výstupem zatěžovacího programu je okamžitá síla a posunutí horní desky vůči počáteční poloze. Ze získaných dat byl pro každý vzorek vyhodnocen pracovní diagram, elastický gradient (odpovídá modulu pružnosti), mez pevnosti v tlaku, absorbovaná energie a účinnost absorbování energie. Veškeré parametry byly vyhodnocovány v programu Microsoft Office Excel.

3.3.3.1 Pracovní diagram

Pracovní diagram byl sestaven pro každý zatěžovaný vzorek zvlášť. Na vodorovnou osu byly vyneseny hodnoty deformace ε [-] a na svislou osu hodnoty napětí σ [MPa]. Jelikož se jedná o tlakovou zkoušku, grafy jsou zobrazeny ve 3. kvadrantu souřadnicového systému, proto jsou hodnoty jak deformace, tak i napětí záporné. Na obrázku je zobrazen pracovní diagram vzorku P0 (105) (viz Obrázek 8).

- Napětí σ

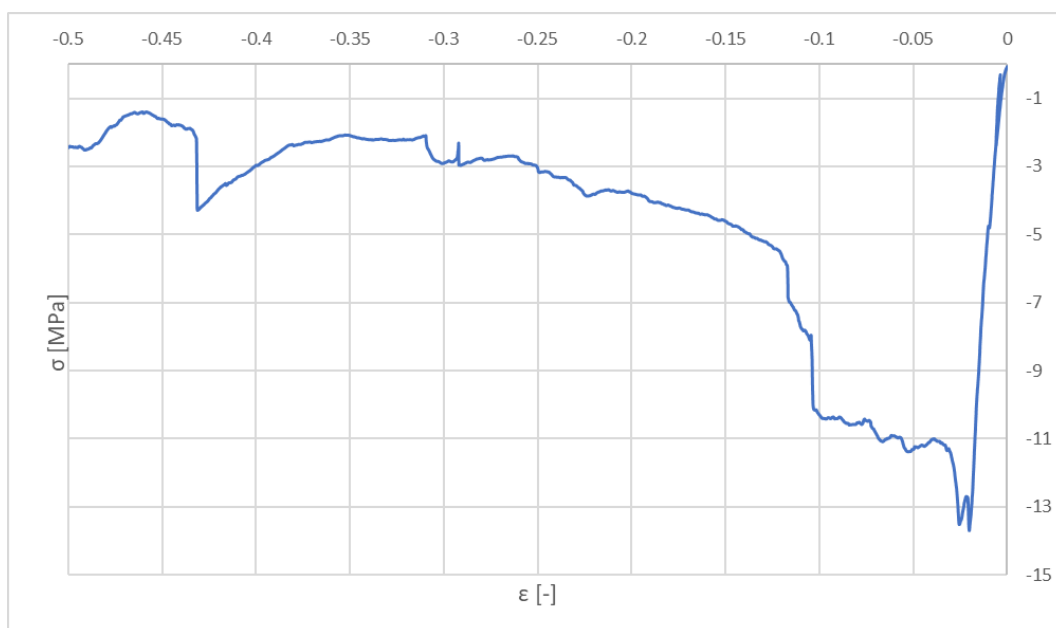
Napětí je tlaková síla F dělená plochou počátečního průřezu S_0 , kolmou ke směru zatěžování. Podle vztahu:

$$\sigma = \frac{F}{S_0} \quad [MPa] \quad (1)$$

- Deformace ε

Deformace je definovaná jako změna výšky Δh dělená počáteční výškou zkušební vzorku h_0 . Ze vztahu:

$$\varepsilon = \frac{\Delta h}{h_0} \quad [-] \quad (2)$$

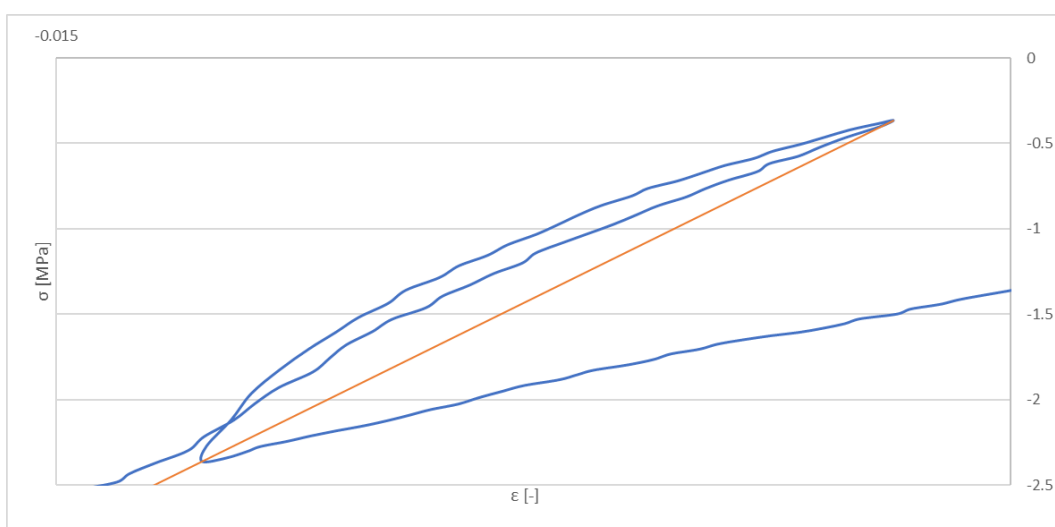


Obrázek 8 - Příklad pracovního diagramu pro vzorek P0 (105)

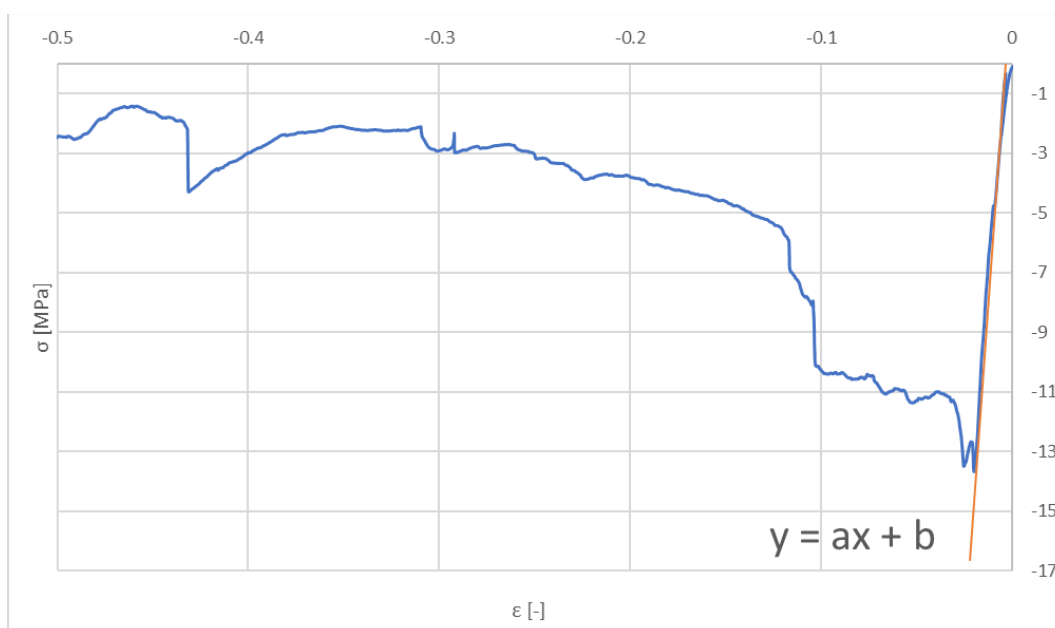
3.3.3.2 Elastický gradient

Elastický gradient je směrnice sečny získané z hysterezní smyčky při odlehčení a reprezentuje modul pružnosti materiálu. Body určující přímku byly nalezeny jako průsečíky maximálních a minimálních hodnot napětí a deformace v místě hysterezní smyčky. Průsečíky byla vedena lineární spojnice trendu a vygenerována rovnice spojnice ve tvaru $y = ax + b$, kde parametr a odpovídá elastickému gradientu E . Rovnici spojnice lze také vyjádřit za použití funkce lineární regrese z nalezených bodů.

Na obrázcích je zobrazeno vyhodnocení elastického gradientu pro vzorek P0 (105) (viz Obrázek 9 a Obrázek 10).



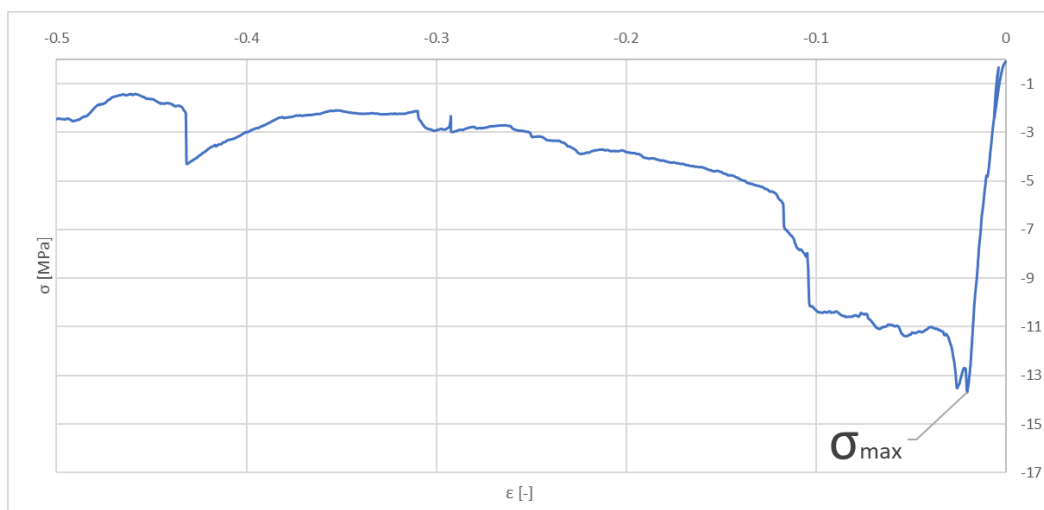
Obrázek 9 - Detail určení elastického gradientu pro vzorek P0 (105)



Obrázek 10 - Příklad vyhodnocení elastického gradientu pro vzorek P0 (105)

3.3.3.3 Mez pevnosti v tlaku

Mez pevnosti v tlaku je určena jako maximální napětí σ_{max} , které bylo spočítáno jako podíl maximální zatěžovací síly F_{max} a počátečního průřezu S_0 (obměna vztahu (1)). Maximální zatěžovací síla byla nalezena pomocí funkce „MAX“ jako maximální hodnota ve sloupci s hodnotami okamžité zatěžovací síly. Na obrázku je zobrazeno maximální napětí pro vzorek P0 (105) (viz Obrázek 11).

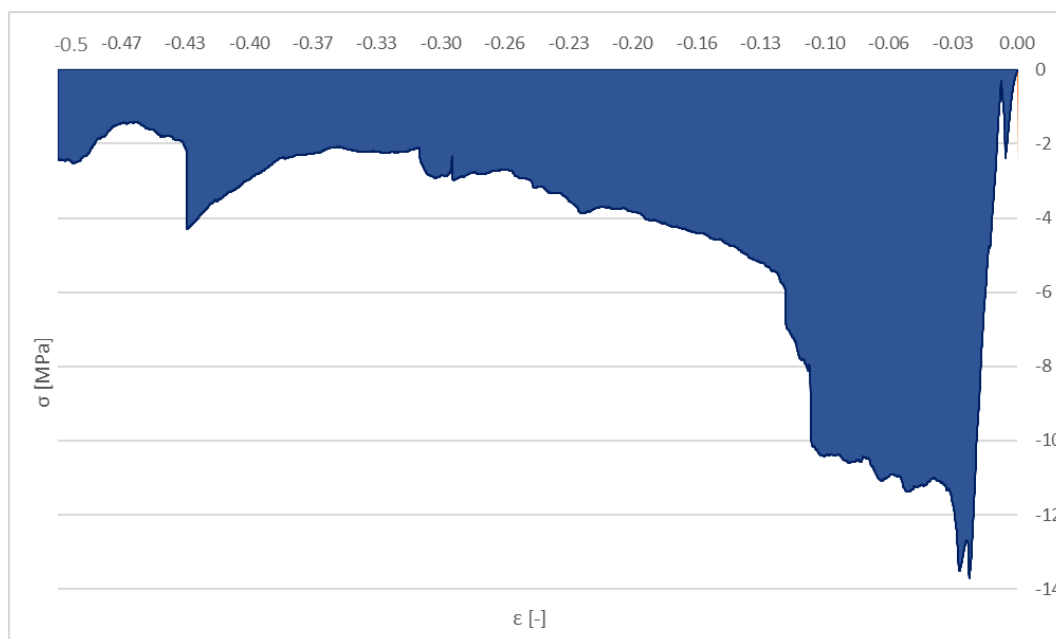


Obrázek 11 - Příklad vyhodnocení meze pevnosti v tlaku pro vzorek P0 (105)

3.3.3.4 Absorbovaná energie

Absorbovaná energie odpovídá ploše pod křivkou napětí – deformace až do 50% deformace ϵ_{50} . Vypočítat se dá integrálním počtem podle vzorce:

$$W = \frac{1}{100} \int_0^{\epsilon_{50}} \sigma \cdot d\epsilon \quad [MJ \cdot m^{-3}] \quad (3)$$



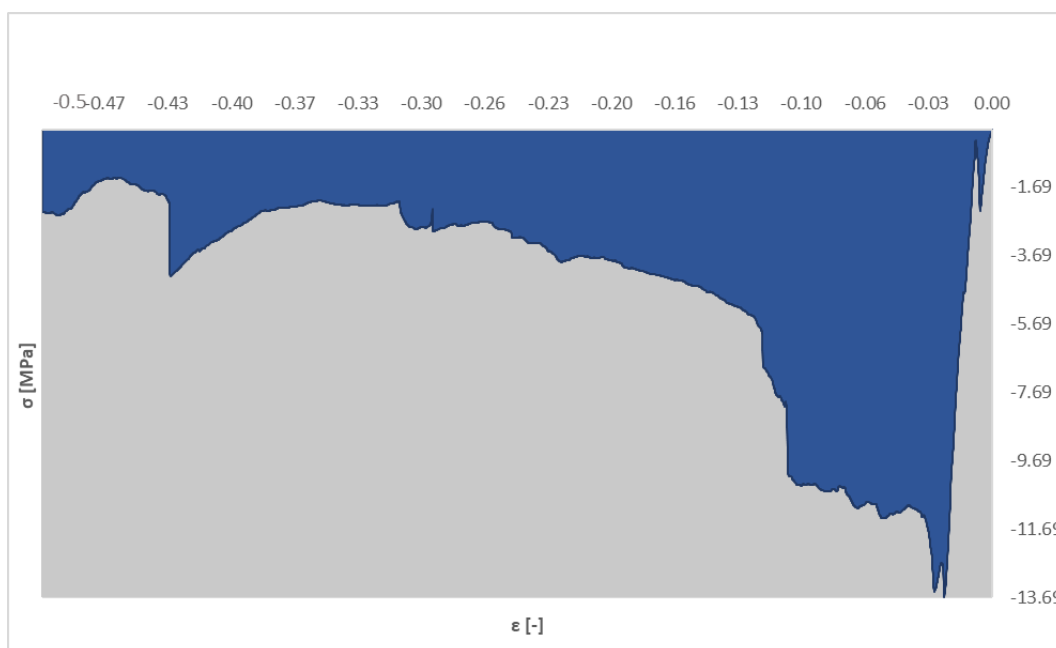
Obrázek 12 - Znázornění absorbované energie v grafu pro vzorek P0 (105)

Na obrázku je znázorněna absorbovaná energie v pracovním diagramu pro vzorek P0 (105) (viz Obrázek 12).

3.3.3.5 Účinnost absorbování energie

Účinnost absorbování energie vypočteme jako podíl absorbované energie W se součinem maximálního napětí σ_{max} a hodnoty 50 % deformace ε_{50} . Tomuto výpočtu odpovídá podíl zvýrazněných ploch na obrázku (viz Obrázek 10). Lze vypočítat podle vztahu:

$$W_e = \frac{W}{\varepsilon_{50} \cdot \sigma_{max}} \cdot 10^4 \quad [\%] \quad (4)$$

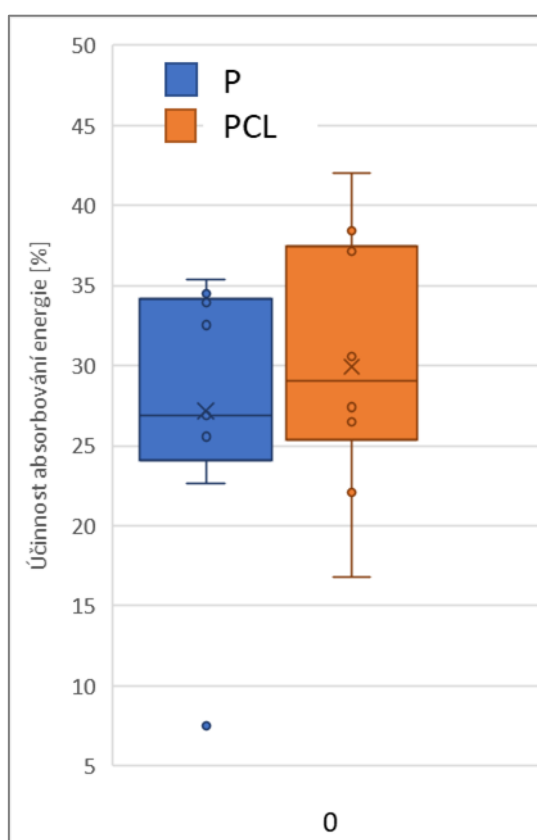


Obrázek 13 - Znázornění účinnosti absorbování energie pro vzorek P0 (105)

3.3.4 Statistické zpracování dat

Statistické zpracování dat bylo provedeno v programu STATGRAPHICS Centurion XV (Statpoint Technologies, USA). Normalita jednotlivých souborů dat byla ověřena pomocí Shapiro-Wilkova testu. Podmínka shody rozptylů byla ověřena pomocí Levenova testu. V případě splnění obou předpokladů byl pro vícenásobné porovnání použit Fisherův Least Significant Difference test (LSD) a párové porovnání bylo provedeno pomocí Studentova t-testu. V případě porušení jedné z výše uvedených podmínek, byl pro statistické hodnocení použit neparametrický Kruskal-Walisův test a Mann-Whitney test pro párové porovnání. Při použití Mann-Whitney testu pro více než jeden pár, byla provedena Bonferroniho korekce hladiny spolehlivosti. Pro všechny statistické testy byla akceptována hladina spolehlivosti $p \leq 0,05$.

Pro zobrazení naměřených hodnot byly použity krabicové grafy (box-plot) (viz Obrázek 14), v nichž horní okraj krabice představuje 75 % kvantil, dolní pak 25 % kvantil, uvnitř krabice tedy leží 50 % všech naměřených dat. Vodorovná čára uvnitř krabice představuje medián (50 % kvantil), křížek pak aritmetický průměr, resp. střední hodnotu normálního rozdělení. Okrajové čárky svislých úseček představují nejnižší a nejvyšší hodnotu ze všech dat. Hodnoty za 1,5 násobkem mezikvartilového rozpětí (75 %-25 % kvantil) nazýváme odlehlými hodnotami, odpovídající bodům mimo krabici i svislé úsečky. Pokud jsou tyto bod zvýrazněny i křížkem, jde o hodnoty ležící za trojnásobkem mezikvartilového rozpětí, resp. extrémní odchylky.



Obrázek 14 – Příklad krabicového grafu

3.4 Realizace experimentu

3.4.1 Měření velikosti vzorku

Válečky byly měřeny pomocí mikrometru (viz Obrázek 15). Průměr i výška byly měřeny vždy 3x ve třech pootočeních po 120° a hodnoty zaznamenány s přesností na mikrometry do předem připravené tabulky. Z naměřených hodnot byl vypočten aritmetický průměr pro průměr d i výšku h a ze střední hodnoty průměrů byl vypočten průřez S_0 .



Obrázek 15 - Měření vzorku před zatížením

3.4.2 Odhad maximální zatěžovací síly F_{max} a hodnot F_{20} a F_{70}

Ze znalostí a zkušeností z předchozích měření podobných materiálů bylo odhadnuto, že maximální napětí σ_{max_o} by mohlo nabýt hodnot kolem 3,5 MPa. Na základě této hodnoty byla vypočtena velikost maximální síly F_{max} a hodnoty F_{20} a F_{70} (obměnou vztahu (1)). Síla F_{20} , resp. F_{70} odpovídá 20 %, resp. 70 % maximální síly. Vzorový výpočet předveden na vzorku P0 (105), jehož počáteční průřez byl roven $S_0 = 25,529 \text{ mm}^2$.

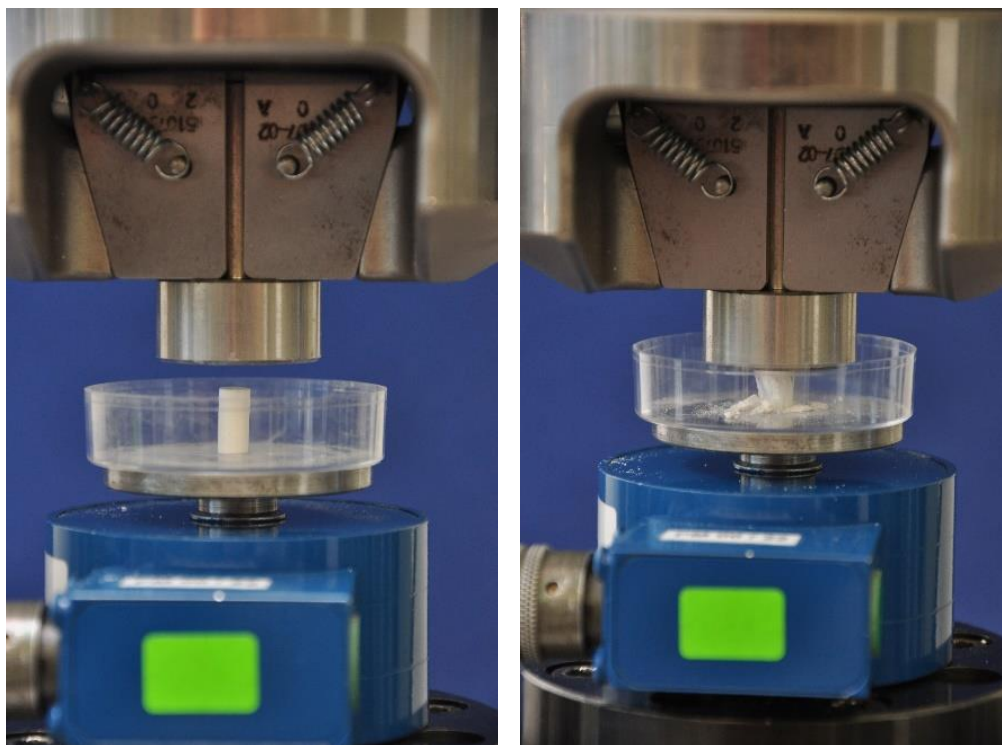
$$F_{max} = \sigma_{max_o} \cdot S_0 = -3,5 \cdot 25,529 = -89,35 \text{ N} \quad (5)$$

$$F_{20} = 0,2 \cdot F_{max} = 0,2 \cdot (-89,35) = -17,87 \text{ N} \quad (6)$$

$$F_{70} = 0,7 \cdot F_{max} = 0,7 \cdot (-89,35) = -62,55 \text{ N} \quad (7)$$

3.4.3 Zatěžování s odlehčovací hysterezní smyčkou

Vzorky byly vkládány co nejpřesněji na střed mezi desky zatěžovacího systému. Po řádném uložení válečku na desce byl spuštěn zatěžovací program. Limity pro odlehčovací křivku byly zadány tak, jak bylo vypočteno v kapitole 3.4.2. Zatěžování probíhalo až do úplného zborcení vzorku (viz Obrázek 16).

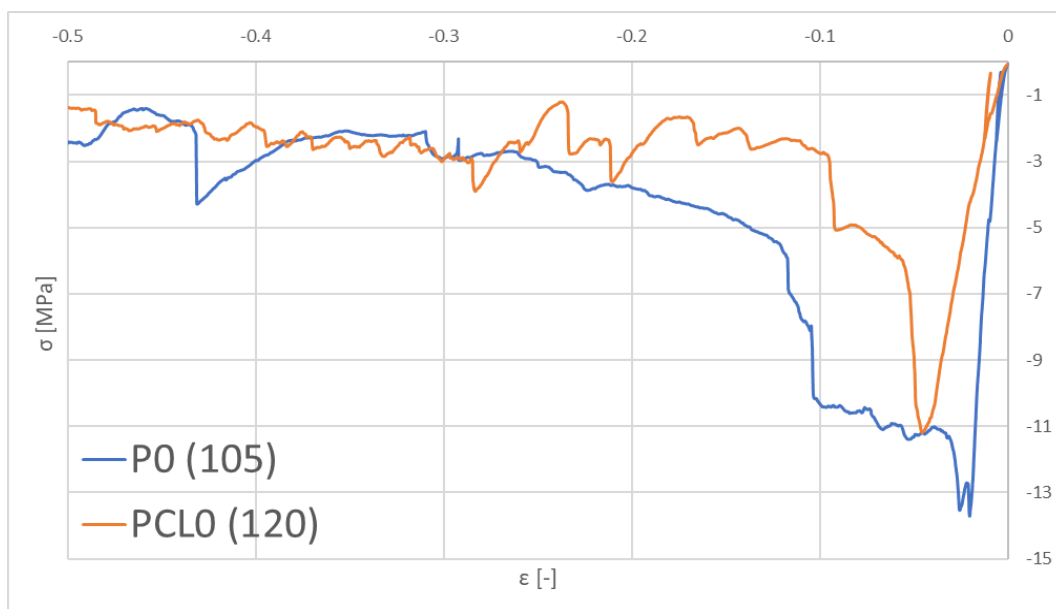


Obrázek 16 - Zatěžování vzorku

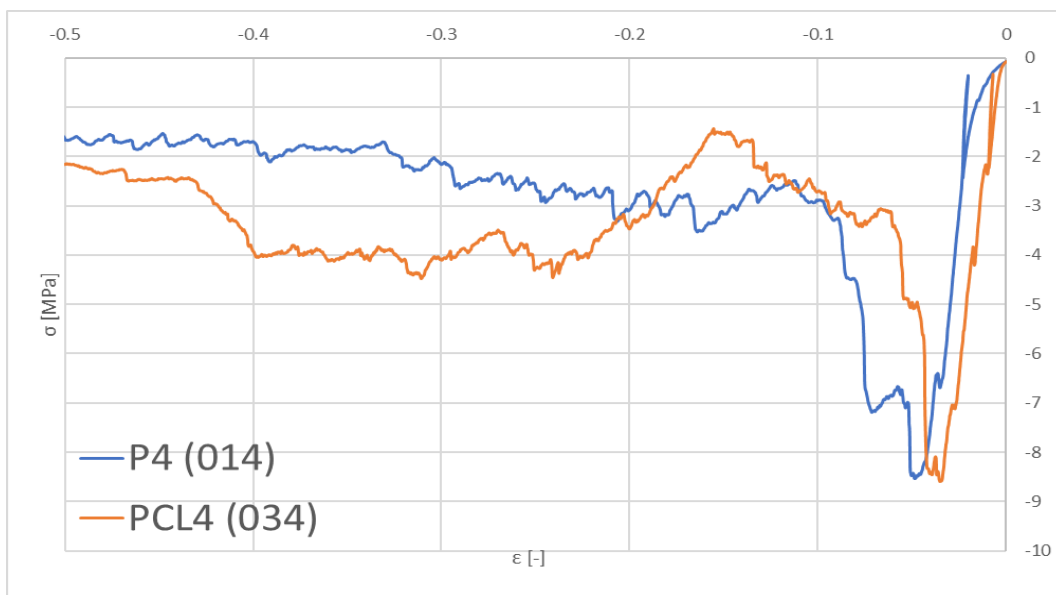
4 Výsledky zkoušky a diskuse

4.1 Pracovní diagram

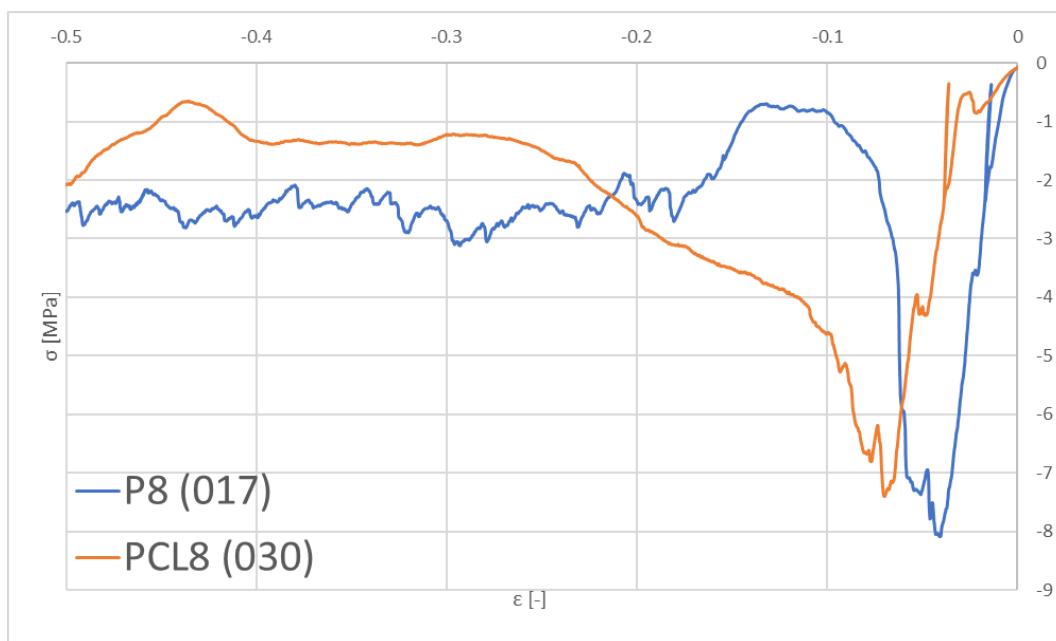
V grafech níže jsou znázorněny závislosti deformace na napětí. Na každém obrázku jsou porovnány vždy dva ukázkové vzorky z obou skupin, tedy P a PCL. V prvním grafu (viz Obrázek 17) jsou v porovnání vzorky po minimální expozici v roztoku, konkrétně jsou zde zobrazeny průběhy vzorků P0 (105) a PCL0 (120). V druhém grafu (viz Obrázek 18) je zobrazen pracovní diagram vzorků P4 (014) a PCL4 (034) po 4 hodinách expozice, dále je zobrazena závislost vzorků P8 (017) a PCL8 (030) po 8 hodinách expozice v mediu (viz Obrázek 19).



Obrázek 17 - Porovnání pracovních diagramů vzorků P0 (105) a PCL0 (120) po minimální expozici v roztoku

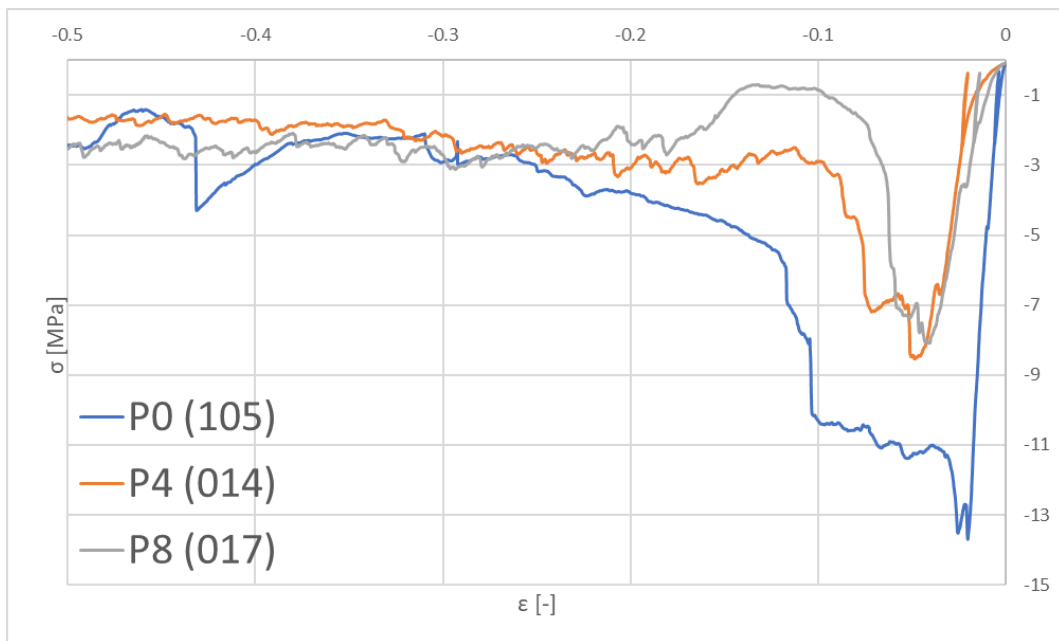


Obrázek 18 - Porovnání pracovních diagramů vzorků P4 (014) a PCL4 (034) po 4 hodinách expozice v roztoku

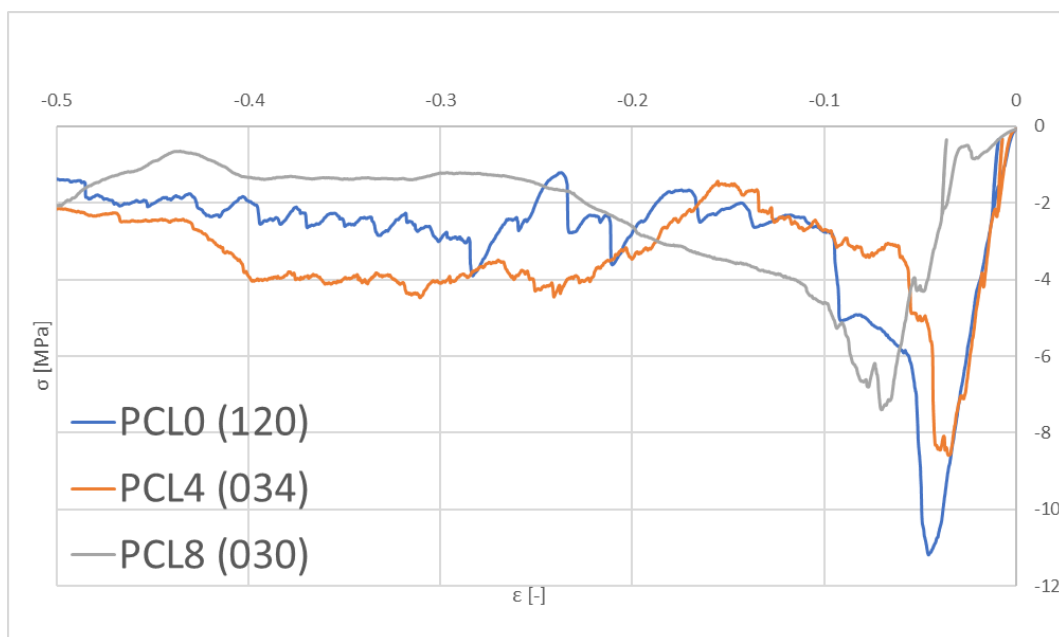


Obrázek 19 - Porovnání pracovních diagramů vzorků P8 (017) a PCL8 (030) po 8 hodinách v roztoku

V grafech níže můžeme vidět v porovnání všechny vzorky jedné skupiny po různých dobách expozice v roztoku a sledovat vliv expozice. V prvním grafu (viz Obrázek 20) jsou zobrazeny vzorky skupiny P (P0 (105), P4 (014) a P8 (017)) a v druhém grafu (viz Obrázek 21) vzorky ze skupiny PCL (PCL0 (120), PCL4 (034) a PCL8 (030)).



Obrázek 20 - Porovnání pracovních diagramů skupiny P (vzorky P0 (105), P4 (014) a P8 (017))



Obrázek 21 - Porovnání pracovních diagramů skupiny PCL (vzorky PCL0 (120), PCL4 (034) a PCL8 (030))

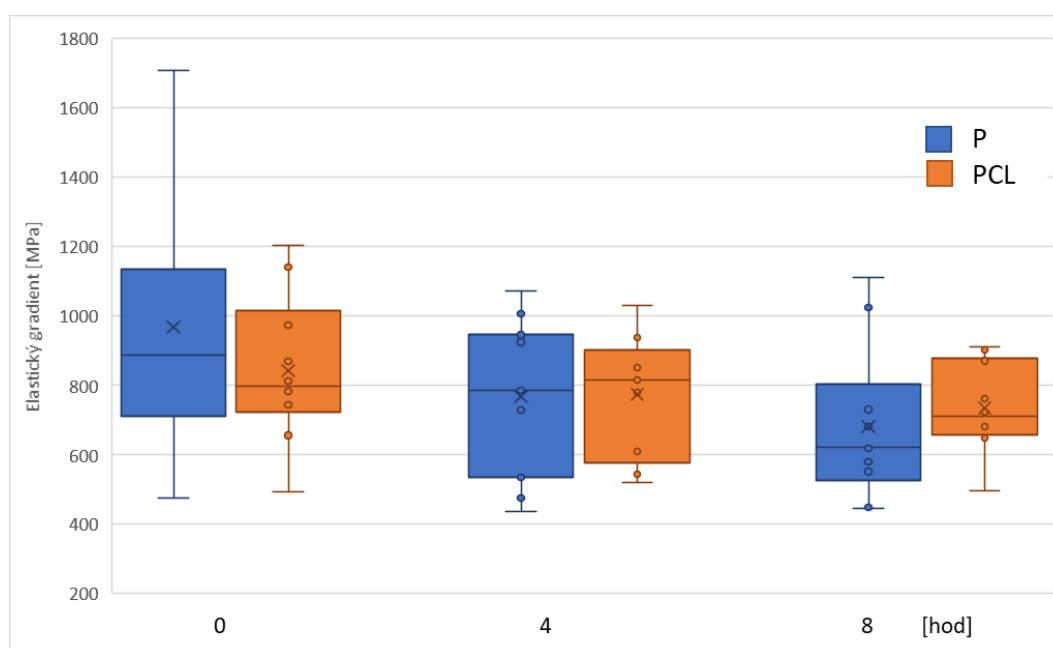
Na základě tohoto zobrazení, kde jsou viditelné rozdíly v průběhu křivek v závislosti na délce expozice, lze předpokládat, že v materiálu došlo ke změně mechanických vlastností vlivem degradace.

4.2 Elastický gradient

V tabulce (viz Tabulka 2) jsou vypsány aritmetické průměry hodnot elastického gradientu vždy pro každou skupinu vzorků zvlášť. K nim byla také vypočtena výběrová směrodatná odchylka. Pro názornost a představitelnost byly tyto hodnoty vyneseny do krabicového grafu (viz Obrázek 22).

Tabulka 2 - Tabulka hodnot elastického gradientu

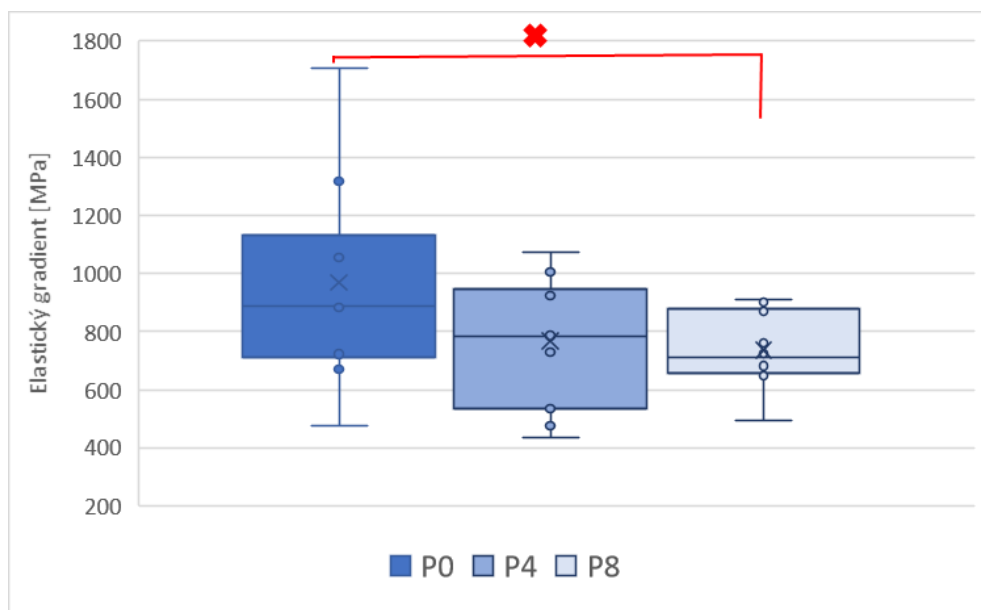
Skupina	Elastický gradient [MPa]	Směrodatná odchylka [MPa]
P0	968	349
PCL0	842	215
P4	768	214
PCL4	773	178
P8	681	224
PCL8	735	131



Obrázek 22 - Grafické porovnání hodnot elastického gradientu skupiny P a PCL

Po provedení statistické analýzy bylo zjištěno, že mezi hodnotami elastického gradientu pro skupiny P a PCL není významný statistický rozdíl. Je tedy možné říct, že PCL vlákna nemají na velikost hodnoty elastického gradientu statisticky významný vliv.

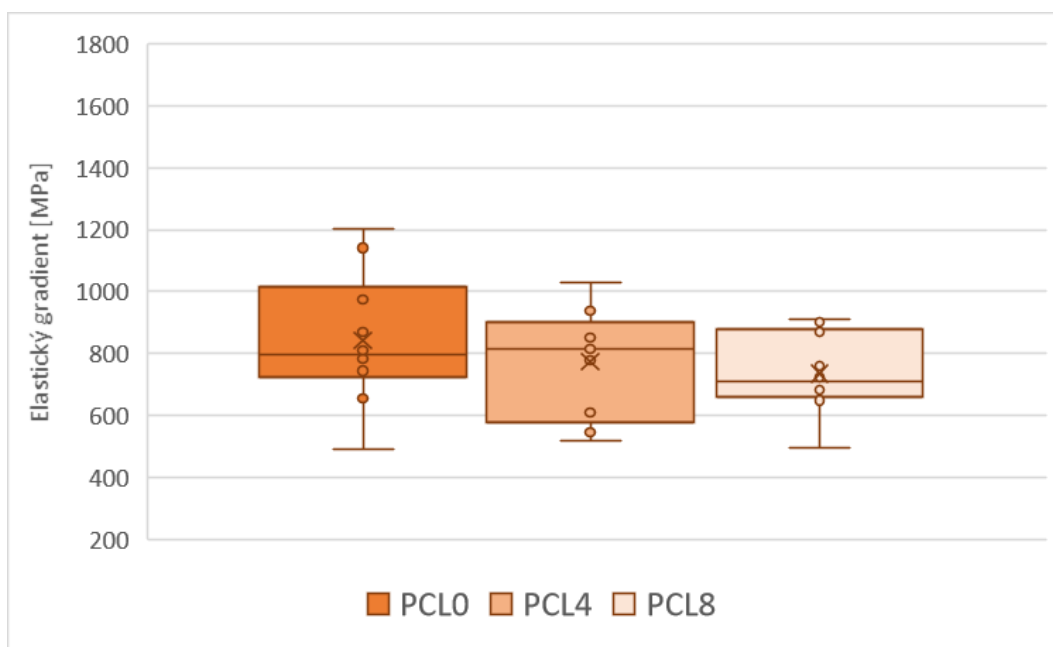
V grafech níže (viz Obrázek 23 a Obrázek 24) je zobrazen vliv expozice v roztoku na elastický gradient pro každou skupinu zvlášť.



Obrázek 23 - Grafické porovnání hodnot elastického gradientu pro skupinu P

✖ - statisticky významný rozdíl (LSD test, 0,05)

Po 4 hodinách expozice se elastický gradient téměř nezměnil. K významnému poklesu elastického gradientu došlo až po 8 hodinách expozice, kdy se hodnota gradientu snížila téměř o 30 %.



Obrázek 24 - Grafické porovnání hodnot elastického gradientu pro skupinu PCL

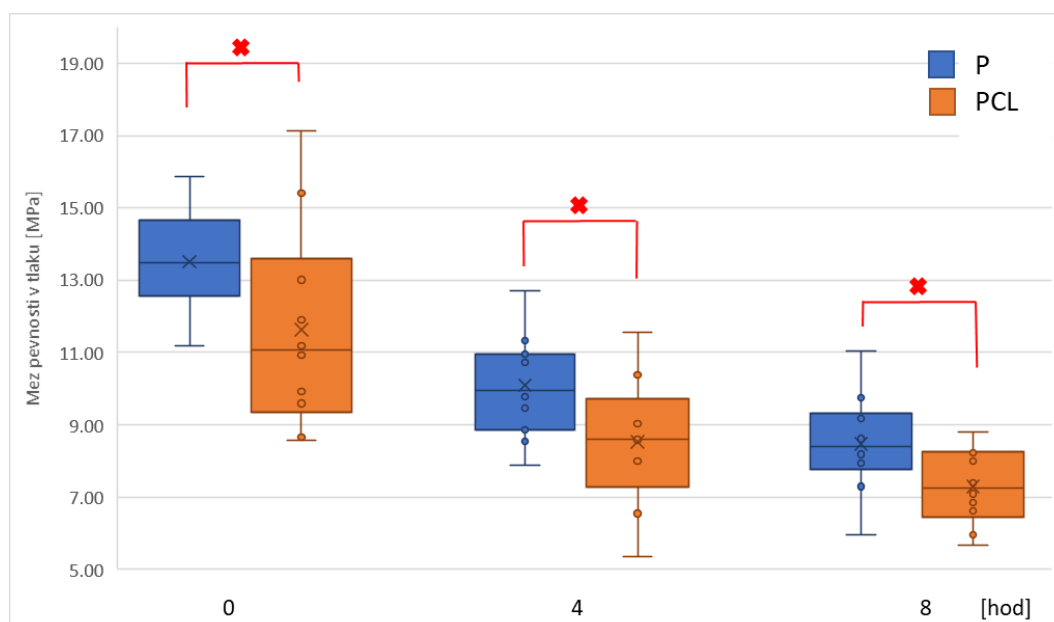
Vzorky s PCL vlákny po expozici nevykazují statisticky významný pokles hodnoty elastického gradientu. Dalo by se spíše říct, že gradient zůstává prakticky neměnný.

4.3 Mez pevnosti v tlaku

V tabulce níže (viz Tabulka 3) jsou vypsané aritmetické průměry hodnot meze pevnosti v tlaku vždy pro každou skupinu vzorků zvlášť. K nim byla také vypočtena výběrová směrodatná odchylka. Tyto hodnoty byly opět vyneseny do krabicového grafu (viz Obrázek 25).

Tabulka 3 - Tabulka hodnot meze pevnosti v tlaku

Skupina	Mez pevnosti v tlaku [MPa]	Směrodatná odchylka [MPa]
P0	13,5	1,5
PCL0	11,6	2,8
P4	10,1	1,4
PCL4	8,5	1,9
P8	8,5	1,4
PCL8	7,3	1,0



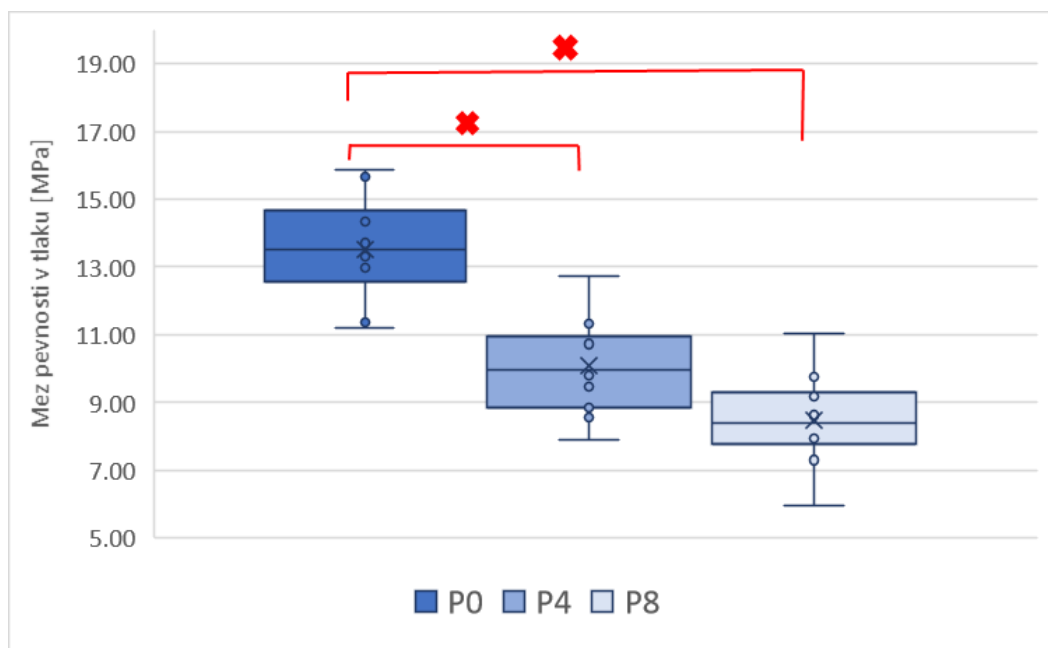
Obrázek 25 - Grafické porovnání hodnot meze pevnosti v tlaku

✖ - statisticky významný rozdíl

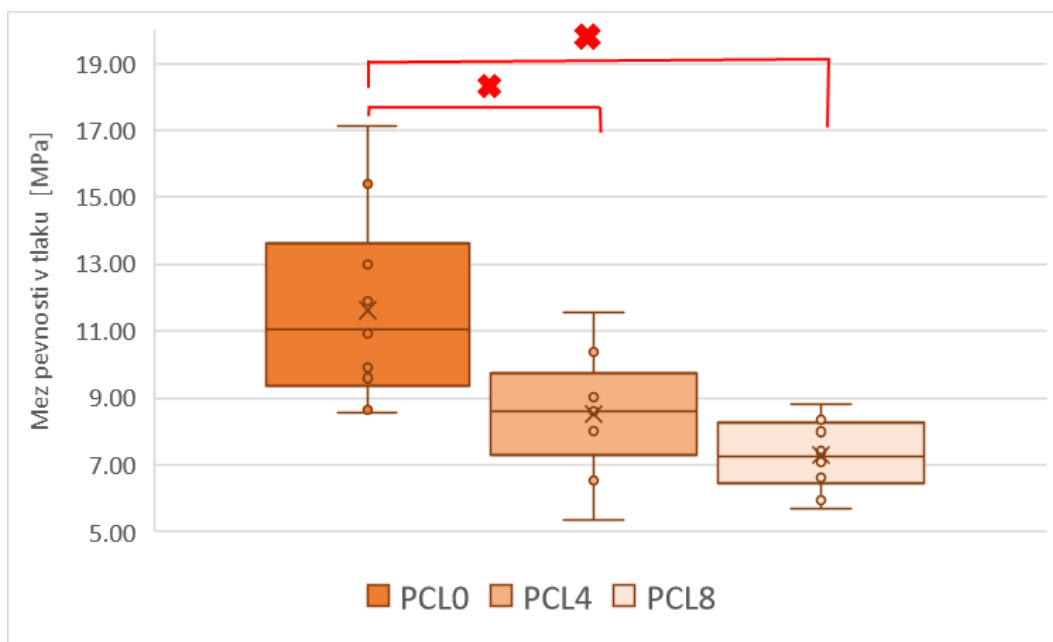
(Mann-Whitney test, 0,05 (pro 0 hod); t-test, 0,05 (pro 4 a 8 hod))

Po statistické analýze bylo zjištěno, že vlivem PCL vláken výrazně klesá mez pevnosti v tlaku. V případě minimální expozice mají vzorky s PCL vlákny o 14 % menší hodnotu meze pevnosti v tlaku, po 4 hodinách rozdíl činí 16 % a po 8 hodinách expozice je rozdíl 14 %.

V grafech níže (viz Obrázek 26 a Obrázek 27) je zobrazen vliv expozice v roztoku na mez pevnosti v tlaku pro každou skupinu zvlášť



Obrázek 26 - Grafické porovnání hodnot meze pevnosti v tlaku pro skupinu P
 ✖ - statistický významný rozdíl (Mann-Whitney test, 0,05)



Obrázek 27 - Grafické porovnání hodnot meze pevnosti v tlaku pro skupinu PCL
 ✖ - statistický významný rozdíl (Mann-Whitney test, 0,05)

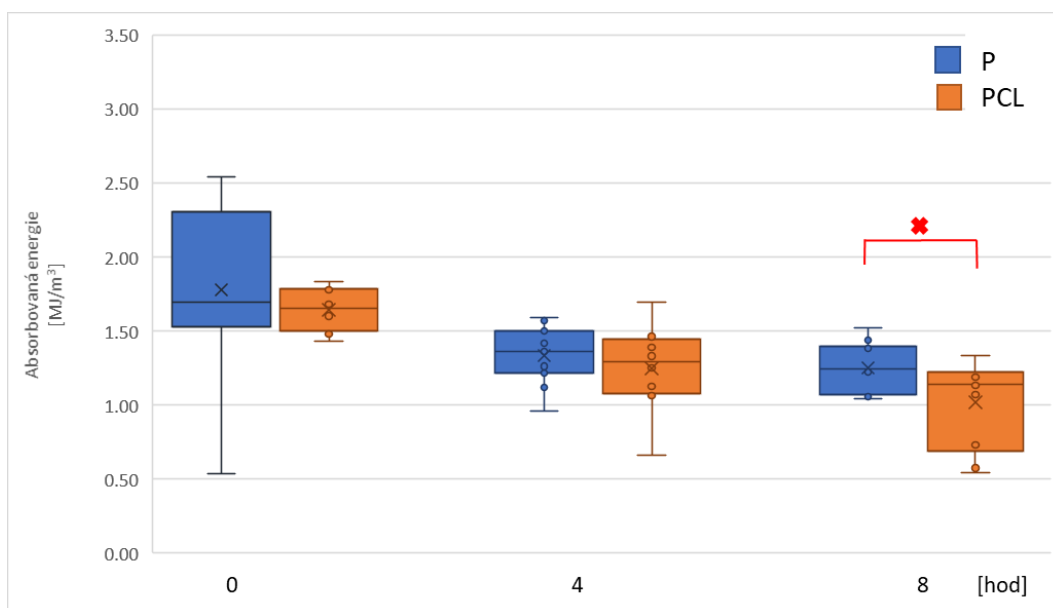
Po statistické analýze je z těchto grafů zřejmé, že vlivem expozice významně klesá hodnota meze pevnosti v tlaku. Pro P vzorky po 4 hodinách expozice klesne pevnost o 25 %, po 8 hodinách už rozdíl činí 37 %. Pro PCL vzorky po 4 hodinách pevnost klesne o téměř 27 %, po 8 hodinách stejně jako o skupiny P klesne o 37 %.

4.4 Absorbovaná energie

V tabulce níže (viz Tabulka 4) jsou vypsány aritmetické průměry hodnot absorbované energie vždy pro každou skupinu vzorků zvlášť. K nim byla také vypočtena výběrová směrodatná odchylka. Pro názornost a představitelnost byly tyto hodnoty vyneseny do krabicového grafu (viz Obrázek 28).

Tabulka 4 - Tabulka hodnot absorbované energie

Skupina	Absorbovaná energie [MJ/m ³]	Směrodatná odchylka [MJ/m ³]
P0	1,75	0,57
PCL0	1,65	0,14
P4	1,34	0,18
PCL4	1,27	0,29
P8	1,25	0,16
PCL8	1,02	0,29

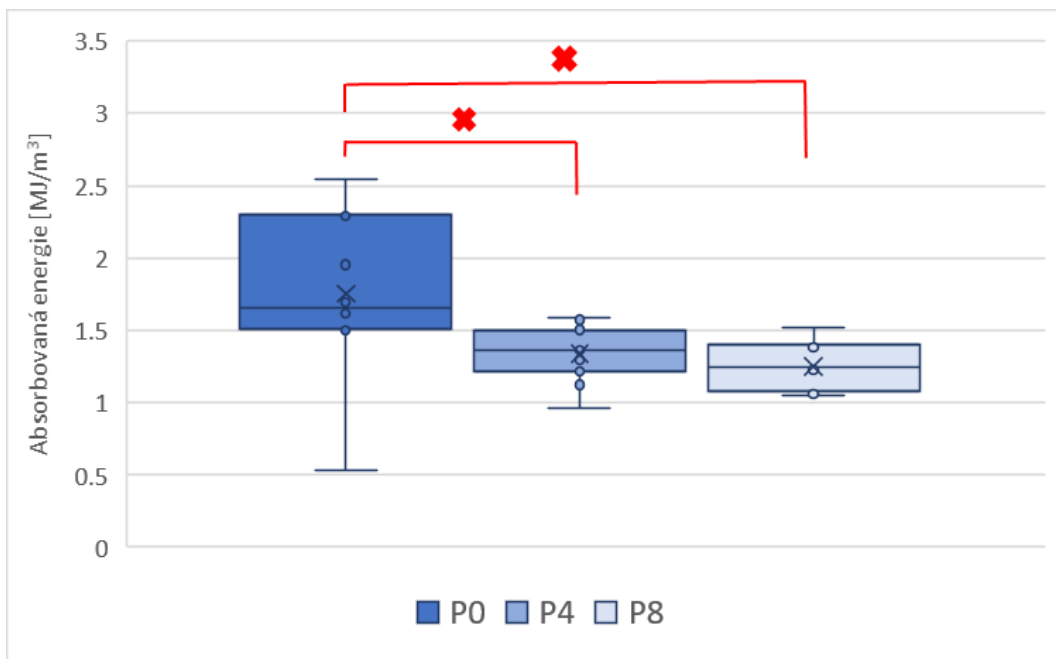


Obrázek 28 - Grafické porovnání hodnot absorbované energie

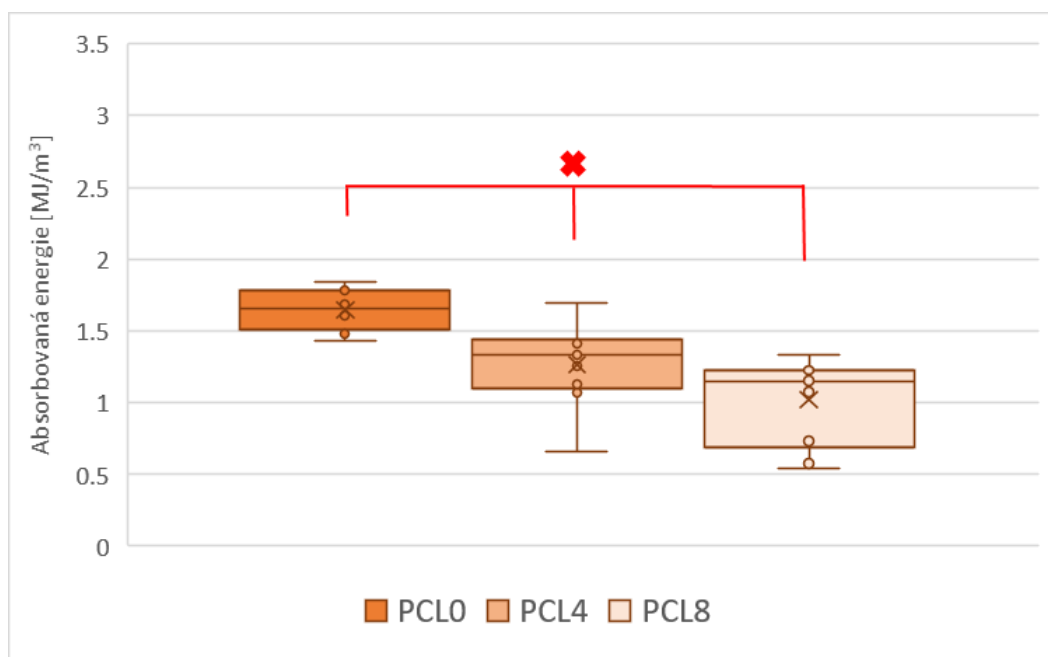
✖ -statisticky významný rozdíl (t-test, 0,05)

Po statistické analýze lze říct, že v případě absorbované energie se vzorky s vlákny PCL od vzorků P významně neliší. Významnější rozdíl je zřejmý až po 8 hodinách expozice v mediu, kdy absorbovaná energie u vzorků s PCL vlákny klesne oproti P vzorkům o 18 %.

V grafech níže (viz Obrázek 29 a Obrázek 30) je zobrazen vliv expozice v roztoku na absorbovanou energii pro každou skupinu zvlášť



Obrázek 29 - Grafické porovnání hodnot absorbované energie pro skupinu P
 ✖ - statistický významný rozdíl (Mann-Whitney test, 0,05)



Obrázek 30 - Grafické porovnání hodnot absorbované energie pro skupinu PCL
 ✖ - statisticky významný rozdíl (LSD test, 0,05)

Statistickou analýzou bylo zjištěno, že doba expozice významně ovlivňuje množství absorbované energie materiálu P. Po 4 hodinách se absorbovaná energie sníží téměř o 23,5 % a po 8 hodinách už rozdíl činí 28,5 %.

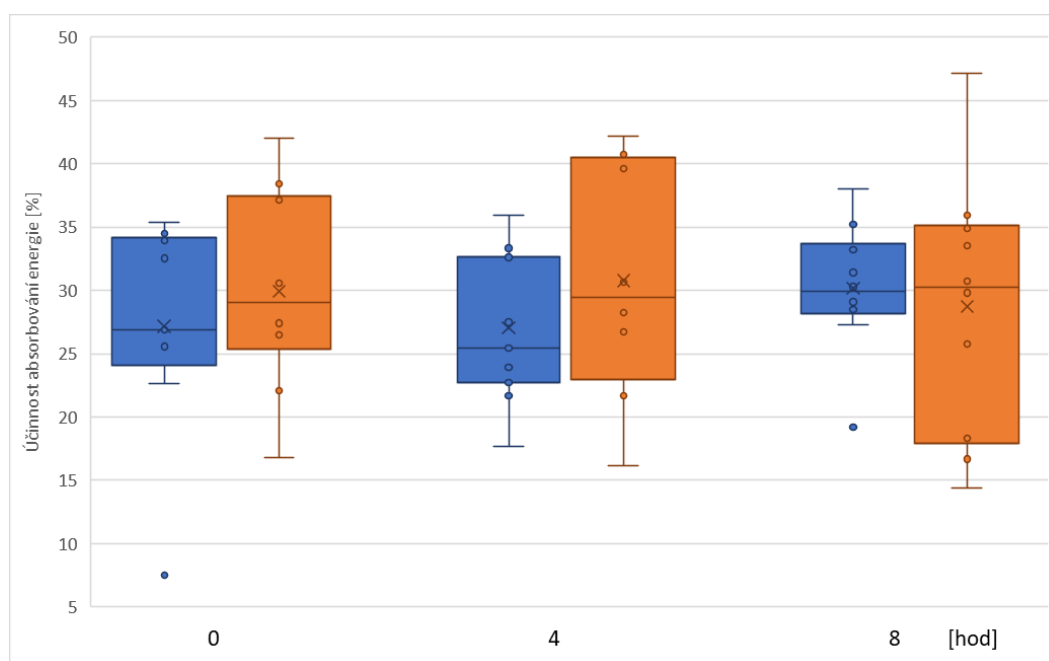
V případě skupiny PCL absorbovaná energie po 4 hodinách klesne o 23 %, po dalších 4 hodinách o dalších téměř 20 %. Za dobu 8 hodin absorbovaná energie klesla o 38 %.

4.5 Účinnost absorbování energie

V tabulce níže (viz Tabulka 5) jsou vypsané aritmetické průměry hodnot účinnosti absorbování energie vždy pro každou skupinu vzorků zvlášť. K nim byla také vypočtena výběrová směrodatná odchylka. Pro názornost a představitelnost byly tyto hodnoty vyneseny do krabicového grafu (viz Obrázek 31).

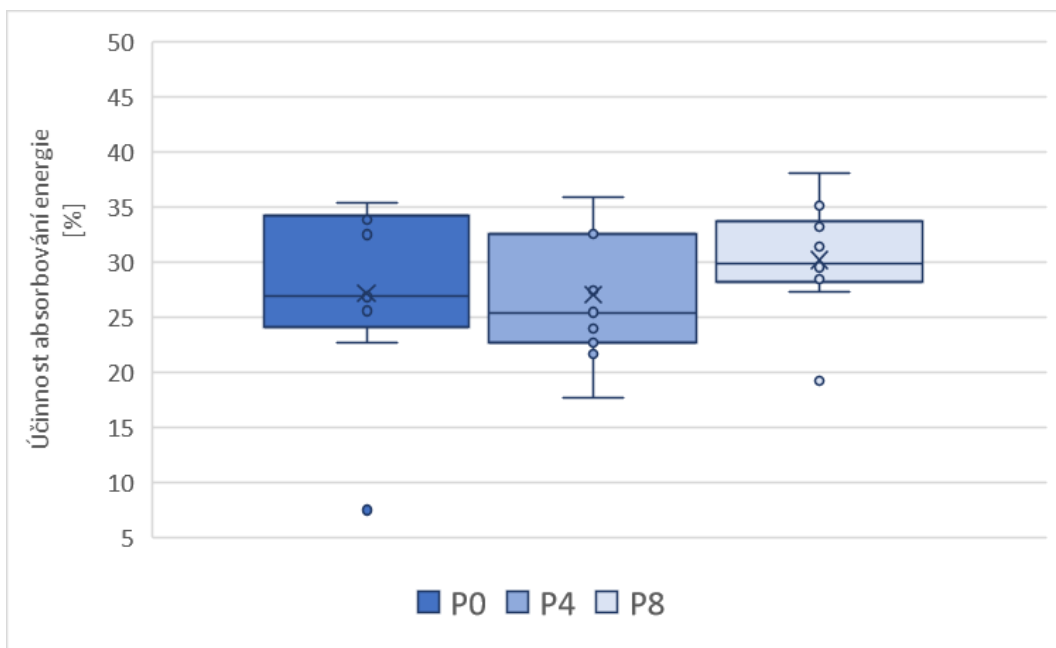
Tabulka 5 - Tabulka hodnot účinnosti absorbování energie

Skupina	Účinnost absorbování energie [%]	Směrodatná odchylka [%]
P0	27,2	8,7
PCL0	29,9	7,7
P4	27,1	5,8
PCL4	30,8	9,4
P8	30,2	5,1
PCL8	28,7	10,1

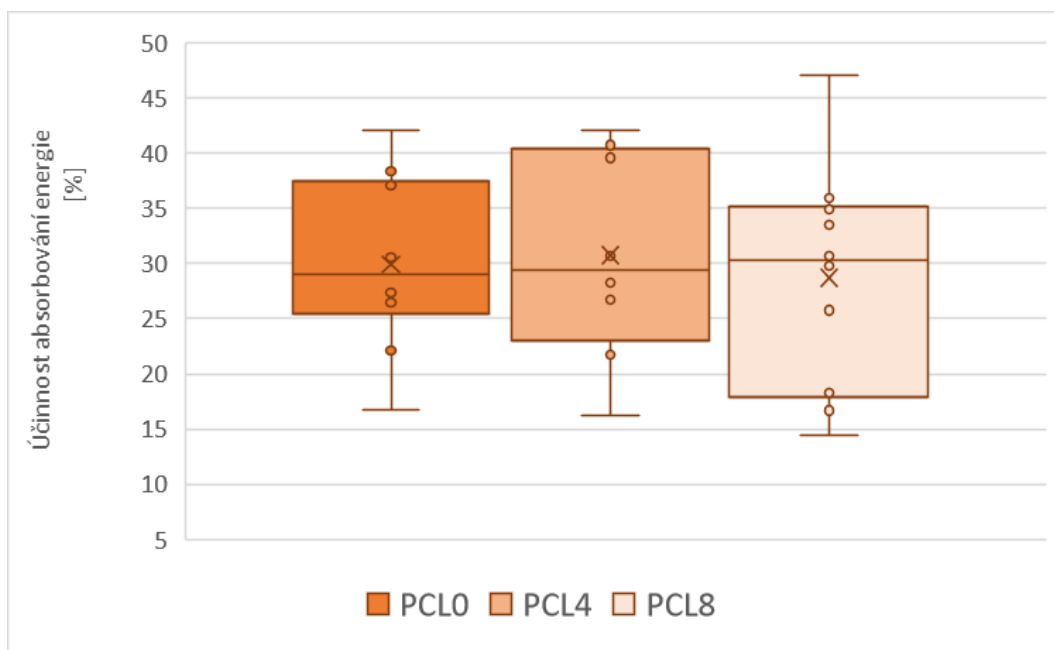


Obrázek 31 - Grafické porovnání hodnot účinnosti absorbování energie

V grafech níže (viz Obrázek 32 a Obrázek 33) je zobrazen vliv expozice v roztoku na účinnost absorbování energii pro každou skupinu zvlášť



Obrázek 32 - Grafické porovnání hodnot účinnosti absorbování energie pro skupinu P



Obrázek 33 - Grafické porovnání hodnot účinnosti absorbování energie pro skupinu PCL

Statistickou analýzou bylo zjištěno, že účinnost absorbování energie se nijak významně vlivem expozice neliší. Rozdíl nenastává ani mezi skupinami P a PCL. Účinnost stagnuje přibližně kolem hodnoty 29 %.

5 Závěr

Cílem této práce bylo analyzovat mechanické vlastnosti kostního cementu při akcelerované degradaci v nízko molárním roztoku kyseliny chlorovodíkové a chloridu sodného simulující prostředí zánětu, resp. odbourávání kosti. Mechanické vlastnosti byly vyhodnocovány z tlakové zkoušky podle normy ČSN ISO 13314. Po provedení zkoušky byl pro každý vzorek sestaven pracovní diagram, vyhodnocen elastický gradient (modul pružnosti), mez pevnosti v tlaku, absorbovaná energie a účinnost absorbování energie. Výsledky jsou shrnuty v předchozí kapitole v tabulkách (viz Tabulka 2 až Tabulka 5). Zjišťovány byly rozdíly ve vyhodnocovaných parametrech vlivem expozice v roztoku po minimální expozici (tj. po 10 minutách), po 4 hodinách a po 8 hodinách expozice. Dále byl vyhodnocován vliv PCL vláken na mechanické vlastnosti.

Zkoušeny byly dva typy vzorků kostního cementu. Jedním byl základní kostní cement míchaný pomocí šlehání, druhý byl také šlehaný cement s přidanými PCL vlákny. Rozdíl mezi vzorky ze základního kostního cementu (označeného P) a vzorky s PCL vlákny (značeny PCL) je významný v případě meze pevnosti v tlaku. V případě minimální expozice mají vzorky s PCL vlákny o 14 % menší hodnotu meze pevnosti v tlaku, po 4 hodinách rozdíl činí 16 % a po 8 hodinách expozice je rozdíl 14 %. Vzorky s PCL vlákny mají tedy znatelně nižší pevnost. Mez pevnosti v tlaku se snižuje i vlivem expozice v roztoku. Pro P vzorky po 4 hodinách expozice klesne pevnost o 25 %, po 8 hodinách už rozdíl činí 37 %. Pro PCL vzorky po 4 hodinách pevnost klesne o téměř 27 %, po 8 hodinách stejně jako o skupiny P klesne o 37 %.

Rozdíly lze dále sledovat po 8 hodinách expozice u množství absorbované energie, kdy její množství u vzorků PCL významně klesá oproti vzorkům P o 18 %. Významný rozdíl nastává i v rámci každé skupiny zvláště, kdy s dobou expozice množství absorbované energie klesá. Po 4 hodinách se absorbovaná energie vzorků P sníží téměř o 23,5 % a po 8 hodinách už rozdíl činí 28,5 %. V případě skupiny PCL absorbovaná energie po 4 hodinách klesne o 23 %, po dalších 4 hodinách o dalších téměř 20 %. Za dobu 8 hodin absorbovaná energie klesla o 38 %.

V praxi se setkáváme s kostními cementy v takovém prostředí, které odpovídá simulované expozici. Z naměřených a vyhodnocených parametrů lze tedy říct, že lepší vlastnosti vykazuje materiál skupiny P, tj. bez PCL vláken. Předpoklad, že PCL vlákna mají pozitivní vliv na pevnost materiálu, tedy nebyl potvrzen. Experimentem bylo dokázáno,

že mechanické vlastnosti vzorků s PCL vlákny nabyly nižších hodnot. Druhým předpokladem bylo, že se vlivem degradace budou mechanické vlastnosti zhoršovat. Tento předpoklad byl potvrzen.

6 Seznam literatury

Čihák, Radomír. 2009. *Anatomie 1.* Praha : Grada, 2009.

ČSN ISO, 13314. 2012. *Mechanické zkoušení kovů - Zkoušení trvanlivosti - Zkouška porézních a pěnových kovů tlakem.* Praha : Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2012. 12 s.

Diez-Escudero, A., a další. 2017. In vitro degradation of calcium phosphates: Effect of multiscale porosity textural properties and composition. *Acta Biomaterialia.* 2017, Sv. 60, 81-92.

Fernandez de Grado, Gabriel, a další. 2018. Bone substitutes: a review of their characteristics, clinical use, and perspectives for large bone defects management. *Journal of Tissue Engineering.* 2018, Sv. 9, 1-18.

Kozáková, Denisa. 2010. *Materiály kostních náhrad - rešerše.* Hradec Králové : Farmaceutická fakulta, 2010. Bakalářská práce.

Vojtová, Lucy, a další. 2019. The Effect of the Thermosensitive Biodegradable PLGA-PEG-PLGA Copolymer on the Rheological, Structural and Mechanical Properties of Thixotropic Self-Hardening Tricalcium Phosphate Cement. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019, Sv. 20, 391.

www.myeloma.cz. Česká myelomová skupina. [Online]
<https://www.myeloma.cz/res/file/brozury/bisfosfonaty.pdf>.

Zhang, Jingtato, a další. 2014. Calcium phosphate cements for bone substitution: Chemistry, handling and mechanical properties. *Acta Biomaterialia.* 2014, Sv. 10, 1035-1049.

Seznam obrázků

Obrázek 1 - Vnitřní stavba kosti (převzato z www.wikiskripta.eu/w/Kost)	10 -
Obrázek 2 - Nařezané vzorky	16 -
Obrázek 3 - Rozdělení vzorků podle skupin	17 -
Obrázek 4 - Naložené vzorky v inkubátoru.....	17 -
Obrázek 5 - Mikroskopické snímky vzorku skupiny P ve všech zkoušených stavech (zleva: 0, 4 a 8 hodin; horní řádek zvětšení 23x, dolní řádek 5000x).	18 -
Obrázek 6 - Mikroskopické snímky vzorku skupiny PCL ve všech zkoušených stavech (zleva: 0, 4 a 8 hodin; horní řádek zvětšení 23x, dolní řádek 5000x).	19 -
Obrázek 7 - Zatěžovací systém MTS Mini Bionix 858.02	20 -
Obrázek 8 - Příklad pracovního diagramu pro vzorek P0 (105).....	21 -
Obrázek 9 - Detail určení elastického gradientu pro vzorek P0 (105).....	22 -
Obrázek 10 - Příklad vyhodnocení elastického gradientu pro vzorek P0 (105)	22 -
Obrázek 11 - Příklad vyhodnocení meze pevnosti v tlaku pro vzorek P0 (105)	23 -
Obrázek 12 - Znázornění absorbované energie v grafu pro vzorek P0 (105).....	23 -
Obrázek 13 - Znázornění účinnosti absorbování energie pro vzorek P0 (105)	24 -
Obrázek 14 – Příklad krabicového grafu.....	25 -
Obrázek 15 - Měření vzorku před zatížením	26 -
Obrázek 16 - Zatěžování vzorku	27 -
Obrázek 17 - Porovnání pracovních diagramů vzorků P0 (105) a PCL0 (120) po minimální expozici v roztoku	28 -
Obrázek 18 - Porovnání pracovních diagramů vzorků P4 (014) a PCL4 (034) po 4 hodinách expozice v roztoku	29 -
Obrázek 19 - Porovnání pracovních diagramů vzorků P8 (017) a PCL8 (030) po 8 hodinách v roztoku.....	29 -
Obrázek 20 - Porovnání pracovních diagramů skupiny P (vzorky P0 (105), P4 (014) a P8 (017))	30 -
Obrázek 21 - Porovnání pracovních diagramů skupiny PCL (vzorky PCL0 (120), PCL4 (034) a PCL8 (030)).....	30 -
Obrázek 22 - Grafické porovnání hodnot elastického gradientu skupiny P a PCL	31 -
Obrázek 23 - Grafické porovnání hodnot elastického gradientu pro skupinu P - statisticky významný rozdíl (LSD test, 0,05)	32 -

Obrázek 24 - Grafické porovnání hodnot elastického gradientu pro skupinu PCL	32 -
Obrázek 25 - Grafické porovnání hodnot meze pevnosti v tlaku - statisticky významný rozdíl (Mann-Whitney test, 0,05 (pro 0 hod); t-test, 0,05 (pro 4 a 8 hod))	33 -
Obrázek 26 - Grafické porovnání hodnot meze pevnosti v tlaku pro skupinu P - statisticky významný rozdíl (Mann-Whitney test, 0,05)	34 -
Obrázek 27 - Grafické porovnání hodnot meze pevnosti v tlaku pro skupinu PCL - statisticky významný rozdíl (Mann-Whitney test, 0,05)	34 -
Obrázek 28 - Grafické porovnání hodnot absorbované energie -statisticky významný rozdíl (t-test, 0,05)	35 -
Obrázek 29 - Grafické porovnání hodnot absorbované energie pro skupinu P - statisticky významný rozdíl (Mann-Whitney test, 0,05)	36 -
Obrázek 30 - Grafické porovnání hodnot absorbované energie pro skupinu PCL - statisticky významný rozdíl (LSD test, 0,05)	36 -
Obrázek 31 - Grafické porovnání hodnot účinnosti absorbování energie	37 -
Obrázek 32 - Grafické porovnání hodnot účinnosti absorbování energie pro skupinu P	38 -
Obrázek 33 - Grafické porovnání hodnot účinnosti absorbování energie pro skupinu PCL	38 -

Seznam tabulek

Tabulka 1 - Označení vzorků	17 -
Tabulka 2 - Tabulka hodnot elastického gradientu	31 -
Tabulka 3 - Tabulka hodnot meze pevnosti v tlaku	33 -
Tabulka 4 - Tabulka hodnot absorbované energie	35 -
Tabulka 5 - Tabulka hodnot účinnosti absorbování energie	37 -

Seznam rovnic

Rovnice (1) – Výpočet napětí σ	21
Rovnice (2) – Výpočet deformace ε	21
Rovnice (3) – Výpočet absorbované energie W	23
Rovnice (4) – Výpočet účinnosti absorbování energie W_e	24
Rovnice (5) – Výpočet maximální síly F_{max}	26
Rovnice (6) – Výpočet F_{20}	26
Rovnice (7) – Výpočet F_{80}	26

7 Přílohy

Příloha 1 - Rozměry vzorků

Skupina	Číslo vzorku	Průměr d				Průřez S_0 [mm ²]	Výška h			
		[mm]		\emptyset	[mm]		\emptyset			
P4	1	5.803	5.757	5.926	5.829	26.683	11.853	11.858	11.856	11.856
	2	5.688	5.763	5.704	5.718	25.682	11.963	11.968	11.976	11.969
	3	5.787	5.764	5.866	5.806	26.472	11.67	11.664	11.637	11.657
	4	5.648	5.941	5.76	5.783	26.266	10.879	10.876	10.868	10.874
	5	5.868	5.646	5.723	5.746	25.928	12.514	12.519	12.606	12.546
PCL4	6	5.56	5.571	6.027	5.719	25.691	11.769	11.779	11.767	11.772
	7	5.851	5.991	5.687	5.843	26.814	11.764	11.755	11.753	11.757
	8	5.648	6.043	5.59	5.760	26.061	11.897	11.929	11.894	11.907
	9	6.161	5.584	6.042	5.929	27.609	12.072	12.074	12.072	12.073
P4	10	6.045	5.564	6.106	5.905	27.386	10.837	10.832	10.842	10.837
	11	5.181	6.058	6.484	5.908	27.411	12.887	12.862	12.876	12.875
	12	5.592	5.816	6.251	5.886	27.213	12.045	12.044	12.008	12.032
	13	5.535	5.993	5.944	5.824	26.640	11.467	11.443	11.365	11.425
	14	5.765	5.631	5.443	5.613	24.745	10.744	10.745	10.823	10.771
PCL4	15	5.622	5.949	5.845	5.805	26.469	11.381	11.437	11.441	11.420
	16	5.751	5.708	5.983	5.814	26.548	11.781	11.773	11.779	11.778
	17	5.474	5.698	5.957	5.710	25.604	11.71	11.741	11.719	11.723
	18	5.852	5.6	5.963	5.805	26.466	11.39	11.371	11.391	11.384
P8	19	5.954	5.629	5.909	5.831	26.701	11.252	11.255	11.254	11.254
	20	5.673	5.594	5.519	5.595	24.589	9.758	9.761	9.753	9.757
	21	5.791	5.719	5.784	5.765	26.100	12.465	12.425	12.464	12.451
	22	5.629	6.085	5.586	5.767	26.118	11.453	11.442	11.759	11.551
	23	5.804	5.738	6.054	5.865	27.019	12.377	12.367	12.382	12.375
PCL8	24	5.923	6.061	5.617	5.867	27.035	11.936	11.959	11.938	11.944
	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	26	5.29	6.135	6.095	5.840	26.786	12.361	12.363	12.353	12.359
	27	5.305	6.049	6.172	5.842	26.805	10.475	10.46	10.5	10.478
	28	6.118	5.912	5.537	5.856	26.930	11.431	11.438	11.423	11.431
P8	29	5.412	6.078	6.136	5.875	27.112	11.341	11.368	11.383	11.364
	30	5.227	5.952	6.214	5.798	26.400	12.218	12.201	12.189	12.203
	31	5.682	5.69	5.877	5.750	25.964	10.442	10.523	10.472	10.479
	32	5.533	5.973	6.127	5.878	27.133	11.658	11.627	11.628	11.638
	33	5.636	5.996	5.799	5.810	26.515	12.965	12.918	12.903	12.929
PCL8	34	5.558	6.025	6.057	5.880	27.155	11.661	11.665	11.665	11.664
	35	5.369	5.953	6.17	5.831	26.701	11.78	11.813	11.935	11.843
	36	5.485	6.044	6.064	5.864	27.010	10.946	10.963	11.105	11.005
	37	5.55	6.061	6.157	5.923	27.550	11.785	11.794	11.81	11.796
P4	38	5.512	6.039	6.054	5.868	27.047	11.03	11.027	11.038	11.032
	39	5.714	6.082	5.526	5.774	26.184	13.008	13.022	13.005	13.012
	40	5.748	5.759	5.809	5.772	26.166	10.747	10.835	10.754	10.779
P0	41	5.564	6.139	5.621	5.775	26.190	11.798	11.817	11.797	11.804
	101	5.803	5.428	5.64	5.624	24.839	12.352	12.374	12.36	12.362
	102	6.132	5.783	5.683	5.866	27.026	11.707	11.694	11.733	11.711
	103	5.645	5.778	5.956	5.793	26.357	11.643	11.64	11.653	11.645
	104	5.693	5.994	5.729	5.805	26.469	11.891	11.888	11.891	11.890
P0	105	6.04	5.423	5.741	5.735	25.829	11.331	11.331	11.33	11.331
	106	5.241	5.961	6.476	5.893	27.272	12.361	12.355	12.421	12.379
	107	6.158	5.551	5.826	5.845	26.832	12.244	12.23	12.231	12.235
	108	5.874	6.088	5.587	5.850	26.875	10.599	10.581	10.585	10.588
PCL0	109	5.936	5.591	5.841	5.789	26.324	10.92	10.906	10.909	10.912
	110	5.42	6.003	5.87	5.764	26.097	11.494	11.564	11.452	11.503
	111	6.397	6.063	5.366	5.942	27.730	11.063	11.098	11.04	11.067
PCL0	112	5.631	5.848	6.19	5.890	27.244	11.475	11.291	11.253	11.340
	113	5.354	5.96	6.368	5.894	27.284	11.426	11.317	11.415	11.386
	114	6.195	5.511	6.202	5.969	27.986	11.126	11.16	11.141	11.142
	115	5.774	6.227	5.511	5.837	26.762	11.838	11.835	11.841	11.838
PCL0	116	5.855	5.94	5.867	5.887	27.222	11.684	11.692	11.702	11.693
	117	6.165	6.326	5.534	6.008	28.353	11.757	11.765	11.753	11.758
	118	5.347	6.013	6.312	5.891	27.253	11.688	11.599	11.613	11.633
	119	5.948	5.664	6.04	5.884	27.192	11.703	11.698	11.694	11.698
PCL0	120	5.274	6.13	6.05	5.818	26.585	11.238	11.223	11.221	11.227

Příloha 2 - Vyhodnocená data

Skupina	Číslo vzorku	E	Odchylka	σ_{max}	Odchylka	W	Odchylka	We	Odchylka				
		[MPa]		[MPa]		[MJ/m ³]		[%]					
P0	101	1707.977		12.99									
	102	1054.66		12.98		2.29		35.41					
	103	1315.934		14.34		0.54		7.49					
	104	1072.845		15.87		1.62		25.57					
	105	892.6124	968	349	13.70	13.5	1.5	2.32	1.78	0.60	33.90	27.2	8.7
	106	671.8139			11.19		1.50		26.87				
	107	475.2095			13.29		1.70		25.57				
	108	881.4349			13.77		1.56		22.66				
	109	884.315			11.35		1.95		34.49				
	110	722.103			15.65		2.54		32.53				
PCL0	111	492		8.66		1.60		37.12					
	112	745		9.59		1.84		38.41					
	113	811.436		11.91		1.63		27.40					
	114	751.2114		10.93		1.69		30.88					
	115	868.1672	842	215	9.91	11.6	2.8	1.51	1.65	0.14	30.59	29.9	7.7
	116	1203.458			15.40		1.70		22.09				
	117	781.7089			13.01		1.78		27.43				
	118	974.1931			8.56		1.80		42.04				
	119	1141.229			17.13		1.43		16.77				
	120	655.6057			11.18		1.48		26.51				
P4	1	435.5973		7.89		1.42		35.95					
	2	1006.07		8.86		0.96		21.69					
	3	1073.343		12.71		1.12		17.69					
	4	789.2251		10.95		1.50		27.49					
	5	924.7556		10.82		1.29		23.93					
	11	744.6224	768	214	9.45	10.1	1.4	1.57	1.34	0.18	33.34	27.1	5.8
	12	785.4319			10.72		1.22		22.70				
	13	535.0075			9.94		1.26		25.45				
	14	729.4397			8.54		1.39		32.64				
	15	945.47			9.78		1.59		32.61				
P8	41	475.9259		11.33		1.37		24.13					
	6	551.2151		7.29		1.38		38.05					
	7	579.723		7.94		1.08		27.27					
	8	1025.48		9.17		1.52		33.24					
	9	1110.369		11.03		1.06		19.19					
	10	680.372	681	224	9.74	8.5	1.4	1.44	1.25	0.16	29.58	30.2	5.1
	16	621.108			8.61		1.23		28.52				
	17	618.6541			8.09		1.27		31.42				
	18	730.3824			5.95		1.05		35.18				
	19	448.6306			8.18		1.24		30.28				
PCL4	20	444.1533		8.64		1.25		29.09					
	21	608.2926		9.08		1.39		30.65					
	22	544.5113		6.54		1.33		40.76					
	23	519.8879		7.99		1.07		26.73					
	24	938.2158		8.16		0.66		16.19					
	25		773	178		8.5	1.9		1.25	0.31		30.8	9.4
	31	815.6447			5.37		1.13		42.14				
	32	1031.421			10.38		1.46		28.24				
	33	851.1779			9.02								
	34	868.8627			8.59		1.70		39.59				
35	779.3728			11.56		1.25		21.70					
PCL8	26	680.9884		5.95		0.54		18.29					
	27	761.6893		5.67		1.33		47.13					
	28	661.7049		8.79		0.73		16.67					
	29	696.5163		6.84		1.23		35.94					
	30	870.9275	735	131	7.40	7.3	1.0	1.13	1.02	0.29	30.70	28.7	10.1
	36	911.9307			8.22		1.22		29.81				
	37	723.7515			7.99		0.58		14.42				
	38	648.2735			8.35		1.07		25.76				
	39	902.5692			7.09		1.19		33.55				
	40	494.718			6.62		1.15		34.88				

Pozn.: Červená čísla vzorků značí ty vzorky, které se při zatěžování zbourily ještě před tím, než deformace dosáhla 50 % (ϵ_{50}). Nebylo proto možné u těchto vzorků vyhodnotit absorbovanou energii W a účinnost absorbování energie W_e .

U vzorku číslo 25 došlo k rozdrolení už při měření vzorku, proto byl z vyhodnocování vyřazen.