

ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE
FAKULTA STROJNÍ
Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky

Habilitační práce

**BIOMECHANICKÉ HODNOCENÍ VLASTNOSTÍ
TKÁNÍ, BIOMATERIÁLŮ A IMPLANTÁTŮ**

Ing. Radek Sedláček, Ph.D.

2023

Praha

Anotační list

Název:	Biomechanické hodnocení vlastností tkání, biomateriálů a implantátů The Biomechanical Assessment of the Properties of Tissues, Biomaterials and Implants	
Autor:	Ing. Radek Sedláček, Ph.D.	
Univerzita:	České vysoké učení technické v Praze Czech Technical University in Prague	
Fakulta:	Fakulta strojní Faculty of Mechanical Engineering	
Ústav:	Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky Department of Mechanics, Biomechanics and Mechatronics	
Adresa:	Technická 4, 160 00 Praha 6 Technicka 4, 160 00 Prague 6, Czech Republic	
Obor:	Aplikovaná mechanika Applied Mechanics	
Rok:	2023	
Bibliografické údaje:	počet stran	166
	počet obrázků	93
	počet tabulek	9

Klíčová slova: biomechanika; tkáň; biomateriály; implantáty

Key words: biomechanics; tissue; biomaterials; implants

Anotace:

Cílem této habilitační práce je představit pokrok v oblasti výzkumu experimentální mechaniky biologických tkání, biomateriálů a náhrad, kterého bylo dosaženo na pracovišti autora za posledních 20 let. Práce vychází z praktických zkušeností získaných při provádění biomechanických zkoušek s velmi rozmanitým záběrem biomateriálů a komponent: od zkoušení nativních biologických tkání a technických biomateriálů, kterými jsou tkáň nahrazovány, až po mechanické vlastnosti celých sestav implantátů. Kromě adaptace standardizovaných zkoušek pro biomateriály představuje práce také původní individuální metodiky pro stanovení nebo ověření konkrétních materiálových vlastností, na jejichž tvorbě se autor podílel. Praktickým výsledkem původního základního a aplikovaného výzkumu je také popis postupů pro určování mechanických vlastností a získávání relevantních dat, která lze s jistotou použít ke stanovení závěrů a potvrzení, či vyvrácení pracovních hypotéz. Práce se opírá zejména o výsledky kladně přijaté vědeckou komunitou a publikované v odborných periodikách. Práce vedla k získání nových poznatků o mechanickém chování biologických tkání, biomateriálů a implantátů, které poskytují nutnou znalostní bázi pro jejich následné matematické modelování, konstrukční návrhy, úpravy a optimalizaci a také preklinickou verifikaci.

Annotation:

The aim of this habilitation thesis is to present the progress that has been made in the field of the research of the experimental mechanics of biological tissues, biomaterials and implants at the author's institution over the last 20 years. The thesis is based on practical experience gained from performing biomechanical tests with a very diverse range of biomaterials and components: from the testing of native biological tissues and the engineered biomaterials with which they are replaced to the mechanical properties of complete implant assemblies. In addition to the adaptation of standardised tests for biomaterials, the study also presents various original methodologies for the determination or verification of specific material properties in the development of which the author was actively involved. A further practical outcome of the original basic and applied research conducted concerns the development of procedures for the determination of mechanical properties and for obtaining the relevant data that can be used with confidence to draw conclusions and to confirm or refute working hypotheses. The study is based mainly on results that have been positively accepted by the scientific community and published in peer-reviewed journals. The thesis provided new insights into the mechanical behaviour of biological tissues, biomaterials and implants that provided the knowledge base that was necessary for their subsequent mathematical modelling, structural design, modification and optimisation and subsequent pre-clinical verification.

Poděkování

Velmi rád bych na tomto místě poděkoval rodině a přátelům za trpělivost a podporu, kterou mi věnovali při tvorbě této práce. Jmenovitě bych pak své díky chtěl vyjádřit zejména spolupracovníkům Tomáši Suchému, Lucii Vištejnové, Kateřině Drbálkové, Kristýně Kubášové a Matejovi Danielovi za množství cenných a inspirativních rad, přátelskou spolupráci a čas společně strávený při realizaci experimentů.

Obsah

Obsah	vii
Seznam použitých zkratk a symbolů	xi
Seznam obrázků	xv
Seznam tabulek	xxiii
1 Úvod	1
1.1 Biomechanika a biomateriály	1
1.2 Cíle práce	2
1.3 Přehled struktury práce	2
2 Principy mechanických zkoušek biologických materiálů	5
2.1 Způsoby mechanického zatěžování	5
2.1.1 Jednoosé zatěžování	5
2.1.2 Kombinované zatěžování	10
2.1.3 Speciální režimy zatěžování	17
2.1.4 Způsoby uchycení biologických vzorků	18
2.2 Specifika měření deformací biologických materiálů	18
2.2.1 Kontaktní měření deformací	18
2.2.2 Bezkontaktní měření deformací	19
2.3 Způsoby řízení biomechanických zkoušek	20
2.3.1 Deformační řízení zkoušek	20
2.3.2 Silové řízení zkoušek	20
2.4 Rychlostní režimy zatěžování biomateriálů	20
2.4.1 Kvazistatické zkoušky	21
2.4.2 Cyklické únavové zkoušky	21
2.4.3 Dynamické rázové zkoušky	23
2.5 Metodiky biomechanických zkoušek a normativy	24
2.5.1 Normalizované metodiky	24
2.5.2 Vlastní vyvinuté metodiky a přístroje	25
2.5.3 Zkoušení zdravotnických prostředků	31
3 Zkoušení pevných tkání	33
3.1 Úvod	33
3.2 Vliv hormonální terapie na pevnost kostí	33

3.3	Mechanické parametry kosti po expozici nikotinu.....	35
3.4	Účinek dlouhodobé konzumace alkoholu na pevnost kosti ve zvířecím modelu	36
3.5	Vliv onemocnění štítné žlázy na pevnost kostí.....	37
3.6	Účinky laserové terapie po poranění míchy na mechanické vlastnosti potkaních femurů	39
3.7	Inhibitory perineuronálních sítí a jejich vliv na pevnost kostí.....	40
3.8	Vliv fixace dlahou na regenerační proces zlomeniny žeber u prasat	42
3.9	Makro a nanomechanicky zjištěné vlastnosti osteoporotických kostí.....	44
4	Zkoušení měkkých tkání.....	45
4.1	Úvod.....	45
4.2	Mechanické vlastnosti poraněných potkaních šlach po působení mezenchymálních lidských kmenových buněk.....	45
4.3	Pevnost šlach ovlivněná inhibitory perineuronálních sítí.....	47
4.4	Vlastnosti kůží ovlivněné inhibitory perineuronálních sítí	49
4.5	Vliv transplantace autologních chondrocytů na stav hlubokých defektů chrupavky kolene.....	50
4.6	Biomechanická odezva kompletu vaginální stěny a endopelvicke fascie na mechanické zatížení.....	52
5	Zkoušení biomateriálů	53
5.1	Úvod.....	53
5.2	Únavové vlastnosti nové beta slitiny titanu Ti36Nb6Ta	54
5.3	Vliv konstrukčních úprav povrchu na pevnost porézního titanového nástřiku .	55
5.4	Pevnost v ohybu biokeramiky na bázi zirkonu	57
5.5	Vliv post-procesových úprav na vlastnosti porézních struktur vyrobených aditivní technologií	58
5.6	Hodnocení odolnosti UHMWPE proti otěru – <i>Ring on Disc</i>	59
5.7	Účinky sterilizace na vlastnosti radiolucentních vláknových kompozitů	63
6	Zkoušení materiálů pro tkáňové inženýrství	67
6.1	Úvod.....	67
6.2	Analýza mechanických vlastností porézních keramických scaffoldů pro náhrady kostní tkáně	68
6.3	Účinek různých podmínek síťování na vlastnosti nanokompozitních kolagenových scaffoldů.....	71
6.4	Analýza vlivu hydratace na mechanické vlastnosti kolagenových scaffoldů.....	72

6.5	Vliv simulované biodegradace na strukturu a pevnost slinutých kalcium fosfátových kostních scaffoldů při <i>in vitro</i> zkouškách.....	74
6.6	Zkoušky přilnavosti kompozitové kolagen-kalcium fosfátové nanovláčkové vrstvy k modifikovanému povrchu implantátu.....	76
6.7	Hodnocení adheze injekčně aplikovatelného porézního kostního cementu ke kosti	78
6.8	Dopad působení mezenchymálních kmenových buněk na kostní biodegradabilní scaffoldy se zvýšeným obsahem nanočástic fosforečnanu vápenatého	80
6.9	Vliv různých prostředí simulujících tělní tekutiny na vlastnosti kolagenových scaffoldů	82
6.10	Analýza tuhosti páteře po fúzi bederních obratlů s využitím biodegradabilních nanokompozitních materiálů	84
7	Zkoušení implantabilních zdravotnických prostředků	89
7.1	Úvod	89
7.2	Tlakové a otěrové zkoušky meziobratlových páteřních rozpěrek TLIF a PLIF.....	89
7.3	Vliv opakované sterilizace na tuhost a pevnost v ohybu páteřních fixátorů	93
7.4	Únavové zkoušky dentálních implantátů	95
7.5	Vliv modifikací epoxidových nanokeramických dentálních korunek vyráběných CAD-CAM technologií na jejich životnost.....	97
7.6	Životnost kyčelního dřívku totální endoprotézy	100
7.7	Odolnost modulární acetabulární komponenty vůči uvolnění vložky	101
7.8	Vlastnosti mitrálních anuloplastických implantátů v tahu.....	103
7.9	Dynamické zkoušky dlah a hřebů pro osteosyntézu dlouhých kostí	105
7.10	Pevnost ukotvení kostních implantátů.....	108
8	Zkoušení neimplantabilních zdravotnických prostředků nebo pomůcek	111
8.1	Úvod	111
8.2	Statické a cyklické ověření vlastností unilaterálního externího fixátoru	111
8.3	Únavové zkoušky inovované vycházkové hole.....	113
8.4	Ověření životnosti při cyklickém zatěžování předloketní berle	114
8.5	Vývojové zkoušky prototypu kolenní ortézy	116
9	Diskuse.....	119
10	Závěr	123
11	Výhled do budoucna.....	125
12	Bibliografie	127
13	Seznam vybraných publikací autora.....	159
13.1	Vybrané publikace v impaktovaných časopisech.....	159

13.2	Užitné vzory	162
13.3	Řešené grantové projekty.....	163

Seznam použitých zkratek a symbolů

α -TCP	alfa-trikalciumfosfát
μ CT	rentgenová počítačová mikrotomografie (<i>Computed Micro Tomography</i>)
AV ČR	Akademie věd České republiky
bCaP	bioapatit
Bio-PolyP	biogenní polyfosfát
CaP	kalcium fosfát
CAD – CAM	počítačem podporovaný návrh a obrábění (<i>Computer-Aided Design Computer-Aided Manufacturing</i>)
CPC	kalcium fosfátový cement (<i>Calcium phosphate cement</i>)
C/PPS	kompozit na bázi termoplastické polyfenylensulfidové matrice vyztužené uhlíkovými vlákny
ČAS	Česká agentura pro standardizaci
ČIA	Český institut pro akreditaci, o.p.s.
DIC systém	digitální obrazová analýza (<i>Digital image correlation</i>).
FBS	fetální telecí sérum (<i>Fetal Bovine Serum</i>)
FDM	metoda aditivní výroby modelů (<i>Fused Deposition Modeling</i>)
FGF2-stab	termostabilním růstový faktor pro fibroblasty 2 (<i>Fibroblast Growth Factor 2</i>)
GLP	zásady správné laboratorní praxe (<i>Good Laboratory Practise</i>)
HAp	hydroxyapatit
HBNI	hybridní biodegradabilní nanokompozitní implantát
HIP	izostatického lisování (<i>Hot Isostatic Pressing</i>)
IRQ	mezikvartilové rozpětí (<i>Interquartile Range</i>)
LIF	lumbální intervertebrální fúze
MDR	Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/745 ze dne 5. dubna 2017 o zdravotnických prostředcích, kterým se mění směrnice 2001/83 /ES, nařízení (ES) č. 178/2002 a nařízení (ES) č. 1223/2009 a o zrušení směrnic Rady 90/385/EHS a 93/42/EHS; taktéž nazývané <i>Medical Device Regulation</i>
MEM	médium pro kultivaci buněk (<i>Minimum Essential Medium</i>)
MPO	Ministerstvo průmyslu a obchodu ČR
MRI	magnetická rezonance
MSC	mezenchymální kmenové buňky (<i>Mesenchymal Stem Cells</i>)

PBS		fyzilogický roztok fosfátového pufru (<i>Phosphate Buffer Saline</i>)
PCL vlákna		polykaprolaktonová vlákna
PE		polyethylen
PEEK		polyetheretherketon
pH		vodíkový exponent pro hodnocení míry kyselosti nebo zásaditosti prostředí
PLA		polylaktid, polymléčná kyselina
PLGA-PEG-PLGA		kopolymer na bázi kyseliny poly(mléčné), kyseliny poly(glykolové) a poly(ethylenglykolu)
PMMA		polymethylmethakrylát
PUR		polyuretan
RNC		pryskyřičný nanokeramický materiál (<i>Resin Nano Ceramic</i>)
RTG		rentgenografické vyšetření
SBF		roztok simulované tělní tekutiny (<i>Simulated Body Fluid</i>)
SCAFFOLD		trojrozměrný syntetický štěp, produkt tkáňového inženýrství
SEM		skenovací elektronový mikroskop (<i>Scanning Electron Microscopy</i>)
SLM		metoda aditivní technologie výroby (<i>Selective Laser Melting</i>)
TEP		totální endoprotéza, úplná kloubní náhrada
THA		totální kyčelní artroplastika (<i>Total Hip Arthroplasty</i>)
UHMWPE		vysokomolekulární polyethylen (<i>Ultra-High-Molecular-Weight Polyethylene</i>)
UL		ultrazvuková lázeň
ÚNMZ		Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví
ZP		zdravotnické prostředky
ε	[-]	poměrná deformace
σ	[MPa]	napětí
σ_c	[MPa]	mez únavy
σ_o	[MPa]	mez pevnosti v ohybu
σ_{ob}	[MPa]	mez pevnosti při biaxiálním ohybu
σ_{pl}	[MPa]	stabilní hladina napětí („ <i>Plateau stress</i> “), odpovídá mezi pevnosti
σ_{kpd}	[MPa]	smluvní mez kluzu (<i>Compressive proof stress</i>)

A	[%]	tažnost
A _t	[%]	celková tažnost
d	[mm]	posunutí implantátu při vytrhávacích zkouškách
E	[MPa]	Youngův modul pružnosti
E _g	[MPa]	elastický gradient napětí (<i>Elastic gradient</i>), odpovídá modulu pružnosti
e _{ple}	[-]	deformace pro konec stabilní hladiny napětí
F	[N]	síla
F _{max}	[N]	mezní zatížení
M	[N·m]	moment síly
M _{omax}	[N·m]	mezní ohybový moment
M _k	[N·m]	kroutící moment
R _m , σ _{pt} , σ _{pd}	[MPa]	mez pevnosti
R _{eH}	[MPa]	horní mez kluzu
R _{eL}	[MPa]	dolní mez kluzu
R _{p0,2}	[MPa]	smluvní mez kluzu
S	[N·mm ⁻¹]	ohybová tuhost
S _e	[N·m·deg ⁻¹]	ohybová tuhost při extenzi
W	[J]	práce do destrukce
W _a	[MJ·m ⁻³]	absorbovaná energie vztažená na jednotku objemu (<i>Energy absorption</i>)
W _e	[%]	účinnost absorbování energie
W _s	[J]	práce adhezních sil

Seznam obrázků

- Obr. 2.1 Pracovní diagram z tahových zkoušek různých materiálů – tvrdé a elastické materiály s vysokou pevností a malou tažností (1), elastoplastické materiály (2), elastomery s nelineárním průběhem (3), nativní biologický materiál typu šlachy (4). Zdroj autor.....6
- Obr. 2.2 Vzorek z ušlechtilé oceli při tahové zkoušce dle ČSN EN ISO 6892-1 [15] upnutý v hydraulických čelistech testovacího systému MTS Mini Bionix a osazený extenzometrem pro měření podélné deformace. Foto autor.....7
- Obr. 2.3 Použití naklápěcí desky pro vyrovnání odchylek paralelity čelních ploch zkušebních položek při tlakových zkouškách porézních materiálů dle ČSN ISO 13314 [18]. Foto autor.8
- Obr. 2.4 Mechanické vlastnosti kostní tkáně při tahových a tlakových zkouškách – A tahový diagram kortikální a trabekulární kosti [19]; B projev anizotropie kortikální kosti [20]; C diagram kortikální kosti v tahu a tlaku [21]; D závislost mechanické odezvy kortikální kosti na rychlosti deformace [20].9
- Obr. 2.5 Pracovní diagram pro stanovení charakteristických mechanických vlastností při tlakové zkoušce porézních materiálů dle ČSN ISO 13314 [18].10
- Obr. 2.6 Stanovení elastického gradientu napětí a meze kluzu porézních materiálů při tlakové zkoušce dle ČSN ISO 13314 [18].10
- Obr. 2.7 Uspořádání ohybových zkoušek – tříbodové s biologickým nativním materiálem (vlevo), čtyřbodové s technickým biomateriálem (vpravo).11
- Obr. 2.8 Pracovní diagram z ohybových zkoušek různých kostí (vlevo) – křehká osteoporotická kost s nízkou hodnotou práce do destrukce (*brittle*), houževnatá dětská kost s nižší pevností, ale větší hodnotou práce do destrukce (*ductile*); principy stanovení hodnotících parametrů (vpravo) [28].12
- Obr. 2.9 Zkouška biaxiálním ohybem keramického disku ze speciální zirkoničité keramiky v testovacím systému MTS Mini Bionix (vlevo) a detail vzorku umístěného na pryžové podložce (vpravo). Foto autor.....13
- Obr. 2.10 Kombinovaná ohybová zkouška kyčelní náhrady – schematický náčrt přípravku (vlevo) [39], zkušební sestava v testovacím systému MTS MiniBionix 858.02 včetně zapojení tenzometrů pro měření deformací (vpravo). Foto autor.14
- Obr. 2.11 Únavová zkouška dentálních implantátů – schéma zatěžování a uchycení implantátu (vlevo) [40], sestava implantátu upnutého v přípravku v testovacím systému MTS MiniBionix 858.02 (vpravo). Foto autor.15
- Obr. 2.12 Detailní specifikace geometrie zkušebních položek určených pro zkoušení metodou *RING ON DISC* (vlevo) [37], dvojice testovaných vzorků – disk vyrobený z vysokomolekulárního polyethylenu (UHMWPE) a prstenec vyrobený z ušlechtilé oceli (vpravo). Foto autor.....16
- Obr. 2.13 Konfigurace experimentální sestavy pro realizaci zkoušky odolnosti proti otěru metodou *Ring on Disc* na zkušebním zařízení MTS Mini Bionix. Foto autor.....16
- Obr. 2.14 Video extenzometr ONE Series firmy XSight v konfiguraci pro bezkontaktní měření deformací vrstev kůže na zkušebním zařízení MTS Mini Bionix. Foto autor.....19

Obr. 2.15 Pracovní diagram zobrazující principiální odlišnosti kvazistatického (vlevo) a cyklického únavového zatěžování (vpravo) [53].	21
Obr. 2.16 Parametry a grafické závislosti popisující sinusoidální cyklické zatěžování (A), jeho různé charaktery (B) a rozdělení dle realizovaných počtů cyklů na nízkocyklovou a vysokocyklovou únavu [55].	22
Obr. 2.17 Zkušební těleso pro únavové zkoušky s uvedenými rozměry (vlevo). Sestava pro zkoušení únavy v testovacím systému MTS MiniBionix 858.02 při použití hydraulických čelistí. Zdroj autor.	23
Obr. 2.18 Princip metody zaměřené na hodnocení přilnavosti elektrostaticky nanesených kompozitových nanovlákných vrstev na povrch modelového implantátu (A), ukázka testovaného vzorku před a po nanesení COL/HAp vrstvy (B) [65].	25
Obr. 2.19 Testovací systém MTS 858.2 Mini Bionix (MTS, USA) se speciálním přípravkem pro <i>pull-out</i> testy (vlevo), detail kostního bločku v přípravku při vytahování implantátu (vpravo). Foto autor.	26
Obr. 2.20 Vytrhávací zkoušky kotvicích kostních implantátů z kosti – sestava pro uchycení kosti ve speciálním přípravku na MTS Mini Bionix (vlevo), detail zavádění implantátu do hovězího femuru (vpravo). Foto autor.	27
Obr. 2.21 Kotvicí kostní implantáty upevněné v blocích umělé kosti Sawbones (vlevo), sestava pro vytrhávání na MTS Mini Bionix se speciálním přípravkem a horní hydraulickou čelistí (vpravo). Foto autor.	28
Obr. 2.22 Testovací systém MTS 858.2 Mini Bionix (MTS, USA) s unikátním speciálním páteřním simulátorem s 8 stupni volnosti pohybu pro kombinované zatěžování explantovaných páteří (vlevo), vzorek páteře s konci zalitými do přípravků pro uchycení při zkoušení (vpravo) [46].	29
Obr. 2.23 Konstrukční uspořádání nově vyvinutého dotykového měřidla pro měření tuhosti kloubní chrupavky při artroskopii na operačním sále [67].	30
Obr. 2.24 Kalibrace nového dotykového měřidla pro měření tuhosti kloubní chrupavky; sestava MTS Mini Bionix s citlivým silovým snímačem s rozsahem 10 N a speciálním kalibračním stojanem [67].	30
Obr. 3.1 Potkaní femur umístěný před zatížením v přípravku pro tříbodový ohyb na testovacím systému MTS Mini Bionix (vlevo nahoře), zlámané femury připravené na skenování (vpravo nahoře), digitalizace obarveného průřezu femuru pro zjištění jeho charakteristiky na skeneru (dole). Foto autor.	34
Obr. 3.2 Účinek laserové terapie světla o vlnové délce 808 nm a 905 nm na ohybovou pevnost femurů (B) a snížení svalové atrofie potkanů (A) (kontrolní skupina n = 11, laserová skupina n = 15, intaktní zdravá skupina n = 8, *p < 0,05) [12].	39
Obr. 3.3 Vliv inhibitorů perineuronálních sítí na pevnost v ohybu femurů (vlevo nahoře), ohybovou tuhost (vpravo nahoře) a práci do destrukce kosti (dole) - kontrolní skupina (I) n = 20, skupina PNNI s rehabilitací (II) n = 14, skupina „PNNI wash out“ (III) n = 14, skupina PNNI bez rehabilitace (IV) n = 14; *p < 0,05 [100].	41

Obr. 3.4 Třibodová ohybová zkouška srostlého prasečího žebra na testovacím systému MTS Mini Bionix při hodnocení vlivu fixace dlahou na regenerační proces zlomeniny – srostlá zlomenina žebra před zatížením (vlevo), destruovaný vzorek po zatížení (vpravo) [105].	42
Obr. 3.5 Grafické znázornění hodnot mechanických vlastností srostlých pasečích žeber vztažených ke středním hodnotám vlastností intaktních žeber zjištěných při třibodovém ohybu 8 týdnů po provedené osteotomii; žebra srostlá při fixaci dlahou (modrá) a žebra srostlá bez fixace (červená); * $p < 0,05$ [6].	43
Obr. 4.1 Tahové zkoušky potkaních Achillových šlach uchycených v testovacím systému MTS Mini Bionix (vlevo) v pneumatických čelistech se sadou kovových plochých vložek s jehlanovými hroty (vpravo). Foto autor.	46
Obr. 4.2 Mechanické vlastnosti kolagenázou poraněných potkaních šlach po působení mezenchymálních lidských kmenových buněk – síla při destrukci šlachy (nahore), tuhost (dole), $n = 10$, $p < 0,05$ [7].	47
Obr. 4.3 Statistické vyhodnocení vlivu PNNI na mechanické vlastnosti potkaních Achillových šlach při tahových zkouškách – maximální síla dosažená při zatěžování do destrukce (vlevo); pevnost v tahu (vpravo); * $p < 0,05$ [49].	48
Obr. 4.4 Tahové zkoušky potkaních kůží uchycených v testovacím systému MTS Mini Bionix kombinovaně v plastové čelisti a v pneumatické čelisti se sadou kovových plochých vložek s jehlanovými hroty (vlevo); detekce hran vzorku kůže při obrazové analýze po provedeném prahování obrazu. Foto autor.	49
Obr. 4.5 Statistické vyhodnocení vlivu PNNI na vlastnosti potkaních kůží při tahových zkouškách – Youngův modul pružnosti E při deformaci 5 % (vlevo); pevnost v tahu (vpravo); * označuje statisticky významné odlišnosti mezi skupinami ($p < 0,05$) [49].	50
Obr. 4.6 Použití nově vyvinutého měřidla na stanovení tuhosti kloubní chrupavky při artroskopii kolenního kloubu na operačním sále (vlevo), detail kontaktní části měřidla a novotvořené chrupavky na kondylu femuru (vpravo) [3].	51
Obr. 5.1 Únavový diagram srovnávající vlastnosti nové beta slitiny titanu Ti36Nb6Ta a klasické slitiny titanu Ti6Al4V [149].	55
Obr. 5.2 Vzorky s porézním nástřikem Ti6Al4V umístěné v testovacím systému MTS Mini Bionix při smykových zkouškách hodnotících pevnost spojení nanesené vrstvy. Foto autor.	56
Obr. 5.3 Sady vzorků se šesti různými úpravami geometrie povrchu podkladového materiálu Ti6Al4V připravené pro nanesení porézního nástřiku. Foto autor.	56
Obr. 5.4 Přípravek pro realizaci statických a únavových zkoušek čtyřbodovým ohybem s pohyblivými díly (vlevo), zatěžování biochemického vzorku v testovacím systému MTS Mini Bionix (vpravo). Foto autor.	57
Obr. 5.5 Vzorek porézní struktury vyrobený aditivní technologií při tlakové zkoušce na testovacím systému MTS Mini Bionix (vlevo) a deformovaný vzorek po dokončení zatěžování (vpravo). Foto autor.	59
Obr. 5.6 Vzorky materiálů pro tribologické zkoušky využívající metodu <i>Ring on Disc</i> uchycené v přípravcích před testováním na systému MTS Mini Bionix (vlevo) a po zkoušce vyjmuté z přípravku (vpravo). Foto autor.	60

Obr. 5.7 Grafický záznam měření profilu disku po dokončení tribologické zkoušky metodou <i>Ring on Disc</i> pro kombinaci materiálů ze zirkoničité keramiky (Y-TZP) a UHMWPE s lisovaným povrchem [172].	61
Obr. 5.8 Dvojice zkušebních položek pro tribologickou zkoušku metodou <i>Ring on Disc</i> – titanová slitina Ti6Al4V s DLC povrchem (vlevo) x UHMWPE (vpravo). Foto autor.	62
Obr. 5.9 Youngův modul pružnosti v ohybu kompozitních materiálů před sterilizací (A), po 1 (B1), po 30 (B30) a po 100 (B100) sterilizačních cyklech; n = 14; *p < 0,05 [179].	64
Obr. 5.10 Mez pevnosti v ohybu kompozitních materiálů před sterilizací (A), po 1 (B1), po 30 (B30) a po 100 (B100) sterilizačních cyklech; n = 14; *p < 0,05 [179].	65
Obr. 6.1 Vzorky porézních keramických CPC scaffoldů pro náhrady kostní tkáně připravené tlakovou zkouškou před hydratací (vlevo), vzorky vložené do degradačního roztoku kyseliny chlorovodíkové (vpravo). Foto autor.	68
Obr. 6.2 Hodnoty meze pevnosti v tlaku stanovené pro jednotlivé skupiny porézních keramických scaffoldů v intervalech působení degradačního média; * značí statisticky významné rozdíly mezi skupinami (p < 0,05, n = 10) [199].	69
Obr. 6.3 Hodnoty elastického gradientu napětí stanovené pro jednotlivé skupiny porézních keramických scaffoldů v intervalech působení degradačního média; * značí statisticky významné rozdíly mezi skupinami (p < 0,05, n = 10) [199].	70
Obr. 6.4 Složení osmi materiálových skupin kolagenových scaffoldů podrobených zkouškám na zjištění vlivu hydratace na jejich mechanické vlastnosti [11].	72
Obr. 6.5 Mez pevnosti v tlaku kolagenových scaffoldů v suchém a hydratovaném stavu (po 24 a 48 hod.), vyjádřen medián a IRQ, * označuje statisticky významné odlišnosti mezi skupinami (p < 0,05) v různých stavech (vlevo) a mezi skladbami vzorků (vpravo) [11].	73
Obr. 6.6 Elastický gradient napětí (modul pružnosti) kolagenových scaffoldů v suchém a hydratovaném stavu (po 24 a 48 hod.), vyjádřen medián a IRQ, * označuje statisticky významné odlišnosti mezi skupinami (p < 0,05) v různých stavech (vlevo) a mezi skladbami vzorků (vpravo) [11].	73
Obr. 6.7 Účinnost absorbování energie kolagenových scaffoldů v suchém a hydratovaném stavu (po 24 a 48 hod.), vyjádřen medián a IRQ, * označuje statisticky významné odlišnosti mezi skupinami (p < 0,05) v různých stavech (vlevo) a mezi skladbami vzorků (vpravo) [11].	74
Obr. 6.8 Pevnost v tlaku CaP scaffoldů před a v průběhu degradace při působení kyselého prostředí simulujícího osteoklastickou aktivitu buněk [8].	75
Obr. 6.9 Porovnání SEM snímků makrostruktury jednotlivých testovaných skupin CaP scaffoldů – HA (a), TCP (b) a BCP (c) před degradací; HA (d), TCP (e) a BCP (f) po 14 dnech působení kyselého prostředí simulujícího osteoklastickou aktivitu buněk [8].	76
Obr. 6.10 Detaily adhezní odtlačovací zkoušky: A – přípravek skládající se z objímky a trnu, B – titanové disky s nanosenou kolagen/Ca-P vrstvou, C – vzorek v přípravku před testem, D – zatěžování vzorku, E – detail odtlačování nanovláknenné vrstvy, F – detail otvoru v titanovém disku s nanokolagení vrstvou. Foto autor.	77
Obr. 6.11 Pevnost spoje při hodnocení vlivu provedené chemické úpravy povrchu titanového implantátu na přilnavost kolagen-kalcium fosfátové nanovláknenné vrstvy nanosené elektrostatickým zvlákňováním (* p < 0,05) [65].	78

- Obr. 6.12 Dva typy titanových implantátů s vnitřním závitem M2 pro hodnocení adheze injekčně aplikovatelného porézního kostního cementu (uprostřed) – typ I vyrobený konvenční technologií a opatřený plasmovým nástřikem hydroxyapatitu (vlevo), typ II vyrobený aditivní technologií 3D tisku s povrchovou trabekulární strukturou (vpravo) [222]..... 79
- Obr. 6.13 Mez pevnosti ve smyku rozhraní kosti a injekčně aplikovatelného porézního kostního cementu skupin základního CPC bez aditiv (BA), obohaceného o antibiotika (ATB), doplněného o polykaprolaktonová vlákna (FBR), obohaceného o dopamin (DOP) a kontrolní skupiny polymethylmethakrylátu (PMMA) (* $p < 0,05$) [222]..... 80
- Obr. 6.14 Materiálové složení kompozitních scaffoldů S4 a S6 – kolagenová matrice (COL), poly-DL-laktidová submikronová vlákna (PDLLA), bioapatit (bCaP) a práškový hyaluronát sodný (HYA) s 3D vizualizací μ CT řezů vzorků scaffoldů [226]..... 81
- Obr. 6.15 Stanovené vlastnosti scaffoldů S4 a S6 – (A) Elastický gradient napětí v suchém a hydratovaném stavu (24 a 48 hod., $n = 6$), svislé osy mají různé měřítko; (B) Permeabilita po 5 min. hydratace (0 h), 4, 8 a 24 hod. ($n = 6$); (C) Poměr bobtnání scaffoldů po 24, 48 a 576 hod. (24 dnech) ponoření do média α -MEM ($n = 3$); * $p < 0,05$ [226]..... 82
- Obr. 6.16 Pracovní diagram tlakových zkoušek kolagenových scaffoldů po sedmidenní expozici v roztocích lidské plazmy, SBF a PBS pro stanovení meze pevnosti materiálu (vlevo) a elastického gradientu napětí (detail vpravo) [9]. 83
- Obr. 6.17 Mechanické vlastnosti kolagenových scaffoldů při působení různých simulovaných tělních prostředí po dobu 10 min, 7 dnů a 14 dnů. Zobrazení modulu pružnosti (*Elastic gradient*, vlevo), meze pevnosti (*Plateau stress*, uprostřed) a ztráty hmotnosti (*Mass loss*, vpravo); * $p < 0,05$ [9]..... 84
- Obr. 6.18 Ohybové zkoušky kadaverózních segmentů prasečích páteří na testovacím systému MTS Mini Bionix s unikátním páteřním simulátorem a s upnutou páteří (A), schéma způsobu zatěžování (B), detail upnutého a zatíženého vzorku páteře (C) [46]..... 85
- Obr. 6.19 Pracovní diagram závislosti ohybového momentu na natočení explantovaných prasečích páteří pro skupiny A1, B1, C1 (po 8 týdnech od implantace); A2, B2, C2 (po 16 týdnech) a N (zdravé kadaverózní vzorky) [46]..... 86
- Obr. 6.20 Zjištěné hodnoty ohybové tuhosti při extenzi explantovaných prasečích páteří pro skupiny A1, B1, C1 (po 8 týdnech od implantace); A2, B2, C2 (po 16 týdnech) a N (zdravé kadaverózní vzorky), * $p < 0,05$ [46]..... 86
- Obr. 7.1 Prototypy implantátů TLIF a PLIF vyrobené ze semikrystalického polymeru PEEK (vlevo), detail z realizace tlakových zkoušek za použití tlačných desek a hydraulické čelisti na testovacím systému MTS Mini Bionix (vpravo). Foto autor. 90
- Obr. 7.2 Pracovní diagram z tlakové zkoušky implantátu TLIF spolu s vyznačením stanovené tuhosti zatěžované sestavy (vlevo), detail implantátu umístěného v systému MTS Mini Bionix před zatěžováním přes umělou kost SAWBONES (vpravo) [237]. 91
- Obr. 7.3 Princip zkoušení opotřebení bederních meziobratlových implantátů spolu se zatěžovacími křivkami a fázovými posuny čtyř samostatně řízených zatěžovacích os dle metodiky založené na ISO 18192-1 [244]..... 92

- Obr. 7.4 Zkoušky opotřebení spinálních meziobratlových rozpěrek na testovacím systému MTS Mini Bionix osazeném unikátním páteřním simulátorem (vlevo), detail uchycení implantátu se zajištěním proudění média, ve kterém je experiment realizován (vlevo). Foto autor. 92
- Obr. 7.5 Zkoušky pro hodnocení tuhosti a pevnosti v ohybu páteřních fixátorů – schematické znázornění (vlevo), detail z experimentálního zatěžování polyaxiálního šroubu vyrobeného z Ti6Al4V (vpravo). Foto autor. 94
- Obr. 7.6 Stanovené parametry ohybové tuhosti a mezního zatížení (při posunutí kontaktního bodu o 0,35 mm, resp. 1,5 mm) páteřních fixátorů zjištěné při hodnocení vlivu opakovaných sterilizací; počty sterilizací A 0x, B 10x, C 50x, D 100x. Zdroj autor. 94
- Obr. 7.7 Přípravky pro únavové zkoušky spolu se zalitými dentálními implantáty (vlevo); detail uchyceného implantátu při zkoušce na testovacím systému MTS Mini Bionix se silovým snímačem 500 N (vpravo). Foto autor. 95
- Obr. 7.8 Dentální implantát poškozený při prokazování hladiny mezního únavového zatížení při cyklických zkouškách – zřejmé rozlomení těla implantátu (vlevo); speciální přípravek navržený a vyrobený pro přesné zalévání dentálních implantátů (vpravo). Foto autor. 96
- Obr. 7.9 Hodnoty mezního statického a únavového zatížení v závislosti na průměru dentálního implantátu zjištěné při ověřování jejich únavových vlastností. Zdroj autor. 96
- Obr. 7.10 Cyklické zkoušky pro hodnocení životnosti dentálních náhrad – speciální přípravek pro uchycení a přesné bodové zatěžování implantátu (vlevo), detail korunky připravené na zkoušení (uprostřed), detail rozlomeného implantátu (vpravo). Foto autor. 98
- Obr. 7.11 Rozdělení a schematické znázornění skupin testovaných korunek spolu s určením modulů pružnosti použitých komponent – Clearfil Majesty Posterior 22 GPa, Lava Ultimate 13 GPa, Filtek Supreme XTE Universal 11 GPa a Filtek Supreme XTE Flowable 7 GPa [10]. 98
- Obr. 7.12 Schematické znázornění způsobů mechanického zatěžování testovaných endokorunek – (a) klouzává pohyb po povrchu vzorku ve žvýkacím simulátoru v průběhu termomechanického předcyklování, (b) postupné cyklické zatěžování, (c) pohled shora, kde jsou schematicky znázorněna zatěžovaná místa [10]. 99
- Obr. 7.13 Křivka přežití jednotlivých skupin testovaných implantátů A, B, C, D, E a F zpracovaná na základě provedené statistické analýzy Kaplan-Meierovou životnostní metodou ($p = 0,05$) [10]. 99
- Obr. 7.14 Endoprotéza kyčelního kloubu při kombinovaném cyklickém zatěžování v testovacím systému MTS Mini Bionix (vlevo), detail kyčelního dřívku endoprotézy s keramickou hlavici a tenzometry umístěnými pro měření lokálních deformací kritických míst dřívku (vpravo) [261]. 100
- Obr. 7.15 Parametry hodnotící odolnost modulární acetabulární komponenty vůči uvolnění vložky při mechanických zkouškách ve čtyřech režimech – *Push-in*, *Push-out*, *Torque-out*, *Pull-out* [63]. 102
- Obr. 7.16 Sestavy čtyř kvazistatických testovacích režimů pro hodnocení odolnosti vložky vůči uvolnění z acetabulární jamky na testovacím systému MTS Mini Bionix – zleva shora *Push-in*, *Push-out*, zleva dole *Torque-out*, *Pull-out* [63]. 103

- Obr. 7.17 Tahové zkoušky uzavřených flexibilních (vlevo) a otevřených rigidních mitrálních anuloplastických implantátů (vpravo) na testovacím systému MTS Mini Bionix. Foto autor. 104
- Obr. 7.18 Souhrnný pracovní diagram z tahových zkoušek mitrálních anuloplastických implantátů – zatěžování ve směru commissure-to-commissure (C-C), ve směru septo-laterálním (S-L) a v podélném směru (A-A); rozdělení vzorků: a) AnnuloFlex M30; b) AnnuloFlo M30; c) CE Classic M30; d) CE Physio M30; e) CG Future M32; f) Cosgrove-Edwards M30; g) Duran band M31; h) SJM Séguin M30; i) SJM Tailor band M31 [273]. 105
- Obr. 7.19 Dynamické zkoušky dlah pro osteosyntézu dlouhých kostí – detail testované sestavy tibiální dlahy a přípravků (vlevo), umístění v testovacím systému MTS Mini Bionix (vpravo) [62]. 106
- Obr. 7.20 Dynamické zkoušky dlah pro distální část femuru fixovaných k přípravkům umístěných v testovacím systému MTS Mini Bionix před zatížením (vlevo) a v zatíženém stavu (uprostřed); konfigurace pro zkoušení hřebů pro osteosyntézu proximální části tibie (vpravo) [52]. 107
- Obr. 7.21 Stanovení pevnosti ukotvení kostních implantátů fixovaných v blocích umělé kosti SOLID RIGID 40 PFC (Sawbones, USA) – zkušební vzorky před testováním (vlevo), sestava pro vytrhávání na MTS Mini Bionix se speciálním přípravkem (vpravo). Foto autor. 108
- Obr. 7.22 Stanovené hodnoty mezního zatížení potřebného pro vytržení kostních implantátů fixovaných v blocích umělé kosti SOLID RIGID 40 PFC (Sawbones, USA) určené při statických vytrhávacích zkouškách. Zdroj autor. 109
- Obr. 8.1 Unilaterální zevní fixátor UNI-FIX firmy ProSpon (vlevo), rentgenový snímek zlomeniny holenní kosti s aplikovaným fixátorem a jeho zřetelným stínem z důvodu využití materiálů pohlcujících RTG záření (vpravo) [285]. 112
- Obr. 8.2 Sestava nově vyvinutého zevního fixátoru vyrobeného z C/PPS kompozitu a uhlíkové trubky (vlevo), testovací systém MTS 858 Mini Bionix s osazeným vzorkem před zatěžováním (vpravo) [285]. 113
- Obr. 8.3 Sestava pro statické a cyklické kombinované zatěžování inovované vycházkové hole ERILENS – schematické uspořádání (vlevo), umístění v testovacím systému MTS 858 Mini Bionix (vpravo) [294]. 114
- Obr. 8.4 Schéma zatížení předloketní berle (vlevo) [292] a realizace cyklických životnostních zkoušek berle ERILENS FD 93 v testovacím systému MTS 858 Mini Bionix (vpravo). Foto autor. 115
- Obr. 8.5 Schéma navrženého speciálního přípravku určeného pro statické i únavové zatěžování kolenní ortézy při maximální flexi kolenního kloubu [302]. 116
- Obr. 8.6 Cyklická únavová zkouška kolenní ortézy při maximální flexi kolenního kloubu probíhající na testovacím systému MTS 858 Mini Bionix (vlevo) ukázka poškození polycentrického kloubu kolenní ortézy při zatěžování (vpravo). Foto autor. 117

Seznam tabulek

Tab. 3.1 Parametry získané vyhodnocením studie vlivu podávání alendronátů na pevnost kostí realizované na skupinách potkanů [1].....	35
Tab. 3.2 Výsledky analýz prokazující negativní vliv dlouhodobé expozice nikotinu na obsah vápníku a fosfátů v kostech, hustotu kosti a také na pevnost femurů [4].....	36
Tab. 3.3 Výsledky analýz prokazující negativní vliv dlouhodobé konzumace alkoholu na obsah vápníku a fosfátů v kostech, hustotu kosti a také na pevnost femurů [5].....	37
Tab. 3.4 Výsledky analýz hodnotících vliv účinků hormonů Estradiol a Trijodtyronin na pevnost femurů a také na minerální skladbu a hustotu kosti [92].	38
Tab. 3.5 Hodnoty modulů pružnosti kosti zjištěné v porovnávací studii při tříbodových ohybových zkouškách a při nanoindentacích zkouškách na femurech potkanů [109].....	44
Tab. 5.1 Rozdělení a označení skupin tištěných porézních vzorků ošetřených po výrobě různými způsoby a stanovené meze kluzu v tlaku a elastického gradientu napětí [2].....	59
Tab. 5.2 Parametry hodnotící odolnost proti otěru při zkoušce metodou <i>Ring on Disc</i> zjištěné pro kombinace různých druhů biokeramiky, UHMWPE a PEEK [172].	61
Tab. 6.1 Rozdělení a označení skupin vzorků keramických kompozitních scaffoldů na bázi kalcium fosfátových cementů s upřesněním způsobu přípravy a použitých přísad [199].....	69
Tab. 6.2 Přehled mechanických vlastností stanovených při tlakových zkouškách nanokompozitních kolagenových scaffoldů [207].....	71

1 Úvod

1.1 Biomechanika a biomateriály

V průběhu posledních 50 let pokrok v oblasti bioinženýrství výrazným způsobem změnil mnoho oblastí medicíny. Především oblast ortopedie a traumatologie byla zásadním způsobem změněna zavedením technických biomateriálů v léčebných postupech. Spolehlivý návrh nových implantabilních zdravotnických prostředků (ZP) vyžaduje znalosti jejich chování při zatížení v lidském těle. V klasickém pojetí tento problém řeší biomechanika, která studuje lidské tělo z pohledu strojního inženýrství.

Biomechanika v sobě spojuje nejenom aplikaci mechanických principů na živé organismy, ale především porozumění fyziologické funkci a patologickým procesům lidského těla jako mechanického systému. Biomechanika aplikuje interdisciplinární přístup, kdy propojuje znalosti z různých oblastí od klasické mechaniky, kterou zastupuje statika, kinematika a dynamika, přes pružnost a pevnost, poznatky z oblasti materiálového inženýrství až po znalosti biomedicínského charakteru. Vzhledem ke složitosti chování biologických systémů vyžaduje biomechanika definování nových komplexních teoretických a experimentálních přístupů. Biomechaniku můžeme tedy chápat spíše jako vědu rozvíjející přístupy mechaniky pro získání odpovědí na důležité otázky biologie a medicíny. Základním stavebním kamenem biomechaniky je pochopení mechanických vlastností nativních biologických materiálů (tkání) a technických biomateriálů [1], [2].

Původně byly pod pojmem biomateriál chápány inženýrské materiály, které byly použity k nahrazení základní funkce lidského těla. V poslední době můžeme pozorovat posuv ve vnímání biomateriálů. Na rozdíl od jednoduchého nahrazení tvaru poškozené části těla se pomocí pokročilých biomateriálů snažíme dosáhnout dlouhodobou integraci a zajištění plnohodnotného obnovení funkce. Má-li být umělá náhrada funkčně a materiálově ekvivalentní původní biologické tkáni, musíme především popsat materiálové vlastnosti, pochopit jejich význam v organismu a využít tyto znalosti k technickému návrhu [3].

Mechanické zkoušky jsou pro biomechaniku velmi důležitým nástrojem. Pro demonstraci jejich významu vezměme například hodnocení kosti: můžeme stanovit mechanické vlastnosti kosti při různých podmínkách, které jsou ovlivněny chorobami, stářím, pohlavím atd. [4], [5] nebo je lze využít k hodnocení fixací zlomenin, různých klinických postupů při osteosyntéze kostí nebo ke zkoušení pevnosti rozhraní kost–implantát [6]. V případě hodnocení osteoporózy a vzniku zlomenin je popis vlastností nevyhnutelným krokem pro popis vzniku onemocnění nebo zhodnocení úspěšnosti terapie/léčby, stejně tak při zjišťování příčin selhání implantátů při destrukci náhrad kyčle nebo selhání povrchové třecí vrstvy umělého kloubu [7].

Znalost mechanických vlastností biomateriálů je nezbytná pro konstrukční návrhy, dimenzování a optimalizaci tvarů náhrad. Umožňuje zohlednit reálné zatěžování a tím také předcházet selhání náhrad. Informace získané z mechanických zkoušek se však mohou výrazně lišit, a proto je pro volbu vhodné metodiky a správné konfigurace testů nutné zohlednit účel zkoušky. V závislosti na tom, zda chceme popsat biomateriál nebo celou soustavu, nás zajímají materiálové nebo konstrukční vlastnosti. Vlastnosti materiálu jsou nezávislé na geometrii a souvisí s látkovým složením. Na rozdíl od toho konstrukční vlastnosti jsou funkcí velikosti a tvaru nebo formy. Na mechanické vlastnosti některých materiálů má výrazný vliv také

teplota, protože při některých teplotách dochází ke změnám krystalické struktury materiálů. Z hlediska dopadů působícího zatížení na materiál je důležité sledovat odezvu materiálu – jeho deformaci. V lineární oblasti, kdy je deformace v pracovním diagramu přímo úměrná zatížení, opakované zatěžování zpravidla nepůsobí poškození materiálu. Naopak v nelineární oblasti dochází ke vzniku trvalých deformací a plastických změn, které vedou k porušení [8].

V poslední době nabírají na významu mechanické zkoušky prováděné za fyziologických podmínek s využitím různých médií simulujících tělní prostředí. Ukazuje se však, že taková prostředí mají poměrně odlišné dopady na mechanické vlastnosti biomateriálů, a to zejména na biodegradabilní materiály [9]. Experimentální biomechanika je také nenahraditelná při zavádění aditivních technologií do výroby implantátů, což je celosvětovým trendem [10].

1.2 Cíle práce

Cílem této habilitační práce je představit pokrok v oblasti výzkumu experimentální mechaniky biologických tkání, biomateriálů a náhrad, kterého bylo dosaženo na pracovišti autora za posledních 20 let. Práce vychází z praktických zkušeností získaných při provádění biomechanických zkoušek s velmi rozmanitým záběrem biomateriálů a komponent: od zkoušení nativních biologických tkání a technických biomateriálů, kterými jsou tkáně nahrazovány, až po mechanické vlastnosti celých sestav implantátů. Kromě adaptace standardizovaných zkoušek pro biomateriály představuje práce také původní individuální metodiky pro stanovení nebo ověření konkrétních materiálových vlastností, na jejichž tvorbě se autor podílel. Praktickým výsledkem původního základního a aplikovaného výzkumu je také popis postupů pro určování mechanických vlastností a získávání relevantních dat, která lze s jistotou použít ke stanovení závěrů a potvrzení, či vyvrácení pracovních hypotéz. Práce se opírá zejména o výsledky kladně přijaté vědeckou komunitou a publikované v odborných periodikách. Práce vedla k získání nových poznatků o mechanickém chování biologických tkání, biomateriálů a implantátů, které poskytují nutnou znalostní bázi pro jejich následné matematické modelování, konstrukční návrhy, úpravy a optimalizaci a také preklinickou verifikaci.

1.3 Přehled struktury práce

Kapitola 2 popisuje principy zjišťování mechanických vlastností biologických materiálů a biomateriálů včetně specifik realizací zkoušek zejména s biologickými tkáněmi. V této kapitole jsou prezentovány metodiky jak normalizované, tak také vlastní vyvinuté individualizované, které slouží pro zjištění konkrétních vlastností. Je zde také popsán vyvinutý unikátní přístroj pro měření tuhosti kloubní chrupavky, který je chráněn užitným vzorem a slouží pro použití přímo na operačním sále.

Kapitola 3 se věnuje specifické problematice zkoušení pevných tkání, kdy autor pracoval na studiích zaměřených na zjištění vlivu hormonální terapie na mechanické vlastnosti kostí, vliv nikotinu nebo dlouhodobé konzumace alkoholu. Dále pak studie na zjištění vlivu onemocnění štítné žlázy nebo vliv laserové terapie po poranění míchy, případně vliv aplikace inhibitorů perineuronálních sítí. Prezentovány jsou závěry získané při zjišťování vlivu fixace dlahou na regenerační proces zlomeniny žeber nebo porovnání vlastností osteoporotických kostí zjištěných makro nebo mikromechanicky.

Kapitola 4 popisuje zkoušení měkkých tkání a jsou v ní prezentovány autorovy zkušenosti s hodnocením mechanických vlastností šlach po působení mezenchymálních kmenových buněk nebo inhibitorů perineuronálních sítí. Dále pak byl zjišťován vliv transplantace autologních chondrocytů na stav hlubokých defektů chrupavky kolene nebo biomechanická odezva kompletu vaginální stěny a endopelvicke fascie na mechanické zatížení.

Kapitola 5 se věnuje zkoušení moderních biomateriálů používaných k výrobě implantátů, kdy autor prezentuje zapojení do výzkumu a vývoje nových materiálů a procesů technologie výroby prostřednictvím hodnocení mechanických vlastností. Pozornost je zaměřena na vývoj nových beta slitin titanu, aplikace bioaktivních porézních titanových povrchů na implantáty nebo hodnocení odolnosti proti otěru komponent náhrad. Dále autor představuje zkoušení vlastností biokeramických materiálů a porézních titanových struktur vyrobených využitím aditivních technologií. V neposlední řadě je pozornost věnována vlivům sterilizačních procesů na zpevněné vláknové kompozity používané např. k výrobě instrumentárií.

Kapitola 6 se věnuje zkoušení materiálů pro tkáňové inženýrství a autor zde ukazuje zkušenosti s provedenými analýzami mechanických vlastností porézních keramických scaffoldů určených pro náhradu kostní tkáně nebo zjišťování vlivu různých podmínek síťování, hydratace a simulačních biodegradabilních prostředí na vlastnosti kolagenových scaffoldů. Dále pak je zde prezentováno hodnocení přilnavosti kompozitové kolagen-kalcium fosfátové nanovláknenné vrstvy k povrchu implantátu nebo adheze injekčně aplikovatelného kostního cementu ke kosti. Poslední část této kapitoly věnoval autor zkušenostem nasbíraným při realizace studie hodnotící tuhost páteře po fúzi bederních obratlů s využitím biodegradabilních nanokompozitních materiálů.

Kapitola 7 popisuje zkoušení implantabilních zdravotnických prostředků. Této oblasti se autor v posledních letech věnuje velmi intenzivně a uvádí zde zkušenosti s hodnocením meziobratlových páteřních rozpěrek, páteřních fixátorů, dentálních implantátů, dlah a hřebů, kyčelních náhrad včetně hodnocení odolnosti acetabulární komponenty vůči uvolnění vložky nebo pevnosti ukotvení kostních implantátů.

Kapitola 8 se věnuje zkoušení neimplantabilních zdravotnických prostředků a pomůcek, kde autor prezentuje svoje zkušenosti se statickými i únavovými zkouškami externích fixátorů, kolenní ortézy nebo předloketní berle a vycházkové hole.

Kapitola 9 obsahuje přehled a dopad původních výsledků získaných v oblasti výzkumu experimentální mechaniky biologických tkání, biomateriálů a náhrad na vědeckou komunitu a celkové kritické zhodnocení použitých metod.

Na konci práce je uvedeno její celkové shrnutí, náměty na další rozvoj problematiky a přehled literárních zdrojů, které byly využity. Dále pak je zde také seznam vybraných publikací autora zveřejněných v impaktovaných časopisech, podané užité vzory a seznam grantových projektů, jichž byl autor řešitelem.

2 Principy mechanických zkoušek biologických materiálů

Biologické materiály jsou řazeny mezi nejnáročnější materiály z hlediska správného určení jejich mechanických vlastností. Jsou to zpravidla materiály anizotropní, nelineární a jejich vlastnosti se mění v čase. Všechny uvedené atributy nastiňují nutnost důkladného zvážení metod a způsobů pro stanovení mechanických vlastností [7], [11]. Následující kapitoly jsou věnovány popisu principů a specifik jednotlivých typů zatěžování, způsobů řízení a vyhodnocování zkoušek, metodikám, jejich výhodám i nevýhodám a rizikům použití. Zvláště jsou zdůrazňovány odlišnosti a specifika mechaniky klasických technických materiálů vůči biologickým materiálům a biomateriálům.

2.1 Způsoby mechanického zatěžování

Má-li být umělá náhrada funkčně a materiálově ekvivalentní původní biologické tkáni, musí být typ zatěžování zvolen tak, aby odpovídal biologickému zatěžování dané tkáně v živém organismu. Např. chrupavčitá tkáň je zatěžována v tlaku, šlachy a vazy jsou naopak zatěžovány v tahu. Kosti jsou nejčastěji zatěžovány kombinovaně – primárně musejí odolávat ohybovému zatížení a přidává se tlakové nebo torzní zatěžování. Tato kapitola proto popisuje základní principy a způsoby zatěžování pro zjišťování mechanických vlastností biologických materiálů a biomateriálů [7].

Obecně lze říci, že problematickými pasážemi převážné většiny mechanických zkoušek tohoto typu je upevnění vzorků při testování. Zejména biologické tkáně, které obsahují velké množství vody, je velmi těžké uchytit tak, aby při zatěžování neprokluzovaly [12], [13]. Podobné komplikace se však vyskytují u velké části mechanických zkoušek obecně, a proto je jim dále v textu věnována samostatná kapitola (viz Kap. 2.1.4).

Další obecnou problematikou, která se dotýká všech způsobů mechanického zatěžování, je přesnost získaných dat. Ta úzce souvisí s citlivostí používaných měřidel a snímačů. Je nutné si uvědomit, že každý snímač má své limity. Horní mez zatížení snímače je definována jeho rozsahem. Dolní mez bývá často opomíjena, ale je důležité připomenout, že pro dosažení přesnosti snímače je nutné i tento limit vnímat. Signál snímače by se v ideálním případě měl pohybovat v druhé polovině rozsahu, minimálně by však měl být větší než 10 % rozsahu. Rozhodující jsou informace uvedené v kalibračním listu daného měřidla (snímače). Tam je také možné zjistit s jakou odchylkou je měřidlo schopno pracovat [5].

2.1.1 Jednoosé zatěžování

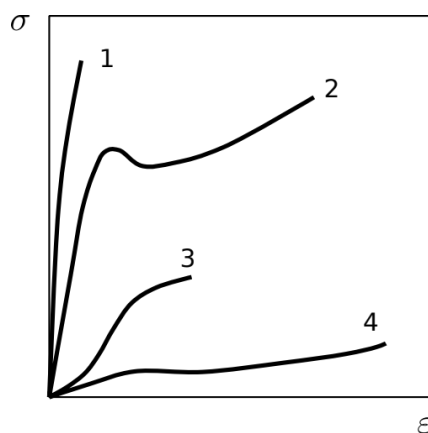
Nejčastější způsob zkoušení materiálů je právě jednoosé zatěžování. Zpravidla slouží pro získání základní představy o mechanických vlastnostech testovaných materiálů. Jedná se o režimy, kdy je aplikována zatěžující síla jedním směrem – tah, tlak, ohyb nebo krut (aplikace silové dvojice). Tento způsob zkoušení je vhodný pro izotropní materiály, tj. materiály, jejichž vlastnosti jsou nezávislé na směru zatěžování. Pro složitější materiály, jako jsou anizotropní tkáně, polymery nebo kompozity, může jednoosé zatěžování sloužit jako prvotní limitovaný náhled na jejich mechanické vlastnosti v definovaném směru [7].

2.1.1.1 Tahové zkoušky

Jednou ze základních metod pro hodnocení vlastností materiálů při jednoosém zatěžování je tahová zkouška. Biologické materiály, které jsou v těle primárně zatěžovány tahem, představují zejména šlachy, vazy a svaly a jejich náhrady a dále pak žilní nebo tepenné stěny.

Princip této zkoušky spočívá v zatěžování zkušební položky v tahu, obvykle do destrukce, za účelem stanovení jedné nebo více mechanických vlastností materiálu. Tahová síla zpravidla působí ve směru podélné osy vzorku. Rychlost zatěžování může být dána rychlostí posuvu čelistí nebo rychlostí deformace na sledovaném úseku zkušební položky anebo rychlostí nárůstu tahového napětí příp. síly. Zkoušky se nejčastěji provádějí za okolní teploty v rozsahu 10–35 °C. Biologické materiály jako jsou šlachy, svaly, žilní nebo tepenné stěny je však zapotřebí udržovat ve vlhkém stavu, aby nedošlo ke změně jejich vlastností vysušením [14].

Mezi základní hodnocené parametry patří **mez pevnosti R_m (σ_{pt})** [MPa], **Youngův modul pružnosti E** [MPa] a **celková tažnost A_t** [%]. Vykazuje-li materiál při zatěžování mez kluzu, pak se stanovuje **smluvní mez kluzu $R_{p0,2}$** [MPa] pro poměrné plastické prodloužení 0,2 % a případně také horní mez kluzu R_{eH} a dolní mez kluzu R_{eL} . Část těchto parametrů je však možné stanovit pouze pro elastoplastické biomateriály, jako jsou kovy a některé polymery. Měkké nativní biologické materiály a tkáně zpravidla neumožňují stanovení meze kluzu nebo tažnosti. Navíc jsou tyto materiály často viskoelastické a závislé na rychlosti zatěžování. **Youngův modul pružnosti** nebo **tuhost** jsou proto u těchto materiálů určovány buďto **při určité deformaci** (např. E_5 pro deformaci 5 %) **nebo jako střední hodnota úseku anebo jako sečný modul pružnosti**. Ukázka pracovního diagramu různých materiálů je na obrázku níže (viz Obr. 2.1).



Obr. 2.1 Pracovní diagram z tahových zkoušek různých materiálů – tvrdé a elastické materiály s vysokou pevností a malou tažností (1), elastoplastické materiály (2), elastomery s nelineárním průběhem (3), nativní biologický materiál typu šlachy (4). Zdroj autor.

Mezi podmínky zkoušky předepisované normativem ČSN EN ISO 6892-1 [15] patří rychlost zatěžování, která je definována jako časová změna napětí v $\text{MPa}\cdot\text{s}^{-1}$. Po přepočtení s ohledem na geometrii konkrétního vzorku se rychlost zatěžování zpravidla pohybuje v rozmezí 1 až $5 \text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$ pro technické biomateriály a v rozmezí 5 až $15 \text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$ pro měkké biologické materiály.

Základními měřenými parametry při této zkoušce jsou osová síla, kterou je vzorek zatěžován, a deformace vzorku. Detail testovaného vzorku je na obrázku níže (viz Obr. 2.2). Měření deformací je blíže popsáno dále (viz Kap. 2.2), problematické pasáže týkající se zabránění prokluzu v čelistech při uchycení jsou zmíněny v samostatné kapitole (viz Kap. 2.1.4).



Obr. 2.2 Vzorek z ušlechtilé oceli při tahové zkoušce dle ČSN EN ISO 6892-1 [15] upnutý v hydraulických čelistech testovacího systému MTS Mini Bionix a osazený extenzometrem pro měření podélné deformace. Foto autor.

Normativy, které se věnují tahovým zkouškám zkušebních položek z kovů, plastů nebo keramiky jsou např. tyto:

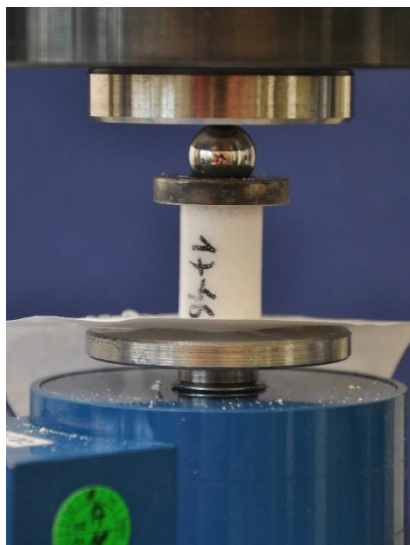
- ČSN EN ISO 6892-1 Kovové materiály – Zkoušení tahem – Část 1: Zkušební metoda za pokojové teploty [15],
- ČSN EN ISO 527-1 Plasty – Stanovení tahových vlastností – Část 1: Obecné principy [16],
- ČSN EN 658-1 Speciální technická keramika – Mechanické vlastnosti keramických kompozitů při pokojové teplotě – Část 1: Stanovení tahových vlastností [17].

2.1.1.2 Tlakové zkoušky

Druhou ze základních metod vhodnou pro hodnocení vlastností materiálů při jednoosém zatěžování je tlaková zkouška. Biologické materiály, které jsou primárně zatěžovány v lidském těle tlakem, představují zejména chrupavky, kosti, zuby a jejich náhrady včetně scaffoldů a materiálů vyráběných aditivními technologiemi (3D tiskem).

Princip této zkoušky je velmi blízký tahovým zkouškám. Z hlediska realizace je však tento typ zkoušky jednodušší, protože velmi často stačí zkušební položku umístit pouze mezi dvě tuhé desky (viz Obr. 2.3). Rychlost zatěžování opět může být dána rychlostí posuvu zatěžovací desky nebo rychlostí deformace na sledovaném úseku zkušební položky anebo rychlostí nárůstu tlakového napětí, příp. síly.

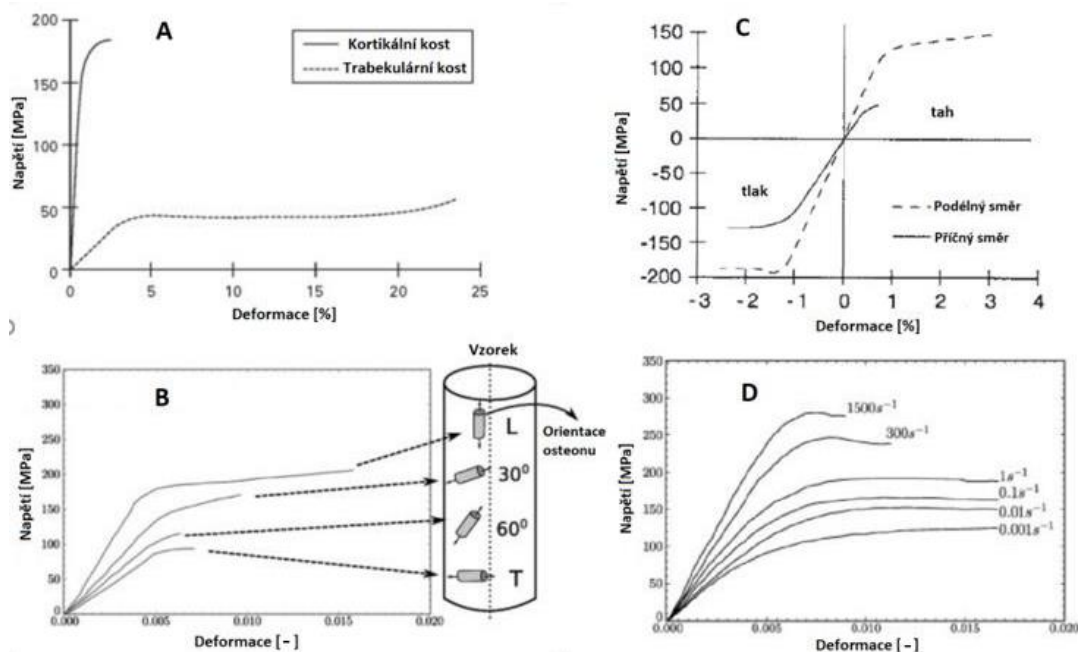
Zkouška spočívá v deformaci zkušebních vzorků v tlaku mezi dvěma tuhými paralelními deskami za účelem stanovení jedné nebo více mechanických vlastností materiálu. Provádí se za okolní teploty, ale nezřídka jsou vzorky ponořeny v kapalném médiu. S výhodou lze uvedený postup používat např. pro porézní biomateriály pro tkáňové inženýrství a hodnocení jejich degradace způsobené enzymatickými procesy v tělních a simulovaných tělních podmínkách (blíže viz Kap. 6).



Obr. 2.3 Použití naklápěcí desky pro vyrovnání odchylek paralelity čelních ploch zkušebních položek při tlakových zkouškách porézních materiálů dle ČSN ISO 13314 [18]. Foto autor.

Mezi základní hodnocené parametry patří **mez pevnosti v tlaku** σ_{pd} [MPa], **Youngův modul pružnosti E v tlaku** [MPa] a vykazuje-li materiál při zatěžování mez kluzu, pak se stanovuje **smluvní mez kluzu v tlaku** [MPa]. U kovových materiálů jsou hodnoty modulu pružnosti v tahu a tlaku velmi blízké. Specifické parametry, které jsou stanovovány pro porézní materiály, jsou **stabilní hladina napětí** σ_{pl} [MPa] („*Plateau stress*“) stanovená jako aritmetický průměr napětí mezi 20 % a 30 % deformace, **deformace pro konec stabilní hladiny napětí** e_{ple} [-] („*Plateau end*“) stanovená pro 1,3 násobek stabilní hladiny napětí, **elastický gradient napětí** E_g [MPa] („*Elastic gradient*“) – směrnice sečny získané z hysterezní smyčky při odlehčení, **smluvní mez kluzu** σ_{kpd} [MPa] („*Compressive proof stress*“) stanovená při plastické deformaci 1,0 %, **absorbovaná energie** W_a vztažená na jednotku objemu [$\text{MJ}\cdot\text{m}^{-3}$] („*Energy absorption*“) potřebná pro dosažení deformace 50% a **účinnost absorbování energie** W_e [%] („*Energy absorption efficiency*“). Zobrazení typického pracovního diagramu je na obrázku níže (viz Obr. 2.5). Určení elastického gradientu napětí a meze kluzu je pak patrné z dalšího obrázku (viz Obr. 2.6). Stabilní hladinu napětí lze interpretovat jako mez pevnosti materiálu a elastický gradient napětí testovaného porézního materiálu jako Youngův modul pružnosti homogenních materiálů. K biologickým materiálům typu trabekulární kosti je vhodné přistupovat jako k porézním materiálům.

Podmínkou předepsanou normativem pro zatěžování technických porézních materiálů je rychlost deformace vzorků v rozsahu 10^{-3} až 10^{-2} s^{-1} . Dále pak je definován požadavek na meze hysterezní odlehčovací křivky 70 % a 20 % hodnoty stabilní hladiny napětí σ_{pl} . (viz Obr. 2.6). Rychlost zatěžování hraje velmi významnou roli u biologických materiálů např. typu chrupavky. Velký obsah vody a její vytlačování z tkáně zásadně ovlivňuje odezvu materiálu na zatěžující sílu a tím i parametry tuhosti a Youngova modulu pružnosti. Při hodnocení mechanických vlastností biologických materiálů v tlaku nebo v tahu je také nutno brát v úvahu jejich výraznou anizotropii a rozdílné vlastnosti např. různých částí kostní tkáně (viz Obr. 2.4).

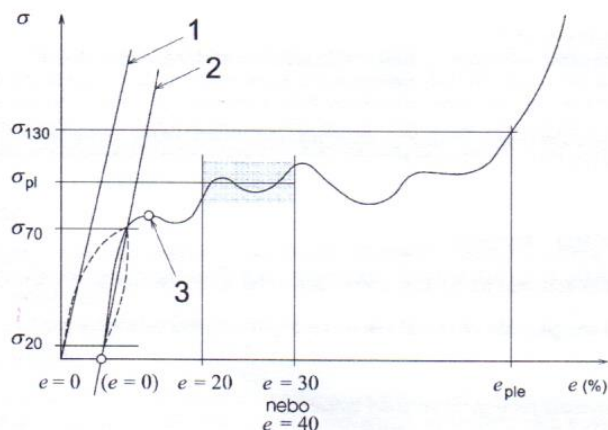


Obr. 2.4 Mechanické vlastnosti kostní tkáně při tahových a tlakových zkouškách – A tahový diagram kortikální a trabekulární kosti [19]; B projev anizotropie kortikální kosti [20]; C diagram kortikální kosti v tahu a tlaku [21]; D závislost mechanické odezvy kortikální kosti na rychlosti deformace [20].

Normativy, které se věnují tlakovým zkouškám zkušebních položek z kovů, plastů nebo dentálních amalgámů jsou např. tyto:

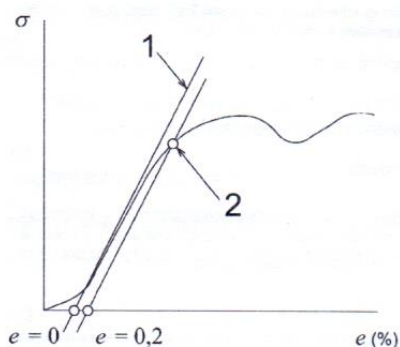
- ČSN ISO 13314 Mechanické zkoušení kovů – Zkoušení tvářítnosti – Zkouška porézních a pěnových kovů tlakem [18],
- ČSN EN ISO 604 Plasty – Stanovení tlakových vlastností [22],
- ČSN EN ISO 844 Tuhé lehčené plasty – Stanovení tlakových vlastností [23],
- ČSN EN ISO 20749 Stomatologie – Dentální amalgám v kapslích [24].

Důležitým **specifickým** požadavkem k provádění tlakových zkoušek obecně je nutnost **použití volně naklápěcí horní desky** (viz Obr. 2.3) pro zamezení zkreslení pracovního diagramu. Tento požadavek je často opomíjen, ale má velký význam zejména v počátku zatěžování. Pokud nemají testované vzorky dokonale planoparalelní kontaktní plochy nebo je materiál nehomogenní a dochází k nerovnoměrnému deformování, pak vznikající křivka pracovního diagramu prezentuje zcela zavádějící a výrazně měkčí tuhostní charakteristiky materiálu oproti skutečným vlastnostem.

**Legenda**

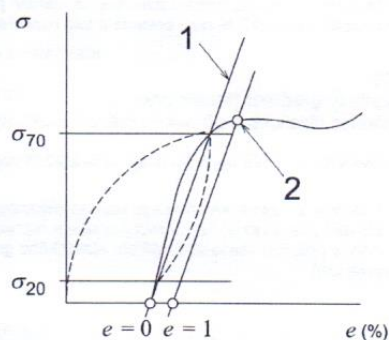
- 1 kvazi-elastický gradient
- 2 elastický gradient
- 3 první maximum pevnosti v tlaku

Obr. 2.5 Pracovní diagram pro stanovení charakteristických mechanických vlastností při tlakové zkoušce porézních materiálů dle ČSN ISO 13314 [18].

**Legenda**

- 1 kvazi-elastický gradient
- 2 smluvní napětí v tlaku

a) Kvazi-elastický gradient a smluvní napětí v tlaku

**Legenda**

- 1 elastický gradient
- 2 smluvní mez kluzu v tlaku

b) Elastický gradient a smluvní mez kluzu v tlaku

Obr. 2.6 Stanovení elastického gradientu napětí a meze kluzu porézních materiálů při tlakové zkoušce dle ČSN ISO 13314 [18].

2.1.2 Kombinované zatěžování

V lidském těle existuje jen velmi málo případů jednoduchého mechanického zatížení. Proto snaha o simulování reálného zatěžování vede na kombinaci více základních principů. Zpravidla se jedná o zkoušení při využití režimů, jako je tah, tlak, ohyb (aplikace síly) a krut (aplikace momentové dvojice sil) [4]. Nejčastěji vyskytující se kombinace jsou tyto:

- Tah a tlak – ohybové zkoušky
- Biaxiální zatěžování – zkoušky anizotropních materiálů
- Tlak a ohyb – životnostní únavové zkoušky
- Tlak a rotační nebo posuvný pohyb – tribologické zkoušky

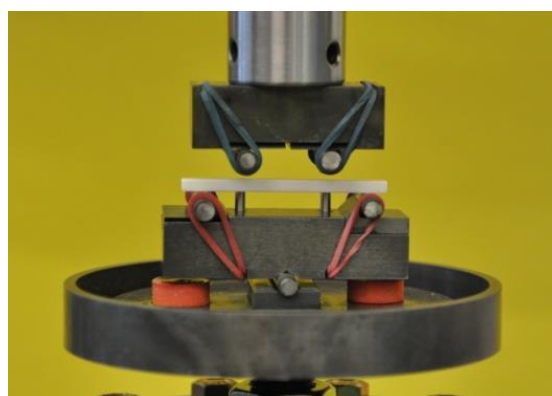
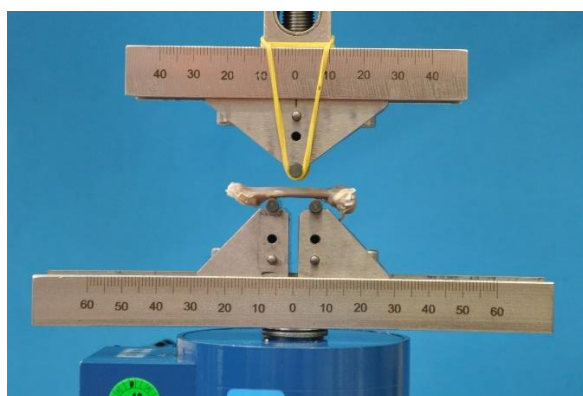
Tribologické zkoušky jsou zvláště důležité pro třecí dvojice komponent v kloubních implantátech. Jedná se o dlouhodobé zkoušky, při jejichž hodnocení je pozornost věnována opotřebenému objemu a také vznikajícímu otěru. Důležitá je velikost otěrových částic a případně je vyhodnocováno i jejich chemické složení. Pro zkoušení odolnosti proti otěru jsou využívány „dvouosé testovací systémy“ jako např. MTS Mini Bionix (MTS, USA) nebo speciální otěrové simulátory, kde může být skládáno více pohybů a vyvozen sférický pohyb kluzných částí [25].

Biaxiální zatěžování je vhodné pro zkoušení anizotropních materiálů, tj. materiálů, které mají různé vlastnosti v různých směrech. Jedná se o aplikaci jednoho typu zatěžování ve dvou osách – nejčastěji tahové nebo tlakové zkoušky v kolmých směrech (např. zkoušky tenkých vrstev materiálů) anebo prostorový biaxiální ohyb při zatížení dvěma soustřednými prstenci o různých průměrech (např. zkoušky keramických kompozitů).

2.1.2.1 Ohybové zkoušky

Jednou z metod vhodných pro hodnocení mechanických vlastností materiálů při kombinovaném zatěžování je ohybová zkouška. Biologické nativní materiály, které jsou primárně zatěžovány v lidském těle ohybem, představují zejména kosti a zuby.

Princip této zkoušky spočívá v zatěžování zkušební položky umístěné na dvou podporách (viz Obr. 2.7). Dle uspořádání zatěžujících prvků je využíván tříbodový ohyb (jeden zatěžující bod) nebo čtyřbodový ohyb (dva zatěžující body). Při namáhání v ohybu je napětí rozloženo ve zkušební položce tak, že maximální hodnoty jsou dosahovány v krajních vrstvách (tahové a tlakové v závislosti na působení síly) a nulové uprostřed v neutrální ose. Zcela zřejmou výhodou čtyřbodového uspořádání je konstantní velikost maximálního ohybového napětí mezi dvěma zatěžujícími prvky. Proto je tento způsob uspořádání preferován, umožňují-li to rozměry zkušebních položek.

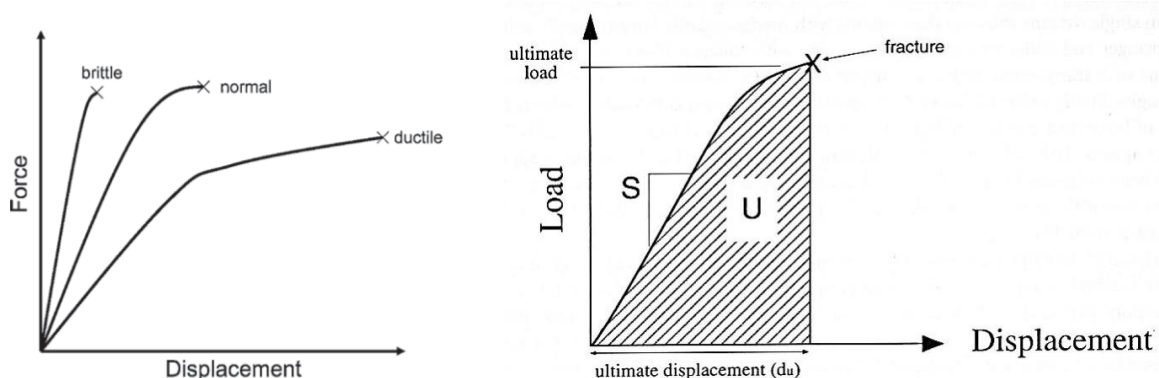


Obr. 2.7 Uspořádání ohybových zkoušek – tříbodové s biologickým nativním materiálem (vlevo), čtyřbodové s technickým biomateriálem (vpravo).

Při tomto typu zkoušek je zpravidla hodnocena **mez pevnosti v ohybu** σ_o [MPa], **Youngův modul pružnosti E v ohybu** [MPa], **ohybová tuhost S** [$\text{N}\cdot\text{mm}^{-1}$], **práce do destrukce W** [mJ] a **mez únavy v ohybu** σ_c [MPa]. Mezi předepisované podmínky zkoušky patří rychlost zatěžování, která je definována posuvem kontaktních bodů. Její velikost závisí na druhu zatěžovaného materiálu. Pro keramické a další technické biomateriály se pohybuje v rozmezí $0,5$ až $2 \text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$ [26], pro biologické materiály pak v rozmezí 2 až $20 \text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$ [27]. Pro únavové zkoušky se frekvence cyklického zatěžování pohybuje nejčastěji v rozmezí 1 až 15 Hz .

Základními měřenými parametry při této zkoušce jsou působící síla, kterou je vzorek zatěžován, průhyb zkušební položky, který může být pro zpřesnění získaných hodnot měřen průhyboměrem a případně také počet dosažených zatěžovacích cyklů. Měření deformací je blíže věnována jedna z dalších kapitol (viz Kap. 2.2).

Ukázka pracovního diagramu ohybové zkoušky různých kostí je na obrázku níže (viz Obr. 2.8). Z grafu jsou patrné rozdíly pevnosti a práce do destrukce u křehkých a houževnatých kostí. Křehká osteoporotická kost je specifická nízkou hodnotou práce do destrukce, což je způsobeno destrukcí při velmi malém průhybu. Na rozdíl od toho houževnatá dětská kost destrukce až při výrazně větším průhybu, a proto má větší hodnoty práce do destrukce. Na obrázku je současně možné vidět i principy stanovení hodnotících parametrů.



Obr. 2.8 Pracovní diagram z ohybových zkoušek různých kostí (vlevo) – křehká osteoporotická kost s nízkou hodnotou práce do destrukce (*brittle*), houževnatá dětská kost s nižší pevností, ale větší hodnotou práce do destrukce (*ductile*); principy stanovení hodnotících parametrů (vpravo) [28].

Normativy, které se věnují statickým nebo únavovým ohybovým zkouškám speciálních keramických materiálů a plastů nebo implantátů jako jsou dlahy a hřeby pro osteosyntézu kostí jsou např. tyto:

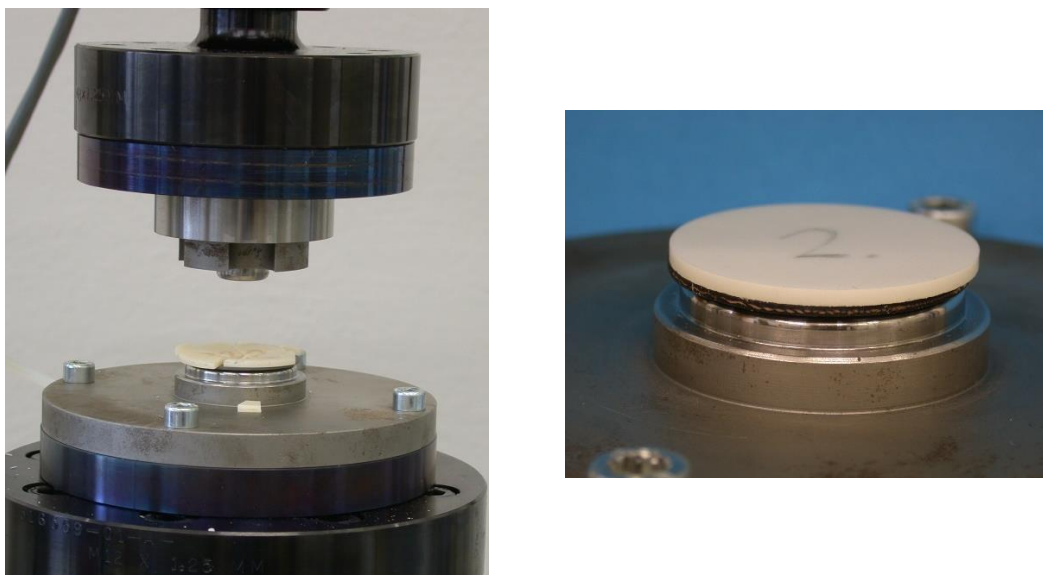
- ČSN EN 843-1 Speciální technická keramika – Mechanické vlastnosti monolitické keramiky při pokojové teplotě – Část 1: Stanovení pevnosti v ohybu [26],
- ČSN EN ISO 6872 Stomatologie – Keramické materiály [29],
- ČSN EN ISO 13356 Chirurgické implantáty – Keramické materiály na bázi yttria stabilizovaného tetragonálním zirkoniem (Y-TZP) [30],
- ISO 14704 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for flexural strength of monolithic ceramics at room temperature [31],
- ISO 22214 Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for cyclic bending fatigue of monolithic ceramics at room temperature [32],
- ASTM C1161-18 Standard Test Method for Flexural Strength of Advanced Ceramics at Ambient Temperature [33],
- ČSN EN ISO 14125 Vlákny vyztužené plastové kompozity – Stanovení ohybových vlastností [34],
- ASTM F382-17 Standard Specification and Test Method for Metallic Bone Plates [35],
- ASTM F1264-16 Standard Specification and Test Method for Intramedullary Fixation Devices [36].

2.1.2.2 Biaxiální ohybové zkoušky

Další z metod vhodných pro hodnocení mechanických vlastností materiálů při kombinovaném zatěžování je biaxiální ohyb, kdy dochází k prostorovému zatížení zkušební položky (např. zkoušky kompozitové keramiky). Biologickými materiály, které jsou primárně zatěžovány v lidském těle kombinovaným prostorovým ohybem, jsou zejména kosti, zuby a jejich náhrady.

Princip zkoušky spočívá v tlakovém zatěžování zkušebních položek vložených mezi dva soustředné prstence různých průměrů (viz Obr. 2.9). Jedná se o zatížení rovinným ohybem. Při tomto typu zkoušek je zpravidla vyhodnocena **pevnost při biaxiálním ohybu** σ_{ob} [MPa] a **energie do destrukce** W [mJ]. Pevnost materiálu je určena na bázi pružného ohybu zkušební vzorku za předpokladu, že je zkoušený materiál elastický a homogenní.

Mezi předepisované podmínky zkoušky patří rychlost zatěžování, která je definována buďto rychlostí změny působící síly nebo posuvem zatěžujícího prstence. Pro speciální keramické materiály na bázi ZrO_2 , které se používají k výrobě implantátů je předepsán nárůst působící síly $500\text{ N}\cdot\text{s}^{-1}$ [30].



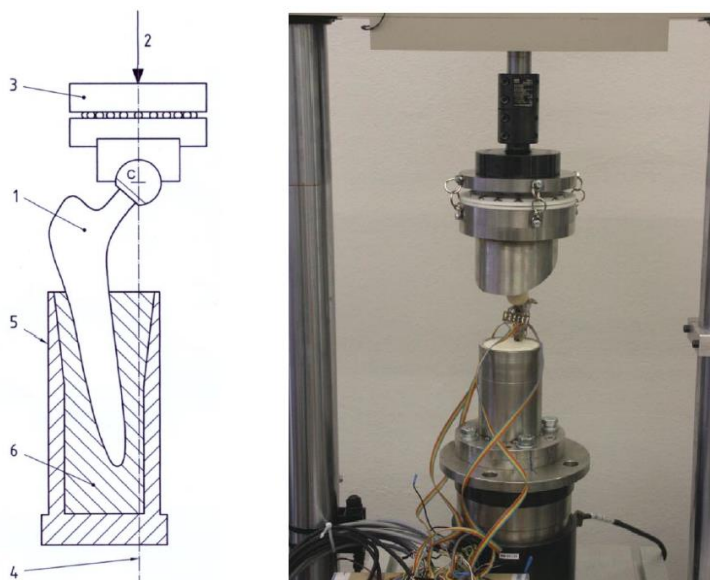
Obr. 2.9 Zkouška biaxiálním ohybem keramického disku ze speciální zirkoničité keramiky v testovacím systému MTS Mini Bionix (vlevo) a detail vzorku umístěného na pryžové podložce (vpravo). Foto autor.

Normativy, které se věnují biaxiálním ohybovým zkouškám speciálních keramických materiálů, které se používají pro výrobu implantátů, jsou např. tyto:

- ČSN EN ISO 13356 Chirurgické implantáty – Keramické materiály na bázi yttria stabilizovaného tetragonálním zirkoniem (Y-TZP) [30],
- ISO 6474-1 Implants for surgery – Ceramic materials – Part 1: Ceramic materials based on high purity alumina [37],
- ASTM C1499-19 Standard Test Method for Monotonic Equibiaxial Flexural Strength of Advanced Ceramics at Ambient Temperature [38].

2.1.2.3 Tlak a ohyb kyčelních náhrad

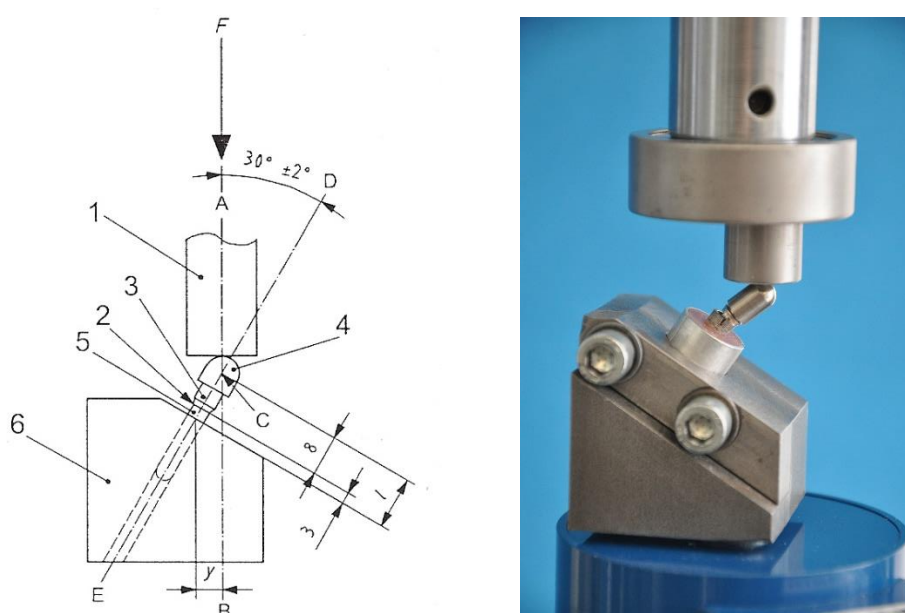
Další metoda zahrnující kombinované zatěžování je typicky životnostní zkouška kyčelních náhrad, kdy dochází k zatěžování v tlaku a ohybu. Jedná se o specifickou aplikaci kombinovaného zatěžování, které vychází z reálného namáhání části končetiny. Metodika vychází z mezinárodní normy ISO 7206-4 Implants for surgery — Partial and total hip joint prostheses — Part 4: Determination of endurance properties and performance of stemmed femoral components [39]. Norma stanovuje způsob zatěžování pulzující axiální silou o sinusovém průběhu s dolní mezí max. 300 N a horní mezí min. 2300 N a s frekvencí 1 až 30 Hz. Požadováno je absolvování $5 \cdot 10^6$ cyklů bez destrukce. Přípravek použitý pro přenos síly musí zajistit vyloučení ostatních silových účinků vznikajících při deformaci celé soustavy, tj. sil v rovině kolmé na svislý směr působící síly a silových dvojic, zejména krouticího momentu, okolo směru působící síly (viz Obr. 2.10). Během testu je nutné zaznamenávat amplitudy zatěžující síly v závislosti na počtu cyklů a zaznamenávat deformace ve směru působící síly. Výsledkem zkoušky je **konstatování, zda náhrada vydržela** předepsané zatížení a počet cyklů, či nikoli.



Obr. 2.10 Kombinovaná ohybová zkouška kyčelní náhrady – schematický náčrt přípravku (vlevo) [39], zkušební sestava v testovacím systému MTS MiniBionix 858.02 včetně zapojení tenzometrů pro měření deformací (vpravo). Foto autor.

2.1.2.4 Tlak a ohyb dentálních implantátů

Další metoda zahrnující kombinované zatěžování je únavová zkouška dentálních implantátů, kdy dochází k cyklickému zatěžování v tlaku a ohybu (viz Obr. 2.11). Jedná se o další specifickou aplikaci kombinovaného zatěžování, které vychází z reálného namáhání zubů. Metodika vychází z mezinárodní normy ČSN EN ISO 14801 Stomatologie – Implantáty – Dynamická zatěžovací zkouška nitrokostních zubních implantátů [40]. Cílem zkoušky je stanovení **mezního statického zatížení** a hodnocení únavy implantátů – tj. **vytvoření únavového diagramu, stanovení mezního únavového zatížení, maximálního ohybového momentu** dosaženého při mezním únavovém zatížení nitrokostního implantátu.



Obr. 2.11 Únavová zkouška dentálních implantátů – schéma zatěžování a uchycení implantátu (vlevo) [40], sestava implantátu upnutého v přípravku v testovacím systému MTS MiniBionix 858.02 (vpravo). Foto autor.

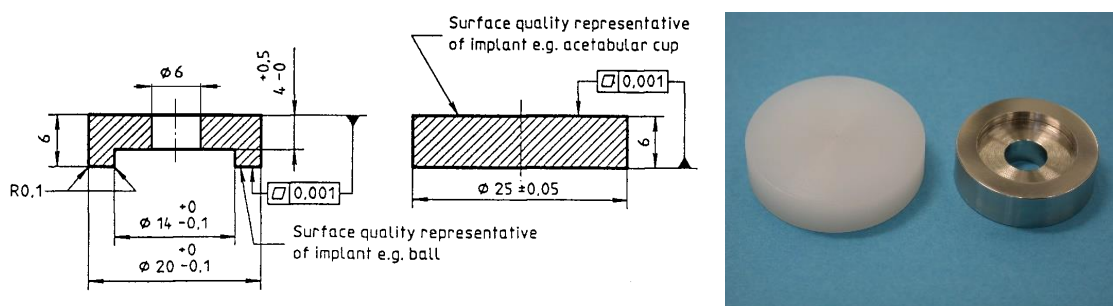
Statické zatěžování při této zkoušce probíhá konstantní rychlostí $4,0 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$. Dynamické zatěžování má sinusoidální průběh, kdy horní mez je jmenovitá hodnota síly F a dolní mez je 10 % této síly F , tj. koeficient nesouměrnosti $R = 0,1$. Předepsaný počet cyklů je $5 \cdot 10^6$. Frekvence cyklického zatěžování je povolena do 15 Hz. **Specifičností** této zkoušky je to, že zatěžovací prvek působící na krytku dentálního implantátu musí umožňovat volný pohyb v rovině kolmé ke směru zatížení. Dále pak, že implantáty musí být uchyceny nebo zality v materiálu, jehož modul pružnosti je vyšší než 3,0 GPa. Tomuto požadavku velmi dobře odpovídá samopolymerující bazální pryskyřice dostupná např. jako DURACRYL PLUS (SpofaDental, Česká republika). Poslední požadavek je na vyložení centra zatěžování C (viz Obr. 2.11) ve vzdálenosti $l = 11,0 \pm 0,5 \text{ mm}$ nad vetknutí implantátu ve směru jeho osy.

2.1.2.5 Tribologické zkoušky

Hodnocení odolnosti proti otěru je v oblasti vývoje a návrhu implantabilních zdravotních prostředků velmi důležité. Zejména u totálních náhrad velkých kloubů, jako je kolenní nebo kyčelní náhrada, dochází k velkému vzájemnému pohybu komponent, a tudíž jsou povrchy značně zatěžovány a odolnost proti otěru je pro použité biomateriály zcela zásadní. Zpravidla jde o dlouhodobé zkoušky, kdy je sledováno opotřebení a vznikající otěr. Pozornost je zaměřena i na velikost otěrových částic a jejich chemické složení. Používané metody zkoušek lze rozdělit dle druhu vzájemného pohybu těles a jejich geometrie.

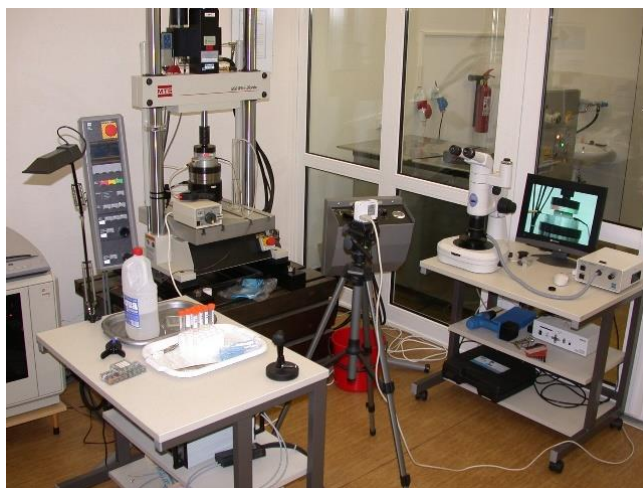
Jednou z metod umožňujících hodnocení odolnosti proti otěru je metoda nazývaná **RING ON DISC**, jejíž postup vychází z ustanovení mezinárodní normy ISO 6474-1 (E) „Implants for surgery – Ceramic materials based on high purity alumina“ [37]. Tato norma se zabývá komplexním hodnocením biotolerantních a biostabilních materiálů na bázi vysoce čisté stabilizované korundové keramiky. Jedná se o materiály standardně používané k výrobě komponent ortopedických kloubních náhrad.

Principem zkoušky je kombinované zatěžování při rotačním vratném pohybu, kdy je prstenec (*RING*) přitlačován na plochý disk osovou silou $1\,500 \pm 10$ N a současně je natáčen o $\pm 25^\circ$ s frekvencí $1,0 \pm 0,1$ Hz po dobu 100 ± 1 hodin. Velikosti obou komponent třecí dvojice s ukázkou reálných vzorků jsou na obrázku níže (viz Obr. 2.12). Právě vratný pohyb je považován za zcela zásadní výsadu této metody, neboť při zastavení vzájemného pohybu těles se podmínky tření výrazně zhoršují, na rozdíl od plynule běžícího procesu, kdy se může na povrchu těles vytvořit kluzná vrstva. Tato metoda je svým principem velmi blízká reálným kinematickým podmínkám, které v kloubech panují.



Obr. 2.12 Detailní specifikace geometrie zkušebních položek určených pro zkoušení metodou *RING ON DISC* (vlevo) [37], dvojice testovaných vzorků – disk vyrobený z vysokomolekulárního polyethylenu (UHMWPE) a prstenec vyrobený z ušlechtilé oceli (vpravo). Foto autor.

Zkouška se provádí při pokojové teplotě, vzorky jsou umístěny v destilované vodě a její teplota je monitorována (viz Obr. 2.13). Po stanoveném počtu provedených cyklů zatěžování je povrch disku proměřen profiloměrem a následně vyhodnocen celkový **objemový úbytek** materiálu na disku. Tento parametr je považován za **měřitko odolnosti proti otěru** pro testovanou kombinaci materiálů.



Obr. 2.13 Konfigurace experimentální sestavy pro realizaci zkoušky odolnosti proti otěru metodou *Ring on Disc* na zkušebním zařízení MTS Mini Bionix. Foto autor.

Specifickou úpravou pro zdárné provádění této zkoušky je korekce geometrie prstence (viz Obr. 2.12). V průběhu cyklického zatěžování dochází k hromadění par pod přimáčknutým prstencem uchyceném ve speciálním přípravku, a to nepříznivě působí na povrchy testovaných vzorků. Zejména na kontaktní ploše prstence může docházet k odlamování tenkých lamel z povrchu a ty následně mohou zcela zásadně ovlivnit další průběh zkoušky. Pro úspěšné dokončení zkoušky bez poškození vzorků je důležité zajistit odvod vznikajících par

mimo objem prstence. Za tímto účelem je do prstence vytvořen otvor a v přípravku pak navazující síť kanálků.

Další z metod pro hodnocení odolnosti proti otěru biomateriálů používaných zejména k výrobě kloubních náhrad je metoda **PIN ON DISC**. Postup této metody vychází z ustanovení mezinárodní normy ATSM G 99-17 Standard Test Method for Wear Testing with a Pin-on-Disk Apparatus [41]. Principem této metody je opět kombinované zatěžování třecí dvojice vzorků, kdy se jedná o přímočarý nebo vícesměrový pohyb, při kterém je rotující vzorek (PIN) nebo kalibrační otěrové těleso přitlačováno konstantní osovou silou na povrch rotujícího disku. Při této metodě zpravidla nedochází k zastavení vzájemného pohybu těles.

PIN je nejčastěji tvaru kuličky nebo válce. Při testu je zabráněno rotaci kuličky při pohybu. Kulička má např. průměr 6 mm, disk průměr 25 mm a výšku 6 mm. Povrchy obou těles bývají leštěné na hodnotu Ra nižší než 0,01 μm . Osově zatížení PINu je nastaveno tak, aby odpovídalo dle Hertzovy teorie zatížení kloubních náhrad. Zkouška se provádí při pokojové teplotě a vzorky jsou ponořeny do média (destilované vody nebo různých lubrikantů). Měřítkem opotřebení při tomto testu je zpravidla **hmotnostní úbytek** testovaných vzorků (pinů). Dále může být hodnocen koeficient tření (závislý na rychlosti vzájemného pohybu) a profil tribologické stopy na disku [42], [43].

Další metodou, která je využívána pro hodnocení odolnosti biomateriálů proti otěru, je test **PIN ON PLATE**. Při této zkoušce se vratným pohybem posouvají obě zkoušené komponenty. Vzorek označovaný jako PIN se pohybuje rotačně vratným pohybem a je axiální silou přitlačován k desce (PLATE), která se pohybuje přímočarým vratným pohybem. Rozměry pinu a plata jsou na obrázku. Válcový PIN má průměr např. 12 mm, plato je deska o rozměrech 25 x 75 mm a tloušťce 10 mm. Pin rotuje kolem své osy pod úhlem $\pm 30^\circ$, deska kmitá s amplitudou ± 28 mm. Oba pohyby jsou synchronizovány, frekvence pohybů je 1,0 \pm 0,1 Hz. Axiální síla, která přitlačuje pin na plato, je 160 N. Vše probíhá při pokojové teplotě, lubrikační kapalinou je speciální bovinní sérum [44], [45].

Hodnotícím parametrem tohoto testu je **faktor opotřebení k_{POP}** , který je přímo úměrný opotřeбенému objemu a nepřímo úměrný působící síle a proběhnuté vzdálenosti. Opotřeбенý objem je stanoven přepočtem za pomoci zjištěných úbytků hmotnosti pinu a jeho hustoty. Ke zjišťování hmotnosti dochází v průběhu zkoušení.

2.1.3 Speciální režimy zatěžování

Jedná se o mechanické zkoušky zaměřené na ověření konkrétních specifických vlastností biomateriálů, implantátů nebo jejich sestav. Velmi často speciální režimy zatěžování kombinují základní principy s cílem hodnocení nebo ověření funkčnosti a jsou využívány ve vlastních vyvinutých metodikách. Původní metodiky implementované v Laboratoři mechanických zkoušek na Fakultě Strojní, Českého vysokého učení technického v Praze jsou uvedeny v samostatné kapitole dále (viz Kap. 2.5.2) a věnují se např. hodnocení ohybové tuhosti páteře s využitím speciálního simulátoru MTS, hodnocení tuhosti chrupavky měřením odporu proti vnikání cizího tělesa, adheze nanovláknenných vrstev k povrchu implantátu nebo vytrhávacím zkouškám kostních implantátů fixovaných v kosti při hodnocení mechanické vazby s kostní tkání nebo adheze kostního cementu [46].

2.1.4 Způsoby uchycení biologických vzorků

Upevnění vzorků při zkoušení patří mezi problematické kroky převážně většiny mechanických zkoušek. Zejména při zatěžování plochých vzorků je nutné po celou dobu zkoušky zajistit sevření tak, aby bylo dosaženo dostatečného kontaktu i při změně jeho tloušťky. U technických biomateriálů si většinou vystačíme se svěrným uchycením nebo např. využitím závitového spoje na vzorku. U nativních biologických materiálů je však spolehlivé uchycení zvláště komplikované u tkání, které obsahují velké množství vody a ta se v čase z tkáně vytlačuje [7], [47].

Způsobů řešení uchycení je několik a mohou být využity např. tyto:

- speciální pneumatické nebo hydraulické čelisti, ve kterých je zajištěn trvalý kontakt pohyblivých vložek se vzorkem pomocí tlaku působícího pracovního média nebo speciální mechanické čelisti, které mají zajištěnu samosvornost s možností pohybu vložek při zmenšování tloušťky vzorku,
- pomocné savé nebo drsné materiály, které jsou vloženy mezi vzorek a svěrné části čelistí – různé filtrační papíry nebo brusný papír s větší zrnitostí, které mohou být pro zvýšení účinnosti přilepeny na vzorek pomocí např. kyanoakrylátového lepidla,
- zamrazení biologické tkáně v tekutém dusíku těsně před upnutím v čelisti (např. při uchycení svalového úponu šlachy) nebo kombinace všech uvedených způsobů.

2.2 Specifika měření deformací biologických materiálů

Při zkouškách biologických materiálů se velmi často potýkáme s poněkud odlišným chováním oproti standardním zvyklostem klasické mechaniky. Tyto materiály nezdědíka vykazují při zatěžování velké deformace způsobené výrazně nižší tuhostí, nelineární průběh nebo výrazné ovlivnění získaných výsledků např. složitou skladbou. Omezené možnosti použití poměrné deformace epsilon přináší odlišnosti ve vyhodnocení, kdy je např. využívána logaritmická Henckeho deformace (stretch). Způsob měření deformací biologických materiálů zcela jistě souvisí i s jejich strukturou a např. vysokým obsahem vody, kterému musí být metoda přizpůsobena [3], [12], [48], [49].

2.2.1 Kontaktní měření deformací

Tento způsob měření deformací patří mezi nejčastěji používané z praktických důvodů. Instalace měřících prvků je rychlá a snímače lze využívat i opakovaně k odloženým měřením. Charakteristikou těchto metod je přímý kontakt měřících prvků se vzorkem. Pro měření deformací biologických materiálů má tento způsob velmi omezené využití. S výhodou jej však lze použít pro technické biomateriály nebo pevné tkáně.

Základní dělení lze provést na:

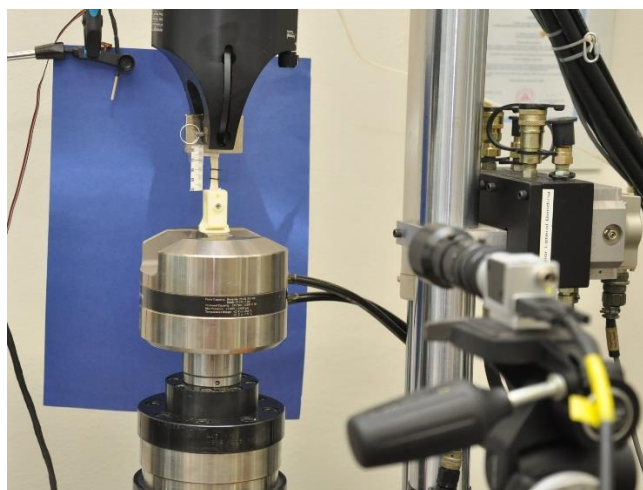
- extenzometry (princip hrotového kontaktu) – primárním měřeným parametrem je vzdálenost hrotů,
- odporové tenzometry (princip plošného kontaktu) – primárním měřeným parametrem je změna délky a tím odporu tenkého vodiče umístěného ve fólii,

- průhyboměry.

Stejně jako jiné metody mají i tyto své výhody a nevýhody. Pevné spojení měřících prvků s hodnoceným materiálem zásadně ovlivňuje zjišťované údaje. Důležitá je časová stálost spoje a také odolnost proti únavě (riziko odloupení tenzometru). Snadná montáž extenzometru je jeho hlavní výhodou – není zapotřebí adhezních tmelů, zpravidla se přichytí pružinou. Umožňují měření velkých deformací (zpravidla až 50 % poměrné deformace). Nelze jej však použít na tenké nebo hodně poddajné materiály, neboť extenzometr vyžaduje vlastní tuhost vzorku, na který je umisťován. Naopak tenzometry lze umístit i na relativně tenké materiály a lze je používat opakovaně, např. při odloženém měření a hodnocení vlastností proměnných v čase (např. vliv stárnutí materiálu náhrady, kdy je aparatura připojena k instalovanému tenzometru po 6 měsících). Nevýhodou však je poměrně malý měřicí rozsah (nejčastěji do 1 % poměrné deformace), dále pak nutnost důkladného plošného spojení tenzometru s povrchem testovaného materiálu a tím také nepoužitelnost pro biologické tkáně s vysokým obsahem vody [50].

2.2.2 Bezkontaktní měření deformací

Princip těchto metod spočívá ve snímání povrchu zatěžovaných zkušebních položek a následném provedení digitální korelační obrazové analýzy. Využívány jsou laserové paprsky, kamery nebo také vysokofrekvenční kamery pro analýzu rychlých dějů. Velkou výhodou těchto bezkontaktních metod je měření, kdy není narušován povrch vzorků. Vyhodnocení rovinných deformací lze při využití více kamer rozšířit na prostorové 3D vyhodnocení. Zařízení používaná pro tento způsob měření deformací jsou označována jako video extenzometry nebo DIC systémy (*digital image correlation*) [7].



Obr. 2.14 Video extenzometr ONE Series firmy XSight v konfiguraci pro bezkontaktní měření deformací vrstev kůže na zkušebním zařízení MTS Mini Bionix. Foto autor.

Tyto systémy lze s výhodou využít pro měření deformací biologických vzorků (tvrdých i měkkých tkání) např. při tahových, tlakových nebo ohybových zkouškách [49]. Specifičností použití pro materiály s vysokým obsahem vody je nutnost nalezení vhodných voděodolných značkovačů pro vytvoření markerů, které slouží k analýze deformací.

2.3 Způsoby řízení biomechanických zkoušek

Zkoušky je možno v principu řídit dvěma způsoby – deformačně nebo silově. Rozhodnutí o použití konkrétního způsobu souvisí s požadavky na přiblížení se reálnému zatěžování v organismu nebo s požadavky na vyhodnocení určitých vlastností, které mohou souviset s navazujícími kroky např. s plánovaným využitím matematického modelování nebo korelace zjištěných výsledků [5], [51].

2.3.1 Deformační řízení zkoušek

Při základním hodnocení mechanických vlastností je požadováno zjištění závislosti deformace a působící síly. Pro tento účel je deformační způsob řízení zkoušek zcela vyhovující. Navíc je tento způsob řízení jednodušší pro realizaci zkoušky a také bezpečnější. Předepisováním časové změny polohy zatěžovací části nebo deformace zkušební položky je přímo definována pozice akčního zatěžovacího prvku v čase a při destrukci zkušební položky se testovací systém nedostává do nestabilního stavu. Při tomto způsobu řízení se snáze nastavují ochranné limity testovacích systémů. Příkladem uplatnění deformačního způsobu řízení je převážná většina kvazistatických zkoušek [8].

2.3.2 Silové řízení zkoušek

Na rozdíl od deformačního řízení je silový způsob řízení zkoušek podstatně bližší reálnému způsobu řízení zatěžování v lidském těle. Primárně je v organismu např. požadován cílový silový účinek ve svalu a jeho kontrakce je takovému požadavku podřízena. Silové řízení v testovacích systémech představuje vyšší míru rizika právě proto, že systém musí autonomně řídit posuvy akčních prvků, aby bylo dosaženo předepsaného zatížení. Aktuátory vykonávající zatížení se pak mohou dostat do vysokých rychlostí, kdy je obtížné nastavit účinné ochranné prvky, aby nedošlo k poškození zařízení. Příkladem uplatnění silového způsobu řízení je převážná většina únavových cyklických zkoušek, kdy jsou definovány hladiny zatížení [10].

Při tomto způsobu řízení zkoušek se rychlost posunutí zatěžovacího prvku mění v závislosti na tuhosti testovaných materiálů/sestav. V případě, kdy dochází ke změně tuhosti, např. při poškozování zkušebních položek, se může testovací systém dostat do nestabilního stavu z hlediska řízení. Proto je nutné při silovém řízení zkoušek vždy dbát zvýšených bezpečnostních opatření a využívat v maximální míře doplňkových ochranných prvků, jako jsou např. „emergency“ limity pro polohu zatěžovacího prvku. Při jejich dosažení dojde k bezpečnostnímu vypnutí systému, aby se nepoškodily aktivní ani pasivní prvky testovací aparatury.

2.4 Rychlostní režimy zatěžování biomateriálů

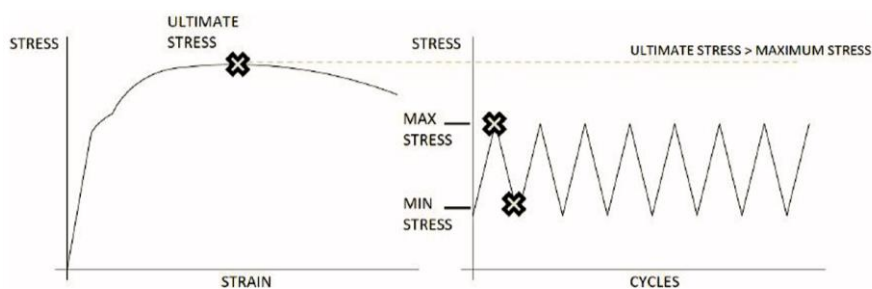
Z pohledu rychlosti zatěžování a opakovaných cyklů lze principy zkoušek dělit na kvazistatické a cyklické. Rozhodnutí o použití konkrétního způsobu opět souvisí především s požadavky na přiblížení se reálnému zatěžování v lidském těle nebo s požadavky na ověření charakteristiky, jakou je např. mez únavy, případně limitní únavové silové zatížení [4], [51].

2.4.1 Kvazistatické zkoušky

Při těchto biomechanických zkouškách dochází k pozvolné změně zatížení (u obou typů – tj. deformačně i silově řízené zkoušky). Zpravidla jsou takové zkoušky vykonávány destruktivně, tj. cílem je nalezení limitních vlastností testovaných biologických nebo technických materiálů anebo sestav při zatěžování v tahu, tlaku, ohybu, krutu nebo stříhu. Stanoveny jsou pak vlastnosti jako je např. mez pevnosti, modul pružnosti atd. Případně jsou zkoušky limitovány stanoveným zatížením, pro ověření konkrétní podmínky např. předepsaného napětí nebo prodloužení zkušební vzorku [1], [7].

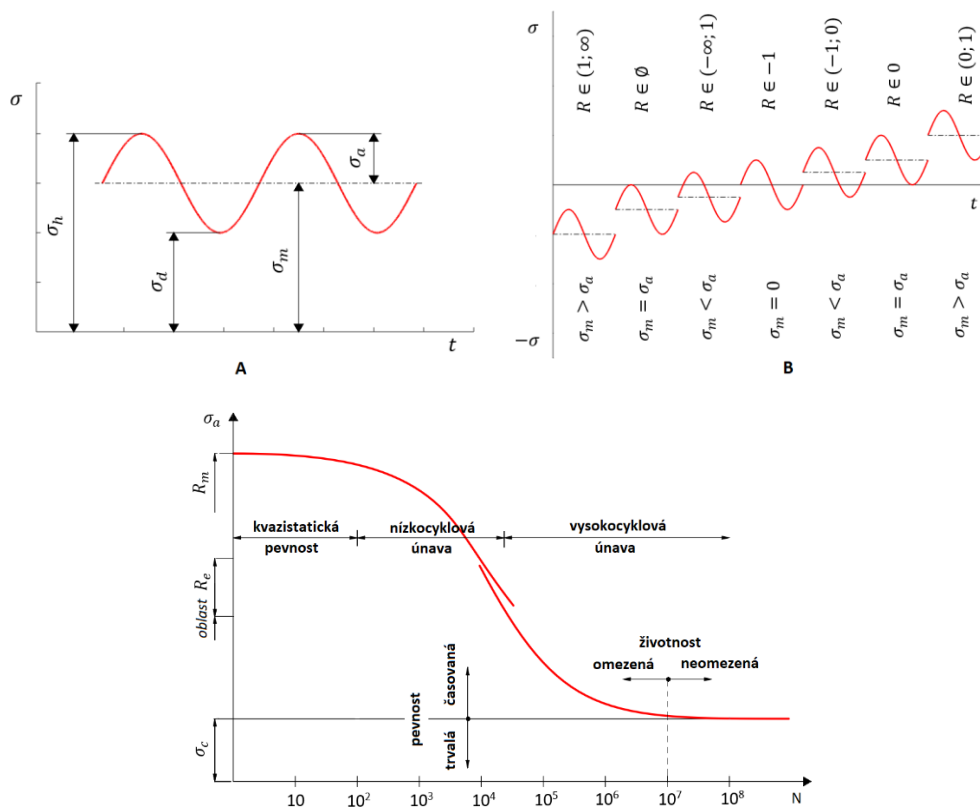
2.4.2 Cyklické únavové zkoušky

Jedná se o zkoušky, při nichž dochází k opakovaným změnám zatížení. Tento typ zkoušek je velmi důležitý pro hodnocení vlastností biomateriálů a částí, které jsou trvale podrobovány proměnnému dynamickému zatěžování. Základní rozdíl mezi kvazistatickým a cyklickým zatěžováním je zřejmý z pracovního diagramu níže (viz Obr. 2.15). Typicky se může jednat o náhrady kloubů zatěžované při chůzi a pravidelném pohybu, o náhrady cév zatěžované pulsujícím tlakem nebo dentální implantáty a náhrady čelisti zatěžované při žvýkání. Cyklické únavové zkoušky jsou zpravidla realizovány harmonickým sinusoidálním průběhem zatěžující síly. Charakteristickým jevem únavového porušení je výrazně nižší destruktivní zatížení, než je statická pevnost. Z hlediska aplikovaného počtu zatěžovacích cyklů lze zkoušky dělit na nízkocyklové a vysokocyklové. Dle charakteristiky zátěžného cyklu dělíme únavové zatěžování na střídavé – souměrné nebo nesouměrné, míjivé nebo pulzující, charakterizované koeficientem nesouměrnosti R definovaným jako poměr mezi dolním a horním napětím (viz Obr. 2.16) [51], [52].



Obr. 2.15 Pracovní diagram zobrazující principiální odlišnosti kvazistatického (vlevo) a cyklického únavového zatěžování (vpravo) [53].

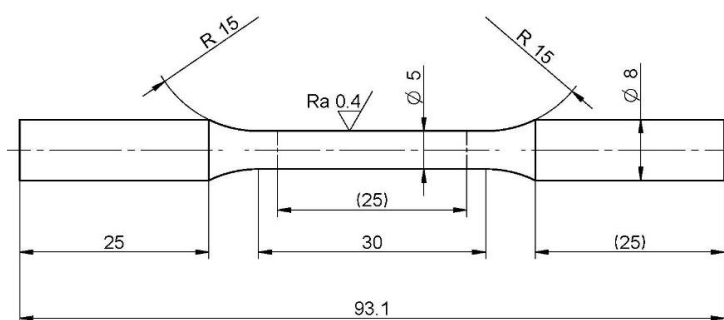
Jedna ze základních **metodik únavových materiálových zkoušek** pro kovové materiály je definována normou ČSN 420363 Zkoušení kovů. Zkoušky únavy kovů. Metodika zkoušení [54]. Metodika je vhodná pro hodnocení kovů a jejich slitin. Pro vysokokmitové zkoušení únavy při frekvenci až 40 Hz lze aplikovat zatěžování s řízenými silovými účinky (konstantní amplituda silového zatížení), kdy způsob namáhání je míjivý tah. Hodnota koeficientu nesouměrnosti zatěžujícího cyklu R je tedy rovna 0,1.



Obr. 2.16 Parametry a grafické závislosti popisující sinusoidální cyklické zatěžování (A), jeho různé charaktery (B) a rozdělení dle realizovaných počtů cyklů na nízkocyklovou a vysokocyklovou únavu [55].

Zkoušení dle ČSN 420363 [54] probíhá v laboratorních podmínkách při normální teplotě okolí (20 ± 10) °C. Hodnota meze únavy testovaných kovových materiálů je stanovována při limitním počtu 10^7 cyklů, přičemž rozdíl mezi mezí únavy a posledním napětím, při kterém došlo k lomu, nesmí být větší než 15 MPa. Hodnota meze únavy musí být potvrzena kontrolním testem ještě jednoho vzorku, a to na stejné hladině napětí nebo o 15 MPa nižší. Pro výsledné hodnocení vysokokmitových zkoušek skupiny stejných vzorků testovaných na odstupňovaných hladinách zatížení je pak vypracována kompletní únavová (Wöhlerova) křivka – závislost $\sigma_h - \log N$. Velmi důležitá je povrchová úprava kovových zkušebních těles, neboť je nutné dosáhnout drsnosti $R_a < 0,4 \mu\text{m}$ (viz Obr. 2.17).

Další metodika, která se věnuje **únavovým vlastnostem biokeramických materiálů**, je definována v normativu ČSN EN ISO 17140 Jemná keramika (speciální keramika, speciální technická keramika) – Mechanické vlastnosti keramických kompozitů při pokojové teplotě – Stanovení únavových vlastností při konstantní amplitudě [56]. Keramické biomateriály se velmi často používají pro výrobu kloubních náhrad – např. hlavic nebo jamek kyčelních kloubů, komponent kolenních náhrad nebo dentálních implantátů.



Obr. 2.17 Zkušební těleso pro únavové zkoušky s uvedenými rozměry (vlevo). Sestava pro zkoušení únavy v testovacím systému MTS MiniBionix 858.02 při použití hydraulických čelistí. Zdroj autor.

2.4.3 Dynamické rázové zkoušky

Dynamické rázové zkoušky reprezentuje nejčastěji zkouška vrubové houževnatosti při tříbodovém ohybu metodou Charpy, kdy dochází k namáhání zkušební položky rázem, tj. ve velmi krátkém časovém úseku. Tyto zkoušky jsou vhodné pro získání doplňujících informací o mechanických vlastnostech cyklicky zatěžovaných částí implantátů. Pro realizaci se využívá kyvné Charpyho kladivo a je vyhodnocována energie potřebná na porušení zkušební položky. Vrubová houževnatost KC [$\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$] je poté určena jako poměr spotřebované energie a původního průřezu zkušební tyče v místě vrubu. Ten je tvaru V nebo U a je do zkušební položky vyroben před provedením zkoušky. Kromě rázových zkoušek využitím metody Charpy se dále využívá např. metoda IZOD, kdy je polovina zkušební položky pevně upnuta, metoda DYNSTAT, kdy je zkušební trámec také upnut jako vetknutý nebo metody využívající padostroje, kdy může být aplikována výrazně větší energie padajícího zatěžujícího tělesa i jeho rychlost [10], [51].

Normativy, které se věnují rázovým zkouškám zkušebních položek z kovů a plastů jsou např. tyto:

- ČSN EN ISO 148-1 Kovové materiály – Zkouška rázem v ohybu metodou Charpy – Část 1: Zkušební metoda [57],
- ČSN EN ISO 14556 Kovové materiály – Zkouška rázem v ohybu na kyvadlovém kladivu tyčí Charpy s V-vrubem – Instrumentovaná zkušební metoda [58],
- ČSN 420383 Zkoušení kovů. Zkouška rázem v ohybu za zvýšených teplot [59],
- ČSN EN ISO 179-1 Plasty – Stanovení rázové houževnatosti metodou Charpy – Část 1: Neinstrumentovaná rázová zkouška [60],
- ČSN EN ISO 179-2 Plasty – Stanovení rázové houževnatosti Charpy – Část 2: Instrumentovaná rázová zkouška [61].

2.5 Metodiky biomechanických zkoušek a normativy

Cílem tvorby metodik je pečlivé zpracování postupu stanovení určité mechanické (nebo jiné) vlastnosti, tak aby nebylo pochyb o objektivnosti, opakovatelnosti a reprodukovatelnosti metody. Normativy, které takové metody obsahují a vznikají na národní i mezinárodní úrovni, však lze rozdělit do dvou skupin. První z nich definuje metodiku pouze jako takovou, ale nelimituje zjištěné parametry. Je pak na uživateli nebo výrobcí daného materiálu nebo produktu, aby si stanovil kritéria pro použití. Druhá skupina normativů striktně zavádí limity stanovených parametrů a vlastností a jejich splněním je podmíněno další použití zkoušených materiálů nebo zdravotnických prostředků [62], [46], [63].

Příkladem první skupiny normativů je např. ČSN EN ISO 14801 [40], kde je stanoven postup pro hodnocení životnosti dentálních implantátů při kombinovaném zatěžování tlakem a ohybem. Obdobně ASTM F382 [35] stanovuje podmínky pro statické a únavové zkoušení ve čtyřbodovém ohybu dlah pro osteosyntézu kostí. Provedení zkoušek podle příslušných normativů je vyžadováno při posuzování shody implantátů s nařízením [64] před uvedením na trh i přesto, že v nich není stanovena limitní hodnota zatížení, kterou by musely implantáty vydržet.

Na rozdíl od toho zástupcem druhé skupiny normativů je např. ISO 6474-1 [37], kde jsou kromě metod zkoušek specifikovány i limitní hodnoty vlastností keramických biomateriálů na bázi korundu – např. pevnost při čtyřbodovém ohybu musí být vyšší nebo rovna 500 MPa, pevnost při biaxiálním ohybu musí být vyšší nebo rovna 300 MPa, mez únavy při čtyřbodovém ohybu pro 10^7 cyklů musí být vyšší nebo rovna 200 MPa a Youngův modul pružnosti musí být vyšší nebo roven 380 MPa. Obdobně jsou v normě ISO 7206-4 [39] definovány konkrétní požadavky na cyklické únavové zatěžování o sinusovém průběhu s dolní mezí max. 300 N a horní mezí min. 2300 N, s frekvencí 1 až 30 Hz a počtem cyklů $5 \cdot 10^6$ bez poškození u kyčelní náhrady. Splnění předepsaných hodnot je nutnou podmínkou pro použití materiálů k výrobě implantátů nebo pro uvedení zdravotnických prostředků na trh.

2.5.1 Normalizované metodiky

Hlavní předností normalizovaných metodik publikovaných v mezinárodních normativních je to, že jsou validované, opakovatelné, reprodukovatelné a mezinárodně uznávané. Vydávající organizace nesou zodpovědnost za vhodnost nastavených principů a způsobů stanovení parametrů stejně jako jejich předepsaných velikostí. Jejich splnění je pak požadováno např. pro uvedení zdravotnických prostředků na trh. Proto mají normalizované metodiky velmi významnou roli v oblasti mechanických zkoušek v biomechanice.

Tvorbě standardizovaných metodik pro zjišťování vlastností a určování limit vybraných parametrů se na národní i mezinárodní úrovni věnují pověřené organizace. V České republice působí v oblasti normotvorby Ministerstvo průmyslu a obchodu ČR (MPO) a jím zřízený Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví (UNMZ), který zajišťuje výkon státní správy v oblasti technické normalizace, metrologie a státního zkušebnictví. Činnosti související s tvorbou, vydáváním a distribucí technických norem zabezpečuje **Česká agentura pro standardizaci (ČAS)**.

Na mezinárodní úrovni je nejvýznamnější organizací působící v oblasti normotvorby **International Organization for Standardization** sídlící v Ženevě ve Švýcarsku a vydávající normy ISO. Dále pak **ASTM International** sídlící ve West Conshohocken v USA vydávající normy

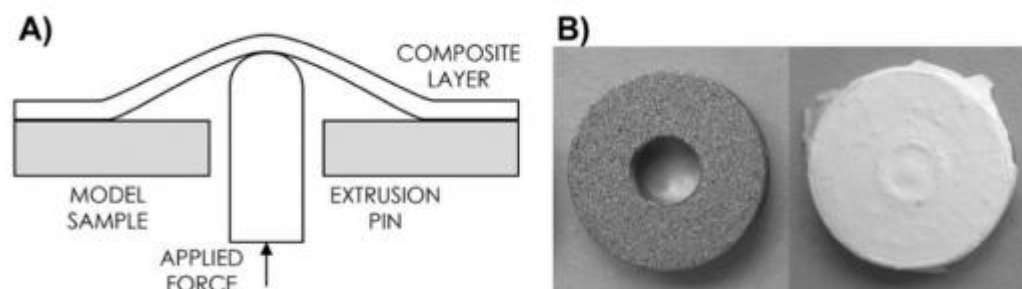
ASTM. Méně často je možno setkat se např. s ruskými normami Gosstandart (GOST) nebo japonskými normami Japanese Industrial Standards (JIS).

2.5.2 Vlastní vyvinuté metodiky a přístroje

Přestože existuje nesčetné množství normalizovaných, publikovaných nebo jinak validovaných metodik, stává se, že postup vhodný pro hodnocení požadovaných vlastností materiálů nebo zdravotnických prostředků nalezen není, případně vyhovuje jenom částečně. Pak přichází čas na vlastní tvorbu nové metodiky, která musí být následována validací a verifikací. Některé z metodik, které byly nově vyvinuty v naší laboratoři a se kterými má autor osobní zkušenosti, jsou uvedeny v následujících kapitolách.

2.5.2.1 Adheze nanovláknenné vrstvy nanesené na povrch implantátu

Pro účel **hodnocení přilnavosti vrstev k povrchu implantátu** byla v naší laboratoři vyvinuta metodika založená na **odtlačování nanesené vrstvy** od povrchu modelového implantátu. K tomuto byl zkonstruován a vyroben speciální přípravek umožňující uchycení disku s nanovláknennou vrstvou a zatěžování vrstvy tlačným trnem (viz Obr. 2.18). Disk představující modelový implantát má vnější průměr 15 mm a otvor o průměru 5 mm. Zatěžující trn o průměru 4,5 mm má kontaktní plochu navrženu jako vrchlík koule o průměru 9 mm. Přípravek byl navržen tak, aby v průběhu zatěžování bylo možné sledovat chování vrstvy a její odlupování od povrchu disku [65].



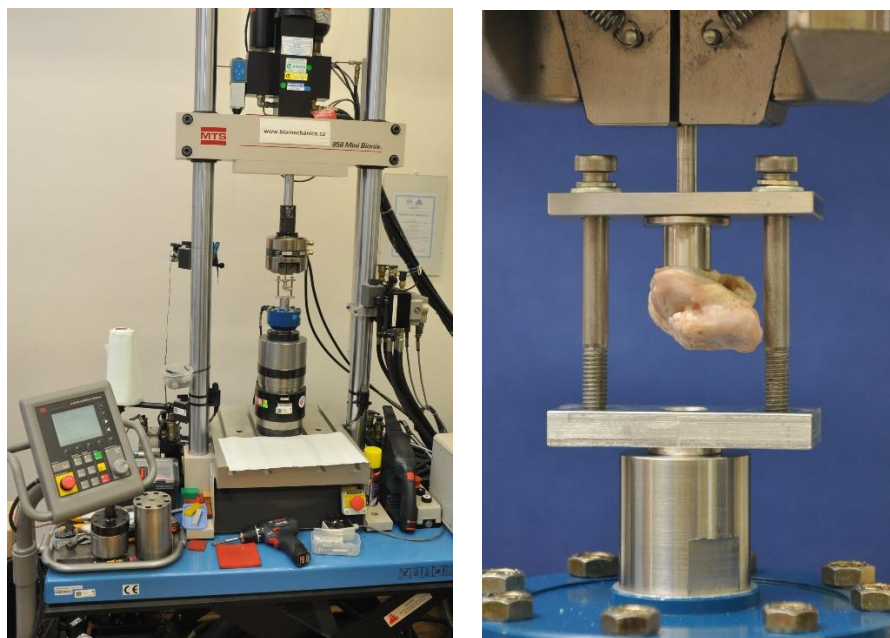
Obr. 2.18 Princip metody zaměřené na hodnocení přilnavosti elektrostaticky nanesených kompozitových nanovláknenných vrstev na povrch modelového implantátu (A), ukázka testovaného vzorku před a po nanesení COL/HAp vrstvy (B) [65].

Princip zkoušky spočívá v tlaku vyvíjeném na nanovláknennou vrstvu trnem, který prochází otvorem v disku. Po překonání adhezních sil fixujících vrstvu k povrchu disku dojde k odtržení vrstvy. Hodnotícím kritériem byla zvolena **pevnost v tahu spoje vrstvy a disku**, tj. byla zjišťována síla potřebná k odtržení vrstvy od disku. Pevnost byla určena jako podíl maximální síly potřebné k odtržení vrstvy od povrchu dělená kontaktní plochou vrstvy s diskem. Experimenty probíhají na testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) v sestavě s velmi jemným silovým snímačem s rozsahem 10 N (relativní chyba měření síly 0,3 %). Využití uvedené metodiky, která byla vyvinuta a validována v naší laboratoři, je uvedeno dále v textu u hodnocení přilnavosti elektrostaticky nanesených kompozitových nanovláknenných vrstev na povrch modelového titanového implantátu (viz Kap. 6.6).

2.5.2.2 Pull-out zkoušky pro hodnocení adheze implantátu ke kosti

Pro účel **hodnocení adheze implantátu ke kosti** byla v naší laboratoři vyvinuta **metodika Pull-out zkoušek** založených na **vytahování implantátů upevněných v kosti**. Primárně je tato metodika určena pro hodnocení *in vivo* zkoušení srůstů implantátů ve zvířecích modelech např. v prasečích kostech. Mimo to však může být využita také pro hodnocení adheze povrchové vrstvy nebo vlastností cementu používaného pro kotvení implantátu nebo zacelování kostních defektů [66].

K provádění zkoušek byly zkonstruovány a vyrobeny speciální přípravky umožňující uchycení kostního bloku s implantátem a trn, který se zašroubuje do implantátu a s jehož pomocí je implantát z kosti vytahován (viz Obr. 2.19). Implantáty jsou zpravidla válečky o průměru 4 mm a výšce 8 mm s vnitřním závitem M2. Trn o délce 40 mm je na jednom konci opatřen vnějším závitem M2, který se při zkoušce zašroubuje do implantátu. Druhá strana trnu je uchycena do čelistí testovacího systému. Přípravky byly navrženy tak, aby v průběhu zatěžování nedocházelo k parazitnímu namáhání implantátu v ohybu a nebyly tak zkresleny hodnoty zaznamenávaných silových účinků.



Obr. 2.19 Testovací systém MTS 858.2 Mini Bionix (MTS, USA) se speciálním přípravkem pro *pull-out* testy (vlevo), detail kostního bločku v přípravku při vytahování implantátu (vpravo). Foto autor.

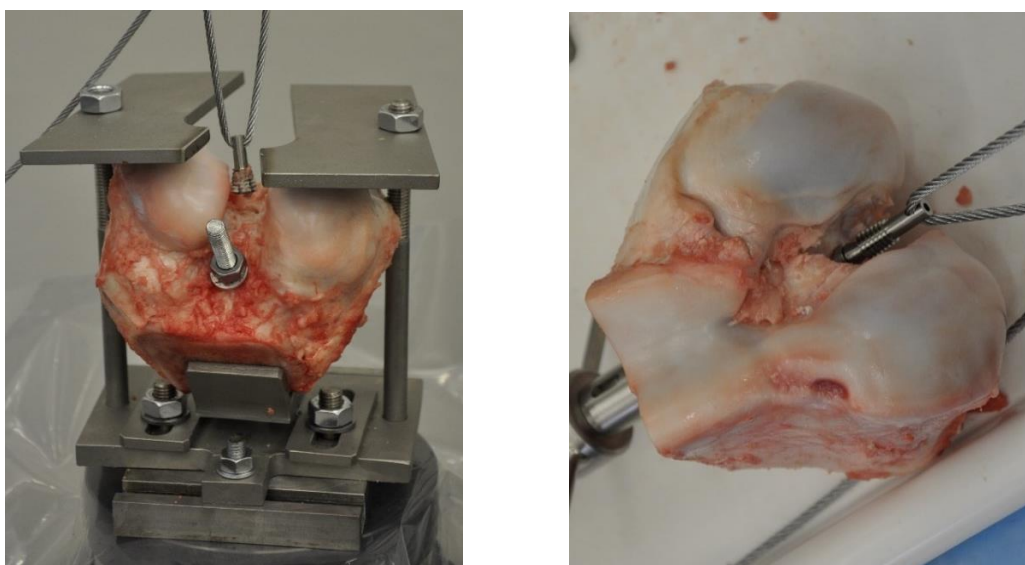
Princip zkoušky spočívá ve vytahování implantátu, který byl zaveden do kosti. Při zatěžování dochází ke smykovému namáhání rozhraní kost implantát nebo jeho povrchové vrstvy. Po překonání adhezních sil fixujících implantát v kosti dojde k jeho vytažení. Rychlost vytahování implantátu je $5 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$. V průběhu zkoušky je zaznamenáván posuv implantátu a působící síla. Z pracovních diagramů závislosti aplikované síly na posunutí implantátu je vyhodnocena **mez pevnosti ve smyku** (maximální dosažené smykové napětí), **posunutí implantátu při porušení adheze**, **práce adhezních sil** (plocha pod křivkou pracovního diagramu) a **účinnost** (podíl práce adhezních sil a práce odpovídající maximální síle po celou dobu vytahování implantátu).

Experimenty probíhají na hydraulickém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) v sestavě se silovým snímačem s rozsahem 2500 N (relativní chyba měření síly 0,3 %). Využití uvedené metodiky, která byla vyvinuta a validována v naší laboratoři, je uvedeno dále v textu u hodnocení adheze injekčně aplikovatelného porézního kostního cementu ke kosti (viz Kap. 6.7).

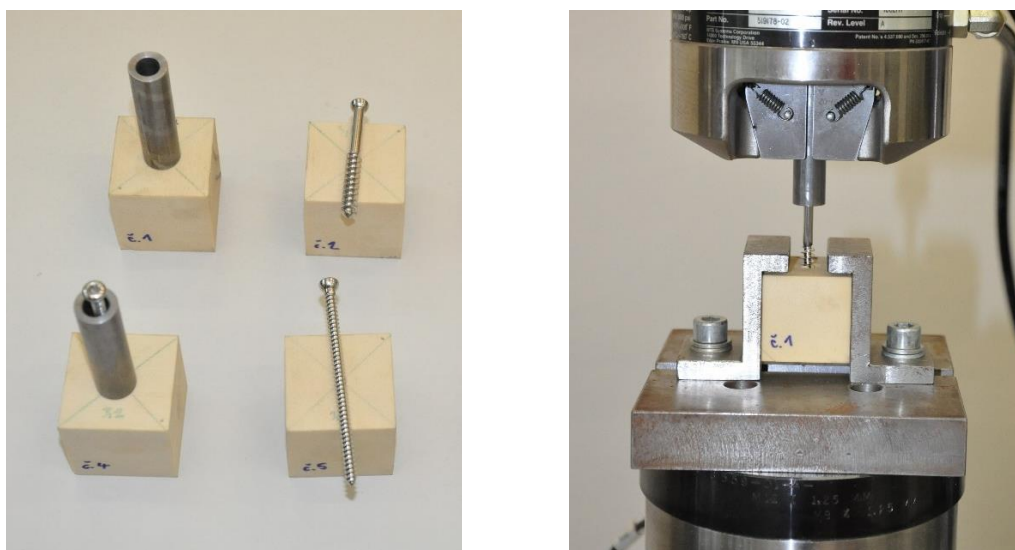
2.5.2.3 Vytrhávací zkoušky kotvicích kostních implantátů

Pro účel **hodnocení pevnosti ukotvení kostního implantátu** byla v naší laboratoři vyvinuta a validována **metodika vytrhávacích zkoušek** založených na jejich **vytahování z kosti**. Primárně je tato metodika určena pro hodnocení ukotvení implantátů používaných např. pro uchycení vazů při provádění plastiky předního zkříženého vazů (ligamentum cruciatum anterior). Na rozdíl od *pull-out* zkoušek popsanych v předchozí kapitole (viz Kap. 2.5.2.2) tato metodika pracuje s velkými klouby, a tudíž i většími silami, přípravky a způsobem uchycení vzorků i implantátů. Uvedenou metodiku je možné využít i pro hodnocení různých technických řešení implantátů při kotvení do bloků umělé kosti (např. Sawbones, USA).

Jedná se o statické zkoušky, k jejichž provádění byly zkonstruovány a vyrobeny speciální přípravky umožňující uchycení velkých kloubů se zavedeným a fixovaným kostním implantátem. Přípravky jsou značně variabilní, aby umožnily uchycení různých tvarů nativních kloubů (viz Obr. 2.20) nebo umělých kostních bloků (viz Obr. 2.21). Z obrázků je patrné uchycení pomocí dvou šroubů prostrčených do otvorů vyvrtaných v kosti a dále pak opřením dvou desek o kondyly (viz Obr. 2.20). Kotvicí kostní implantáty jsou zpravidla válcového nebo kuželového tvaru, většinou jsou opatřeny vnějším závitem. Některé mají speciální rozvírací systémy pro lepší uchycení v kostní tkáni. Po jejich zavedení a zafixování jsou pomocí kovového lanka nebo speciálního úchyty vytahovány konstantní rychlostí $10 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$. Využití této metodiky je uvedeno dále v textu u hodnocení pevnosti ukotvení kostních implantátů (viz Kap. 7.10).



Obr. 2.20 Vytrhávací zkoušky kotvicích kostních implantátů z kosti – sestava pro uchycení kosti ve speciálním přípravku na MTS Mini Bionix (vlevo), detail zavádění implantátu do hovězího femuru (vpravo). Foto autor.



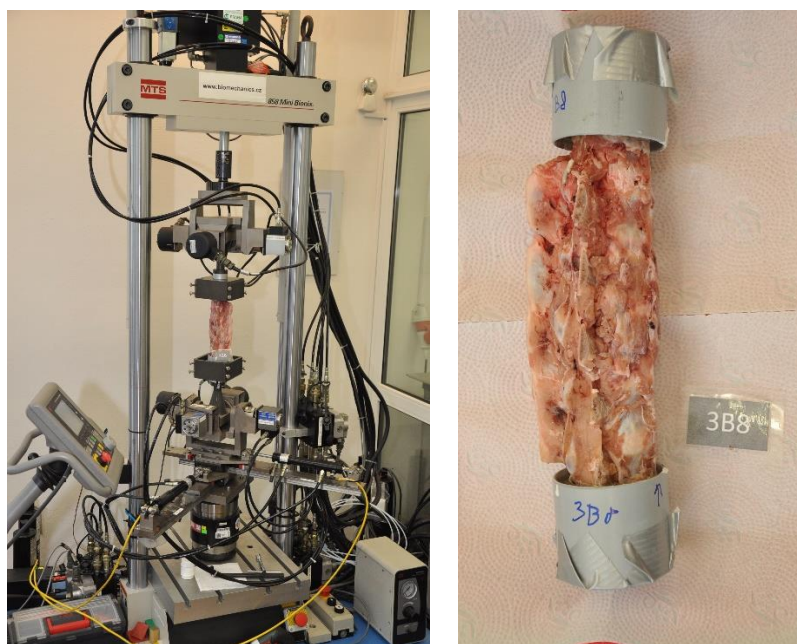
Obr. 2.21 Kotvící kostní implantáty upevněné v blocích umělé kosti Sawbones (vlevo), sestava pro vytrhávání na MTS Mini Bionix se speciálním přípravkem a horní hydraulickou čelistí (vpravo). Foto autor.

V průběhu zkoušky je zaznamenáván posuv tažného prvku testovacího systému a působící síla. Z pracovních diagramů závislosti aplikované síly na posunutí implantátu je vyhodnocena **maximální dosažená síla F** , **posunutí implantátu při této síle d** , **práce do vytažení** nebo destrukce **W** (plocha pod křivkou pracovního diagramu) a **účinnost μ** (podíl práce do vytažení a práce odpovídající maximální síle po celou dobu vytahování implantátu). Experimenty probíhají na hydraulickém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) v sestavě se silovým snímačem s rozsahem 2500 N, resp. 25 kN (relativní chyba měření síly 0,3 %, resp. 0,4 %).

2.5.2.4 Ohybová tuhost páteřních segmentů

Další metodikou, která byla plně vyvinuta v naší laboratoři a byla uplatněna v jedné z následujících kapitol práce (viz Kap. 6.8) je **hodnocení ohybové tuhosti páteře**. Poptávka po této metodice je spojena s vývojem implantátů pro využití např. při lumbální intervertebrální fúzi nebo při hodnocení dopadu různých spondylochirurgických operativních zákroků na mechanické vlastnosti páteře [46].

Princip mechanické zkoušky spočívá v zatěžování explantované páteře prostým ohybem, kdy je po celou dobu zatěžování eliminováno osově namáhání. Osová síla je testovacím systémem řízena na nulovou hodnotu. Testovací systém umožňuje volné natáčení a posuv horní části zatěžovaného segmentu páteře ve svislém směru. Konce testovaného segmentu páteře jsou zalaty technickým dentakrylem do přípravků, aby mohly být uchyceny v páteřním simulátoru (viz Obr. 2.22).



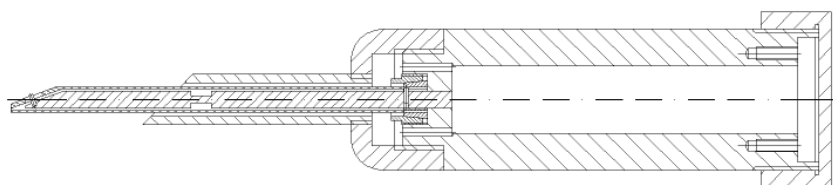
Obr. 2.22 Testovací systém MTS 858.2 Mini Bionix (MTS, USA) s unikátním speciálním páteřním simulátorem s 8 stupni volnosti pohybu pro kombinované zatěžování explantovaných páteří (vlevo), vzorek páteře s konci zalitými do přípravků pro uchycení při zkoušení (vpravo) [46].

Zkoušení vzorků páteřních segmentů probíhá na testovacím systému MTS 858.2 Mini Bionix (MTS, USA), jehož součástí je unikátní **speciální páteřní simulátor s 8 stupni volnosti pohybu**, který svojí konstrukcí umožňuje 3 kolmé posuvy a 5 nezávislých rotací a je primárně určen k testování páteří. K měření byl použit „tříosý“ **silový snímač 6DOF** 1160 N/580 N/25 N·m (ATI INDUSTRIAL AUTOMATION, USA), který svou konstrukcí umožňuje detekovat síly ve třech na sobě kolmých osách a k tomu i momenty působící k těmto osám (viz Obr. 2.22). Relativní chyba tohoto snímače zjištěná při kalibraci je 0,5 % měřené veličiny. Zatěžování probíhá konstantní rychlostí natočení $20^{\circ}\cdot\text{min}^{-1}$ do extenze (zpravidla do 40°) a následně do flexe (také do 40°). Poté je z naměřených dat a zpracovaného pracovního diagramu vyhodnocena **ohybová tuhost** a z maximálního zjištěného ohybového momentu potřebného k destrukci páteře je pak stanovena **ohybová pevnost**.

2.5.2.5 Příklad pro stanovení tuhosti kloubní chrupavky při artroskopii

Příkladem další vlastní vyvinuté metodiky a přístroje je řešení problematiky **měření tuhosti kloubní chrupavky přímo při artroskopii na operačním sále**. Za tímto účelem byla v naší laboratoři vyvinuta nová metodika a vyrobeno dotykové měřidlo. Jeho **princip** je založen na **ohybu dvou nosníků**, které jsou do sebe vzájemně zasunuty. Měřenou hodnotou je jejich deformace v ohybu, kde vzájemný poměr těchto deformací má vztah k tuhosti vyšetřované tkáně. Na vnitřním nosníku jsou dva tenzometry, které měří velikost jeho ohybové deformace a dotykový hrot, který je vtlačován do měřené tkáně. Vnější nosník tvaru trubičky o průměru 8 mm je přitlačován na tkáň konstantní silou a jsou na něm upevněny tři tenzometry, které jsou po obvodu trubičky rozloženy po 120° . Tyto tenzometry měří kromě velikosti ohybové deformace nosníku i směr stopy působícího ohybového momentu. Oba nosníky tvořící sondu jsou na jednom konci spolu pevně spojeny a upevněny do držadla (viz Obr. 2.23). Sonda musí

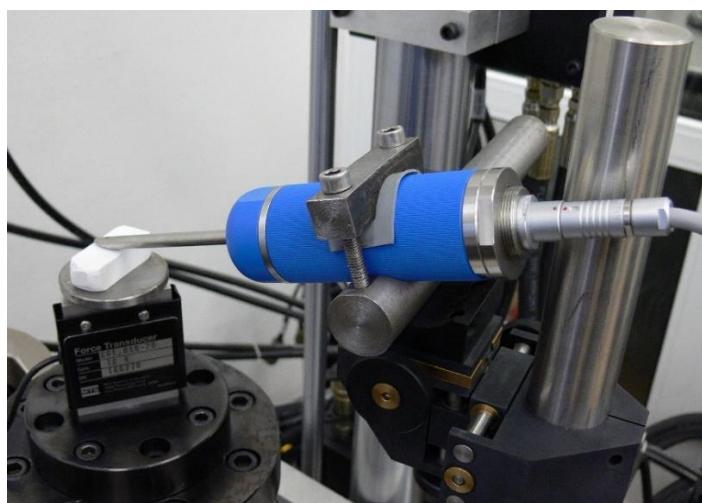
být sterilizovatelná, aby mohla být zavedena přes artroskopický vstup do kolenního kloubu. Pro zajištění stejných měřících podmínek je nutné dodržet zatížení vnějšího nosníku sondy konstantní silou 10 N. Měřené hodnoty jsou zobrazeny na displeji vyhodnocovací jednotky. Vyhodnocení probíhá na principu vzájemného porovnávání hodnot tuhosti reparované chrupavky v místě defektu se zdravou chrupavkou v okolí defektu, kdy naměřená hodnota zdravé chrupavky odpovídá 100 % [3].



Obr. 2.23 Konstrukční uspořádání nově vyvinutého dotykového měřidla pro měření tuhosti kloubní chrupavky při artroskopii na operačním sále [67].

Z důvodu bezpečnosti při manipulaci s měřícím zařízením je vnější nosník na konci zaoblen. Dále pro zamezení nežádoucího kontaktu vnějšího nosníku s okolní tkání během vyšetření byla na matici připevněna krytka, která jej chrání. Oba nosníky a dotykový hrot jsou vyrobeny z nerezové implantátové oceli; krytka, matice a držadlo z polyetheretherketonu (PEEK). Použité materiály jsou běžně dostupné v oblasti zdravotnických prostředků a splňují náročné standardy [67].

Součástí provozování nového měřidla a ověření funkčnosti bylo provedení kalibračních zkoušek, při kterých byly zjištěny tuhostní charakteristiky komponent měřidla a naladěny potřebné parametry. Kalibrace byla provedena na testovacím systému MTS Mini Bionix (MTS, USA) s pomocí speciálního kalibračního stojanu a citlivého snímače s rozsahem 10 N (viz Obr. 2.24). Toto konstrukční řešení bylo zaregistrováno na Úřadu průmyslového vlastnictví České Republiky jako **užitný vzor CZ16327** [68]. Dále byla funkce experimentálně ověřena ve spolupráci s doc. Podškubkou a jeho týmem z klinického pracoviště Fakultní nemocnice Bulovka, kde se zabývají problematikou transplantace kloubních chrupavek. Využití nově vyvinuté a validované metodiky a nového měřidla je popsáno v jedné z následujících kapitol (viz Kap. 4.5).



Obr. 2.24 Kalibrace nového dotykového měřidla pro měření tuhosti kloubní chrupavky; sestava MTS Mini Bionix s citlivým silovým snímačem s rozsahem 10 N a speciálním kalibračním stojanem [67].

2.5.3 Zkoušení zdravotnických prostředků

Provádění mechanických i dalších zkoušek v oblasti biomechaniky a určování důležitých vlastností materiálů a posuzování shody výrobků nabírá na významu s příchodem nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 2017/745 ze dne 5. dubna 2017 o zdravotnických prostředcích v platném změně, taktéž nazývaného *Medical Device Regulation (MDR)* [64]. Toto nařízení zcela zásadním způsobem mění zvyklosti a rozšiřuje požadavky na výrobce při posuzování shody zdravotnických prostředků.

Podmínky pro zkušební a kalibrační laboratoře definuje norma ČSN EN ISO/IEC 17025 Všeobecné požadavky na kompetenci zkušebních a kalibračních laboratoří [69]. Tento normativ stanovuje pravidla a požadavky na zdroje, procesy i návaznosti měřidel. Pro posuzování shody zdravotnických prostředků s nařízením [64] je po jejich výrobcích vyžadováno provádění potřebných zkoušek ve zkušebních laboratořích, které jsou držiteli osvědčení o akreditaci dle uvedeného normativu. Jediným subjektem, který je oprávněn udělit akreditaci zkušební laboratoři na území České republiky je národní akreditační orgán Český institut pro akreditaci, o.p.s. (ČIA) se sídlem v Praze.

Pro doplnění této kapitoly je vhodné uvést, že Laboratoř mechanických zkoušek, ve které probíhaly všechny experimenty zmiňované v této práci, byla akreditována již v roce 2002. Autor stál u zrodu laboratoře a aktuálně je jejím vedoucím. Primárním zaměřením zkoušek v rozsahu akreditace jsou zkoušky implantabilních zdravotnických prostředků, jako jsou dentální, kyčelní a kolenní náhrady, dále pak zkoušky neimplantabilních zdravotnických prostředků jako jsou různé pomůcky pro chůzi nebo zkoušky speciálních keramik využívaných pro výrobu implantátů.

3 Zkoušení pevných tkání

3.1 Úvod

Pevné tkáně v lidském těle zastupují především kosti a mají klíčovou roli v muskuloskeletálním systému. Jedná se o mineralizované pojivové tkáně, které jsou stěžejními částmi kostry a také chrání různé orgány před mechanickým zatížením. Jsou to však nehomogenní anizotropní kompozitní materiály s pozoruhodnou hierarchickou architekturou, kterou tvoří měkký kolagenový protein a tužší minerál apatit. Funkčnost kostní tkáně v těle souvisí s tuhostí, která je přímo určena přirozeným obsahem minerálů. Hlavními dvěma strukturními částmi kosti je kompaktní (kortikální) kostní tkáň a spongiózní (trabekulární) kostní tkáň, které mají zcela odlišné mechanické vlastnosti [70], [19], [28].

Obsah minerálních látek dlouhých kostí je vyšší než 20 %, což umožňuje kosti absorbovat energii a udržuje ji lehkou pro snadnou pohyblivost. Kostní tkáň je dynamicky udržována prostřednictvím dvou procesů – modelování a remodelace, díky nimž dochází i k obnově kostí při zlomeninách. V procesu modelování se nová kostní tkáň tvoří bez předchozí resorpce kosti, zatímco v procesu remodelace kosti následuje tvorba kosti po její resorpci. Kostní remodelace probíhá během růstu a dochází při ní ke změně tvaru a velikosti. Umožňuje tak zvýšení odolnosti vůči zatížení a adaptaci na měnící se směry zatížení. Na druhé straně kostní remodelace je celoživotní proces, který začíná v časném fetálním životě a udržuje kostní funkce neustálým nahrazováním poškozené tkáně novou kostí. Uvádí se, že každý rok je odstraněno a nahrazeno asi 25 % trabekulární kosti a 3 % kortikální kosti [71], [72], [73].

Mechanické vlastnosti kostní tkáně ovlivňují také hormonální procesy probíhající v lidském těle. V případě hodnocení osteoporózy a vzniku zlomenin je popis vlastností kosti nevyhnutelným krokem pro popis vzniku onemocnění nebo zhodnocení úspěšnosti terapie, stejně tak při zjišťování příčin selhání implantovaných náhrad [74].

Proto jsou další kapitoly věnovány zkušenostem autora se stanovováním mechanických vlastností kostí při různých podmínkách, např. s hodnocením vlivu omezení funkčnosti svalových partií nebo vlivu hormonálních terapií a různých hormonálních disbalancí anebo působení látek jako je nikotin nebo alkohol na mechanické vlastnosti kostí. Pozornost je rovněž věnována vlivu fixace zlomenin kostí a srovnání vlastností zjištěných z hlediska makro nebo mikromechaniky.

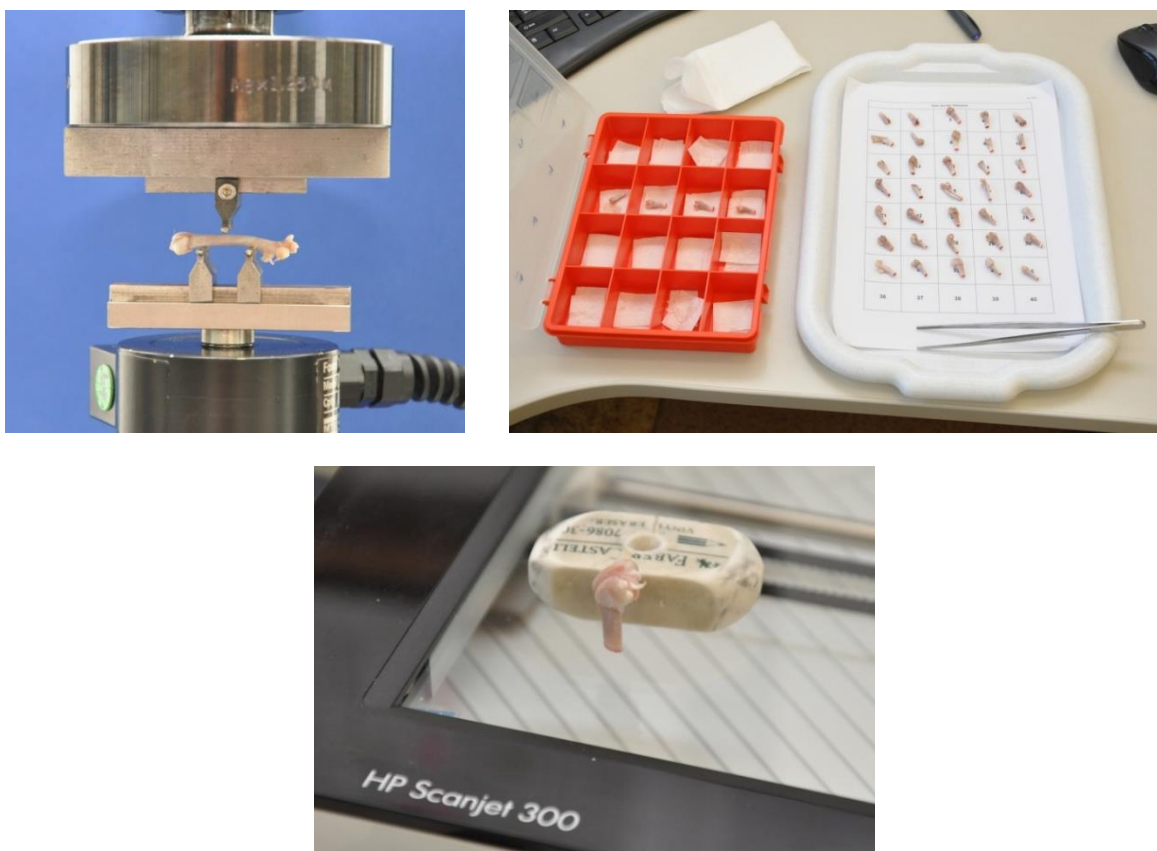
3.2 Vliv hormonální terapie na pevnost kostí

Osteoporóza je systémové onemocnění skeletu charakterizované zhoršenou mechanickou odolností kostí, která je způsobena změnami množství a kvality kostní hmoty a zvyšuje riziko zlomenin. Bisfosfonáty jsou léky, které inhibují ztrátu kostní hmoty snížením její resorpce. V současné době jsou bisfosfonáty jednou z neúčinnějších skupin léků určených k prevenci a terapii postmenopauzální osteoporózy. Tím, že bisfosfonáty potlačují remodelaci kostí, mohou také bránit opravě mikropoškození a snižovat pevnost kostí. Zjišťování mechanických vlastností kostí je důležitým nástrojem pro hodnocení funkčního významu změn v kostní hmotě a architektuře. Mechanické vlastnosti kosti nezávisí pouze na mineralizaci, ale

také na organizaci a mikroskopické struktuře kostního materiálu. Ke ztrátě pevnosti kostí může dojít v důsledku změn v prostorové distribuci kostního materiálu bez ztráty kostní tkáně nebo změn ve složení popela [74], [75], [27], [76].

Ve spolupráci s prof. Broulíkem a jeho týmem z 3. Lékařské fakulty Univerzity Karlovy byla proto realizována studie zaměřená na zjištění vlivu podávané medikace – aminobisphosphonate alendronate a sodium alendronate – na změny mechanických vlastností kosti po provedené kastraci potkanů. Bylo sledováno 24 potkanů a vyhodnocena **pevnost kostí při tříbodovém ohybu**, kostní densita a obsah vápníku a fosfátů v kosti.

V naší laboratoři byla stanovena pevnost při statické ohybové zkoušce očištěných potkaních femurů při tříbodovém ohybu za konstantní rychlosti zatěžování $2,0 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$, kdy byla vyhodnocena maximální dosažená síla (metodika viz Kap. 2.1.2.1). Zkoušky jsme prováděli na testovacím systému MTS Mini Bionix (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 500 N (relativní chyba měření síly 0,2 %). Úpravou femurů, následným skenováním řezu femuru a provedením obrazové analýzy a výpočtů byl zjištěn průřezový modul v ohybu a s jeho využitím pak pevnost kosti. Úprava femurů spočívala v jejich zařiznutí kolmo na osu kosti a poté obarvení řezu. Ke skenování byl použit standardní stolní skener HP Scanjet 300 (HEWLETT-PACKARD, USA) s rozlišením 1200 dpi, tj. velikost pixelu $21 \times 21 \mu\text{m}$ (viz Obr. 3.1). Barevný obrázek byl převeden na binární a dále byl zpracován procedurou v prostředí MATLAB (MathWorks, USA). Zjištěné hodnoty jsou přehledně uvedeny v tabulce níže (viz Tab. 3.1) [1].



Obr. 3.1 Potkaní femur umístěný před zatížením v přípravku pro tříbodový ohyb na testovacím systému MTS Mini Bionix (vlevo nahoře), zlámané femury připravené na skenování (vpravo nahoře), digitalizace obarveného průřezu femuru pro zjištění jeho charakteristiky na skeneru (dole). Foto autor.

Důležitý byl také způsob uchování vzorků, kdy po odběru a očištění od měkkých tkání byly vzorky kostí zabaleny do gázy napuštěné ve fyziologickém roztoku a poté zamražené. Před zahájením experimentů byly v předstihu 24 hodin vzorky vloženy do fyziologického roztoku a ponechány při pokojové teplotě (cca 22 °C).

Tab. 3.1 Parametry získané vyhodnocením studie vlivu podávání alendronátů na pevnost kostí realizované na skupinách potkanů [1].

	Controls <i>n</i> = 8	Castrated <i>n</i> = 8	Castrated + alendronate <i>n</i> = 8
Initial body weight (g)	190 ± 5.1	192 ± 4.0	193 ± 3.2
Final body weight (g)	336 ± 3.1	321 ± 4.2	331 ± 5.1
Tibia dry weight (mg)	470 ± 16	424 ± 10 *	467 ± 18
Tibia volume (μl)	306 ± 10	303 ± 11	303 ± 13
Density of tibia (g/ml)	1.498 ± 0.03	1.280 ± 0.02 *	1.499 ± 0.08
Tibia ash content (g/ml)	0.901 ± 0.07	0.790 ± 0.06 *	0.920 ± 0.09
Tibia calcium (mg/ml)	342 ± 5	300 ± 7 *	349 ± 8
Tibia phosphate (mg/ml)	150 ± 4	132 ± 6 *	153 ± 5
Bone strength (N/mm ²)	216.7 ± 13.4	188.3 ± 12.1 *	201.6 ± 14.3
Seminal vesicles (mg/100 g BW)	156.6 ± 20	3.73 ± 0.4 *	3.83 ± 0.6 *
Bone-ALP (μkat/l)	0.74 ± 0.10	1.15 ± 0.12 *	0.42 ± 0.1 *
Tartrate ACP (μkat/l)	0.42 ± 0.05	0.63 ± 0.1 *	0.22 ± 0.03 *
Calcium (mmol/l)	2.4 ± 0.15	2.28 ± 0.13	2.39 ± 0.1
Phosphate (mmol/l)	1.22 ± 0.15	1.29 ± 0.12	1.20 ± 0.1

Data expressed as means ± SD; * *p* < 0.05 vs. intact animals

Hodnocením mechanických vlastností jsme **prokázali statisticky významné snížení ohybové pevnosti kostí po provedené kastraci o 13 %** (*p* < 0,05). Pevnost kostí kontrolní skupiny byla 216,7 ± 13,4 MPa (*n* = 8), kdežto pevnost kostí skupiny po kastraci byla 188,3 ± 12,1 MPa (*n* = 8). **Podáním látky alendronate došlo ke zmírnění poklesu ohybové pevnosti kostí** na 201,6 ± 14,3 MPa (*n* = 8), i když tato změna nebyla vyhodnocena jako statisticky významná (*p* > 0,05) [1].

3.3 Mechanické parametry kosti po expozici nikotinu

Tabák, který obsahuje nikotin jako hlavní farmakologicky aktivní chemickou látku, byl identifikován jako rizikový faktor pro rozvoj osteoporózy a zvýšení rizika zlomeniny kostí [77], [78], [79]. Proto byla ve spolupráci s prof. Broulíkem a jeho týmem z 3. Lékařské fakulty Univerzity Karlovy realizována studie zaměřená na zjištění vlivu expozice nikotinu na vlastnosti kostí. Ve skupině 32 samců potkanů kmene Wistar ve věku dvou měsíců byly provedeny kastrace a simulace tak, aby bylo možné vyhodnotit účinky dlouhodobého čtyřměsíčního podávání nikotinu v pitné vodě (9,0 mg / kg / den). V naší laboratoři jsme provedli zkoušky **pevnosti kostí při tříbodovém ohybu** (metoda viz Kap. 2.1.2.1) na očištěných potkaních femurech na testovacím systému MTS Mini Bionix (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 500 N (relativní chyba měření síly 0,2 %). Dále pak byla analyzována kostní densita, obsah vápníku a fosfátů v kostech. Detailní postup zkoušky včetně zpracování získaných dat byl totožný s metodikou popsanou v předchozí kapitole (viz Kap. 3.2).

Tab. 3.2 Výsledky analýz prokazující negativní vliv dlouhodobé expozice nikotinu na obsah vápníku a fosfátů v kostech, hustotu kosti a také na pevnost femurů [4].

	Controls n = 8	Castrated n = 8	Controls + nicotine n = 8	Castrated + nicotine n = 8
Initial body weight (g)	198 ± 6.2	204 ± 4	195 ± 7	201 ± 6
Final body weight (g)	342 ± 5.2	348 ± 7	334 ± 6	338 ± 7
Tibia dry weight (mg)	485 ± 14	410 ± 12 *	414 ± 10 *	401 ± 6 *
Tibia volume (μl)	309 ± 9	305 ± 10	306 ± 7	303 ± 10
Density of tibia (g/ml)	1.504 ± 0.03	1.238 ± 0.02 *	1.278 ± 0.03 *	1.200 ± 0.02 *
Tibia ash content (g/ml)	0.980 ± 0.07	0.840 ± 0.05 *	0.842 ± 0.08 *	0.830 ± 0.05 *
Tibia calcium (mg/ml)	352 ± 6	311 ± 7 *	306 ± 7 *	299 ± 6 *
Tibia phosphate (mg/ml)	156 ± 5	140 ± 7 *	141 ± 8 *	130 ± 8 *
Bone strength (N/mm ²)	212.3 ± 7.7	194.3 ± 3.6 *	185.2 ± 4.2 *	193.7 ± 5.4 *
Seminal vesicles (mg/100 g BW)	159 ± 18	3.80 ± 0.4 *	162 ± 20	3.82 ± 0.6 *
Bone-ALP (μkat/l)	0.78 ± 0.1	1.15 ± 0.11 *	1.1 ± 0.10 *	1.00 ± 0.10 *
Tartrate ACP (μkat/l)	0.44 ± 0.04	0.68 ± 0.10 *	0.72 ± 0.1 *	0.76 ± 0.05 *
Calcium (mmol/l)	2.4 ± 0.1	2.5 ± 0.2	2.4 ± 0.1	2.4 ± 0.2
Phosphate (mmol/l)	1.2 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.22 ± 0.1	1.22 ± 0.2
U-cotinine (ng/ml)	ND	ND	1850 ± 123	1921 ± 178

* Data expressed as means ± SD; * p < 0.01 vs. intact animals; ND = not determined

Výsledky rozsáhlých analýz jsou uvedeny v tabulce (viz Tab. 3.2) a mimo jiné ukázaly, že kosti kastrovaných potkanů byly charakterizovány snížením kostní density a také obsahem vápníku a fosfátů. **Kastrace významně změnila mechanické vlastnosti kosti** a tloušťky kosti. **Došlo k poklesu ohybové pevnosti o 8,5 %** (212,3 ± 7,7 MPa vs. 194,3 ± 3,6 MPa; n = 8, p < 0,01). Poté co byly vysoké dávky nikotinu podány intaktním potkanům, **měl nikotin negativní účinek** na hustotu tibiální kosti a také na obsah vápníku a fosfátů a významně změnil mechanické vlastnosti kosti a tloušťku kortikální kosti femuru ve srovnání s intaktními zvířaty. **Ohybová pevnost poklesla o 13 %** na 185,2 ± 4,2 MPa (n = 8). Ztráta kostní hmoty vyvolaná nikotinem byla také prokázána (zvýšeným TrACP a B-ALP). Na rozdíl od toho podání vysoké dávky nikotinu skupině kastrovaných potkanů již nezpůsobilo změny hustoty kostí vyplývající z kastrace a ohybová pevnost této skupiny byla 193,7 ± 5,4 MPa. Námi zjištěné a dokumentované změny mechanických vlastností tedy potvrdily **nepříznivý účinek vysokých dávek nikotinu na ohybovou pevnost kostí** a podpořily **hypotézu nikotinu jako rizikového faktoru pro osteoporózu** [4], [80], [81].

3.4 Účinek dlouhodobé konzumace alkoholu na pevnost kosti ve zvířecím modelu

Dlouhodobá konzumace alkoholu způsobuje sekundární osteoporózu. Užívání alkoholu je spojené se zvýšeným rizikem zlomenin a výskytem komplikací při hojení zlomenin. Dochází ke změnám v kostní struktuře detekovaným histomorfometrií a také k poklesu obsahu kostních minerálů. Mladší alkoholici bez dalších nemocí mohou trpět zvýšeným rizikem rozvoje nízké kostní minerální hustoty. Ačkoliv vztah mezi požitím alkoholu a onemocněním kostí je evidentní, mechanismus, kterým alkohol indukuje osteoporózu však zůstává nejasný [82], [83], [84], [85].

Proto byla ve spolupráci s prof. Broulíkem a jeho týmem z 3. Lékařské fakulty Univerzity Karlovy provedena experimentální studie na skupině 16 samců potkanů kmene Wistar ve věku dvou měsíců. Osm z nich bylo krmeno tak, aby bylo možné vyhodnotit účinky dlouhodobého

tříměsíčního podávání alkoholu v pitné vodě (7,6 g 95% etanol / kg živé hmotnosti denně). Dalších osm potkanů představovalo intaktní skupinu. Použili jsme dávku alkoholu, která je považována za srovnatelnou s dávkou 1 litru vína nebo 2,5 litru 12° piva požívaného dospělým mužem denně. Zkoušky **pevnosti kostí při tříbodovém ohybu** (metoda viz Kap. 2.1.2.1) jsme provedli v naší laboratoři na očištěných potkaních femurech na testovacím systému MTS Mini Bionix (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 500 N (relativní chyba měření síly 0,2 %). Dále pak byla analyzována kostní hustota, obsah popela, vápníku a fosfátů v kostech. Detailní postup zkoušky včetně zpracování získaných dat byl totožný s metodikou popsanou v kapitole výše (viz Kap. 3.2).

Tab. 3.3 Výsledky analýz prokazující negativní vliv dlouhodobé konzumace alkoholu na obsah vápníku a fosfátů v kostech, hustotu kosti a také na pevnost femurů [5].

	Controls <i>n</i> = 8	Alcohol <i>n</i> = 8
Initial body weight (g)	220 ± 4.2	210 ± 5
Final body weight (g)	302 ± 5.2	290 ± 7
Femur dry weight (mg)	407 ± 17	357 ± 16 *
Femur volume (μl)	379 ± 9	382 ± 15
Density of femur (g/ml)	1.620 ± 0.03	1.480 ± 0.04 *
Femur ash content (g/ml)	0.734 ± 0.07	0.645 ± 0.06 *
Femur calcium (mg/ml)	278 ± 11	245 ± 7 *
Femur phosphate (mg/ml)	123 ± 5	106 ± 7 *
Bone strength (N/mm ²)	178.0 ± 3.2	158.0 ± 5.6 *
Seminal vesicles (mg/100 g BW)	232 ± 18	229 ± 0.4
Bone-ALP (μkat/l)	7.4 ± 0.16	6.4 ± 0.58 *
Tartrate ACP (μkat/l)	0.44 ± 0.04	0.60 ± 0.10 *
Calcium (mmol/l)	2.4 ± 0.1	2.5 ± 0.2
Phosphate (mmol/l)	1.2 ± 0.1	1.3 ± 0.1
AST (μkat/l)	3.1 ± 1.1	3.6 ± 1.0

* Data expressed as means ± SD; * *p* < 0.01 vs. intact animals

Výsledky provedených analýz jsou uvedeny v tabulce (viz Tab. 3.3). Vyplývá z nich, že **vlivem tříměsíční nadměrné konzumace alkoholu došlo ke statisticky významnému snížení ohybové pevnosti potkaních femurů o 11 %** ve srovnání s kontrolní skupinou (158 ± 5,6 MPa vs. 178 ± 3,2 MPa; *n* = 8, *p* < 0,01) a bylo doprovázeno snížením minerální kostí density o 10 % [86]. Současně bylo zjištěno snížení obsahu vápníku a fosfátů a také to, že alkohol způsobil úbytek kortikální kostní hmoty. Histomorfometrické studie ukázaly, že došlo k významnému snížení kortikální tloušťky stehenní kosti. V našem experimentu neměl samotný alkohol žádný antiandrogenní účinek a nevedl ke změnám hmotnosti semenných váčků. Test jaterních funkcí (GGT, ALP, AST) se u potkanů krmených alkoholem a kontrolních potkanů nelišil. Úbytek kostní hmoty způsobený alkoholem je spojen se zvýšenou kostní resorpcí a sníženou tvorbou kostní hmoty. Výsledky provedených experimentů lze interpretovat jako podporu **hypotézy alkoholu jako rizikového faktoru pro osteoporózu** [5].

3.5 Vliv onemocnění štítné žlázy na pevnost kostí

Hypertyreóza, nadměrná produkce hormonu tyroxinu a trijodtyroninu štítnou žlázou, má negativní vliv na kostní minerální hustotu. Histomorfometrické studie ukázaly, že hormony štítné žlázy stimulují osteoblastické a osteoklastické aktivity v kortikální a trabekulární kosti.

Přebytek hormonů štítné žlázy vede ke zrychlení metabolismu a rychlost resorpce kostí převyšuje rychlost tvorby kostí, což vede ke snížení kostní hmoty. Několik průřezových studií prokázalo, že tyreotoxikóza, což je onemocnění způsobené hypertyreózou, vede ke snížení kostní density a je tedy rizikovým faktorem pro osteoporózu [87], [88], [89]. Na rozdíl od toho estrogény jsou obecně považovány za látky potlačující úbytek kostí a chránící kostru před resorpčním účinkem parathormonů. Estrogény jsou jakožto silné inhibitory kostní resorpce účinně používány při léčbě kostních onemocnění, jako je postmenopauzální osteoporóza. Výsledky klinických studií a studií na zvířatech naznačují, že estrogen může být obecně účinný také při prevenci úbytku kostní hmoty [90], [91].

Proto byla ve spolupráci s prof. Broulíkem a jeho týmem z 3. Lékařské fakulty Univerzity Karlovy realizována studie zaměřená na zjištění vlivu expozice organismu dávčkám trijodtyroninu, který simuluje tyreotoxikózu s resorpcí kostní hmoty a dále pak vliv expozice dávčkám estradiolu (estrogenu), který by měl úbytku kostní hmoty naopak bránit. Skupina 32 samců potkanů Wistar byla rozdělena do čtyř částí a podrobena kromě mechanických zkoušek také morfometrickým a dalším analýzám pro zjištění kostní density, obsahu vápníku a fosfátů v kostech. Zkoušky **pevnosti kostí při tříbodovém ohybu** (metoda viz Kap. 2.1.2.1) jsme v naší laboratoři provedli na očištěných potkaních femurech na testovacím systému MTS Mini Bionix (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 500 N (relativní chyba měření síly 0,2 %). Detailní postup zkoušky včetně zpracování získaných dat byl totožný s metodikou popsanou v kapitole výše (viz Kap. 3.2).

Výsledky rozsáhlých analýz jsou uvedeny v tabulce (viz Tab. 3.4) a mimo jiné ukázaly, že **Estradiol**, estrogen používaný u lidí k léčbě osteoporózy, snížil hmotnost semenných váčků a koncentraci testosteronu, ale zvýšil hustotu kostí u samců potkanů ve srovnání s intaktními zvířaty. U těchto potkanů biomechanická analýza **odhalila statisticky významné zvýšení pevnosti v ohybu stehenní kosti o 15 %** ve srovnání s kontrolní intaktní skupinou ($175,5 \pm 9,3$ MPa vs. $152,9 \pm 8,9$ MPa; $n = 8$, $p < 0,01$). Když byli samci potkanů s hypertyreózou, která byla navozena podáváním trijodtyroninu a potvrzena sníženou kostní hustotou, léčení estradiolem, bylo zcela zabráněno změnám v kostní densitě způsobené hypertyreózou. Estrogen chránil mužskou kostru před resorpčním působením trijodtyroninu [92].

Tab. 3.4 Výsledky analýz hodnotících vliv účinků hormonů Estradiol a Trijodtyronin na pevnost femurů a také na minerální skladbu a hustotu kosti [92].

	Controls <i>n</i> = 8	Estradiol <i>n</i> = 8	Triiodothyronine <i>n</i> = 8	Estradiol + Triiodothyronine <i>n</i> = 8
Initial body weight (g)	193 ± 4.1	190 ± 5.1	192 ± 4.2	193 ± 3.3
Final body weight (g)	258 ± 3.1	166 ± 4.2 *	217 ± 3.2	150 ± 5.1 *
Femur dry weight (mg)	348 ± 17	355 ± 18	324 ± 16 *	338 ± 15
Femur volume (μl)	333 ± 12	338 ± 20	332 ± 11	335 ± 17
Density of femur (g/ml)	1.420 ± 0.03	1.458 ± 0.04 *	1.302 ± 0.07 *	1.412 ± 0.06
Femur ash content (g/ml)	0.628 ± 0.07	0.645 ± 0.06 *	0.562 ± 0.05 *	0.619 ± 0.07
Femur calcium (mg/ml)	238 ± 11	245 ± 8 *	213 ± 7 *	232 ± 10
Femur phosphate (mg/ml)	106 ± 4.2	104 ± 3.8	95.5 ± 3.8 *	104 ± 4
Triiodothyronine (total) (nmol/l)	1.55 ± 0.1	1.62 ± 0.4	15.3 ± 1.6 *	16.2 ± 2.7 *
Bone strength (N/mm ²)	152.9 ± 8.92	175.5 ± 9.34 *	148.0 ± 5.36	159.1 ± 11.3
Seminal vesicles (mg/100 g BW)	199 ± 20	92 ± 12 *	178 ± 32	89 ± 10 *
S. testosterone (nmol/l)	23.0 ± 4.1	4.02 ± 1.2 *	22.6 ± 3.9	4.16 ± 1.6 *

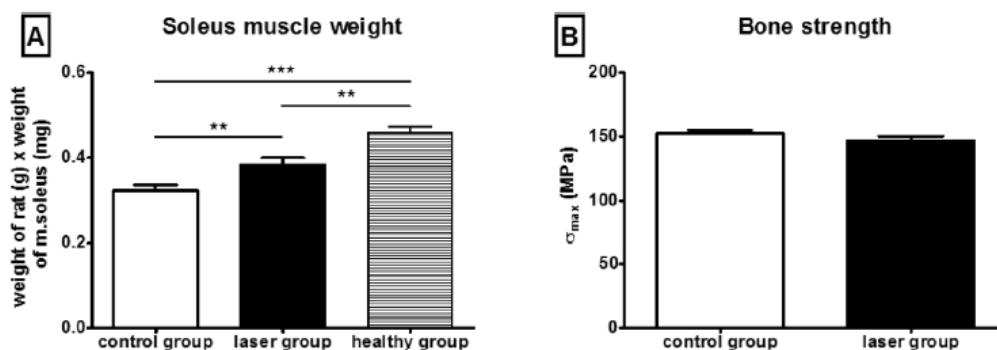
Data expressed as means ± SD; * $p < 0.01$ vs. intact animals

Po léčbě hypertyreózy u samců potkanů estradiolem nedošlo ke snížení ohybové pevnosti kostí, ani ke snížení tloušťky kortikální kosti femuru. Pevnost v ohybu femurů byla stanovena na $159,1 \pm 11,3$ MPa [93]. Naše výsledky potvrzují, že podávané estrogény mohou mít terapeutickou hodnotu v prevenci úbytku kostní hmoty doprovázející podávání trijodtyroninu. Estradiol zvýšil minerální hustotu kostí, ohybovou pevnost femurů a tloušťku kortikální kosti femurů i přes nízkou hladinu testosteronu v plazmě.

3.6 Účinky laserové terapie po poranění míchy na mechanické vlastnosti potkaních femurů

Traumatické poranění míchy je oslabující stav, který má převážně obrovské celoživotní následky. Mechanické trauma míchy může být vyvoláno kompresí nebo pohmožděním. Počáteční primární poranění také způsobuje mechanické narušení cévního systému míchy, což má za následek vazokonstrikci (stažení cév) následovanou hypoperfuzí (sníženým prokrvením tkáně), ischemií (nedokrevností), krvácením a otoky. Na životy poraněných pacientů mají vliv senzomotorické funkční deficity, dysfunkce autonomního systému a neuropatická bolest. Také se u nich často vyvinou následné komplikace včetně kardiovaskulárních nemocí, svalová atrofie a osteoporózy [94], [95], [96].

Proto jsme ve spolupráci s MUDr. Machovou Urdžíkovou a jejím týmem z Ústavu experimentální medicíny AV ČR zkoumali účinek laserové terapie označované jako *Multiwave Locked System* na potkaní míchu po jejím poranění. Laserový účinek spočívá v aplikaci současné nepřetržité emise o vlnové délce 808 nm a pulzní emise o vlnové délce 905 nm. Funkční zotavení bylo měřeno lokomotorickými testy (BBB, BEAM WALKING, MOTORATER) a testem citlivosti (Plantar test). **Pevnost kostí při tříbodovém ohybu** (metoda viz Kap. 2.1.2.1) jsme v naší laboratoři zjišťovali na očištěných potkaních femurech na testovacím systému MTS Mini Bionix (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 500 N (relativní chyba měření síly 0,2 %). Detailní postup zkoušky včetně zpracování získaných dat byl totožný s metodikou popsanou v kapitole výše (viz Kap. 3.2). Experimentální studie byla provedena na 26 potkanech kmene Wistar, kontrolní skupina obsahovala 11 zvířat, laserovou terapií bylo ošetřeno 15 zvířat a intaktní skupina měla 8 zdravých zvířat.



Obr. 3.2 Účinek laserové terapie světla o vlnové délce 808 nm a 905 nm na ohybovou pevnost femurů (B) a snížení svalové atrofie potkanů (A) (kontrolní skupina n = 11, laserová skupina n = 15, intaktní zdravá skupina n = 8, *p < 0,05) [12].

Pohybové testy ukázaly významné zlepšení pohybových funkcí potkanů po laserovém ošetření od prvního týdne po poškození ve srovnání s kontrolami. Laserové ošetření významně

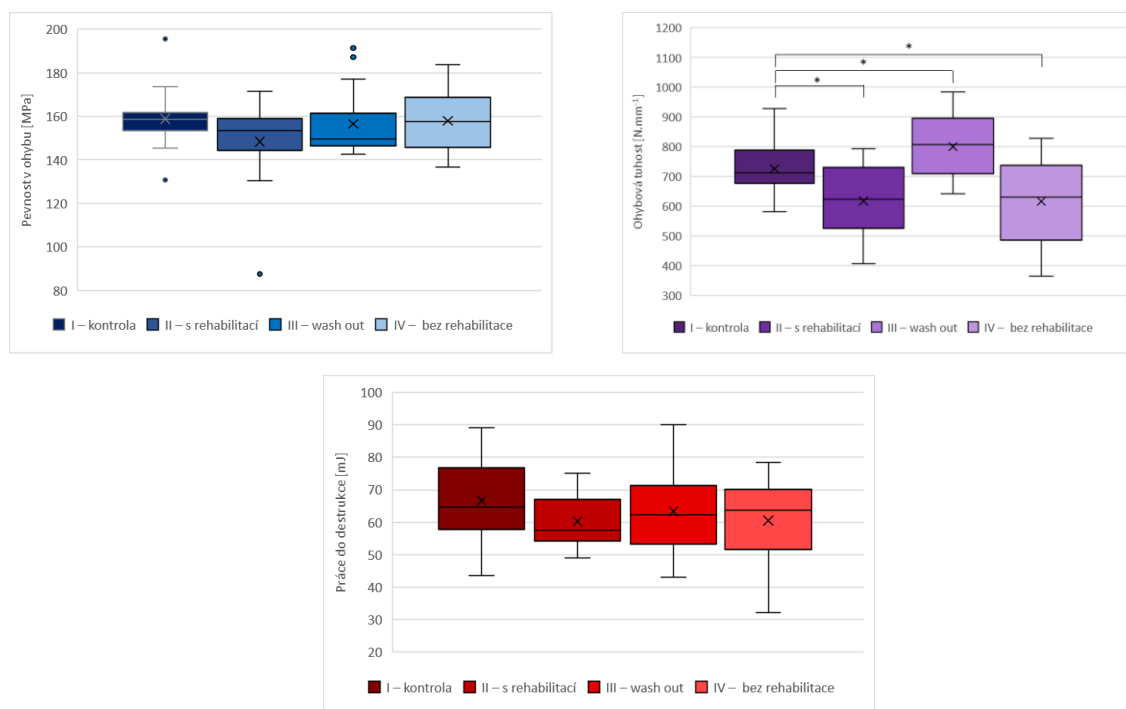
snížilo termální hyperalgezi (zvýšenou citlivost na bolest), jak bylo měřeno Plantárním testem. U laserem léčených potkanů byla prokázána snížená atrofie trojhlavého svalu lýtkového (viz Obr. 3.2). Navzdory těmto zjištěním **biomechanická analýza neprokázala statisticky významné změny pevnosti v ohybu femurů potkanů léčených laserovou terapií ve srovnání s kontrolní skupinou** (147 ± 18 MPa vs. 152 ± 11 MPa; $n = 15$ a 11 , $p > 0,05$). Provedené analýzy však ukázaly, že **kombinace světla o vlnové délce 808 nm a 905 nm je slibnou neinvazivní terapií pro zlepšení funkční obnovy a ošetření tkáně po traumatickém poranění míchy** [12].

3.7 Inhibitory perineuronálních sítí a jejich vliv na pevnost kostí

Traumatické poranění míchy (SCI, *spinal cord injury*) je velmi závažná událost, kterou každoročně utrpí více než 250 000 lidí. Primární poranění je zpravidla destruktivní povahy po počátečním nárazu a následném působení smykových a kompresních sil, které poškozují křehkou nervovou tkáň. Kaskáda procesů, jako jsou otoky, peroxidace lipidů, záněty a excitotoxicita způsobují velmi vážná poškození míchy. V současné době neexistuje žádná regenerativní léčba SCI. Ukazuje se však, že pro regeneraci v nervovém systému dospělých jedinců jsou velmi důležité perineuronální sítě (PNN). Jedná se o agregované maticové struktury přítomné na povrchu neuronů odpovědné za synaptickou stabilizaci v mozku. PNN hrají zásadní roli během postnatálního vývoje jedince a při uzavírání kritického období dětství. Jejich činnost však může způsobit obnovenou kritickou periodu podobnou synaptické plasticitě (neuroplasticitě) v mozku dospělého jedince [97], [98], [99].

Proto byla ve spolupráci s MUDr. Machovou Urdzíkovicou a jejím týmem z Ústavu experimentální medicíny AV ČR provedena studie, kdy byly inhibitory perineuronálních sítí (PNNI) podávány skupinám potkanů a dopady na jejich vývoj a tkáně byly sledovány. V naší laboratoři byly zkoumány vlivy na mechanické vlastnosti kostí, a proto byly provedeny ohybové zkoušky na 62 ks potkaních femurů rozdělených do 4 skupin. Kontrolní intaktní skupina byla zastoupena 20 femury (I). Skupina potkanů po aplikaci inhibitorů PNNI po dobu 10 týdnů a současně rehabilitující každý den na běhacím pásu skýtala 14 femurů (II), stejný počet představovala skupina, která se lišila pouze absencí rehabilitace (IV). Poslední skupina „PNNI wash out“ měla 14 femurů (III) a reprezentuje stav potkanů s odstupem 9 týdnů po podávání PNNI. Další analýzy spočívající v hodnocení vlivu PNNI na mechanické vlastnosti šlach a kůží potkanů jsou uvedeny v následujících kapitolách (viz Kap. 4.3 a 4.4).

Femury očištěné od měkkých tkání jsme zatěžovali na testovacím systému MTS Mini Bionix (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 500 N (relativní chyba měření síly 0,2 %). U všech testovaných femurů byla stanovena **pevnost při tříbodovém ohybu** jako hlavní parametr hodnotící mechanické vlastnosti kosti (metoda viz Kap. 2.1.2.1), dále pak **ohybová tuhost kosti a práce do destrukce kosti** (energie potřebná ke zlomení). Detailní postup zkoušky včetně zpracování získaných dat byl totožný s metodikou popsanou v kapitole výše (viz Kap. 3.2).



Obr. 3.3 Vliv inhibitorů perineuronálních sítí na pevnost v ohybu femurů (vlevo nahoře), ohybovou tuhost (vpravo nahoře) a práci do destrukce kosti (dole) - kontrolní skupina (I) $n = 20$, skupina PNNI s rehabilitací (II) $n = 14$, skupina „PNNI wash out“ (III) $n = 14$, skupina PNNI bez rehabilitace (IV) $n = 14$; $*p < 0,05$ [100].

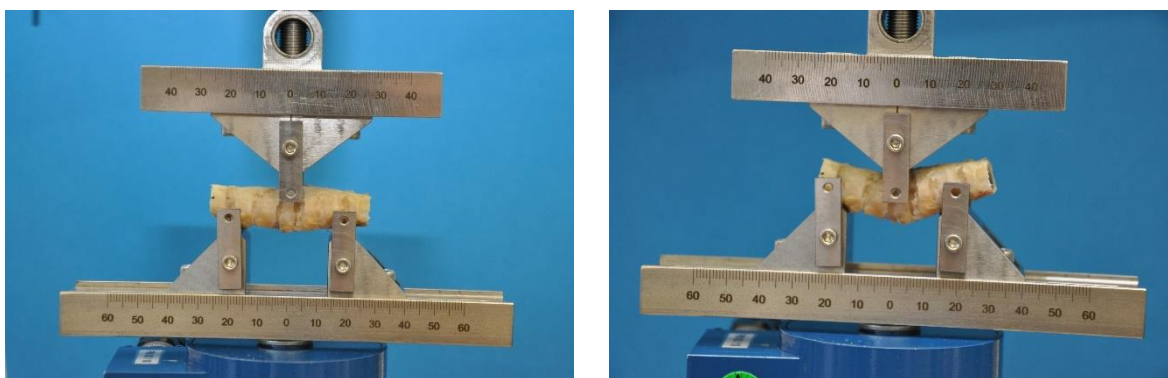
Výsledky získané z mechanických zkoušek ukazují, že **nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi pevností v ohybu a prací do destrukce kosti** u jednotlivých skupin (viz Obr. 3.3; $p > 0,05$). Pevnost v ohybu kontrolní skupiny (I) dosáhla 158,7 MPa (153,7–160,6 MPa). Vzhledem k tomu, že statisticky data nepocházela z normálního rozdělení, představuje střední hodnotu medián a v závorkách je doplněn mezikvartilovým rozpětím. Skupina PNNI s rehabilitací (II) dosáhla pevnosti 153,4 MPa (147,4–158,1 MPa), skupina „PNNI wash out“ (III) dosáhla 149,6 MPa (146,7–155,7 MPa) a skupina PNNI bez rehabilitace (IV) dosáhla 157,8 MPa (147,9–166,0 MPa). Práce do destrukce kosti kontrolní skupiny (I) dosáhla 64,6 mJ (58,3–76,5 mJ), skupina PNNI (II) dosáhla 57,5 mJ (54,9–65,4 mJ), skupina „PNNI wash out“ (III) dosáhla 62,3 mJ (54,9–70,2 mJ) a skupina PNNI bez rehabilitace (IV) dosáhla 63,6 mJ (53,4–68,7 mJ) [49]. Ale v případě **ohybové tuhosti kosti byl zjištěn statisticky významný pokles hodnoty o 12 % u skupiny PNNI s rehabilitací (II) vůči kontrolní skupině (I)** s hodnotami $623,5 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$ ($564,6\text{--}725,4 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$) vs. $712,1 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$ ($680,6\text{--}784,7 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$) a také **pokles hodnoty o 11 % u skupiny PNNI bez rehabilitace (IV) s hodnotami $630,8 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$ ($516,8\text{--}703,0 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$) vůči kontrolní skupině (I)**. Naopak **ohybová tuhost kosti skupiny „PNNI wash out“ (III) narostla vůči kontrole o 13 % a dosáhla $807,2 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$ ($720,2\text{--}882,6 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$)** [101]. Lze tedy konstatovat, že **u ohybové tuhosti kosti došlo k významným změnám, kdy prvotní snížení této vlastnosti po aplikaci PNNI bylo s odstupem času následováno zvýšením hodnoty oproti kontrole**. Vliv rehabilitace na zjišťované mechanické vlastnosti kostí se v této studii nepotvrdil [100]. Další analýzy spočívající v hodnocení vlivu PNNI na mechanické vlastnosti šlach a kůží potkanů jsou uvedeny v následující kapitolách (viz Kap. 4.3 a Kap. 4.4).

3.8 Vliv fixace dlahou na regenerační proces zlomeniny žeber u prasat

Chirurgická léčba zlomeniny segmentu žebra poskytuje některé výhody, které vyplývají z lepší stabilizace hrudní stěny, zlepšení ventilačních parametrů plic, nižší výskyt pneumonie (zápalu plic), nižší počet dnů hospitalizace, rychlejší rekonvalescence a nižší náklady ve srovnání s konzervativní terapií. Rozvoj chirurgických zkušeností i moderních fixačních implantátů vede ke zvyšujícímu se zájmu chirurgů o operativní terapii zlomenin segmentů žeber. Přesto někteří lékaři inklinují ke konzervativní terapii, neboť otázka fixace kovovou dlahou může interferovat s procesem hojení kostí [102], [103], [104].

Proto byla ve spolupráci s Ing. Vištejnovou a jejím týmem z Biomedicínského centra Lékařské fakulty v Plzni, UK realizována experimentální studie zaměřená na účinek fixace žeber dlahou na hojení zlomenin u experimentálního modelu prasete. Jedna experimentální skupina zvířat podstoupila operativní stabilizaci hrudní stěny po osteotomii a žebra byla stabilizována dlahou (n = 6). Druhá skupina žeber byla léčena konzervativně, tj. bez fixace (n = 9). Třetí největší skupinu tvořila intaktní nezlomená žebra (n = 54). Srostlé segmenty žeber byly 9 týdnů po chirurgickém zákroku podrobeny biomechanické analýze.

V naší laboratoři jsme provedli zkoušky **pevnosti srostlých žeber při tříbodovém ohybu** (metoda viz Kap. 2.1.2.1) na testovacím systému MTS Mini Bionix (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 1 000 N (relativní chyba měření síly 0,1 %, viz Obr. 3.4). Žebra byla po odstranění fixační dlahy a měkkých tkání zatěžována konstantní rychlostí posuvu $5,0 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$. Při zkoušce byly stanoveny strukturní mechanické vlastnosti – **maximální ohybový moment potřebný pro zlomení žebra a ohybová tuhost** žebra. Stanovení průřezového modulu v ohybu žebra bylo zjednodušeno nahrazením skutečného průřezu elipsovitým tvarem. Následně pak byla stanovena hodnota materiálové mechanické vlastnosti – **pevnost v ohybu**.

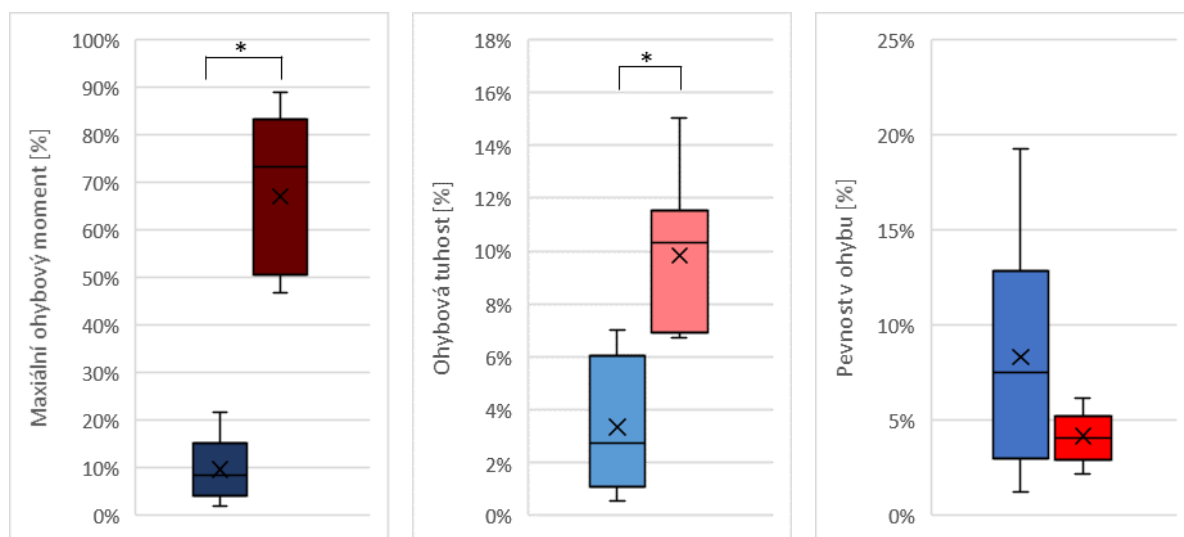


Obr. 3.4 Tříbodová ohybová zkouška srostlého prasečího žebra na testovacím systému MTS Mini Bionix při hodnocení vlivu fixace dlahou na regenerační proces zlomeniny – srostlá zlomenina žebra před zatížením (vlevo), destruovaný vzorek po zatížení (vpravo) [105].

Vzhledem k velké rozmanitosti rozměrů zkoušených žeber a malému počtu srostlých žeber, bylo vyhodnocení zpracováno **v poměru zjišťovaného parametru k intaktním žebrům**. Intaktní žebra byla škálována dle průřezového modulu žebra v ohybu do podskupin dle Scottova pravidla, následně byly stanoveny střední hodnoty mechanických vlastností těchto

podskupin a poté byl parametr určený u srostlého žebra vztažen ke střední hodnotě podskupiny.

Mechanické vlastnosti zjištěné při tříbodovém ohybu pasečích žeber po jejich srůstu vztažené ke středním hodnotám intaktních žeber jsou zobrazeny v grafech (viz Obr. 3.5). Vyplývá z nich, že po 8 týdnech od provedení osteotomie byly **u nefixovaných žeber zjištěny statisticky významně vyšší hodnoty strukturních vlastností**. Maximální ohybový moment žeber srostlých při fixaci dlahou 0,67 N·m (0,16–1,59 N·m; n = 6) představuje pouze 16 % hodnoty u žeber bez dlahy 4,32 N·m (2,71–5,75 N·m; n = 9). Ohybová tuhost žeber srostlých při fixaci dlahou 17,4 N·mm⁻¹ (3,0–38,0 N·mm⁻¹; n = 6) představuje 34 % hodnoty u žeber bez dlahy 51,2 N·mm⁻¹ (36,5–64,5 N·mm⁻¹; n = 9). Avšak **u pevnosti v ohybu, jakožto materiálové mechanické vlastnosti, je situace opačná**. Pevnost v ohybu žeber srostlých při fixaci dlahou dosáhla 7,40 MPa (1,10–16,63 MPa; n = 6) a je o 92 % vyšší než hodnota zjištěná u žeber bez dlahy 3,85 MPa (2,33–5,69 MPa; n = 9) [105].



Obr. 3.5 Grafické znázornění hodnot mechanických vlastností srostlých pasečích žeber vztažených ke středním hodnotám vlastností intaktních žeber zjištěných při tříbodovém ohybu 8 týdnů po provedené osteotomii; žebra srostlá při fixaci dlahou (modrá) a žebra srostlá bez fixace (červená); * $p < 0,05$ [6].

Je tedy zřejmé, že zjištěné hodnoty mechanických vlastností srůstu žeber po provedené osteotomii, se liší. Strukturní mechanické vlastnosti, tj. takové, kde není zohledňován průřez srůstu žebra, byly vyšší u nefixovaných žeber. Materiálové vlastnosti, tj. takové, kde průřez hraje roli, byly vyšší u fixovaných žeber. Důvodem těchto rozdílů je větší plocha průřezu svalku, který se vytvořil v okolí defektu nefixovaných zlomenin žeber. Lze tedy konstatovat, že při použití fixace dojde ke kvalitnějšímu srůstu zlomeného žebra, avšak při srůstu bez fixace je vlivem vytvoření svalku přenos silového zatížení také zajištěn [6].

3.9 Makro a nanomechanicky zjištěné vlastnosti osteoporotických kostí

Mechanické vlastnosti kostí lze stanovit standardními postupy s využitím makromechanických metod (princip viz Kap. 2.1.2), jak bylo také prezentováno v předchozích kapitolách, ale rovněž s využitím principů nanoindentací. S rozvojem těchto nových metod vyvstala otázka, zda je možné najít korelaci mezi zjištěnými parametry, jako je například modul pružnosti kosti [106].

Proto jsme v naší laboratoři provedli porovnávací studii, kdy jsme 16 potkaních femurů z výše prezentované studie zaměřené na zjišťování vlivu dlouhodobé konzumace alkoholu na pevnost při **tříbodovém ohybu** (viz Kap. 3.4) podrobili také **nanoindentacím zkouškám na systému Hysitron TriboLab** s využitím **in-situ skenovací topografie (SPM)** s Berkovich hrotem. Hodnotícím parametrem byl v této srovnávací studii **modul pružnosti kosti**. Femury byly rozděleny do dvou skupin – kontrolní (I, n = 8) a ovlivněné alkoholem (II, n = 8). Kostí byly po zlomení při tříbodovém ohybu zalaty do epoxidu, následně byly po vytvrzení rozřezány pomocí přesné řezací pily ISOMET LS na vzorky o tloušťce 1,5 mm a leštěny. Vlastní in-situ skenování probíhalo v silovém režimu s limitní silou vtlačení hrotu 7 mN, kdy se indentační hloubka pohybovala kolem 1,3 μm . Pro skenování byla použita mřížka 3 \times 3 indenty s odstupem jednotlivých indentů ve vzdálenosti 15 μm . Parametry zatěžování byly nastaveny tak, aby vtlačovací síla hrotu způsobila lokální homogenizaci materiálových vlastností lamelární kosti a bylo tak zabráněno vyšší variabilitě hodnot souvisejících s měřením vlastností jednotlivých lamel kompaktní nebo trabekulární kostní tkáně [107], [108]. Zjištěné hodnoty modulů pružnosti kosti jsou uvedeny v tabulce níže (viz Tab. 3.5).

Tab. 3.5 Hodnoty modulů pružnosti kosti zjištěné v porovnávací studii při tříbodových ohybových zkouškách a při nanoindentacích zkouškách na femurech potkanů [109].

	Tříbodový ohyb E [GPa]	Nanoindentace E [GPa]
Skupina I – kontrolní	3,30 \pm 0,51	3,11 \pm 0,16
Skupina II – alkohol	2,65 \pm 0,68	3,00 \pm 0,15

Statisticky významné odlišnosti nebyly zjištěny ($p < 0,05$, $n = 8$)

Porovnáním hodnot modulu pružnosti potkaních femurů zjištěného při tříbodovém ohybu kostí a při indentačních zkouškách nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly v kontrolní skupině I (3,30 \pm 0,51 MPa vs. 3,11 \pm 0,16 MPa, $n = 8$, $p > 0,05$) ani ve druhé skupině ovlivněné podáváním alkoholu II (2,65 \pm 0,68 MPa vs. 3,00 \pm 0,15 MPa, $n = 8$, $p > 0,05$). Lze tedy konstatovat, že **moduly pružnosti zjištěné makro i nanomechanickým přístupem jsou ve shodě** [109].

Přestože mezi skupinami I a II byl zjištěn pokles modulu pružnosti při tříbodovém ohybu o 20 %, nebyl tento rozdíl statisticky významný (3,30 \pm 0,51 MPa vs. 2,65 \pm 0,68 MPa, $n = 8$, $p = 0,066$). Statisticky významný rozdíl nebyl zjištěn ani při porovnání hodnot získaných při nanoindentacích zkouškách (3,11 \pm 0,16 MPa vs. 3,00 \pm 0,15 MPa, $n = 8$, $p > 0,05$). **Modul pružnosti tedy nekoresponduje tak výrazně se zjištěními ostatních analýz hodnotících snížení mechanických a dalších vlastností kostí souvisejících s dlouhodobým podáváním alkoholu a výskytem osteoporózy** (viz Kap. 3.4).

4 Zkoušení měkkých tkání

4.1 Úvod

Měkké tkáně v lidském těle především zastupují šlachy, vazy, kůže, tukové tkáně, cévní stěny, chrupavky atp. Tyto tkáně obklopují lidské tělo, a tedy i pohybovou soustavu. Poruchy jejich funkcí mohou zásadně ovlivňovat mobilitu jedince nebo způsobovat problémy ve fungování souvisejících orgánových soustav. Jedná se o tkáně, které jsou z hlediska mechanických vlastností anizotropní, nehomogenní a viskoelastické, tj. s nelineární odezvou deformace na zatížení. Tyto tkáně jsou v organismu zpravidla zatěžovány v tahu. Výjimkou jsou chrupavky, které jsou zatěžovány v tlaku a jedinečným způsobem tuto zátěž absorbují. Mají také neobyčejně nízký koeficient tření, což je velmi důležité pro pohyblivost kloubů [110], [111], [112], [113], [114].

Šlachy se skládají ze svazků kolagenových vláken, které jsou vysoce organizované a uspořádané podél jejich osy. Pojivová tkáň šlach je dynamická struktura, která se dokáže přizpůsobit různým funkčním požadavkům na muskuloskeletální systém, čímž dochází ke změnám jejich strukturálních a mechanických vlastností. Například u Achillovy šlachy jsou poruchy a ruptury běžné, i když je to jedna z nejodolnějších šlach vůči zátěži v lidském těle. Během maximálních flexí může Achillova šlacha vykazovat napětí přesahující 70 MPa. Kromě sportovních aktivit vyvolává nadměrné zatížení šlachy změny jejich vlastností a umožňuje výskyt lézí, které mohou způsobit významnou kloubní nestabilitu, která může vést k poškození jiných tkání a rozvoji degenerativního kloubního onemocnění [115], [116], [117].

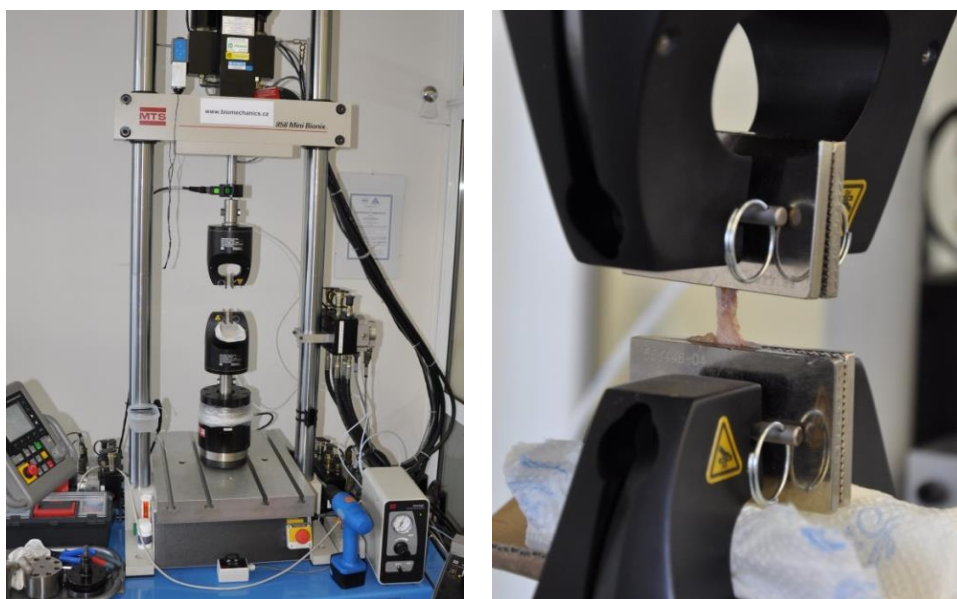
V následujících kapitolách jsou proto uvedeny zkušenosti autora se stanovením a hodnocením mechanických vlastností šlach nebo kůží po provedené léčebné terapii, chrupavek po transplantacích autologních chondrocytů nebo změn vlastností vaginální stěny a endopelvicke fascie. Významnými mechanickými vlastnostmi měkkých tkání, které jsou hodnoceny, jsou pevnost, tuhost a životnost při dlouhodobém cyklickém zatěžování. Způsoby zatěžování i vyhodnocení získaných dat je vždy nutno přizpůsobit anizotropním a viskoelastickým charakterům tkání.

4.2 Mechanické vlastnosti poraněných potkaních šlach po působení mezenchymálních lidských kmenových buněk

Patologie šlach jsou častým problémem zejména u lidí v produktivním věku. Proces hojení šlach zahrnuje tvorbu hematomu, lokální infiltraci zánětlivých buněk, uvolňování cytokinů a růstových faktorů s následnou tvorbou nové extracelulární matrix. K léčbě patologických stavů šlach lze použít mezenchymální kmenové buňky, které v současnosti vzbuzují velký zájem v oblasti regenerace tkání kvůli své schopnosti diferenciaci na buňky mezodermálního původu a možnému použití při autologních transplantacích. Implantace mezenchymálních kmenových buněk přímo do poraněné šlachy vytváří vhodné prostředí pro podporu regenerace tkáně šlach prostřednictvím tvorby extracelulární matrix, zvýšené vaskularizace, produkce podpůrných faktorů a nahrazení poškozených buněk [118], [119], [120].

Proto byla ve spolupráci s MUDr. Machovou Urdzíkovicou a jejím týmem z Ústavu experimentální medicíny AV ČR provedena studie, jejímž cílem bylo prozkoumat reparační potenciál a bezpečnost implantace lidských mezenchymálních kmenových buněk (hMSC) připravených v souladu s GMP (Good Manufacturing Practice) v modelu kolagenázou vyvolaného poranění Achillovy šlachy u potkanů. Skupině 21 dospělých potkanů kmene Wistar bylo způsobeno poranění šlachy pravé nohy kolagenázou. Šlachy levé nohy všech potkanů zůstaly netknuté. Skupině 10 náhodně vybraných potkanů byly do místa poranění po 3 dnech injektovány lidské mezenchymální kmenové buňky, zatímco druhé skupině zbývajících 10 potkanů byl stejným způsobem injektován pouze fyziologický roztok.

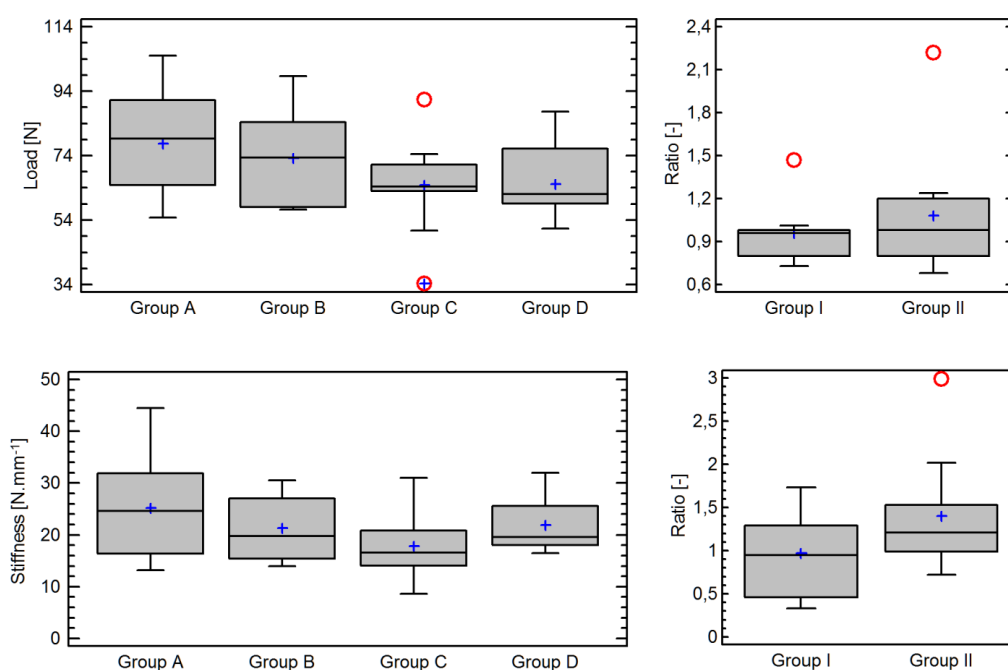
Pro hodnocení mechanických vlastností byly v naší laboratoři realizovány **tahové zkoušky potkaních Achillových šlach** do destrukce. Experimenty proběhly na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA), který byl osazen pneumatickými čelistmi MTS Pneu Grips (MTS, USA) pro spolehlivé uchycení testovaných vzorků (viz Obr. 4.1). Výhodou těchto čelistí je nastavitelný konstantní přítlak, který zajistí pevné a trvalé uchycení vzorku i při změně jeho průřezu. Vložky čelistí jsou ocelové a na povrchu mají drobné jehlanové hroty. Silové účinky byly zaznamenávány citlivým snímačem s rozsahem 500 N (relativní chyba měření síly 0,2 %).



Obr. 4.1 Tahové zkoušky potkaních Achillových šlach uchycených v testovacím systému MTS Mini Bionix (vlevo) v pneumatických čelistech se sadou kovových plochých vložek s jehlanovými hroty (vpravo). Foto autor.

Odebrané vzorky potkaních šlach byly v uspořádání BTM (Bone to Muscle), tj. šlacha byla vypreparována na jedné straně s částí svalu a na druhé straně s částí kosti. Tato konfigurace umožnila spolehlivé uchycení do pneumatických čelistí při zkoušení za předpokladu, že svalová tkáň byla před započítím zatěžování každého jednotlivého vzorku zmrazena vložením do tekutého dusíku na dobu 5 s. Přitom bylo pečlivě kontrolováno, aby se spolu se svalem nezmrazila také šlacha. Vzorek byl poté uchycen do čelistí z jedné strany za kost a z druhé strany za zmrazený sval (viz Obr. 4.1). Každý zkušební vzorek byl po upnutí do čelistí zatěžován tahem při konstantní rychlosti posuvu $10,0 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$, a to až do destrukce. V průběhu zkoušky byla zaznamenávána data o aktuální síle zatěžující vzorek (včetně maximální hodnoty) a o prodloužení šlachy.

Vyhodnocení získaných dat bylo zaměřeno na zjištění **pevnostních a elastických charakteristik** testovaných šlach. Z průběhu zatěžování byla stanovena **tuhost šlachy a maximální síla dosažená při destrukci** (metodika viz Kap. 2.1.1.1). Zjištěné hodnoty jsou zobrazeny v grafech níže (viz Obr. 4.2), kde skupina A představuje intaktní šlachy levé končetiny, skupina B neléčené poškozené šlachy pravé končetiny téhož zvířete, skupina C intaktní šlachy levé končetiny a skupina D léčené poškozené šlachy pravé končetiny. Ve skupině A, B jsou párové končetiny jednoho zvířete, obdobně ve skupinách C, D. Pro hodnocení experimentu byl velmi důležitý také poměr mezi hodnotami získanými na levé (kontrolní) a pravé (sledované) končetině jednoho zvířete, který je prezentován označením Group I (neléčené defekty) a Group II (léčené defekty).



Obr. 4.2 Mechanické vlastnosti kolagenázou poraněných potkaních šlach po působení mezenchymálních lidských kmenových buněk – síla při destrukci šlachy (nahore), tuhost (dole), $n = 10$, $p < 0,05$ [7].

Hodnocení mechanických vlastností ukázalo, že **po podání lidských mezenchymálních kmenových buněk nedošlo k významné změně pevnosti a tuhosti poraněných potkaních šlach** ($p < 0,05$, $n = 10$). Síla při destrukci léčené potkaní Achillovy šlachy byla zjištěna 62,1 N (59,1–76,2 N) a intaktní šlachy 64,4 N (63,0–71,2 N). Tuhost léčených šlach byla zjištěna 19,6 N·mm⁻¹ (18,0 - 25,6 N·mm⁻¹) a intaktní šlachy 16,6 N·mm⁻¹ (14,1–20,9 N·mm⁻¹). Výsledky rozsáhlých provedených analýz dále ukázaly, že **potkaní šlachy ošetřené lidskými mezenchymálními kmenovými buňkami měly významně lepší strukturu extracelulární matrix, větší množství kolagenu I a kolagenu III, zvýšenou neovaskularizaci a mohou tak podporovat hojení šlach** [7].

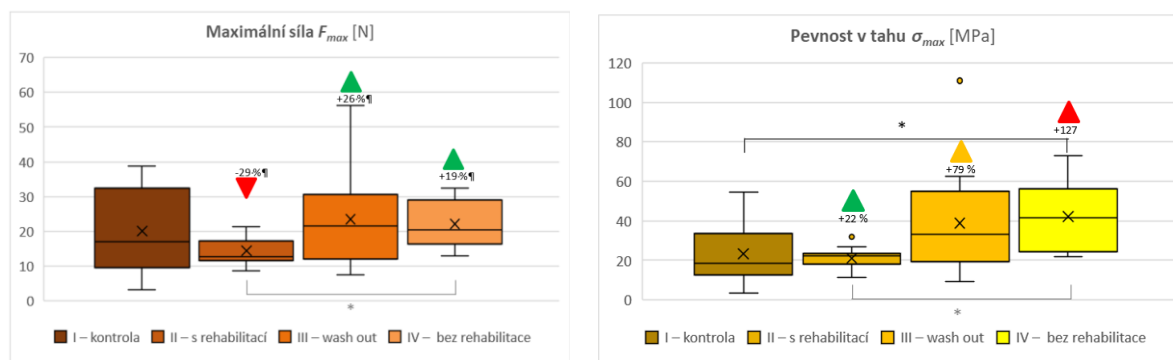
4.3 Pevnost šlach ovlivněná inhibitory perineuronálních sítí

Závažná problematika traumatického poranění míchy (SCI, spinal cord injury) a její možné léčby byla předmětem výše prezentované studie (viz Kap. 3.7). V ní byly ve spolupráci s MUDr.

Machovou Urdžíkovou a jejím týmem z Ústavu experimentální medicíny AV ČR podávány inhibitory perineuronálních sítí (PNNI) skupinám potkanů a dopady na jejich vývoj a tkáně byly sledovány. V předchozí kapitole (viz Kap. 3.7) byla pozornost zaměřena na zjišťování vlivu PNNI na mechanické vlastnosti kostí [97], [98], [99], [101]. Současně však byl v uvedené studii sledován také vliv PNNI na vlastnosti šlach.

Proto byly v naší laboratoři provedeny tahové zkoušky 57 ks potkaních šlach rozdělených do 4 skupin. Kontrolní intaktní skupina byla zastoupena 20 vzorky (I), skupina potkanů po aplikaci inhibitorů PNNI po dobu 10 týdnů s možností rehabilitace skýtala 11 šlach (II), skupina „PNNI wash out“ měla 13 šlach (III) a skupina po aplikaci inhibitorů PNNI bez možnosti rehabilitace měla také 13 šlach (IV). Skupina „PNNI wash out“ reprezentuje potkany s odstupem 9 týdnů po podávání PNNI, kdy byl předpoklad vymizení účinných podávaných látek. Rehabilitace skupiny II představovala pravidelný každodenní pohyb na běžícím pásu.

Potkaní Achillovy šlachy jsme zatěžovali na testovacím systému MTS Mini Bionix (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 500 N (relativní chyba měření síly 0,2 %) a pneumatickými čelistmi MTS *Pneu Grips* (MTS, USA). Čelisti se sadou kovových plochých vložek s jehlanovými hroty umožňují spolehlivé uchycení tak specifických vzorků, jakými jsou šlachy potkanů. U všech testovaných vzorků **byla při tahových zkouškách stanovena maximální síla dosažená při zatěžování a pevnost v tahu** (metoda viz Kap. 2.1.1.1). Detailní postup tahové zkoušky včetně zpracování získaných dat byl totožný s metodikou popsanou v kapitole výše (viz Kap. 4.2).



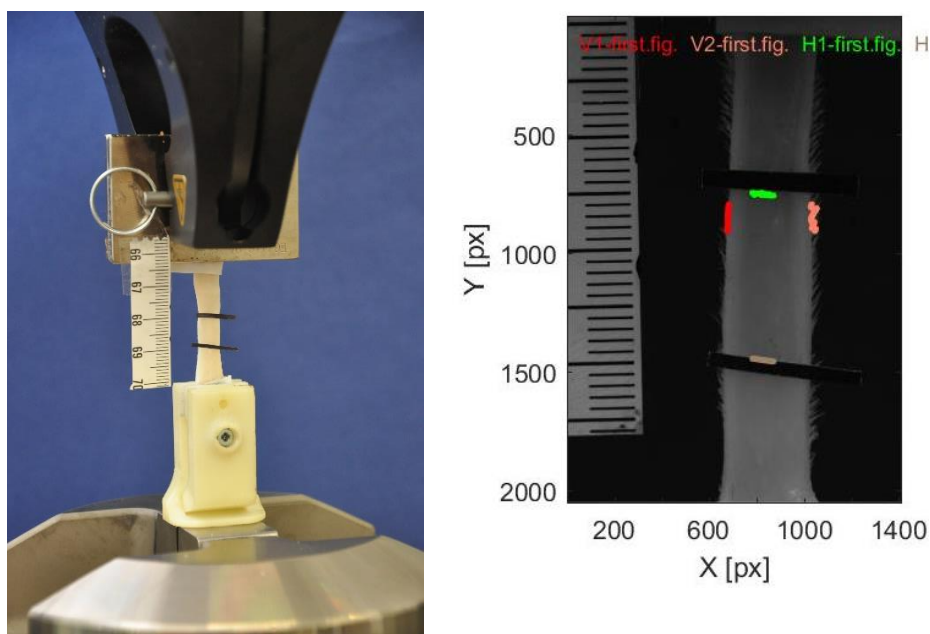
Obr. 4.3 Statistické vyhodnocení vlivu PNNI na mechanické vlastnosti potkaních Achillových šlach při tahových zkouškách – maximální síla dosažená při zatěžování do destrukce (vlevo); pevnost v tahu (vpravo); * $p < 0,05$ [49].

Výsledky získané vyhodnocením mechanických zkoušek jsou zobrazeny v grafech (viz Obr. 4.3) a ukazují, že došlo ke **statisticky významnému zvýšení meze pevnosti šlach v tahu o 127 % u skupiny PNNI bez rehabilitace (IV) vůči kontrole (I)** s hodnotami 41,7 MPa (26,1–54,0 MPa) vs. 18,4 MPa (13,1–31,8 MPa) [49]. Vzhledem k tomu, že statisticky data nepocházela z normálního rozdělení, představuje střední hodnotu medián a v závorkách je doplněn mezikvartilovým rozpětím. Dále výsledky **prokázaly překvapivě nepříznivý vliv rehabilitace potkanů na pevnost šlach v tahu**. Oproti očekávání byla pevnost šlach skupiny **PNNI s rehabilitací (II)** s hodnotou 22,4 MPa (18,5–23,3 MPa) **o 46 % nižší než u skupiny PNNI bez rehabilitace (IV)**. Jiné dopady podávání PNNI na mechanické vlastnosti potkaních šlach nebyly v této studii prokázány [121]. Další analýza spočívající v hodnocení vlivu PNNI na mechanické vlastnosti kůží potkanů je uvedena v následující kapitole (viz Kap. 4.4).

4.4 Vlastnosti kůží ovlivněné inhibitory perineuronálních sítí

Závažná problematika traumatického poranění míchy (SCI, spinal cord injury) a její možné léčby byla předmětem výše prezentované studie (viz Kap. 3.7). V ní byly ve spolupráci s MUDr. Machovou Urdzíkovou a jejím týmem z Ústavu experimentální medicíny AV ČR podávány inhibitory perineuronálních sítí (PNNI) skupinám potkanů a dopady na jejich vývoj a tkáně byly sledovány. V předchozích kapitolách (viz Kap. 3.7 a Kap. 4.3) byla pozornost zaměřena na zjišťování vlivu PNNI na mechanické vlastnosti kostí a šlach [97], [98], [99], [101], [121]. Současně však byl v uvedené studii sledován také vliv PNNI na vlastnosti kůží.

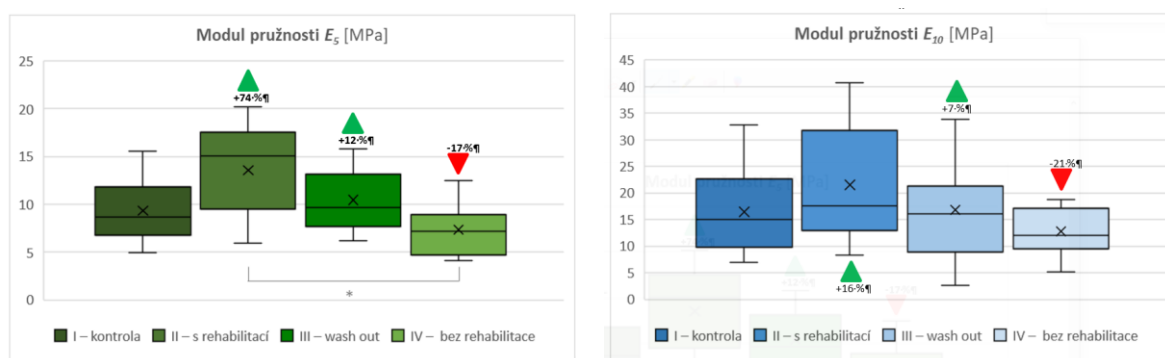
Proto byly v naší laboratoři provedeny tahové zkoušky 30 ks potkaních kůží rozdělených do 4 skupin. Kontrolní intaktní skupina byla zastoupena 9 vzorky (I). Skupina potkanů po aplikaci inhibitorů PNNI po dobu 10 týdnů a současně rehabilitující každý den na běhacím pásu skýtala 7 vzorků (II), stejný počet představovala skupina, která se lišila pouze absencí rehabilitace (IV). Poslední skupina „PNNI wash out“ měla také 7 vzorků (III) a reprezentuje stav potkanů s odstupem 9 týdnů po podávání PNNI.



Obr. 4.4 Tahové zkoušky potkaních kůží uchycených v testovacím systému MTS Mini Bionix kombinovaně v plastové čelisti a v pneumatické čelisti se sadou kovových plochých vložek s jehlanovými hroty (vlevo); detekce hran vzorku kůže při obrazové analýze po provedeném prahování obrazu. Foto autor.

Potkaní kůže jsme zatěžovali na testovacím systému MTS Mini Bionix (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 500 N (relativní chyba měření síly 0,2 %). Pro bezkontaktní měření deformací vzorků během zatěžování byl použit videoextenzometr využívající digitální kameru BASLER (BASLER AG, Německo) s rozlišením 5 MPx s 100 mm objektivem a transversální markery nalepené na vzorky v jejich střední části (viz Obr. 4.4). K uchycení vzorků byla využita kombinace pneumatické čelisti MTS Pneu Grips (MTS, USA) se sadou kovových plochých vložek s jehlanovými hroty a speciální plastové čelisti vyrobené na vlastní 3D tiskárně FDM (STRATASYS, USA).

Každý zkušební vzorek byl zatěžován tahem při konstantní rychlosti posuvu $20 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$. V průběhu zkoušky byla zaznamenávána data o aktuální síle zatěžující vzorek a snímky z videoextenzometru. Při následné obrazové analýze byla každá sekvence snímků při zpracována vytvořeným algoritmem, kdy byly na jednotlivých snímcích stanoveny oblasti zájmu (ROI, *region of interest*), ve kterých proběhlo prahování obrazu (viz Obr. 4.4). Poté byly získány černobílé binární mapy a detekovány vertikální hrany (okraje vzorku) a horizontální hrany (markery). Následně již byly stanoveny poměrné deformace. U všech testovaných vzorků **byl při tahových zkouškách stanoven Youngův modul pružnosti v tahu určený ve dvou hodnotách podélné poměrné deformace – v 5 % (E_5) a 10 % (E_{10})**. Postup tahové zkoušky byl totožný s metodikou popsanou v kapitole výše (metoda viz Kap. 2.1.1.1).



Obr. 4.5 Statistické vyhodnocení vlivu PNNI na vlastnosti potkaních kůží při tahových zkouškách – Youngův modul pružnosti E při deformaci 5 % (vlevo); pevnost v tahu (vpravo); * označuje statisticky významné odlišnosti mezi skupinami ($p < 0,05$) [49].

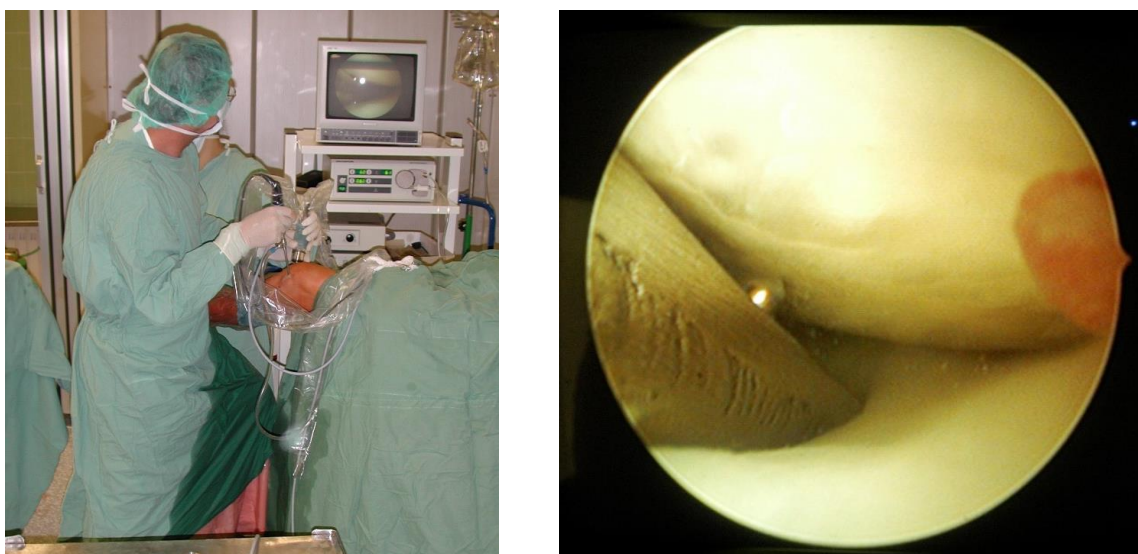
Výsledky získané vyhodnocením mechanických zkoušek jsou zobrazeny v grafech (viz Obr. 4.5) a ukazují, že k **statisticky významné změně** došlo pouze u **Youngova modulu pružnosti v tahu při deformaci 5 % a to snížením u skupiny PNNI s rehabilitací (IV) vůči skupině PNNI bez rehabilitace (II)** s hodnotami 7,2 MPa (5,3–8,5 MPa) vs. 15,0 MPa (10,5–16,5 MPa) [49]. Přesto, že v dalších porovnáních s kontrolou byly všechny změny statisticky nevýznamné, u skupiny **PNNI bez rehabilitace (II) došlo k 74% zvýšení modulu pružnosti E_5 vůči kontrole (I)**, což bylo prokázáno jako věcná významnost (Cohenovo d [122]). Jiné dopady podávání PNNI na mechanické vlastnosti potkaních kůží však nebyly v této studii prokázány [123].

4.5 Vliv transplantace autologních chondrocytů na stav hlubokých defektů chrupavky kolene

Kloubní (hyalinní) chrupavka plní v kloubu dvě důležité funkce. Jediným způsobem absorbuje tlakovou zátěž a má neobyčejně nízký koeficient tření. Defekty kloubní chrupavky představují velký terapeutický problém z důvodů její malé regenerační schopnosti. Trauma, které poškodí chondrocyty a mezibuněčnou matici, ale nepronikne subchondrální kostí, má velmi malou šanci na zhojení. Jedna z nových terapeutických alternativ ošetření chondrálních defektů je transplantace autologních chondrocytů. Klinické studie prokazují, že dochází k podstatnému zmenšení bolesti a zlepšení funkce kloubu. Tato zjištění společně s prokázanou tvorbou tkáně podobné hyalinní chrupavce podporují hypotézu, že tato léčba založená na transplantaci buněk je regenerativní, a ne pouze reparativní [124], [125], [126].

Proto byla ve spolupráci s doc. MUDr. Podškubkou a jeho týmem z Fakultní nemocnice Bulovka realizována studie zaměřená na ošetření hlubokých chondrálních defektů pomocí transplantace autologních chondrocytů (Hyalograftu C). K objektivnímu posouzení hojení defektů a novotvořené tkáně byly kromě vyšetření pomocí magnetické rezonance (MR) prováděny také kontrolní artroskopie, při kterých byl hodnocen makroskopický nález a vlastnosti chrupavky. Za účelem **hodnocení mechanických vlastností kloubní chrupavky** přímo při artroskopii na operačním sále byla v naší laboratoři vyvinuta nová metodika a vyrobeno **dotykové měřidlo tuhosti**. Sonda pracuje na principu vzájemného porovnávání hodnot tuhosti reparované chrupavky v místě defektu se zdravou chrupavkou v okolí defektu a stanovení jejich poměru. Naměřená hodnota zdravé chrupavky odpovídá 100 %. Detaily metodiky, návrhu a principu měřidla jsou uvedeny v jedné z předchozích kapitol (viz Kap. 2.5.2).

Na základě artroskopických nálezů bylo vyhledáno 8 pacientů s chondrálními a osteochondrálními defekty kolenního kloubu, které byly ošetřeny transplantací autologních chondrocytů (Hyalograftem C). Kontrolní artroskopie byla plánována po 9 až 12 měsících od transplantace. Její realizace spolu s detailem kolenního kloubu je na obrázku níže (viz Obr. 4.6).



Obr. 4.6 Použití nově vyvinutého měřidla na stanovení tuhosti kloubní chrupavky při artroskopii kolenního kloubu na operačním sále (vlevo), detail kontaktní části měřidla a novotvořené chrupavky na kondylu femuru (vpravo) [3].

K makroskopickému hodnocení novotvořené tkáně bylo použito ICRS vizuální skóre. Vzhled novotvořené chrupavky byl hodnocen u 6 pacientů jako téměř normální a u 2 pacientů jako abnormální. Nejlépe bylo hodnoceno vyplnění defektu, zcela vyplněn novotvořenou tkání byl defekt u 6 pacientů. Za 10 měsíců po operaci došlo k vyplnění defektu smíšenou hyalinní a vazivovou chrupavkou u všech pacientů. **Hodnocení tuhosti novotvořené tkáně a zdravé chrupavky** při artroskopickém vyšetření **pomocí dotykového měřidla** bylo provedeno u 3 pacientů. U 2 z nich byla naměřena hodnota tuhosti novotvořené tkáně **82 % a 90 %** tuhosti zdravé chrupavky, přičemž ICRS vizuální skóre bylo stanoveno na 11 bodů (skoro normální). Studie ukázala, že je použití Hyalograftu C bezpečná a účinná možnost ošetření hlubokých chondrálních defektů kolenního kloubu, zejména defektů na kondylech femuru.

Současně byla ověřena možnost použití dotykového měřidla tuhosti chrupavky a zjištěné závěry jsou ve shodě s ostatními provedenými analýzami [3].

4.6 Biomechanická odezva kompletu vaginální stěny a endopelvické fascie na mechanické zatížení

Poruchy statiky pánevního dna jsou častou příčinou vážných zdravotních komplikací žen. Chirurgický zákrok k řešení tohoto problému podstupuje 11 % žen ve věku do 70 let s tím, že 30 % z nich musí do 5 let podstoupit reoperaci. Klinickými příznaky poruchy jsou inkontinence moči, porucha vyprazdňování stolice a stavy dyskomfortu při pohlavním partnerském soužití (dyspareunie). Všechny tyto projevy mají vážný dopad na kvalitu života pacientek. Hlavními příčinami poruchy statiky pánevního dna jsou vaginální poranění při porodu, chronické zvýšení tlaku v břiše (obezita, kašel atp.) a procesy stárnutí. Uvedené příčiny vedou ke změnám mechanických vlastností vaginální závěsné sestavy – vaginální stěny a endopelvické fascie. Informace o mechanických vlastnostech těchto tkání byly dosud publikovány jen velmi okrajově a některé relevantní údaje v literatuře prakticky chybí. Přitom získání dat umožní např. provádění optimalizace řešení stabilitních defektů pánevního dna [127], [128], [129].

Proto byla ve spolupráci s MUDr. Heřmanem a jeho týmem z Ústavu pro péči o matku a dítě a 3. Lékařské fakulty Univerzity Karlovy realizována studie zaměřená na stanovení biomechanické odezvy vaginální stěny a endopelvické fascie na mechanické zatěžování. V naší laboratoři byly realizovány **tahové zkoušky vzorků vaginální stěny s endopelvickou fascií** do destrukce. Experimenty proběhly na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA), který byl osazen speciálními plastovými čelistmi vyrobenými na vlastní 3D tiskárně FDM (STRATASYS, USA) pro spolehlivé uchycení testovaných vzorků (obdobně viz Kap. 4.4 a Obr. 4.4). Silové účinky byly zaznamenávány citlivým snímačem s rozsahem 100 N (relativní chyba měření síly 0,3 %).

Vyhodnocení získaných dat bylo zaměřeno na zjištění **pevnostních a elastických charakteristik** testovaných vzorků. Z průběhu zatěžování byla stanovena **tuhost a pevnost vzorků** (metodika viz Kap. 2.1.1.1). Tuhost vzorků vaginální stěny s endopelvickou fascií byla zjištěna $3,9 \pm 1,4 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$ ($n = 11$), tuhost samostatné endopelvické fascie $2,5 \pm 1,5 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$ ($n = 11$) a tuhost samostatné vaginální stěny $0,8 \pm 0,7 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$ ($n = 11$). Pevnost vzorků vaginální stěny s endopelvickou fascií byla zjištěna $0,84 \pm 0,41 \text{ MPa}$ ($n = 11$). Zejména u hodnot tuhosti zjištěných pro samostatnou vaginální stěnu jsou zřejmé velké rozptyly [13]. Získané parametry byly dále použity pro určování konstant matematického modelu chování tkáně.

5 Zkoušení biomateriálů

5.1 Úvod

Dříve byly biomateriály chápány jako inženýrské materiály, které se používaly k nahrazení základní funkce lidského těla. V současnosti však dochází k novému chápání biomateriálů. Na rozdíl od jednoduchého nahrazení tvaru poškozené části těla se pomocí pokročilých biomateriálů snažíme dosáhnout dlouhodobou integraci a zajištění plnohodnotného obnovení funkce. Experimentální hodnocení biomechanických vlastností biomateriálů je tedy jedním z velmi důležitých kroků při vytváření umělé náhrady funkčně a materiálově ekvivalentní původní biologické tkáni. Z hlediska původu lze biomateriály rozdělit do dvou velkých skupin – biologické materiály vycházející z přírodních materiálů jako je kolagen, chitosan, polylaktidy atp. a technické biomateriály, které představují zejména kovy, keramické kompozity nebo uměle vyrobené polymery.

Pro výrobu kostních náhrad jsou nejčastěji používanými biomateriály kovy. Jednou z nejvíce používaných skupin těchto materiálů je v současnosti **titan a jeho slitiny**, zejména pak Ti6Al4V. Kromě hliníku a vanadu jsou dalšími používanými legujícími prvky niob, molybden, tantal a zirkon. Tyto materiály jsou biokompatibilní, mají vynikající únavovou pevnost i odolnost proti korozi, nízkou hustotu, tvarovatelnost i obrobitelnost. Vzhledem k ocelím mají nižší Youngův modul pružnosti a jsou proto blíže tuhosti kosti. S ohledem na tuto vlastnost je aktuálně věnována pozornost slitinám s β -fází titanu (viz Kap. 5.2) [130], [131].

Další hojně využívanou skupinou kovových biomateriálů jsou **korozivzdorné oceli**, kdy se především jedná o austenitické oceli, jejímiž hlavními legujícími prvky jsou chrom, nikl a dusík. Cílem přidávání chromu je vytvoření povrchové ochranné vrstvy oxidu, která přispívá ke korozivzdornosti. Nikl a dusík slouží ke stabilizaci austenitu. Výhodami těchto materiálů je únavová pevnost, zpracovatelnost, biokompatibilita. V menší míře jsou dále používány biomateriály na bázi hořčíku, železa, niklu, zlata nebo galia a jejich slitin [132], [133], [134], [135], [136], [137].

Pro doplnění přehledu aktuálně používaných biomateriálů je nutno zmínit také velkou skupinu biotolerantních uměle vyrobených **polymerů**, které jsou zastoupeny zejména vysokomolekulárním polyethylenem UHMWPE, materiálem PEEK nebo polymethylmethakrylátem (PMMA). Polymerům na bázi přírodních materiálů je věnována další kapitola zaměřená na materiály pro tkáňové inženýrství [138], [139], [140].

Další skupinou biomateriálů jsou **biokeramické materiály**, které se nyní běžně používají v medicínských aplikacích, zejména v oblasti kloubních a dentálních náhrad. Jedná se především o keramické kompozity na bázi oxidu hlinitého a oxidu zirkoničitého. Největšími přednostmi biokeramiky jsou biokompatibilita, díky vysoké tvrdosti také vynikající odolnost proti otěru a velmi nízké frikční koeficienty [141], [142], [143], [144].

Jednou z nových technologií výroby, která dosahuje v současnosti největšího rozvoje a ovlivňuje pohled na biomateriály, je **aditivní výroba** označovaná také jako 3D tisk. Možnost tvorby jednotlivých kusů s danou geometrií bez nutnosti přípravy speciálních forem nebo nástrojů proniká i do medicínských aplikací. V popředí zájmu je individualizace náhrad na základě získaných CT snímků pacienta. Nespornou výhodou je také možnost návrhů

implantátů s optimalizovanou tuhostí, kdy se vhodnou skladbou elementů můžeme přiblížit tuhosti nativních tkání. Tato nová technologie je využívána nejen k 3D tisku polymerů, ale hojně se již používá i pro kovové materiály. Aditivní výroba tedy přináší nové možnosti v oblasti výroby implantátů, ale také nové otázky na mechanické vlastnosti vznikajících struktur a produktů.

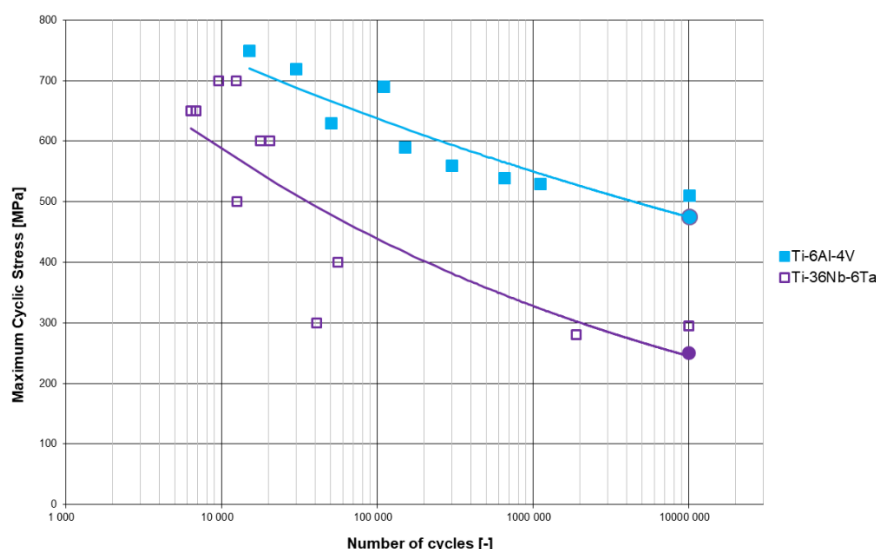
Mechanické vlastnosti používaných biomateriálů nejsou dány pouze jejich složením a strukturou, ale ovlivňují je také procesy nutné pro jejich použití k medicínám účelům. Náhrady musí být před použitím sterilizovány a instrumentária využívaná na operačních sálech musí dokonce **podstupovat sterilizaci** pravidelně po každém použití. Vzhledem k tomu, že se jedná o aplikaci vysokých teplot a vlhkosti, ionizačních záření nebo působení plynů, jako je ethylen oxid, jsou vlivy na mechanické vlastnosti takových biomateriálů zcela zřejmé.

Další kapitoly jsou proto věnovány zkušenostem autora se zjišťováním mechanických vlastností biomateriálů vyrobených konvenčními, ale i novými aditivními technologiemi, a také vlivům procesů potřebných k přípravě implantátů pro medicínám použití.

5.2 Únavové vlastnosti nové beta slitiny titanu Ti36Nb6Ta

Materiály na bázi titanu jsou široce používány v různých biomedicínských aplikacích díky jejich dobré biokompatibilitě, vysoké specifické pevnosti a vynikající odolnosti proti korozi. Čistý titan má nízkou pevnost, a to omezuje jeho použití v nosných ortopedických aplikacích. Slitina Ti6Al4V postupně nahradila čistý titan díky vyšší mechanické pevnosti, avšak její Youngův modul pružnosti 110 GPa je stále výrazně vyšší než modul kosti 10-30 GPa. Proto byla vyvinuta nová generace slitin titanu s nízkou tuhostí, které jsou založeny na skutečně nižším modulu β -fáze ve srovnání s α nebo α - β fází slitin titanu. Ukázalo se, že β -slitiny titanu mohou dosáhnout modulu pružnosti 55-60 GPa a jsou tedy srovnatelné s kostí. Tyto slitiny mají také zlepšenou odolnost proti opotřebení, vysokou pevnost a vynikající tvárnost za studena i za tepla [145], [146], [147], [148].

Proto byla ve spolupráci s prof. Džuganem z firmy COMTES FHT, a.s. a kolegy z Vysoké školy chemicko-technologické realizována studie s cílem zjistit únavovou odolnost nové beta slitiny titanu Ti36Nb6Ta a výsledky porovnat se standardní slitinou Ti6Al4V. V naší laboratoři byly realizovány **únavové zkoušky** hodnotící mechanické vlastnosti materiálu dle normy ČSN 420363 [54]. Metodika zkoušení byla popsána výše (viz Kap. 2.4.2). Ke zkouškám bylo dodáno 14 vzorků vyrobených z beta slitiny titanu, které měly v pracovní části průměr 5 mm. Další rozměry jsou patrné z obrázku (viz Obr. 2.17). Jednotlivá zkušební tělesa byla postupně zatěžována na napěťových hladinách σ_h , kdy startovní hladinou bylo napětí 700 MPa. Cyklické zatěžování bylo realizováno jako míjivý tah s koeficientem nesouměrnosti zatěžujícího cyklu $R = 0,1$ a frekvencí 40 Hz.



Obr. 5.1 Únavový diagram srovnávající vlastnosti nové beta slitiny titanu Ti36Nb6Ta a klasické slitiny titanu Ti6Al4V [149].

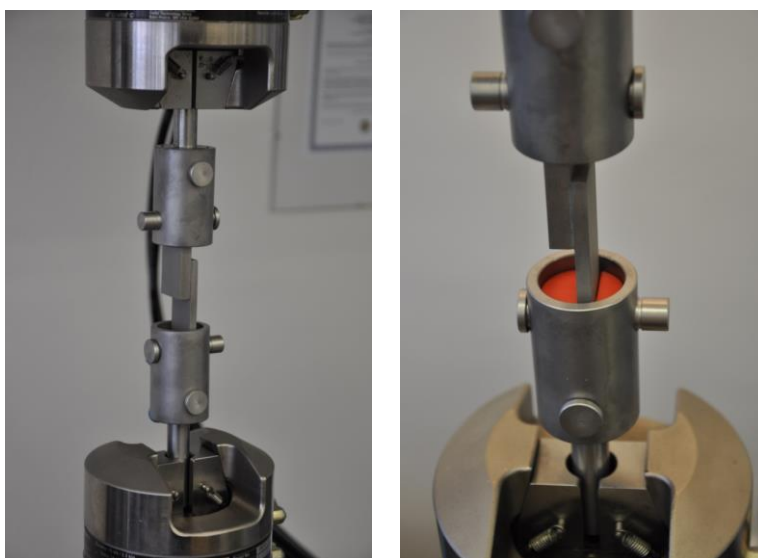
Ze získaných dat zatěžování beta slitiny titanu Ti36Nb6Ta byla vytvořena únavová křivka a je znázorněna v grafu (viz Obr. 5.1), kde je možné průběh srovnat s průběhem únavového zatěžování slitiny Ti6Al4V, který byl také realizován v naší laboratoři. Z grafu je zřejmé, že odolnost proti únavě nové beta slitiny titanu je nižší, její výhoda však stále spočívá v nižším modulu pružnosti, kdy se hodnotou 72 ± 7 GPa blíží kosti [147], [149], [150].

5.3 Vliv konstrukčních úprav povrchu na pevnost porézního titanového nástřiku

Komplikace, jako je nekróza, vyplývající z exotermické reakce při tuhnutí kostního cementu, vedly k mnoha výzkumům necementovaných kostních implantátů, zejména u mladých aktivních pacientů. Publikované studie ukazují na vzestup zájmu o necementované náhrady. Princip kotvení těchto implantátů se opírá o osseointegraci, tj. stav, kdy je implantát a okolní kost v přímém kontaktu. Špatná osseointegrace je v současnosti příčinou prodloužené doby zotavení pacienta a předčasného selhání necementovaných kostních implantátů. Kromě toho dlouhověkost necementovaného kostního implantátu závisí na osteokondukci, což je schopnost růstu kosti do povrchu implantátu. Kovy, jako je titan a jeho slitiny, jsou široce používány pro výrobu kostních implantátů pro své vhodné vlastnosti. Mají však i určité nevýhody, mezi které patří např. nízká odolnost proti opotřebení a nízká osteokondukce ve formě po obrábění. Aplikace vhodného organického nebo anorganického povlaku na takové kostní implantáty může zlepšit osteokondukci substrátu, odolnost proti korozi a únavovému zatěžování, tvrdost povrchu a tím také odolnost proti opotřebení [151], [152], [153], [154].

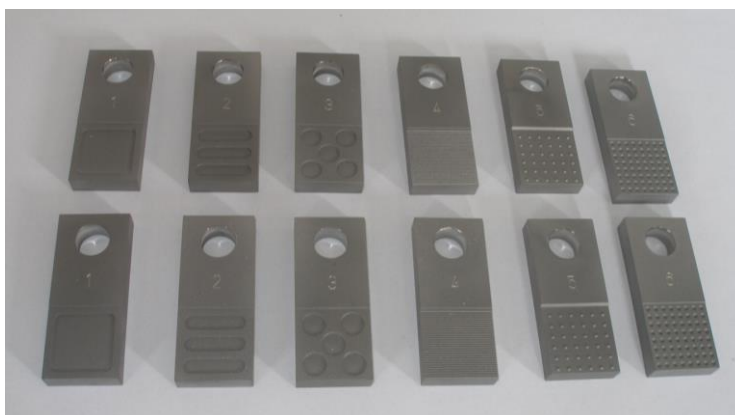
Velmi důležitou veličinou, která hodnotí vhodnost aplikace kovového nástřiku, je pevnost spojení nanesené kovové vrstvy a podkladu. Pevnost spojení dané kombinace materiálů je dána úpravou povrchu podkladu jak na mikroúrovni (např. tryskáním), tak na makroúrovni, tj. konstrukčními prvky jako jsou drážkování, zahloubení apod. Proto byly v naší laboratoři realizovány experimenty s cílem vyhodnotit vliv konstrukční úpravy povrchu podkladu na pevnost ve smyku. Zkoušky **pevnosti ve smyku** zaměřené na přilnavost vrstvy porézního

nástřiku Ti6Al4V k podkladu ze stejné slitiny byly provedeny na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 25 kN (relativní chyba měření síly 0,4 %) podle normy ASTM F1044 [155]. Na zkušební vzorek byla nanášena kovová vrstva na ploše (25 × 25) mm. Pomocí lepidla byla na nanášenou vrstvu připevněna příložka. Vzorky byly v testovacím systému upevněny pomocí přípravku, který eliminoval možnost vnesení parazitních silových účinků, s cílem dosáhnout prostého smykového namáhání spojení vrstva-podklad. Čepy přípravku napomáhaly k vyrovnaní případných odchylek v rovnoběžnosti obou částí vzorku a mechanické osy testovacího systému. Umístění plochy vrstvy do osy testovacího systému bylo usnadněno spacery na čepech upevňujících vzorky (viz Obr. 5.2).



Obr. 5.2 Vzorky s porézním nástřikem Ti6Al4V umístěné v testovacím systému MTS Mini Bionix při smykových zkouškách hodnotících pevnost spojení nanášené vrstvy. Foto autor.

Vzorky byly namáhány osovou silou až do porušení spojení mezi kovovou vrstvou a podkladem nebo mezi vrstvou lepidla a příložkou. Zatěžování probíhalo konstantní rychlostí $0,5 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$. Zkoušeno bylo šest variant úprav podkladu, kdy pro každou variantu byly k dispozici dva exempláře (viz Obr. 5.3).



Obr. 5.3 Sady vzorků se šesti různými úpravami geometrie povrchu podkladového materiálu Ti6Al4V připravené pro nanášení porézního nástřiku. Foto autor.

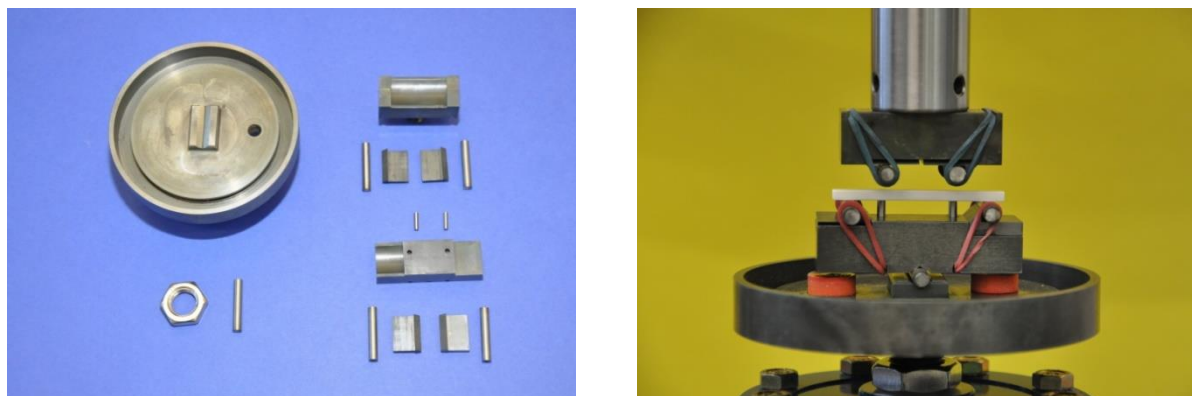
Vyhodnocení pevnosti ve smyku pro šest různých úprav geometrie povrchu podkladového materiálu Ti6Al4V pod vrstvou kovového nástřiku ze stejného materiálu ukázalo, že

nejpevnější je úprava jemným drážkováním ve směru kolmém ke směru zatěžující síly (viz čtvrtý pár vzorků zleva na Obr. 5.3). Průměrná pevnost ve smyku spojení uvedeného typu byla $18,21 \pm 0,40$ MPa. Nejmenší smyková pevnost byla zjištěna u vzorku s kapsou s hladkým dnem (viz první pár vzorků zleva na Obr. 5.3), kdy byla dosažena hodnota o 59 % nižší, tj. $7,42 \text{ MPa} \pm 0,78 \text{ MPa}$ [156].

5.4 Pevnost v ohybu biokeramiky na bázi zirkonu

Biokeramické materiály na bázi zirkonu jsou velmi často využívanými biomateriály. Z důvodu jejich vynikající biokompatibility, vysoké pevnosti, tvrdosti a odolnosti proti otěru jsou používány k výrobě kloubních náhrad a také dentálních implantátů. Technologie výroby biokeramických materiálů prochází vývojem, a kromě standardních postupů lisování jsou v současnosti hojně využívány také principy aditivní technologie. Je známo, že navzdory dosaženým pokrokům stále existují některé nevyřešené problémy, jako je porozita nebo praskliny, které ovlivňují mechanické vlastnosti materiálů. Hodnocení mechanických vlastností nově vyvíjených biokeramických materiálů a technologií jejich výroby je tedy jednou z důležitých etap vývoje [141], [142], [143], [144], [157].

Proto bylo v naší laboratoři realizováno několik studií zaměřených na stanovení **pevnosti v ohybu** dle metodiky popsané v kapitole výše (viz Kap. 2.1.2.1) a vycházejících z norem ČSN EN 843-1 [26], ČSN EN ISO 13356 [30] a ISO 14704 [31]. Experimenty byly provedeny na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 2,5 kN (relativní chyba měření síly 0,1 %). Spočívaly v kvazistatickém zatěžování vzorků konstantní rychlostí, která je volena tak, aby k destrukci došlo v rozmezí 3 s až 30 s od začátku zatěžování. Zde byla rychlost zatěžování $1,2 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$. Standardy definují obecné parametry pro zjištění pevnosti, zejména pak rozpětí vnějších podpěrných válečků přípravku $40,0 \pm 0,5$ mm, rozpětí vnitřních zatěžujících válečků $20,0 \pm 0,2$ mm a také průměru válečků $5,0 \pm 0,2$ mm. Rovněž předepisují uspořádání zkušebního přípravku – pohyblivost jednotlivých dílů tak, aby mohlo při zatěžování dojít ke kompenzaci případných povolených nerovností vzorků. V souladu s výše uvedenými požadavky byl navržen speciální přípravek (viz Obr. 5.4), který umožňuje realizovat statické zatěžování **čtyřbodovým ohybem** do destrukce anebo únavové zatěžování.



Obr. 5.4 Přípravek pro realizaci statických a únavových zkoušek čtyřbodovým ohybem s pohyblivými díly (vlevo), zatěžování biochemického vzorku v testovacím systému MTS Mini Bionix (vpravo). Foto autor.

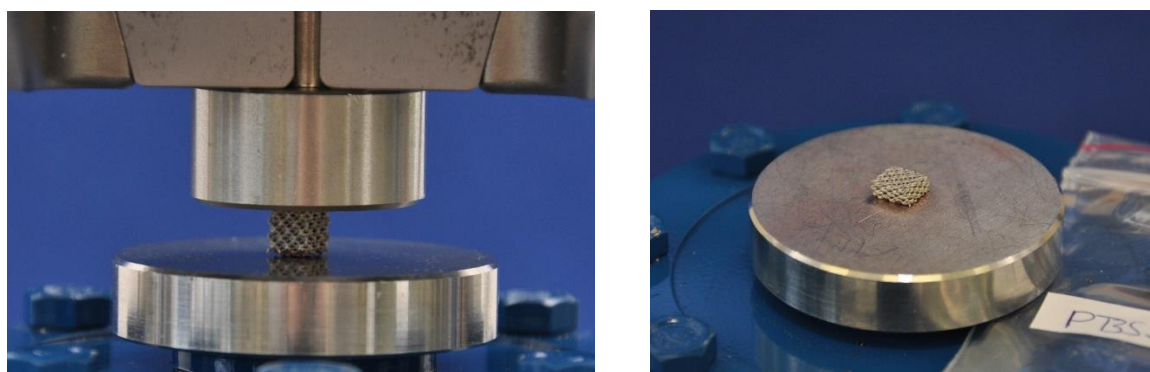
Z provedených zkoušek několika skupin vzorků zirkoničité keramiky, které se odlišovaly šarží základního materiálu a parametry technologického procesu výroby, byla vyhodnocena **pevnost v ohybu**. Zjištěna byla v rozsahu 443–596 MPa. Tato hodnota byla nižší než normou ČSN EN ISO 13356 [30] požadovaných 800 MPa. Příčina mohla být v nehomogenitě materiálu vzorku, která byla vidět na lomových plochách a mohla být indikována i hraniční hustotou slinutého materiálu (naměřená $6,04 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ oproti požadované $\geq 6,06 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$).

5.5 Vliv post-procesových úprav na vlastnosti porézních struktur vyrobených aditivní technologií

Aditivní výroba je inovativní a rychle se rozvíjející technologie. Umožňuje tvorbu porézní struktury s otevřenými buňkami pomocí pravidelné trojrozměrné sítě propojených vzpěr. Takovéto struktury lze s výhodou použít ve výrobě optimalizovaných lehkých struktur ortopedických náhrad, neboť mají vysoký potenciál kvalitního srůstu s kostí. Náhrady zraněných nebo nemocných kloubů jsou většinou vyrobeny z biokompatibilního titanu a jeho slitin. Konvenčně vyráběně slitiny titanu se však vyznačují výrazně vyšší tuhostí než lidské kosti. Tento nesoulad v mechanických vlastnostech by mohl omezit vrůstání kosti, urychlit kostní resorpci a způsobit uvolnění ortopedického implantátu v důsledku lokálních přetížení. Řešením je tedy tvorba malých porézních a otevřených buněčných struktur, které jsou uspořádány jako opakující se a spojené. Tento druh architektury vyrobené aditivní technologií má tendenci snižovat gradient napětí mezi kostí a implantátem a tím podporovat růst kosti a zlepšovat osteointegraci [158], [159], [160], [161], [162], [163].

Nepříznivým aspektem aditivní výroby je nutnost odstranění volných částic prášku a čištění vyrobených náhrad, neboť uvolněné titanové částice mohou mít dlouhodobě nepříznivé metabolické, onkogenní a imunologické účinky. Důkladné čištění povrchu je proto vysoce doporučeno pro jakýkoli produkt používaný pro komerční ortopedické účely. Nejčastěji využívaný chemický nebo elektrochemický proces však může mít vliv na mechanické vlastnosti i korozní chování povrchu implantátu [164], [165], [166].

Proto byla ve spolupráci s prof. Džuganem a jeho týmem z firmy COMTES FHT, a.s. a kolegy z Vysoké školy chemicko-technologické realizována studie, jejímž cílem bylo zjistit, zda a do jaké míry ošetření aditivně vyrobené porézní struktury a její chemické leptání ovlivňuje mechanické vlastnosti. Využitím zařízení M2 (CONCEPT LASER GmbH, Lichtenfels, Německo) s aditivní technologií SLM (*Selective Laser Melting*) a prášku Concept Laser z titanové slitiny třídy 23 (CL 41TI ELI, CONCEPT LASER GmbH, Lichtenfels, Německo) bylo připraveno 24 vzorků tvaru krychle o hraně 6 mm rozdělených do 6 skupin podle způsobu post-processingových úprav. **Tlakové zkoušky** byly realizovány v naší laboratoři na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA), který byl osazen dvěma tuhými deskami (viz Obr. 5.5, metodika viz Kap. 2.1.1.2). Silové účinky byly zaznamenávány citlivým snímačem s rozsahem 5 kN (relativní chyba měření síly 0,1 %).



Obr. 5.5 Vzorek porézní struktury vyrobený aditivní technologií při tlakové zkoušce na testovacím systému MTS Mini Bionix (vlevo) a deformovaný vzorek po dokončení zatěžování (vpravo). Foto autor.

Vyhodnocení získaných dat bylo zaměřeno na stanovení **meze kluzu v tlaku** a **elastického gradientu napětí**. Zjištěné hodnoty včetně popisu rozdělení vzorků do skupin jsou v tabulce níže (viz Tab. 5.1) a ukazují, že povrchové leptání se jeví jako vhodná metoda pro post-depoziční ošetření porézních struktur pro implantáty. Leptání zabraňuje erozi volných částic z povrchu a brání tak kontaminaci lidského těla částicemi titanu. Kromě toho snižuje elastický gradient, který po 6 min leptání dosáhl hodnoty $1,23 \pm 0,08$ GPa ($n = 4$). Vlivem odstranění části materiálu leptáním dochází ke snížení pevnosti celé porézní struktury v důsledku zmenšení nosného průřezu, v případě skupiny B6 to bylo o 22 % [2].

Tab. 5.1 Rozdělení a označení skupin tištěných porézních vzorků ošetřených po výrobě různými způsoby a stanovené meze kluzu v tlaku a elastického gradientu napětí [2].

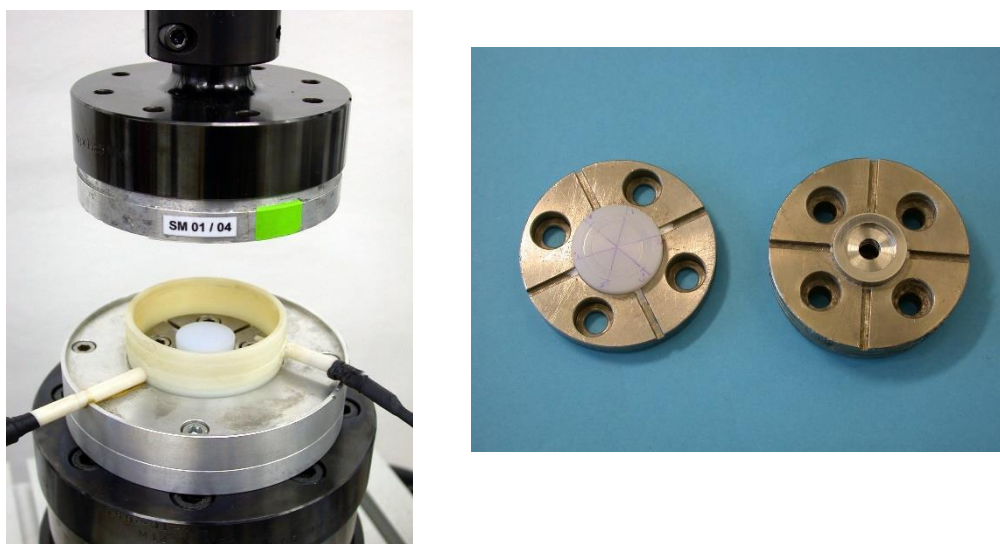
Označení	Relativní hustota [%]	Mez kluzu [MPa]	Elastický gradient [GPa]
B – bez ošetření	27,94	$38,70 \pm 0,63$	$1,76 \pm 0,05$
B3 – povrchové leptání 3 min.	20,67	$31,66 \pm 1,66$	$1,31 \pm 0,13$
B6 – povrchové leptání 6 min.	15,91	$30,11 \pm 0,43$	$1,23 \pm 0,08$
H – HIP	25,89	$38,13 \pm 0,55$	$1,87 \pm 0,05$
H3 – HIP a povrchové leptání 3 min.	22,19	$31,50 \pm 0,94$	$1,48 \pm 0,11$
H6 – HIP a povrchové leptání 6 min.	14,75	$28,49 \pm 1,24$	$1,34 \pm 0,06$

5.6 Hodnocení odolnosti UHMWPE proti otěru – *Ring on Disc*

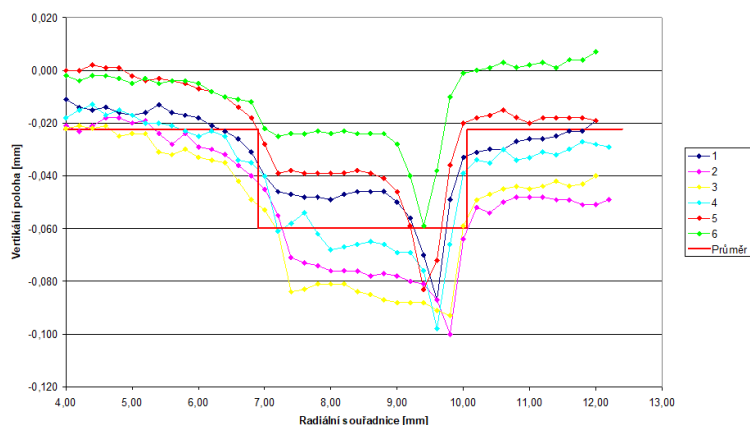
Polyetylen s ultra vysokou molekulovou hmotností (Ultra High Molecular Weight Polyethylene – UHMWPE) je biomateriál, který je hojně používán pro výrobu komponent totálních náhrad nejen velkých kloubů jako je kyčel nebo koleno. I přesto, že UHMWPE vykazuje vysokou biokompatibilitu a velmi dobré mechanické vlastnosti, jakými jsou např. extrémně vysoká houževnatost, nízký koeficient tření a vysoká odolnost vůči otěru, jeví se limitujícím faktorem použití tohoto materiálu právě otěr. Vzájemnou artikulací jednotlivých komponent totální kloubní náhrady totiž dochází v důsledku otěru UHMWPE k tvorbě

nežádoucích částic polyethylenu, jež mohou iniciovat zánětlivý proces a vést až k selhání implantátu. Dle výsledků mnoha studií je odolnost UHMWPE implantátu vůči otěru značně závislá na způsobu zpracování polymeru, způsobu a podmínkách sterilizace implantátu a podmínkách stárnutí UHMWPE před i po vlastní implantaci. Zvýšení odolnosti vůči otěru je pozorováno zejména u sterilizačních postupů využívajících vysokoenergetické záření (gama paprsků, beta paprsků či urychlených elektronů). Aplikace ionizujícího záření na UHMWPE implantáty vede ke změnám struktury polymeru, což výrazně ovlivňuje jeho finální vlastnosti [167], [168], [169], [170], [171].

Proto byla ve spolupráci s doc. Miroslavem Šloufem a jeho týmem z Ústavu makromolekulární chemie AV ČR a firmami PROSPON s.r.o. a WALTER, a.s. realizována studie zaměřená na hodnocení odolnosti proti otěru a opotřebení pro kombinace materiálů s novými úpravami a povrchy. **Tribologické zkoušky dle metodiky *Ring on Disc***, vycházející z normy ISO 6474-1 [37] a popsané v kapitole výše (viz Kap. 2.1.2.5) byly realizovány v naší laboratoři na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA), který byl osazen speciálními přípravky (viz Obr. 5.6). Grafický záznam měření profilu testovaných disků po dokončení zkoušky je možno vidět na obrázku níže (viz Obr. 5.7).



Obr. 5.6 Vzorky materiálů pro tribologické zkoušky využívající metodu *Ring on Disc* uchycené v přípravcích před testováním na systému MTS Mini Bionix (vlevo) a po zkoušce vyjmuté z přípravku (vpravo). Foto autor.



Obr. 5.7 Grafický záznam měření profilu disku po dokončení tribologické zkoušky metodou *Ring on Disc* pro kombinaci materiálu ze zirkoničité keramiky (Y-TZP) a UHMWPE s lisovaným povrchem [172].

Jednou z oblastí zájmu bylo **hodnocení technologie úpravy disků z UHMWPE pomocí ozařování γ -zářením (tzv. síťování)**. Byly otestovány dvě skupiny vzorků, kde první skupina nebyla ozařována vůbec a druhá skupina byla ozařena γ -zářením dávkou **100 kGy** při rychlosti $2,5 \text{ kGy} \cdot \text{hod}^{-1}$. Prstence tvořící testovaný pár byly vyrobeny z biokompatibilní slitiny Co-Cr-Mo. Provedené zkoušky ukázaly, že **rozdíl mezi hodnotami opotřebeného objemu je 15 % ve prospěch provedení síťování UHMWPE** [173].

Zkoušky zaměřené na hodnocení odolnosti biomateriálů proti otěru a opotřebení byly realizovány s **mnoha kombinacemi materiálů a jejich povrchů**. Zjištěné objemy opotřebeného materiálu z disku byly $0,16\text{--}7,59 \text{ mm}^3$. Detaily jsou přehledně uvedeny v následující tabulce (viz Tab. 5.2) [172].

Tab. 5.2 Parametry hodnotící odolnost proti otěru při zkoušce metodou *Ring on Disc* zjištěné pro kombinace různých druhů biokeramiky, UHMWPE a PEEK [172].

Specifikace materiálu		Objem opotřebeného materiálu [mm ³]
Prstenec (<i>Ring</i>)	Disk	
Zirkoničitá keramika (Y-TZP)	Korundová keramika (Al ₂ O ₃)	0,16
Zirkoničitá keramika (Y-TZP)	UHMWPE – lisovaný povrch	2,95
Zirkoničitá keramika (Y-TZP)	UHMWPE – soustružený povrch	4,64
Korundová keramika (Al ₂ O ₃)	UHMWPE – povrch lisovaný na leštěnou plochu	4,89
Titanová slitina Ti ₆ Al ₄ V s DLC povrchem	UHMWPE	6,61
Titanová slitina Ti ₆ Al ₄ V s DLC povrchem na Ti	PEEK	6,80
Titanová slitina Ti ₆ Al ₄ V s DLC povrchem na Cr	PEEK	7,50

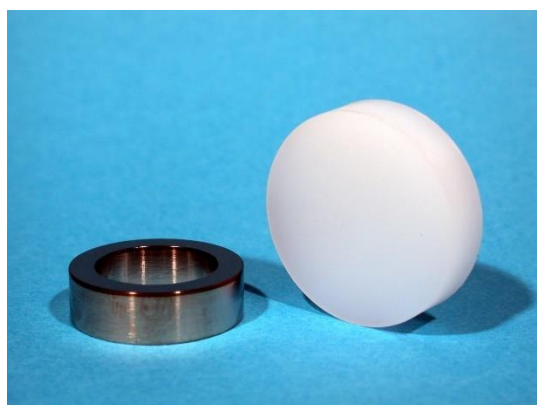
Specifičnosti realizovaných zkoušek:

- K nalepení keramického nebo kovového prstence do přípravku bylo použito lepidlo na tenzometry RAPID ADHESIVE X 60 (polymethylmethakrylát). Disky z UHMWPE byly do přípravku lepeny kyanoakrylátovým lepidlem.
- Destilovaná voda, která se v průběhu 100 hodin zkoušení odpařovala, byla doplňována peristaltickým čerpadlem s volitelnou rychlostí dávkování, aby nedošlo k přetečení přípravku (viz Obr. 5.8).



Obr. 5.8 Peristaltické čerpadlo PCD 21 používané při tribologické zkoušce Ring on Disc. Foto autor.

Část experimentů hodnotících odolnost proti otěru byla zaměřena na **vliv gradientních povrchových vrstev DLC** (*Diamond Like Carbon*) připravovaných variantami metody PACVD a nanášených na základní materiál Ti6Al4V přes mezivrstvy Cr nebo Ti. Vrstvy DLC jsou amorfní vrstvy na bázi uhlíku s významným zastoupením vazeb sp³. Pro vytváření DLC vrstev existuje několik metod. V tomto případě byla použita kombinovaná metoda IBM/PACVD. Princip této metody spočívá v kombinaci depozice uhlíkové vrstvy metodou PACVD (*Plasma Assisted Chemical Vapour Deposition*) a atomárního mísení deponované vrstvy svazkem vysokoenergetických iontů (IBM – *Ion Beam Mixing*). DLC amorfní povrchová vrstva byla vytvořena týmem pracovníků prof. Černého na Ústavu fyziky, Fakulty strojní, Českého vysokého učení technického v Praze. Předpokládané využití uvedených povrchových vrstev je při výrobě částí kloubních náhrad (např. hlavice kyčelního kloubu nebo femorální komponenty kolenní náhrady), které jsou v kluzné dvojici v kontaktu zpravidla s vložkou z UHMWPE. **Zjištěný objem opotřebeného materiálu** při prvních ověřovacích experimentech, kdy došlo k narušení deponované vrstvy, **byl 6,6 mm³** [174].



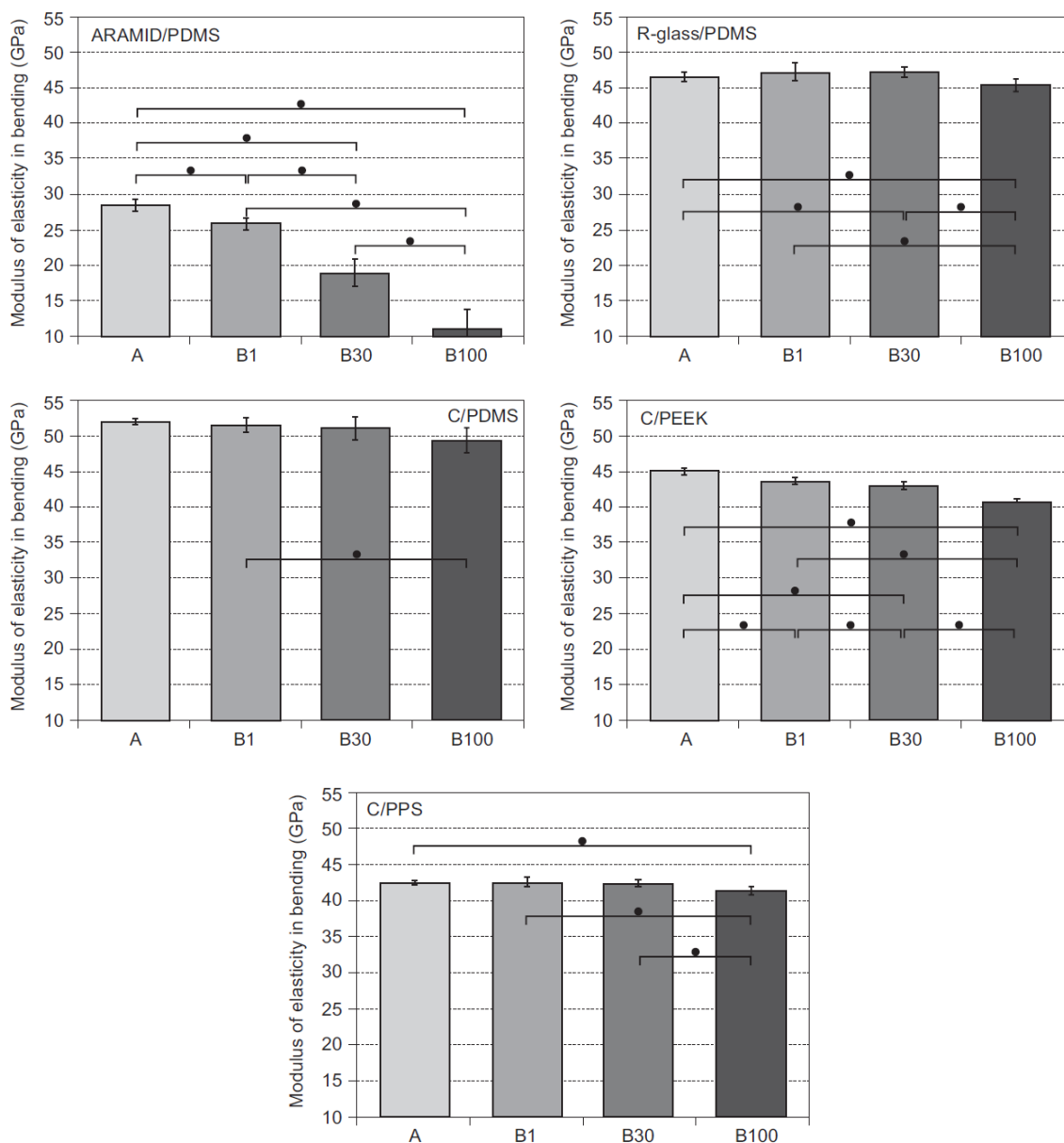
Obr. 5.8 Dvojice zkušebních položek pro tribologickou zkoušku metodou Ring on Disc – titanová slitina Ti6Al4V s DLC povrchem (vlevo) x UHMWPE (vpravo). Foto autor.

5.7 Účinky sterilizace na vlastnosti radiolucenčních vláknových kompozitů

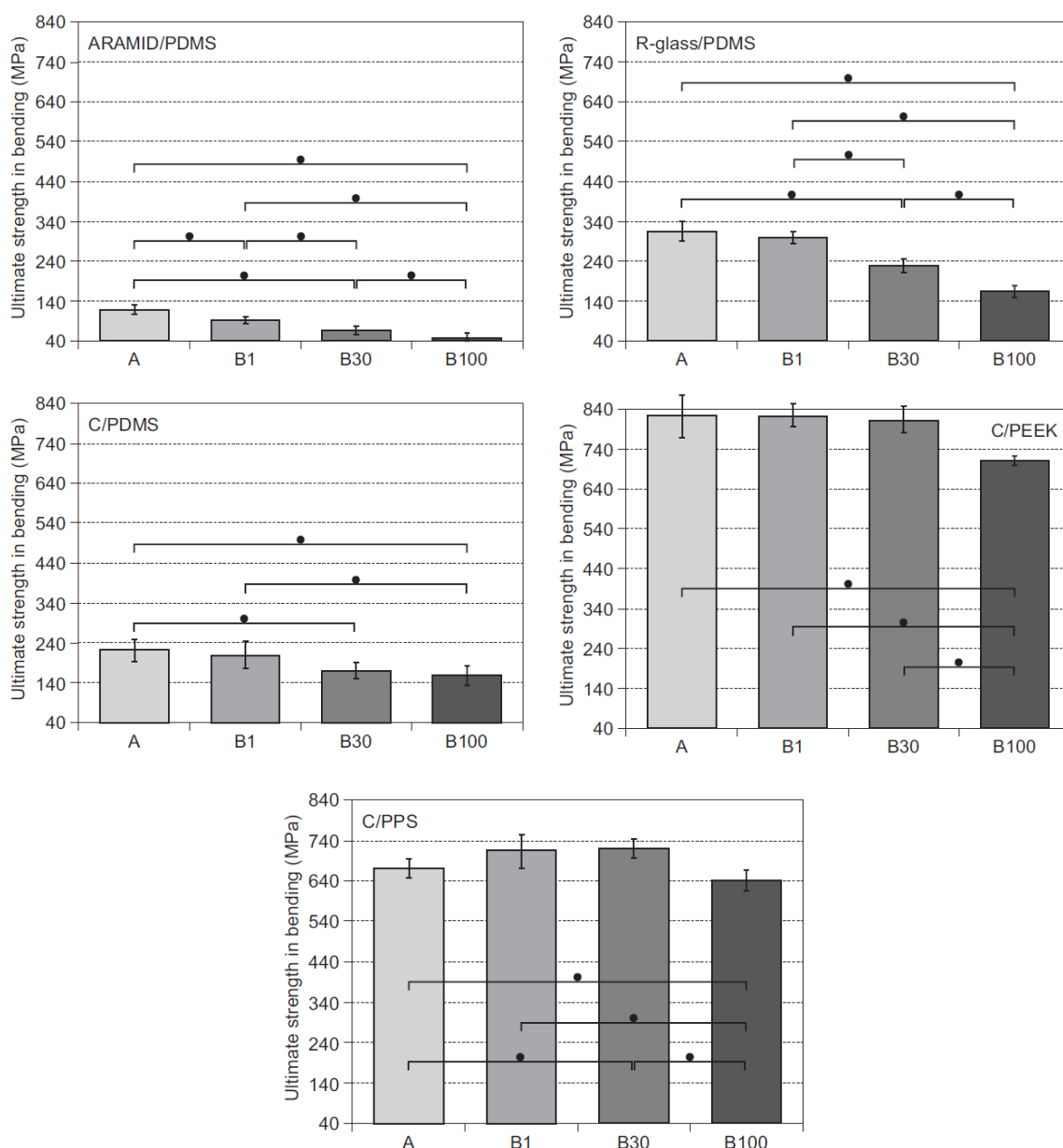
Kovové biomateriály, jako je nerezová ocel a slitiny titanu, se tradičně používají při konstrukci lékařských zařízení. Vykazují vhodné mechanické, fyzikální i chemické vlastnosti a jsou kompatibilní s široce používanými sterilizačními technikami. Jsou však také obecně rentgenokonstrastní. Z tohoto důvodu poskytují špatnou radiografickou kvalitu při použití konvenčních zobrazovacích technik, jako je rentgen, rentgenová počítačová tomografie nebo magnetická rezonance. Pro operátora a pro další klinický personál mohou být potíže se získáním dobrých snímků implantátů v rámci nebo po chirurgickém umístění stejně významné jako dlouhodobé problémy, např. opotřebení implantátu a kostní resorpce. Přesné intraoperační zobrazení je v ortopedii životně důležité, aby bylo dosaženo přesné repozice zlomenin, přesné umístění implantátů nebo šroubů a správné umístění osteotomií. Proto se do popředí zájmu dostávají radiopropustné a mechanicky stabilní materiály odolné sterilizačním procesům, které nestíní zobrazovacím technikám a umožňují zkrácení doby působení záření [175], [176], [177], [178].

Proto byla ve spolupráci s Ing. Suchým a jeho týmem z Ústavu struktury a mechaniky hornin AV ČR realizována studie zaměřená na hodnocení mechanických vlastností vláknových radiolucenčních kompozitních materiálů po opakovaných sterilizacích. Vyztužené kompozity byly složeny z uhlíkových (C), aramidových nebo skleněných (R-glass) tkanin uložených v matrici polydimethylsiloxanu (PDMS), polyetheretherketonu (PEEK) nebo polyfenylsulfidu (PPS). V naší laboratoři byly na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném citlivým silovým snímačem s rozsahem 500 N (relativní chyba měření síly 0,2 %) provedeny **ohybové zkoušky** (metodika viz Kap. 2.1.2.1). Byly stanoveny mechanické vlastnosti ve směru osy vlákna, konkrétně **mez pevnosti v ohybu** při nastavení třibodového ohybu a **Youngův modul pružnosti v ohybu** při nastavení čtyřbodového ohybu v souladu s ČSN EN ISO 14125 [34]. Tyto vlastnosti byly měřeny před sterilizací (A), po 1 periodě sterilizačního procesu (B1), po 30 (B30) a po 100 (B100) periodách sterilizačního procesu. K sterilizování byl použit autokláv (Sterident, PRODENTA, Česká republika) pro parní sterilizaci (134 °C, 304 kPa, 10 min).

Zjištěné mechanické vlastnosti vzorků po sterilizacích jsou pro porovnání s nesterilizovanými vzorky zobrazeny v grafech (viz Obr. 5.9 a Obr. 5.10). Youngův modul pružnosti v ohybu je ovlivněn vícenásobnou sterilizací. Zejména v případě kompozitu ARAMID/PDMS se po 100 sterilizačních cyklech hodnota snížila o 60 %. Na rozdíl od toho u dalších materiálů už nebyly změny tak výrazné. U kompozitu C/PEEK došlo ke snížení o 10 %, u C/PDMS, R-glass/PDMS a C/PPS o 5 %. Mezní pevnost v ohybu vykazuje statisticky významný pokles po 100 sterilizačních cyklech u všech studovaných kompozitů. Nejvyšší pokles lze pozorovat u kompozitu ARAMID/PDMS, a to o 60 %. Další pokles pevnosti je následující: R-glass/PDMS o 45 %, C/PDMS o 28 %, C/PEEK o 13 % a C/PPS o 5 %.



Obr. 5.9 Youngův modul pružnosti v ohybu kompozitních materiálů před sterilizací (A), po 1 (B1), po 30 (B30) a po 100 (B100) sterilizačních cyklech; n = 14; *p < 0,05 [179].



Obr. 5.10 Mez pevnosti v ohybu kompozitních materiálů před sterilizací (A), po 1 (B1), po 30 (B30) a po 100 (B100) sterilizačních cyklech; $n = 14$; $*p < 0,05$ [179].

Zjištěné poklesy jak modulu, tak pevnosti kompozitu ARAMID/PDMS ukazují, že vazba mezi matricí a výztuží není příliš těsná a je hydrolyticky nestabilní. Tento předpoklad je podpořen obrazovou analýzou a rostoucí porozitou po sterilizaci. Absorpce vlhkosti aramidovými vlákny je pravděpodobně dalším faktorem, který proces ovlivňuje [180]. **V případě kompozitu R-sko/PDMS byl prokázán pokles pevnosti, který pravděpodobně souvisí se zvýšením otevřené pórovitosti.** Ta umožňuje zvýšení rychlosti difúze vody a bobtnavé efekty pak vedou k rozvoji vnitřního napětí a dalšímu narušení rozhraní. V případě kompozitů s PDMS matricí můžeme tedy očekávat změny mechanických vlastností během sterilizace [181], [182], [179], [183].

6 Zkoušení materiálů pro tkáňové inženýrství

6.1 Úvod

Zlomeniny a defekty kostí jsou považovány za nejčastější příčinu zdravotních omezení soudobých pacientů. K obnově poškozených kostí s defekty přesahujícími kritickou velikost pro samoléčení kostí se tradičně používají kostní štěpy. Ačkoli byly kostní autotransplantáty považovány za zlatý standard pro takové aplikace jsou spojeny s významnými nevýhodami, jako je bolest v místě odběru, prodloužený operační čas a riziko infekce v období hojení. Jakmile je kostní defekt naplněn hematodem nebo vláknitou tkání, často se stává živnou půdou pro bakterie a vede k rozvoji osteomyelitidy [70], [184], [185], [186].

Proto je v současné době v tkáňovém inženýrství věnována velká pozornost přípravám alternativních syntetických štěpů. Kostní scaffoldy (trojrozměrné syntetické štěpy) jsou obvykle vyrobeny z porézních rozložitelných materiálů a poskytují potřebnou podporu během regenerace kostí. Významnou roli hraje příprava scaffoldů, které umožňují osidlování buněk a přeměnu na nativní buněčné struktury. Ideální kostní scaffold by měl splňovat mnoho náročných materiálových a geometrických požadavků, jako jsou osteogenní a strukturní vlastnosti. Přínosem je i možnost programovatelného lokálního uvolňování potřebných léků. Dalším důležitým požadavkem na scaffoldy je resorbovatelnost s řízenou biodegradací, která by měla odpovídat růstu nové tkáně. Ta má za následek žádoucí převzetí mechanického zatížení a přeměnu na nově tvořenou nativní buněčnou strukturu [187], [188], [189], [190].

Mezi další požadavky na scaffoldy, které mají stále větší význam při opravách velkých kostí, patří dostatečná mechanická pevnost a odolnost. Proto je důležité sladit mechanické vlastnosti scaffoldů s vlastnostmi tkáně, kterou nahrazují. V případě scaffoldů, které mají být použity v kostním tkáňovém inženýrství, je důležité, aby jejich mechanické vlastnosti byly navrženy tak, aby byly podobné trabekulární nebo kortikální kostní tkáni. Publikovaná pevnost v tlaku, resp. modul pružnosti pro trabekulární kost je v rozmezí 0,7–15,0 MPa, resp. $0,1 \pm 22,2$ GPa [191], [192].

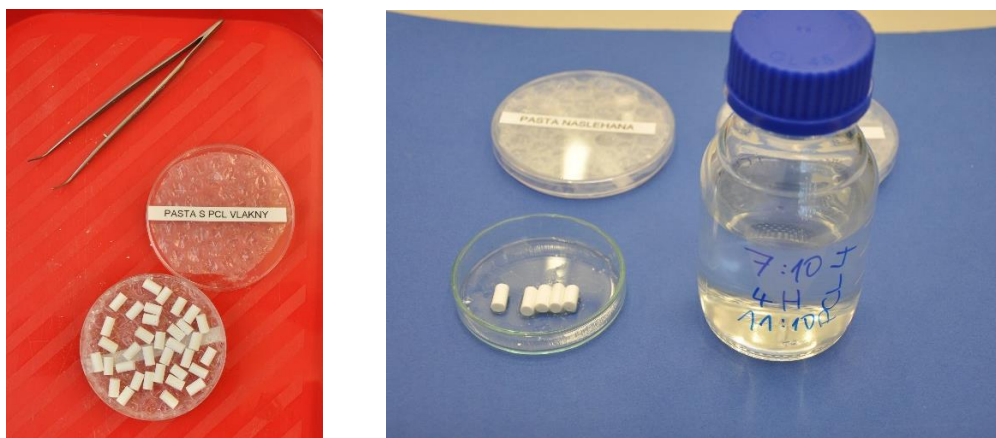
V případě řešení zlomenin a defektů s využitím implantátů je velmi důležité, aby nebyl ohrožen proces osseointegrace. Velmi důležitá je primární stabilita implantovaných náhrad, tj. stupeň mechanického ukotvení implantátu. Mezi dosud nepoužívanější materiály používané pro zaplnění kostních defektů a fixaci implantátů nahrazujících velké klouby patří polymethylmethakrylát (PMMA) doplněný případně o antibiotika. Ačkoli byly tyto kostní cementové distanční prvky považovány za zlatý standard, jsou spojeny s vysokou teplotou vytvrzování, která způsobuje tepelnou nekrózu kostí a také omezuje možné použití antibiotik. Kvůli nevýznamné degradaci materiálu PMMA nemůže také docházet k nahrazování novotvořenou kostní tkání. S ohledem na překonání nevýhod je tedy kladen vysoký důraz na vývoj nových náhradních systémů založených na pokročilých kompozitních materiálech [193], [194], [195].

Proto jsou další kapitoly věnovány zkušenostem autora s hodnocením vlivu složení a přidávání funkčních aditiv do základních struktur scaffoldů, jejich modifikacím, uspořádání a velikosti vláken, vlivu hydratace, degradace a použitých simulovaných tělních prostředí na mechanické vlastnosti.

6.2 Analýza mechanických vlastností porézních keramických scaffoldů pro náhrady kostní tkáně

Jedním z nových materiálů využívaných pro přípravu scaffoldů určených pro náhradu kostní tkáně jsou samo tuhnoucí cementy na bázi kalcium fosfátů (CPC). Tyto materiály jsou bioaktivní, vstřebatelné a injektovatelné, což je činí velmi atraktivními při miniinvazivní chirurgii. Umožňují navíc eliminovat možnosti kostní infekce, aktivně stimulují regeneraci kostní tkáně a vlivem mini invazivní aplikace snižují zátěž pacienta při operačních zákrocích. Přestože prokazují vynikající biologické chování, jejich mechanické vlastnosti často omezují použití především na nenosné nebo mírně nosné uplatnění. Zlepšení nabízí různé polymerní a vláknenné přísady [196], [197], [198].

Proto byla ve spolupráci s doc. Lucy Vojtovou a jejím týmem z CEITEC – Vysokého učení technického v Brně realizována studie zaměřená na hodnocení vlivu materiálových modifikací na mechanické vlastnosti nových scaffoldů určených pro náhrady kostních tkání. **Tlakové zkoušky** byly realizovány v naší laboratoři na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA), který byl osazen dvěma tuhými deskami (metodika viz Kap. 2.1.1.2). Důležitým specifickým požadavkem k provádění tlakových zkoušek takovýchto materiálů je nutnost použití volně naklápěcí horní desky (viz Obr. 2.3), aby nedošlo k ovlivnění zjišťovaných parametrů. Silové účinky byly zaznamenávány citlivým snímačem s rozsahem 250 N (relativní chyba měření síly 0,3 %).



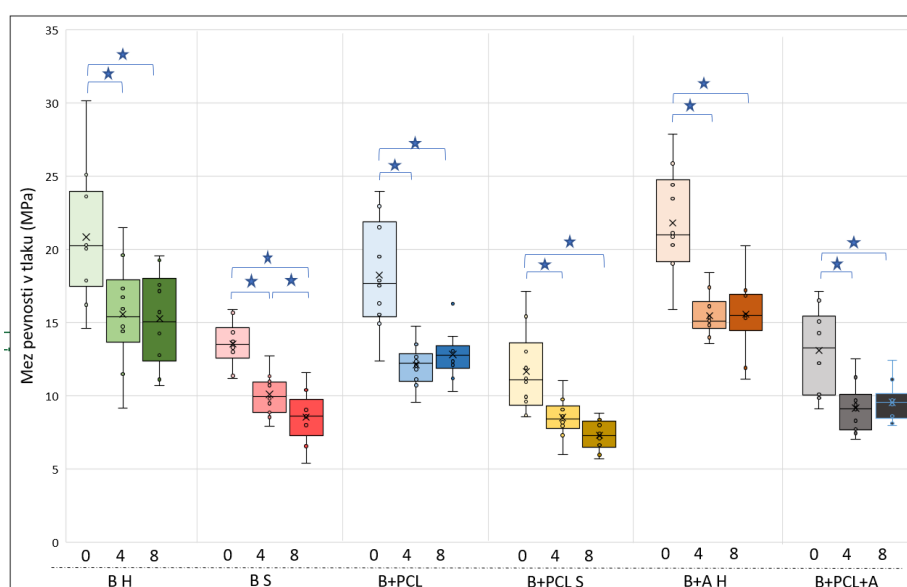
Obr. 6.1 Vzorčky porézních keramických CPC scaffoldů pro náhrady kostní tkáně připravené tlakovou zkouškou před hydratací (vlevo), vzorky vložené do degradačního roztoku kyseliny chlorovodíkové (vpravo). Foto autor.

Vyhodnocení získaných dat bylo zaměřeno na stanovení **meze pevnosti v tlaku, elastického gradientu napětí, absorbované energie a změn**, ke kterým dochází **během akcelerované biodegradace**. Hodnoceno bylo šest různých druhů keramických kompozitních scaffoldů CPC s podobnou makrostrukturou, ale s odlišným způsobem přípravy a přísad. Rozdělení vzorků do skupin a jejich označení je patrné z tabulky níže (viz Tab. 6.1). Ve snaze napodobit osteoklastické prostředí během remodelace kosti byla akcelerovaná degradace scaffoldů simulována v kyselém prostředí s pH 2, v roztoku kyseliny chlorovodíkové (viz Obr. 6.1). Hodnoceny byly vlastnosti ve čtyřech sledovaných časových intervalech – 10 min (označeno 0), 2 hod, 4 hod a 8 hod.

Tab. 6.1 Rozdělení a označení skupin vzorků keramických kompozitních scaffoldů na bázi kalcium fosfátových cementů s upřesněním způsobu přípravy a použitých přísad [199].

Označení	Aditiva	Příprava
B H	–	míchané ručně
B S	–	míchané strojově
B + PCL H	PCL vlákna	míchané ručně
B + PCL S	PCL vlákna	míchané strojově
B + A H	Dopamin	míchané ručně
B + PCL + A S	PCL vlákna + Dopamin	míchané strojově

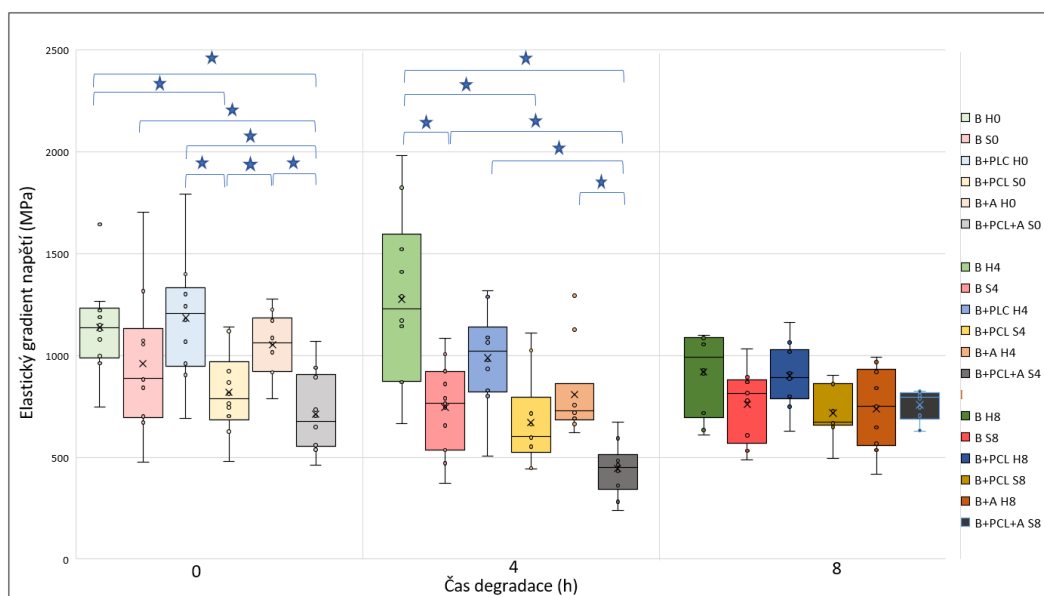
Scaffoldy vyrobené ze základního cementu (skupina B H) byly připraveny podle předchozí společné studie [200] z roztoku termosenzitivního kopolymeru na bázi kyseliny poly(mléčné), kyseliny poly(glykolové) a poly(ethylenglykolu) (PLGA-PEG-PLGA) a alfa-trikalciumfosfátu (α -TCP). Druhá skupina (označená B + PCL H) byla připravena přidáním polykaprolaktonových (PCL) vláken do základního cementu (viz Obr. 6.1). Vlákna byla připravena elektrostatickým zvlákněním (InoSPIN, INOCURE, Česká republika). Třetí typ vzorku (skupina B + A H) byl modifikován dopaminem. Poslední typ vzorku (B + PCL + A H) byl upraven kombinací vláken PCL a dopaminu. Jak je patrné z tabulky výše (viz Tab. 6.1), všechny testované materiály byly míchané ručně (H) nebo pomocí elektrického míchadla (S). Elektrické míchadlo SPEED STIRRER (Carl Roth GmbH, Německo) bylo vybráno za účelem zvýšení pórovitosti a homogenity cementu. Následně byl cement vstříkovan do válcových polyethylenových (PE) forem o velikosti 12 × 6 mm a umístěn do inkubátoru na 10 dní (37 °C, 100% vlhkost), aby byla zajištěna potřebná reakce tuhnutí.



Obr. 6.2 Hodnoty meze pevnosti v tlaku stanovené pro jednotlivé skupiny porézních keramických scaffoldů v intervalech působení degradačního média; * značí statisticky významné rozdíly mezi skupinami ($p < 0,05$, $n = 10$) [199].

Výsledky získané vyhodnocením provedených mechanických zkoušek jsou zobrazeny v grafech (viz Obr. 6.2 a Obr. 6.3) a je z nich mimo jiné patrné, že **cement míchaný elektrickým**

míchadlem vykazoval statisticky významně nižší mez pevnosti v tlaku při každém stavu degradace než při použití ručně míchaného cementu. Tento jev je způsoben vnesením vzduchových bublin do materiálu, což má za následek vyšší pórovitost materiálu. Tím je ale materiál také lépe připraven na osidlování nativními buňkami. Při minimální době degradační expozice (10 minut) dosáhly materiály B H, B + PCL H a B + AH hodnoty pevnosti kolem 20 MPa, zatímco u strojově míchaných materiálů byly **asi o 35 % nižší**. Po 4 a 8 hodinách se hodnoty pro B H, B + PCL H a B + A H pohybovaly kolem 14 MPa a ostatní materiály opět vykazovaly o 35 % nižší hodnoty. Dále bylo prokázáno, že **u každého materiálu došlo k významnému snížení pevnosti již po 4 hodinách degradace**. Nejvýznamnější pokles nastal u materiálu B + A H, kdy hodnota po 4 hodinách poklesla o téměř 30 %. U ostatních materiálů činil tento pokles přibližně 20 % [199].



Obr. 6.3 Hodnoty elastického gradientu napětí stanovené pro jednotlivé skupiny porézních keramických scaffoldů v intervalech působení degradačního média; * značí statisticky významné rozdíly mezi skupinami ($p < 0,05$, $n = 10$) [199].

Z pohledu hodnocení **elastického gradientu napětí** bylo zjištěno, že ke statisticky významným změnám dochází v průběhu prvních 4 hodin, nicméně **po 8 hodinách degradace již nebyly mezi skupinami významné rozdíly** a hodnoty byly 700–1 000 MPa. **Absorbovaná energie** pro všechny skupiny scaffoldů před degradací dosahovala 1,6–2,4 MJ·m⁻³ a mezi skupinami **nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly**. Po vystavení kyselému prostředí se absorbovaná energie statisticky významně snížila asi o 0,5 MJ·m⁻³ [201].

Podle dosažených výsledků se **CPC scaffoldy s vlákny PCL a dopaminem jeví jako ideální kombinace** testovaných materiálů **pro náhradu kostí** díky dostatečným mechanickým vlastnostem, které odpovídají současně používaným kostním cementům i spongiózní kosti, uspokojivým strukturálním vlastnostem a ve srovnání s jinými testovanými materiály i zlepšenými biologickými vlastnostmi.

6.3 Účinek různých podmínek síťování na vlastnosti nanokompozitních kolagenových scaffoldů

Další skupina nanokompozitních scaffoldů, jejichž cílem je napodobit kostní extracelulární matrix a jsou vhodné pro kostní chirurgické aplikace, je postavena na polylaktidových nano a submikronových vláknech vyrobených metodou elektrostatického zvlákňování. Přírodní kolagenová matrice je doplněna hyaluronátem sodným a přírodními nanočásticemi fosforečnanu vápenatého (bioapatit, bCaP). Na vlastnosti těchto scaffoldů má však výrazný vliv způsob přípravy, zejména použití různých zesíťovacích činidel [202], [203], [204], [205].

Proto byla ve spolupráci s Ing. Suchým a jeho týmem z Ústavu struktury a mechaniky hornin AV ČR realizována studie zaměřená na hodnocení vlivu podmínek zesíťování na velikost pórů, strukturu a mechanické vlastnosti scaffoldů. Sledovány byly vlivy tří činidel, která jsou v literatuře běžně publikována jako PBS (*Phosphate Buffer Saline*) nebo ethanolový roztok EDC/NHS a PBS roztok s genipinem [203], [206]. V naší laboratoři byly na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném citlivým silovým snímačem s rozsahem 250 N (relativní chyba měření síly 0,3 %) provedeny **tlakové zkoušky** (metodika viz Kap. 2.1.1.2). Rychlost posuvu při zatěžování byla $2,0 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$, což odpovídá rychlosti deformace $3 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

První skupina vzorků (označená EDC/NHS/EtOH) byla zesíťována roztokem ethanolu obsahujícím EDC a NHS, druhá skupina (označená EDC/NHS/PBS) byla zesíťována pomocí fyziologického roztoku fosfátového pufru (PBS) obsahující EDC/NHS. Třetí skupina (označená GENIPIN) byla zesíťována pomocí PBS obsahujícího genipin. Stanovena byla **mez pevnosti v tlaku** (σ_{pl}), **mez kluzu při deformaci 1 %** (σ_{ps}), **elastický gradient napětí** (E_g) a **absorbovaná energie** (W_a).

Tab. 6.2 Přehled mechanických vlastností stanovených při tlakových zkouškách nanokompozitních kolagenových scaffoldů [207].

	σ_{pl} [MPa]	E [MPa]	σ_{ps} [MPa]	W [MJm ⁻³]
Originál nesíťované	0,51 ± 0,10	11,20 ± 4,01	0,50 ± 0,02	0,26 ± 0,03
EDC/NHS/EtOH	0,86 ± 0,26 *	24,70 ± 9,97 *	0,67 ± 0,09 *	0,42 ± 0,13 *
EDC/NHS/PBS	1,01 ± 0,17 *	29,90 ± 5,08 *	0,83 ± 0,08 *	0,50 ± 0,06 *
GENIPIN	1,98 ± 0,32 *	57,30 ± 7,21 *	1,50 ± 0,10 *	0,91 ± 0,11 *

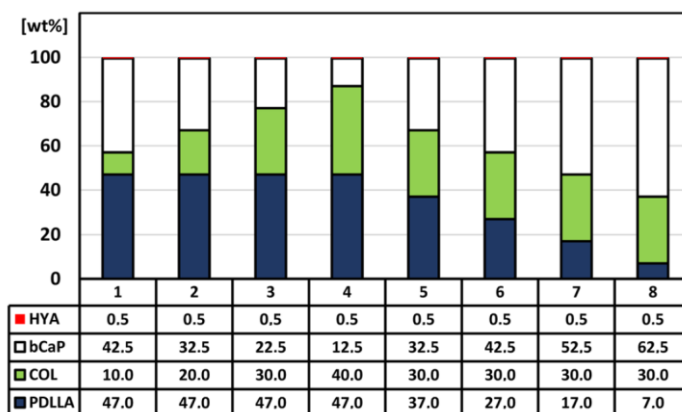
* Statisticky významné odlišnosti oproti originálním nesíťovaným vzorkům ($p < 0,05$, $n = 5$, Mann-Whitney)

Zjištěné mechanické vlastnosti vyrobených scaffoldů jsou uvedeny v tabulce (viz Tab. 6.2). Mez pevnosti v tlaku byla dosažena 0,86–1,98 MPa a modul pružnosti v tlaku 24,7–57,3 MPa. Uvedené hodnoty jsou v rozsahu mechanických vlastností stanovených u trabekulární kosti a nalezených v literatuře (viz Kap. 6). **Po použití všech zesíťovacích činidel statisticky významně vzrostla pevnost v tlaku i modul pružnosti. Nejvyšší hodnoty pevnosti v tlaku a hodnoty modulu pružnosti byly prokázány u vzorků zesíťovaných genipinem.** Zlepšení odolnosti proti zatěžování v tlaku po zesíťování je ilustrováno zvýšením stanovené absorpce energie. I zde byly nejvyšší hodnoty získány pro vzorky zesíťované genipinem [207].

6.4 Analýza vlivu hydratace na mechanické vlastnosti kolagenových scaffoldů

Kolagenové kompozitní scaffoldy jsou hojně využívány ve studiích tkáňového inženýrství. Hydratace těchto vysoce porézních a hydrofilních struktur může ovlivnit mechanické chování a pórovitost v důsledku bobtnání. Rozdíly ve fyzikálních vlastnostech po hydrataci by měly významný vliv na osidlování, růst a diferenciaci buněk *in vitro* a pro celkovou použitelnost takových hydrofilních materiálů *in vivo* [208], [209], [210].

Proto byla ve spolupráci s Ing. Tomášem Suchým a jeho týmem z Ústavu struktury a mechaniky hornin AV ČR realizována studie zaměřená na hodnocení vlivu podmínek hydratace na mechanické vlastnosti kolagenových scaffoldů. Materiály na bázi kolagenové matrice (COL), poly(DL-laktidových) submikronových nanovláken (PDLLA), částic bioapatitu (bCaP) a hyaluronátu sodného (HYA) s 8 různými materiálovými složeními (viz Obr. 6.4) byly charakterizovány v suchém a hydratovaném stavu pomocí rentgenové mikropočítačové tomografie, tlakových zkoušek, měření hydraulické propustnosti, degradačních testů a infračervené spektrometrie. Hydratace, simulující podmínky buněčné kultivace, probíhala v médiu α MEM (Life Technologies, USA) při teplotě 37 °C a v atmosféře 5 % CO₂ po dobu 24 a 48 hod. V naší laboratoři byly na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném citlivým silovým snímačem s rozsahem 10 N resp. 100 N (relativní chyba měření síly obou snímačů 0,3 %) provedeny **tlakové zkoušky** (metodika viz Kap. 2.1.1.2). V každé z osmi testovaných skupin bylo šest válcových vzorků o průměru 6,2 mm a výšce 8,5 mm (tj. poměr výšky vzorku k průměru byl 1,4). Rychlost posuvu při zatěžování byla 3,0 mm·min⁻¹, což odpovídá rychlosti deformace 5·10⁻³ s⁻¹.

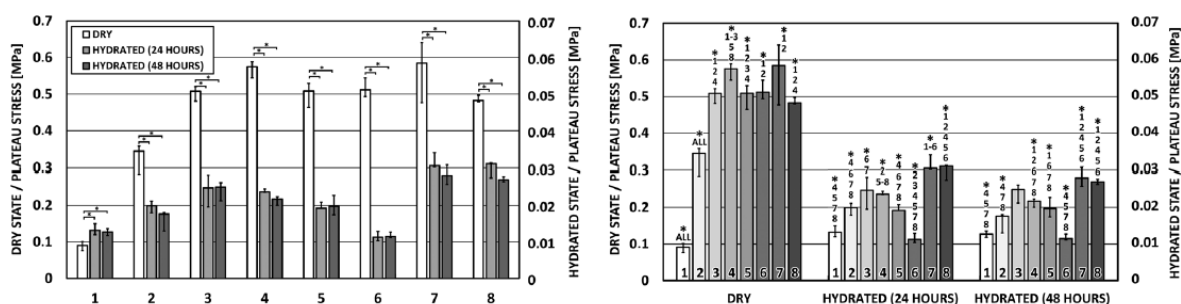


Obr. 6.4 Složení osmi materiálových skupin kolagenových scaffoldů podrobených zkouškám na zjištění vlivu hydratace na jejich mechanické vlastnosti [11].

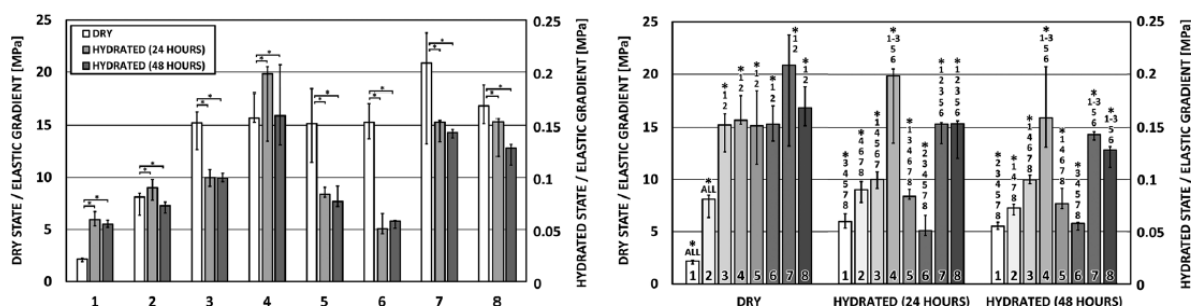
Vyhodnocením provedených zkoušek byla stanovena **mez pevnosti v tlaku** (σ_{pl}), **elastický gradient napětí** (E_g), **absorbovaná energie** (W_a) a **účinnost absorbování energie** (W_e). Zjištěné hodnoty jsou přehledně uvedeny v grafech níže (viz Obr. 6.6 až Obr. 6.7) a je z nich zřejmé, že mechanické vlastnosti scaffoldů byly ovlivněny jejich složením, konkrétně hmotnostním nebo objemovým poměrem jednotlivých komponent. V této studii měla **kolagenová matrice zásadní vliv na vlastnosti v suchém i hydratovaném stavu. V suchém stavu způsobilo malé množství kolagenu (10–20 hm. %) snížení pevnosti v tlaku na 0,1–0,3 MPa a elastického gradientu napětí (modulu pružnosti) na 2–7 MPa. Ukázalo se, že 30–40 hm % kolagenu představuje dostatečné množství k zajištění vhodného spojení všech složek scaffoldu a udržení stabilní úrovně pevnosti v tlaku (cca 0,5 MPa) a elastického gradientu napětí**

(cca 15 MPa) vzorků 3–8 (viz Obr. 6.5 a Obr. 6.6). Rozdílné hmotnostní frakce PDLLA a bCaP neměly statisticky významný účinek na mechanické vlastnosti [11].

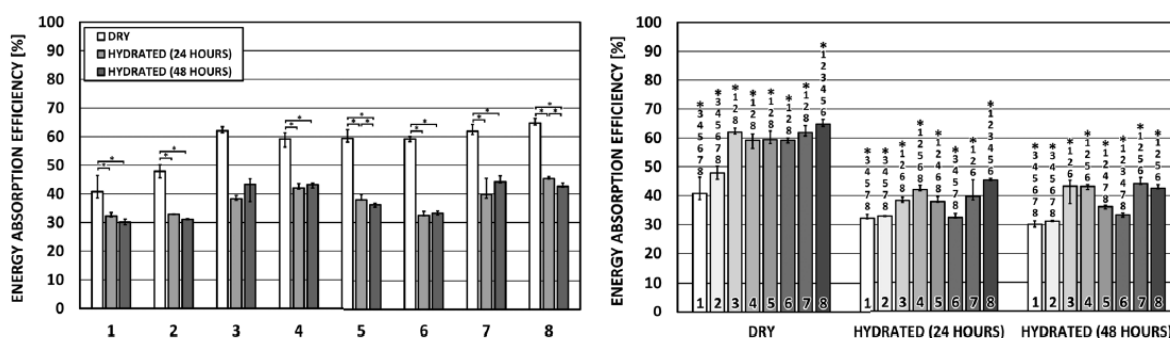
Elastický gradient napětí všech testovaných skupin poklesl bezprostředně po hydrataci (viz Obr. 6.6). Tento statisticky významný pokles představoval až stonásobné snížení tuhosti. Bylo zjištěno, že **dalších 24 hodin hydratace už nemá na tuhost významný vliv**. Podobný trend projevila **mez pevnosti v tlaku všech vzorků po hydrataci** (viz Obr. 6.5). Ta se u všech skupin **po 24 hodinách snížila až desetinásobně a po dalších 24 hodinách zůstala stabilní**. Na rozdíl od předchozích zjištění se **účinnost absorpce energie po hydrataci snížila pouze o 20 %** (viz Obr. 6.7). Tento parametr představuje schopnost materiálu účinně absorbovat deformační energii. Srovnání účinnosti absorpce energie v suchém a hydratovaném stavu ukázalo relativně malé změny vnitřní struktury scaffoldů po hydrataci.



Obr. 6.5 Mez pevnosti v tlaku kolagenových scaffoldů v suchém a hydratovaném stavu (po 24 a 48 hod.), vyjádřen medián a IRQ, * označuje statisticky významné odlišnosti mezi skupinami ($p < 0,05$) v různých stavech (vlevo) a mezi skladbami vzorků (vpravo) [11].



Obr. 6.6 Elastický gradient napětí (modul pružnosti) kolagenových scaffoldů v suchém a hydratovaném stavu (po 24 a 48 hod.), vyjádřen medián a IRQ, * označuje statisticky významné odlišnosti mezi skupinami ($p < 0,05$) v různých stavech (vlevo) a mezi skladbami vzorků (vpravo) [11].



Obr. 6.7 Účinnost absorbování energie kolagenových scaffoldů v suchém a hydratovaném stavu (po 24 a 48 hod.), vyjádřen medián a IRQ, * označuje statisticky významné odlišnosti mezi skupinami ($p < 0,05$) v různých stavech (vlevo) a mezi skladbami vzorků (vpravo) [11].

Souhrnně lze z výsledků provedené studie konstatovat, že hydratace, simulující podmínky buněčného osidlování a kultivace až do 48 hodin, měla malý vliv na morfologické parametry a propustnost testovaných kolagenových scaffoldů. Naopak, **mechanické vlastnosti všech testovaných skupin scaffoldů byly hydratací statisticky významně ovlivněny**. Modul pružnosti a mez pevnosti v tlaku u všech skupin scaffoldů poklesly o cca 95 %. Zjištěné kvantitativní výsledky potvrzují **důležitost analýzy scaffoldů v hydratovaném, nikoli suchém stavu**, protože přesněji simuluje skutečné prostředí, pro které jsou tyto materiály navrženy.

6.5 Vliv simulované biodegradace na strukturu a pevnost slinutých kalcium fosfátových kostních scaffoldů při *in vitro* zkouškách

Kalcium fosfátové (CaP) scaffoldy mají díky své podobnosti s kostním minerálem potenciál být plně resorbovány buňkami a použity jako stavební materiál pro tvorbu nové kosti. Tyto materiály vykazují slibné biologické vlastnosti. Jsou rozložitelné, osteokonduktivní, v některých případech dokonce osteoinduktivní a v současné době jsou nejčastěji studovanou keramikou pro kostní tkáňové inženýrství. Nejběžnější ortofosforečnany vápenaté používané jako biomateriály jsou málo rozpustné v destilované vodě, ale rozpouštějí se v kyselém prostředí. Na biodegradaci a resorpci CaP *in vivo* se podílejí dva procesy, jmenovitě fagocytický mechanismus zprostředkovaný makrofágy a kyselý mechanismus řízený osteoklasty [211], [212], [213].

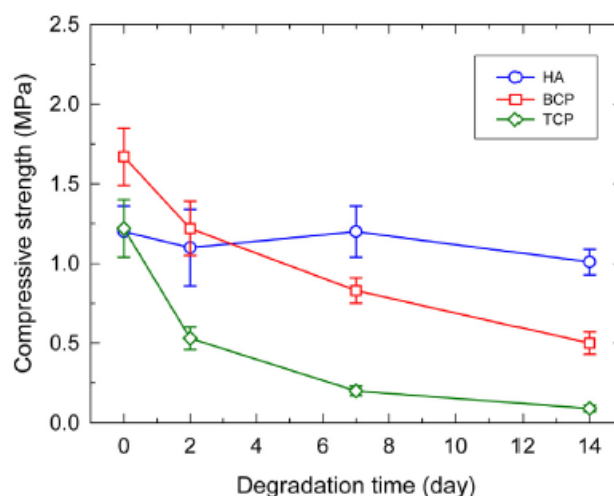
Velké kostní defekty vyžadují scaffoldy s dostatečnou pevností, a přitom vysokou makroporozitou. Na rozdíl od cementů vykazují slinuté keramické scaffoldy vyšší pevnost, ale nižší mikroporozitu a specifický povrch, protože keramická zrna jsou hustě zabalena v kompaktní struktuře. Je těžší, aby se takové scaffoldy rozpadly na jednotlivé částice nebo malé fragmenty. V případě slinutých scaffoldů je tedy jediným relevantním biodegradčním mechanismem kyselý mechanismus zprostředkovaný osteoklasty [184], [128].

Proto byla ve spolupráci s prof. Truncem a jeho týmem z CEITEC – Vysokého učení technického v Brně realizována studie zaměřená na hodnocení vlivu simulované biodegradace na mechanické vlastnosti a změny struktury nově vyvíjených scaffoldů. Materiály byly připraveny na bázi vysoce porézních slinutých CaP s různými fázovými strukturami podobnými buněčným pórům s otevřenou pórovitostí přes 80 %. Pozornost byla zaměřena na vliv dlouhodobého působení kyselého prostředí simulujícího osteoklastickou aktivitu buněk. Ta

byla simulována pufrům McIlvaine s pH 5,5 (citrát-fosfátový pufr; směs 0,1 M roztoku kyseliny citronové a 0,2 M roztoku fosforečnanu sodného) po dobu 2, 7 a 14 dnů. Pufrovací roztok byl vyměňován každých 48 hodin a před každou výměnou byla měřena změna pH.

V naší laboratoři byly na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovými snímači s rozsahem 250 N resp. 1 000 N (relativní chyba měření síly 0,3 %, resp. 0,15 %) provedeny **tlakové zkoušky** (metodika viz Kap. 2.1.1.2). Zkouškám byly podrobeny tři skupiny vzorků – hydroxyapatit (HAp), β -trikalciumfosfát (TCP) a bifázický fosforečnan vápenatý (BCP). Stanovena byla **mez pevnosti v tlaku** (σ_{pl}) a **absorbovaná energie** (W_a). V každé ze tří testovaných skupin bylo 15 válcových vzorků o průměru 15 mm a výšce 24 mm (tj. poměr výšky vzorku k průměru byl 1,6). Rychlost posuvu při zatěžování byla $4,0 \text{ mm}\cdot\text{min}^{-1}$, což odpovídá rychlosti deformace $3\cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

Zpracováním experimentálně získaných dat byly vytvořeny pracovní diagramy, stanoveny a porovnány strukturní degradace a změny pevnosti skeletů CaP po dlouhodobém vystavení kyselému prostředí simulujícímu osteoklastickou aktivitu buněk. Díky mikrostrukturálním vlastnostem dosáhla **mez pevnosti v tlaku scaffoldů BCP před degradací vyšší hodnoty 1,70 MPa (1,49–1,85 MPa) ve srovnání se scaffoldy na bázi hydroxyapatitu (HA) a β -trikalciumfosfátu (β -TCP), které oba vykazovaly hodnotu cca 1,20 MPa (1,04–1,36 MPa)** (viz Obr. 6.8). Hodnoty absorbované energie skeletů HA, TCP a BCP před degradací byly zjištěny $0,097 \text{ MJ}\cdot\text{m}^{-3}$; $0,063 \text{ MJ}\cdot\text{m}^{-3}$ a $0,151 \text{ MJ}\cdot\text{m}^{-3}$. Nejvyšších hodnot tedy dosahovaly scaffoldy BCP [214].

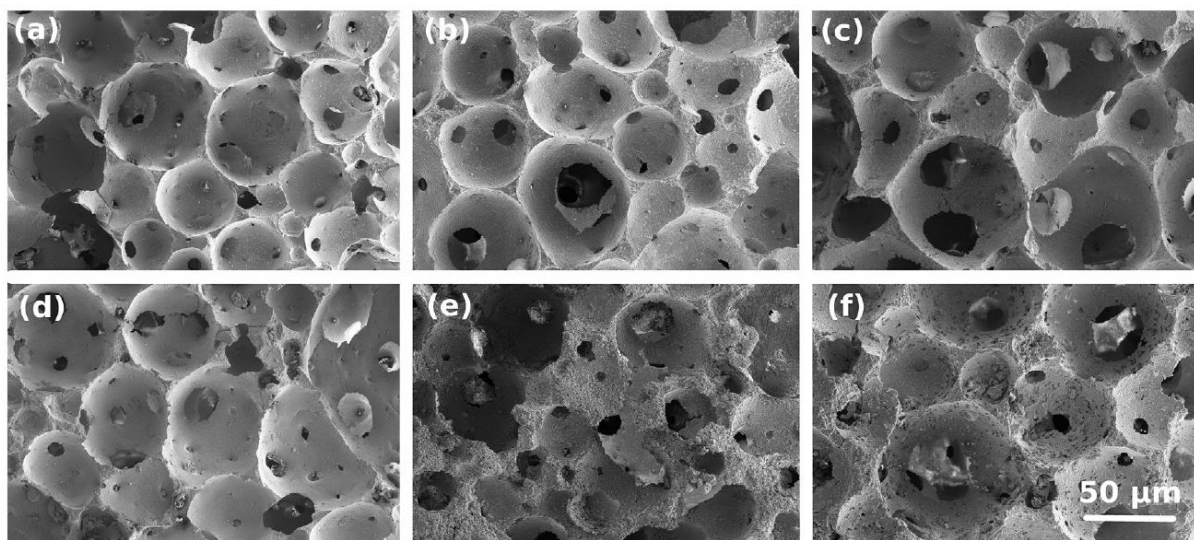


Obr. 6.8 Pevnost v tlaku CaP scaffoldů před a v průběhu degradace při působení kyselého prostředí simulujícího osteoklastickou aktivitu buněk [8].

Během 14denní expozice v kyselém pufrovací roztoku **nedošlo u scaffoldů HA ke statisticky významné změně meze pevnosti v tlaku** ($p < 0,05$). Naopak u scaffoldů TCP **pevnost po prvních 2 dnech strmě poklesla a po 14 dnech dosáhla zanedbatelné hodnoty 0,09 MPa**. Nejlepší chování bylo zaznamenáno u scaffoldů BCP, které **vykazovaly stálý pozvolný pokles meze pevnosti v tlaku až na hodnotu 0,5 MPa po 14 dnech** [215].

Ze strukturních analýz provedených na pracovišti CEITEC – Vysokého učení technického v Brně jsou zřejmé změny makrostruktury některých testovaných scaffoldů po 14 dnech působení kyselého prostředí simulujícího osteoklastickou aktivitu buněk (viz Obr. 6.9). Makrostruktura HA scaffoldu vypadala po 14 dnech degradace téměř neporušená, zatímco struktury TCP a BCP vykazovaly určité známky degradace. Přestože porézní makrostruktura

scaffoldů TCP a BCP zůstala zachována, ve stěnách pórů se objevují další jamky. Zejména u scaffoldu BCP eroze tenkých pórů vedla dokonce k tomu, že se mezi póry objevily nové otvory [8].



Obr. 6.9 Porovnání SEM snímků makrostruktury jednotlivých testovaných skupin CaP scaffoldů – HA (a), TCP (b) a BCP (c) před degradací; HA (d), TCP (e) a BCP (f) po 14 dnech působení kyselého prostředí simulujícího osteoklastickou aktivitu buněk [8].

Na základě provedených analýz lze konstatovat, že **scaffoldy BCP** s vysoce rozpustnou fází (α -TCP) zabudovanou do méně rozpustné matrice (β -TCP / HA) **vykazovaly kontrolovatelnou degradaci s vhodnou pevnostní stabilitou** a s příznivým biologickým chováním. Lze je tak považovat za velmi nadějně CaP keramické materiály pro vstřebatelný kostní scaffold.

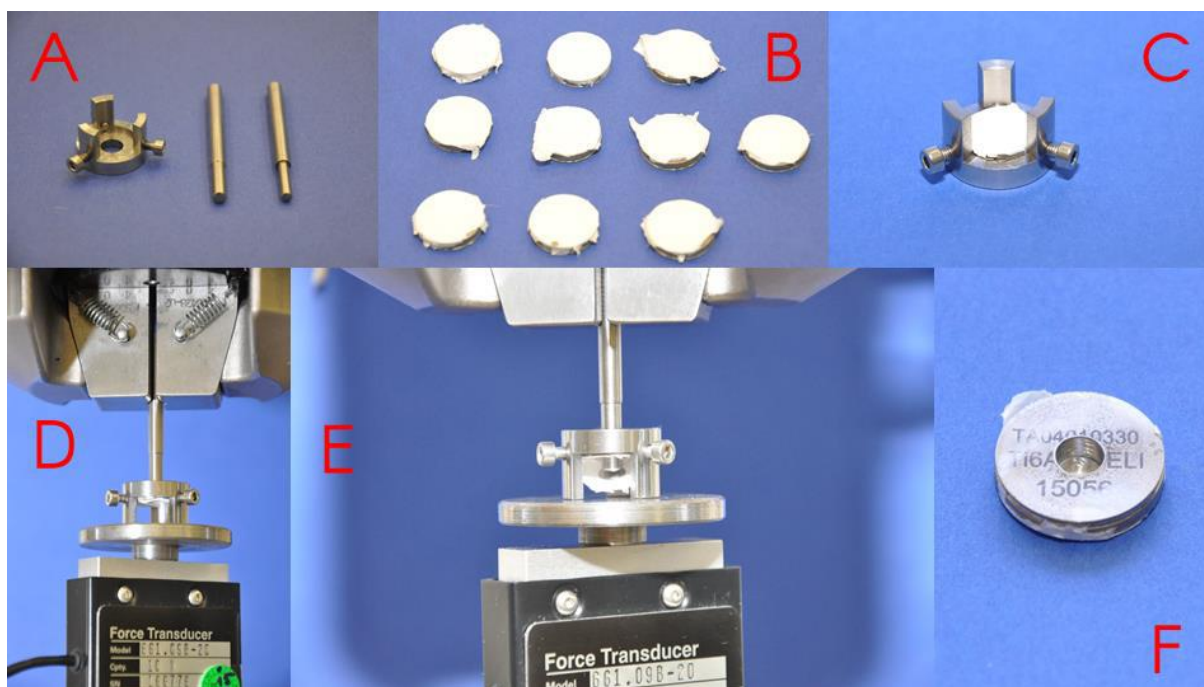
6.6 Zkoušky přilnavosti kompozitové kolagen-kalcium fosfátové nanovláčkové vrstvy k modifikovanému povrchu implantátu

Výzkumy ukazují, že pro náhrady pevných tkání, zejména kostí a velkých kloubů, by byla nejvhodnější kombinace kovového těla a povrchové úpravy kompozitem z hydroxyapatitu (HAp) a kolagenu (COL). Bylo také prokázáno, že pro zlepšení osseointegrace musí povrchová vrstva vhodně napodobovat porézní mikro nebo nanostrukturu příslušné tkáně. Vysoký potenciál dalšího využití mají elektrostaticky zvláknované nanovláčkové struktury, které obsahující HAp, jsou připraveny z roztoků přírodních kolagenů a nanášejí se na povrchy kovových implantátů. Uvedené vrstvy by současně mohly být funkcionalizovány např. antibiotiky pro zvýšení užitečných vlastností implantátů. Proto byla ve spolupráci s Ing. Suchým a jeho týmem z Ústavu struktury a mechaniky hornin AV ČR provedena studie zaměřená na ověření vlastností vytvořených porézních nanovláčkových struktur a hodnocení jejich přilnavosti k povrchu implantátu po jejich nanesení a zpracování, včetně ošetření vedoucích k zesíťování kolagenu a sušení nanosené vrstvy [151], [216], [217].

Pro účel **hodnocení přilnavosti vrstev k povrchu implantátu** byla v naší laboratoři vyvinuta nová metodika založená na **odtláčování nanosené vrstvy** od povrchu modelového implantátu. Detaily metodiky byly uvedeny výše (viz Kap. 2.5.2.1). Titanové disky s modifikovaným povrchem měly vnější průměr 15 mm. Byly do nich vyvrtány otvory o průměru 5 mm a byla na ně nanesena kolagen/CA-P vrstva. Zatěžující trn o průměru 4,5 mm

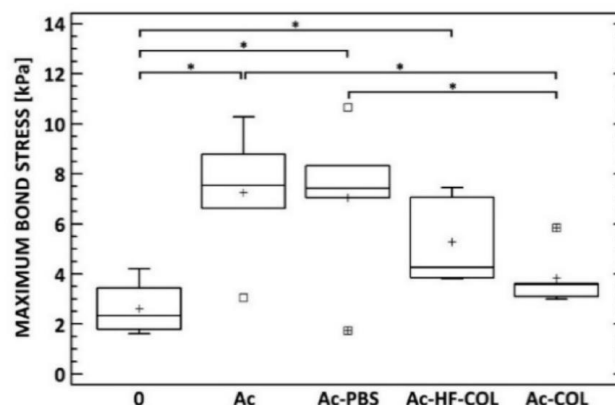
měl kontaktní plochu navrženu jako vrchlík koule o průměru 9 mm. Detaily z realizace zkoušek jsou na obrázku níže (viz Obr. 6.10).

Pro zjištění vlivu modifikací povrchu titanového implantátu (Ti6Al4V) na přilnavost nanášené vrstvy byly vytvořeny 4 skupiny po 10 vzorcích, které se lišily postupem chemického ošetření povrchu. První skupina vzorků (Ac) byla odmaštěna acetonem v ultrazvukové lázni (UL). Druhá skupina (Ac-PBS) byla odmaštěna (aceton, UL), okamžitě následovalo ponoření do fosfátového pufrovacího roztoku (PBS) a poté opláchnutí destilovanou vodou a vysušení v digestoři. Vzorky ze třetí skupiny (Ac-HF-COL) byly odmaštěny (aceton, UL), leptány po dobu 2 minut v roztoku kyseliny fluorovodíkové, propláchnuty vodou, vysušeny a okamžitě impregnovány zředěným roztokem kolagenu s vodou. Po zesítnění in situ byly vzorky opláchnuty pomocí destilované vody a sušeny v digestoři. Vzorky čtvrté skupiny (Ac-COL) byly odmaštěny (aceton, UL) a následně osušeny a impregnovány zředěným roztokem kolagenu a promyty po zesíťování, jak je popsáno výše u skupiny Ac-HF-COL. Neošetřené vzorky sloužily jako kontroly (0). Po těchto postupech byla na všechny vzorky nanášena kompozitová kolagen-kalcium fosfátové nanovláknenná vrstva [218].



Obr. 6.10 Detaily adhezní odtlačovací zkoušky: A – přípravek skládající se z objímky a trnu, B – titanové disky s nanosenou kolagen/Ca-P vrstvou, C – vzorek v přípravku před testem, D – zatěžování vzorku, E – detail odtlačování nanovláknenné vrstvy, F – detail otvoru v titanovém disku s nanokolagenní vrstvou. Foto autor.

Hodnotícím kritériem byla zvolena **pevnost v tahu spoje vrstvy a disku**, tj. byla zjišťována síla potřebná k odtržení vrstvy od substrátu (metodika viz Kap. 2.5.2.1). Experimenty proběhly na testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) v sestavě s velmi jemným silovým snímačem s rozsahem 10 N (relativní chyba měření síly 0,3 %). Naměřené hodnoty jsou uvedeny na obrázku níže (viz Obr. 6.11).



Obr. 6.11 Pevnost spoje při hodnocení vlivu provedené chemické úpravy povrchu titanového implantátu na přilnavost kolagen-kalcium fosfátové nanovlákněné vrstvy nanesené elektrostatickým zvlákňováním (* $p < 0,05$) [65].

Vyhodnocením realizovaných experimentů bylo zjištěno, že provedené **chemické úpravy povrchu titanového implantátu ovlivňují přilnavost** nanesené kompozitové **kolagen-kalcium fosfátové nanovlákněné vrstvy**. Velmi jednoduché **metody úprav povrchu, jako je odmašťování nebo ponoření do PBS, mohou významně zlepšit adhezi nanesené vrstvy** ($7,3 \pm 2,7$ kPa, resp. $7,0 \pm 3,3$ kPa vs. $2,6 \pm 1,0$ kPa). Rovněž byl prokázán očekávaný účinek leptání ($5,3 \pm 1,8$ kPa), zatímco **impregnace povrchu implantátu kolagenem neměla žádný účinek** ($3,8 \pm 1,2$ kPa) [65].

6.7 Hodnocení adheze injekčně aplikovatelného porézního kostního cementu ke kosti

Výhody porézních keramických materiálů na bázi kalcium fosfátů (CaP), které jsou využívány pro přípravu scaffoldů určených pro náhradu kostní tkáně, byly uvedeny již v předchozích kapitolách (viz Kap. 6.2 a 6.5). Velký potenciál využití mají samo tuhnutí injekčně aplikovatelné kalcium fosfátové cementy (CPC). Jejich uplatnění je však výrazně závislé na schopnosti adheze ke kosti [200], [219], [220], [221].

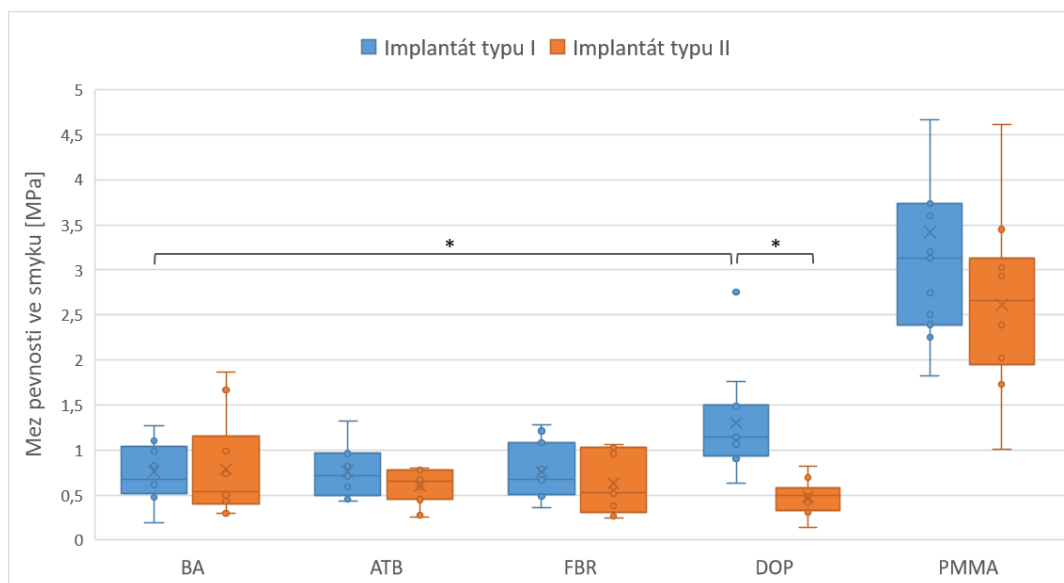
Proto byla ve spolupráci s doc. Lucy Vojtovou a jejím týmem z CEITEC – Vysokého učení technického v Brně realizována studie zaměřená na hodnocení adheze injekčně aplikovatelného porézního kostního cementu ke kosti. Pro tento účel byla v naší laboratoři vyvinuta a validována nová metodika **pull-out zkoušky**, jejíž detaily byly uvedeny výše (viz Kap. 2.5.2.2). Princip zkoušky spočívá ve vytahování implantátu, který byl porézním kostním cementem fixován v kosti. Při zatěžování dochází ke smykovému namáhání, kdy se kritickým jeví právě rozhraní cementu a kosti. Po překonání adhezních sil fixujících cement ke kosti dojde k vytažení implantátu. Příprava experimentů probíhala tak, že do bločků spongiózní kosti o rozměrech cca $20 \times 30 \times 20$ mm, které byly nařezány z prasečích femurů, byly vyvrtány otvory o průměru 5 mm a hloubce 9 mm. Do těchto otvorů byl injektován kostní cement a vložen implantát o průměru 4 mm a výšce 8 mm. Implantáty byly opatřeny vnitřním závitem M2, aby bylo možné do nich později zašroubovat vytahovací trn. Vytvrzování cementu probíhalo po dobu 72 hod. při teplotě 37°C a 100% vlhkosti. Z důvodu bránění rozvoje bakterií byla vlhkost zajištěna nasyceným vodným roztokem modré skalice.

Za účelem hodnocení vlivu různých aditiv na adhezi injekčně aplikovatelného porézního kostního cementu ke kosti bylo připraveno 5 druhů materiálu. První skupina představuje základní CPC bez aditiv (BA), který byl připraven podle předchozí společné studie [113] z triblokového kopolymeru PLGA-PEG-PLGA a alfa-trikalciumfosfátu. Druhá skupina je obohacena antibiotiky Vancomycin (MYLAN, Francie) (ATB), do třetí skupiny byla přidána polykaprolaktonová vlákna (INOCURE, Česká republika) (FBR), čtvrtá skupina byla obohacena o dopamin hydrochlorid (SIGMA-ALDRICH, Německo) a jodičnan sodný (PENTA, Česká republika) (DOP). Poslední skupina sloužila jako kontrolní a představuje ji polymethylmethakrylát (HERAEUS, Německo). Dále byl sledován vliv povrchu titanového implantátu vyrobeného ze slitiny Ti6Al4V ELI (ProSpon, Česká republika), a proto byly vybrány a kombinovány 2 typy (viz Obr. 6.12). První typ (I) byl vyroben konvenční technologií a opatřen plasmovým nástřikem hydroxyapatitu (HAp), druhý typ (II) byl vyroben aditivní technologií 3D tisku s povrchovou trabekulární strukturou. Celkem bylo připraveno 10 skupin, kdy každá skupina představovala 11 ks vzorků.



Obr. 6.12 Dva typy titanových implantátů s vnitřním závitem M2 pro hodnocení adheze injekčně aplikovatelného porézního kostního cementu (uprostřed) – typ I vyrobený konvenční technologií a opatřený plasmovým nástřikem hydroxyapatitu (vlevo), typ II vyrobený aditivní technologií 3D tisku s povrchovou trabekulární strukturou (vpravo) [222].

Experimenty proběhly na testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) v sestavě se silovým snímačem s rozsahem 2 500 N (relativní chyba měření síly 0,3 %). Zpracováním experimentálně získaných dat byly vytvořeny pracovní diagramy závislosti aplikované síly na vytažení implantátu a byla vyhodnocena **mez pevnosti ve smyku** (viz Obr. 6.13), **posunutí implantátu při porušení adheze, práce adhezních sil a účinnost**.



Obr. 6.13 Mez pevnosti ve smyku rozhraní kosti a injekčně aplikovatelného porézního kostního cementu skupin základního CPC bez aditiv (BA), obohaceného o antibiotika (ATB), doplněného o polykaprolaktonová vlákna (FBR), obohaceného o dopamin (DOP) a kontrolní skupiny polymethylmethakrylátu (PMMA) (* $p < 0,05$) [222].

Největší a statisticky významně odlišná **mez pevnosti ve smyku** rozhraní kosti a injekčně aplikovatelného porézního kostního cementu byla dle očekávání **dosázena u kontrolní skupiny PMMA**, a to pro oba typy implantátů 2,03–3,74 MPa ($n = 11$, $p < 0,05$). **Mezi materiály CPC statisticky významně vynikla přísada dopaminu**, kdy mez pevnosti ve smyku u implantátu typu I byla o 41 % vyšší než u skupiny BA I a současně dosáhla 37 % hodnoty PMMA I. Překvapivým zjištěním byl významný rozdíl mezi typy implantátu **skupin s dopaminem**, kdy **aditivně vyrobená trabekulární struktura dosáhla hodnoty meze pevnosti ve smyku o 57 % nižší a hodnoty práce adhezních sil nižší o téměř 63 %**. Obecně lze říci, že závěry z hodnocení práce adhezních sil a posunutí implantátu při porušení adheze korespondují se zjištěními týkajícími se meze pevnosti ve smyku [222].

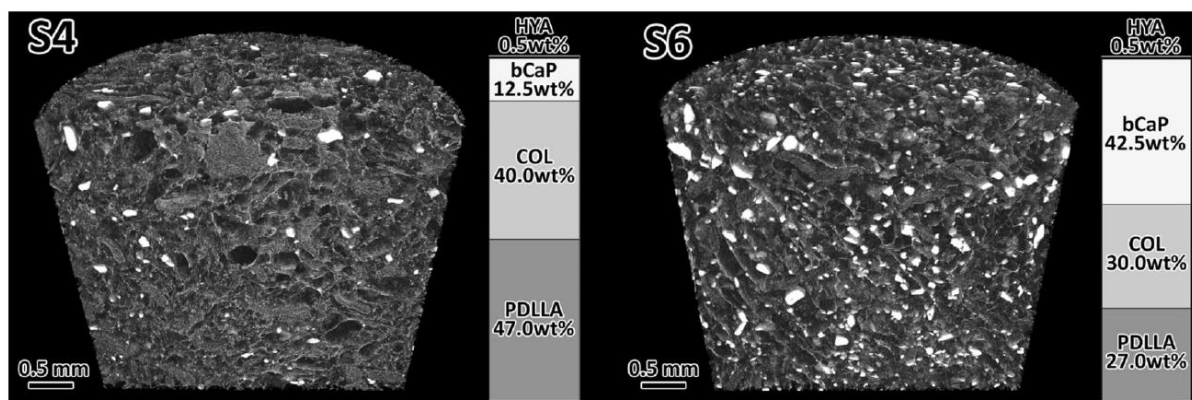
Lze rovněž konstatovat, že CPC materiály sice vykazují nižší míru adheze ke kosti, nicméně s ohledem na další vlastnosti, jako je biodegradovatelnost, injektovatelnost a nízkou míru zahřívání při vytvrzování, se jedná o **materiály s velkým potenciálem uplatnění v oblasti resorbovatelných scaffoldů určených pro náhradu kostní tkáně** [66].

6.8 Dopad působení mezenchymálních kmenových buněk na kostní biodegradabilní scaffoldy se zvýšeným obsahem nanočástic fosforečnanu vápenatého

Jedním z hlavních cílů tkáňového inženýrství, regenerativní medicíny a buněčné terapie je vývoj optimálního umělého materiálu (scaffoldu), který může vyvolat příznivou reakci v hostitelské tkáni, je dobře kolonizován rezidentními buňkami organismu a v ideálním případě může být *in vitro* prekolonizován sledovanými buňkami, aby se zintenzivnil proces regenerace tkáně. Úspěšné fungování scaffoldů také zásadně závisí na typu buněk použitých k jejich kolonizaci. Mezenchymální kmenové buňky (MCS) jsou široce používány v oblasti tkáňového inženýrství díky svému významnému regeneračnímu potenciálu a klinickému využití [223], [224], [225].

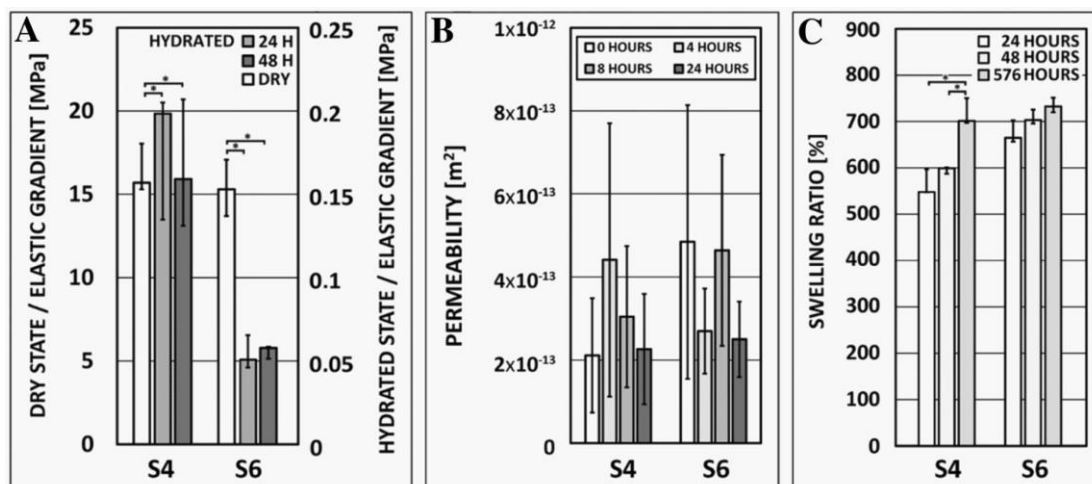
Proto byla ve spolupráci s doc. Hubálek Kalbáčovou a jejím týmem z 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Ing. Suchým a jeho týmem z Ústavu struktury a mechaniky hornin AV ČR realizována studie zaměřená na vývoj účinného nástroje pro regenerativní medicínu, který kombinuje optimální kostní scaffoldy a kolonizační techniku vhodnou pro buněčnou aplikaci. Studie zahrnovala rozsáhlé materiálové (mechanické, chemické a strukturální) a biologické hodnocení scaffoldů *in vitro*. Z hlediska mechanických vlastností byla pozornost zaměřena na vliv hydratace související s osidlováním mezenchymálních kmenových buněk na kostní biodegradabilní scaffoldy. Použitým hydratačním prostředím bylo kultivační médium α -MEM (Life Technologies, USA) po dobu 24 a 48 hod.

V naší laboratoři byly na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném citlivými silovými snímači s rozsahy 10 N a 100 N (relativní chyba obou měřidel 0,3 %) provedeny **tlakové zkoušky** (metodika viz Kap. 2.1.1.2). Rychlost posuvu při zatěžování byla $3,0 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$, což odpovídá rychlosti deformace $5 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. Testovány byly dva druhy materiálů lišící se poměrem kolagenu typu I (COL), poly(DL-laktidových) submikronových nanovláken (PDLLA) a přírodních nanočástic bioapatitu (bCaP) (viz Obr. 6.14). V každé skupině bylo 6 válcových vzorků o průměru 6 mm a výšce 8,5 mm (tj. poměr výšky vzorku k průměru byl 1,4). Pro posouzení mechanických vlastností byl zjišťován **elastický gradient napětí** v suchém stavu a dále pak po 24, resp. 48 hod., hydratace v médiu α -MEM.



Obr. 6.14 Materiálové složení kompozitních scaffoldů S4 a S6 – kolagenová matrice (COL), poly-DL-laktidová submikronová vlákna (PDLLA), bioapatit (bCaP) a práškový hyaluronát sodný (HYA) s 3D vizualizací μ CT řezů vzorků scaffoldů [226].

Vyhodnocením provedených zkoušek byly sledovány změny, ke kterým dochází během hydratace v médiu α -MEM. Z hodnot, které jsou uvedeny v grafech (viz Obr. 6.15 A) bylo z hlediska mechanických vlastností zjištěno, že **elastický gradient napětí scaffoldů stanovený v suchém stavu nebyl ovlivněn jejich materiálovým složením. Bezprostředně po hydrataci však došlo k jeho výraznému snížení.** Tento statisticky významný pokles spočíval v 75× nižší hodnotě tuhosti pro S4 a 300× nižší hodnotě pro S6. **Dalších 24 hodin hydratace však nemělo žádný významný vliv na tuhost scaffoldů.** Další provedené analýzy ukázaly, že oba typy testovaných scaffoldů vykazovaly stabilní hodnoty permeability po 4, 8 a 24 hod hydratace. Z hlediska poměru bobtnání došlo vlivem hydratace u scaffoldu S4 k významnému nárůstu během 24denní inkubační doby, zatímco u scaffoldu S6 zůstala hodnota téměř nezměněna (viz Obr. 6.15 C) [226].



Obr. 6.15 Stanovené vlastnosti scaffoldů S4 a S6 – (A) Elastický gradient napětí v suchém a hydratovaném stavu (24 a 48 hod., $n = 6$), svislé osy mají různé měřítko; (B) Permeabilita po 5 min. hydratace (0 h), 4, 8 a 24 hod. ($n = 6$); (C) Poměr bobtnání scaffoldů po 24, 48 a 576 hod. (24 dnech) ponoření do média α -MEM ($n = 3$); * $p < 0,05$ [226].

Různé další analytické techniky (konfokální mikroskopie, histologie, obsah DNA a analýza aktivity metaloproteináz) provedené na spolupracujících pracovištích odhalily, že buňky během statické kultivace kolonizují hlavně povrch scaffoldů nezávisle na jejich složení. Po dynamické kultivaci buňky pronikly hlouběji do skeletu. Tento jev byl více patrný v případě scaffoldů s vyšším obsahem bCaP (scaffold S6). **Aplikace techniky dynamického osidlování a scaffoldu obsahujícího vysoký obsah bioapatitu tedy tvoří předpoklady pro optimální biokonstrukt (scaffold s buňkami) použitelný v implantologii a regenerativní medicíně [226].**

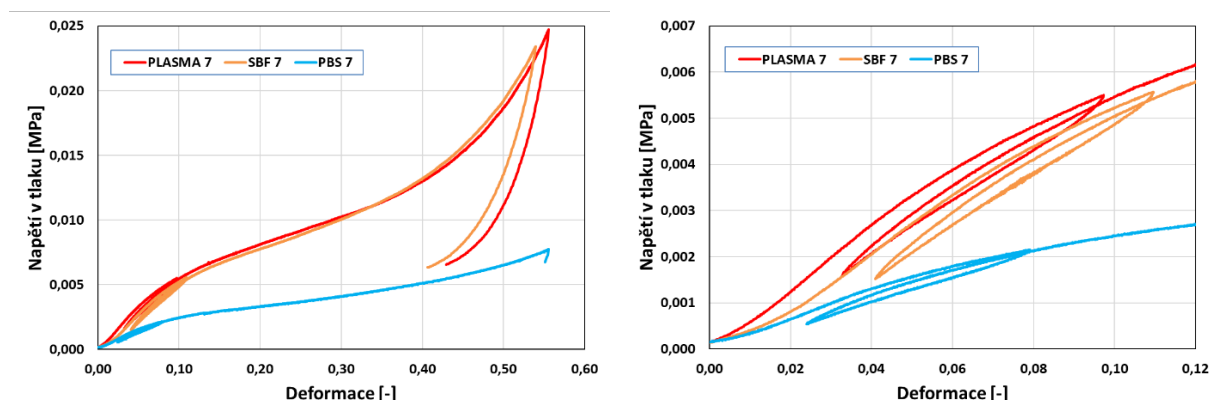
6.9 Vliv různých prostředí simulujících tělní tekutiny na vlastnosti kolagenových scaffoldů

V průběhu vývoje materiálů pro tkáňové inženýrství není vždy možné provádět *in vivo* experimenty na zvířatech, zejména v raných fázích, které se zabývají určováním parametrů zpracování, optimalizací mechanických a strukturních parametrů nebo hodnocením možné toxicity. Experimentální zvířecí modely jsou s ohledem na etická pravidla nejčastěji využívány pouze v závěrečných fázích procesu vývoje scaffoldů. *In vitro* simulace tělních prostředí tedy představuje velmi užitečný nástroj v celkovém experimentálním procesu.

Různé simulované tělní tekutiny se používají více než 30 let. Jednou z nejčastěji používaných simulovaných tělních tekutin je roztok SBF navržený výzkumníky Kokubo a Takadama [227]. SBF a jeho modifikované verze simulují koncentraci iontů anorganické části lidské krevní plazmy a jsou v literatuře běžně uváděny jako médium používané pro hodnocení simulované degradace materiálů. Média složená z anorganických iontů a organických molekul však vytvářejí komplikované systémy, ve kterých dochází k řadě vzájemných interakcí mezi studovaným materiálem a složkami v médiu. Pokud je navíc scaffold rozložitelný, umožňuje to řadu dalších reakcí, které zpravidla ovlivňují jeho vlastnosti. Z uvedených důvodů je tedy třeba důsledně zvážit kompoziční aspekty simulovaných tělních tekutin a dopad na vzájemné interakce v používaných médiích [228], [229], [230], [231].

Proto byla ve spolupráci s Ing. Suchým a jeho týmem z Ústavu struktury a mechaniky hornin AV ČR a s MUDr. Bartošem a jeho týmem z 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy realizována studie s cílem poukázat na úskalí spojená s výběrem simulovaného tělního prostředí. V naší laboratoři byly na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném citlivými silovými snímači s rozsahy 10 N a 100 N (relativní chyba obou měřidel 0,3 %) provedeny **tlakové zkoušky** (metodika viz Kap. 2.1.1.2). Rychlost posuvu při zatěžování byla $3,0 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$, což odpovídá rychlosti deformace $5 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. Zkoušky byly zaměřeny na stanovení změn mechanických vlastností. Hodnocena byla **mez pevnosti v tlaku** (σ_{pl}), **elastický gradient napětí** (E_g). Pracovní diagram vzorků reprezentujících skupiny zatěžované při tlakových zkouškách po sedmidenní expozici ve sledovaných médiích je níže (viz Obr. 6.16). Dále byly na spolupracujících pracovištích hodnoceny strukturální vlastnosti pomocí SEM (Scanning Electron Microscopy) obrazové analýzy a analýzy s využitím μCT a také hmotnostní úbytky.

Pro realizaci experimentů byla vybrána tři média běžně používaná pro simulaci identického tělního prostředí, tj. Kokuboova simulovaná tělní tekutina (SBF), která simuluje anorganickou složku lidské krevní plazmy, skutečná lidská krevní plazma a fyziologický roztok fosfátového pufru (PBS, Sigma Aldrich, USA). Kolagenové scaffoldy byly hodnoceny ve třech stavech – v hydratovaném stavu (10 minut namáčení) a dále po 7 a 14 dnech expozice v médiu v inkubátoru při teplotě $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Pro každou skupinu a časový bod bylo testováno deset válcových vzorků ($n = 10$) o průměru 12 mm a výšce 14 mm. K přípravě scaffoldů byl použit kolagen typu I izolovaný z telecí kůže (VUP Medical, Brno, Česká republika).

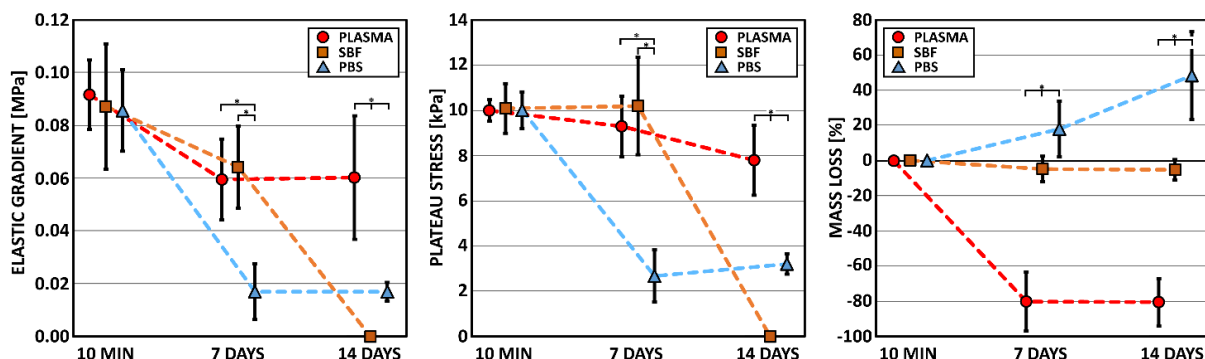


Obr. 6.16 Pracovní diagram tlakových zkoušek kolagenových scaffoldů po sedmidenní expozici v roztocích lidské plazmy, SBF a PBS pro stanovení meze pevnosti materiálu (vlevo) a elastického gradientu napětí (detail vpravo) [9].

Přestože každé ze tří médií použitých v této studii simulovalo stejné prostředí lidského těla, chování kolagenových scaffoldů se výrazně lišilo. Zjištěné mechanické vlastnosti jsou znázorněny v grafech níže (viz Obr. 6.17). **Hlavní rozdíly lze pozorovat v případě lidské krevní plazmy a jejího simulovaného prostředí SBF.** Ačkoli mechanické vlastnosti scaffoldů zůstaly srovnatelné během prvních 7 dnů, **po 14 dnech působení media SBF vzorky zcela degradovaly, jak s ohledem na elastický gradient, tak na mez pevnosti.** Překvapivě však nebyla prudká ztráta mechanických vlastností doprovázena měřitelným úbytkem hmotnosti (viz Obr. 6.17 vpravo).

Po 10 minutách působení médií byla hodnota meze pevnosti scaffoldů v plazmě, resp. SBF, resp. PBS stanovena na $9,87 \pm 0,55 \text{ kPa}$, resp. $9,97 \pm 1,07 \text{ kPa}$, resp. $9,92 \pm 0,55 \text{ kPa}$ a elastický gradient napětí na $0,092 \pm 0,012 \text{ MPa}$, resp. $0,087 \pm 0,024 \text{ kPa}$, resp.

0,086 ± 0,015 kPa. Po 14 dnech působení plazmy klesla hodnota meze pevnosti scaffoldů o 21 % na 7,76 ± 1,55 kPa a elastický gradient napětí o 35 % na 0,060 ± 0,023 kPa, kdežto působením media SBF po stejnou dobu scaffoldy úplně degradovaly a pokles byl tedy 100 % (hodnoty se přiblížily nule).



Obr. 6.17 Mechanické vlastnosti kolagenových scaffoldů při působení různých simulovaných tělních prostředí po dobu 10 min, 7 dnů a 14 dnů. Zobrazení modulu pružnosti (*Elastic gradient*, vlevo), meze pevnosti (*Plateau stress*, uprostřed) a ztráty hmotnosti (*Mass loss*, vpravo); * $p < 0,05$ [9].

Na základě provedených experimentů a zjištěných výsledků jsme konstatovali, že **různá prostředí simulující tělní tekutiny vedou k významným rozdílům ve vlastnostech kolagenových scaffoldů používaných pro tkáňové inženýrství** [9].

6.10 Analýza tuhosti páteře po fúzi bederních obratlů s využitím biodegradabilních nanokompozitních materiálů

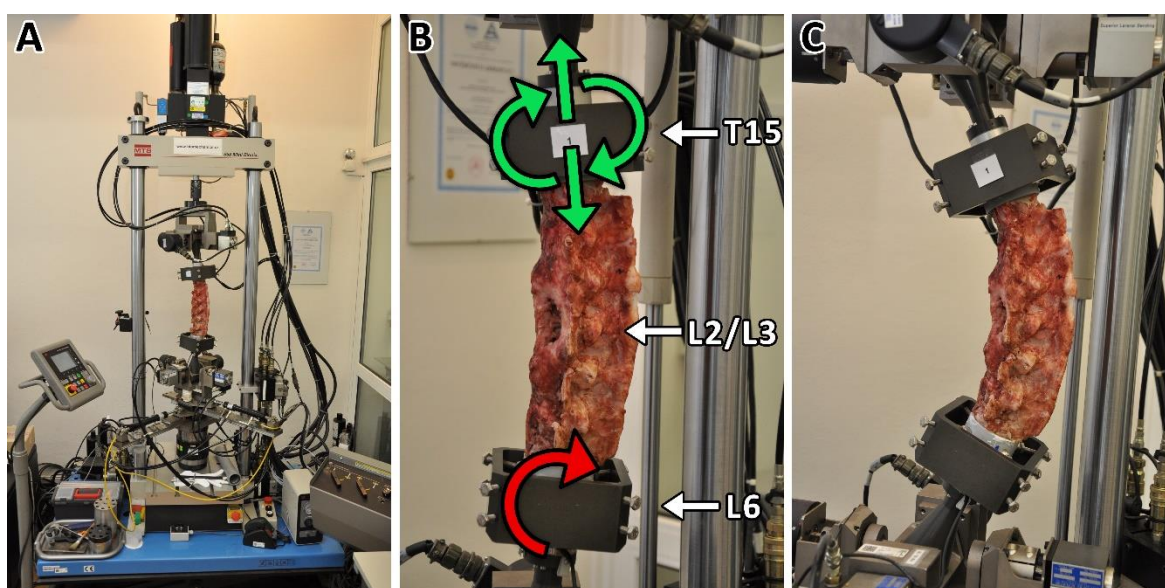
Degenerativní onemocnění páteře vedoucí k chronické bolesti, deformity páteře, úrazové zlomeniny obratlů a kostní defekty po resekci nádoru patří mezi nejčastější indikace lumbální intervertebrální fúze (LIF). Počty operačních zákroků spojených s LIF v posledním desetiletí rychle narůstají. I přes technický pokrok ve spondylochirurgii a vývoj nových materiálů se riziko selhání této metody stále pohybuje mezi 5–35 % [232], [233]. Využití autologního kostního štěpu je stále považováno za zlatý standard pro LIF, protože představuje malé riziko infekce a odmítnutí organismem a je přirozeně osteokonduktivní, osteoinduktivní a osteogenní. Odběr štěpu z kyčelní kosti však spočívá v dalším operačním zákroku a může být spojen s krátkodobou a dlouhodobou morbiditou postihující až 22 % pacientů [234].

Proto byl ve spolupráci s MUDr. Krtičkou a jeho týmem z Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, kliniky úrazové chirurgie a s doc. Lucy Vojtovou a jejím týmem z CEITEC – Vysokého učení technického v Brně realizován výzkum zaměřený na získání funkčního, resorbovatelného, biomechanicky stabilního, osteoinduktivního a osteokonduktivního kostního implantátu, který bude připraven pro klinické zkoušky. Součástí projektu byla experimentální studie zaměřená na hodnocení mechanických vlastností páteře **při ohybových zkouškách** po provedené lumbální intervertebrální fúzi segmentu L2-L3 na prasečím modelu. Pro komplexní hodnocení byly na spolupracujících pracovištích provedeny také počítačové mikrotomografické a histologické analýzy explantovaných vzorků.

V první fázi studie byla hodnocena fúze bederních obratlů s kostním štěpem z kyčelního hřebenu, v druhé fázi potom fúze po implantaci hybridního biodegradabilního

nanokompozitního implantátu (HBNI). Nově vyvinutý materiál implantátu HBNI se skládal z biokeramiky a nanostrukturovaného kolagenu a byl obohacený o stabilizovaný růstový faktor Fibroblast Growth Factor 2 (FGF2-stab) nebo o biogenní polyfosfát (bioPolyP). Tento materiál představuje velmi dobrou podporu tvorby kostní fúze.

V naší laboratoři byly realizovány experimenty na segmentech prasečích páteří, které mají za cíl stanovení mechanických vlastností páteře v ohybu a následnou optimalizaci metod meziobratlové spinální fúze. Pro tento účel byla v naší laboratoři vyvinuta a validována nová metodika, jejíž detaily byly uvedeny výše (viz Kap. 2.5.2.4). Hodnocení mechanických vlastností páteřních segmentů bylo zaměřeno na stanovení parametrů, které jsou významné z hlediska přenosu mechanického zatížení. Zjišťována byla zejména **ohybová tuhost páteřních vzorků při extenzi** a doplňkově pak i **ohybová pevnost při extenzi**. Metodika spočívá v zatěžování vzorků páteřních segmentů ohybem bez parazitních osových sil, které byly testovacím systémem udržovány nulové. Tato velmi důležitá podmínka byla zajištěna využitím testovacího systému MTS Mini Bionix s unikátním páteřním simulátorem s 8 stupni volnosti pohybu (MTS, USA) a „tříosého“ silového snímače 6DOF (ATI Industrial Automation, USA, viz Obr. 6.18). Zatěžován byl segment páteře v rozmezí obratlů Th15-L6 po odstranění měkkých tkání při zachování ligamentozních stabilizátorů (dlouhých a krátkých vazů páteře). Zatěžování probíhalo konstantní rychlostí natočení $20^\circ \cdot \text{min}^{-1}$ do extenze a následně do flexe s limitací do 5 N·m a pokračovalo do limitu snímače 25 N·m nebo 40° natočení. Poté byla z naměřených dat vyhodnocena ohybová tuhost při extenzi a došlo-li k destrukci, tak i ohybová pevnost při extenzi.

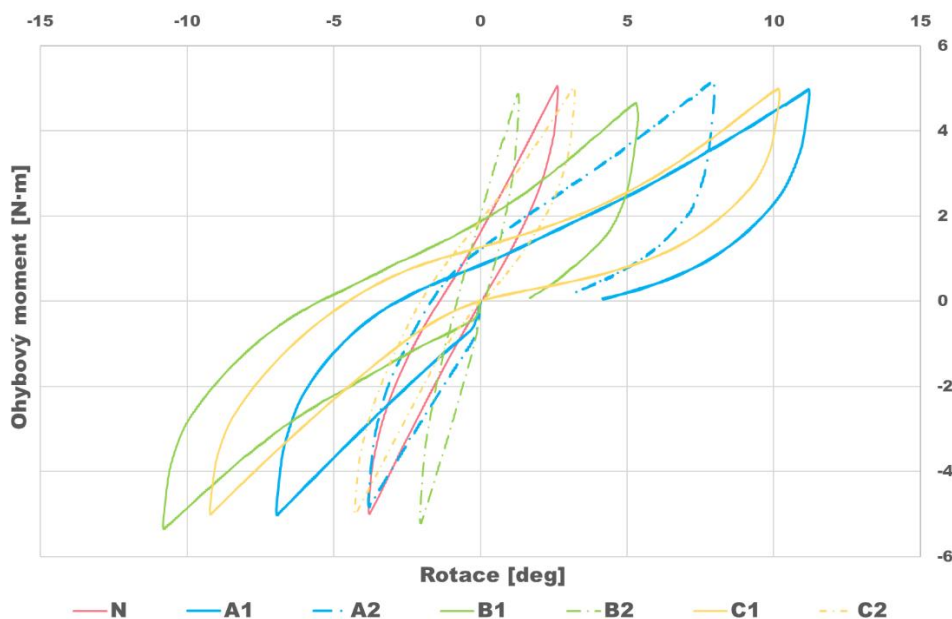


Obr. 6.18 Ohybové zkoušky kadaverózních segmentů prasečích páteří na testovacím systému MTS Mini Bionix s unikátním páteřním simulátorem a s upnutou páteří (A), schéma způsobu zatěžování (B), detail upnutého a zatíženého vzorku páteře (C) [46].

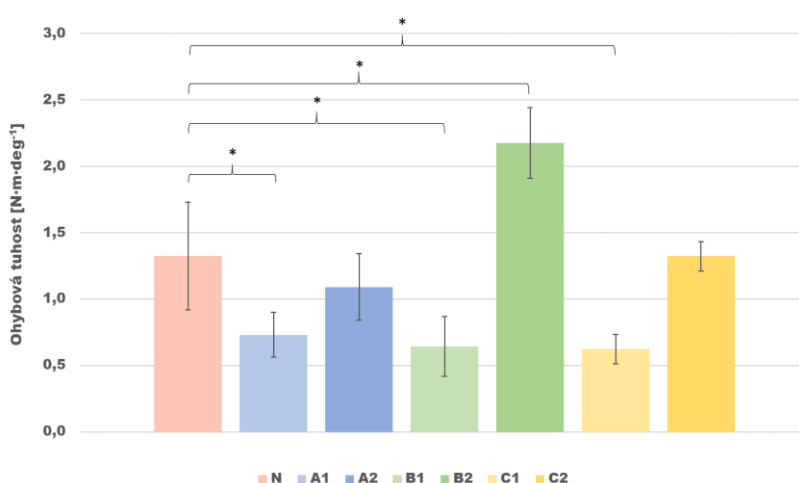
Experimenty byly realizovány na 7 skupinách explantovaných páteří, kdy pro první skupinu byl využit autologní kostní štěp odebraný z levé lopaty kyčelní kosti (označení A), dále byly testovány dva druhy implantátů – skupina HBNI obohacených o FGF2-stab (B) a skupina HBNI obohacených o bioPolyP (C) a poslední byla kontrolní skupina zdravých kadaverózních páteří (N). Další rozdělení skupin souviselo s dobou od implantace, tj. časem srůstání. Část zvířat byla utracena po 8 týdnech od implantace (A1, B1 a C1) a část po 16 týdnech od

implantace (A2, B2 a C2). Celkem bylo testováno 29 páteří zastoupených takto: A1, $n = 4$; A2, $n = 4$; B1, $n = 4$; B2 $n = 4$; C1, $n = 4$; C2, $n = 4$; N, $n = 5$.

Vyhodnocením získaných dat byly pro všechny testované skupiny získány pracovní diagramy závislosti ohybového momentu na natočení explantovaných páteří (viz Obr. 6.19). V grafu je zobrazen vždy vzorek reprezentující danou skupinu tak, že se jeho ohybová tuhost blíží střední hodnotě vzorků ve skupině. Je zřejmé, že ohybové tuhosti testovaných páteří se liší pro různé typy implantátů i pro období srůstání. Zjištěné hodnoty ohybových tuhostí jsou vyobrazeny v dalším grafu (viz Obr. 6.20).



Obr. 6.19 Pracovní diagram závislosti ohybového momentu na natočení explantovaných prasečích páteří pro skupiny A1, B1, C1 (po 8 týdnech od implantace); A2, B2, C2 (po 16 týdnech) a N (zdravé kadaverózní vzorky) [46].



Obr. 6.20 Zjištěné hodnoty ohybové tuhosti při extenzi explantovaných prasečích páteří pro skupiny A1, B1, C1 (po 8 týdnech od implantace); A2, B2, C2 (po 16 týdnech) a N (zdravé kadaverózní vzorky), * $p < 0,05$ [46].

Hodnocením mechanických vlastností explantovaných prasečích páteří při ohybových zkouškách byla zjištěna **ohybová tuhost při extenzi zdravých kadaverózních páteří** $1,32 \pm 0,41 \text{ N}\cdot\text{m}\cdot\text{deg}^{-1}$ [235]. Provedená statistická analýza prokázala, že **po 8 týdnech od implantace je intervertebrální fúze v počátečních stádiích a tuhost operovaného segmentu je snížena** bez ohledu na použitý typ implantátu (přibližně o 50 % oproti skupině kadaverózních páteří N). Současně však byl prokázán **významný nárůst ohybové tuhosti při tvorbě lumbální intervertebrální fúze mezi skupinami páteří explantovaných po 8 a 16 týdnech** (o 49 % až 238 %), a to opět nezávisle na typu použitého implantátu.

Dále bylo zjištěno, že po 16 týdnech hojení se skupina páteří s kostním štěpem, jakožto zlatým standardem pro řešení intervertebrální fúze, blíží ohybové tuhosti zdravých kadaverózních páteří ($1,09 \pm 0,25 \text{ N}\cdot\text{m}\cdot\text{deg}^{-1}$) [236]. Podobně se však chová i **nově vyvinutý implantát HBNI obohacený o bioPolyP** (skupina C), **který po 16 týdnech srůstání zajistil ohybovou tuhost páteře $1,32 \pm 0,11 \text{ N}\cdot\text{m}\cdot\text{deg}^{-1}$ shodnou s testovanými zdravými kadaverózními vzorky**. Tuto shodu také potvrdila provedená statistická analýza ($p < 0,05$). Další provedené histologické rozbory a analýza na μCT prokázaly u skupin B a C kompletní resorpci implantátů po 16 týdnech a také novotvorbu kosti. Na základě provedených analýz lze tedy konstatovat, že nově vyvinuté implantáty HBNI jsou schopny tvorby intervertebrální fúze [46].

V režimu zatěžování páteřních vzorků do destrukce v ohybu bylo často dosaženo limitu snímače $25 \text{ N}\cdot\text{m}$. K poškození došlo pouze u 4 vzorků, kdy byla dosažena **ohybová pevnost při extenzi** $21,4 \pm 2,4 \text{ N}\cdot\text{m}$. K destrukci však nikdy nedošlo v místě implantace, proto lze konstatovat, že pevnost lumbální intervertebrální fúze testovaných prasečích páteří reálně dosahuje hodnot vyšších než $25 \text{ N}\cdot\text{m}$.

7 Zkoušení implantabilních zdravotnických prostředků

7.1 Úvod

Bolesti kloubů mohou výrazně ovlivnit aktivní život lidí. V posledních dvaceti letech došlo k výraznému zlepšení výsledků náhrad velkých kloubů a došlo také k prodloužení životnosti implantátů. V souvislosti se stárnutím populace, ke kterému v současnosti dochází, narůstá také počet prováděných ortopedických výkonů. Vzhledem k tomu, že zatěžování kloubů je dynamického charakteru, mohou působící síly způsobit mechanické selhání implantátu z důvodu jeho únavy. V posledních letech bylo takové selhání výrazně sníženo, neboť spolu s vývojem nových materiálů a výrobních technologií je kladen stále větší důraz na experimentální ověřování mechanických vlastností a životnosti komponent jednotlivých náhrad i jejich celých sestav. Nemalou měrou k tomu přispívají také nové legislativní požadavky na zdravotnické prostředky a působení autorit, které posuzují schodu zdravotnických prostředků s nařízením [64] a které svá rozhodnutí staví na dokládání rozsáhlých testů použitých materiálů a produktů [237], [238].

V následujících kapitolách jsou proto uvedeny zkušenosti autora s metodikami a experimentálním ověřováním implantabilních zdravotnických prostředků se zaměřením na stanovení mechanických vlastností a životnost nově vyvíjených nebo používaných implantátů. Uvedené zkušenosti se týkají např. ortopedie – páteřní meziobratlové rozpěrky, páteřní fixátory, kyčelní náhrady, kostní šrouby; traumatologie – dlahy a hřeby; dentální implantáty a jejich modifikace a kardiochirurgie – mitrální anuloplastikové implantáty. Zkoušky probíhají zpravidla podle metodik definovaných v mezinárodních standardech, neboť jsou vyžadovány autoritami při posuzování shody s nařízením [64]. Při vývoji zdravotnických prostředků však nemalou měrou přispívají i vlastní a modifikované metodiky, které cílí na některé ze zlepšovaných vlastností implantátů.

7.2 Tlakové a ořevé zkoušky meziobratlových páteřních rozpěrek TLIF a PLIF

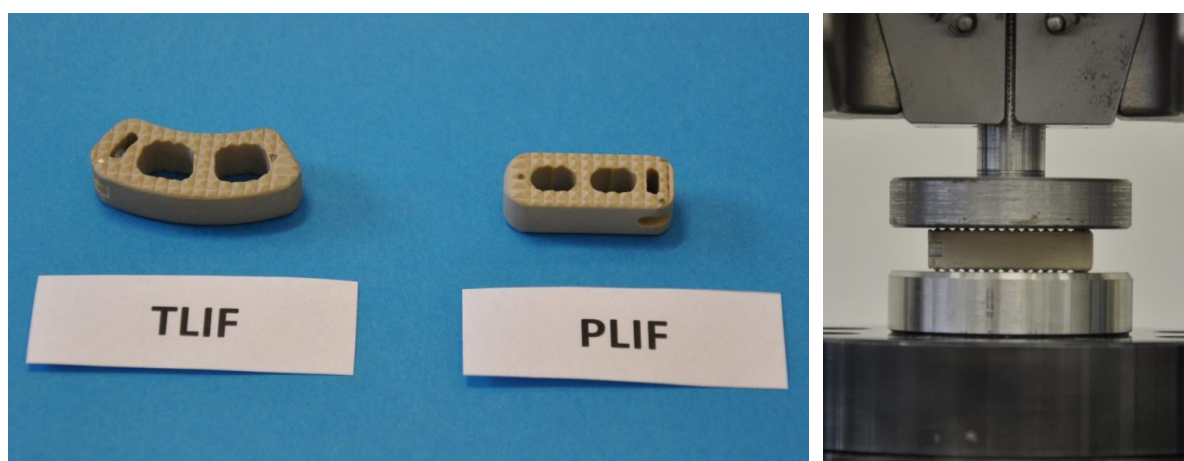
Operační techniky označované PLIF (posterior lumbar interbody fusion) a TLIF (transforaminal lumbar interbody fusion) jsou používané u degenerativního postižení bederní páteře a zahrnují operační přístup do oblasti meziobratlové ploténky, její resekci a následnou aplikaci implantátu nebo scaffoldu za účelem vytvoření meziobratlové fúze. Přestože byla metoda PLIF poprvé publikována již v roce 1944 Briggsem a Milliganem [239], kteří do intervertebrálního prostoru vložili drť kostních štěpů, směřují moderní trendy k vývoji samonosných implantátů. Původně používanou nerezovou ocel nyní často nahrazuje semikrystalický polymer polyetereterketon vyztužený uhlíkovými vlákny. Mechanické vlastnosti těchto implantátů, jejichž využití je plánováno bez nutnosti aplikace doplňující zadní stabilizace obratlů, jsou stěžejní pro zajištění stability a vznik meziobratlové fúze [240], [241], [238].

Proto byly v naší laboratoři realizovány ověřovací **tlakové zkoušky** nově vyvinutých prototypů páteřních implantátů (meziobratlových rozpěrek) typu TLIF a PLIF (viz Obr. 7.1) dle

vlastní metodiky, která vychází ze základního principu tlakových zkoušek (viz Kap. 2.1.1.2). Oba testované prototypy byly vyrobeny firmou MEDIN Orthopaedics z materiálu PEEK. Jedním z cílů provedení zkoušek bylo ověření odolnosti vůči extrémnímu osovému zatížení, dále pak korelace s výsledky numerických analýz. Experimenty byly provedeny na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 25 kN (relativní chyba měření síly 0,4 %).

Zkouška spočívala ve **statickém zatížení stanovenou osovou silou** a v následné výdrži po definované dobu. Po odlehčení byl vyhodnocen stav testovaného implantátu – zda nedošlo k jeho poškození. Statická zkouška byla realizována ve dvou různých uspořádáních – typ A, B. V obou případech však probíhalo zatěžování testovaných prototypů konstantní rychlostí $2,0 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$. Pro prototyp TLIF, který je určen k implantaci jako samostatný 1 kus, byla předepsána zatěžující síla 5,0 kN. Pro prototyp PLIF, který je určen pro implantaci v párech, byla předepsána síla poloviční, tj. 2,5 kN. Hodnota zatížení předepsaná v realizovaných experimentech představuje desetinásobek maximální osově síly působící na obratel při pomalé chůzi (viz databáze OrthoLoad pracoviště Julius Wolff Institut [242]). Výdrž na předepsané hodnotě zatížení byla nastavena na 30 s. Po odlehčení bylo ověřeno, zda nedošlo k poškození implantátu. Zkouška byla prováděna za pokojové teploty (tj. $10 \text{ }^\circ\text{C}$ až $35 \text{ }^\circ\text{C}$).

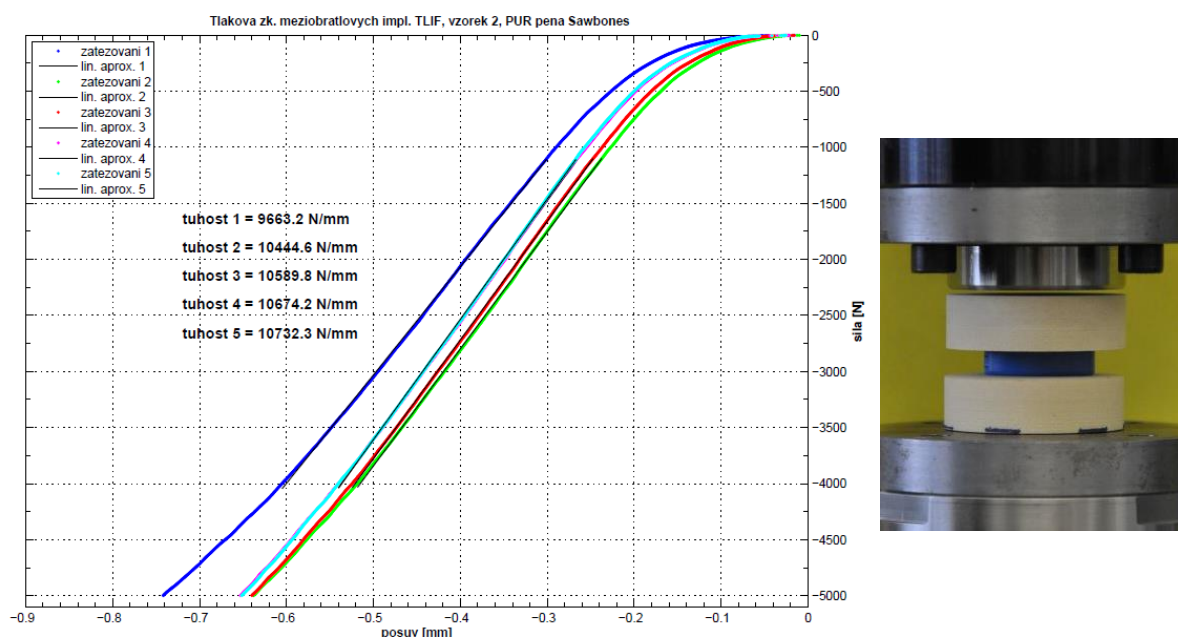
Typ zatěžování A byl stanoven s ohledem na zubovité provedení povrchu tak, aby hroty na povrchu nebyly vystaveny extrémnímu zatížení, které by nastalo při kontaktu s tvrdou zatěžující deskou. Proto byla mezi zatěžující desku a prototyp umístěna pryžová vložka o tloušťce 5,4 mm. Uspořádání typu B již bylo zaměřeno na zjištění chování prototypů při plném zatížení přímo přes tuhounou desku ocelového přípravku, která byla v přímém kontaktu s vrcholy hrotů na povrchu prototypů (viz Obr. 7.1 vpravo).



Obr. 7.1 Prototypy implantátů TLIF a PLIF vyrobené ze semikrystalického polymeru PEEK (vlevo), detail z realizace tlakových zkoušek za použití tlačných desek a hydraulické čelisti na testovacím systému MTS Mini Bionix (vpravo). Foto autor.

Po provedení zatěžování typu A bylo možné konstatovat, že prototyp TLIF vydržel statické zatížení 5,0 kN po dobu 30 s bez pozorovatelné destrukce. Stejně tak i prototyp PLIF vydržel zatížení 2,5 kN. Po dokončení pěti cyklů zatěžování typu B byla vyhodnocena změna celkové výšky prototypu. Před zahájením zatěžování byla výška prototypu TLIF $8,772 \pm 0,018 \text{ mm}$, po dokončení zkoušky byla výška $8,614 \pm 0,015 \text{ mm}$. Trvalá deformace tedy dosáhla hodnoty 0,158 mm, tj. 2 %. Při zatěžování prototypu PLIF došlo ke změně jeho výšky z $8,722 \pm 0,014 \text{ mm}$ na $8,614 \pm 0,011 \text{ mm}$. Trvalá deformace tedy dosáhla hodnoty 0,108 mm, tj. 1 % [243].

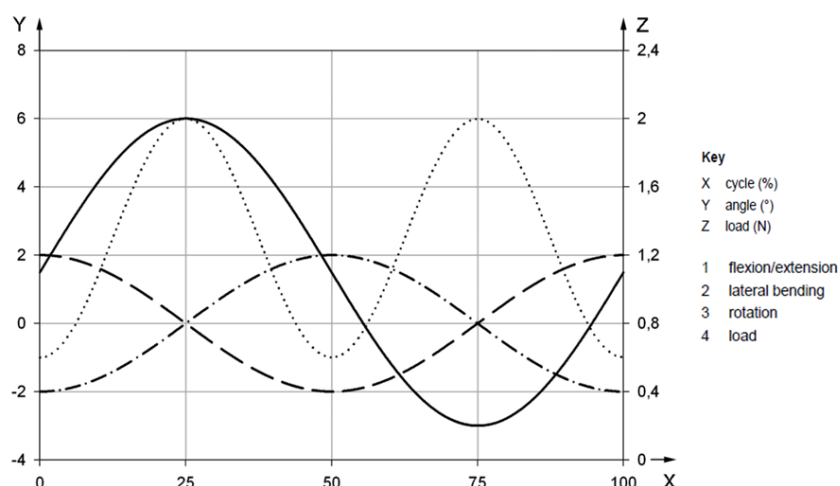
Při dalším zkoušení byla metodika doplněna o využití materiálu simulujícího svými vlastnostmi kost. Implantát byl nejprve umístěn mezi dvojicí disků z polyuretanové (PUR) pěny (Sawbones, USA, hustota $0,64 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, výška disků 30 mm, průměr 50 mm) s deklarovaným modulem pružnosti odpovídajícím spongiózní kostní tkáni a následně celá tato sestava byla zatěžována mezi ocelovými deskami (viz Obr. 7.2 vpravo). Výška disků z PUR odpovídá polovině výšky přilehlého bederního obratle. Zatěžování probíhalo do 5 kN, v jednom případě až do 20 kN pro zjištění odezvy na extrémní zatížení.



Obr. 7.2 Pracovní diagram z tlakové zkoušky implantátu TLIF spolu s vyznačením stanovené tuhosti zatěžované sestavy (vlevo), detail implantátu umístěného v systému MTS Mini Bionix před zatěžováním přes umělou kost SAWBONES (vpravo) [237].

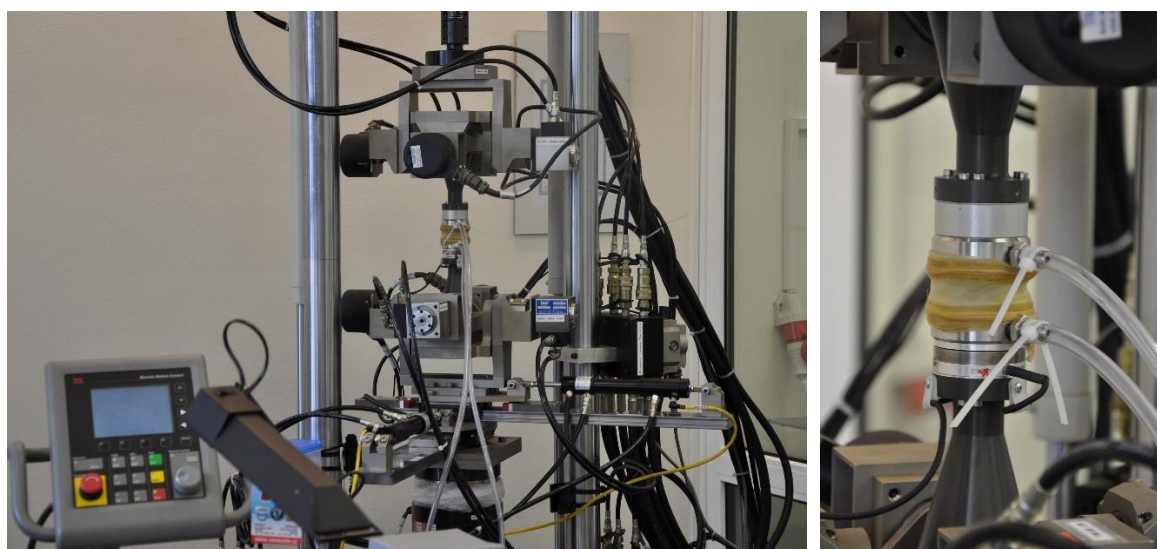
Testované **prototypy meziobratlových implantátů TLIF i PLIF vyrobené z polymerního materiálu PEEK prokázaly dostatečnou statickou únosnost při tlakovém zatížení** násobně větším, než je očekáváno např. při chůzi do schodů. Předepsané zatížení vydržely po stanovenou dobu bez pozorovatelného poškození. Zjištěné hodnoty ukazovaly dobrou opakovatelnost provedených experimentů a stálost mechanické odezvy (viz Obr. 7.2 vlevo). Ani při extrémním zatížení do 20 kN nejevil implantát známky zjevného poškození a zátěžné křivky dokládají dobrou strukturální soudržnost materiálu [237].

Dále pak pokračovalo hodnocení **opotřebení spinálních implantátů** dle metodiky založené na mezinárodním normativu ISO 18192-1 Implants for surgery — Wear of total intervertebral spinal disc prostheses — Part 1: Loading and displacement parameters for wear testing and corresponding environmental conditions for test [244]. Princip spočívá v **cyklickém zatěžování** za předpokladu fázového svázání kinematiky tří zatěžovacích os spolu s čtvrtou osou řízenou silově pro tlakové namáhání implantátu. Parametry pro zatěžování bederních meziobratlových rozpěrek včetně časových průběhů jsou uvedeny v grafu níže (viz Obr. 7.3), kde 1 = flexe/extenze, 2 = laterální ohyb, 3 = osová rotace, 4 = osové zatížení, X = % cyklu, Y = úhel ve stupních, Z = síla v N. Předepsaný počet cyklů dosahuje 10^7 při frekvenci maximálně 2 Hz. Jedná se tedy o velmi dlouhý časový úsek zkoušení.



Obr. 7.3 Princip zkoušení opotřebení bederních meziobratlových implantátů spolu se zatěžovacími křivkami a fázovými posuny čtyř samostatně řízených zatěžovacích os dle metodiky založené na ISO 18192-1 [244].

Experimenty proběhly s využitím unikátního **páteřního simulátoru s 8 stupni volnosti pohybu** (viz Obr. 7.4), který svojí konstrukcí umožňuje 3 kolmé posuvy a 5 nezávislých rotací a je primárně určen k testování páteří (viz výše popsaná metodika hodnocení ohybové tuhosti páteřních segmentů Kap. 2.5.2.4). K měření byl použit osový snímač 25 kN (MTS, USA) v kombinaci s „třísóým“ silovým snímačem 6DOF 1160 N/580 N/25 N·m (ATI Industrial Automation, USA), který svou konstrukcí umožňuje detekovat síly ve třech na sobě kolmých osách a k tomu i momenty působící k těmto osám. Relativní chyba měření obou snímačů síly je menší než 0,5 %. Po celou dobu zkoušky byl implantát umístěn v prostředí proudícího fetálního telecí séra (FBS, fetal bovine serum, BIOTECH, ČR) o teplotě 37 °C, které představovalo simulované tělní prostředí.



Obr. 7.4 Zkoušky opotřebení spinálních meziobratlových rozpěrek na testovacím systému MTS Mini Bionix osazeném unikátním páteřním simulátorem (vlevo), detail uchycení implantátu se zajištěním proudění média, ve kterém je experiment realizován (vlevo). Foto autor.

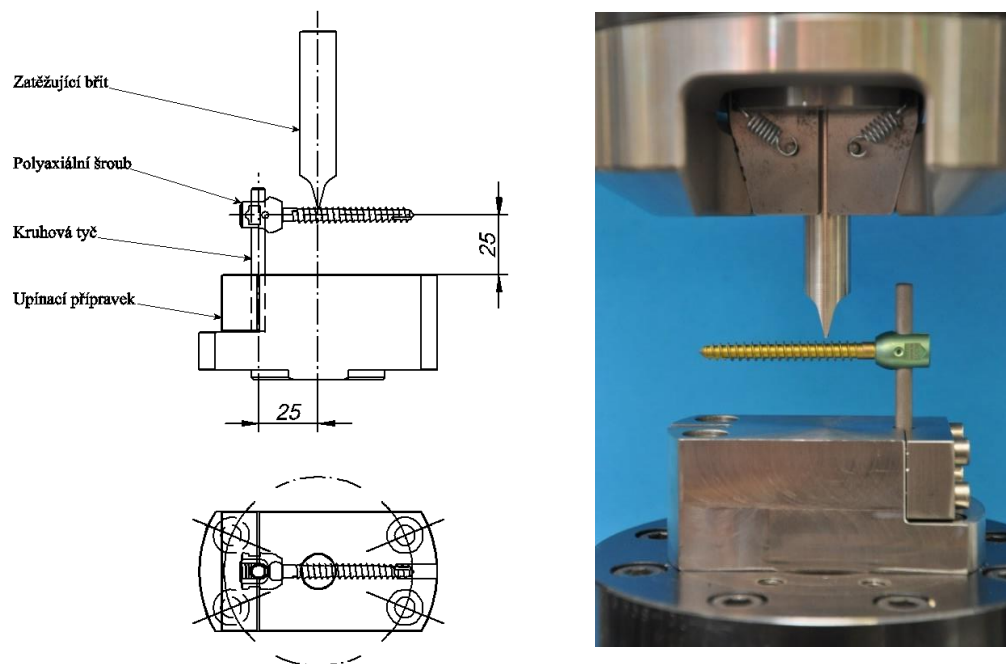
Po dokončení otěrových zkoušek byl stanoven zcela minimální objemový úbytek (menší než 1 %). **Testované prototypy spinálních implantátů TLIF a PLIF, vyrobené z materiálu PEEK, prokázaly dostatečnou odolnost i při dlouhodobé cyklické zkoušce opotřebení.**

7.3 Vliv opakované sterilizace na tuhost a pevnost v ohybu páteřních fixátorů

Instrumentace bederní páteře je běžně prováděný chirurgický výkon, který je indikován pro různé bederní patologie. K zadní stabilizaci lze užít různé instrumentace, nicméně nejlepší stability je dosahováno pomocí transpedikulárních implantátů se šrouby a tyčemi. Při operačních zákrocích jsou s výhodou používány polyaxiální šrouby umožňující natočení hlavy šroubu. U těchto implantátů patří mezi jedny ze zásadních parametrů hodnotících mechanické vlastnosti jejich ohybová tuhost a pevnost. Uvedené vlastnosti určují stabilitu celého řešení fixace páteřních obratlů [245], [246], [247], [248].

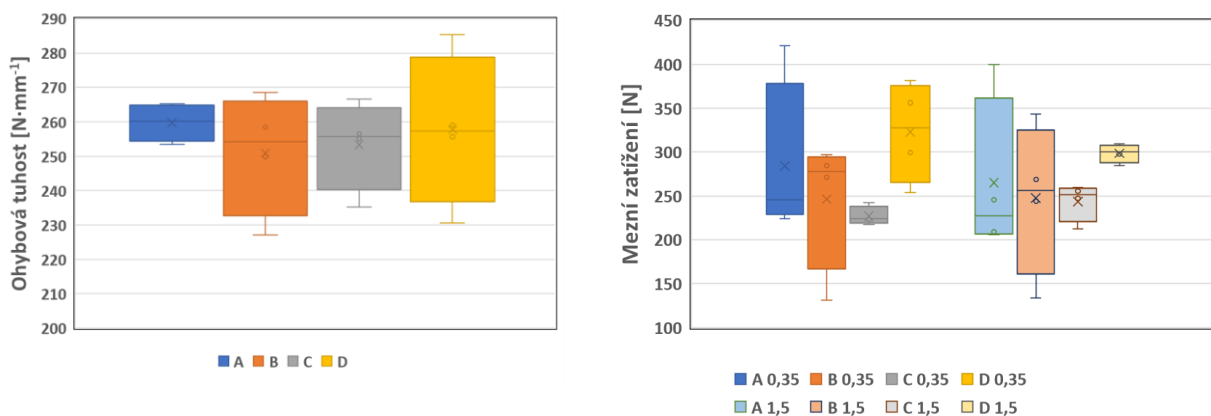
Proto byly v naší laboratoři realizovány experimenty zjišťující mechanické vlastnosti v ohybu páteřních fixátorů a vliv opakované sterilizace. K tomuto účelu byla vyvinuta a validována vlastní metodika, která vychází ze základního principu **ohybových zkoušek** (viz Kap. 2.1.1.2), kdy je kruhová tyč implantátu o průměru 5,5 mm držena jako vetknutá a na ní fixovaný polyaxiální šroub je zatížen prostým ohybem dle schématu (viz Obr. 7.5 vlevo). Kruhová tyč prochází otvorem v hlavě polyaxiálního šroubu a je přitlačena šroubem s vnitřním šestihranem. Utahovací moment vytvářející předpětí ve svěrném spoji byl nastaven na 5 N·m pomocí momentového klíče (s přesností 5 %). Kruhová tyč je upnuta ve vzdálenosti 25 mm od osy zatěžovacího břitu prostřednictvím speciálního přípravku, který byl pro tyto zkoušky navržen a vyroben (viz Obr. 7.5 vlevo). Každý testovaný vzorek se skládá z kompletu polyaxiálního šroubu a nové tyče. Použití tyčí jednorázově je zdůvodněno zohledněním jejich deformace. Zatěžující břit se pohybuje konstantní rychlostí posuvu $0,64 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$.

Experimenty byly realizovány na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 25 kN (relativní chyba měření síly 0,4 %). Testováno bylo 16 ks páteřních fixátorů s polyaxiálním šroubem (ProSpon, Česká republika) o průměru 6,5 mm a délce 55 mm, které byly rozděleny do 4 skupin po 4 kusech. Vyrobené byly z titanové slitiny Ti6Al4V. Skupina A nebyla sterilizována vůbec, skupiny B, C a D byly sterilizovány 10×, resp. 50×, resp. 100×. Mechanické zkoušky byly provedeny při pokojové teplotě.



Obr. 7.5 Zkoušky pro hodnocení tuhosti a pevnosti v ohybu páteřních fixátorů – schematické znázornění (vlevo), detail z experimentálního zatěžování polyaxiálního šroubu vyrobeného z Ti6Al4V (vpravo). Foto autor.

Z naměřených dat byla vyhodnocena **ohybová tuhost S** a **mezní zatížení F_{max}** , při kterém došlo k trvalé deformaci charakterizované posunutím kontaktního bodu ve směru zatěžování o 0,35 mm, resp. 1,5 mm. Zjištěné hodnoty jsou zobrazeny v grafu níže (viz Obr. 7.6).

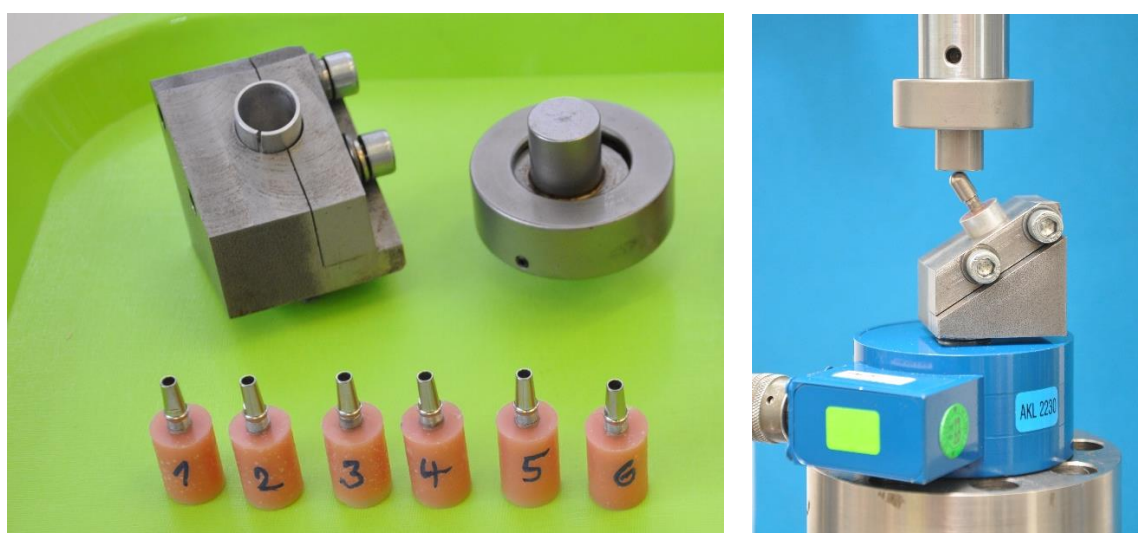


Obr. 7.6 Stanovené parametry ohybové tuhosti a mezního zatížení (při posunutí kontaktního bodu o 0,35 mm, resp. 1,5 mm) páteřních fixátorů zjištěné při hodnocení vlivu opakovaných sterilizací; počty sterilizací A 0x, B 10x, C 50x, D 100x. Zdroj autor.

Ze stanovených parametrů a provedené statistické analýzy je patrné, že mezi testovanými skupinami nebyly nalezeny významné rozdíly ($p < 0,05$). Lze konstatovat, že **vlivem opakovaných sterilizací (10x, 50x, 100x) nedochází ke změnám v ohybové tuhosti a mezního zatížení testovaných polyaxiálních páteřních šroubů**. Z dat je také patrné, že parametr ohybové tuhosti vykázal velmi dobrou úroveň opakovatelnosti a malý rozptyl, neboť **výsledná průměrná hodnota ohybové tuhosti šroubů před sterilizací byla $259,8 \pm 5,5 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-1}$** .

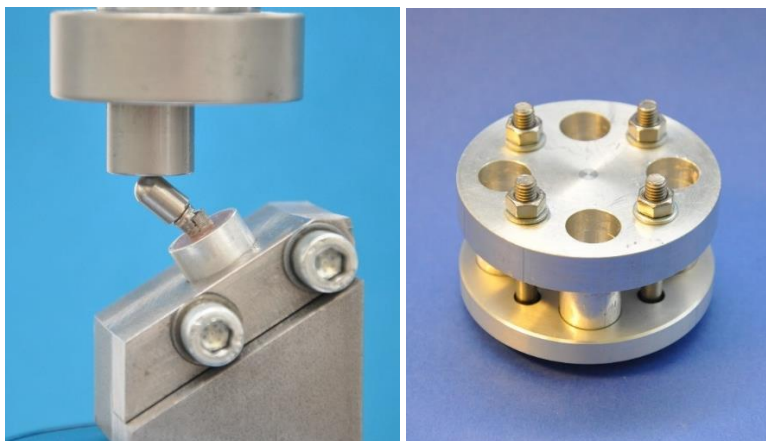
7.4 Únavové zkoušky dentálních implantátů

Zuby jsou jednou z cyklicky namáhaných částí lidského těla. Optimální zubní implantáty vyžadují integraci mechanických, materiálových a biologických faktorů. Zejména stabilita implantátu při žvýkání, integrita implantátu vůči kostní tkáni a transformace zatížení z implantátu do kostní tkáně jsou nejdůležitějšími faktory úspěchu implantace. Aby bylo možné dosáhnout v této oblasti značného pokroku, je nezbytné zabývat se únavou implantátů. Dlouhodobá mechanická spolehlivost zubních implantátů je jedním z nejdůležitějších problémů. Únavové poškození je třeba brát v úvahu, protože se hromadí v průběhu času a dosáhne-li kritické úrovně, dojde k selhání implantátu. Únava je tedy implikována jako hlavní problém ovlivňující životnost dentálních implantátů a pozornost jí věnují i autority posuzující shodu s nařízením [64] před uvolněním implantátů na trh [249], [250], [251], [252].



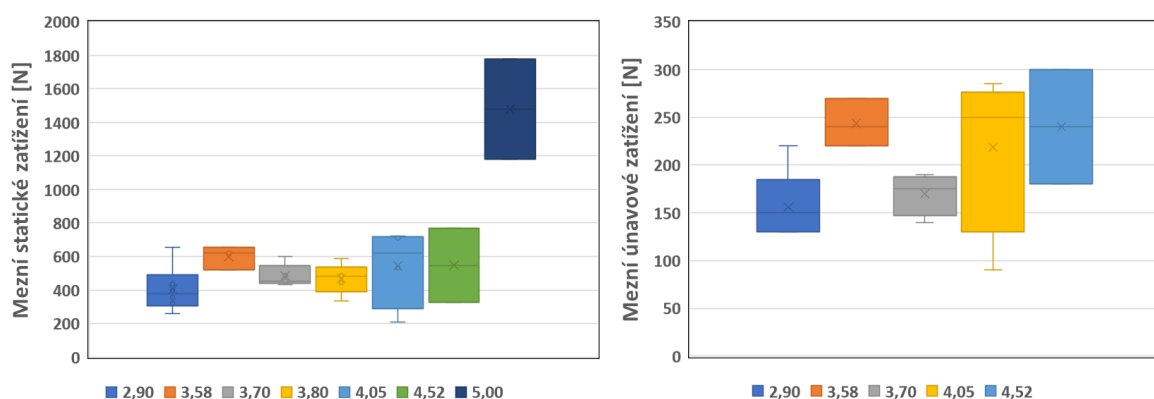
Obr. 7.7 Přípravky pro únavové zkoušky spolu se zalitými dentálními implantáty (vlevo); detail uchyceného implantátu při zkoušce na testovacím systému MTS Mini Bionix se silovým snímačem 500 N (vpravo). Foto autor.

Proto je v naší laboratoři realizováno experimentální hodnocení **únavy** dentálních implantátů, které je nejčastěji využíváno výrobcí implantátů při vývoji nových produktů. Experimenty probíhají na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 500 N a 2500 N (relativní chyba měření síly obou snímačů není větší než 0,3 %). Metodika byla popsána v kapitole výše (viz Kap. 2.1.2.4). Princip zkoušky spočívá v **cyklickém kombinovaném zatěžování** dentálních implantátů, kdy dochází k zatěžování **v tlaku a ohybu** (viz Obr. 7.7 vpravo). Pro stanovení **mezního únavového zatížení F_{max}** a **maximálního ohybového momentu M_{omax}** je zapotřebí prokázat $5 \cdot 10^6$ cyklů při frekvenci zatěžování ne větší než 15 Hz na dané zatěžovací hladině. Dojde-li během zatěžování na dané hladině k destrukci implantátu (viz Obr. 7.8), pak musí být prokazování mezního únavového zatížení opakováno s dalšími 3 implantáty na nižší hladině.



Obr. 7.8 Dentální implantát poškozený při prokazování hladiny mezního únavového zatížení při cyklických zkouškách – zřejmé rozlomení těla implantátu (vlevo); speciální přípravek navržený a vyrobený pro přesné zalévání dentálních implantátů (vpravo). Foto autor.

Specifičností těchto zkoušek je potřeba zalévání implantátů do přípravků (viz Obr. 7.8 vpravo), které byly navrženy a vyrobeny tak aby byl zajištěn požadavek normy ČSN EN ISO 14801 [40] na vyložení nitrokostní části implantátu („body“) o 3 mm nad zalévací hmotu (viz Obr. 7.7 vlevo) a její modul pružnosti větší než 3,0 GPa. Celkové vyložení centra zatěžování implantátu nad zalévací hmotu je 11,0 mm a určuje velikost působícího ohybového momentu. Používanou zalévací hmotou je materiál DURACRYL PLUS (SpofaDental, Česká republika), jehož modul pružnosti byl ověřen na hodnotě 3,2 GPa a odpovídá vlastnostem kostní tkáně čelisti.



Obr. 7.9 Hodnoty mezního statického a únavového zatížení v závislosti na průměru dentálního implantátu zjištěné při ověřování jejich únavových vlastností. Zdroj autor.

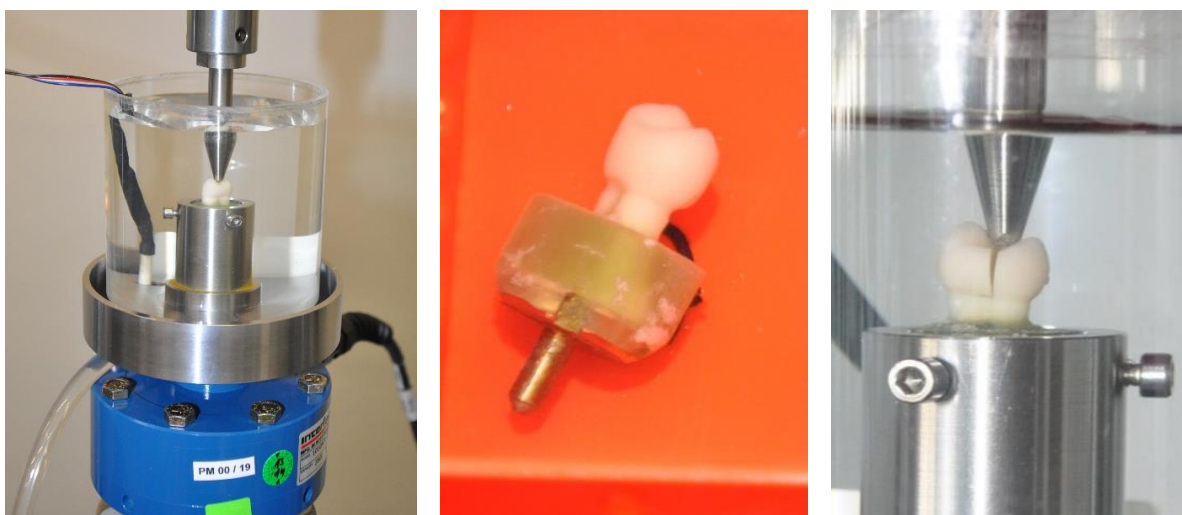
Předmětem zkoušení v naší laboratoři bylo mnoho typů dentálních implantátů tuzemských i zahraničních výrobců (např. LASAK, MEDIN ORTHOPAEDICS, MARTIKAN, MICROMECH atd.). S ohledem na průměry implantátů v rozsahu od 2,9 do 5,0 mm bylo stanoveno mezní statické zatížení v rozsahu 210–1776 N, pro předepsaný počet $5 \cdot 10^6$ cyklů byly prokázány hodnoty mezního únavového zatížení v rozsahu 90–352 N a hodnoty maximálního ohybového momentu při mezním únavovém zatížení 482–1925 N·m. Rozptyl zjištěných hodnot mezního statického a únavového zatížení v závislosti na průměru těla implantátu je zřejmý z grafu (viz Obr. 7.9).

7.5 Vliv modifikací epoxidových nanokeramických dentálních korunek vyráběných CAD-CAM technologií na jejich životnost

Technologie CAD-CAM (počítačem podporovaný návrh a obrábění) se v posledních letech velmi rozvíjí i v oblasti výroby dentálních náhrad. S ohledem na 3D skenování zubů přímo v zubních ordinacích je výroba rychlejší a frézované implantáty vyráběné z polotovarů jsou přesnější z hlediska anatomie i rozměrů. V důsledku toho je nyní na trhu k dispozici široká škála polotovarů z nových materiálů na bázi polymerů s vysokým obsahem keramických plniv. Tyto materiály vykazují lepší mechanické vlastnosti (pevnost v ohybu, tvrdost, houževnatost, odolnost proti opotřebení) a optické vlastnosti (průsvitnost, lesk atp.) než původní pryskyřičné materiály. Současně jsou zajímavější s ohledem na snazší výrobu a praktické klinické vlastnosti, jako je možnost povrchové modifikace z funkčních nebo estetických důvodů bezpečnou intraorální opravou, která se provádí povrchovým pískováním, zatímco pro opravu keramiky je zapotřebí toxická kyselina fluorovodíková [253], [254].

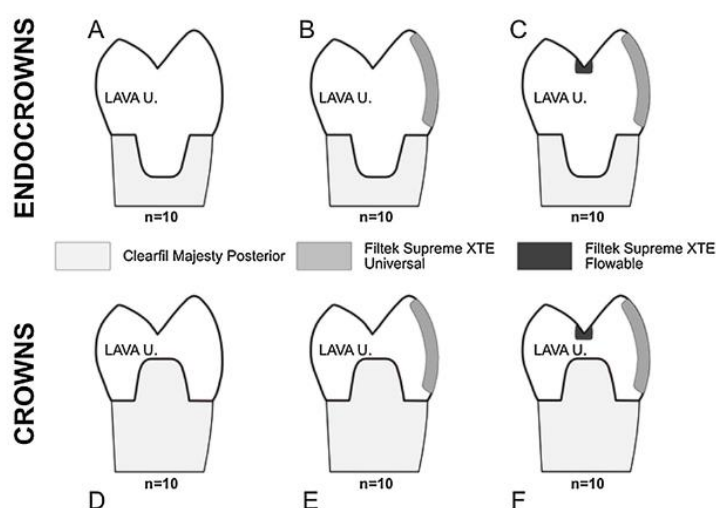
Materiál Lava Ultimate (3M ESPE, USA) je jedním z prvních „hybridních“ materiálů. Jedná se o pryskyřičný nanokeramický materiál (RNC), kde je matrice z dimethylakrylátové pryskyřice vyztužena nanoplavidly oxidu křemičitého a zirkoničitého (cca 80 hm. %). U náhrad vyrobených z tohoto materiálu byla zaznamenána zlepšená pevnost v ohybu a houževnatost ve srovnání s předchozími pryskyřičnými kompozity. Existují však obavy týkající se estetiky tohoto materiálu, protože polotovary jsou jednobarevné a určitá modifikace surového obrobku po frézování může být nezbytná v závislosti na estetických potřebách pacienta. Takové úpravy lze dosáhnout nahrazením 1-2 mm bukalní a/nebo okluzální plošky kompozitní vrstvou z estetické pryskyřice. K bukalnímu fasetování se často používají regenerační hybridní pryskyřice, zatímco k napodobení odstínu a anatomie okluzní trhliny se používají barvené pryskyřice s tekutou konzistencí. Zásahy do povrchu obrobene dentální náhrady však mohou mít dopady na její odolnost vůči opotřebení a životnost. Navíc lze předpokládat, že s ohledem na tvar dentálních náhrad by takové zásahy mohly mít větší negativní dopad na korunky než na endokorunky, protože jejich tloušťka je omezena přítomností jádra (viz Obr. 7.11). Endokorunka se od standardní korunky liší tím, že zasahuje svou vnitřní částí do části kořenového systému zubu, což zaručí vyšší stabilitu takto zhotoveného implantátu a výbornou estetiku. Tento typ korunek nahrazuje dříve používané čepované korunky [255], [256], [257].

Proto byla ve spolupráci s MUDr. Rocca a jeho týmem z University of Geneva, School of Dentistry, Division of Cariology and Endodontology realizována experimentální studie, jejíž cílem bylo hodnocení vlivu modifikací dentálních náhrad vyráběných CAD-CAM technologií na jejich životnost **při cyklických tlakových zkouškách** (základní princip metodiky viz Kap. 2.1.1.2 a 2.1.2.4). Experimenty proběhly v naší laboratoři na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 2500 N (relativní chyba měření síly 0,3 %). Pro uchycení a zkoušení implantátů byly zkonstruovány a vyrobeny speciální přípravky jež umožňují cyklické bodové zatěžování dentálních náhrad v přesně definovaných místech (viz Obr. 7.10).



Obr. 7.10 Cyklické zkoušky pro hodnocení životnosti dentálních náhrad – speciální přípravek pro uchycení a přesné bodové zatěžování implantátu (vlevo), detail korunky připravené na zkoušení (uprostřed), detail rozlomeného implantátu (vpravo). Foto autor.

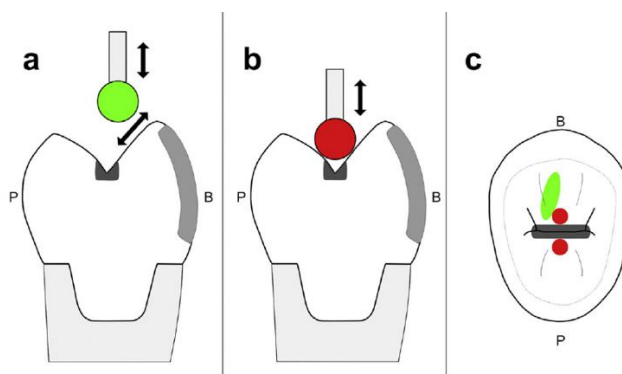
Zkouškám bylo podrobena šedesát dentálních náhrad vyrobených za pomoci CAD-CAM technologie z nanokeramických pryskyřičných kompozitů Lava Ultimate (3M ESPE, USA). Dentální náhrady byly rovnoměrně zastoupeny korunkami a endokorunkami. Celkově byly vzorky rozděleny do šesti skupin ($n = 10$). Skupina A představovala plně anatomické endokorunky, skupina D pak plně anatomické korunky. Endokorunky skupiny B a korunky skupiny E měly bukální plošku modifikovanou nanokeramickým hybridním kompozitem Filtek Supreme XTE Universal Restorative, A3B (3M ESPE, Německo). Endokorunky skupiny C a korunky skupiny F měli navíc ještě vytvořený okluzní žlábek naplněný tekutým pryskyřičným kompozitem Filtek Supreme XTE Flowable A3 (3M ESPE, Německo) (viz Obr. 7.11).



Obr. 7.11 Rozdělení a schematické znázornění skupin testovaných korunek spolu s určením modulů pružnosti použitých komponent – Clearfil Majesty Posterior 22 GPa, Lava Ultimate 13 GPa, Filtek Supreme XTE Universal 11 GPa a Filtek Supereme XTE Flowable 7 GPa [10].

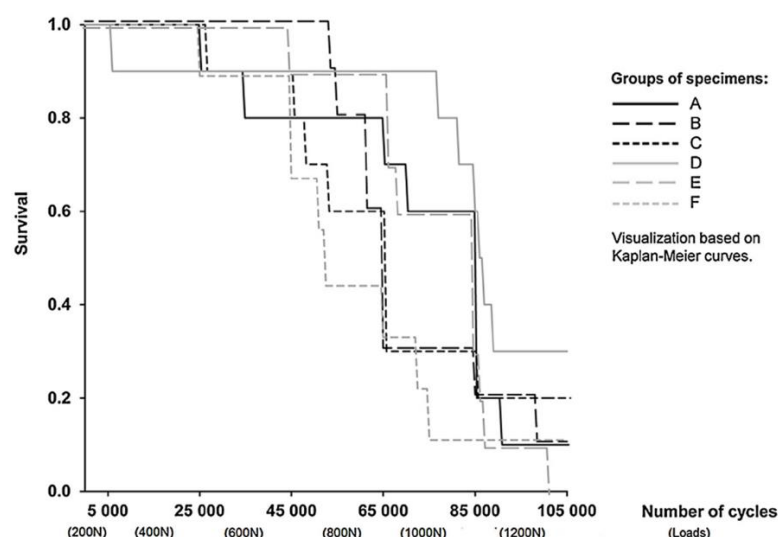
Experimenty byly rozděleny do dvou fází. Nejprve byly na spolupracujícím pracovišti všechny vzorky podrobny termomechanickému předcyklování (49 N; $R = 0,1$; 6×10^5 cyklů; 1 500 termocyklů). Poté bylo v naší laboratoři realizováno postupné cyklické zatěžování 5×10^3 cyklů při 200 N, následovaných 2×10^4 cykly při 400 N, 600 N, 800 N, 1 000 N a 1 200 N

až do dokončení 105×10^3 cyklů nebo poškození implantátu. Zatěžování probíhalo při frekvenci 5 Hz a s koeficientem nesouměrnosti $R = 0,1$. Implantáty byly po celou dobu zkoušení ponořeny ve fyziologickém roztoku. Schematické znázornění způsobů mechanického zatěžování testovaných implantátů je na obrázku (viz Obr. 7.12). V případě destrukce byly fragmenty analyzovány pomocí SEM a byly stanoveny módy poškození.



Obr. 7.12 Schematické znázornění způsobů mechanického zatěžování testovaných endokorunek – (a) klouzavý pohyb po povrchu vzorku ve žvýkacím simulátoru v průběhu termomechanického předcyklování, (b) postupné cyklické zatěžování, (c) pohled shora, kde jsou schematicky znázorněna zatěžovaná místa [10].

Vyhodnocením realizovaných cyklických únavových zkoušek bylo zjištěno, že zatěžování 105 000 cyklů přežilo 30 % implantátů ve skupině D, 20 % ve skupině C, 10 % ve skupinách A, B a F a žádný ve skupině E. Bukální modifikované plochy skupin B, C, E a F nebyly nikdy součástí vzniklé trhliny. Na druhou stranu, výplň okluzního žlábků skupin C a F byla vždy rozdrčena ve zlomených vzorcích. Převládajícím způsobem lomu u endokorunek byla vertikální prasklina, zatímco korunky se více lámaly s částečnými frakturami. Zpracováním dat Kaplan-Meierovou životnostní metodou byla získána **křivka přežití jednotlivých skupin testovaných implantátů**, která je zobrazena níže (viz Obr. 7.13).



Obr. 7.13 Křivka přežití jednotlivých skupin testovaných implantátů A, B, C, D, E a F zpracovaná na základě provedené statistické analýzy Kaplan-Meierovou životnostní metodou ($p = 0,05$) [10].

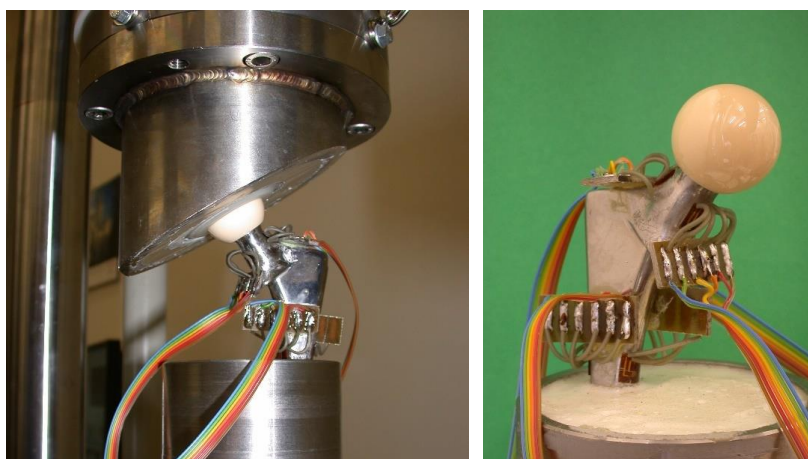
Rozdíly v přežití mezi skupinami nebyly statisticky významné ($p = 0,05$) kromě skupin D (vydržely nejvíce) a F (vydržely nejméně). Lze tedy konstatovat, že **modifikace bukálních**

plošek dentálních náhrad vyráběných CAD-CAM technologií z nanokeramických hybridních kompozitů neměla žádný vliv na jejich životnost při cyklických tlakových zkouškách, kromě skupiny korunek s vytvořeným okluzním žlábkem naplněným tekutým pryskyřičným kompozitem.

7.6 Životnost kyčelního dříku totální endoprotézy

Bolest v kyčelním kloubu může výrazně ovlivnit možnost aktivního života člověka. V posledních letech došlo k výraznému zlepšení výsledků při implantacích umělého kyčelního kloubu a prodloužení životnosti. Náhrada kyčelního kloubu je běžným způsobem řešení nemocí postihujících kyčelní klouby dospělých. Tato operační technika se v současnosti v souvislosti se stárnutím populace stává nejčastěji prováděným ortopedickým výkonem. Síly působící v kyčelním kloubu v důsledku lidské činnosti vytvářejí dynamická zatížení a mohou způsobit mechanické selhání materiálu implantátu z důvodu jeho únavy. V posledních letech bylo takové selhání výrazně sníženo. Spolu s vývojem nových materiálů a výrobních technologií je však kladen stále větší důraz na ověřování mechanických vlastností a životnosti komponent kyčelních náhrad a celých sestav [258], [259], [260].

Proto bylo v naší laboratoři realizováno ověření **životnosti kyčelního dříku**. Metodika byla popsána v kapitole výše (viz Kap. 2.1.2.3) a vychází z normy ISO 7206-4 [39]. Princip zkoušky spočívá v **cyklickém kombinovaném zatěžování celé endoprotézy**, kdy dochází k zatěžování **v tlaku a ohybu**. Statická zkouška probíhala tak, že došlo k zatížení kyčelní náhrady v pěti po sobě jdoucích cyklech tlakovou osovou silou 2 300 N. Při únavové zkoušce byla testovaná sestava zatěžována pulzující silou o sinusovém průběhu s frekvencí 12 Hz, s maximální hodnotou 2 300 N a minimální hodnotou 300 N a $5 \cdot 10^6$ cykly. Experimenty byly realizovány na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 25 kN (relativní chyba měření síly 0,4 %) (viz Obr. 7.14). V rámci zkoušení bylo provedeno i tenzometrické měření při statickém zatížení, které následně sloužilo k verifikaci matematického modelu využívajícího metodu konečných prvků.



Obr. 7.14 Endoprotéza kyčelního kloubu při kombinovaném cyklickém zatěžování v testovacím systému MTS Mini Bionix (vlevo), detail kyčelního dříku endoprotézy s keramickou hlavicí a tenzometry umístěnými pro měření lokálních deformací kritických míst dříku (vpravo) [261].

K zajištění správné polohy kyčelního dříku a kyčelní jamky při zalití do nerezových ocelových nosičů (vyrobených z materiálu dle ČSN EN 10088-3 [262]) byly zkonstruovány a vyrobeny speciální přípravky. Geometrické modely přípravku byly vytvořeny tak, aby bylo dosaženo požadavků, které předepisuje normativ ISO 7206-4 [39]. Vlastní výroba zalévacích přípravků byla provedena aditivní technologií 3D tisku *Fused Deposition Modeling* (FDM) na zařízení Prodigy Plus (STRARASYS, USA).

Testován byl cylindrický kyčelní dřík (MEDIN, Česká republika), který se ve spojení se sférickou jamkou (MEDIN, Česká republika) používá jako primární kyčelní náhrada. Kyčelní dřík je vybaven usazovacím límcem, je vyroben ze slitiny FeNiCr (dle ISO 5832-1 [263]) a používá se v cementovaném provedení. Testován byl kus velikosti 10 mm, dle průměru distální cylindrické části. Sférická kyčelní jamka se používá v necementovaném provedení. Tato kyčelní jamka se skládá z acetabulární komponenty vyrobené ze slitiny Ti6Al4V (dle ISO 5832-3 [264]) a z artikulační vložky jamky, která je vyráběna z vysokomolekulárního polyethylenu (UHMWPE dle ISO 5834-2 [265]). Kyčelní jamka byla použita ve velikosti 51/28, kde velikost 51 udává průměr vnější sférické plochy a číslo 28 udává velikost hlavice. Kyčelní hlavice byla použita keramická o průměru 28 mm (MEDIN, Česká republika), která je vyráběna ze slinutého polykrystalického korundu (dle ISO 6474 [266]).

V průběhu testu byl vykonán předepsaný počet $5 \cdot 10^6$ cyklů. Zkoušená **totální kyčelní náhrada** (MEDIN, Česká republika) **prošla testem bez známek poškození**, a to jak ve statické, tak i únavové části. Navíc nedošlo ani k nárůstu deformace na hodnotu převyšující 1,25násobek deformace na začátku únavového testu. Zkoušená sestava tedy jako celek prokázala schopnost bezproblémového přenosu požadovaného zatížení [261].

7.7 Odolnost modulární acetabulární komponenty vůči uvolnění vložky

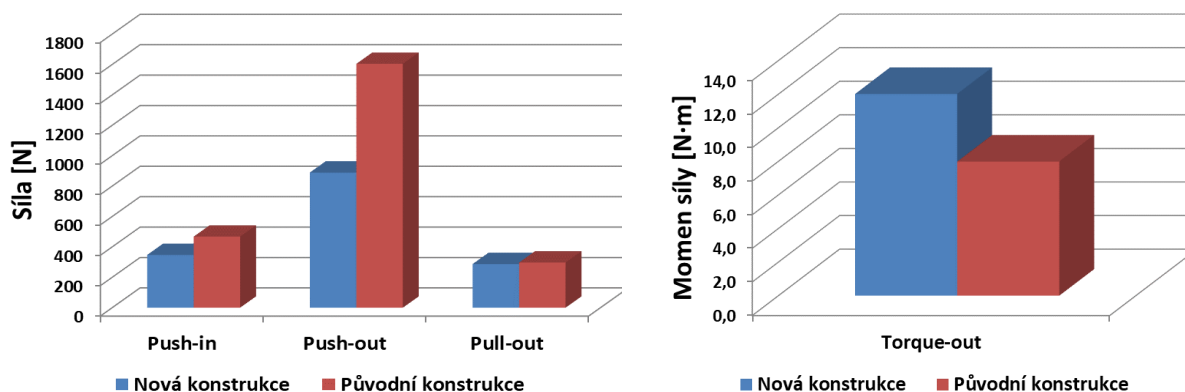
Modulární acetabulární komponenty jsou široce používány při provádění totální kyčelní artroplastiky (THA, *Total Hip Arthroplasty*), při řešení problematiky těžkého poškození acetabula nebo při reoperacích kyčelních náhrad. V současné době je také jednou z běžných technik acetabulární rekonstrukce při revizi THA použití necementované porézní jamky s doplňkovou šroubovou fixací a vkládanou vložkou. Konstrukce, způsob uložení a pevnost zámku artikulační vložky modulární acetabulární komponenty, která je zpravidla vyráběna z vysokomolekulárního polyethylenu (UHMWPE), určuje stabilitu této sestavy [267], [268], [269].

Proto bylo v naší laboratoři realizováno zkoušení odolnosti vložek vůči uvolnění z acetabulárních jamek. Metodika principiálně vychází z **tlakových zkoušek** (viz Kap. 2.1.1.2) a dále pak z mezinárodní normy ASTM F1820-13 s názvem „Standard Test Method for Determining the Forces for Disassembly of Modular Acetabular Devices“ [270]. Jejím cílem je posoudit pevnost zámku acetabulární vložky v modulární skořepině, je-li vystavena různým podmínkám zatěžování. Princip spočívá v realizaci čtyř kvazistatických zkoušek, které jsou zaměřeny na různé způsoby uvolnění vložky z acetabulární jamky. Zkoušky jsou rozděleny do těchto režimů - „*Push-in*“, „*Push-out*“, „*Torque-out*“ a „*Pull-out*“ (viz Obr. 7.16). Zatěžovací režim „*Push-in*“ je zaměřen na zjištění osové síly, při které dojde k „zacvaknutí“ vložky do jamky. Test spočívá v plynulém zatěžování vložky až do hodnoty osové síly 2000 N, přičemž zatěžující hlavice se pohybuje konstantní rychlostí $2,4 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ (viz Obr. 7.16 vlevo nahoře).

Síla, při které dojde k „zavaknutí“ vložky je zjištěna z datového záznamu. Zatěžovací režim „**Push-out**“ spočítá v ověření soudržnosti vložky fixované (namáčknuté) do jamky. Trn pohybující se konstantní rychlostí posuvu $51 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ vytlačuje vložku z jamky, která v sobě má otvor pro vstup trnu (viz Obr. 7.16 vpravo nahoře). Zjišťuje se maximální síla potřebná pro vytlačení vložky. Při zatěžování však nesmí dojít k proděravění nebo jinému výraznějšímu poškození vložky. V takovém případě by byla zjištěná hodnota neplatná. Zatěžovací režim „**Torque-out**“ si klade za cíl hodnotit odolnost proti pootočení vložky v acetabulární jamce. Nejprve je vložka namáčknuta do jamky silou 2 kN. Poté je jamka uchycena do speciálních čelistí a probíhá zatěžování s využitím speciální hlavice, která je opatřena výstupky zapadajícími do vybrání ve vložce (viz Obr. 7.16 vlevo dole). Hlavice se natáčí konstantní rychlostí $6^\circ \cdot \text{s}^{-1}$ za současného udržování tlakové osové síly velikosti 100 N. Dojde-li k poklesu působícího kroutícího momentu o 10 % od maximální hodnoty, je zatěžování ukončeno a maximální hodnota zaznamenána. Zatěžovací režim „**Pull-out**“ zjišťuje maximální sílu, kterou je potřeba vyvinout k vytažení vložky z acetabulární jamky speciálním trnem s bočním výstupkem (viz Obr. 7.16 vpravo dole). Tažný trn se pohybuje konstantní rychlostí posuvu $51 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ a je zjišťována maximální síla potřebná pro vytažení vložky z jamky. Při zatěžování nesmí dojít k protržení otvoru ve vložce nebo vyskočení trnu před vytažením vložky z jamky.

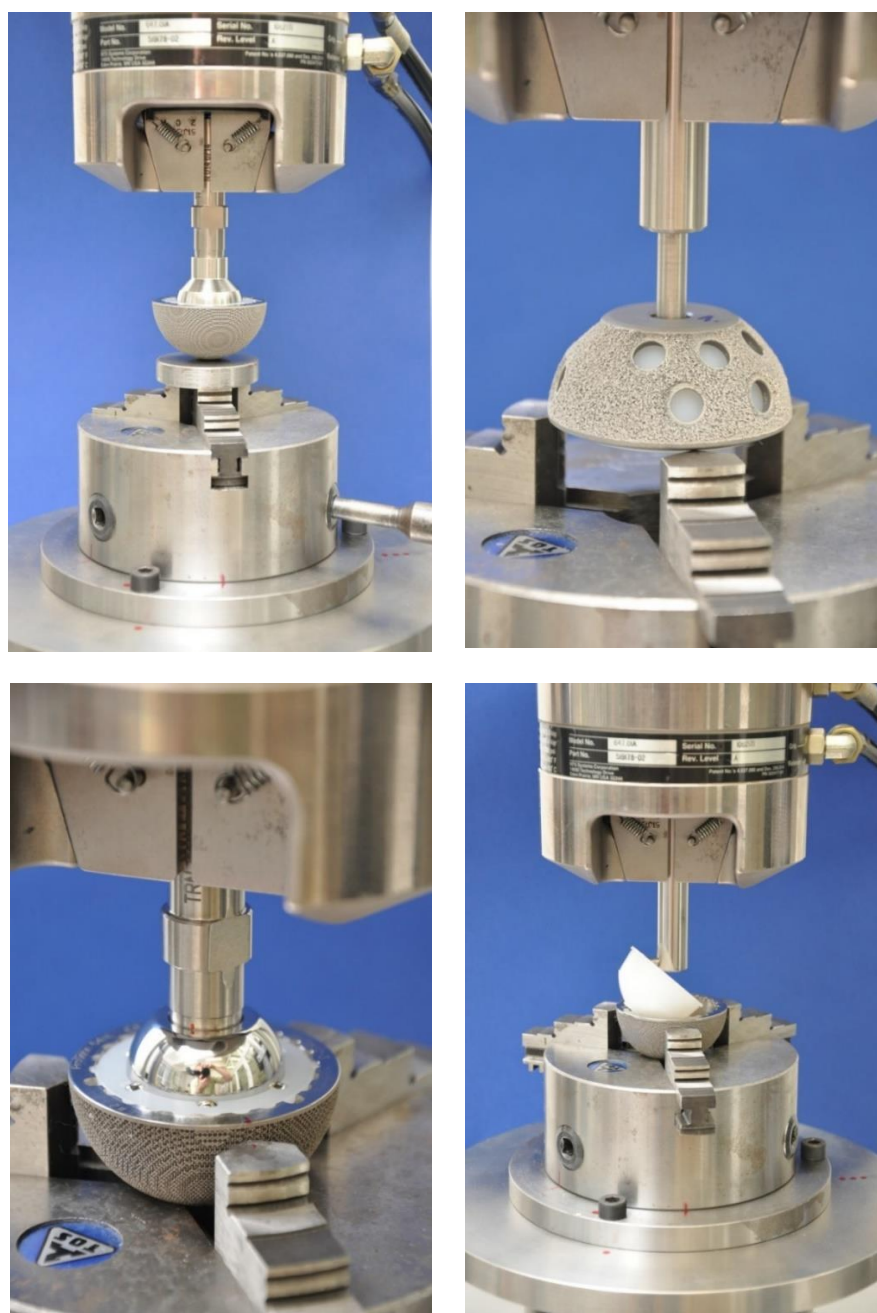
Experimenty byly realizovány na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 25 kN (relativní chyba měření síly 0,4 %). Pro uchycení testovaných komponent a zajištění jejich správné polohy bylo zkonstruováno a vyrobeno několik sad přípravků jež umožňují realizace všech čtyř zátěžových režimů.

Testovány byly nové vývojové typy acetabulární jamky náhrady kyčelního kloubu (ProSpon, Česká republika) vyrobené ze slitiny Ti6Al4V (dle ČSN EN ISO 5832-3 [264]) a artikulační vložky z UHMWPE (dle ISO 5834-2 [265]). Zatěžující hlavice byly vyrobeny ze slitiny CoCrMo.



Obr. 7.15 Parametry hodnotící odolnost modulární acetabulární komponenty vůči uvolnění vložky při mechanických zkouškách ve čtyřech režimech – *Push-in*, *Push-out*, *Torque-out*, *Pull-out* [63].

Hodnoty zjištěné realizací experimentů ve všech čtyřech režimech jsou uvedeny v grafu (viz Obr. 7.15) a umožňují porovnání nového a původního konstrukčního řešení. **U nového řešení vyvíjené totální endoprotézy se podařilo snížit sílu potřebnou pro namáčknutí vložky do acetabulární jamky o 26 % z $467 \pm 126 \text{ N}$ na $346 \pm 49 \text{ N}$. Kroutící moment potřebný k pootočení vložky v jamce narostl o 50 %, a to z $8,0 \pm 2,4 \text{ N} \cdot \text{m}$ na $12,0 \pm 0,5 \text{ N} \cdot \text{m}$, přičemž síla potřebná na vytažení vložky z jamky se téměř nezměnila ($297 \pm 74 \text{ N}$ vs. $287 \pm 38 \text{ N}$) [63].**



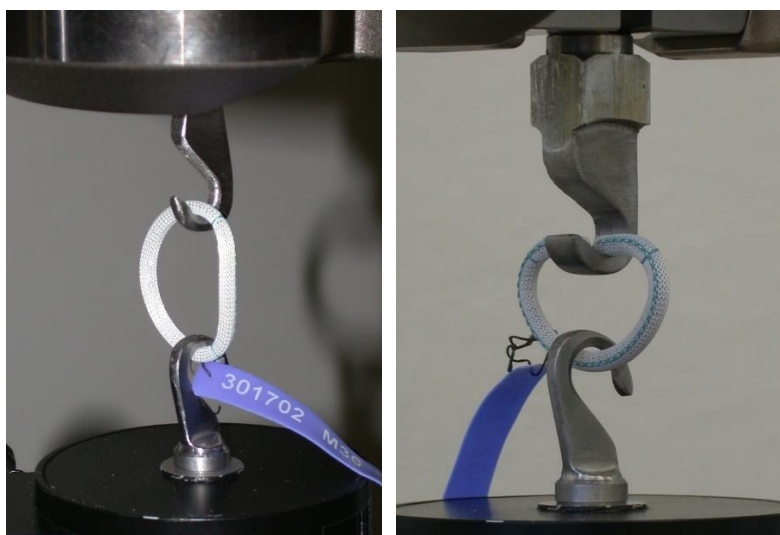
Obr. 7.16 Sestavy čtyř kvazistatických testovacích režimů pro hodnocení odolnosti vložky vůči uvolnění z acetabulární jamky na testovacím systému MTS Mini Bionix – zleva shora *Push-in*, *Push-out*, zleva dole *Torque-out*, *Pull-out* [63].

7.8 Vlastnosti mitrálních anuloplastických implantátů v tahu

Mitrální anuloplastické prstence jsou implantáty, které se používají k rekonstrukci nebo tvarovému zpevnění mitrální chlopně. V chirurgii srdečních chlopní je otázka optimálních vlastností těchto implantátů předmětem značných diskusí. Především se předpokládá, že jejich mechanické vlastnosti mají velký význam pro optimální výkon srdce po operaci. Z klinického hlediska by anuloplastický prstenec měl umožňovat požadovanou remodelaci

chloupně, aniž by bránil jejímu přirozenému chování. Tuhost implantátu je tedy pravděpodobně jedním z důležitých parametrů, kterým je nutno věnovat pozornost [271], [272].

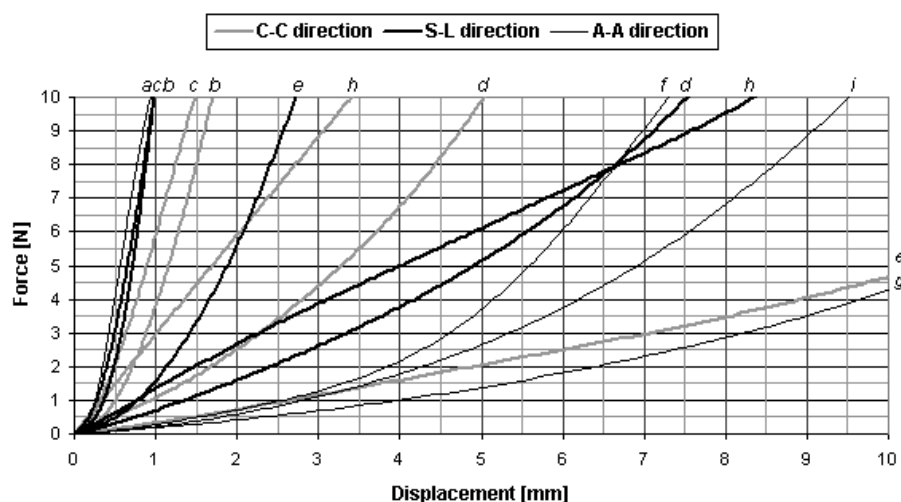
Proto byla ve spolupráci s Ing. Havlíkem a jeho týmem z Delft University of Technology realizována experimentální studie, jejíž cílem bylo hodnocení mechanických vlastností mitrálních anuloplastických implantátů **při tahových zkouškách**. Základním předpokladem pro obecné stanovení mechanických vlastností bylo tahové zatěžování jednotlivých implantátů podél jejich os symetrie (základní princip metodiky viz Kap. 2.1.1.1).



Obr. 7.17 Tahové zkoušky uzavřených flexibilních (vlevo) a otevřených rigidních mitrálních anuloplastických implantátů (vpravo) na testovacím systému MTS Mini Bionix. Foto autor.

V naší laboratoři byly na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném velmi citlivým silovým snímačem s rozsahem 10 N (relativní chyba měření síly 0,3 %) realizovány experimenty s celkem 23 vzorky mitrálních implantátů od pěti předních světových výrobců – JUDE MEDICAL, EDWARDS LIFE SCIENCES (Nizozemí), SULZER CARBOMEDICS, MEDTRONIC (Nizozemí) a SORIN BIOMEDICA (Belgie). Pro uchycení implantátů byly zkonstruovány a vyrobeny 2 sady přípravků jež umožňují zatěžování všech typů implantátů v požadovaných směrech. Mitrální implantáty byly opakovaně zatěžovány konstantní rychlostí $6,0 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ do 10 N. Uzavřené rigidní a flexibilní implantáty a otevřené rigidní implantáty byly nedestruktivně zatěžovány ve dvou kolmých osách (viz Obr. 7.17) – ve směru commissure-to-commissure (C-C) a ve směru septo-laterálním (S-L). Otevřené flexibilní implantáty pak byly zatěžovány pouze v podélném směru (A-A).

Vyhodnocením realizovaných tahových zkoušek byly získány závislosti aplikované síly na deformaci a byla stanovena **tuhost implantátů a její rozložení podél os symetrie** i hysterezní chování materiálů. Souhrnný pracovní diagram je na obrázku níže (viz Obr. 7.18), kde jsou testované vzorky zastoupeny takto: a) AnnuloFlex M30; b) AnnuloFlo M30; c) CE Classic M30; d) CE Physio M30; e) CG Future M32; f) Cosgrove-Edwards M30; g) Duran band M31; h) SJM Séguin M30; i) SJM Tailor band M31. Ze získaných charakteristik je zřejmé hyperelastické chování materiálů. Dále pak lze na základě dříve změřených deformací zpětně odhadnout síly působící v chlopních.



Obr. 7.18 Souhrnný pracovní diagram z tahových zkoušek mitrálních anuloplastických implantátů – zatěžování ve směru commissure-to-commissure (C-C), ve směru septo-laterálním (S-L) a v podélném směru (A-A); rozdělení vzorků: a) AnnuloFlex M30; b) AnnuloFlo M30; c) CE Classic M30; d) CE Physio M30; e) CG Future M32; f) Cosgrove-Edwards M30; g) Duran band M31; h) SJM Séguin M30; i) SJM Tailor band M31 [273].

Na základě provedených experimentů lze vyjasnit a zpřesnit diskuse o flexibilitě anuloplastických implantátů. Jsou hodnotným nástrojem k vzájemnému porovnávání aktuálně dostupných typů implantátů jak pro chirurgy, tak pro výrobce. Přestože z vyhodnocení nelze přímo stanovit optimální hodnoty tuhosti implantátů, poskytují naměřená data potřebné informace pro vývoj nových chlopňových implantátů [274].

7.9 Dynamické zkoušky dlah a hřebů pro osteosyntézu dlouhých kostí

K operační léčbě otevřených a komplikovaných zlomenin je nejčastěji využívána vnitřní osteosyntéza, tj. technika spojení kostních fragmentů pomocí kovových implantátů – dlah, šroubů a hřebů. Výhodou tohoto postupu vnitřní fixace je zachování pohybu přilehlých kloubů při znehybnění kostních fragmentů, což umožňuje včasnou rehabilitaci a mobilizaci pacienta. Použité implantáty jsou v takovém případě zatěžovány cyklicky a jejich vlastnosti a odolnost jsou zásadní pro úspěch léčby [275], [276], [277].

Proto bylo v naší laboratoři realizováno několik studií zaměřených na **dynamické zkoušení životnosti** dlah a hřebů používaných pro vnitřní osteosyntézu dlouhých kostí. Základní princip cyklických zkoušek byl uveden v kapitole výše (viz Kap. 2.4.2), aplikace kombinovaného zatěžování pak byla zmíněna u zatěžování kyčelních náhrad (viz Kap. 2.1.2.3). Zde však byla pozornost upřena na modifikaci metodiky zkoušení přiblížením k reálnému zatěžování implantátu při rehabilitaci ve fázi hojení. Proto nebylo využito přímo normativů, které se zabývají hodnocením únavových vlastností samotných dlah a hřebů, ale byly vyvinuty a validovány nové metodiky zohledňující částečný přenos zatížení srůstající kostí. Namáhání bylo stanoveno s ohledem na velikost běžného zatížení dolní končetiny, které se pohybuje mezi 200 a 600 N, v závislosti na prováděných aktivitách člověka a s vědomím výskytu špiček zatížení při rychlejších změnách polohy. Maximální aplikovaná síla byla 4 kN a způsob namáhání byl míjivý cyklický tlak při frekvenci 10 Hz. Počet cyklů byl předepsán na $2 \cdot 10^5$ cyklů,

což odpovídá době rekonvalescence a předpokládaným rehabilitačním aktivitám v době hojení [278], [279], [280].

Specifičnost realizovaných studií spočívala v konstrukci přípravků, které byly vyrobeny z masivního dubového dřeva a také např. ve využití částí simulujících přenos zatížení srůstající kostí. K tomuto účelu sloužila vložka s tuhostními parametry blízkými kosti (viz Obr. 7.19). Vyrobená byla technologií *Rapid Prototyping* metodou *Fused Deposition Modeling* (FDM). Vložka byla cíleně vyrobena s vrubem, aby byla umožněna deformace 0,5 mm představující pohyby zatížené nezhojené kosti. Vhodně navržené bukové přípravky umožnily, aby směr zatěžovací síly procházel domnělou spojnicí přilehlých kloubů (např. kolenního kloubu a kotníku). Dlahy a hřeby byly uchyceny pomocí standardně používaných šroubů. Zatěžování probíhalo přes kulové plochy, aby bylo zachováno kloubové spojení a s tím spojený způsob ohybového zatěžování. Konfigurace pro zatěžování femorální dlahy a hřebu pro proximální část tibie je patrná z dalšího obrázku (viz Obr. 7.20).



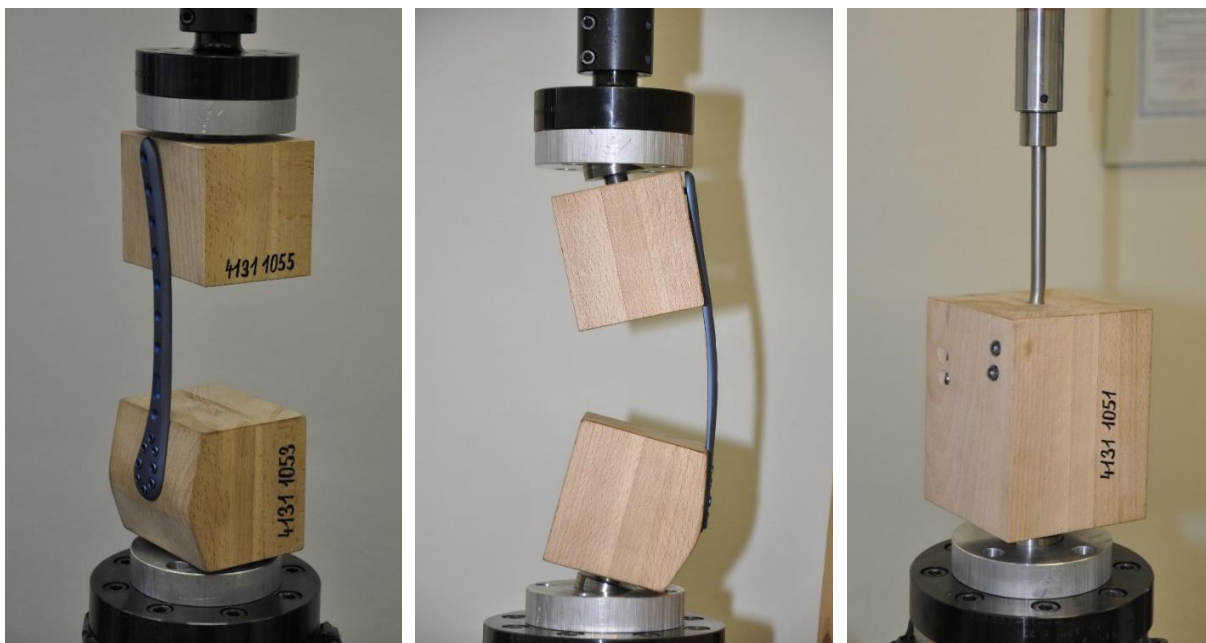
Obr. 7.19 Dynamické zkoušky dlah pro osteosyntézu dlouhých kostí – detail testované sestavy tibiální dlahy a přípravků (vlevo), umístění v testovacím systému MTS Mini Bionix (vpravo) [62].

Experimenty byly realizovány na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 25 kN (relativní chyba měření síly 0,4 %) při pokojové teplotě. Vyhodnocením zkoušek bylo zjištěno např. to, že **při specifickém zatěžování blízkém reálnému zatížení dlahy pro osteosyntézu proximální části tibie nebyly nalezeny rozdíly mezi dvěma technologickými postupy výroby – tvářením následované obráběním a pouze obráběné implantáty** u materiálu implantátová ocel 1.4441 dle ČSN EN ISO 5832-1 [263] s naměřenou pevností $R_m = 934$ MPa, povrchovou úpravou tryskáním balotinou a leštěním na $R_a = 0,2$ [62].

Při testování dlah určených pro distální část femuru, které byly vyrobeny z titanové slitiny Ti6Al4V s povrchovou úpravou tryskáním balotinou, mez pevnosti $R_m = 1095$ MPa, bylo zjištěno, že **při použití vložky simulující přenesení části namáhání hojící se kostí vydrží dlahy**

cyklické mívivé zatížení do 3,5 kN. Při odstranění vložky však docházelo k trvalé deformaci dlahy již při zatížení 850 N [52].

Ze zkoušek proběhnuvších na **hřebech určených pro proximální část tibie**, které byly vyrobeny ze stejné slitiny Ti6Al4V **bylo zjištěno, že cyklické mívivé zatížení do 3,7 kN nezpůsobí po $2 \cdot 10^5$ cyklech destrukci hřebu.** Docházelo však již k trvalým deformacím a destrukcím zajišťovacích šroubů. K žádným poškozením nedocházelo při zatížení do 2,5 kN. Zvýšená hladina namáhání do 3,7 kN je naddimenzovaná a není pravděpodobné, že by ve skutečnosti byl tibiální hřeb při rekonvalescenci vystaven tak extrémnímu zatížení.

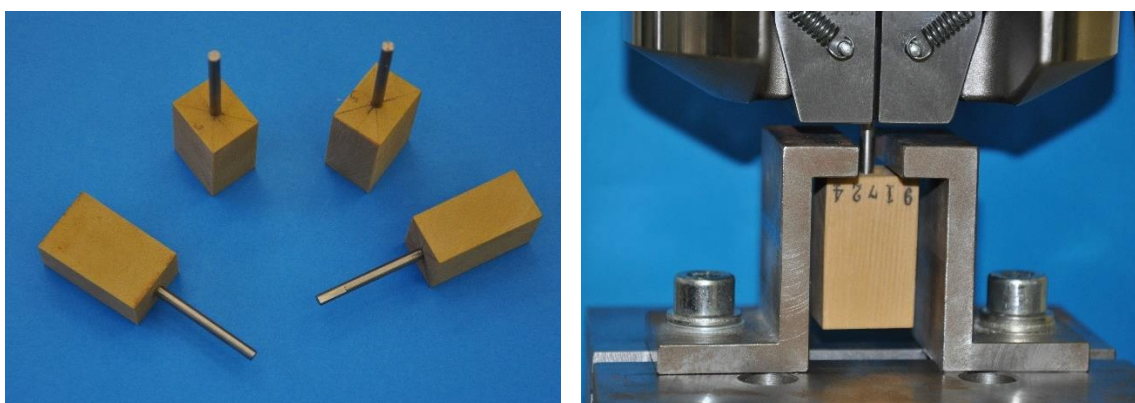


Obr. 7.20 Dynamické zkoušky dlah pro distální část femuru fixovaných k přípravkům umístěných v testovacím systému MTS Mini Bionix před zatížením (vlevo) a v zatíženém stavu (uprostřed); konfigurace pro zkoušení hřebů pro osteosyntézu proximální části tibie (vpravo) [52].

7.10 Pevnost ukotvení kostních implantátů

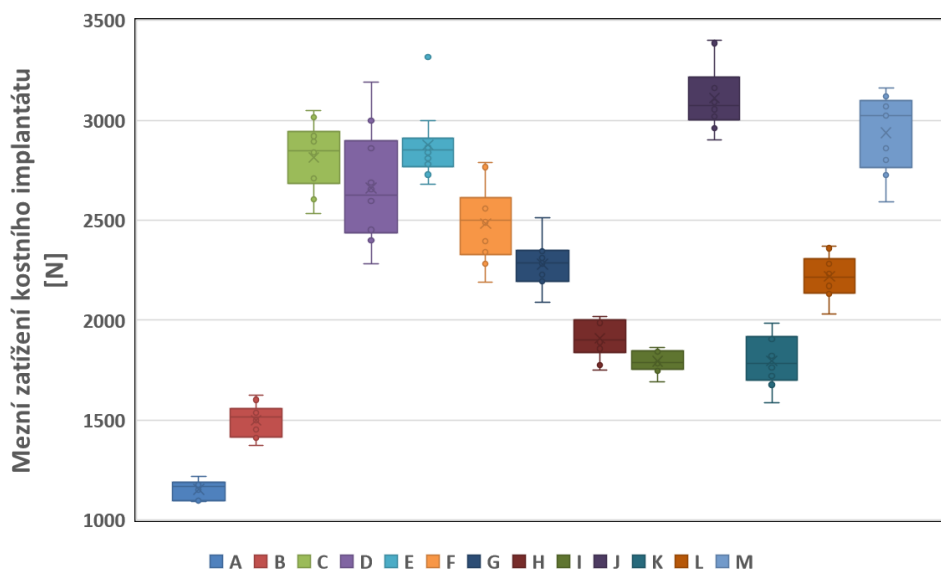
Pevnost a tuhost fixace kostního implantátu v kosti (např. pedikulárního šroubu) závisí na kvalitě kosti a typu použitého šroubu. Uvolňování pedikulárních šroubů, zejména v případech osteoporotických obratlů a kosterních nádorů, je jedním z významných problémů spondylochirurgie. Pro zlepšení trvalé fúze pedikulárních šroubů s kostí byly vyzkoušeny různé metody chirurgické instrumentace včetně změn v konstrukci závitů a tvaru šroubu, stejně jako povrchové úpravy šroubů za účelem posílení kostní apozice. Vliv konstrukčního řešení na pevnost fixace šroubu je nezpochybnitelný [281], [282], [283], [284].

Proto byly v naší laboratoři realizovány experimenty zjišťující rozdíly v pevnosti ukotvení kostních implantátů. K tomuto účelu byla vyvinuta a validována vlastní metodika **vytrháváních zkoušek**, jejíž popis byl uveden výše (viz Kap. 2.5.2.3). Jedná se o statické zkoušky, k jejichž provádění byly zkonstruovány a vyrobeny speciální přípravky umožňující uchycení bloků umělé kosti SOLID RIGID 40 PFC (Sawbones, USA), do kterých byly hodnocené implantáty zavedeny. Experimenty proběhly na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 25 kN (relativní chyba měření síly 0,4 %). K vytrhávání implantátů byly využity hydraulické čelisti s konstantní rychlostí posuvu $10 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ (viz Obr. 7.21). Testováno bylo celkem 13 skupin (A až M) různých druhů kostních šroubů výrobců AESCULAB, MEDTRONIC a JOHNSON&JOHNSON válcového tvaru o průměrech 3,5–5,5 mm a lišících se zejména v délce a tvaru závitů. Každá skupina byla reprezentována 10 implantáty.



Obr. 7.21 Stanovení pevnosti ukotvení kostních implantátů fixovaných v blocích umělé kosti SOLID RIGID 40 PFC (Sawbones, USA) – zkušební vzorky před testováním (vlevo), sestava pro vytrhávání na MTS Mini Bionix se speciálním přípravkem (vpravo). Foto autor.

Vyhodnocením naměřených dat bylo zjištěno **mezní zatížení** potřebné pro vytržení jednotlivých skupin **kostních implantátů** fixovaných do umělé kosti SOLID RIGID 40 PFC (viz Obr. 7.22). Hodnoty mezního zatížení byly dosaženy v rozsahu $1\,154 \pm 28 \text{ N}$ až $3\,111 \pm 104 \text{ N}$. Z důvodu povinnosti zachování obchodního tajemství a mlčenlivosti nejsou rozklíčována označení jednotlivých skupin. Je však zřejmé, že mezi skupinami jsou statisticky významné rozdíly. Nejslabší skupina dosahovala pouhých 37 % mezního zatížení skupiny nejdolnější.



Obr. 7.22 Stanovené hodnoty mezního zatížení potřebného pro vytržení kostních implantátů fixovaných v blocích umělé kosti SOLID RIGID 40 PFC (Sawbones, USA) určené při statických vytrhávacích zkouškách. Zdroj autor.

8 Zkoušení neimplantabilních zdravotnických prostředků nebo pomůcek

8.1 Úvod

Zdravotnické prostředky nejsou pouze implantáty a náhrady, které se přímo zavádějí do lidského těla. Patří sem také pomůcky zajišťující mírnění nebo kompenzaci poranění nebo zdravotního postižení případně i zevní části různých fixátorů, které nejsou přímo v kontaktu s tkáněmi. I těmto prostředkům je zapotřebí věnovat pozornost z hlediska určování nebo ověřování užitečných vlastností. Mechanické vlastnosti jsou velmi důležité pro zajištění funkčnosti a bezpečnosti zdravotnických prostředků [182], [179], [285].

Proto jsou následující podkapitoly věnovány zkušenostem autora s hodnocením zevních fixátorů používaných při komplikovaných polytraumatech a dále pak hodnocení lokomočních pomůcek – berlí a holí nebo ortézám, které byly v naší laboratoři testovány. Zkoušky převážně probíhají podle metodik vycházejících z mezinárodních standardů, neboť jsou vyžadovány pro posuzování shody zdravotnických prostředků s nařízením [64]. Svůj nepřehlédnutelný význam však mají také vlastní a modifikované metodiky, které směřují na některé ze zlepšovaných vlastností a jsou nepostradatelné při návrhu a vývoji nových výrobků.

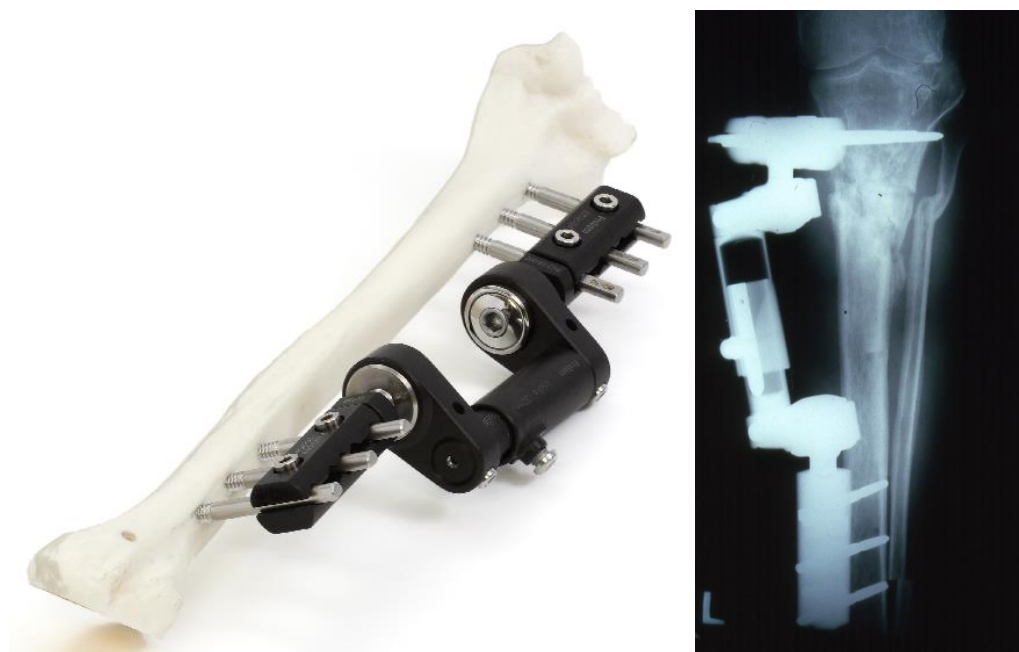
8.2 Statické a cyklické ověření vlastností unilaterálního externího fixátoru

Zevní fixátory slouží k fixaci kostí a jejich fragmentů při léčbě zlomenin nebo deformit. Používají se zejména u dlouhých a pánevních kostí, jak při traumatologických, tak při ortopedických indikacích. Fixátor je šrouby z biokompatibilních materiálů ukotven do kostních segmentů, které udržuje v žádané poloze. Jeho konstrukce musí být schopná přizpůsobit se poloze šroubů a stimulovat hojící proces v kostní tkáni přiměřenou změnou konfigurace, například pomocí stavěcího mechanismu. Běžnými konstrukčními materiály, z nichž jsou externí fixátory vyráběny, jsou kovy a jejich slitiny, konkrétně korozivzdorné oceli, slitiny titanu a slitiny hliníku. V současnosti se objevují konstrukce využívající polymerní materiály, zejména PEEK a jejich varianty vyztužené krátkými uhlíkovými vlákny pro zlepšení mechanických vlastností. Materiál vnějšího fixátoru, který není v přímém kontaktu s kostí nebo měkkými tkáněmi, nemusí být z biokompatibilního materiálu, ale nesmí být toxický. Fixátory musí odolat mechanickému zatížení vyplývajícímu z jeho funkce a také musí vyhovět požadavkům klinické praxe, jako je odolnost vůči procesu sterilizace. Ta probíhá převážně parou o teplotě 134 °C a tlaku 300 kPa nebo v současné době stále častěji při použití ethylenoxidu. Nevýhodou kovových materiálů je vysoká pohltivost rentgenového záření, která znamená komplikaci při radiologickém vyšetření, kdy je nutné hledat takovou polohu pacienta, při které fixátor nezastíní snímanou kost. Kompozitní materiál s polymerní matricí je naopak pro rentgenové záření translucenční a neovlivňuje pořízené rentgenové snímky. Tato výhoda se projeví zejména v prostorově složitějších sestavách fixace nebo v okolí kloubů [182], [179], [286].

Proto byly v naší laboratoři realizovány experimenty hodnotící mechanické vlastnosti vnějších neimplantabilních částí nově vyvíjeného externího fixátoru při **statických a cyklických**

tlakových zkouškách. Pozornost byla zaměřena na vnější neimplantabilní části fixátoru, které nepřicházejí do styku s pokožkou. K mechanickým zkouškám byla využita metodika vycházející z principu tlakových zkoušek uvedených výše (viz Kap. 2.1.1.2) a dále pak z mezinárodní normy ASTM F1541-02 s názvem „*Standard Specification and Test Methods for External Skeletal Fixation Devices*“ [287].

Pro využití nových radiolucentních kompozitů na bázi termoplastické polyfenylsulfidové matrice vyztužené uhlíkovými vlákny (C/PPS) byl ve spolupráci s firmou ProSpon zvolen zevní fixátor modelové řady **UNI-FIX**, tj. **unilaterální externí fixátor** určený pro fixaci zlomeniny dolní končetiny (viz Obr. 8.1). Vývoj a výroba vnější části nového externího fixátoru proběhla ve spolupráci s firmou LATECOERE Czech Republic. Tělo fixátoru skládající se z trubky a dvou objímek bylo původně vyráběno z duralu, který na rentgenových snímcích „stíní“. Nově byly objímky nahrazeny právě radiolucentním C/PPS kompozitem a trubka fixátoru byla vyrobena z epoxidového kompozitu vyztuženého uhlíkovými vlákny.



Obr. 8.1 Unilaterální zevní fixátor UNI-FIX firmy ProSpon (vlevo), rentgenový snímek zlomeniny holenní kosti s aplikovaným fixátorem a jeho zřetelným stínem z důvodu využití materiálů pohlcujících RTG záření (vpravo) [285].

Experimenty proběhly na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 25 kN (relativní chyba měření síly 0,4 %) a spočívaly ve zkoušení funkčního vzorku nově navrženého zevního fixátoru (viz Obr. 8.2). Při **statické zkoušce** bylo dosaženo předepsané osově síly 1 300 N s výdrží po dobu 30 s. Sestava s zevním fixátorem byla uchycena ve speciálním přípravku tak, aby nosná trubka fixátoru byla vyosena vůči působící zatěžující síle. Fixátor byl tedy současně namáhán tlakem a ohybovým momentem. Oba konce dřevěných bukových tyčí (simulujících kostní segmenty) byly vloženy v přípravcích, avšak nebyly sevřeny. Dále pak byla sestava fixátoru podrobena **cyklické zkoušce**, kdy byla zatěžována pulzující silou 220 N. S ohledem na nároky při fixaci femuru nebo tibie byl stanoven požadavek na 10^5 cyklů při frekvenci zatěžování 5 Hz.

Po provedených zkouškách lze konstatovat, že při statickém zatěžování sestavy zevního fixátoru bylo potvrzeno, že **fixátor je schopen přenést požadovanou osovou sílu 1 300 N**. Následné cyklické zatěžování vedlo ke zjištění, že **sestava fixátoru vydrží 10^5 cyklů bez**

poškození nebo ztráty tuhosti. Po dokončení cyklického zatěžování byla ještě zjištěna maximální osová síla, kterou je sestava schopna přenést, a to 3 366 N. Při této síle došlo k pootočení kulových čepů v hlavách fixátoru umístěných v objímkách. Po demontování sestavy však bylo možné tělo externího fixátoru znovu použít [285].



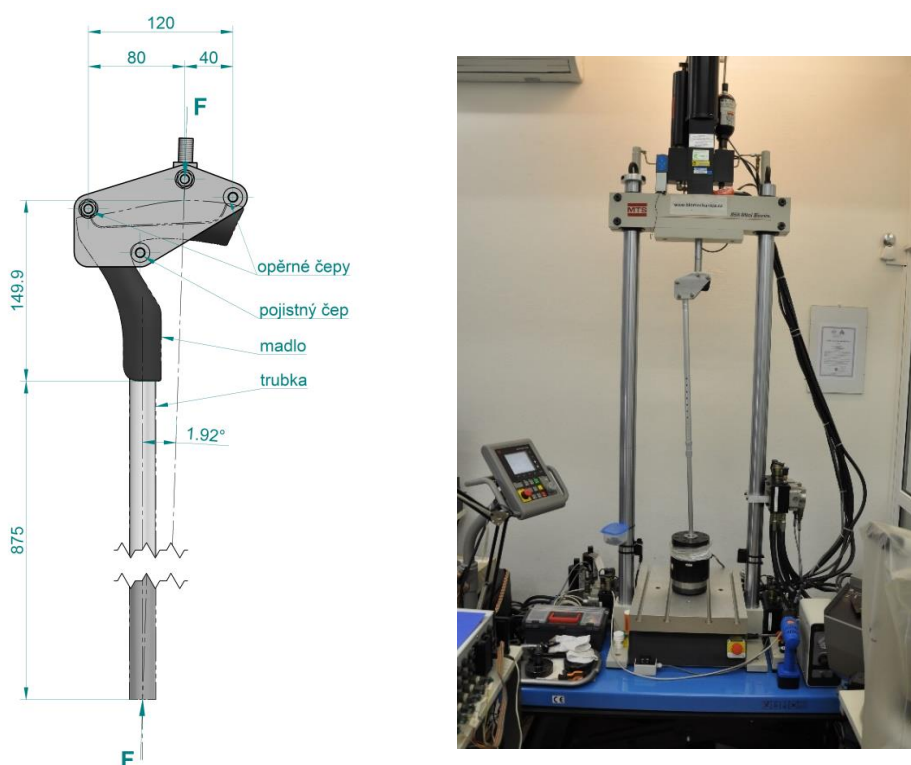
Obr. 8.2 Sestava nově vyvinutého zevního fixátoru vyrobeného z C/PPS kompozitu a uhlíkové trubky (vlevo), testovací systém MTS 858 Mini Bionix s osazeným vzorkem před zatěžováním (vpravo) [285].

8.3 Únavové zkoušky inovované vycházkové hole

Vycházkové hole patří mezi velmi často používané lokomoční pomůcky spolu s francouzskými a podpažními berlemi. Hole jsou využívány v případech, kdy je dostačující pouze mírné jednostranné odlehčení prostřednictvím ruky držící rukojeť. Hole jsou konstruovány pro používání ve svislé poloze v rozmezí potřebném pro chůzi a pro převážné zatížení kombinací tlaku a ohybu. Pevnost rukojeti a jejího spoje s nosnou trubkou hole jsou zpravidla limitujícími vlastnostmi těchto zdravotnických prostředků [288], [289], [290].

Proto bylo v naší laboratoři realizováno experimentální ověření nově vyvíjených vycházkových holí. Konstrukce inovované hole ERILENS, jejíž rukojeť byla vyrobena z polypropylenu dle nového designového návrhu, byla podrobena **statickým a únavovým mechanickým zkouškám**. Základní princip cyklických zkoušek a **kombinovaného zatěžování** byl uveden v předchozích kapitolách (viz Kap. 2.4.2 a Kap. 2.1.2.3). Metodika zkoušení vychází z ČSN EN 1985:2000 Pomůcky pro chůzi – Všeobecné požadavky a metody zkoušení [291], kde je obecně předepsána hodnota síly pro únavovou zkoušku 250 N při míjivém cyklickém zatěžování v tlaku s frekvencí 5 Hz a požadováno $825 \cdot 10^3$ cyklů. Detailní postup zkoušky byl navržen v návaznosti na metodiku zkoušení předloketní berle dle ČSN EN ISO 11334-1 Pomůcky pro chůzi ovládané jednou rukou – Požadavky a zkušební metody – Část 1: Předloketní berle [292] a ČSN EN ISO 11334-4 Pomůcky pro chůzi ovládané jednou rukou –

Požadavky a metody zkoušení – Část 4: Hole s třemi nebo více opěrami [293], kde byly pouze vynechány silové účinky, které působí v oblasti předloketní manžety. Povaha zatížení rukojeti a celé hole ohybovým momentem je identická s předloketní berlí. Pro účely zkoušení byl navržen a vyroben speciální přípravek umožňující uchycení hole a její zatížení. Schéma zkoušení spolu s realizací v naší laboratoři je znázorněno na obrázku níže (viz Obr. 8.3). Madlo je v kontaktu s opěrnými otočnými čepy přípravku, které mají za úkol zatížit jej a potažmo celou hůl tak, jako by jej zatěžovala ruka uživatele. Na druhé straně je konec tyče hole volně opřen o silový snímač. Zkoušky proběhly na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 25 kN (relativní chyba měření síly 0,4 %).



Obr. 8.3 Sestava pro statické a cyklické kombinované zatěžování inovované vycházkové hole ERILENS – schematické uspořádání (vlevo), umístění v testovacím systému MTS 858 Mini Bionix (vpravo) [294].

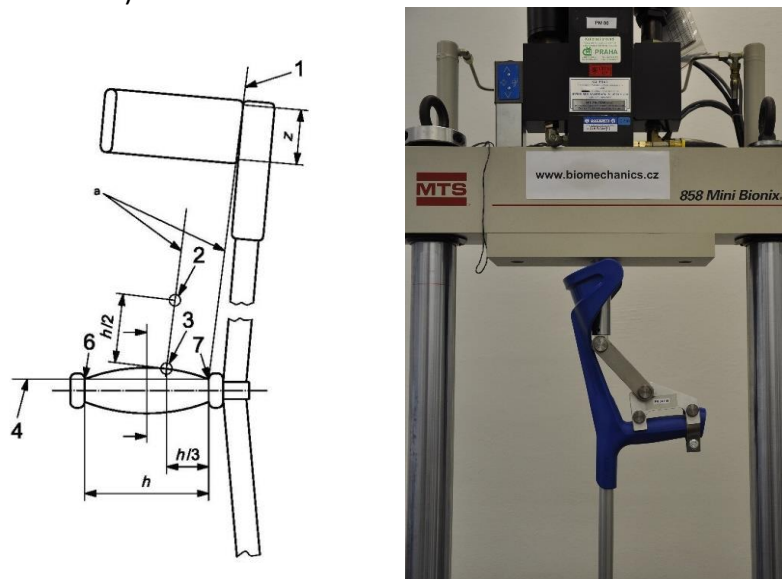
Vyhodnocením realizovaných zkoušek bylo stanoveno **mezní statické zatížení testované vycházkové hole** 1081 ± 58 N ($n = 5$). Všechny testované vzorky prototypu inovované **vycházkové hole vydržely únavové cyklické zkoušky** předepsaným počtem $825 \cdot 10^3$ cyklů při míjivém zatěžování v tlaku silou do 250 N. Všechna zásadní předepsaná kritéria byla splněna a prototyp byl doporučen k výrobě, jako nový typ vycházkové hole firmy ERILENS, která si i chránila řešení užitným vzorem [294].

8.4 Ověření životnosti při cyklickém zatěžování předloketní berle

Předloketní berle jsou další z používaných lokomoční pomůcek, které slouží k odlehčení zátěže dolních končetin a hrají významnou roli při rekonvalescenci pacientů po operacích velkých kloubů. Princip jejich používání spočívá v přenesení části zatížení končetin přes ruce držící rukojeť a opírající se o opěru předloktí. Berle jsou primárně určeny k používání v páru

a jsou konstruovány pro použití ve svislé funkční poloze v rozmezí potřebném pro chůzi a pro převážné zatížení kombinací tlaku a ohybu. Současně je však důležité zohlednění ergonomie rukojeti, neboť velikost a rozložení tlaků v ruce významně ovlivňuje pohodlí pacientů při jejich používání. Provedené experimentální studie dále ukazují, že otlaky a silové účinky v ruce závisí jak na rychlosti chůze, tak na délce berle. Pevnost předloketní opěry, rukojeti a jejího spoje s nosnou trubkou berle je dalším limitujícím parametrem těchto zdravotnických prostředků [295], [296], [297].

Proto bylo v naší laboratoři realizováno experimentální ověření životnosti při cyklickém zatěžování nově vyvíjených předloketních berlí ERILENS. Vývojové úpravy spočívaly v novém designovém návrhu a ve využití nových polymerních materiálů na výrobu monobloku rukojeti a předloketní opěry. Inovované berle byly podrobeny **statickým a cyklickým životnostním zkouškám**. Základní princip cyklických zkoušek s **kombinovaným zatěžováním** byl uveden v předchozích kapitolách (viz Kap. 2.4.2 a Kap. 8.3). Metodika zkoušení vychází z ČSN EN ISO 11334-1 Pomůcky pro chůzi ovládané jednou rukou – Požadavky a zkušební metody – Část 1: Předloketní berle [292]. Pro účely zkoušení byl navržen a vyroben speciální přípravek umožňující uchycení monobloku rukojeti a předloketní opěry berle a jeho zatížení, které odpovídá způsobu namáhání rukou uživatele. Nosná trubka berle je na spodním konci opřena o silový snímač. Schéma zkoušení spolu s realizací zkoušek v naší laboratoři je znázorněno na obrázku níže (viz Obr. 8.4).



Obr. 8.4 Schéma zatížení předloketní berle (vlevo) [292] a realizace cyklických životnostních zkoušek berle ERILENS FD 93 v testovacím systému MTS 858 Mini Bionix (vpravo). Foto autor.

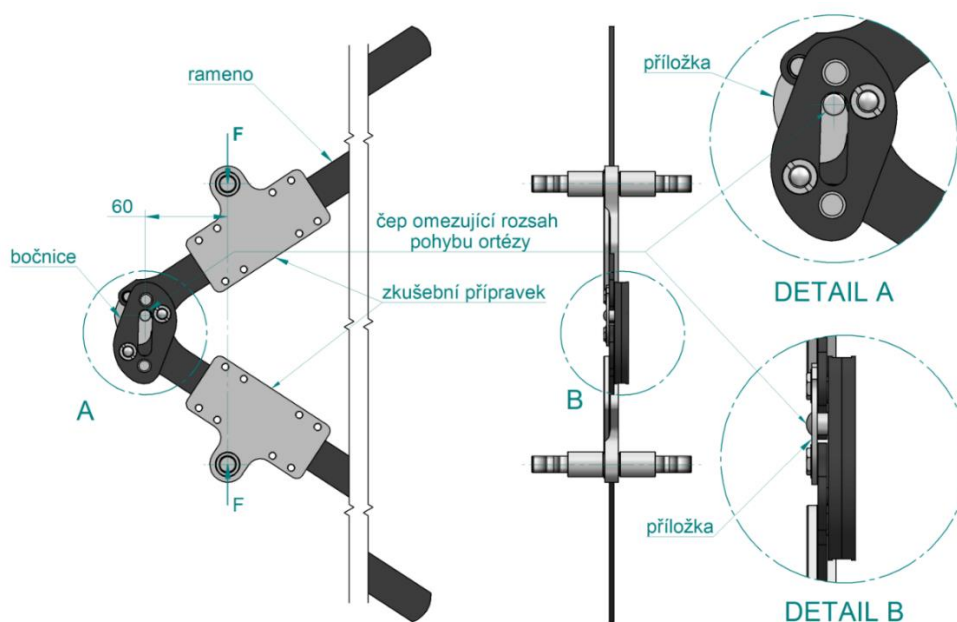
Zkoušky proběhly na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 25 kN (relativní chyba měření síly 0,4 %). Provedené statické zatížení předloketní berle FD 93 odpovídá uvedené nosnosti 150 kg, tj. 1 500 N. Únavová zkouška byla realizována v režimu pulzujícího zatěžování v tlaku při frekvenci 5 Hz, kdy horní mez zatížení byla 825 N, dolní mez zatížení 41 N a předepsaný počet 10^6 cyklů. Koeficient nesouměrnosti cyklu $R = 0,05$.

Vyhodnocením realizovaných zkoušek bylo konstatováno, že testované vzorky prototypů inovovaných **předloketních berlí ERILENS vydržely** předepsané **statické i únavové cyklické**

zkoušky s požadovaným počtem 10^6 cyklů při pulzujícím zatěžování v tlaku silou do 825 N [298].

8.5 Vývojové zkoušky prototypu kolenní ortézy

Kolenní ortéza je ortopedická pomůcka a je dalším ze zástupců lokomočních pomůcek používaných při rekonvalescenci a rehabilitaci pacientů. Kolenní kloub a jeho vazy patří k jedněm z nejvíce namáhaných částí těla. Kolenní ortéza se používá ke korekci či k prevenci vzniku deformit pohybového aparátu, například po úrazu nebo operaci kolenního kloubu nebo vazivových úponů. Obvykle se také používá jako podpora ochablého svalstva a vazů, pro zkrácení doby hojení nebo pro zmírnění bolesti anebo při sportu jako opora. Existují různé druhy kolenních ortéz, například v podobě návleku nebo pevné ortézy na suchý zip. Princip spočívá v opoře kolenního kloubu a vymezení flexe a extenze pomocí externího vedení, kdy přispívá ke stabilizaci kloubu. Cílem je neomezovat fyziologický pohyb, ale zabránit pohybu v patologických směrech. Pevnost vodících omezujících prvků a odolnost komponent vůči cyklickému namáhání je tedy u těchto zdravotnických prostředků zcela zásadní [299], [300], [301].



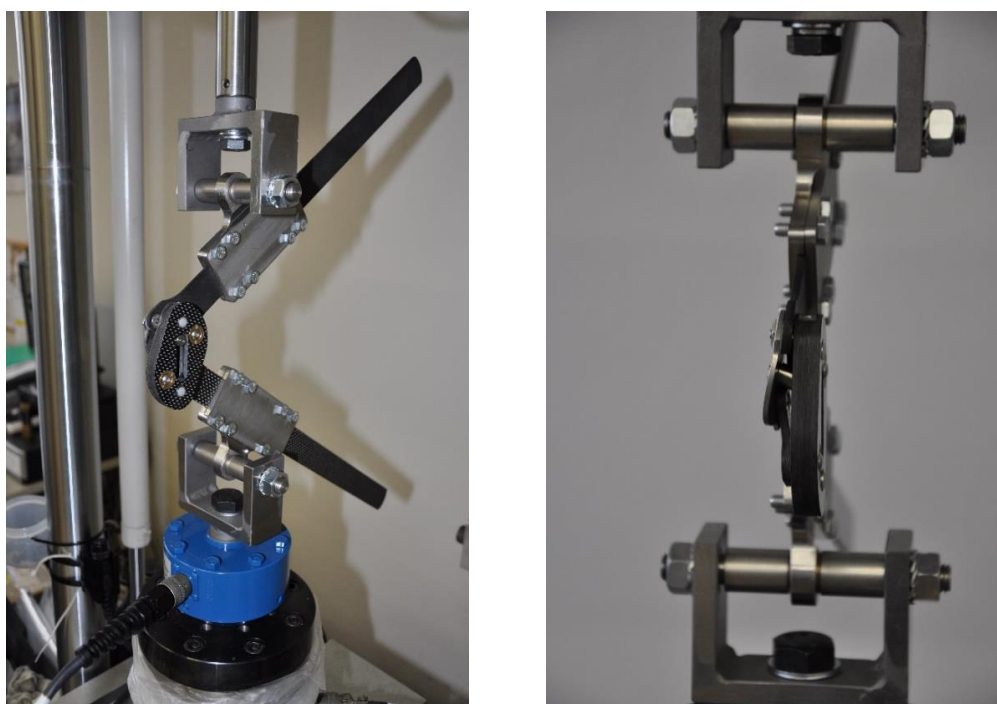
Obr. 8.5 Schéma navrženého speciálního přípravku určeného pro statické i únavové zatěžování kolenní ortézy při maximální flexi kolenního kloubu [302].

Proto byly v naší laboratoři realizovány zkoušky nově vyvíjených kolenních ortéz. Konstrukce inovované ortézy REMET s polycentrickým kloubem a uhlíkovými kompozitními materiály byla podrobena **statickým a cyklickým únavovým zkouškám** s cílem provést ověření únosnosti. Základní princip cyklických zkoušek byl uveden v předchozí kapitole (viz výše Kap. 2.4.2). Nejvíce namáhaným místem konstrukce kolenní ortézy je spoj čepu s přilozkou propojující dvě ramena ortézy. Tento čep společně se stavěcími šrouby, umístěnými v bočnici ortézy, omezuje rozsah pohybů ortézy a tím i kolenního kloubu. Metodika zkoušek spočívá ve statickém zatížení ortézy pro zjištění pevnosti kloubu a následné cyklické únavové zatěžování při frekvenci 5 Hz do dosažení předepsaného počtu 10^6 cyklů nebo destrukce. Pro uchycení testované ortézy a zajištění její správné polohy byl zkonstruován a vyroben speciální

přípravek. Pomocí svěrných desek s otočným čepem zatěžuje působící dvojice sil polycentrický kloub v jeho krajní poloze při maximální flexi kolenního kloubu a umožňuje zkoušení ortézy (viz Obr. 8.5).

Zkoušky byly realizovány na špičkovém testovacím systému MTS Mini Bionix 858 (MTS, USA) osazeném silovým snímačem s rozsahem 5 kN (relativní chyba měření síly 0,1 %). Nejprve byly provedeny statické zkoušky ortézy do porušení za účelem stanovení mezní statického zatížení. Následné cyklické únavové zkoušky využily takto získané hodnoty mezního zatížení ke stanovení maximální hodnoty míjivého zatížení (viz Obr. 8.6). Sledován byl počet cyklů do porušení vyšetřovaného spoje ortézy.

Vyhodnocením provedených experimentů bylo potvrzeno, že kritickým místem konstrukce kolenní ortézy je spoj čepu s příložkou propojující obě ramena ortézy. Tento čep společně se stavěcími šrouby umístěnými v bočnici omezuje rozsah pohybů kolenního kloubu. Při zkouškách kolenních ortéz došlo k vychýlení čepu případně i k jeho destrukci (viz Obr. 8.6). **Mezní statický moment zatížení testovaných ortéz** byl stanoven na $28 \pm 1 \text{ N}\cdot\text{m}$ ($n = 2$), odpovídající silové zatížení bylo $472 \pm 23 \text{ N}$. **Při míjivém cyklickém zatěžování** do 280 N, které odpovídá $17 \text{ N}\cdot\text{m}$ a zatížení **při chůzi dolů po schodech**, došlo po $65 \cdot 10^3$ cyklech k destrukci. Při cyklickém zatěžování do 170 N, což odpovídá $10 \text{ N}\cdot\text{m}$ a **zatížení při podřepu**, k destrukci **nedošlo** a zkouška byla zastavena při dosažení 10^6 cyklů [302].



Obr. 8.6 Cyklická únavová zkouška kolenní ortézy při maximální flexi kolenního kloubu probíhající na testovacím systému MTS 858 Mini Bionix (vlevo) ukázka poškození polycentrického kloubu kolenní ortézy při zatěžování (vpravo). Foto autor.

9 Diskuse

Diskuse a závěry k jednotlivým odborným studiím byly uvedeny v odpovídajících kapitolách práce. V této kapitole je prezentován přehled a dopad původních výsledků získaných v oblasti výzkumu experimentální mechaniky biologických tkání, biomateriálů a náhrad na vědeckou komunitu a celkové kritické zhodnocení použitých metod.

V kapitole 3 jsou uvedeny původní výsledky týkající se zhodnocení mechanických vlastností pevných tkání. Ze získaných výsledků je patrné, že na kosti není možné nahlížet jako na samostatný orgán, ale jejich vlastnosti jsou úzce propojené s celkovým stavem organismu. Ukázalo se, že i látky, které zdánlivě nesouvisí s funkcí kosti jako podpůrného systému, jejich mechanické vlastnosti výrazně ovlivňují. Tyto závěry jsou důležité nejen pro základní pochopení funkce těla jako soustavy, ale mají také dopad do klinické praxe. V době plánování a provádění experimentů tyto závislosti nebyly dostatečně popsány. Až v poslední době jsou tyto vztahy akceptované širokou odbornou veřejností. Příkladem může být obsáhlý přehled publikovaný Maurelem a kol., 2012 [303] v prestižním časopise *Osteoporosis International*, který se zabývá vlivem požívání alkoholu na kost. Kromě jiného akcentuje uvedená studie vliv alkoholu na mechanické vlastnosti, kde se opírá o naše zjištění [5]. Kromě alkoholu byl sledován také vliv dalších látek souvisejících s nezdravým životním stylem. Je známo, že kosti aktivních kuřáků vykazují nejenom nižší hustotu, ale také vyšší riziko vzniku fraktur [304]. Tato zjištění jsou v souladu s našimi výsledky, které ukazují, že podávání nikotinu vede ke snížení pevnosti kosti v animálním modelu [4].

V sérii dalších studií jsme ukázali propojení metabolismu kosti s celkovým hormonálním metabolismem těla. Naše výsledky [1] jsou v souladu s dalšími studiemi a podporují podávání bifosfonátů pro prevenci a terapii postmenopauzální osteoporózy [74], [75], [305]. Podobně jsme ukázali vliv snížení činnosti štítné žlázy na pevnost kosti v ohybu [92]. Naše makroskopické studie poukazují na nutnost pochopení metabolických cest, o což se další výzkumníci snaží také v molekulárních a buněčných studiích vycházejících z prezentovaných výsledků [306], [307]. Kromě metabolicky aktivních látek působí na pevnost kosti také fyzikální stimulace vyššího nervového systému laserovým paprskem [12]. Zjištěné výsledky poukazují na fakt, že kost není pouze pasivní tkání, ale její pevnost může být řízená také nervovou soustavou. K řízení pevnosti kosti dochází nepřímo přes aktivaci svalů [101]. Nesmí ale být opomenut fakt, že kost je bohatě inervována a existuje tedy možnost přímého propojení mezi nervovým signálem a činností kostních buněk. I když je uvedená hypotéza diskutabilní, experimentálně bylo zjištěno, že neuropeptidy stimulují metabolickou aktivitu osteoblastů a podporují jejich vzájemnou komunikaci [308].

Pro hodnocení mechanických vlastností kostní tkáně jsme vyvinuli metodiku zkoušek vycházející z tříbodového ohybu. Standardním přístupem bylo hodnocení pevnosti celé kosti stanovením kritické síly potřebné pro její zlomení. Tento přístup byl ovlivněn geometrií kostí, a tudíž vyžadoval velký statistický soubor pro eliminaci inter-individuální variability [309]. V našich studiích jsme zavedli standardizované hodnocení průřezových charakteristik experimentálních vzorků kosti [1], [4]. To umožňuje vztažení naměřených hodnot síly k napětí v kosti a hodnocení vlastností kostí jako biologického materiálu. Metodika hodnocení pevnosti kosti s využitím průřezových charakteristik byla použita také v dalších studiích, např. Savaridas a kol., 2015 [305].

Kapitola 4 pojednává o mechanickém zkoušení měkkých tkání. Stanovení mechanických vlastností těchto tkání je výrazně komplikovanější než v případě pevných biologických tkání. Měkké tkáně vykazují významnou časovou odezvu, nelineární chování a celkově složitější způsob přípravy a uchycení vzorků. Velká variabilita vstupních parametrů sťažuje absolutní srovnání vůči standardům. Proto jsme se v našich studiích zaměřili na vzájemné srovnání jednotlivých skupin. Např. ve studii [7] jsme zkoumali vliv působení mezenchymálních lidských kmenových buněk na pevnost šlach. Z mechanického hlediska nedošlo ke zlepšení vlastností šlach, jak bylo očekáváno na základně histochemického rozboru. Přístup, kde dochází ke kombinaci mechanického a biologického hodnocení je v literatuře ojedinělý. Většina studií zkoumajících vliv mezenchymálních kmenových buněk se omezuje na biologické hodnocení odezvy tkáně [310], [311].

Pro měření nativních vlastností lidské chrupavky u daného pacienta není možné odebrat vzorek a stanovit mechanické vlastnosti pomocí standardních experimentálních postupů. Proto jsme v naší laboratoři vyvinuli zařízení pro peroperační stanovení tuhosti chrupavky (užžitný vzor CZ16327 [68]). Pomocí tohoto zařízení bylo potvrzeno, že autologní transplantát přispívá ke zlepšení tuhosti poškozené části chrupavky kolene [3]. Naše zjištění podpořila využití metody implantace autologních chondrocytů pro další klouby, např. pro hlezenní kloub [312].

Dovednosti získané při měření měkkých materiálů umožnily objektivní posouzení biomechaniky kompletu vaginální stěny a endopelvicke fascie. Znalosti mechanických vlastností pánevního dna jsou podstatné pro vysvětlení dysfunkce močové soustavy. Získaná unikátní data pevnostních a tuhostních charakteristik endopelvicke fascie a vaginální stěny tvoří základ používaný dalšími výzkumníky pro jejich výpočetní studie [313], [314].

Kapitola 5 se věnuje mechanickým zkouškám nové generace technických biomateriálů. V klinické praxi se používá pouze omezené množství biomateriálů pro náhradu postižených orgánů. V traumatologii a ortopedii to jsou především kovové materiály jako 316L, cpTi, CoCrMo a slitiny titanu. Ze slitin titanu je nejpoužívanější Ti6Al4V, která byla původně vyvinuta pro letecký průmysl. I když má tato slitina dobrou biokompatibilitu, obsahuje nebiogenní prvky Al a V. Ve světě pozorujeme snahu nahradit tuto slitinu biokompatibilními slitinami titanu [315]. V rámci našeho výzkumu jsme zkoumali mechanické vlastnosti Ti36Nb6Ta. Zjistili jsme, že beta slitina titanu vykazuje výrazně nižší modul pružnosti než používaná slitina Ti6Al4V a to 72 ± 7 GPa. Toto zjištění je v souladu s dalšími publikovanými studiemi obdobných slitin. V přehledové studii Mohsin a kol., 2014 [316] uvádí Youngovy moduly pružnosti beta titanu v rozsahu od 14-85 GPa. V rozporu s dalšími studiemi jsme však pozorovali nižší únavovou odolnost [317]. Rozpor v naměřených hodnotách může být způsoben jinou metodou tepelného zpracování a obrobiteľností experimentálních vzorků. Biokompatibilitu povrchu slitin titanu je možné kromě změny materiálu ovlivnit také povrchovou úpravou. Pro necementované implantáty je vhodné připravit povrch tak, aby umožnil vrůstání buněk. Vhodnou metodou je použití plazmového nástřiku porézního titanu. Rizikem plazmového nástřiku je ztráta adheze k základnímu materiálu. V rámci naší studie jsme zkoumali vliv geometrie základního povrchu na adhezi nanesené titanové vrstvy. Vůči hodnotám publikovaným v literatuře ($54,1 \pm 3,7$ MPa, [318]) jsme dosáhli výrazně nižší pevnosti ve smyku ($18,21 \pm 0,40$ MPa). To může být způsobeno jednak vyšší porozitou našeho nástřiku nebo jinou technologií přípravy. Malá smyková pevnost může vést k odtržení povrchové vrstvy a selhání implantátu. V rámci naší studie jsme poskytli metodiku zkoušek, která umožní předcházet těmto selháním.

V další studii byl zkoumán vliv izostatického lisování (HIP) a povrchového leptání na mechanické vlastnosti porézních vzorků [2]. Ukázalo se, že zpracování HIP není považováno za účinné pro porézní struktury. Povrchové leptání se však jeví jako vhodná metoda pro post-depoziční ošetření porézních struktur pro biomedicínské implantáty. Erozi volně přichycených částic z povrchu zabraňuje kontaminaci lidského těla částicemi titanu. Kromě toho snižuje elastický gradient a poskytuje konzistentní mechanické vlastnosti [319]. Materiál odstraněný leptáním mírně snižuje pevnost celé porézní struktury v důsledku zmenšení průřezu trámců. Povrchové leptání také poskytuje čistý produkt bez neroztavených povrchových částic prášku, které by mohly potenciálně vést k poškození životně důležitých lidských orgánů. Zabránění uvolňování částic titanu z implantátu je zásadní pro jakoukoli budoucí biomedicínskou aplikaci [320].

Výhody použití kompozitních materiálů vyztužených uhlíkovými vlákny ve srovnání s kovy spočívají v tom, že kompozity jsou radiolucenční a biokompatibilní s moderními lékařskými zobrazovacími metodami [321]. Kompozitní materiály kromě uvedených výhod jsou citlivé na opakované sterilizační procesy, kterým musí být vystaveny. Z našich výsledků plyne, že při opakované sterilizaci může dojít ke snížení pevnosti v ohybu až o 60 % [179]. Vliv zpracování a sterilizace se proto nesmí přehlížet ve fázích výběru materiálu a návrhu v procesu vývoje vedoucího ke klinickému použití, jak konstatují také další autoři [322].

Kapitola 6 se v návaznosti na předchozí kapitolu věnuje mechanickým zkouškám materiálům určeným pro náhradu funkce těla s využitím principu tkáňového inženýrství. Tyto materiály obecně využívají kombinaci biokompatibilní a biodegradabilní matrice a vlastních buněk pacienta. Ve spolupráci s pracovišti Akademie věd ČR jsme se intenzivně zabývali využitím kolagenu jako základního materiálu matrice, který je možné modifikovat síťováním makromolekulárních řetězců. Provedené zkoušky umožnily kvantifikovat vliv použitého činidla na mechanické vlastnosti scaffoldů [207] a poskytly biomechanický vhled do oblasti náhrad tkání, na něž se odvolávají autoři přehledových studií [323], [324], [325]. Kromě rozšíření vědního oboru přispěly naše studie [207] k vytvoření metodiky přípravy a zkoušení kolagenních scaffoldů, která je v současnosti považována za zlatý standard [326], [327].

Ukázali jsme, že pro pochopení celkového chování tkáňového implantátu musíme doplnit biologické zkoušky také mechanickým hodnocením. Z nedávných studií vidíme, že tento přístup je akceptován a zaváděn rozšiřující se skupinou výzkumných týmů [327], [328], [329]. Zároveň bylo v našich studiích prokázáno, že kromě mechanických vlastností samotného biomateriálu je nutno zohlednit také vliv prostředí [9], [11]. Dané tvrzení je platné nejen pro kolagenní, ale také pro biokeramické matrice [8]. Hodnoty zjištěné při námi provedených experimentech jsou explicitně uvedeny například v nedávné přehledové studii van der Heide a kol. 2022 [330] nebo použity jako reference pevnosti v tlaku Dong a kol. 2022 [331]. Znalosti získané při zkoušení kovových biomateriálů [2] jsme využili při definici principiálně nového typu hybridního implantátu. Jeho konstrukce kombinuje výhody vysoké pevnosti kovových biomateriálů s povlakem umožňujícím aktivní interakci s buňkami. Tento přístup představuje organický přechod mezi druhou a třetí generací biomateriálů, jak je definuje Hench a Polak 2002 [332].

Kapitoly 7 a 8 se věnují hodnocení mechanického chování implantabilních a neimplantabilních zdravotnických prostředků. Zkoušky ZP jsou ve velké míře určeny mezinárodními technickými normami ISO a ASTM. Výzkumné úkoly řešené na fakultě strojní již od 60. let minulého století přispěly k definici zkušebních postupů uvedených v normativech. Na tradici experimentální biomechaniky navazuje současný výzkum v Laboratoři

mechanických zkoušek na Fakultě strojní, Českého vysokého učení technického v Praze. Vysoké nároky na opakovatelnost, reprodukovatelnost a přesnost prováděných zkoušek a také požadavky z průmyslové sféry vedly k tomu, že byla laboratoř akreditována dle mezinárodní normy ČSN EN ISO/IEC 17025 [69], definující standardy v oblasti zkušebnictví. Získání akreditace umožnilo rozvinutí spolupráce se zahraničními pracovišti (např. *University of Geneva, Faculty of Medicine, Clinic of Dental Medicine* – Ženeva, Švýcarsko; *University of Iceland* – Reykjavík, Island; *AGH University of Science and Technology, Faculty of Materials, Science and Ceramics* – Krakov, Polsko; *Delft University of Technology, Faculty of Mechanical, Maritime and Materials Engineering* – Delft, Nizozemí; *Technical University Wien, Faculty of Mechanical and Industrial Engineering* – Vídeň, Rakousko; *ENDOLAB Mechanical Engineering GmbH* – Riedering, Německo; Slovenská technická univerzita, Strojní fakulta – Bratislava, Slovensko). Zároveň s akreditací byly zavedeny procesy GLP (*Good Laboratory Practise*), jejichž splnění je vyžadováno při publikacích v prestižních časopisech. Laboratoř se podílí na výuce studentů ve všech stupních vysokoškolského vzdělávání. V bakalářském a magisterském studiu se studenti napřímo seznámí s pravidly a činností akreditované laboratoře, tak jak se s ní později mohou setkat v průmyslové praxi. V doktorském studiu se navíc někteří studenti zapojí do činnosti laboratoře jako odborní pracovníci, včetně získání profesionální odborné kvalifikace.

Jak již bylo uvedeno v předešlých kapitolách, při výzkumu nových materiálů není možné spoléhat pouze na publikované a normované postupy, ale je potřeba vyvíjet nové metodiky. Proto je dlouhodobou snahou poskytnout nabyté zkušenosti mezinárodní komunitě ve formě podnětů k nově vznikajícím normativům. Autor práce je členem komise ISO/TC 150 *Implants for Surgery* jako zástupce ČR.

10 Závěr

V habilitační práci jsou prezentovány původní studie experimentální mechaniky biologických tkání, biomateriálů a implantátů na pracovišti autora. Práce ukazuje využití experimentální biomechaniky pro posouzení mechanického chování nativních tkání a technických biomateriálů. V práci jsou uvedeny nově vyvinuté metodiky i jimi získané výsledky, které byly publikovány v odborných periodících. Některé z metodik byly plně převzaty jinými výzkumnými týmy a zjištěné výsledky byly pozitivně přijaty vědeckou komunitou.

Jednotlivé studie ukázaly, že při testování biologických materiálů je nutno zohlednit účinky okolního prostředí, zejména jedná-li se o biomateriály tkáňového inženýrství. Na biologické materiály nemůžeme nahlížet jako na statický materiál, ale musíme je vnímat jako neoddělitelnou součást fyziologických systémů. Ukázalo se, že i látky, které zdánlivě nesouvisí s funkcí kosti jako podpůrného systému, jejich mechanické vlastnosti výrazně ovlivňují.

Při zkoušení technických materiálů je nutno zohlednit zátěžové podmínky, kterým jsou vystaveny v lidském těle, např. zkoušení povrchů implantátů na odtržení smykem. Aplikace technických materiálů v klinické praxi si vyžaduje ověření jejich mechanické odolnosti po opakované radiační expozici nebo určení vlivu sterilizace na degradaci materiálu.

Při zkoušení tkáňových implantátů nebylo možné využít tradičních inženýrských postupů z důvodů malých rozměrů vzorků s nízkou tuhostí a problémům s jejich upnutím. Proto byly zavedeny metodiky umožňující objektivně posoudit jejich mechanické vlastnosti. Unikátní metodika vedla ke vzniku série publikací ve spolupráci s kolegy z lékařských fakult a ústavů Akademie věd České republiky.

Mechanické zkoušení implantabilních a neimplantabilních zdravotnických prostředků je nedílnou součástí posouzení jejich bezpečnosti a účinnosti pro pacienta. Výsledky zkoušek umožní zlepšení funkčních vlastností zdravotnických prostředků. Výzkum tak má přímý dopad do klinické praxe a vede k prodloužení životnosti implantátů, a tím ke zvýšení kvality života pacientů.

11 Výhled do budoucna

Je neoddiskutovatelným faktem, že populace vyspělých zemí EU a světa stárne. S tím souvisí zvýšená poptávka po náhradách tkání a orgánů. V současné době pozorujeme, že dosavadní biomateriály první a druhé generace nedostačují pro plnohodnotnou náhradu v aktivním životě pacienta. Proto je požadavek na vývoj nových materiálů a konstrukcí. Mechanické zkoušky jsou kriticky důležité pro zajištění bezpečnosti pacienta, jak uvádí také nová evropská legislativa (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/745 – MDR [64]). Při zodpovědném posouzení nových materiálů a konstrukcí se nelze omezit na dosavadní používané postupy. Příkladem může být selhání normalizovaných metodik při posuzování funkční bezpečnosti náhrad typu kov/kov, viz MDA/2012/036.

V budoucnu můžeme předpokládat odklon od požadavků zaměřených na pouhé splnění základních předpisů k pokročilým analýzám uvažujícím komplexní faktory ovlivňující životnost implantátů. Přechod na nové generace materiálů vyžaduje nové přístupy ke zkoušení – např. časové hledisko degradace. Můžeme očekávat nástup nových biomateriálů – např. propojení pasivních biomateriálů s aktivními prvky (aktuátory) nebo větší využití sensorických elementů, které budou diagnostikovat selhání náhrad. Než budou tyto nové materiály implantovány pacientům, musí být jejich funkčnost, účinnost a bezpečnost prověřena v celé škále fyziologického a patologického zatížení. V tomto budou hrát mechanické zkoušky nezastupitelnou roli.

Vykonávání mechanických zkoušek bude vyžadovat velké technické dovednosti, interdisciplinární přehled a inženýrskou kreativitu. Tyto přístupy by si studenti měli osvojit již v průběhu moderního univerzitního studia. Funkčním propojením výzkumu a vývoje nových biomateriálů se zapojením studentů lze poskytnout vzdělání nové generaci biomechanických inženýrů schopných čelit těmto výzvám.

12 Bibliografie

- [1] BROULÍK, P., R. SEDLÁČEK, P. RŮŽIČKA a J. ROSENKRANCOVÁ. Effect of alendronate administration on bone mineral density and bone strength in castrated rats. *Hormone and Metabolic Research*. 2005, **37**(7), 414-418. ISSN 0018-5043. Dostupné z: doi:10.1055/s-870234
- [2] PEHLIVAN, E., J. DŽUGAN, J. FOJT, R. SEDLÁČEK, S. RZEPA a M. DANIEL. Post-Processing Treatment Impact on Mechanical Properties of SLM Deposited Ti-6Al-4V Porous Structure for Biomedical Application. *Materials* [online]. 2020, **13**(22), 1-11 [cit. 2021-01-22]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma13225167
- [3] PODŠKUBKA, A., C. POVÝŠIL, R. KUBES, J. SPRINDRICH a R. SEDLACEK. Treatment of deep cartilage defects of the knee with autologous chondrocyte transplantation on a hyaluronic acid ester scaffolds (Hyalograft C). *Acta Chirurgiae Orthopaedicae et Traumatologiae Cechoslovaca*. Praha, 2006, **73**(4), 251-262. ISSN 00015415.
- [4] BROULÍK, P., R. SEDLÁČEK, P. RŮŽIČKA, J. ROSENKRANCOVÁ a I. KURCOVÁ. The effect of chronic nicotine administration on bone mineral content and bone strength in normal and castrated male rats. *Hormone and Metabolic Research*. 2007, **39**(1), 20-24. ISSN 0018-5043. Dostupné z: doi:10.1055/s-2007-957342
- [5] BROULIK, P., R. SEDLACEK, P. RUZICKA, R. VONDROVA a T. ZIMA. The Effect of Chronic Alcohol Administration on Bone Mineral Content and Bone Strength in Male Rats. *Physiological Research*. 2010, **59**(4), 599-604. ISSN 0862-8408. Dostupné také z: Go to ISI://WOS:000282054700014
- [6] KUBÁŠOVÁ, K., R. SEDLÁČEK, L. VIŠTEJNOVÁ, M. ŠTĚPÁNKOVÁ a P. KLEIN. Effect of metallic plate fixation on mechanical properties of regenerated rib fractures. In: *Applied Mechanics 2021*. Liberec: Technical University Liberec, 2021, s. 32 - 35. ISBN 978-80-270-9946-7.
- [7] MACHOVA URDZIKOVA, L., R. SEDLACEK, T. SUCHY et al. Human multipotent mesenchymal stem cells improve healing after collagenase tendon injury in the rat. *Biomedical Engineering Online*. 2014, **13**, 15. ISSN 1475-925X. Dostupné z: doi:10.1186/1475-925x-13-42
- [8] STASTNY, P., R. SEDLACEK, T. SUCHY, V. LUKASOVA, M. RAMPICHOVA a M. TRUNEC. Structure degradation and strength changes of sintered calcium phosphate bone scaffolds with different phase structures during simulated biodegradation in vitro. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*. 2019, **100**, 544-553. ISSN 0928-4931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2019.03.027
- [9] SUCHÝ, T., M. BARTOŠ, R. SEDLÁČEK, M. ŠUPOVÁ, M. ŽALOUKOVÁ, G. MARTYNKOVÁ a R. FOLTÁN. Various Simulated Body Fluids Lead to Significant Differences in Collagen Tissue Engineering Scaffolds. *Materials* [online]. 2021, **14**(16) [cit. 2021-08-06]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma14164388

- [10] ROCCA, G., P. SEDLAKOVA, C. SARATTI, R. SEDLACEK, L. GREGOR, N. RIZCALLA, A. FEILZER a I. KREJCI. Fatigue behavior of resin-modified monolithic CAD–CAM RNC crowns and endocrowns. *Dental Materials* [online]. 2016, **32**(12), 338-350 [cit. 2020-05-05]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2016.09.024
- [11] SUCHÝ, T., M. ŠUPOVÁ, M. BARTOŠ et al. Dry versus hydrated collagen scaffolds: are dry states representative of hydrated states?. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* [online]. 2018, **29**(2) [cit. 2020-05-11]. ISSN 0957-4530. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-017-6024-2
- [12] SVOBODOVA, B., A. KLOUDOVA, J. RUZICKA et al. The effect of 808 nm and 905 nm wavelength light on recovery after spinal cord injury. *Scientific Reports*. 2019, **9**(1). ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-019-44141-2
- [13] JELEN, K., H. HERMAN, F. LOPOT, P. KUBOVY, M. OTCENASEK a R. SEDLACEK. Women with incorrect pelvic floor statics: A biomechanical answer to the mechanical loading of the vagina-endopelvic fascia complex: A biomechanical answer to the mechanical loading of the vagina-endopelvic fascia complex. *Neuroendocrinology Letters*. 2010, **31**(3), 413-417. ISSN 0172-780X. Dostupné také z: Go to ISI://WOS:000280462300024
- [14] LOUIS-UGBO, J., B. LEESON a W. HUTTON. Tensile properties of fresh human calcaneal (achilles) tendons. *Clinical Anatomy* [online]. 2004, **17**(1), 30-35 [cit. 2022-08-02]. ISSN 0897-3806. Dostupné z: doi:10.1002/ca.10126
- [15] ČSN EN ISO 6892-1 *Kovové materiály - Zkoušení tahem - Část 1: Zkušební metoda za pokojové teploty*. 2. vydání. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2017.
- [16] ČSN EN ISO 527-1 *Plasty - Stanovení tahových vlastností - Část 1: Obecné principy*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2020.
- [17] ČSN EN 658-1 *Speciální technická keramika - Mechanické vlastnosti keramických kompozitů při pokojové teplotě - Část 1: Stanovení tahových vlastností*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 1999.
- [18] ČSN ISO 13314 *Mechanické zkoušení kovů - Zkoušení tvárnosti - Zkouška porézních a pěnových kovů tlakem*. 1. vydání. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2012.
- [19] CULLINANE, D. a T. EINHORN. Biomechanics of Bone. In: *Principles of Bone Biology* [online]. 1. Elsevier, 2002, s. 17-32 [cit. 2021-07-16]. ISBN 9780120986521. Dostupné z: doi:10.1016/B978-012098652-1.50104-9
- [20] KEAVENY, T., E. MORGAN a O. YEH. Bone Mechanics. In: *BIOMEDICAL ENGINEERING AND DESIGN HANDBOOK* [online]. 2. vyd. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc, 2003, s. 1-24 [cit. 2021-07-16]. ISBN 9780071356374.

- [21] LACROIX, D. Biomechanical aspects of bone repair. In: *Bone Repair Biomaterials* [online]. 1. Elsevier, 2009, s. 106-118 [cit. 2021-07-16]. ISBN 9781845693855. Dostupné z: doi:10.1533/9781845696610.1.106
- [22] ČSN EN ISO 604 *Plasty - Stanovení tlakových vlastností*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2004.
- [23] ČSN EN ISO 844 *Tuhé lehčené plasty – Stanovení tlakových vlastností*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2015.
- [24] ČSN EN ISO 20749 *Stomatologie – Dentální amalgám v kapslích*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2019.
- [25] SEDLACEK, R., T. BOUDA a J. VONDROVA. Wear Resistance of Polyaryletheretherketone Against DLC Coat on Ti6Al4V Alloy. In: *INTERNATIONAL CONFERENCE OF THE CZECH SOCIETY OF BIOMECHANICS - HUMAN BIOMECHANICS 2010*. Liberec: Technical University Liberec, 2010, s. 301-305. ISBN 978-80-7372-648-5.
- [26] ČSN EN 843-1 *Speciální technická keramika – Mechanické vlastnosti monolitické keramiky při pokojové teplotě – Část 1: Stanovení pevnosti v ohybu*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2007.
- [27] TURNER, C.H. a D.B. BURR. Basic biomechanical measurements of bone: A tutorial. *Bone* [online]. 1993, **14**(4), 595-608 [cit. 2021-03-27]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/8756-3282(93)90081-K
- [28] TURNER, C. H. Bone Strength: Current Concepts. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. 2006, **1068**(1), 429-446 [cit. 2021-05-22]. ISSN 0077-8923. Dostupné z: doi:10.1196/annals.1346.039
- [29] ČSN EN ISO 6872 *Stomatologie – Keramické materiály*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2015.
- [30] ČSN EN ISO 13356 *Chirurgické implantáty - Keramické materiály na bázi yttria stabilizovaného tetragonálním zirkoniem (Y-TZP)*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2016.
- [31] ISO 14704(E) - *Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for flexural strength of monolithic ceramics at room temperature*. 1. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2008.
- [32] ISO 22214(E) *Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for cyclic bending fatigue of monolithic ceramics at room temperature*. 1. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2006.
- [33] ASTM C1161-18 *Standard Test Method for Flexural Strength of Advanced Ceramics at Ambient Temperature*. 1. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2018.

- [34] ČSN EN ISO 14125 *Vlákný vyztužené plastové kompozity - Stanovení ohybových vlastností*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 1999.
- [35] *ASTM F382-17 Standard Specification and Test Method for Metallic Bone Plates*. 1. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2017.
- [36] *ASTM F1264-16 Standard Specification and Test Method for Intramedullary Fixation Devices*. 1. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2016.
- [37] *ISO 6474-1(E) Implants for surgery — Ceramic materials — Part 1: Ceramic materials based on high purity alumina*. 1st ed. Case postale 56, Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 1994.
- [38] *ASTM C1499-19 Standard Test Method for Monotonic Equibiaxial Flexural Strength of Advanced Ceramics at Ambient Temperature*. 1. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2019.
- [39] *ISO 7206-4(E) Implants for surgery — Partial and total hip joint prostheses — Part 4: Determination of endurance properties and performance of stemmed femoral components*. 3rd ed. Case postale 56, Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2010.
- [40] ČSN EN ISO 14801 *Stomatologie - Implantáty - Dynamická zatěžovací zkouška nitrokostních zubních implantátů*. 1. vydání. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2017.
- [41] *ASTM G99-17 Standard Test Method for Wear Testing with a Pin-on-Disk Apparatus*. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2017.
- [42] WILLIAMSON, D. Microstructure and tribology of carbon, nitrogen, and oxygen implanted ferrous materials. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* [online]. 1993, **76**(1-4), 262-267 [cit. 2021-09-26]. ISSN 0168583X. Dostupné z: doi:10.1016/0168-583X(93)95203-H
- [43] BORJALI, A., K. MONSON a B. RAEYMAEKERS. Friction between a polyethylene pin and a microtextured CoCrMo disc, and its correlation to polyethylene wear, as a function of sliding velocity and contact pressure, in the context of metal-on-polyethylene prosthetic hip implants. *Tribology International* [online]. 2018, **127**, 568-574 [cit. 2021-09-26]. ISSN 0301679X. Dostupné z: doi:10.1016/j.triboint.2018.07.005
- [44] GALVIN, A., L. KANG, J. TIPPER, M. STONE, E. INGHAM, Z. JIN a J. FISHER. Wear of crosslinked polyethylene under different tribological conditions. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* [online]. 2006, **17**(3), 235-243 [cit. 2020-05-05]. ISSN 0957-4530. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-006-7309-z
- [45] POULIOS, K., N. DRAGO, P. KLIT a L. DE CHIFFRE. A reciprocating pin-on-plate test-rig for studying friction materials for holding brakes. *Wear* [online]. 2014,

- 311**(1-2), 40-46 [cit. 2021-09-26]. ISSN 00431648. Dostupné z: doi:10.1016/j.wear.2013.12.023
- [46] KRTICKA, M., L. PLANKA, L. VOJTOVA et al. Lumbar Interbody Fusion Conducted on a Porcine Model with a Bioresorbable Ceramic/Biopolymer Hybrid Implant Enriched with Hyperstable Fibroblast Growth Factor 2. *Biomedicines* [online]. 2021, **9**(7), 1-25 [cit. 2021-07-09]. ISSN 2227-9059. Dostupné z: doi:10.3390/biomedicines9070733
- [47] WIELOCH, P., G. BUCHMANN, W. ROTH a M. RICKERT. A cryo-jaw designed for in vitro tensile testing of the healing Achilles tendons in rats. *Journal of Biomechanics* [online]. 2004, **37**(11), 1719-1722 [cit. 2022-08-02]. ISSN 00219290. Dostupné z: doi:10.1016/j.jbiomech.2004.01.027
- [48] SCHMIDOVÁ, N., J. MACKEN, A. HOROSCHENKOFF, R. SEDLÁČEK, T. KOSTROUN, J. ŠIMOTA a M. RŮŽIČKA. Impact Damage Detection of a Glass Fabric Composite Using Carbon Fiber Sensors with Regard to Mechanical Loading. *Applied Sciences* [online]. 2022, **12**(3) [cit. 2022-12-07]. ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app12031112
- [49] KUBÁŠOVÁ, K., R. SEDLÁČEK, H. CHLUP a L. MACHOVÁ URZIKOVÁ. Analýza vlivu působení inhibitorů perineuronálních sítí na mechanické vlastnosti potkaních tkání. In: *Bioimplantologie 2021*. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2021, s. 57-58. ISBN 978-80-01-06886-1.
- [50] ŘEZNÍČEK, Jan. *Aplikace odporové tenzometrie v nestandardních podmínkách: Strain gage application in non-standard conditions*. 1. vydání. V Praze: České vysoké učení technické, 2005. ISBN 80-010-3367-8.
- [51] ROCCA, G., R. DAHER, C. SARATTI, R. SEDLACEK, T. SUCHY, A. FEILZER a I. KREJCI. Restoration of severely damaged endodontically treated premolars: The influence of the endo-core length on marginal integrity and fatigue resistance of lithium disilicate CAD-CAM ceramic endocrowns. *Journal of Dentistry* [online]. 2018, **68**, 41-50 [cit. 2020-05-05]. ISSN 03005712. Dostupné z: doi:10.1016/j.jdent.2017.10.011
- [52] VILÍMEK, M. a R. SEDLÁČEK. Dynamic Testing of Plates for Distal Femur Osteosynthesis. *Bulletin of Applied Mechanics*. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2010, **6**(21), 16-17. ISSN 1801-1217.
- [53] SAUNDERS, Marnie M. Mechanical Testing for the Biomechanics Engineer: A Practical Guide. *Synthesis Lectures on Biomedical Engineering* [online]. 2015, **54**(3), 1-275 [cit. 2020-05-11]. ISSN 1930-0328. Dostupné z: doi:10.2200/S00616ED1V01Y201411BME054
- [54] ČSN 42 0363 *Zkoušení kovů. Zkoušky únavy kovů. Metodika zkoušení*. 1. vydání. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 1987.
- [55] RŮŽIČKA, M., M. ROST a M. HANKE. *Dynamická pevnost a životnost*. 2. vyd. Praha: ČVUT v Praze, 1992. ISBN 9788001008867.

- [56] ČSN EN ISO 17140 *Jemná keramika (speciální keramika, speciální technická keramika) - Mechanické vlastnosti keramických kompozitů při pokojové teplotě - Stanovení únavových vlastností při konstantní amplitudě*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2016.
- [57] ČSN EN ISO 148-1 *Kovové materiály - Zkouška rázem v ohybu metodou Charpy - Část 1: Zkušební metoda*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2017.
- [58] ČSN EN ISO 14556 *Kovové materiály - Zkouška rázem v ohybu na kyvadlovém kladivu tyčí Charpy s V-vrubem - Instrumentovaná zkušební metoda*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2017.
- [59] ČSN 420383 *Zkoušení kovů. Zkouška rázem v ohybu za zvýšených teplot*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 1981.
- [60] ČSN EN ISO 179-1 *Plasty – Stanovení rázové houževnatosti metodou Charpy - Část 1: Neinstrumentovaná rázová zkouška*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2010.
- [61] ČSN EN ISO 179-2 *Plasty - Stanovení rázové houževnatosti Charpy - Část 2: Instrumentovaná rázová zkouška*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2021.
- [62] VILÍMEK, M. a R. SEDÁČEK. Methodology for Dynamic Testing of Plates for Proximal Tibia Osteosynthesis. *Bulletin of Applied Mechanics*. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2011, **7**(25), 12-14. ISSN 1801-1217.
- [63] SEDLÁČEK, R. a P. RŮŽIČKA. *Testování acetabulárních jamek*. 1. vyd. Praha, 2016. Výzkumná zpráva 12105/16/33.
- [64] *Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2017/745 o zdravotnických prostředcích*. In: . 1. Štrasburk: Evropský parlament, 2017.
- [65] POKORNÝ, M., T. SUCHÝ, A. KOTZIANOVÁ et al. Surface Treatment of Acetabular Cups with a Direct Deposition of a Composite Nanostructured Layer Using a High Electrostatic Field. *Molecules*. 2020, **25**(5). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25051173
- [66] SEDLÁČEK, R., B. HRUŠKOVÁ, T. SUCHÝ, K. KUBÁŠOVÁ, K. VALOVÁ, K. LYSÁKOVÁ a L. VOJTOVÁ. Adheze injekčně aplikovatelného porézního kostního cementu ke kosti. In: *Biomateriály a jejich povrchy XIII*. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2021, s. 86-87. ISBN 978-80-01-06872-4.
- [67] HORÁK, Z., R. SEDLÁČEK, J. ŘEZNÍČEK, A. PODŠKUBKA a J. VONDROVÁ. Vývoj dotykového měřidla pro měření mechanických vlastností měkkých tkání. In: *Summer Workshop of Applied Mechanics*. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2005, s. 66-70.

- [68] HORÁK, Z., R. SEDLÁČEK, J. MICHALEC, J. ŘEZNÍČEK a J. VONDROVÁ. *Dotykové měřidlo tuhosti kloubní chrupavky*. 2006. Užitečný vzor. CZ16327U1. Přihlášeno 21. 10. 2005. Zapsáno 6. 3. 2006.
- [69] ČSN EN ISO/IEC 17025 *Všeobecné požadavky na kompetenci zkušebních a kalibračních laboratoří*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2018.
- [70] WANG, W. a K. YEUNG. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. *Bioactive Materials* [online]. 2017, **2**(4), 224-247 [cit. 2021-06-05]. ISSN 2452199X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bioactmat.2017.05.007
- [71] LANGDAHL, B., S. FERRARI a D. DEMPSTER. Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease* [online]. 2016, **8**(6), 225-235 [cit. 2022-08-05]. ISSN 1759-720X. Dostupné z: doi:10.1177/1759720X16670154
- [72] DIMITRIOU, R., E. JONES, D. MCGONAGLE a P. GIANNOUDIS. Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Medicine* [online]. 2011, **9**(1) [cit. 2022-08-05]. ISSN 1741-7015. Dostupné z: doi:10.1186/1741-7015-9-66
- [73] PARFITT, A. Osteonal and hemi-osteonal remodeling: The spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone. *Journal of Cellular Biochemistry* [online]. 1994, **55**(3), 273-286 [cit. 2022-08-05]. ISSN 0730-2312. Dostupné z: doi:10.1002/jcb.240550303
- [74] RODAN, G., A. RESZKA, E. GOLUB a R. RIZZOLI. Bone safety of long-term bisphosphonate treatment. *Current Medical Research and Opinion* [online]. 2004, **20**(8), 1291-1300 [cit. 2021-03-27]. ISSN 0300-7995. Dostupné z: doi:10.1185/030079904125004475
- [75] NEVITT, M., D. THOMPSON, D. BLACK a S. RUBIN. Effect of Alendronate on Limited-Activity Days and Bed-Disability Days Caused by Back Pain in Postmenopausal Women With Existing Vertebral Fractures. *Archives of Internal Medicine* [online]. 2000, **160**(1), 77-85 [cit. 2021-03-27]. ISSN 0003-9926. Dostupné z: doi:10.1001/archinte.160.1.77
- [76] ROSENKRANCOVÁ, J., R. SEDLÁČEK, P. RŮŽIČKA a J. ŽÁK. Study Concerning the Effect of Calcitonin Administration on the Bone Strength of Ovariectomized Rats. In: *13th Biennial Conference for Canadian Society for Biomechanics*. Halifax, Nova Scotia: Dalhousie University, 2004, s. 54-55. ISBN 0-7360-0148-4.
- [77] HOIDRUP, S., E. PRESCOTT, T. SORENSEN, A. GOTTSCHAU, J. LAURITZEN, M. SCHROLL a M. GRONBAEK. Tobacco smoking and risk of hip fracture in men and women. *International Journal of Epidemiology* [online]. 2000, **29**(2), 253-259 [cit. 2021-03-27]. ISSN 1464-3685. Dostupné z: doi:10.1093/ije/29.2.253
- [78] SLEMENDA, C., S. HUI, C. LONGCOPE a C. JOHNSTON. Cigarette smoking, obesity, and bone mass. *Journal of Bone and Mineral Research* [online]. 1989, **4**(5), 737-741 [cit. 2021-03-27]. ISSN 08840431. Dostupné z: doi:10.1002/jbmr.5650040513

- [79] VANVOORHIS, B, J DAWSON, D STOVALL, A SPARKS a C SYROP. The effects of smoking on ovarian function and fertility during assisted reproduction cycles. *Obstetrics & Gynecology* [online]. 1996, **88**(5), 785-791 [cit. 2021-03-27]. ISSN 00297844. Dostupné z: doi:10.1016/0029-7844(96)00286-4
- [80] ROSENKRANCOVÁ, J., P. RŮŽIČKA, R. SEDLÁČEK, J. MICHALEC, P. BROULÍK a J. ŽÁK. The Effect of Nicotine Administration on the Bone Mechanical Properties. In: *21st Danubia-Adria Symposium on Experimental Methods in Solid Mechanics*. Zagreb: Croatian Society of Mechanics, 2004, s. 100-101. ISBN 953-96243-6-3.
- [81] VONDROVÁ, J., R. SEDLÁČEK, P. RŮŽIČKA, J. MICHALEC, P. BROULÍK a J. ŽÁK. The Effect of Nicotine Administration on the Femoral Neck Rigidity and Work to Failure on the Rat Osteoporotic Bones. In: *The 3rd European Medical and Biological Engineering Conference*. Praha: Společnost biomedicínského inženýrství a lékařské informatiky, 2005, s. 105-108. ISSN 1727-1983.
- [82] KANIS, J., H. JOHANSSON, O. JOHNELL, A. ODEN, C. DE LAET, J. EISMAN, H. POLS a A. TENENHOUSE. Alcohol intake as a risk factor for fracture. *Osteoporosis International* [online]. 2005, **16**(7), 737-742 [cit. 2021-03-28]. ISSN 0937-941X. Dostupné z: doi:10.1007/s00198-004-1734-y
- [83] MUKAMAL, K., J. ROBBINS, J. CAULEY, L. KERN a D. SISCOVICK. Alcohol consumption, bone density, and hip fracture among older adults: the cardiovascular health study. *Osteoporosis International* [online]. 2007, **18**(5), 593-602 [cit. 2021-03-28]. ISSN 0937-941X. Dostupné z: doi:10.1007/s00198-006-0287-7
- [84] MALIK, P., R. GASSER, G. KEMMLER, R. MONCAYO, G. FINKENSTEDT, M. KURZ a W. FLEISCHHACKER. Low Bone Mineral Density and Impaired Bone Metabolism in Young Alcoholic Patients Without Liver Cirrhosis: A Cross-Sectional Study. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* [online]. 2009, **33**(2), 375-381 [cit. 2021-03-28]. ISSN 01456008. Dostupné z: doi:10.1111/j.1530-0277.2008.00847.x
- [85] IWANIEC, U., C. TREVISIOL, G. MADDALOZZO, C. ROSEN a R. TURNER. Effects of low-dose parathyroid hormone on bone mass, turnover, and ectopic osteoinduction in a rat model for chronic alcohol abuse. *Bone* [online]. 2008, **42**(4), 695-701 [cit. 2021-03-28]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/j.bone.2007.12.221
- [86] VONDROVÁ, J., R. SEDLÁČEK, P. RŮŽIČKA, J. MICHALEC, P. BROULÍK a J. ŽÁK. The Effect of Alcohol Administration on the Bone Mechanical Properties. In: *22nd Danubia-Adria Symposium on Experimental Methods in Solid Mechanics*. Parma, Italy: University of Parma, 2005, s. 106-107. ISBN 978-1-60423-573-9.
- [87] BROULÍK, P., J. ŠTĚPÁN a Z. LIMANOVÁ. Bone isoenzyme of serum alkaline-phosphatase and urinary hydroxyproline excretion in thyrotoxicosis. *Endocrinologia experimentalis*. 1985, **19**(3), 165-169. ISSN 0013-7200.
- [88] PANTAZI, H. Changes in Parameters of Bone and Mineral Metabolism during Therapy for Hyperthyroidism. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*

- [online]. 2000, **85**(3), 1099-1106 [cit. 2021-04-03]. ISSN 0021-972X. Dostupné z: doi:10.1210/jc.85.3.1099
- [89] DIPIPPA, V. A. Estradiol and tamoxifen interactions with thyroid hormone in the ovariectomized-thyroidectomized rat. *Endocrinology* [online]. 1995, **136**(3), 1020-1033 [cit. 2021-04-03]. ISSN 0013-7227. Dostupné z: doi:10.1210/en.136.3.1020
- [90] ORWOLL, E. S. Does Estrogen Adequately Protect Postmenopausal Women Against Osteoporosis: An Iconoclastic Perspective. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 1999, **84**(6), 1872-1874 [cit. 2021-04-03]. ISSN 0021-972X. Dostupné z: doi:10.1210/jc.84.6.1872
- [91] SEEMAN, Ego. Pathogenesis of bone fragility in women and men. *The Lancet* [online]. 2002, **359**(9320), 1841-1850 [cit. 2021-04-03]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(02)08706-8
- [92] BROULÍK, P., J. ROSENKRANCOVÁ, P. RUZICKA a R. SEDLÁČEK. Effects of triiodothyronine and estrogen administration on bone mass, mineral content and bone strength in male rats. *Hormone and Metabolic Research*. 2003, **35**(9), 527-531. ISSN 0018-5043.
- [93] ROSENKRANCOVÁ, J., R. SEDLÁČEK, P. RŮŽIČKA a P. BROULÍK. Effect of Triiodothyronine and Estrogen Administration on bone Strength in Male Rats. In: *Biomechanics of Man 2002*. Praha: Czech Society of Biomechanics, 2002, s. 58-60. ISBN 80-86317-23-4.
- [94] BATTAGLINO, R., A. LAZZARI, E. GARSHICK a L. MORSE. Spinal Cord Injury-Induced Osteoporosis: Pathogenesis and Emerging Therapies. *Current Osteoporosis Reports* [online]. 2012, **10**(4), 278-285 [cit. 2021-04-03]. ISSN 1544-1873. Dostupné z: doi:10.1007/s11914-012-0117-0
- [95] FINNERUP, N., I. JOHANNESSEN, A. FUGLSANG-FREDERIKSEN, F. BACH a T. JENSEN. Sensory function in spinal cord injury patients with and without central pain. *Brain* [online]. 2003, **126**(1), 57-70 [cit. 2021-04-03]. ISSN 0006-8950. Dostupné z: doi:10.1093/brain/awg007
- [96] MAUTES, A., M. WEINZIERL, F. DONOVAN a L. NOBLE. Vascular Events After Spinal Cord Injury: Contribution to Secondary Pathogenesis. *Physical Therapy* [online]. 2000, **80**(7), 673-687 [cit. 2021-04-03]. ISSN 0031-9023. Dostupné z: doi:10.1093/ptj/80.7.673
- [97] SEKHON, L. a M. FEHLINGS. Epidemiology, Demographics, and Pathophysiology of Acute Spinal Cord Injury. *Spine* [online]. 2001, **26**(24), 2-12 [cit. 2021-04-25]. ISSN 0362-2436. Dostupné z: doi:10.1097/00007632-200112151-00002
- [98] VAVREK, R., D. PEARSE a K. FOUAD. Neuronal Populations Capable of Regeneration following a Combined Treatment in Rats with Spinal Cord Transection. *Journal of Neurotrauma* [online]. 2007, **24**(10), 1667-1673 [cit. 2021-04-25]. ISSN 0897-7151. Dostupné z: doi:10.1089/neu.2007.0290

- [99] TSIEN, R. Y. Very long-term memories may be stored in the pattern of holes in the perineuronal net. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2013, **110**(30), 12456-12461 [cit. 2021-04-25]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1310158110
- [100] KUBÁŠOVÁ, K., R. SEDLÁČEK a J. VONDROVÁ. Mechanical Properties of Rat Femurs Obtained from Three-Point Bending. In: *28th Workshop of Applied Mechanics Book of Papers*. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2020. ISBN 978-80-01-06791-8.
- [101] SEDLÁČEK, R., K. KUBÁŠOVÁ a J. VONDROVÁ. *Analýza vlivu působení inhibitorů perineuronálních sítí na ohybovou pevnost potkaních femurů*. 1. Praha, 2020. Výzkumná zpráva. ČVUT v Praze, Fakulta strojní.
- [102] LARDINOIS, D., T. KRUEGER, M. DUSMET, N. GHISLETTA, M. GUGGER a H.B. RIS. Pulmonary function testing after operative stabilisation of the chest wall for flail chest. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* [online]. 2001, **20**(3), 496-501 [cit. 2021-04-25]. ISSN 1873-734X. Dostupné z: doi:10.1016/S1010-7940(01)00818-1
- [103] TANAKA, H., T. YUKIOKA, Y. YAMAGUTI, S. SHIMIZU, H. GOTO, H. MATSUDA a S. SHIMAZAKI. Surgical Stabilization of Internal Pneumatic Stabilization? A Prospective Randomized Study of Management of Severe Flail Chest Patients. *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care* [online]. 2002, **52**(4), 727-732 [cit. 2021-04-25]. ISSN 0022-5282. Dostupné z: doi:10.1097/00005373-200204000-00020
- [104] ALTHAUSEN, P., S. SHANNON, C. WATTS, K. THOMAS, M. BAIN, D. COLL, T. O'MARA a T. BRAY. Early Surgical Stabilization of Flail Chest With Locked Plate Fixation. *Journal of Orthopaedic Trauma* [online]. 2011, **25**(11), 641-647 [cit. 2021-04-25]. ISSN 0890-5339. Dostupné z: doi:10.1097/BOT.0b013e318234d479
- [105] KUBÁŠOVÁ, K., R. SEDLÁČEK, L. VIŠTEJNOVÁ, M. ŠTĚPÁNKOVÁ a P. KLEIN. Vliv fixace dlahou na mechanické vlastnosti žeber při tříbodovém ohybu. In: *Biomateriály a jejich povrchy XIII*. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2020, s. 26-27. ISBN 978-80-01-06754-3.
- [106] OLIVER, W. a G. PHARR. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Journal of Materials Research* [online]. 1992, **7**(6), 1564-1583 [cit. 2021-04-05]. ISSN 0884-2914. Dostupné z: doi:10.1557/JMR.1992.1564
- [107] HENGESBERGER, S, A KULIK a Ph ZYSSET. Nanoindentation discriminates the elastic properties of individual human bone lamellae under dry and physiological conditions. *Bone* [online]. 2002, **30**(1), 178-184 [cit. 2021-04-05]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/S8756-3282(01)00624-X
- [108] LUKEŠ, J. a S. OTÁHAL. Nanoindentation of porcine bone lamellae. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*. OXON: TAYLOR & FRANCIS LTD, 2009, **12**(1), 177-178. ISSN 1025-5842.

- [109] VONDROVÁ, J., R. SEDLÁČEK, J. LUKEŠ, T. SUCHÝ a P. RŮŽIČKA. Comparative Study of Macro vs. Micro Test of Osteoporotic Rat Bones. *Bulletin of Applied Mechanics*. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2009, **5**(20), 93-95. ISSN 1801-1217.
- [110] BECKER, R., D. VOIGT, Ch. STÄRKE, M. HEYMANN, G. WILSON a W. NEBELUNG. Biomechanical properties of quadruple tendon and patellar tendon femoral fixation techniques. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy* [online]. 2001, **9**(6), 337-342 [cit. 2022-08-05]. ISSN 0942-2056. Dostupné z: doi:10.1007/s001670100223
- [111] KER, R., R. ALEXANDER a M. BENNETT. Why are mammalian tendons so thick?. *Journal of Zoology* [online]. 1988, **216**(2), 309-324 [cit. 2022-08-05]. ISSN 0952-8369. Dostupné z: doi:10.1111/j.1469-7998.1988.tb02432.x
- [112] ENGSTROM, A., A. BAY-JENSEN, M. KARSDAL a C. THUDIUM. Long term intermittent compression of articular cartilage attenuates cartilage degradation. *Osteoarthritis and Cartilage* [online]. 2019, **27**, 42-43 [cit. 2022-08-05]. ISSN 10634584. Dostupné z: doi:10.1016/j.joca.2019.02.061
- [113] CILINGIR, A. Effect of rotational and sliding motions on friction and degeneration of articular cartilage under dry and wet friction. *Journal of Bionic Engineering* [online]. 2015, **12**(3), 464-472 [cit. 2022-08-05]. ISSN 1672-6529. Dostupné z: doi:10.1016/S1672-6529(14)60137-2
- [114] HORNY, L., E. GULTOVA, H. CHLUP, R. SEDLACEK, J. KRONEK, J. VESELY a R. ZITNY. Mullins effect in human aorta described with limiting extensibility evolution. In: BAMIDIS, Panagiotis D. a Nicolas PALLIKARAKIS, ed. *XII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2010* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010, , s. 768-771 [cit. 2021-05-29]. IFMBE Proceedings. ISBN 978-3-642-13038-0. ISSN 16800737. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-642-13039-7_194
- [115] PEDOWITZ, D. a G. KIRWAN. Achilles tendon ruptures. *Current Reviews in Musculoskeletal Medicine* [online]. 2013, **6**(4), 285-293 [cit. 2022-08-05]. ISSN 1935-973X. Dostupné z: doi:10.1007/s12178-013-9185-8
- [116] BAH, I., N. FERNANDES, R. CHIMENTI, J. KETZ, A. FLEMISTER a M. BUCKLEY. Tensile mechanical changes in the Achilles tendon due to Insertional Achilles tendinopathy. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* [online]. 2020, **112** [cit. 2022-08-05]. ISSN 17516161. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmbbm.2020.104031
- [117] JAMES, R., G. KESTURU, G. BALIAN a A. CHHABRA. Tendon: Biology, Biomechanics, Repair, Growth Factors, and Evolving Treatment Options. *The Journal of Hand Surgery* [online]. 2008, **33**(1), 102-112 [cit. 2022-08-05]. ISSN 03635023. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhsa.2007.09.007
- [118] LOVATI, A., B. CORRADETTI, F. CREMONESI, D. BIZZARO a A. CONSIGLIO. Tenogenic differentiation of equine mesenchymal progenitor cells under indirect

- co-culture. *The International Journal of Artificial Organs* [online]. 2012, **35**(11), 996-1005 [cit. 2021-05-22]. ISSN 0391-3988. Dostupné z: doi:10.5301/ijao.5000129
- [119] PACINI, S., S. SPINABELLA, L. TROMBI, R. FAZZI, S. GALIMBERTI, F. DINI, F. CARLUCCI a M. PETRINI. Suspension of Bone Marrow–Derived Undifferentiated Mesenchymal Stromal Cells for Repair of Superficial Digital Flexor Tendon in Race Horses. *Tissue Engineering* [online]. 2007, **13**(12), 2949-2955 [cit. 2021-05-22]. ISSN 1076-3279. Dostupné z: doi:10.1089/ten.2007.0108
- [120] AHMAD, Z., J. WARDALE, R. BROOKS, F. HENSON, A. NOORANI a N. RUSHTON. Exploring the Application of Stem Cells in Tendon Repair and Regeneration. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery* [online]. 2012, **28**(7), 1018-1029 [cit. 2021-05-22]. ISSN 07498063. Dostupné z: doi:10.1016/j.arthro.2011.12.009
- [121] SEDLÁČEK, R., K. KUBÁŠOVÁ, H. CHLUP a J. VONDROVÁ. *Analýza vlivu působení inhibitorů perineuronálních sítí na mechanické vlastnosti potkaních šlach*. Praha: ČVUT v Praze, 2020. Výzkumná zpráva. ČVUT v Praze, Fakulta strojní.
- [122] SOUKUP, P. Substantive significance and it's measures. *Data and Research – SDA Info* [online]. 2013, **127**(2), 125-148 [cit. 2021-05-23]. ISSN 23362391. Dostupné z: doi:10.13060/23362391.2013.127.2.41
- [123] SEDLÁČEK, R., K. KUBÁŠOVÁ, H. CHLUP a J. VONDROVÁ. *Analýza vlivu působení inhibitorů perineuronálních sítí na mechanické vlastnosti potkaních kůží*. Praha: ČVUT v Praze, 2020. 12105/20/20. Výzkumná zpráva. ČVUT v Praze, Fakulta strojní.
- [124] ROBERT, H., J. BAHUAUD, N. KERDILES et al. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation: a review of 28 cases. *Revue de Chirurgie Orthopédique et Réparatrice de l'Appareil Moteur* [online]. 2007, **93**(7), 701-709 [cit. 2021-05-23]. ISSN 00351040. Dostupné z: doi:10.1016/S0035-1040(07)73255-5
- [125] BARTLETT, W., J. SKINNER, C. GOODING, R. CARRINGTON, A. FLANAGAN, T. BRIGGS a G. BENTLEY. Autologous chondrocyte implantation versus matrix-induced autologous chondrocyte implantation for osteochondral defects of the knee. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British volume* [online]. 2005, **87**-(5), 640-645 [cit. 2021-05-23]. ISSN 0301-620X. Dostupné z: doi:10.1302/0301-620X.87B5.15905
- [126] BRITTEBERG, M., L. PETERSON, E. SJÖGREN-JANSSON, T. TALLHEDEN a A. LINDAHL. Articular cartilage engineering with autologous chondrocyte transplantation. *The Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume* [online]. PHILADELPHIA: LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, 2003, **85**(3), 109-115 [cit. 2021-05-23]. ISSN 0021-9355. Dostupné z: doi:10.2106/00004623-200300003-00017
- [127] CRUIKSHANK, S. a M. MUNIZ. Outcomes study: A comparison of cure rates in 695 patients undergoing sacrospinous ligament fixation alone and with other site-specific procedures—A 16-year study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. 2003, **188**(6), 1509-1515 [cit. 2021-05-29]. ISSN 00029378. Dostupné z: doi:10.1067/mob.2003.474

- [128] OLSEN, A., V. SMITH, J. BERGSTROM, J. COLLING a A. CLARK. Epidemiology of surgically managed pelvic organ prolapse and urinary incontinence. *Obstetrics & Gynecology* [online]. 1997, **89**(4), 501-506 [cit. 2021-05-29]. ISSN 00297844. Dostupné z: doi:10.1016/S0029-7844(97)00058-6
- [129] OTCENASEK, M., V. BACA, L. KROFTA a J. FEYEREISL. Endopelvic Fascia in Women: Shape and relation to parietal pelvic structures. *Obstetrics & Gynecology* [online]. 2008, **111**(3), 622-630 [cit. 2021-05-29]. ISSN 0029-7844. Dostupné z: doi:10.1097/AOG.0b013e3181649e5c
- [130] DAVIS, R., A. SINGH, M. JACKSON a R. COELHO. A comprehensive review on metallic implant biomaterials and their subtractive manufacturing. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology* [online]. 2022, **120**(3-4), 1473-1530 [cit. 2022-07-20]. ISSN 0268-3768. Dostupné z: doi:10.1007/s00170-022-08770-8
- [131] GEETHA, M., A. SINGH, R. ASOKAMANI a A. GOGIA. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. *Progress in Materials Science* [online]. 2009, **54**(3), 397-425 [cit. 2022-07-20]. ISSN 00796425. Dostupné z: doi:10.1016/j.pmatsci.2008.06.004
- [132] SUMITA, M., T. HANAWA a S. TEOH. Development of nitrogen-containing nickel-free austenitic stainless steels for metallic biomaterials—review. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2004, **24**(6-8), 753-760 [cit. 2022-07-20]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2004.08.030
- [133] VELÁSQUEZ-GARCÍA, L. a Y. KORNBLUTH. Biomedical Applications of Metal 3D Printing. *Annual Review of Biomedical Engineering* [online]. 2021, **23**(1), 307-338 [cit. 2022-07-20]. ISSN 1523-9829. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-bioeng-082020-032402
- [134] KUMAR, K., R. GILL a U. BATRA. Challenges and opportunities for biodegradable magnesium alloy implants. *Materials Technology* [online]. 2017, **33**(2), 153-172 [cit. 2022-07-20]. ISSN 1066-7857. Dostupné z: doi:10.1080/10667857.2017.1377973
- [135] KRAUS, T., F. MOSZNER, S. FISCHERAUER, M. FIEDLER a E. MARTINELLI. Biodegradable Fe-based alloys for use in osteosynthesis: Outcome of an in vivo study after 52weeks. *Acta Biomaterialia* [online]. 2014, **10**(7), 3346-3353 [cit. 2022-07-20]. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2014.04.007
- [136] DEMANN, E., P. STEIN a J. HAUBENREICH. Gold as an Implant in Medicine and Dentistry. *Journal of Long-Term Effects of Medical Implants* [online]. 2005, **15**(6), 687-698 [cit. 2022-07-20]. ISSN 1050-6934. Dostupné z: doi:10.1615/JLongTermEffMedImplants.v15.i6.100
- [137] PARVIZI, S., S. HASHEMI, F. ASGARINIA, M. NEMATOLLAHI a M. ELAHINIA. Effective parameters on the final properties of NiTi-based alloys manufactured by powder metallurgy methods: A review. *Progress in Materials Science* [online]. 2021, **117** [cit. 2022-07-20]. ISSN 00796425. Dostupné z: doi:10.1016/j.pmatsci.2020.100739

- [138] VU, N., N. TRUONG, L. DANG, L. PHI, N. HO, T. PHAM, T. PHAN a P. PHAM. In vitro and in vivo biocompatibility of Ti-6Al-4V titanium alloy and UHMWPE polymer for total hip replacement. *Biomedical Research and Therapy* [online]. 2016, **3**(3) [cit. 2022-08-04]. ISSN 2198-4093. Dostupné z: doi:10.7603/s40730-016-0014-8
- [139] HAN, X., D. YANG, Ch. YANG, S. SPINTZYK a L. SCHEIDELER. Carbon Fiber Reinforced PEEK Composites Based on 3D-Printing Technology for Orthopedic and Dental Applications. *Journal of Clinical Medicine* [online]. 2019, **8**(2), 240 [cit. 2022-08-04]. ISSN 2077-0383. Dostupné z: doi:10.3390/jcm8020240
- [140] PANAYOTOV, I., V. ORTI, F. CUISINIER a J. YACHOUH. Polyetheretherketone (PEEK) for medical applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* [online]. 2016, **27**(7), 118 [cit. 2022-08-04]. ISSN 0957-4530. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-016-5731-4
- [141] PICONI, C. a S. SPRIO. Oxide Bioceramic Composites in Orthopedics and Dentistry. *Journal of Composites Science* [online]. 2021, **5**(8) [cit. 2022-07-21]. ISSN 2504-477X. Dostupné z: doi:10.3390/jcs5080206
- [142] SOON, G., B. PINGGUAN-MURPHY, K. LAI a S. AKBAR. Review of zirconia-based bioceramic: Surface modification and cellular response. *Ceramics International* [online]. 2016, **42**(11), 12543-12555 [cit. 2022-07-21]. ISSN 02728842. Dostupné z: doi:10.1016/j.ceramint.2016.05.077
- [143] CORREA, T., B. RICHTER, A. TURGER, B. DENKENA a C. HURSCHLER. Ceramic-on-ceramic material pairings under simplified knee replacement conditions show increasing wear with increasing conformity. *Biomedical Engineering / Biomedizinische Technik* [online]. 2013, **58**(1) [cit. 2022-07-21]. ISSN 1862-278X. Dostupné z: doi:10.1515/bmt-2013-4077
- [144] SRIDHAR, T. Nanobioceramic coatings for biomedical applications. *Materials Technology* [online]. 2013, **25**(3-4), 184-195 [cit. 2022-07-21]. ISSN 1066-7857. Dostupné z: doi:10.1179/175355510X12723642365449
- [145] CORDEIRO, J. a V. BARÃO. Is there scientific evidence favoring the substitution of commercially pure titanium with titanium alloys for the manufacture of dental implants?. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2017, **71**, 1201-1215 [cit. 2022-07-19]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2016.10.025
- [146] MIURA, K., N. YAMADA, S. HANADA, T. JUNG a E. ITOI. The bone tissue compatibility of a new Ti-Nb-Sn alloy with a low Young's modulus. *Acta Biomaterialia* [online]. 2011, **7**(5), 2320-2326 [cit. 2022-07-20]. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2011.02.008
- [147] NIINOMI, M., Y. LIU, M. NAKAI, H. LIU a H. LI. Biomedical titanium alloys with Young's moduli close to that of cortical bone. *Regenerative Biomaterials* [online]. 2016, **3**(3), 173-185 [cit. 2022]. ISSN 2056-3418. Dostupné z: doi:10.1093/rb/rbw016
- [148] VOLTROVA, B., P. JAROLIMOVA, V. HYBASEK, V. BLAHNOVA, J. SEPITKA a Matej DANIEL. In vitro evaluation of a novel nanostructured Ti-36Nb-6Ta alloy for

- orthopedic applications. *Nanomedicine* [online]. 2020, **15**(19), 1843-1859 [cit. 2022-07-20]. ISSN 1743-5889. Dostupné z: doi:10.2217/nnm-2020-0123
- [149] SEDLÁČEK, R. a M. DANIEL. *Únavové zkoušky finálních Beta-titanových slitin Ti-36Nb-6Ta*. 1. vyd. Praha: ČVUT v Praze, 2014. Výzkumná zpráva 12105/14/40.
- [150] STRÁSKÝ, J. *Advanced Titanium Alloys for Medical Applications*. Praha, 2020. Habilitation thesis. Charles University, Faculty of Mathematics and Physics.
- [151] MOORE, B., E. ASADI a G. LEWIS. Deposition Methods for Microstructured and Nanostructured Coatings on Metallic Bone Implants: A Review. *Advances in Materials Science and Engineering* [online]. 2017, **2017**, 1-9 [cit. 2021-05-30]. ISSN 1687-8434. Dostupné z: doi:10.1155/2017/5812907
- [152] ALBREKTSSON, T., P. BRANEMARK, H. HANSSON a J. LINDSTROM. Osseointegrated Titanium Implants: Requirements for Ensuring a Long-Lasting, Direct Bone-to-Implant Anchorage in Man. *Acta Orthopaedica Scandinavica* [online]. 2009, **52**(2), 155-170 [cit. 2022-07-19]. ISSN 0001-6470. Dostupné z: doi:10.3109/17453678108991776
- [153] DAVIES, J. Bone bonding at natural and biomaterial surfaces. *Biomaterials* [online]. 2007, **28**(34), 5058-5067 [cit. 2022-07-19]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2007.07.049
- [154] WANG, W. a K. YEUNG. Plasma surface modifications of orthopedic biomaterials by the adoption of bioinorganic cations: a review. *Surface Innovations* [online]. 2020, **8**(4), 203-215 [cit. 2022-07-19]. ISSN 2050-6252. Dostupné z: doi:10.1680/jsuin.19.00048
- [155] *ASTM F1044-05e1 Standard Test Method For Shear Testing Of Calcium Phosphate Coatings And Metallic Coatings*. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2017.
- [156] RŮŽIČKA, P., K. DOUBRAVA a R. SEDLÁČEK. *Testing of shear strength of sprayed titanium layer*. 1. vyd. Praha: ČVUT v Praze, 2012. Výzkumná zpráva 12105/12/32.
- [157] ZHANG, X., X. WU a J. SHI. Additive manufacturing of zirconia ceramics: a state-of-the-art review. *Journal of Materials Research and Technology* [online]. 2020, **9**(4), 9029-9048 [cit. 2022-07-21]. ISSN 22387854. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmrt.2020.05.131
- [158] SINGH, S., S. RAMAKRISHNA a R. SINGH. Material issues in additive manufacturing: A review. *Journal of Manufacturing Processes* [online]. 2017, **25**, 185-200 [cit. 2022-07-18]. ISSN 15266125. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmapro.2016.11.006
- [159] LI, J., X. CUI, G. HOOPER, K. LIM a T. WOODFIELD. Rational design, bio-functionalization and biological performance of hybrid additive manufactured titanium implants for orthopaedic applications: A review. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* [online]. 2020, **105** [cit. 2022-07-18]. ISSN 17516161. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmbbm.2020.103671

- [160] WARNKE, P., T. DOUGLAS, P. WOLLNY a E. SHERRY. Rapid Prototyping: Porous Titanium Alloy Scaffolds Produced by Selective Laser Melting for Bone Tissue Engineering. *Tissue Engineering Part C: Methods* [online]. 2009, **15**(2), 115-124 [cit. 2022-07-18]. ISSN 1937-3384. Dostupné z: doi:10.1089/ten.tec.2008.0288
- [161] ZHANG, X., G. FANG, S. LEEFLANG, A. ZADPOOR a J. ZHOU. Topological design, permeability and mechanical behavior of additively manufactured functionally graded porous metallic biomaterials. *Acta Biomaterialia* [online]. 2019, **84**, 437-452 [cit. 2022-07-18]. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2018.12.013
- [162] GOLDMANN, T., W. HUANG, S. RZEPA, J. DŽUGAN, R. SEDLÁČEK a M. DANIEL. Additive Manufacturing of Honeycomb Lattice Structure—From Theoretical Models to Polymer and Metal Products. *Materials* [online]. 2022, **15**(5) [cit. 2022-12-07]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma15051838
- [163] MAJUMDAR, T., N. EISENSTEIN, J. FRITH, S. COX a N. BIRBILIS. Additive Manufacturing of Titanium Alloys for Orthopedic Applications: A Materials Science Viewpoint. *Advanced Engineering Materials* [online]. 2018, **20**(9) [cit. 2022-07-18]. ISSN 14381656. Dostupné z: doi:10.1002/adem.201800172
- [164] MOMBELLI, A., D. HASHIM a N. CIONCA. What is the impact of titanium particles and biocorrosion on implant survival and complications? A critical review. *Clinical Oral Implants Research* [online]. 2018, **29**, 37-53 [cit. 2022-07-18]. ISSN 09057161. Dostupné z: doi:10.1111/clr.13305
- [165] HERINGA, M., R. PETERS, R. BLEYS, M. VAN DER LEE a P. TROMP. Detection of titanium particles in human liver and spleen and possible health implications. *Particle and Fibre Toxicology* [online]. 2018, **15**(1) [cit. 2022-07-18]. ISSN 1743-8977. Dostupné z: doi:10.1186/s12989-018-0251-7
- [166] FOJT, J., Z. KACENKA, E. JABLONSKA, V. HYBASEK a E. PRUCHOVA. Influence of the surface etching on the corrosion behaviour of a three-dimensional printed Ti–6Al–4V alloy. *Materials and Corrosion* [online]. 2020, **71**(10), 1691-1696 [cit. 2022-07-18]. ISSN 0947-5117. Dostupné z: doi:10.1002/maco.202011658
- [167] VESELY, F., E. ZOLOTAREVOVA, M. SPUNDOVA, F. KAFTAN, M. SLOUF a G. ENTLICHER. Simple colorimetric methods for determination of sub-milligram amounts of ultra-high molecular weight polyethylene wear particles. *Acta Biomaterialia* [online]. 2012, **8**(5), 1935-1938 [cit. 2022-04-10]. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2012.01.010
- [168] SCHMALZRIED, T. a J. CALLAGHAN. Current Concepts Review - Wear in Total Hip and Knee Replacements*. *The Journal of Bone & Joint Surgery* [online]. 1999, **81**(1), 115-136 [cit. 2022-04-10]. ISSN 0021-9355. Dostupné z: doi:10.2106/00004623-199901000-00016
- [169] ŠLOUF, M., I. ŠLOUFOVÁ, Z. HORÁK et al. New fast method for determination of number of UHMWPE wear particles. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* [online]. 2004, **15**(12), 1267-1278 [cit. 2022-04-10]. ISSN 0957-4530. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-004-5734-4

- [170] LIVERMORE, J., D. ILSTRUP a B. MORREY. Effect of femoral head size on wear of the polyethylene acetabular component. *The Journal of Bone & Joint Surgery* [online]. 1990, **72**(4), 518-528 [cit. 2022-04-10]. ISSN 0021-9355. Dostupné z: doi:10.2106/00004623-199072040-00008
- [171] FULIN, P., D. POKORNY, M. SLOUF, M. NEVORALOVA, T. VACKOVA, J. DYBAL a J. PILAR. Quantification of structural changes of UHMWPE components in total joint replacements. *BMC Musculoskeletal Disorders* [online]. 2014, **15**(1) [cit. 2022-04-10]. ISSN 1471-2474. Dostupné z: doi:10.1186/1471-2474-15-109
- [172] SEDLACEK, R. a Z. TUZAROVA. Experimental evaluation of the influence of implant head surface roughness on the wear of UHMWPE cup. *25th Danubia-Adria Symposium on Advances in Experimental Mechanics*. [Sedlacek, R, 2008, 231-232. Dostupné také z: Go to ISI://WOS:000292693200116
- [173] SEDLÁČEK, R., J. VONDROVÁ a S. KONVIČKOVÁ. *Hodnocení odolnosti proti otěru dle ISO 6474:1994(E) s ozařovaným UHMWPE*. 1. vyd. Praha: ČVUT v Praze, 2005. Výzkumná zpráva 2051/5/16.
- [174] SEDLÁČEK, R., J. ROSENKRACOVÁ a S. KONVIČKOVÁ. *Mechanická zkouška odolnosti proti otěru dle ISO 6474:1994(E) s titanovou slitinou s DLC povrchem a UHMWPE*. 1. vyd. Praha: ČVUT v Praze, 2003. Výzkumná zpráva 2051/03/20.
- [175] STULBERG, S., P. LOAN a V. SARIN. Computer-assisted navigation in total knee replacement. *The Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume* [online]. 2002, **84**, 90-98 [cit. 2022-07-20]. ISSN 0021-9355. Dostupné z: doi:10.2106/00004623-200200002-00011
- [176] NORRIS, B., D. HAHN, M. BOSSE, J. KELLAM a S. SIMS. Intraoperative Fluoroscopy to Evaluate Fracture Reduction and Hardware Placement During Acetabular Surgery. *Journal of Orthopaedic Trauma* [online]. 1999, **13**(6), 414-417 [cit. 2022-07-20]. ISSN 0890-5339. Dostupné z: doi:10.1097/00005131-199908000-00004
- [177] SISTON, R., N. GIORI, S. GOODMAN a S. DELP. Surgical navigation for total knee arthroplasty: A perspective. *Journal of Biomechanics* [online]. 2007, **40**(4), 728-735 [cit. 2022-07-20]. ISSN 00219290. Dostupné z: doi:10.1016/j.jbiomech.2007.01.006
- [178] ROUTH, M., S. NORK a W. MILLS. High-Energy Pelvic Ring Disruptions. *Orthopedic Clinics of North America* [online]. 2002, **33**(1), 59-72 [cit. 2022-07-20]. ISSN 00305898. Dostupné z: doi:10.1016/S0030-5898(03)00072-5
- [179] SUCHY, T., K. BALIK, R. SEDLACEK, Z. SUCHARDA, M. SOCHOR, J. PROKOP, J. BENES a J. KRENA. Radiolucent Composites Providing High Resistance against Sterilization Decomposition. *Ceramics-Silikaty*. 2011, **55**(4), 401-409. ISSN 0862-5468. Dostupné také z: Go to ISI://WOS:000302337300015
- [180] SUCHÝ, T., K. BALÍK, Z. SUCHARDA, M. SOCHOR, M. LAPČÍKOVÁ a R. SEDLÁČEK. Optimizing and evaluating the biocompatibility of fiber composites with calcium phosphate additives. *Wiener Medizinische Wochenschrift* [online]. 2011, **161**(19-

- 20), 493-502 [cit. 2021-05-29]. ISSN 0043-5341. Dostupné z: doi:10.1007/s10354-011-0913-7
- [181] SEDLACEK, R., T. SUCHY, M. SOCHOR, K. BALIK, Z. SUCHARDA a J. SEPITKA. Effect of Sterilization Processes on the Fiber/Matrix Interphase Properties of CF/PDMS Composite to be used in Orthopaedics: Key Engineering Materials. *Local Mechanical Properties IX*. [Sedlacek, Radek: Trans Tech Publications Ltd, 2014, **586**, 234-236. ISSN 1013-9826. Dostupné z: doi:10.4028/www.scientific.net/KEM.586.234
- [182] SEDLACEK, R., T. SUCHY, Z. SUCHARDA, K. BALIK, M. SOCHOR, J. SEPITKA a J. LUKES. The influence of sterilisation processes on the micromechanical properties of polyamide fibre-reinforced PDMS composites for orthopaedic applications. *Computer methods in biomechanics and biomedical engineering*. 2012, **151**, 91-2. ISSN 1476-8259. Dostupné také z: Go to ISI://MEDLINE:23009437
- [183] SEDLACEK, R., T. SUCHY, J. SEPITKA, J. LUKES, M. SOCHOR, K. BALIK, Z. SUCHARDA a J. BENES. Nanowear Testing of Composite Materials. *Chemické Listy*. 2012, **106**, 519-520. ISSN 0009-2770. Dostupné také z: Go to ISI://WOS:000314237900051
- [184] CAMPANA, V., G. MILANO, E. PAGANO, M. BARBA, C. CICIONE, G. SALONNA, W. LATTANZI a G. LOGROSCINO. Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* [online]. 2014, **25**(10), 2445-2461 [cit. 2021-07-24]. ISSN 0957-4530. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-014-5240-2
- [185] DIMITRIOU, R., G. MATALIOTAKIS, A. ANGOULES, N. KANAKARIS a P. GIANNOUDIS. Complications following autologous bone graft harvesting from the iliac crest and using the RIA: A systematic review. *Injury* [online]. 2011, **42**(2), 3-15 [cit. 2021-07-24]. ISSN 00201383. Dostupné z: doi:10.1016/j.injury.2011.06.015
- [186] LEW, D. a F. WALDVOGEL. Osteomyelitis. *The Lancet* [online]. 2004, **364**(9431), 369-379 [cit. 2021-06-05]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(04)16727-5
- [187] ORCIANI, M., M. FINI, R. DI PRIMIO a M. MATTIOLI-BELMONTE. Biofabrication and Bone Tissue Regeneration: Cell Source, Approaches, and Challenges. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* [online]. 2017, **5**(17) [cit. 2021-07-24]. ISSN 2296-4185. Dostupné z: doi:10.3389/fbioe.2017.00017
- [188] BOSE, S., M. ROY a A. BANDYOPADHYAY. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Trends in Biotechnology* [online]. 2012, **30**(10), 546-554 [cit. 2021-07-24]. ISSN 01677799. Dostupné z: doi:10.1016/j.tibtech.2012.07.005
- [189] O'BRIEN, F. Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today* [online]. 2011, **14**(3), 88-95 [cit. 2021-06-05]. ISSN 13697021. Dostupné z: doi:10.1016/S1369-7021(11)70058-X
- [190] GREENWALD, A., S. BODEN, V. GOLDBERG, Y. KHAN, C. LAURENCIN a R. ROSIER. Bone-Graft Substitutes: Facts, Fictions, and Applications. *The Journal of Bone and*

- Joint Surgery-American Volume* [online]. 2001, **83**(2), 98-103 [cit. 2021-06-05]. ISSN 0021-9355. Dostupné z: doi:10.2106/00004623-200100022-00007
- [191] WOODARD, J., A. HILLDORE, S. LAN et al. The mechanical properties and osteoconductivity of hydroxyapatite bone scaffolds with multi-scale porosity. *Biomaterials* [online]. 2007, **28**(1), 45-54 [cit. 2021-06-06]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2006.08.021
- [192] MURUGAN, R. a S. RAMAKRISHNA. Development of nanocomposites for bone grafting. *Composites Science and Technology* [online]. 2005, **65**(15-16), 2385-2406 [cit. 2021-06-06]. ISSN 02663538. Dostupné z: doi:10.1016/j.compscitech.2005.07.022
- [193] SHI, M., J. KRETLOW, A. NGUYEN, S. YOUNG, L. SCOTT BAGGETT, M. WONG, F. KURTIS KASPER a A. MIKOS. Antibiotic-releasing porous polymethylmethacrylate constructs for osseous space maintenance and infection control. *Biomaterials* [online]. 2010, **31**(14), 4146-4156 [cit. 2021-06-05]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2010.01.112
- [194] FREEMAN, M., G. BRADLEY a P. REVELL. Observations upon the interface between bone and polymethylmethacrylate cement. *The Journal of Bone and Joint Surgery. British volume* [online]. 1982, **64**(-4), 489-493 [cit. 2021-06-05]. ISSN 0301-620X. Dostupné z: doi:10.1302/0301-620X.64B4.7096429
- [195] LAREDO, J. a B. HAMZE. Complications of percutaneous vertebroplasty and their prevention. *Seminars in Ultrasound, CT and MRI* [online]. 2005, **26**(2), 65-80 [cit. 2021-06-05]. ISSN 08872171. Dostupné z: doi:10.1053/j.sult.2005.02.003
- [196] BOHNER, M. Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements. *Injury* [online]. 2000, **31**(4), 37-47 [cit. 2021-06-05]. ISSN 00201383. Dostupné z: doi:10.1016/S0020-1383(00)80022-4
- [197] DE GRADO, G., L. KELLER, Y. IDOUX-GILLET, Q. WAGNER, A. MUSSET, N. BENKIRANE-JESSEL, F. BORNERT a D. OFFNER. Bone substitutes: a review of their characteristics, clinical use, and perspectives for large bone defects management. *Journal of Tissue Engineering* [online]. 2018, **9** [cit. 2021-06-05]. ISSN 2041-7314. Dostupné z: doi:10.1177/2041731418776819
- [198] MONTUFAR, E., T. TRAYKOVA, C. GIL et al. Foamed surfactant solution as a template for self-setting injectable hydroxyapatite scaffolds for bone regeneration. *Acta Biomaterialia* [online]. 2010, **6**(3), 876-885 [cit. 2021-06-05]. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2009.10.018
- [199] VLTAVSKÝ, M., R. SEDLÁČEK a T. SUCHÝ. An analysis of the mechanical properties of porous ceramic foams for bone substitutes during accelerated degradation. In: *Applied Mechanics 2021*. Liberec: Technical University Liberec, 2021, s. 54-58.
- [200] VOJTOVA, L., L. MICHLOVSKA, K. VALOVA et al. 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, **20**(2). ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20020391
- [201] VLTAVSKÝ, M., R. SEDLÁČEK, T. SUCHÝ, M. BARTOŠ, L. VOJTOVÁ, K. VALOVÁ a K. LYSÁKOVÁ. Analýza mechanických vlastností porézních keramických pěn při akcelorované degradaci. In: *Biomateriály a jejich povrchy XIII*. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2020, s. 44-45. ISBN 978-80-01-06754-3.
- [202] GLOWACKI, J. a S. MIZUNO. Collagen scaffolds for tissue engineering. *Biopolymers* [online]. 2008, **89**(5), 338-344 [cit. 2021-06-06]. ISSN 00063525. Dostupné z: doi:10.1002/bip.20871
- [203] PROSECKÁ, E., M. RAMPICHOVÁ, A. LITVINEC et al. Collagen/hydroxyapatite scaffold enriched with polycaprolactone nanofibers, thrombocyte-rich solution and mesenchymal stem cells promotes regeneration in large bone defect in vivo. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2015, **103**(2), 671-682 [cit. 2021-06-06]. ISSN 15493296. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.35216
- [204] SELL, S., M. FRANCIS, K. GARG, M. MCCLURE, D. SIMPSON a G. BOWLIN. Cross-linking methods of electrospun fibrinogen scaffolds for tissue engineering applications. *Biomedical Materials* [online]. 2008, **3**(4) [cit. 2021-06-06]. ISSN 1748-6041. Dostupné z: doi:10.1088/1748-6041/3/4/045001
- [205] LUKÁŠOVÁ, V., M. BUZGO, K. VOCETKOVÁ et al. Needleless electrospun and centrifugal spun poly-ε-caprolactone scaffolds as a carrier for platelets in tissue engineering applications: A comparative study with hMSCs. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2019, **97**, 567-575 [cit. 2020-05-05]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2018.12.069
- [206] ZHANG, X., X. CHEN, T. YANG et al. The effects of different crossing-linking conditions of genipin on type I collagen scaffolds: an in vitro evaluation. *Cell and Tissue Banking* [online]. 2014, **15**(4), 531-541 [cit. 2021-06-06]. ISSN 1389-9333. Dostupné z: doi:10.1007/s10561-014-9423-3
- [207] SUCHY, T., M. SUPOVA, P. SAUEROVA et al. The effects of different cross-linking conditions on collagen-based nanocomposite scaffolds-an in vitro evaluation using mesenchymal stem cells. *Biomedical Materials*. 2015, **10**(6). ISSN 1748-6041. Dostupné z: doi:10.1088/1748-6041/10/6/065008
- [208] BEACHLEY, V. a X. WEN. Fabrication of nanofiber reinforced protein structures for tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2009, **29**(8), 2448-2453 [cit. 2021-07-23]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2009.07.008
- [209] ELSAYED, Y., C. LEKAKOU, F. LABEED a P. TOMLINS. Fabrication and characterisation of biomimetic, electrospun gelatin fibre scaffolds for tunica media-equivalent, tissue engineered vascular grafts. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2016, **61**, 473-483 [cit. 2021-07-23]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2015.12.081

- [210] OFFEDDU, G., J. ASHWORTH, R. CAMERON a M. OYEN. Structural determinants of hydration, mechanics and fluid flow in freeze-dried collagen scaffolds. *Acta Biomaterialia* [online]. 2016, **41**, 193-203 [cit. 2021-07-23]. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2016.05.024
- [211] DOROZHKIN, S. Calcium Orthophosphate-Based Bioceramics. *Materials* [online]. 2013, **6**(9), 3840-3942 [cit. 2021-07-24]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma6093840
- [212] WANG, X., S. WANG, F. HE, E. TOLBA, H. SCHRÖDER, B. DIEHL-SEIFERT a W. MÜLLER. Polyphosphate as a Bioactive and Biodegradable Implant Material: Induction of Bone Regeneration in Rats. *Advanced Engineering Materials* [online]. 2016, **18**(8), 1406-1417 [cit. 2021-07-24]. ISSN 14381656. Dostupné z: doi:10.1002/adem.201600057
- [213] DENRY, I. a L. KUHN. Design and characterization of calcium phosphate ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Dental Materials* [online]. 2016, **32**(1), 43-53 [cit. 2021-07-24]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2015.09.008
- [214] SEDLÁČEK, R., T. SUCHÝ, J. VONDROVÁ et al. Mechanické vlastnosti porézních keramických materiálů – mez pevnosti v tlaku. In: *Bioimplantologie 2018*. 1. Brno, 2018, s. 51-52.
- [215] SEDLÁČEK, R., T. SUCHÝ, J. VONDROVÁ et al. Mechanické vlastnosti porézních keramických materiálů – elastický gradient. In: *Bioimplantologie 2019*. 1. Brno, 2019, s. 53-54. ISBN 978-80-7392-307-5.
- [216] DEGHANGHADIKOLAEI, A. a B. FOTOVVATI. Coating Techniques for Functional Enhancement of Metal Implants for Bone Replacement: A Review. *Materials* [online]. 2019, **12**(11), 1795 [cit. 2021-05-30]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma12111795
- [217] HALL BARRIENTOS, I., E. PALADINO, P. SZABÓ et al. Electrospun collagen-based nanofibres: A sustainable material for improved antibiotic utilisation in tissue engineering applications. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2017, **531**(1), 67-79 [cit. 2021-05-30]. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2017.08.071
- [218] SEDLÁČEK, R., T. SUCHÝ, M. ŠUPOVÁ, Z. SUCHARDA, J. KUŽMA a L. HORNÝ. The Evaluation of Adhesion between Electrospun Collagen Layers and Different Titanium Substrates. *Engineering of Biomaterials*. 2016, **19**(138), 16-18. ISSN 1429-7248.
- [219] CALORI, G., E. MAZZA, M. COLOMBO a C. RIPAMONTI. The use of bone-graft substitutes in large bone defects: Any specific needs?. *Injury* [online]. 2011, **42**, 56-63 [cit. 2021-07-30]. ISSN 00201383. Dostupné z: doi:10.1016/j.injury.2011.06.011
- [220] BÖKER, K., K. RICHTER, K. JÄCKLE et al. Current State of Bone Adhesives—Necessities and Hurdles. *Materials* [online]. 2019, **12**(23) [cit. 2021-07-30]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma12233975

- [221] ROEMHILDT, M., T. MCGEE a S. WAGNER. Novel calcium phosphate composite bone cement: Strength and bonding properties. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* [online]. 2003, **14**(2), 137-141 [cit. 2021-07-30]. ISSN 09574530. Dostupné z: doi:10.1023/A:1022067729008
- [222] HRUŠKOVÁ, B., R. SEDLÁČEK a T. SUCHÝ. Evaluation of Adhesion of Injectable Porous Bone Cement to Bone. In: *Applied Mechanics 2021*. Liberec: Technical University Liberec, 2021, s. 23-31. ISBN 978-80-270-9946-7.
- [223] CAMASSOLA, M., L. MACEDO BRAGA a P. CHAGASTELLES. Methodology, Biology and Clinical Applications of Human Mesenchymal Stem Cells. In: *Methods in Molecular Biology*. 1. Humana Press, Totowa, NJ, 2012, s. 491-504. ISBN 978-1-61779-814-6.
- [224] CHENG, Y., D. RAMOS, P. LEE, D. LIANG, X. YU a S. KUMBAR. Collagen Functionalized Bioactive Nanofiber Matrices for Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells: Bone Tissue Engineering. *Journal of Biomedical Nanotechnology* [online]. 2014, **10**(2), 287-298 [cit. 2021-08-01]. ISSN 1550-7033. Dostupné z: doi:10.1166/jbn.2014.1753
- [225] KASTEN, P., I. BEYEN, P. NIEMEYER, R. LUGINBÜHL, M. BOHNER a W. RICHTER. Porosity and pore size of β -tricalcium phosphate scaffold can influence protein production and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells: An in vitro and in vivo study. *Acta Biomaterialia* [online]. 2008, **4**(6), 1904-1915 [cit. 2021-08-01]. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2008.05.017
- [226] SAUEROVA, P., T. SUCHY, M. SUPOVA et al. Positive impact of dynamic seeding of mesenchymal stem cells on bone-like biodegradable scaffolds with increased content of calcium phosphate nanoparticles. *Molecular Biology Reports*. 2019, **46**(4), 4483-4500. ISSN 0301-4851. Dostupné z: doi:10.1007/s11033-019-04903-7
- [227] KOKUBO, T. a H. TAKADAMA. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. *Biomaterials* [online]. 2006, **27**(15), 2907-2915 [cit. 2021-08-07]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2006.01.017
- [228] TANG, Y., C. WU, P. ZHANG, K. ZHAO a Z. WU. Degradation behaviour of non-sintered graphene/barium titanate/magnesium phosphate cement bio-piezoelectric composites. *Ceramics International* [online]. 2020, **46**(8), 12626-12636 [cit. 2021-08-07]. ISSN 02728842. Dostupné z: doi:10.1016/j.ceramint.2020.02.028
- [229] SHI, K., Q. MA, T. SU a Z. WANG. Preparation of porous materials by selective enzymatic degradation: effect of in vitro degradation and in vivo compatibility. *Scientific Reports* [online]. 2020, **10**(1) [cit. 2021-08-07]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-020-63892-x
- [230] YILMAZ, B., A. PAZARCEVIREN, A. TEZCANER a Z. EVIS. Historical development of simulated body fluids used in biomedical applications: A review. *Microchemical Journal* [online]. 2020, **155** [cit. 2021-08-07]. ISSN 0026265X. Dostupné z: doi:10.1016/j.microc.2020.104713

- [231] ŠUPOVÁ, M., T. SUCHÝ, Z. SUCHARDA, E. FILOVÁ, J. KINDEREN, M. STEINEROVÁ, L. BAČÁKOVÁ a G. MARTYNKOVÁ. The comprehensive in vitro evaluation of eight different calcium phosphates: Significant parameters for cell behavior. *Journal of the American Ceramic Society* [online]. 2019, **102**(5), 2882-2904 [cit. 2021-08-07]. ISSN 0002-7820. Dostupné z: doi:10.1111/jace.16110
- [232] RAJAEI, S., H. BAE, L. KANIM a R. DELAMARTER. Spinal Fusion in the United States. *Spine* [online]. 2012, **37**(1), 67-76 [cit. 2021-07-17]. ISSN 0362-2436. Dostupné z: doi:10.1097/BRS.0b013e31820cccfb
- [233] CHUN, D., K. BAKER a W. HSU. Lumbar pseudarthrosis: A review of current diagnosis and treatment. *Neurosurgical Focus* [online]. 2015, **39**(4) [cit. 2021-07-17]. ISSN 1092-0684. Dostupné z: doi:10.3171/2015.7.FOCUS15292
- [234] QU, H., H. FU, Z. HAN a Y. SUN. Biomaterials for bone tissue engineering scaffolds: A review. *RSC Advances* [online]. 2019, **9**(45), 26252-26262 [cit. 2021-07-17]. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/C9RA05214C
- [235] SEDLÁČEK, R., L. VIŠTEJNOVÁ, T. SUCHÝ et al. The Analysis of Flexural Stiffness of Spine after Intervertebral Fusion. In: *Biomateriály a jejich povrchy XIII*. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2020, s. 26-27. ISBN 978-80-01-06754-3.
- [236] KRTIČKA, M., V. NEKUDA, D. IRA et al. Microcomputed tomographic, biomechanical and histological analyses of lumbar interbody fusion with iliac crest bone graft in a pig model. *Acta Veterinaria Brno* [online]. 2021, **90**(1), 69-75 [cit. 2021-07-11]. ISSN 0001-7213. Dostupné z: doi:10.2754/avb202190010069
- [237] OTÁHAL, Stanislav, ed. *Interdisciplinární výzkum řešení problematiky páteřních náhrad*. První. Praha: České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Laboratoř biomechaniky člověka, 2010. Edice monografií České společnosti pro biomechaniku. ISBN 978-80-01-04494-0.
- [238] ŠRÁMEK, J., R. BERTAGNOLI a Z. ČEJKA. Bilateral L3 Spondylolysis. A Case Report and an Overview of Spondylolytic Defect Repair Techniques. *ACTA CHIRURGIAE ORTHOPAEDICAE ET TRAUMATOLOGIAE CECOSLOVACA*. 2012, **79**(6), 549-551. ISSN 0001-5415.
- [239] BRIGGS, H. a P. MILLIGAN. Chip fusion of the low back following exploration of the spinal canal. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 1944, **26**(1), 125-130.
- [240] ŠRÁMEK, J., V. JIRSÁK, M. BARNA a P. NESNÍDAL. Development of the PLIF and TLIF Techniques. *Česká a Slovenská Neurologie a Neurochirurgie*. 2010, **73**(5), 492-496. ISSN 18024041.
- [241] VOHÁŇKA, S. a B. MIČÁNKOVÁ ADAMOVÁ. Lumbar spinal stenosis and neurogenic claudication. *Česká a Slovenská Neurologie a Neurochirurgie*. 2009, **72**(5), 405-417. ISSN 18024041.
- [242] *Loading of Orthopaedic Implants* [online]. Berlin: Julius Wolff Institute, 2010 [cit. 2020-08-13]. Dostupné z: <https://orthoload.com/>

- [243] SEDLÁČEK, R. *Mechanické zkoušky prototypů páteřních implantátů TLIF A PLIF*. Praha, 2009. Výzkumná zpráva 12105/09/02.
- [244] *ISO 18192-1(E) Implants for surgery — Wear of total intervertebral spinal disc prostheses — Part 1: Loading and displacement parameters for wear testing and corresponding environmental conditions for test*. 1st ed. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2011.
- [245] NARAYAN, P., R. HAID, B. SUBACH, Ch. COMEY a G. RODTS. Effect of spinal disease on successful arthrodesis in lumbar pedicle screw fixation. *Journal of Neurosurgery: Spine* [online]. 2002, **97**(3), 277-280 [cit. 2021-08-20]. ISSN 1547-5654. Dostupné z: doi:10.3171/spi.2002.97.3.0277
- [246] SCHLEICHER, P., P. BETH, A. OTTENBACHER, R. PFLUGMACHER, M. SCHOLZ, K. SCHNAKE, N. HAAS a F. KANDZIORA. Biomechanical evaluation of different asymmetrical posterior stabilization methods for minimally invasive transforaminal lumbar interbody fusion. *Journal of Neurosurgery: Spine* [online]. 2008, **9**(4), 363-371 [cit. 2021-08-20]. ISSN 1547-5654. Dostupné z: doi:10.3171/SPI.2008.9.10.363
- [247] HEO, D., J. JANG, D. LEE a Ch. PARK. Is it sufficient to treat adult lumbar spinal deformity using anterior lumbar interbody fusion with percutaneous pedicle screw fixation?. *Journal of Clinical Neuroscience* [online]. 2020, **81**, 210-219 [cit. 2021-08-20]. ISSN 09675868. Dostupné z: doi:10.1016/j.jocn.2020.09.047
- [248] LIU, F., Z. FENG, T. LIU, Q. FEI, Ch. JIANG, Y. LI, X. JIANG a J. DONG. A biomechanical comparison of 3 different posterior fixation techniques for 2-level lumbar spinal disorders. *Journal of Neurosurgery: Spine* [online]. 2016, **24**(3), 375-380 [cit. 2021-08-20]. ISSN 1547-5654. Dostupné z: doi:10.3171/2015.7.SPINE1534
- [249] BODIC, F., L. HAMEL, E. LEROUXEL, M. BASLÉ a D. CHAPPARD. Bone loss and teeth. *Joint Bone Spine* [online]. 2005, **72**(3), 215-221 [cit. 2021-08-12]. ISSN 1297319X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jbspin.2004.03.007
- [250] BICUDO, P., J. REIS, A. DEUS, L. REIS a M. VAZ. Mechanical behaviour of dental implants. *Procedia Structural Integrity* [online]. 2016, **1**, 26-33 [cit. 2021-08-12]. ISSN 24523216. Dostupné z: doi:10.1016/j.prostr.2016.02.005
- [251] GHERDE, Ch., P. DHATRAK, S. NIMBALKAR a S. JOSHI. A comprehensive review of factors affecting fatigue life of dental implants. *Materials Today: Proceedings* [online]. 2021, **43**, 1117-1123 [cit. 2021-08-12]. ISSN 22147853. Dostupné z: doi:10.1016/j.matpr.2020.08.414
- [252] BAYATA, F. a C. YILDIZ. The Mechanical Behaviors of Various Dental Implant Materials under Fatigue. *Advances in Materials Science and Engineering* [online]. 2018, **2018**, 1-10 [cit. 2021-08-12]. ISSN 1687-8434. Dostupné z: doi:10.1155/2018/5047319
- [253] TAMIM, H., H. SKJERVEN, A. EKVELDT a H. RØNOLD. Clinical Evaluation of CAD/CAM Metal-Ceramic Posterior Crowns Fabricated from Intraoral Digital Impressions. *The International Journal of Prosthodontics* [online]. 2014, **27**(4), 331-337 [cit. 2021-08-14]. ISSN 08932174. Dostupné z: doi:10.11607/ijp.3607

- [254] ROCCA, G., F. BONNAFOUS, N. RIZCALLA a I. KREJCI. A technique to improve the esthetic aspects of CAD/CAM composite resin restorations. *The Journal of Prosthetic Dentistry* [online]. 2010, **104**(4), 273-275 [cit. 2021-08-14]. ISSN 00223913. Dostupné z: doi:10.1016/S0022-3913(10)60138-2
- [255] MAGNE, P., A. CARVALHO, G. BRUZI, R. ANDERSON, H. MAIA a M. GIANNINI. Influence of No-Ferrule and No-Post Buildup Design on the Fatigue Resistance of Endodontically Treated Molars Restored With Resin Nanoceramic CAD/CAM Crowns. *Operative Dentistry* [online]. 2014, **39**(6), 595-602 [cit. 2021-08-14]. ISSN 1559-2863. Dostupné z: doi:10.2341/13-004-L
- [256] MAGNE, P., L. SCHLICHTING, H. MAIA a L. BARATIERI. In vitro fatigue resistance of CAD/CAM composite resin and ceramic posterior occlusal veneers. *The Journal of Prosthetic Dentistry* [online]. 2010, **104**(3), 149-157 [cit. 2021-08-14]. ISSN 00223913. Dostupné z: doi:10.1016/S0022-3913(10)60111-4
- [257] RUSE, N. a M. SADOON. Resin-composite Blocks for Dental CAD/CAM Applications. *Journal of Dental Research* [online]. 2014, **93**(12), 1232-1234 [cit. 2021-08-14]. ISSN 0022-0345. Dostupné z: doi:10.1177/0022034514553976
- [258] DOLINSKI, K. Fatigue reliability assessment of cemented hip prosthesis. *Theor Appl Mech.* 1999, **3**, 505-518.
- [259] COLOMBI, P. Fatigue analysis of cemented hip prosthesis: damage accumulation scenario and sensitivity analysis. *International Journal of Fatigue* [online]. 2002, **24**(7), 739-746 [cit. 2021-08-14]. ISSN 01421123. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-1123(01)00204-3
- [260] LENNON, A., B. MCCORMACK a P. PRENDERGAST. The relationship between cement fatigue damage and implant surface finish in proximal femoral prostheses. *Medical Engineering & Physics* [online]. 2003, **25**(10), 833-841 [cit. 2021-08-14]. ISSN 13504533. Dostupné z: doi:10.1016/S1350-4533(03)00120-6
- [261] SEDLÁČEK, R., P. RŮŽIČKA a T. BOUDA. *Test životnosti kyčelního dřívku úplné náhrady kyčelního kloubu MEDIN*. 1. vyd. Praha: ČVUT v Praze, 2007. Výzkumná zpráva 12105/07/15.
- [262] ČSN EN 10088-3 *Korozivzdorné oceli - Část 3: Technické dodací podmínky pro polotovary, tyče, válcované dráty, profily a lesklé výrobky z ocelí odolných korozi pro obecné použití*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2015.
- [263] ČSN EN ISO 5832-1 *Chirurgické implantáty - Kovové materiály - Část 1: Tvářená korozivzdorná ocel*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2020.
- [264] ČSN EN ISO 5832-3 *Chirurgické implantáty - Kovové materiály - Část 3: Slitina titanu, hliníku 6 a vanadu 4 pro tvářeni*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2022.

- [265] ISO 5834-2(E) *Implants for surgery — Ultra-high-molecular-weight polyethylene — Part 2: Moulded forms*. 1. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2019.
- [266] ISO 6474-1(E) *Implants for surgery — Ceramic materials — Part 1: Ceramic materials based on high purity alumina*. 1. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2019.
- [267] JONES, C. a P. LACHIEWICZ. Factors Influencing the Longer-Term Survival of Uncemented Acetabular Components Used in Total Hip Revisions. *The Journal of Bone & Joint Surgery* [online]. 2004, **86**(2), 342-347 [cit. 2021-08-15]. ISSN 0021-9355. Dostupné z: doi:10.2106/00004623-200402000-00018
- [268] RETPEN, J. a S. SOLGAARD. Late disassembly of modular acetabular components: A report of two cases. *Acta Orthopaedica Scandinavica* [online]. 2009, **64**(2), 193-195 [cit. 2021-08-15]. ISSN 0001-6470. Dostupné z: doi:10.3109/17453679308994569
- [269] PARK, D., C. DELLA VALLE, L. QUIGLEY, M. MORIC, A. ROSENBERG a J. GALANTE. Revision of the Acetabular Component without Cement. *The Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume* [online]. 2009, **91**(2), 350-355 [cit. 2021-08-15]. ISSN 0021-9355. Dostupné z: doi:10.2106/JBJS.H.00302
- [270] ASTM F1820-13 *Standard Test Method for Determining the Forces for Disassembly of Modular Acetabular Devices*. 1. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2013.
- [271] DAGUM, P., T. TIMEK, G. GREEN a G. DAUGHTERS. Three-dimensional geometric comparison of partial and complete flexible mitral annuloplasty rings. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* [online]. 2001, **122**(4), 665-673 [cit. 2021-08-11]. ISSN 00225223. Dostupné z: doi:10.1067/mtc.2001.116313
- [272] SEKI, T., K. JIMURO, Y. SHINGU, S. WAKASA a H. KATOH. Mechanical properties of a new thermally deformable mitral valve annuloplasty ring and its effects on the mitral valve. *Journal of Artificial Organs* [online]. 2019, **22**(2), 126-133 [cit. 2021-08-11]. ISSN 1434-7229. Dostupné z: doi:10.1007/s10047-018-1084-8
- [273] HAVLÍK, P., P. PISTECKÝ, H. STASSEN a R. SEDLÁČEK. Mechanical Properties of Mitral Annuloplasty Rings. In: *Proceedings of the Dutch Annual Conference on Biomedical Engineering*. Papendal, The Netherlands, 2002, s. 44-45.
- [274] SEDLÁČEK, R. a P. HAVLÍK. *Experimentální stanovení mechanických vlastností mitrálních anuloplastických implantátů*. Praha, 2002, 14 s. Výzkumná zpráva 2051/02/41.
- [275] KLAUE, K. Conventional plate osteosynthesis. *Orthopade* [online]. 2010, **39**(2), 139-148 [cit. 2021-09-11]. ISSN 0085-4530. Dostupné z: doi:10.1007/s00132-009-1519-2
- [276] HUDSON, C., D. LEWIS a A. POZZI. Minimally Invasive Plate Osteosynthesis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* [online]. 2020, **50**(1),

- 135-153 [cit. 2021-09-11]. ISSN 01955616. Dostupné z: doi:10.1016/j.cvsm.2019.08.006
- [277] KORNER, J., G. DIEDERICHS, M. ARZDORF, H. LILL, Ch. JOSTEN, E. SCHNEIDER a B. LINKE. A Biomechanical Evaluation of Methods of Distal Humerus Fracture Fixation Using Locking Compression Plates Versus Conventional Reconstruction Plates. *Journal of Orthopaedic Trauma* [online]. 2004, **18**(5), 286-293 [cit. 2021-09-04]. ISSN 0890-5339. Dostupné z: doi:10.1097/00005131-200405000-00004
- [278] MORLOCK, M., E. SCHNEIDER, A. BLUHM, M. VOLLMER, G. BERGMANN, V. MÜLLER a M. HONL. Duration and frequency of every day activities in total hip patients. *Journal of Biomechanics* [online]. 2001, **34**(7), 873-881 [cit. 2021-09-04]. ISSN 00219290. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9290(01)00035-5
- [279] BERGMANN, G., G. DEURETZBACHER, M. HELLER, F. GRAICHEN, A. ROHLMANN, J. STRAUSS a G. DUDA. Hip contact forces and gait patterns from routine activities. *Journal of Biomechanics* [online]. 2001, **34**(7), 859-871 [cit. 2021-09-04]. ISSN 00219290. Dostupné z: doi:10.1016/S0021-9290(01)00040-9
- [280] SASIMONTONKUL, S., B. BAY a M. PAVOL. Bone contact forces on the distal tibia during the stance phase of running. *Journal of Biomechanics* [online]. 2007, **40**(15), 3503-3509 [cit. 2021-09-04]. ISSN 00219290. Dostupné z: doi:10.1016/j.jbiomech.2007.05.024
- [281] HALVORSON, T., L. KELLEY, K. THOMAS, T. WHITECLOUD a S. COOK. Effects of Bone Mineral Density on Pedicle Screw Fixation. *Spine* [online]. 1994, **19**(21), 2415-2420 [cit. 2021-09-05]. ISSN 0362-2436. Dostupné z: doi:10.1097/00007632-199411000-00008
- [282] KWOK, A., J. FINKELSTEIN, T. WOODSIDE, T. HEARN a R. HU. Insertional Torque and Pull-out Strengths of Conical and Cylindrical Pedicle Screws in Cadaveric Bone. *Spine* [online]. 2000, **25**(), 19-24 [cit. 2021-09-05]. ISSN 0362-2436. Dostupné z: doi:10.1097/00007632-200003151-00003
- [283] SHAH, K., G. WALKER, S. KORUPROLU a A. DANIELS. Biomechanical comparison between titanium and cobalt chromium rods used in a pedicle subtraction osteotomy model. *Orthopedic Reviews* [online]. 2018, **10**(1) [cit. 2021-09-05]. ISSN 2035-8164. Dostupné z: doi:10.4081/or.2018.7541
- [284] KIM, D., J. KIM, K. JANG a K. LEE. A new concept for implant fixation: bone-to-bone biologic fixation. *European Cells and Materials* [online]. 2015, **29**, 281-289 [cit. 2021-09-04]. Dostupné z: doi:10.22203/eCM.v029a21
- [285] PADOVEC, Z., P. RŮŽIČKA, R. SEDLÁČEK a M. RŮŽIČKA. Design, analysis and testing of an external fracture fixation device manufactured from composite materials. *Applied and Computational Mechanics* [online]. 2017, **11**(2), 145-154 [cit. 2020-05-05]. ISSN 1802680X. Dostupné z: doi:10.24132/acm.2017.398
- [286] SCHLIEMANN, B., R. SEIFERT, Ch. THEISEN, D. GEHWEILER, D. WÄHNERT, M. SCHULZE, M. RASCHKE a A. WEIMANN. PEEK versus titanium locking plates for proximal humerus fracture fixation: a comparative biomechanical study in two- and

- three-part fractures. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery* [online]. 2017, **137**(1), 63-71 [cit. 2021-09-05]. ISSN 0936-8051. Dostupné z: doi:10.1007/s00402-016-2620-8
- [287] ASTM F1541-02(2015) - *Standard Specification and Test Methods for External Skeletal Fixation Devices*. 1. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2015.
- [288] POLESE, J., L. TEIXEIRA-SALMELA, L. NASCIMENTO, Ch. FARIA, R. KIRKWOOD, G. LAURENTINO a L. ADA. The effects of walking sticks on gait kinematics and kinetics with chronic stroke survivors. *Clinical Biomechanics* [online]. 2012, **27**(2), 131-137 [cit. 2022-10-08]. ISSN 02680033. Dostupné z: doi:10.1016/j.clinbiomech.2011.08.003
- [289] ZHANG, Y., G. LIU, S. XIE a A. LIGER. Biomechanical Evaluation of an Innovative Spring-Loaded Axillary Crutch Design. *Assistive Technology* [online]. 2011, **23**(4), 225-231 [cit. 2022-10-08]. ISSN 1040-0435. Dostupné z: doi:10.1080/10400435.2011.614676
- [290] SEELEY, M., I. HUNTER, T. BATEMAN, A. ROGGIA, B. LARSON a D. DRAPER. A Kinematic Comparison of Spring-Loaded and Traditional Crutches. *Journal of Sport Rehabilitation* [online]. 2011, **20**(2), 198-206 [cit. 2022-10-08]. ISSN 1056-6716. Dostupné z: doi:10.1123/jsr.20.2.198
- [291] ČSN EN 1985 *Pomůcky pro chůzi - Všeobecné požadavky a metody zkoušení*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2000.
- [292] ČSN EN ISO 11334-1 *Pomůcky pro chůzi ovládané jednou rukou – Požadavky a zkušební metody - Část 1: Předloketní berle*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2007.
- [293] ČSN EN ISO 11334-4 *Pomůcky pro chůzi ovládané jednou rukou - Požadavky a metody zkoušení - Část 4: Hole s třemi nebo více opěrami*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2000.
- [294] HORÁK, Z., T. BOUDA, R. SEDLÁČEK a M. VILÍMEK. *Experimentální testování prototypů inovované hole - zpráva k řešení projektu FR-T13/062*. 1. vyd. Praha: ČVUT v Praze, 2012. Výzkumná zpráva 12105/12/14.
- [295] SHERIF, S., S. HASAN, G. ARNOLD, R. ABBOUD a W. WANG. Analysis of hand pressure in different crutch lengths and upper-limb movements during crutched walking. *International Journal of Industrial Ergonomics* [online]. 2016, **53**, 59-66 [cit. 2021-09-12]. ISSN 01698141. Dostupné z: doi:10.1016/j.ergon.2015.10.010
- [296] ESPOSITO, F., M. FREDDOLINI, M. MARCUCCI, L. LATELLA a A. CORVI. Unassisted quiet standing and walking after crutch usage in patients with total hip replacements: Does crutch length matter?. *Gait & Posture* [online]. 2018, **64**, 95-100 [cit. 2021-09-12]. ISSN 09666362. Dostupné z: doi:10.1016/j.gaitpost.2018.06.004
- [297] DŁUGOSZ, M., P. WODARSKI, A. BIENIEK, M. CHRZAN, M. GZIK, K. JOSZKO a J. DEREJCZYK. Determination of the number and frequency of the steps for gait with

- elbow crutches based on a crutch acceleration. *Innovations in Biomedical Engineering* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2018, 245-253 [cit. 2021-09-12]. Advances in Intelligent Systems and Computing. ISBN 978-3-319-70062-5. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-70063-2_26
- [298] SEDLÁČEK, R. *Stanovení metodiky a testování předloketní berle ERILENS FD 93*. 1. vyd. Praha: ČVUT v Praze, 2009. Výzkumná zpráva 12105/12/14.
- [299] GUTSFELD, P., S. SIMMEL, E. BENNING, A. BRAND a P. AUGAT. Orthotic devices in trauma surgery. *Trauma und Berufskrankheit* [online]. 2016, **18**(2), 116-124 [cit. 2021-09-12]. ISSN 1436-6274. Dostupné z: doi:10.1007/s10039-016-0164-3
- [300] DESSERTY, Y., E. BELZILE, S. TURMEL a P. CORBEIL. Comparison of three knee braces in the treatment of medial knee osteoarthritis. *The Knee* [online]. 2014, **21**(6), 1107-1114 [cit. 2021-09-12]. ISSN 09680160. Dostupné z: doi:10.1016/j.knee.2014.07.024
- [301] KOLÁŘ, P. *Rehabilitace v klinické praxi*. 1. vyd. Praha: Galen, 2009. ISBN 9788072626571.
- [302] HORÁK, Z., R. SEDLÁČEK, T. BOUDA, M. VILÍMEK a J. VONDROVÁ. *Experimentální testování prototypu kolenní ortézy - závěrečná zpráva k řešení projektu FR-TI1/463*. 1. vyd. Praha: ČVUT v Praze, 2012. Výzkumná zpráva 12105/12/14.
- [303] MAUREL, D., N. BOISSEAU, C. BENHAMOU a C. JAFFRE. Alcohol and bone: review of dose effects and mechanisms. *Osteoporosis International* [online]. 2012, **23**(1), 1-16 [cit. 2022-11-13]. ISSN 0937-941X. Dostupné z: doi:10.1007/s00198-011-1787-7
- [304] KIM, K., C. LEE, S. PARK, B. CHO, Y. CHANG, S. PARK a K. LEE. Secondhand smoke exposure and osteoporosis in never-smoking postmenopausal women: the Fourth Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *Osteoporosis International* [online]. 2013, **24**(2), 523-532 [cit. 2022-11-13]. ISSN 0937-941X. Dostupné z: doi:10.1007/s00198-012-1987-9
- [305] SAVARIDAS, T., R. WALLACE, S. DAWSON a A. SIMPSON. Effect of ibandronate on bending strength and toughness of rodent cortical bone. *Bone & Joint Research* [online]. 2015, **4**(6), 99-104 [cit. 2022-11-13]. ISSN 2046-3758. Dostupné z: doi:10.1302/2046-3758.46.2000311
- [306] OLÍMPIO, R., F. MORETTO, M. DE SIBIO et al. The importance of estrogen for bone protection in experimental hyperthyroidism in human osteoblasts. *Life Sciences* [online]. 2019, **231**, 1-7 [cit. 2022-11-13]. ISSN 00243205. Dostupné z: doi:10.1016/j.lfs.2019.116556
- [307] DIFFER, Ch., F. KLATTE-SCHULZ, N. BORMANN, S. MINKWITZ, P. KNAUS a B. WILDEMANN. Is NO the Answer? The Nitric Oxide Pathway Can Support Bone Morphogenetic Protein 2 Mediated Signaling. *Cells* [online]. 2019, **8**(10), 1-21 [cit. 2022-11-13]. ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells8101273

- [308] MA, W., X. ZHANG, S. SHI a Y. ZHANG. Neuropeptides stimulate human osteoblast activity and promote gap junctional intercellular communication. *Neuropeptides* [online]. 2013, **47**(3), 179-186 [cit. 2022-11-13]. ISSN 01434179. Dostupné z: doi:10.1016/j.npep.2012.12.002
- [309] ROHLMANN, A., R. KÖLBEL a G. BERGMANN. Critical observations and the loads on femoral head replacement and the femoral bone calculated for a support in 3 points. *Zeitschrift für Orthopädie und Ihre Grenzgebiete*. 1977, **115**(1), 89-95. Dostupné z: doi:https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/842094
- [310] DESHMUKH, V., T. SEO, A. O'GREEN et al. SM04755, a small-molecule inhibitor of the Wnt pathway, as a potential topical treatment for tendinopathy. *Journal of Orthopaedic Research* [online]. 2021, **39**(9), 2048-2061 [cit. 2022-11-13]. ISSN 0736-0266. Dostupné z: doi:10.1002/jor.24898
- [311] VERONESI, F., F. SALAMANNA, M. TSCHON, M. MAGLIO, N. NICOLI ALDINI a M. FINI. Mesenchymal stem cells for tendon healing: what is on the horizon?. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* [online]. 2017, **11**(11), 3202-3219 [cit. 2022-11-13]. ISSN 19326254. Dostupné z: doi:10.1002/term.2209
- [312] GIANNINI, S., R. BUDA, F. VANNINI, F. DI CAPRIO a B. GRIGOLO. Arthroscopic Autologous Chondrocyte Implantation in Osteochondral Lesions of the Talus. *The American Journal of Sports Medicine* [online]. 2008, **36**(5), 873-880 [cit. 2022-11-13]. ISSN 0363-5465. Dostupné z: doi:10.1177/0363546507312644
- [313] SILVA, M., S. BRANDÃO, M. PARENTE, T. MASCARENHAS a R. NATAL JORGE. Establishing the biomechanical properties of the pelvic soft tissues through an inverse finite element analysis using magnetic resonance imaging. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* [online]. 2016, **230**(4), 298-309 [cit. 2022-11-13]. ISSN 0954-4119. Dostupné z: doi:10.1177/0954411916630571
- [314] ZARRINCHANG, P., M. ASHRAFIZAADEH a N. JAMSHIDI. Simulation of the female pelvic mobility and vesical pressure changes employing fluid-structure interaction method. *International Urogynecology Journal* [online]. 2022, 1-10 [cit. 2022-11-13]. ISSN 0937-3462. Dostupné z: doi:10.1007/s00192-022-05362-8
- [315] SHAO, L., Y. DU, K. DAI, H. WU, Q. WANG, J. LIU, Y. TANG a L. WANG. β -Ti Alloys for Orthopedic and Dental Applications: A Review of Progress on Improvement of Properties through Surface Modification. *Coatings* [online]. 2021, **11**(12), 1-19 [cit. 2022-11-13]. ISSN 2079-6412. Dostupné z: doi:10.3390/coatings11121446
- [316] MOHSIN, T., A. ZAHID a N. ARSHAD. Beta Titanium Alloys: The Lowest Elastic Modulus for Biomedical Applications: A Review. *International Journal of Chemical, Nuclear, Metallurgical and Materials Engineering*. 2014, **8**(8), 726-731. Dostupné z: doi:doi.org/10.5281/zenodo.1094481
- [317] NIINOMI, M. Fatigue performance and cyto-toxicity of low rigidity titanium alloy, Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr. *Biomaterials* [online]. 2003, **24**(16), 2673-2683 [cit. 2022-11-13]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-9612(03)00069-3

- [318] YANG, Y. Deposition of highly adhesive ZrO₂ coating on Ti and CoCrMo implant materials using plasma spraying. *Biomaterials* [online]. 2003, **24**(4), 619-627 [cit. 2022-11-13]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-9612(02)00376-9
- [319] WANG, Ch., D. XU, L. LIN et al. Large-pore-size Ti6Al4V scaffolds with different pore structures for vascularized bone regeneration. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2021, **131** [cit. 2022-11-13]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2021.112499
- [320] ALIPOUR, S., S. NOUR, S. ATTARI et al. A review on in vitro / in vivo response of additively manufactured Ti-6Al-4V alloy. *Journal of Materials Chemistry B* [online]. 2022 [cit. 2022-11-13]. ISSN 2050-750X. Dostupné z: doi:10.1039/D2TB01616H
- [321] BAGHERI, Z., I. EL SAWI, E. SCHEMITSCH, R. ZDERO a H. BOUGHERARA. Biomechanical properties of an advanced new carbon/flax/epoxy composite material for bone plate applications. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* [online]. 2013, **20**, 398-406 [cit. 2022-11-13]. ISSN 17516161. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmbbm.2012.12.013
- [322] GRABOW, N., M. SCHLUN, K. STERNBERG, N. HAKANSSON, S. KRAMER a K. SCHMITZ. Mechanical Properties of Laser Cut Poly(L-Lactide) Micro-Specimens: Implications for Stent Design, Manufacture, and Sterilization. *Journal of Biomechanical Engineering* [online]. 2005, **127**(1), 25-31 [cit. 2022-11-13]. ISSN 0148-0731. Dostupné z: doi:10.1115/1.1835349
- [323] LIN, K., D. ZHANG, M. MACEDO, W. CUI, B. SARMENTO a G. SHEN. Advanced Collagen-Based Biomaterials for Regenerative Biomedicine. *Advanced Functional Materials* [online]. 2019, **29**(3) [cit. 2022-12-04]. ISSN 1616301X. Dostupné z: doi:10.1002/adfm.201804943
- [324] GEANALIU-NICOLAE, R. a E. ANDRONESCU. Blended Natural Support Materials—Collagen Based Hydrogels Used in Biomedicine. *Materials* [online]. 2020, **13**(24) [cit. 2022-12-04]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma13245641
- [325] KRISHNAKUMAR, G., S. SAMPATH, Sh. MUTHUSAMY a M. JOHN. Importance of crosslinking strategies in designing smart biomaterials for bone tissue engineering: A systematic review. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2019, **96**, 941-954 [cit. 2022-12-04]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2018.11.081
- [326] SCIALLA, S., F. GULLOTTA, D. IZZO, B. PALAZZO, F. SCALERA, I. MARTIN, A. SANNINO a F. GERVASO. Genipin-crosslinked collagen scaffolds inducing chondrogenesis: a mechanical and biological characterization. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2022, **110**(7), 1372-1385 [cit. 2022-12-04]. ISSN 1549-3296. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.37379
- [327] HASHEMI, S., M. MEHRABI, A. EHTERAMI, A. GHARRAVI, F. BITARAF a M. SALEHI. In-vitro and in-vivo studies of PLA / PCL / gelatin composite scaffold containing ascorbic acid for bone regeneration. *Journal of Drug Delivery Science and*

- Technology* [online]. 2021, **61** [cit. 2022-12-04]. ISSN 17732247. Dostupné z: doi:10.1016/j.jddst.2020.102077
- [328] HOLKAR, K., V. KALE a G. INGAVLE. Hydrogel-Assisted 3D Model to Investigate the Osteoinductive Potential of MC3T3-Derived Extracellular Vesicles. *ACS Biomaterials Science & Engineering* [online]. 2021, **7**(6), 2687-2700 [cit. 2022-12-04]. ISSN 2373-9878. Dostupné z: doi:10.1021/acsbiomaterials.1c00386
- [329] ŠTIGLIC, A., F. GÜRER, F. LACKNER et al. Organic acid cross-linked 3D printed cellulose nanocomposite bioscaffolds with controlled porosity, mechanical strength, and biocompatibility. *iScience* [online]. 2022, **25**(5) [cit. 2022-12-04]. ISSN 25890042. Dostupné z: doi:10.1016/j.isci.2022.104263
- [330] VAN DER HEIDE, D., G. CIDONIO, M. STODDART a M. D'ESTE. 3D printing of inorganic-biopolymer composites for bone regeneration. *Biofabrication* [online]. 2022, **14**(4) [cit. 2022-12-04]. ISSN 1758-5082. Dostupné z: doi:10.1088/1758-5090/ac8cb2
- [331] DONG, D., H. SU, X. LI et al. Microstructures and mechanical properties of biphasic calcium phosphate bioceramics fabricated by SLA 3D printing. *Journal of Manufacturing Processes* [online]. 2022, **81**, 433-443 [cit. 2022-12-04]. ISSN 15266125. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmapro.2022.07.016
- [332] HENCH, L. a J. POLAK. Third-Generation Biomedical Materials. *Science* [online]. 2002, **295**(5557), 1014-1017 [cit. 2022-12-04]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1067404

13 Seznam vybraných publikací autora

Autor habilitační práce publikoval nebo je spoluautorem celkem 71 článků, které pojednávají o původních výsledcích výzkumu a experimentálních prací, k jejichž vzniku přispěl a realizaci experimentů včetně vyhodnocení dat se v Laboratoři mechanických zkoušek osobně účastnil. Z uvedeného počtu je 45 publikací evidováno ve Web of Science a 31 z nich bylo publikováno v impaktovaných časopisech. Autorovy publikace zaznamenaly celkem 451 citací včetně autocitací. Dále pak autor publikoval 176 statí ve sbornících tuzemských a zahraničních konferencí, napsal 3 kapitoly v knize, podílel se na vzniku 15 užitečných vzorů, 30 funkčních vzorků a 134 výzkumných zpráv. H-index autora je 11 dle Web of Science a 12 dle SCOPUS.

13.1 Vybrané publikace v impaktovaných časopisech

- 1) GOLDMANN, T., W. HUANG, S. RZEPA, J. DŽUGAN, R. **SEDLÁČEK** a M. DANIEL. Additive Manufacturing of Honeycomb Lattice Structure – From Theoretical Models to Polymer and Metal Products. *Materials*. 2022, 15(5). ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma15051838.
- 2) PADOVEC, Z., J. KŘENA, R. **SEDLÁČEK** a T. ZÁMEČNÍKOVÁ. Experimental and Numerical Analyses of Optimized Composite Profiles for Aircraft Construction. *Mechanics of Composite Materials*. 2022, 58(2), 283-292. ISSN 0191-5665. Dostupné z: doi:10.1007/s11029-022-10029-y.
- 3) SCHMIDOVÁ, N., J. MACKEN, A. HOROSCHENKOFF, R. **SEDLÁČEK**, T. KOSTROUN, J. ŠIMOTA a M. RŮŽIČKA. Impact Damage Detection of a Glass Fabric Composite Using Carbon Fiber Sensors with Regard to Mechanical Loading. *Applied Sciences*. 2022, 12(3). ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app12031112.
- 4) KRTIČKA, M., L. PLÁNKA, L. VOJTOVÁ, R. **SEDLÁČEK**, et al. Lumbar Interbody Fusion Conducted on a Porcine Model with a Bioresorbable Ceramic/Biopolymer Hybrid Implant Enriched with Hyperstable Fibroblast Growth Factor 2. *Biomedicines*. 2021, 9(7), 1-25. ISSN 2227-9059. Dostupné z: doi:10.3390/biomedicines9070733.
- 5) KRTIČKA, M., V. NEKUDA, D. IRA, R. **SEDLÁČEK**, et al. Microcomputed tomographic, biomechanical and histological analyses of lumbar interbody fusion with iliac crest bone graft in a pig model. *Acta Veterinaria Brno*. 2021, 90(1), 69-75. ISSN 0001-7213. Dostupné z: doi:10.2754/avb202190010069.
- 6) SUCHÝ, T., L. VIŠTEJNOVÁ, M. ŠUPOVÁ, R. **SEDLÁČEK**, et al. Vancomycin-Loaded Collagen/Hydroxyapatite Layers Electrospun on 3D Printed Titanium Implants Prevent Bone Destruction Associated with *S. epidermidis* Infection and Enhance Osseointegration. *Biomedicines*. 2021, 9(5), 531. ISSN 2227-9059. Dostupné z: doi:10.3390/biomedicines9050531.
- 7) SUCHÝ, T., M. BARTOŠ, R. **SEDLÁČEK**, M. ŠUPOVÁ, M. ŽALOUKOVÁ, G. MARTYNKOVÁ a R. FOLTÁN. Various Simulated Body Fluids Lead to Significant Differences in Collagen Tissue Engineering Scaffolds. *Materials*. 2021, 14(16). ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma14164388.

- 8) PEHLIVAN, E., J. DŽUGAN, J. FOJT, R. **SEDLÁČEK**, S. RZEPA a M. DANIEL. Post-Processing Treatment Impact on Mechanical Properties of SLM Deposited Ti-6Al-4 V Porous Structure for Biomedical Application. *Materials*. 2020, 13(22), 1-11. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma13225167.
- 9) POKORNÝ, M., T. SUCHÝ, A. KOTZIANOVA, R. **SEDLÁČEK**, et al. Surface Treatment of Acetabular Cups with a Direct Deposition of a Composite Nanostructured Layer Using a High Electrostatic Field. *Molecules*. 2020, 25(5). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25051173.
- 10) LUKÁŠOVÁ, V., M. BUZGO, K. VOCETKOVÁ, R. **SEDLÁČEK**, et al. Needleless electrospun and centrifugal spun poly-ε-caprolactone scaffolds as a carrier for platelets in tissue engineering applications: A comparative study with hMSCs. *Materials Science and Engineering: C*. 2019, 97, 567-575. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2018.12.069.
- 11) SAUEROVÁ, P., T. SUCHÝ, M. ŠUPOVÁ, R. **SEDLÁČEK**, et al. Positive impact of dynamic seeding of mesenchymal stem cells on bone-like biodegradable scaffolds with increased content of calcium phosphate nanoparticles. *Molecular Biology Reports*. 2019, 46(4), 4483-4500. ISSN 0301-4851. Dostupné z: doi:10.1007/s11033-019-04903-7.
- 12) ŠTASTNÝ, P., R. **SEDLÁČEK**, T. SUCHÝ, V. LUKÁŠOVÁ, M. RAMPICHOVÁ a M. TRUNEC. Structure degradation and strength changes of sintered calcium phosphate bone scaffolds with different phase structures during simulated biodegradation *in vitro*. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*. 2019, 100, 544-553. ISSN 0928-4931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2019.03.027.
- 13) VOJTOVÁ, L., L. MICHLOVSKÁ, K. VALOVÁ, R. **SEDLÁČEK**, et al. 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, 20(2). ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20020391.
- 14) SVOBODOVÁ, B., A. KLOUDOVÁ, J. RŮŽIČKA, R. **SEDLÁČEK**, et al. The effect of 808 nm and 905 nm wavelength light on recovery after spinal cord injury. *Scientific Reports*. 2019, 9(1). ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-019-44141-2.
- 15) SUCHÝ, T., M. ŠUPOVÁ, M. BARTOŠ, R. **SEDLÁČEK**, et al. Dry versus hydrated collagen scaffolds: are dry states representative of hydrated states? *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2018, 29(2). ISSN 0957-4530. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-017-6024-2.
- 16) ROCCA, G., R. DAHER, C.M. SARATTI, R. **SEDLÁČEK**, T. SUCHÝ, A.J. FEILZER a I. KREJČÍ. Restoration of severely damaged endodontically treated premolars: The influence of the endo-core length on marginal integrity and fatigue resistance of lithium disilicate CAD-CAM ceramic endocrowns. *Journal of Dentistry*. 2018, 68, 41-50. ISSN 03005712. Dostupné z: doi:10.1016/j.jdent.2017.10.011.
- 17) SRNEC, R., Z. HORÁK, R. **SEDLÁČEK**, M. SEDLINSKÁ, M. KRBEC a A. NEČAS. Comparison between the Range of Movement Canine Real Cervical Spine and Numerical Simulation - Computer Model Validation. *Acta Chirurgiae Orthopaedicae Et Traumatologiae Cechoslovaca*. Praha, 2017, 84(2), 133-137. ISSN 0001-5415.

- 18) PADOVEC, Z., M. RŮŽIČKA, R. **SEDLÁČEK**, M. KRÁL a P. RŮŽIČKA. Comparison of the Thermoelastic Properties of a Randomly Reinforced Composite Computed by the Classical Lamination Theory and by the Monte Carlo Simulation. *Mechanics of Composite Materials*. 2017, 53(2), 149-158. ISSN 0191-5665. Dostupné z: doi:10.1007/s11029-017-9649-9.
- 19) ROCCA, G., P. SEDLÁKOVÁ, C.M. SARATTI, R. **SEDLÁČEK**, L. GREGOR, N. RIZCALLA, A.J. FEILZER a I. KREJCI. Fatigue behavior of resin-modified monolithic CAD–CAM RNC crowns and endocrowns. *Dental Materials*. 2016, 32(12), e338-e350. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2016.09.024.
- 20) SUCHÝ, T., M. ŠUPOVÁ, P. SAUEROVÁ, R. **SEDLÁČEK**, et al. The effects of different cross-linking conditions on collagen-based nanocomposite scaffolds-an *in vitro* evaluation using mesenchymal stem cells. *Biomedical Materials*. 2015, 10(6). ISSN 1748-6041. Dostupné z: doi:10.1088/1748-6041/10/6/065008.
- 21) MACHOVÁ URZIKOVÁ, L., R. **SEDLÁČEK**, T. SUCHÝ, et al. Human multipotent mesenchymal stem cells improve healing after collagenase tendon injury in the rat. *Biomedical Engineering Online*. 2014, 13, 15. ISSN 1475-925X. Dostupné z: doi:10.1186/1475-925x-13-42
- 22) **SEDLÁČEK**, R., T. SUCHÝ, J. ŠEPITKA, J. LUKEŠ, M. SOCHOR, K. BALÍK, Z. SUCHARDA a J. BENEŠ. Nanowear Testing of Composite Materials. *Chemické Listy*. 2012, 106, S519-S520. ISSN 0009-2770. Dostupné také z: Go to ISI://WOS:000314237900051.
- 23) SUCHÝ, T., K. BALÍK, Z. SUCHARDA, M. SOCHOR, M. LAPČÍKOVÁ a R. **SEDLÁČEK**. Optimizing and evaluating the biocompatibility of fiber composites with calcium phosphate additives. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2011, 161(19-20), 493-502. ISSN 0043-5341. Dostupné z: doi:10.1007/s10354-011-0913-7.
- 24) SUCHÝ, T., K. BALÍK, R. **SEDLÁČEK**, Z. SUCHARDA, M. SOCHOR, J. PROKOP, J. BENEŠ a J. KŘENA. Radiolucent Composites Providing High Resistance against Sterilization Decomposition. *Ceramics-Silikaty*. 2011, 55(4), 401-409. ISSN 0862-5468. Dostupné také z: Go to ISI://WOS:000302337300015.
- 25) BROULÍK, P. D., R. **SEDLÁČEK**, P. RŮŽIČKA, R. VONDROVÁ a T. ZIMA. The Effect of Chronic Alcohol Administration on Bone Mineral Content and Bone Strength in Male Rats. *Physiological Research*. 2010, 59(4), 599-604. ISSN 0862-8408. Dostupné také z: Go to ISI://WOS:000282054700014.
- 26) JELEN, K., H. HEŘMAN, F. LOPOT, P. KUBOVÝ, M. OTČENÁŠEK a R. **SEDLÁČEK**. Women with incorrect pelvic floor statics: A biomechanical answer to the mechanical loading of the vagina-endopelvic fascia complex: A biomechanical answer to the mechanical loading of the vagina-endopelvic fascia complex. *Neuroendocrinology Letters*. 2010, 31(3), 413-417. ISSN 0172-780X. Dostupné také z: Go to ISI://WOS:000280462300024.
- 27) JELEN, K., F. LOPOT, S. BUDKA, V. NOVÁČEK a R. **SEDLÁČEK**. Rheological properties of myometrium: Experimental quantification and mathematical modeling: Experimental quantification and mathematical modeling. *Neuroendocrinology Letters*. 2008, 29(4), 454-460. ISSN 0172-780X. Dostupné také z: ISI://WOS:000259774200013.
- 28) BROULÍK, P. D., R. **SEDLÁČEK**, P. RŮŽIČKA, J. ROSENKRANCOVÁ a I. KURCOVÁ. The effect of chronic nicotine administration on bone mineral content and bone strength in normal

and castrated male rats. *Hormone and Metabolic Research*. 2007, 39(1), 20-24. ISSN 0018-5043. Dostupné z: doi:10.1055/s-2007-957342.

- 29) PODŠKUBKA, A., C. POVÝŠIL, R. KUBES, J. SPRINDRICH a R. **SEDLÁČEK**. Treatment of deep cartilage defects of the knee with autologous chondrocyte transplantation on a hyaluronic acid ester scaffolds (Hyalograft C). *Acta Chirurgiae Orthopaedicae et Traumatologiae Cechoslovaca*. Praha, 2006, 73(4), 251-262. ISSN 00015415.
- 30) BROULÍK, P. D., R. **SEDLÁČEK**, P. RŮŽIČKA a J. ROSENKRANCOVÁ. Effect of alendronate administration on bone mineral density and bone strength in castrated rats. *Hormone and Metabolic Research*. 2005, 37(7), 414-418. ISSN 0018-5043. Dostupné z: doi:10.1055/s-870234.
- 31) BROULIK, P. D., J. ROSENKRANCOVA, P. RUZICKA a R. **SEDLÁČEK**. Effects of triiodothyronine and estrogen administration on bone mass, mineral content and bone strength in male rats. *Hormone and Metabolic Research*. 2003, 35(9), 527-531. ISSN 0018-5043.

13.2 Užité vzory

Autor habilitační práce spolupracoval na vzniku celkem 15 výsledků výzkumu a vývoje chráněných užitným vzorem.

- 1) Vysoké učení technické v Brně, Brno, Veveří, CZ; České vysoké učení technické v Praze, Praha 6, Dejvice, CZ; Fakultní nemocnice Brno, Brno, Bohunice, CZ; Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i, Brno Medlánky, CZ. Bioresorbovatelná hybridní náhrada páteře pro meziobratlovou fúzi. Původci: L. VOJTOVÁ, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užité vzor CZ 35668. 2021-12-21
- 2) MEDIN, a.s., Nové Město na Moravě, CZ. Úhlově stabilní dlaha tibiální distální. Původci: P. BERNARD, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užité vzor CZ 34522. 2020-11-10.
- 3) MEDIN, a.s., Nové Město na Moravě, CZ. Úhlově stabilní dlaha humerální proximální. Původci: P. BERNARD, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užité vzor CZ 34521. 2020-11-10.
- 4) Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i., Praha 8, Libeň, CZ; České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Praha 6, Dejvice, CZ; ProSpon, spol. s r.o., Kladno, CZ. Kovový substrát s elektrostaticky naneseným bioaktivním nanokompozitním nosičem antibiotik na bázi kolagenu a kalcium fosfátu. Původci: T. SUCHÝ, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užité vzor CZ 31357. 2018-01-09.
- 5) České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní. Kovový substrát s elektrostaticky nanesenou bioaktivní nanokompozitní vrstvou na bázi kolagenu a kalcium fosfátu. Původci: T. SUCHÝ, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užité vzor CZ 31320. 2017-12-18.
- 6) Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i., Praha 8 Libeň; České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Praha 6. Bioaktivní nanokompozitní vrstva na bázi kolagenových nanovláken s integrovanými kalcium fosfátovými částicemi pro aplikace v ortopedii. Původci: **R. SEDLÁČEK**, T. SUCHÝ et al. Česká republika. Užité vzor CZ 28981. 2015-12-14.

- 7) Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i., Praha; České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní. Kostní náhrady a výplně na bázi hybridních kompozitních materiálů s nano kalcium deficientním hydroxyapatitem. Původci: K. BALÍK, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užitený vzor CZ 26216. 2013-12-09.
- 8) Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i., Praha; České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní. Kostní náhrady a výplně na bázi částicových kompozitních materiálů s nano kalcium deficientním hydroxyapatitem. Původci: K. BALÍK, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užitený vzor CZ 26215. 2013-12-09.
- 9) Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i., Praha; České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní. Kostní náhrady a výplně na bázi částicových kompozitních materiálů se sub mikronovým bioapatitem. Původci: K. BALÍK, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užitený vzor CZ 26214. 2013-12-09.
- 10) Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i., Praha; České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní. Kostní náhrady a výplně na bázi hybridních kompozitních materiálů se sub mikronovým bioapatitem . Původci: K. BALÍK, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užitený vzor CZ 26213. 2013-12-09.
- 11) Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i.; České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní. Částicové kompozitní náhrady kostní tkáně s nano fosforečnanem vápenatým. Původci: K. BALÍK, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užitený vzor CZ 22997. 2011-11-28.
- 12) Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i.; České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní. Částicové kompozitní náhrady kostní tkáně s nano hydroxyapatitem. Původci: K. BALÍK, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užitený vzor CZ 22996. 2011-11-28.
- 13) Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i.; České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní. Hybridní kompozitní náhrady kostní tkáně s nano fosforečnanem vápenatým. Původci: K. BALÍK, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užitený vzor CZ 23060. 2011-12-12.
- 14) Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i.; České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní. Hybridní kompozitní náhrady kostní tkáně s nano hydroxyapatitem. Původci: K. BALÍK, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užitený vzor CZ 22946. 2011-11-14.
- 15) České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Ústav mechaniky, Laboratoř biomechaniky člověka. Dotykové měřidlo tuhosti kloubní chrupavky. Původci: Z. HORÁK, **R. SEDLÁČEK** et al. Česká republika. Užitený vzor CZ 16327. 2006-03-06.

13.3 Řešené grantové projekty

Autor práce byl v posledních 10 letech řešitelem následujících pěti grantových projektů:

- 1) NV18-05-00379 – Název projektu: Vývoj a komplexní hodnocení nové injekčně aplikovatelné, resorbovatelné, porézní kostní náhrady s řízeným uvolňováním antimikrobiálních látek, Poskytovatel: Ministerstvo zdravotnictví, Hlavní příjemce: Fakultní nemocnice v Motole, Období řešení projektu: 2018–2022

- 2) TH03010418 – Název projektu: Vývoj nové generace prostředků pro dlahovou osteosyntézu dlouhých kostí, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: MEDIN, a.s., Období řešení projektu: 2018–2021
- 3) FV30033 – Název projektu: Konstrukční a technologický vývoj primárních leteckých dílů pokročilých tvarů z kompozitu s termoplastovou maticí, Poskytovatel: Ministerstvo průmyslu a obchodu, Hlavní příjemce: LATECOERE Czech Republic s.r.o., Období řešení projektu: 2018–2021
- 4) NV17-31276A – Název projektu: Všestranné preklinické zhodnocení laterální lumbální intervertebrální dýzy hybridním biodegradabilním nanokompozitním porézním implantátem, Poskytovatel: Ministerstvo zdravotnictví, Hlavní příjemce: Fakultní nemocnice Brno, Období řešení projektu: 2017–2020
- 5) TA03010209 – Název projektu: Výzkum a vývoj moderních technologií výroby dílů a nových aplikací z high performance kompozitů s termoplastovou maticí, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: LATECOERE Czech Republic s.r.o., Období řešení projektu: 2013–2016

A dále pak byl autor práce v období posledních 10 let členem řešitelského kolektivu následujících třiceti výzkumných projektů:

- 1) TM03000030 – Název projektu: Ultra jemnozrnné beta-titanové slitiny a jejich povrchové úpravy pro bioimplantáty, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: ProSpon, spol. s r.o., Období řešení projektu: 2022–2024
- 2) SGS22/149/OHK2/3T/12 – Název projektu: Výzkum a vývoj metod a aplikací pro diagnostickou a terapeutickou biomechaniku, Poskytovatel: České vysoké učení technické v Praze, Hlavní příjemce: České vysoké učení technické v Praze / Fakulta strojní, Období řešení projektu: 2022–2024
- 3) TM02000060 – Název projektu: Aplikovaný výzkum konstrukčních principů a vývoj aditivní výroby multimateriálových zdravotnických prostředků, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: Protetika Plzeň s.r.o., Období řešení projektu: 2021–2024
- 4) TM02000084 – Název projektu: Aplikovaný výzkum a vývoj náhrad malých kloubů s dlouhou životností využitím přímého 3D tisku titanové slitiny, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: ProSpon, spol. s r.o., Období řešení projektu: 2021–2023
- 5) EG20_321/0024929 – Název projektu: Aplikace smart funkce v individuálních náhradách velkých kloubů, Poskytovatel: Ministerstvo průmyslu a obchodu, Hlavní příjemce: ProSpon, spol. s r.o., Období řešení projektu: 2021–2023
- 6) NU20-02-00368 – Název projektu: Biomechanicky definované vstřebatelné materiály pro kardiovaskulární chirurgii, Poskytovatel: Ministerstvo zdravotnictví, Hlavní příjemce: Univerzita Karlova / Lékařská fakulta v Plzni, Období řešení projektu: 2020–2023
- 7) TM01000063 – Název projektu: Výzkum a vývoj elektroformovaných kompozitních biomimetických struktur polymer – kov pro inteligentní aditivní výrobu, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: Electroforming s.r.o., Období řešení projektu: 2020–2022

- 8) TM01000061 – Název projektu: Vývoj individuálních implantátů z beta slitin titanu vyráběných pomocí aditivních technologií, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: MEDIN, a.s., Období řešení projektu: 2020–2022
- 9) GA20-11186S – Název projektu: Mechanika tepenné delaminace a šíření trhliny, Poskytovatel: Grantová agentura České republiky, Hlavní příjemce: Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v. v. i., Období řešení projektu: 2020–2022
- 10) SGS19/155/OHK2/3T/12 – Název projektu: Biomechanika – sběr dat, validace a aplikace, Poskytovatel: České vysoké učení technické v Praze, Hlavní příjemce: České vysoké učení technické v Praze / Fakulta strojní, Období řešení projektu: 2019–2021
- 11) GA18-26041S – Název projektu: Vliv podélného předepnutí na mechanickou odezvu nelineárních elastických a viskoelastických trubic, Poskytovatel: Grantová agentura České republiky, Hlavní příjemce: České vysoké učení technické v Praze / Fakulta strojní, Období řešení projektu: 2018–2023
- 12) EF16_019/0000787 – Název projektu: Centrum výzkumu infekčních onemocnění, Poskytovatel: Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy, Hlavní příjemce: Univerzita Karlova / Lékařská fakulta v Plzni, Období řešení projektu: 2018–2022
- 13) TH03010354 – Název projektu: Gradientní funkčně strukturovaný kyčelní implantát s vysokou životností, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: ProSpon, spol. s r.o., Období řešení projektu: 2018–2021
- 14) FV30348 – Název projektu: Vývoj nové generace hřebů pro osteosyntézu dlouhých kostí dolní končetiny, Poskytovatel: Ministerstvo průmyslu a obchodu, Hlavní příjemce: MEDIN, a.s., Období řešení projektu: 2018–2020
- 15) TF05000024 – Název projektu: Výzkum a vývoj elektroformovaných biomimetických materiálů s gradientním a kompozitním složením pro biomedicínské aplikace a inteligentní výrobu, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: Electroforming s.r.o., Období řešení projektu: 2018–2019
- 16) FV20230 – Název projektu: Modulární systém náhrad kolenního kloubu umožňující rekonstrukci rozsáhlých defektů pomocí porézních augmentací i individuálních náhrad pro extrémní deformity kostních tkání, Poskytovatel: Ministerstvo průmyslu a obchodu, Hlavní příjemce: ProSpon, spol. s r.o., Období řešení projektu: 2017–2021
- 17) TH02020405 – Název projektu: Implantáty z vysokopevnostního polymeru s bioaktivním povrchem, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: ProSpon, spol. s r.o., Období řešení projektu: 2017–2020
- 18) GA16-14758S – Název projektu: Vliv nanotopografie povrchu na bioaktivní vlastnosti titanové slitiny s nízkým modulem pružnosti, Poskytovatel: Grantová agentura České republiky, Hlavní příjemce: České vysoké učení technické v Praze / Fakulta strojní, Období řešení projektu: 2016–2020
- 19) TF02000067 – Název projektu: 3D tisk implantátů s vysokou přidanou hodnotou – spolehlivost, účinnost, individualita, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: České vysoké učení technické v Praze / Fakulta strojní, Období řešení projektu: 2016–2019

- 20) SGS16/207/OHK2/3T/12 – Název projektu: Biomechanika člověka – od buněk k náhradám, Poskytovatel: České vysoké učení technické v Praze, Hlavní příjemce: České vysoké učení technické v Praze / Fakulta strojní, Období řešení projektu: 2016–2018
- 21) NV15-33629A – Název projektu: Vývoj inovativních biotribologických prostředků pro obnovení mezní lubrikace., Poskytovatel: Ministerstvo zdravotnictví, Hlavní příjemce: Univerzita Karlova / 2. lékařská fakulta, Období řešení projektu: 2015–2018
- 22) TA04010330 – Název projektu: Vývoj resorbovatelné kolagen-kalcium fosfátové nanovrstvy s řízenou elucí antibiotik pro zvýšení životnosti implantátů, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v. v. i., Období řešení projektu: 2014–2017
- 23) TA04010879 – Název projektu: Vývoj inteligentních endoprotéz se včasnou automatickou detekcí možného selhání., Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: ProSpon, spol. s r.o., Období řešení projektu: 2014–2017
- 24) TA03010752 – Název projektu: Řešení problematiky náhrady kyčelní jamky při těžkém poškození acetabula, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: ProSpon, spol. s r.o., Řešitel: Ing. Zdeněk Čejka, Období řešení projektu: 2013–2016
- 25) TA03010930 – Název projektu: Technologie injekčního vstřikování biokeramických materiálů pro výrobu komponent implantátů, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: České vysoké učení technické v Praze / Fakulta strojní, Období řešení projektu: 2013–2016
- 26) TA01010185 – Název projektu: Nové materiály a povrchové vrstvy pro bionický návrh kloubních náhrad, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: České vysoké učení technické v Praze / Fakulta strojní, Období řešení projektu: 2011–2014
- 27) TA01010860 – Název projektu: Řešení problematiky náhrady meziobratlového disku s využitím moderních poznatků, inženýrských metod a progresivních technologií, Poskytovatel: Technologická agentura ČR, Hlavní příjemce: ProSpon, spol. s r.o., Období řešení projektu: 2011–2014
- 28) FR-TI3/221 – Název projektu: *Řešení problematiky necementované náhrady kolenního kloubu, optimalizace vazby implantát osteointegrační povrch kostní tkáň., Poskytovatel: Ministerstvo průmyslu a obchodu, Hlavní příjemce: MEDIN Orthopaedics, a.s., Období řešení projektu: 2011–2013
- 29) MEB091143 – Název projektu: Nanomechanika a elektrostatika interakcí mezi implantáty a živými tkáněmi, Poskytovatel: Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy, Hlavní příjemce: České vysoké učení technické v Praze / Fakulta strojní, Období řešení projektu: 2011–2012
- 30) GAP108/10/1457 – Název projektu: Kompozitní materiály transparentní vůči rentgenovému záření a vysoce odolné proti opakované sterilizaci pro použití v lékařství, Poskytovatel: Grantová agentura České republiky, Hlavní příjemce: České vysoké učení technické v Praze / Fakulta strojní, Období řešení projektu: 2010–2012