



**FAKULTA STROJNÍ**

**Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky**

**Hodnocení adheze injekčně aplikovatelného  
porézního kostního tmelu ke kosti a implantátu**

*Diplomová práce*

Praha 2021

Bc. Barbora Hrušková



# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Hrušková** Jméno: **Barbora** Osobní číslo: **465348**  
Fakulta/ústav: **Fakulta strojní**  
Zadávající katedra/ústav: **Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky**  
Studijní program: **Aplikované vědy ve strojním inženýrství**  
Specializace: **Biomechanika**

## II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

**Hodnocení adheze injekčně aplikovatelného porézního kostního cementu ke kosti**

Název diplomové práce anglicky:

**Evaluation of Adhesion of Injectable Porous Bone Cement to Bone**

Pokyny pro vypracování:

1. Provedte literární rešerši na téma kostní tkáň, porézní kostní náhrady a výplně, nosiče antibiotik a jejich vlastnosti.
2. Navrhněte metodiku pro experimentální analýzu adheze porézního kostního cementu ke kosti.
3. Realizujte experimenty pro hodnocení adheze a analyzujte mechanické vlastnosti.
4. Zpracujte a interpretujte získané výsledky, formulujte závěry.

Seznam doporučené literatury:

1. L. Vojtova, 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, Int. J. Mol. Sci. 20 (2019) 391. doi:10.3390/ijms20020391.
2. P. Lucksanasombool et al. Interfacial fracture toughness between bovine cortical bone and cements. Biomaterials 24 (2003) 1159–1166. doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00464-7
3. D.F. Farrar. Bone adhesives for trauma surgery: A review of challenges and developments, Int. J. Adhes. Adhes. 33 (2012) 89. doi:10.1016/j.ijadhadh.2011.11.009.
4. ČIHÁK, R. Anatomie. Třetí, upravené a doplněné vydání. Praha: Grada, 2016. ISBN 978-80-247-3817-8.

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) diplomové práce:

**Ing. Radek Sedláček, Ph.D., odbor biomechaniky FS**

Jméno a pracoviště druhé(ho) vedoucí(ho) nebo konzultanta(ky) diplomové práce:

**Ing. Tomáš Suchý, Ph.D., odbor biomechaniky FS**

Datum zadání diplomové práce: **07.04.2021** Termín odevzdání diplomové práce: **13.08.2021**

Platnost zadání diplomové práce: \_\_\_\_\_

Ing. Radek Sedláček, Ph.D.  
podpis vedoucí(ho) práce

doc. Ing. Miroslav Španiel, CSc.  
podpis vedoucí(ho) ústavu/katedry

prof. Ing. Michael Valášek, DrSc.  
podpis děkana(ky)

## III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Diplomantka bere na vědomí, že je povinna vypracovat diplomovou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací. Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v diplomové práci.

\_\_\_\_\_  
Datum převzetí zadání

\_\_\_\_\_  
Podpis studentky

## Anotční list

**Jméno autora:** Bc. Barbora Hrušková

**Fakulta:** Fakulta strojní

**Zadávací ústav:** Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky

**Studijní program:** Aplikované vědy ve strojním inženýrství

**Studijní obor:** Biomechanika

**Rok:** 2021

**Název diplomové práce:** Hodnocení adheze injekčně aplikovatelného porézního kostního cementu ke kosti

**Název diplomové práce anglicky:** Evaluation of Adhesion of Injectable Porous Bone Cement to Bone

**Vedoucí práce:** Ing. Radek Sedláček, Ph.D.

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

### **Bibliografické údaje:**

počet stran: 60

počet obrázků: 30

počet tabulek: 7

počet příloh: 3

**Klíčová slova:** kostní cement, adheze, implantát, pull-out testy

**Key words:** bone cement, adhesion, implant, pull-out tests

**Abstrakt:** Tato práce se zabývá hodnocením adheze injekčně aplikovatelných kostních cementů, potenciálně využitelných jako plně resorbovatelná alternativa ke standardně využívaným nedegradovatelným cementům. Bylo provedeno experimentální hodnocení adheze pěti různě modifikovaných kostních cementů ke kosti, jmenovitě samotného cementu na bázi fosforečnanu vápenatého, který byl dále modifikován třemi různými příměsmi (antibiotiky, polycaprolaktonovými nanovláknami a dopaminem). Jako kontrolní materiál byl použit standardní kostní cement na bázi polymethylmethakrylátu. Testy probíhaly na dvou typech implantátů zhotovených z titanové slitiny Ti6Al4V ELI lišící se v jejich výrobě a v povrchové struktuře. Jedním typem byl implantát s povrchovým plasmovým nástřikem hydroxyapatitu, druhým typem byl 3D tištěný implantát s trabekulární povrchovou strukturou. Zkušební implantáty byly pomocí cementů fixovány *ex vivo* v prasečích femurech po dobu potřebnou k jejich vytvrzení (72 hodin). Metodika experimentu byla založena na stanovení maximální síly potřebné pro porušení adheze při pull-out testech. Dalšími vyhodnocovanými parametry byla mez pevnosti ve smyku, posunutí při porušení, práce adhezních sil a účinnost. Výsledky ukazují na nižší míru adheze vyvíjených cementů oproti klinicky využívanému neresorbovatelnému standardu, avšak zjištěný pokles v prvotní fázi hojení nemusí být pro konkrétní aplikace limitující.

**Abstract:** This work deals with the evaluation of the adhesion of injectable bone cements, potentially usable as a fully resorbable alternative to the standard non-degradable cements. An experimental evaluation of the adhesion of five differently modified bone cements to bone was performed, namely the cement itself based on a calcium phosphate, which was further modified with three different admixtures (antibiotics, polycaprolactone nanofibers and dopamine).

Standard bone cement based on polymethylmethacrylate was used as a control material. The tests were performed on two types of implants made of titanium alloy Ti6Al4V ELI. One type was an implant with plasma sprayed hydroxyapatite coating, the other type was a 3D printed implant with a trabecular surface structure. The test implants were fixed ex vivo in porcine femurs for the time required for their hardening (72 hours). The methodology of the experiment was based on determining the maximum force required to break the adhesion in pull-out tests. Other evaluated parameters were shear strength, displacement at failure, work of adhesion and efficiency. The results show a lower degree of adhesion of the developing cements in compared with clinical used non resorbable standard, but the observed decrease in the initial healing phase may not be limiting for specific applications.

### **Prohlášení**

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

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

V Praze dne .....

.....

Podpis autora

### **Poděkování**

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé diplomové práce panu Ing. Radku Sedláčkovi, Ph.D. za odbornou pomoc při realizaci experimentu, za rady při vyhodnocování a trpělivost při konzultacích. Poděkování patří také panu Ing. Tomáši Suchému, Ph.D. za pomoc při přípravě experimentů, za odborné konzultace k teoretické části a k statistickému vyhodnocení práce. V neposlední řadě chci poděkovat i mé rodině za neustálou podporu během celého studia.

# Obsah

Úvod.....	9
<b>1 Úvod do problematiky .....</b>	<b>11</b>
<b>1.1 Anatomie a fyziologie kosti .....</b>	<b>11</b>
1.1.1 Hierarchické strukturální uspořádání kosti.....	11
1.1.1 Buňky kosti a jejich funkce .....	14
1.1.2 Remodelace kostní tkáně .....	14
1.1.3 Biomechanika kostní tkáně.....	15
<b>1.2 Materiály vhodné pro náhradu kostní tkáně .....</b>	<b>19</b>
1.2.1 Vývoj biomateriálů.....	19
1.2.2 Požadované vlastnosti .....	20
1.2.2.1 Biokompatibilita .....	20
1.2.2.2 Biodegradabilita .....	20
1.2.2.3 Biologické vlastnosti.....	20
1.2.2.4 Vhodné mechanické vlastnosti .....	20
1.2.2.5 Nosiče léčiv.....	21
1.2.3 Kostní cementy .....	21
1.2.3.1 Akrylové kostní cementy .....	21
1.2.3.2 Kalcium fosfátové cementy .....	22
<b>1.3 Adheze a její hodnocení .....</b>	<b>22</b>
1.3.1 Odtrhová zkouška přilnavosti (pull-off) .....	24
1.3.2 Tříbodová ohybová zkouška .....	25
1.3.3 Smyková zkouška.....	25
1.3.4 Pull-out test .....	26
<b>2 Cíle práce .....</b>	<b>27</b>
<b>3 Experimentální část.....</b>	<b>28</b>
<b>3.1 Materiály a příprava vzorků.....</b>	<b>28</b>
<b>3.2 Metodika .....</b>	<b>30</b>
3.2.1 Použitá zařízení.....	30
3.2.2 Vyhodnocované parametry .....	31
3.2.2.1 Mez pevnosti ve smyku $\tau$ .....	32
3.2.2.2 Posunutí při porušení $d_{max}$ .....	33
3.2.2.3 Práce adhezních sil $W$ .....	33
3.2.2.4 Účinnost $W_e$ .....	34
<b>3.3 Statistické metody .....</b>	<b>34</b>
3.3.1 Statistické testy.....	35
3.3.1.1 Parametrické testy .....	35
3.3.1.2 Neparametrické testy.....	35
3.3.1.3 Věcná významnost .....	36
3.3.2 Grafická prezentace výsledků .....	37
<b>3.4 Statistická analýza.....</b>	<b>37</b>
<b>4 Výsledky .....</b>	<b>39</b>
<b>4.1 Mez pevnosti ve smyku <math>\tau</math> .....</b>	<b>39</b>
<b>4.2 Posunutí při porušení <math>d_{max}</math> .....</b>	<b>40</b>
<b>4.3 Práce adhezních sil <math>W</math>.....</b>	<b>41</b>

4.4	Účinnost $We$ .....	42
5	Diskuse .....	43
6	Závěr .....	45
	Použitá literatura .....	46
	Seznam použitých symbolů a zkratek .....	53
	Seznam obrázků.....	55
	Seznam tabulek .....	57
	Seznam příloh .....	58



## Úvod

Kostra je naším základním a hlavním pohybovým aparátem, a proto je kladen velký důraz udržet kosti silné a zdravé v každém věku. Kost má vlastní schopnost remodelace, která přirozeně probíhá celý náš život. Tuto schopnost naše tělo využívá i jako součást procesu hojení v reakci na zranění. U většiny kostních poranění je vlastní regenerace kosti dostačující a nové vytvořená kost je nakonec nerozeznatelná od nezraněné kosti. Avšak v některých případech, kdy je poranění tkáně rozsáhlejší, není vlastní regenerace dostačující a je potřeba hojení podpořit [1]. Mezi další komplikace spojené s léčbou kostních traumat patří infekce během hojení. V období 2003–2013 bylo do Národního registru kloubních náhrad České republiky nahlášeno 1137 revizí (tj. 6,37 % z celkového počtu revizí) rekonstrukčních operací kloubů z důvodu hlubokých infekčních komplikací [2].

V klinické praxi se běžně využívá kostních náhrad/štěpů – za rok se po celém světě provede až 2,7 miliónu operací [3]. Uplatnění kostních štěpů nalézáme zejména v onkologické chirurgii, traumatologii, revizní protetické chirurgii a chirurgii páteře. V dnešní době je k transplantaci kostní tkáně využíváno několik variant. Za zlatý standard je považován pacientův vlastní kostní štěp neboli tzv. autologní kostní štěp. Tato varianta přináší několik nevýhod jako je nutnost druhotné operace pacienta pro získání štěpu, což vede k prodloužení nejen operace, ale také doby hojení a zvyšuje se také riziko vzniku infekce. Alternativou pro autologní štěp je alogenní štěp (pochází od dárce) nebo xenogenní štěp (pochází z jiného živočišného druhu). V obou případech však hrozí špatná imunologická reakce nebo vznik infekce [3; 4].

V případě složitých zlomenin se v dnešní době často využívají k podpoře správného srůstu kosti interní fixační kovové implantáty (dlahy). Ve většině případů je po zahojení zlomeniny potřeba kovové prvky z původně zraněného místa odstranit. Pacient tak opět čelí běžným rizikům, která jsou nevyhnutelná při jakémkoli chirurgickém zákroku. U interních implantátů může až v 5 % případů docházet k obušování kovového materiálu, který se uvolňuje do okolí zranění a zabraňuje tak stabilnímu zásobení rány živinami a dochází k poruchám hojení. K nestabilnímu hojení zlomeniny dochází také kvůli bakteriím, které se usazují na povrchu implantátu a brání tak přirozené regeneraci kosti a vyvolávají v těle imunitní reakci [5].

Při léčbě zranění nebo onemocnění se setkáváme s řadou komplikací, jak bylo zmíněno výše. Zvyšuje se proto poptávka po alternativní syntetické náhradě kostní tkáně, která by zmíněné nevýhody eliminovala. Byla navržena řada syntetických materiálů obsahující hydroxyapatit (HA), fosforečnan vápenatý nebo bioaktivní skla a některé se již běžně klinicky využívají, jiné jsou stále ve fázi vývoje. Než je možné tyto nové materiály používat v lidském těle *in vivo* musí projít řadou laboratorních testů, kterými musí být vyhodnocena řada biologických i mechanických vlastností materiálu. Tyto alternativní materiály by měly být biokompatibilní a pro tělo netoxické, musí svou přítomností a svým působením podporovat růst kostních buněk a svými mechanickými vlastnostmi by se měly blížit vlastnostem kosti jako takové [3].

V posledních 30 letech velkou pozornost přitahují kostní cementy na bázi fosforečnanu vápenatého (CPC), které se vyznačují svým velmi dobrým biologickým chováním. Jejich výhodou je také biodegradabilita, tzn. jejich postupná degradace a nahrazení živou kostní tkání, dále injektovatelnost, která umožňuje implantaci cementu do místa zranění za minimálně invazivních podmínek [6]. Tyto CPC jsou sami o sobě křehké a nemají vhodné mechanické vlastnosti a nejsou proto odolné vůči zatížení [7].

Avšak v předchozích studiích bylo zjištěno, že způsobem jejich přípravy a různými přísadami lze jejich mechanické vlastnosti výrazně zlepšit [8].

Podnětem pro věnování se problematice kostních CPC cementů bylo získání informací ohledně jejich adheze ke kosti. Získané výsledky by mohly napomoci k optimalizaci jejich použití v klinické praxi. Tato studie byla podpořena grantovým projektem uděleným Ministerstvem zdravotnictví České republiky č. NV18-05-00379.

# 1 Úvod do problematiky

Tkáňové inženýrství je vědeckým oborem, který spojuje znalosti z biologie, chemie, fyziky, materiálového inženýrství a medicíny pro vývoj biologických náhrad poškozené tkáně [9]. Cílem tkáňového inženýrství je vyvinout *in vitro* tkáňové nosiče, tzv. scaffoldy, vedoucích k dosažení úspěšné regenerace poškozených tkání a orgánů. Scaffoldy (lešení) slouží jako uměle vytvořena mezibuněčná hmota, která se nachází kolem buněk, a tak spolu utváří tkáň. Tímto také zabezpečuje chemické a fyziologické podmínky pro tvorbu nových buněk, transport živin k buňkám a odvádění odpadních látek apod. Scaffoldy mohou sloužit také jako ochranná bariéra a mechanická podpora pro růstové faktory a jiné látky podporující růst nové tkáně. V případě defektů, kdy má tkáň potenciál regenerace, slouží scaffoldy jako dočasná výplň a mechanická opora pro růst nové zdravé tkáně [10].

Aplikace tkáňového inženýrství v dnešní medicíně tak může přinášet urychlení přirozeného hojení poškozeného lidského organismu. Tento obor také nabízí možnost léčby pacientů, kteří potřebují nahradit nebo opravit poškozené orgány. Příkladem je náhrada umělé kůže při léčbě popálenin, dýchacích cest, slinivky, kardiovaskulárního systému (např. náhrada srdeční chlopně, umělé cévy apod.), léčba defektů kolenní chrupavky nebo kosti, močových cest, v zubním lékařství apod. Možné je uplatnění při onemocnění nervového systému [9; 10].

Pro vývoj materiálů vhodných na přípravu scaffoldů je nutné znát anatomii a fyziologii léčených živých tkání a orgánů. Proto se dalších kapitoly hlouběji zabývají kostní tkání.

## 1.1 Anatomie a fyziologie kosti

Kosti (*os, ossis*) jsou pevné, tvrdé a v jistém rozmezí i pružné orgány žlutobílé barvy. Kosti tvoří kosterní soustavu–kostru (*sceletum*). Spolu s připojenými chrupavkami a klouby vytváří pasivní pohybový aparát. Skelet plní několik mechanických a fyziologických funkcí:

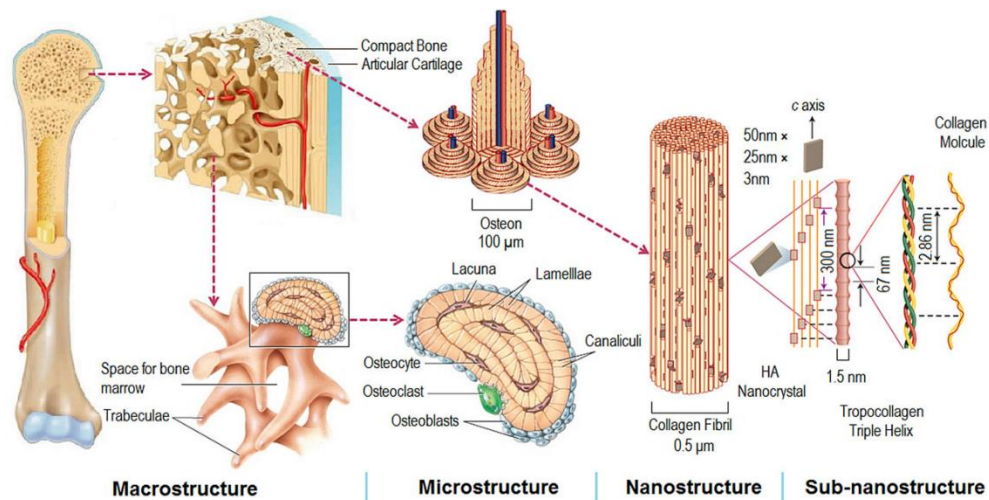
1. podpěrný systém těla,
2. přenos svalových sil,
3. ochrana orgánů,
4. hemopoéza: tvorba červené kostní dřeně,
5. zásobování těla minerálními látkami – hlavně vápníkem a fosforem,
6. homeostáza minerálů – ukládání a udržení rovnováhy minerálních látek,
7. energetický zdroj – žlutá kostní dřev [11; 12; 13].

Kostra dospělého člověka má celkem asi 213 kostí. Každá kost během života neustále podléhá remodelaci, která ji pomáhá přizpůsobit se měnícím se biomechanickým silám. Dochází k odstranění staré, mikroskopicky poškozené kosti, kterou nahradí nová, mechanicky silnější kost tak, aby byla zachována její pevnost [11; 12].

### 1.1.1 Hierarchické strukturální uspořádání kosti

Přírodní kost je heterogenní a anizotropní nanokompozit, jehož hlavní složky jsou hierarchicky uspořádány do několika strukturálních úrovní [14; 15] (viz Obrázek 1). K pochopení mechanických vlastností kosti jako takové je potřeba pochopit mechanické vlastnosti jednotlivých fází a strukturální vztahy mezi nimi na různých úrovních hierarchické strukturální organizace. Jedná se o tyto úrovně a struktury:

1. makrostruktura: spongiózní a kortikální kost;
2. mikrostruktura (od 10 do 500  $\mu\text{m}$ ): Haversovy systémy, osteony, jednotlivé trabekuly;
3. substruktura (1–10  $\mu\text{m}$ ): lamely;
4. nanostruktura (od několika set nanometrů do 1  $\mu\text{m}$ ): fibrilární kolagen a zapuštěný minerál;
5. subnanostruktura (jednotky až desítky nanometrů): minerální, kolagenové a nekolagenní organické proteiny.



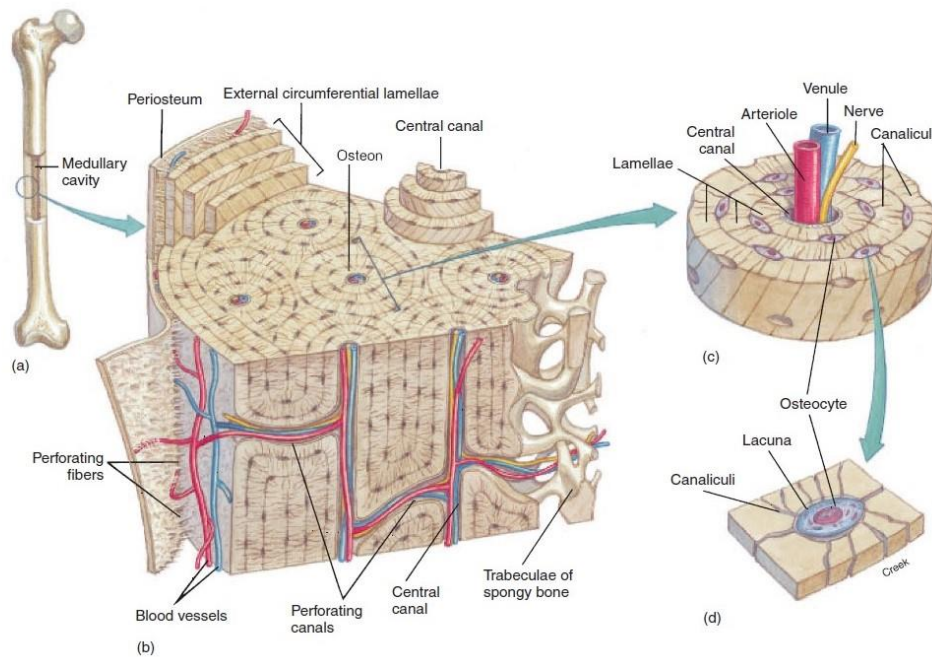
Obrázek 1 - Hierarchické strukturální uspořádání kosti [16]

Makroskopickou stavbu kosti rozdělujeme na dva typy: fibrilární a lamelární. Oba typy obsahují stejné stavební jednotky, rozdíl je však v jejich uspořádání. Fibrilární tkáň je složena z náhodně uspořádaných kolagenních vláken. Je typem vývojově původní kosti, která je v dospělosti zachována pouze v některých hrbolcích, kostních výbězcích a drsnatinách (v místě svalových úponů) a také ve stěně vnitroušního labyrintu. Všude jinde má kost u člověka typickou lamelární stavbu. Kvůli nepravidelnému uspořádání kolagenních vláken nevykazuje fibrilární kost příliš vysokou odolnost vůči mechanickému namáhání [11; 13; 16].

Lamelární tkáň má kolagenní vlákna uspořádána do lamel, které jsou uloženy paralelně jedna vedle druhé. Lamelární kost tvoří převážnou část skeletu a vyskytuje se ve dvou formách jako: kortikální kost (hutná, kompaktní) a spongiózní kost (houbovitá, trámčitá, trabekulární). Kostra dospělého člověka se skládá z 80 % z kortikální tkáně a z 20 % ze spongiózní. Účast kortikální a spongiózní tkáně se liší u kostí různého typu (dlouhé, krátké, ploché kosti) [11; 12; 13].

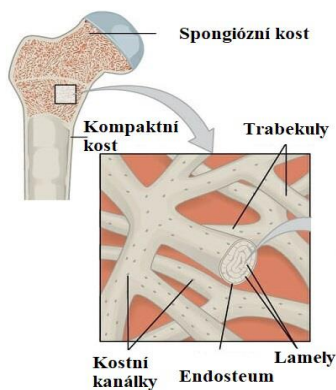
Kompaktní kost je tvrdá, hustá a mineralizovaná tkáň. U dlouhých kostí tvoří tvrdý plášť koncových epifýz a středního úseku kosti, diafýzy. Skládá se z přesně uspořádaných mikroskopických válcových struktur orientovaných rovnoběžně s osou kosti. Tyto sloupcovité struktury nazýváme osteony neboli Haversovy systémy kostní tkáně (viz Obrázek 2b). Osteony jsou uloženy v soustředných prstencích (lamelách). Lamely obklopují centrální Haversův kanálek, kterým prochází drobné cévy a nervy (viz Obrázek 2c). Jednotlivé centrální kanálky jsou mezi sebou propojeny Volkmannovými kanálky, kterými vstupují cévy a nervy do intersticiálních lamel. Intersticiální (vymezené) lamely jsou zbytky starších později rozrušených Haversových lamel.

Ve stěnách lamel se tvoří jamky (lakuny), které jsou mezi sebou propojeny jemnými kanálky (*canaliculi*) (viz Obrázek 2d).



Obrázek 2 - Kompaktní kostní tkáň [13]: (a) Kompaktní tkáň tvoří plášť kostí. (b) Osteony uspořádané kolem centrálního Haversova kanálku. (c) Haversův systém. (d) Lakuna

Spongiosní kost je tvořena lamelárními trámečky kosti, které jsou propojeny tak, že vzniká prostorová síť (viz Obrázek 3). Lamely trámeček jsou ploché a tenké, jejich počet se liší podle tloušťky trámeček a tvoří tak nepravidelnou, houbovitou strukturu. Spongiosní tkáň nese mechanické zatížení, proto trámečky spongiózy tvoří tzv. kostní trajektorie ve směrech, ve kterých je kost zatěžována. Úprava kosti v trajektoriích se označuje jako architektura spongiosní kosti (viz Obrázek 4) [11; 17; 18].



Obrázek 3 - Spongiosní kost (upraveno z [17])



Obrázek 4 - Architektura spongiosní kosti; průběh trámeček v horním konci stehenní kosti [18]

### 1.1.1 Buňky kosti a jejich funkce

V kostní tkáni se vyskytují tři hlavní typy buněk, které jsou důležité pro růst, přestavbu a hojení kostí. Prvním typem těchto buněk jsou **osteoblasty** produkující a vylučující proteiny, které tvoří kostní matrix, hlavním produktem osteoblastů je kolagen typu I. Vyprodukovaná základní hmota je nazývána osteoid [19]. Matrice je následně mineralizována. Osteoblasty se postupně obklopují touto hmotou, až jsou jí zcela pohlceni, čímž se mění v osteocyty.

**Osteocyty** jsou pravidelně rozmístěny po celé mineralizované matici a komunikují mezi sebou navzájem i s buňkami na povrchu kosti prostřednictvím několika prodloužení jejich plazmatické membrány. Vytvářejí tak komunikační síť uvnitř kosti, jejíž prostřednictvím je zajištěna látková výměna. Osteocyty jsou považovány za mechanické senzory uvnitř kosti, jejichž funkcí je detekovat mechanické signály z extracelulárního prostoru, přenést je do buňky a vyvolat příslušnou odezvu (růst a odbourávání matrice, remodelaci tkáně v případě jejího poškození atd.).

Třetím typem buněk jsou **osteoklasty**, vícejaderné pohyblivé buňky, specializované na odbourávání mineralizované matrice. Jejich nejpozoruhodnějším morfologickým znakem je zvlněný povrch, díky čemuž se zvětšuje absorpční plocha těchto buněk. Osteoklasty se vyskytují na povrchu kostní tkáně v malých prohlubeninách [20; 21]

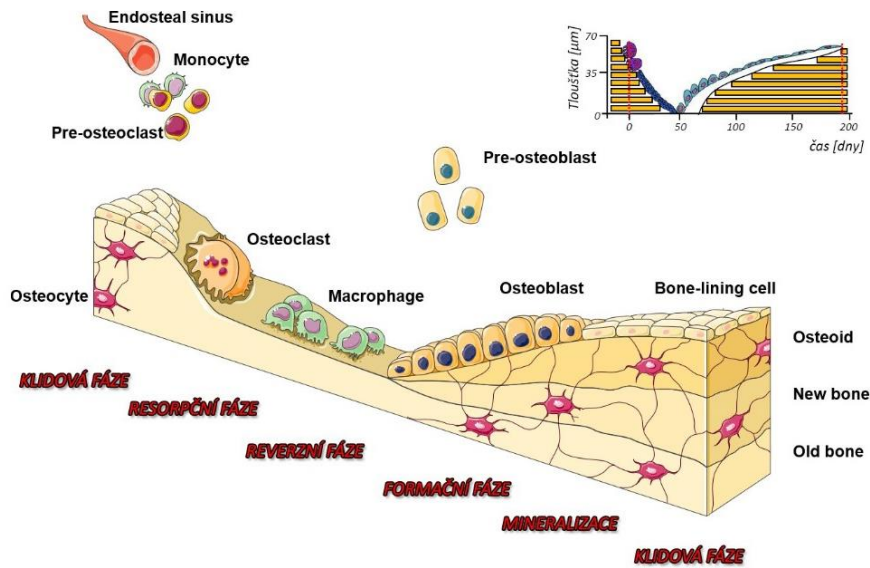
### 1.1.2 Remodelace kostní tkáně

Remodelace neboli přestavba kosti je proces, kdy se kost obnovuje, aby udržela svou pevnost a aby byla zachována minerální homeostáza. Proces remodelace zahrnuje postupné odstraňování vrstev staré kosti, nahrazení těchto vrstev novou proteinovou maticí a následnou mineralizaci matrice za vzniku nové kosti. Remodelační místa se mohou vyvíjet náhodně, běžně však k remodelaci dochází v místech, kde se hromadí mikro poškození nebo kde je potřeba proces hojení (například při traumatologickém zranění) [12]. K nejrychlejší remodelaci kosti u člověka dochází kolem 25. roku života, poté následuje období tzv. vyrovnané remodelace, kdy intenzita resorpce odpovídá intenzitě tvorby nové kosti [8; 19].

Remodelace probíhá ve čtyřech po sobě jdoucích fázích (viz Obrázek 5):

1. resorpční fáze – dochází k resorpci staré tkáně zprostředkované osteoklasty; trvání přibližně 2 až 4 týdny;
2. reverzní fáze – kostní resorpce přechází do kostní formace;
3. formační fáze – osteoblasty syntetizují novou kolagenní organickou matici a regulují mineralizaci, trvání 4 až 6 měsíců;
4. klidová fáze.

Konečným výsledkem každého cyklu remodelace je produkce nového osteonu. Proces remodelace je v zásadě stejný v kortikální i ve spongiosní kosti.



Obrázek 5 - Schéma remodelace kosti a doba remodelačního cyklu (upraveno z [24])

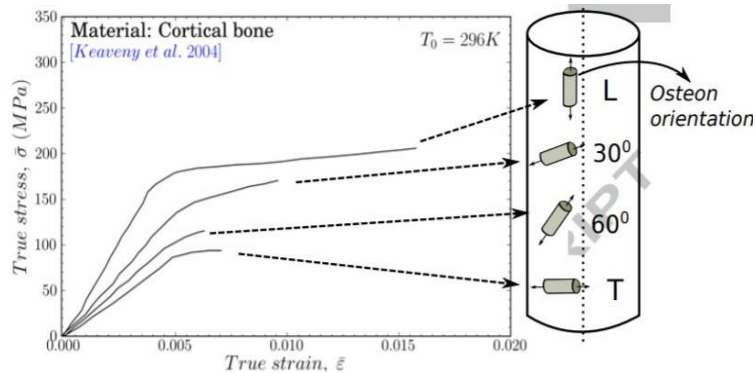
### 1.1.3 Biomechanika kostní tkáně

Z pohledu biomechaniky je kost považována za heterogenní a anizotropní nanokompozit. Kost se skládá z anorganických, organických fází a vody (v poměru 6:3:1) a každá tato fáze připisuje kosti určité mechanické vlastnosti [22]. Anorganickou fází kostní tkáně tvoří bioapatit – minerál keramického krystalického typu, který je formou fosforečnanu vápenatého (bioapatitu), který je složením přirovnávaný k hydroxyapatitu ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ). Bioapatit však navíc obsahuje další ionty, především  $\text{CO}_3^{2-}$ . Minerální složka ve formě apatitu dodává kosti tvrdost a křehkost. Organická složka kosti je tvořena kolagenními vlákny, z 90 % kolagenem typu I a dalšími proteiny nekolagenního typu. Kolagenní vlákna jsou pevná, poddajná a dobře odolávají tahu a jsou tak v kosti odpovědné za její houževnatost a viskoelasticitu. Demineralizací kosti bychom získali měkký a poddajný materiál, zatímco deproteinizovaná kost je naopak tvrdá a křehká. Mechanické vlastnosti kosti proto budou záviset na vlastnostech jednotlivých složek, které ji tvoří. Kolagenní vlákna mají Youngův modul pružnosti 1–2 GPa a mez pevnosti v tahu 50–1000 MPa, ve srovnání s apatitovou složkou, která má Youngův modul až 130 GPa a mez pevnosti v tahu asi 100 MPa. Spojením organické a anorganické složky získáváme jedinečný kompozitní materiál s vlastnostmi lepšími, než jaké mají jeho jednotlivé fáze [22; 23; 24]. Tabulka ukazuje některé mechanické vlastnosti spongiosní a kompaktní kosti (viz Tabulka 1).

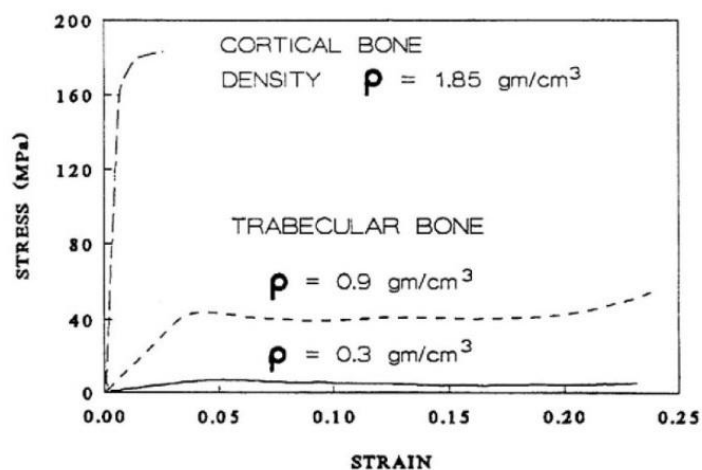
Tabulka 1 - Mechanické vlastnosti kompaktní a spongiosní kosti [23]

	Kompaktní kost	Spongiosní kost
Pevnost v tlaku [MPa]	100–230	2–12
Pevnost v tahu [MPa]	50–150	10–20
Deformace do destrukce [%]	1–3	5–7
Lomová houževnatost [MPa m <sup>1/2</sup> ]	2–12	–
Youngův modul pružnosti [GPa]	7–30	0,5–0,05

Jak již bylo zmíněno, kost je anizotropním materiálem, jehož mechanické vlastnosti se v každém směru liší. Anizotropie kosti je způsobena její stavbou a prostorovým uspořádáním (kompaktní/spongiosní kost; porozita; orientace osteonů atd; viz Obrázek 6 a Obrázek 7). Mechanické chování kosti je pak ovlivněno nejen jejími mechanickými vlastnostmi, ale i geometrickými charakteristikami, způsobem, mírou a frekvencí zatížení [25; 26].



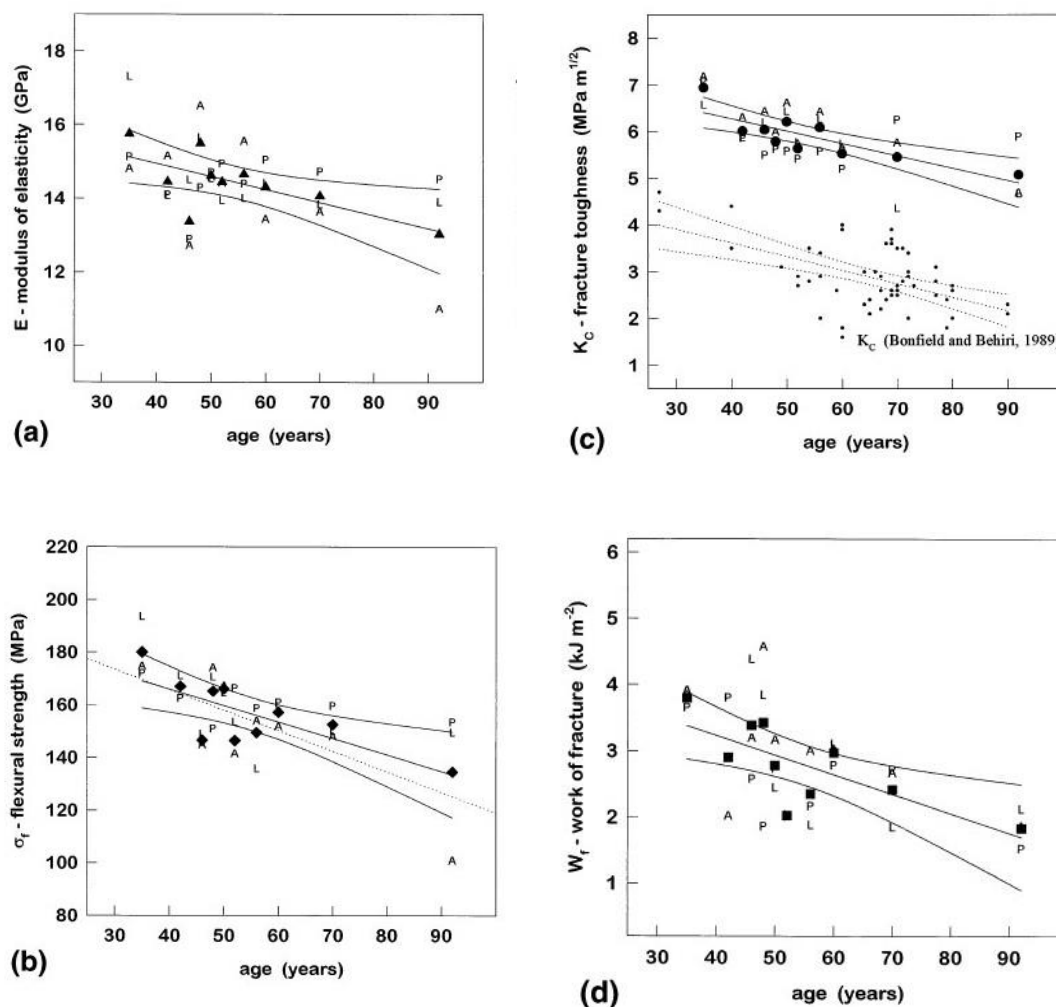
Obrázek 6 - Vliv anizotropie kosti na mechanické vlastnosti (křivka napětí-deformace) [25]



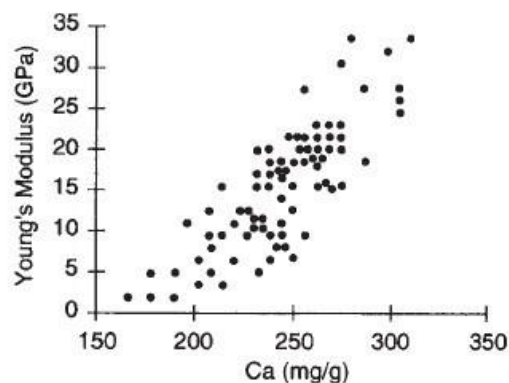
Obrázek 7 - Křivka napětí-deformace pro kompaktní a spongiosní (trabekulární) kost s různými hodnotami hustoty [26]



Na výsledky mechanických zkoušek má dále vliv i fyzický stav pacienta, jeho věk, genetika, hmotnost, strava nebo životní styl. V závislosti na těchto parametrech se může lišit vnitřní struktura kostí, obsah minerálu, porozita nebo zdánlivá hustota kosti. S věkem se obecně snižuje modul pružnosti, absorpce deformační energie a lomová houževnatost kosti. Z jednoosých zkoušek je zřejmý vliv věku na mechanické vlastnosti kosti (viz Obrázek 8). Se změnou modulu pružnosti jsou spojeny i změny v minerálním složení, které mají vliv i na další mechanické vlastnosti jako pevnost a tvrdost (viz Obrázek 9). Je zřejmé, že všechny zmíněné vlivy jsou mezi sebou vzájemně propojeny [27].



Obrázek 8 - Vliv věku pacienta na mechanické vlastnosti kosti [27]  
 a) modul pružnosti  $E$  [GPa]; b) pevnost v ohybu  $\sigma_f$  [MPa]  
 c) lomová houževnatost  $K_c$  [ $\text{MPa m}^{1/2}$ ]; d) práce do destrukce  $W_f$  [ $\text{kJm}^{-2}$ ]

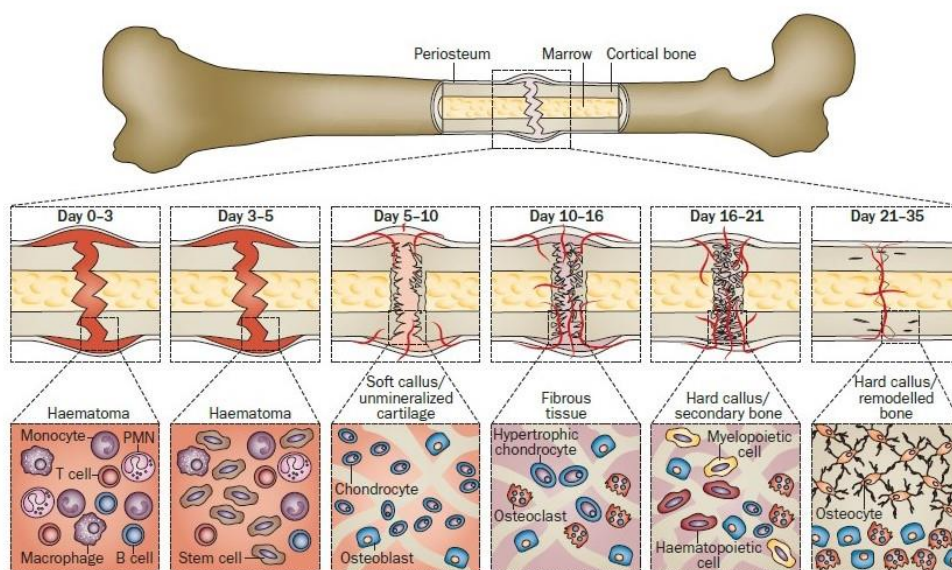


Obrázek 9 - Závislost modulu pružnosti na koncentraci vápníku v kostní tkáni [26]

### Defekty kostí a proces hojení

Mechanická zátěž kosti přesahující její mezní hodnoty může vést k porušení a praskání tkáně až k její zlomenině (fraktuře). Zlomeniny kosti lze rozdělit na úrazové, únavové a na patologické. Dle počtu úlomků kosti můžeme zlomeniny dělit na dvou-, tří-, čtyř-úločkové a tříštivé. Kostí jsou v těle namáhány tlakem, tahem, ohybem, krutem i smykem, ale nejčastěji dochází ke kombinovanému namáhání. Fraktura kosti může vzniknout i jejím cyklickým zatěžováním, pak hovoříme o tzv. únavové zlomenině. Dojít k ní může po zvýšené mechanické námaze působící opakovaně po delší dobu. Namáhání vede k únavě okolních svalů, nefyziologickému zatěžování a následné zlomenině. Je-li kost oslabena nějakou z nemocí může dojít k její zlomenině i bez působení většího mechanického zatížení, v tu chvíli mluvíme o zlomenině patologické. Nejčastější příčinou patologické zlomeniny je nádorové onemocnění kosti nebo osteoporóza, která je způsobena nedostatkem estrogenu. Důsledkem je vznik většího množství osteoklastů, které zůstávají déle aktivní a zvyšují tak odbourávání kosti a úbytek kostní hmoty.

Kost se po celý náš život odbourává a znovu formuje. Díky tomuto procesu remodelace je kost schopna se sama hojit. Hojení fraktury rozdělujeme na primární a sekundární. K primárnímu (přímému) hojení dochází, je-li zlomová mezera menší než 0,1 mm a místo zlomeniny je pevně stabilizováno. Zlomenina podléhá přirozené remodelaci kosti až dojde k úplnému zahojení [28]. Častěji však zlomenina prochází sekundárním (nepřímým) hojením, během kterého se zlomenina regeneruje postupným procesem, který sestává z tvorby hematomu, tvorby kalusu (sekundárního svalku), jeho mineralizace a přestavby kosti (viz Obrázek 10). Porušené cévy v okolí zlomeniny vytváří v místě zranění hematoma a uvolňované látky vyvolávají v těle zánět. Mezenchymální buňky mají snahu zastavit zánět, syntetizují matrici chrupavky a vytváří kolem zlomeniny měkký (chrupavčitý) kalus. Diferenciací mezenchymálních buněk na osteoblasty začíná proces remodelace, měkký kalus se přeměňuje na tvrdý a dochází k tvorbě nové kostní tkáně [29; 30; 31].



Obrázek 10 - Proces hojení zlomeniny kosti [30]

Pokud defekt kosti dosáhne kritické velikosti, kdy už se kost nezvládá seberegenerovat, je třeba tomuto přirozenému procesu hojení pomoci chirurgickým zákrokem. Kritický defekt je extrémním stavem při hojení kostí, který může být způsoben vysokoenergetickou rozsáhlou zlomeninou, nemocí, vývojovými deformacemi, resekci tumoru nebo osteomyelitidou [28]. Běžnou metodou podpory nedostatečného procesu regenerace kosti je v dnešní době tzv. spongioplastika neboli aplikace kostního štěpu za účelem vyplnění kostního defektu. Dále je možná osteosyntéza neboli použití vnějších či vnitřních prvků k fixaci částí zlomené kosti (pomocí dlah a šroubů). Tyto možnosti však přináší řadu komplikací už během operace (složitá invazivní metoda), ale i po operaci (infekce, vznik zánětu atd). Řešením těchto komplikací by bylo provedení spongioplastiky méně invazivní metodou za použití biotolerantního materiálu s biomechanickými vlastnostmi blízkými kosti samotné.

## 1.2 Materiály vhodné pro náhradu kostní tkáně

Materiály, které jsou určeny ke kontaktu s živou tkání označujeme jako biomateriály. Takový materiál byl v roce 1976 definován jako neživý materiál používaný v zdravotnickém prostředí, určený pro interakci s biologickými systémy. Později byla tato definice přeformulována na materiály určené pro interakci s biologickými systémy pro léčbu, augmentaci, nebo náhradu jakékoliv tkáně, orgánu či tělesné funkce [10].

### 1.2.1 Vývoj biomateriálů

Biomateriály pro náhradu kostní tkáně lze rozdělit dle jejich původu na přírodní kostní štěpy (autologní, alogenní a xenogenní), kostní náhrady biologického původu (demineralizovaná kostní matrice, kostní minerál, korál) a syntetické kostní náhrady [28; 32]. Jejich vývoj je možné rozdělit do tří generací: bioinertní materiály (první generace), bioaktivní a biologicky odbouratelné materiály (druhá generace) a materiály určené ke stimulaci specifických buněčných odpovědí na molekulární úrovni (třetí generace) [33].

Při vývoji materiálů pro náhradu kostní tkáně **první generace** byl kladen důraz především na dosažení vhodné kombinace fyzikálních vlastností, které by odpovídaly

vlastnostem nahrazené tkáně s minimální toxickou odezvou u hostitele [34]. Prvními úspěšně používanými materiály byly kovy a jejich slitiny. V ortopedických aplikacích jako první uplatnění našly nerezové oceli (316L) a slitiny na bázi kobaltu a chromu (CoCrMo). Později byly do praxe zavedeny náhrady z titanu a titanové slitiny (Ti4Al6V). Dalšími materiály první generace, které našly uplatnění jsou keramika (oxid hlinitý, oxid zirkoničitý) a dále polymery (polymethylmethakrylát – PMMA nebo UHMWPE) [10; 33; 34].

Pro **druhou generaci** materiálů je typický vývoj schopnosti bioaktivních materiálů interagovat s biologickým prostředím za účelem zvýšení biologické odezvy. Hlavními zástupci druhé generace jsou bioaktivní skla (BG), sklo-keramika a cementy – kalcium fosfát (CaP). Tyto materiály jsou často používány na povlakování kovových náhrad, které nejsou bioaktivní. V druhé fázi vývoje nových materiálů byla pozornost věnována jejich schopnosti podléhat degradaci, zatímco se okolní tkáň regeneruje a hojí. Do této skupiny patří biodegradovatelné polymery syntetického i přírodního původu jako například polyglykolid (PGA), polylaktid (PLA) nebo polykaprolakton (PCL) [33].

Biomateriály **třetí generace** mají být novými materiály, které jsou schopné stimulovat specifické buněčné reakce na molekulární úrovni. Tyto materiály je také možné využít jako lokální nosiče biochemických faktorů a léčiv (např. antibiotik). Třetí generace biomateriálů se objevila přibližně ve stejnou dobu, kdy se začaly vyvíjet scaffoldy pro aplikace tkáňového inženýrství [33; 34; 35].

## 1.2.2 Požadované vlastnosti

Materiály, které přichází do kontaktu s lidským tělem musí být podrobovány mnoha testům a musí splňovat řadu požadavků na jejich biomechanické vlastnosti.

### 1.2.2.1 Biokompatibilita

Jedním z nejdůležitějších kritérií pro biomateriály je jejich přijetí a snášenlivost v tělním prostředí, biokompatibilita. Tyto materiály nesmí být toxické, nesmí negativně ovlivňovat buňky a po jejich implementaci nesmí vyvolávat protizánětlivou reakci organismu. Nutná je také jejich cytokompatibilita, tzn. že musí být kompatibilní s okolními buňkami a nesmí nijak neomezovat jejich funkci, adhezi ke scaffoldu a pohyb do struktury scaffoldu [10].

### 1.2.2.2 Biodegradabilita

Scaffoldy jsou ve většině případů používány jako dočasná opora tkáně, ne jako permanentní implantát. Proto musí být biodegradabilní a produkty jejich degradace musí být netoxické a biokompatibilní stejně jako materiál samotný. K destrukci materiálu nesmí dojít dříve, než splní svou podpůrnou funkci a nahradí ho nově vytvořená tkáň, ale zároveň nesmí v těle zůstat déle, než je nutné a bránit tak růstu nové tkáně [10].

### 1.2.2.3 Biologické vlastnosti

Biomateriály vhodné pro scaffoldy musí být osteoinduktivní, osteokonduktivní a mít schopnost osteointegrace. Funkcí osteoinduktivních materiálů je indukovat růst a vývoj kosti. Osteokonduktivita značí vlastnost materiálu umožňující růst kosti po jeho povrchu nebo prorůstání kosti do jeho pórů. Osteointegrace je popsána jako přímé ukotvení implantátu tvorbou kostní tkáně kolem implantátu [36].

### 1.2.2.4 Vhodné mechanické vlastnosti

Mechanické vlastnosti scaffoldů jako např. tvrdost, pevnost, ohebnost apod. spolu s jejich strukturou a stavbou by měla být co nejvíce podobná kostní tkáni a přirozenému

prostředí kostních buněk. Mimo mechanické vlastnosti je důraz kladen na strukturu scaffoldů, která musí být vhodná pro cílenou implantaci do *in vivo* systému. Nutné je najít rovnováhu mezi mechanickými vlastnostmi materiálu a vlastnostmi podporující přijetí materiálu v tělním prostředí [10].

#### 1.2.2.5 Nosiče léčiv

Výhodou materiálů pro přípravu scaffoldů je možnost navázat aditivní látky, zejména antibiotika a stát se tak lokálním nosičem léčiv přímo v místě zranění. Ideální nosič antibiotik by měl zajistit účinnější dodávání vyšších hladin antibiotik do místa infekce, a přesto minimalizovat riziko systémové toxicity spojené s tradičními metodami intravenózních antibiotik [37; 38].

#### 1.2.3 Kostní cementy

Kostní cementy jsou materiály skládající se z práškové a kapalně fáze, které po smíchání vytvoří plastickou pastu, která je schopna se sama vytvrdit po zavedení do tělního prostředí. Tyto materiály jsou tvarovatelné, což zajišťuje dokonalé uchycení v místě implantátu a dobrý kontakt kosti a materiálu i při geometricky složitých defektech. Po vytvrzení cementu může materiál tvořit pevnou mechanickou podporu. Kostní cementy musí splňovat všechny výše zmíněné vlastnosti biomateriálů (viz kapitola 1.2.2), aby mohly být použity v tělním prostředí. Navíc by kostní cement měl mít tyto vlastnosti:

- snadná manipulovatelnost
- injekční aplikovatelnost,
- schopnost vytvrzení při tělní teplotě,
- nízká teplota při vytvrzování,
- během vytvrzení nedochází ke smršťování, rozpadu a pH je neutrální,
- odpovídající mechanické vlastnosti,
- radioopacita (nepropustnost RTG záření).

Ideální cement, který by splňoval všechny tyto vlastnosti neexistuje a všechny dnes používané cementy mají jisté nevýhody a omezení. Nejčastěji používané cementy můžeme rozdělit do dvou skupin na akrylové kostí cementy a na kalcium fosfátové cementy (CPC) [39].

##### 1.2.3.1 Akrylové kostní cementy

Akrylové kostí cementy (ABC) jsou polymerní materiály, které se vytvrzují polymerační reakcí a tvoří tak stabilní a nevstřebatelný materiál. ABC se připravují smícháním kapalně fáze (methylnmethakrylát – MMA) a práškové fáze (polymethylnmethakrylát – PMMA). Výsledný cement vykazuje velmi dobré mechanické vlastnosti a používá se k dosažení mechanické stability. ABC jsou široce používány v ortopedické chirurgii, zejména při artroplastice (fixace kloubní protézy na kost). Akrylové cementy se při artroplastice používají v kombinaci s obroběnými kovovými komponentami bez povrchových uprav, kdy osteoinduktivní cement zajišťuje interakci cizího tělesa s okolní živou tkání. Aplikace cementu poskytuje vynikající primární fixaci a rovnoměrné rozložení zátěže mezi implantát a kost. Postupně našly ABC další uplatnění, např. při vertebroplastice a kyfoplastice s cílem stabilizovat kompresní zlomeninu obratle. ABC patří mezi nejpoužívanější kostní cementy, mají však řadu nevýhod limitující jejich použití. V některých případech dochází k aseptickému uvolnění způsobené nedostatečnou sekundární fixací nebo mechanickým selháním cementu. Dalšími nevýhodami je toxicita kapalného MMA, srážení cementu a také teplo uvolňované během vytvrzování způsobující nekrózu okolní tkáně [39].

### 1.2.3.2 Kalcium fosfátové cementy

Cementy na bázi fosforečnanu vápenatého jsou hydraulické anorganické cementy tvořeny kombinací jednoho nebo více ortofosforečnanů vápenatých (CaP) a kapalné fáze, kterou je obvykle voda nebo vodný roztok (proto hydraulické). Tato směs vytvoří pastu, která vlivem procesu rozpouštění a znovu srážení iontů tvoří krystaly a postupně tuhne [6]. CPC vynikají svou vnitřní pórovitostí, která umožňuje lokální podání léčiv nebo nosičů růstových faktorů [39]. Mezi další výhody patří jejich injektovatelnost, díky které je možné je aplikovat téměř neinvazivní metodou. Oproti ABC jsou CPC biodegradovatelné a produkty jejich degradace jsou plně biokompatibilní. CPC své uplatnění nalézají při léčbě vysoce fragmentových zlomenin, při fixaci zlomenin dlouhých kostí, při vyplňování kostních dutin nebo při podpoře regenerace kosti [40]. CPC mohou své využití nalézt při artoplastice (fixaci implantátu ke kosti) stejně jako ABC s tím rozdílem, že u CPC uvažujeme jejich plnou degradaci. Proto musí být kovové komponenty opatřeny povrchovou úpravou vhodnou pro vrůstání kostních buněk (povrchové nástříky, nebo 3D tištěné struktury [16]).

Tyto cementy vykazují výborné biologické chování. Jejich nevýhodou je však jejich křehkost a obecně nedostačující mechanické vlastnosti, které limitují jejich použití v zatěžených místech. Ukázalo se však, že příměsí polykaprolaktonových (PCL) vláken nebo dopaminu lze mechanické vlastnosti CPC výrazně zlepšit [8].

## 1.3 Adheze a její hodnocení

Mezi požadované vlastnosti kostních náhrad patří jejich vhodná mechanická charakteristika. Mezi parametry popisující mechanické vlastnosti materiálů běžně patří Youngův modul pružnosti, pevnost v ohybu, tahu či tlaku, lomová houževnatost atd. Pro posouzení, zda jsou materiály vhodné také například pro fixaci implantátu ke kosti je nutné vyhodnotit jejich míru adheze.

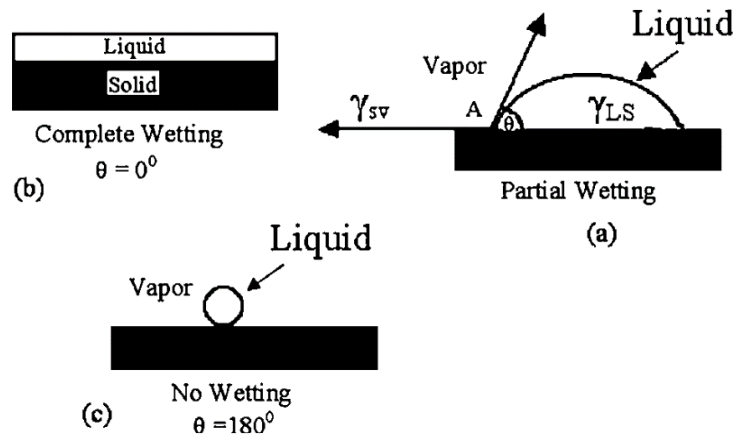
Adheze je fyzikální vlastnost, která popisuje přilnavost dvou různých materiálů. Jedná-li se o vztah dvou totožných materiálů, pak se jedná o soudržnost neboli kohezi. O adhezi mezi materiály lze mluvit v tu chvíli, kdy je potřeba vyvinout určité množství měřitelné energie k oddělení dvou povrchů odlišného chemického složení. Adhezi lze také pospat jako soustavu zahrnující adherent a adhesivum, resp. podklad a lepidlo, které tvoří mezilehlé rozhraní [41]. Jako míru adheze lze považovat (a) maximální možnou sílu potřebnou k přerušení vazby lepidlo–podklad, nebo (b) množství energie potřebné k porušení vazby. V případě, kdy je mezi materiály silná adheze, je energie potřebná k porušení vazby na rozhraní pouze zlomek celkové energie potřebné k úplnému oddělení materiálů. Většina mechanické práce se využije k deformaci materiálu, kterým je rozhraní obklopeno. Proto bude měřená energie adheze záviset na schopnosti mezi–povrchových vazeb odolávat napětí, právě tak i na míře plastické lokální deformace způsobené výše uvedeným napětím [42]. Maximální síla potřebná k přerušení spojení závisí na počáteční době kontaktu a použité normálové síle, stejně tak na rychlosti oddělování, teplotě a dalších proměnných. Účinnost však závisí na konečných vlastnostech samotného polymeru. Hlavní roli v přenosu napětí hraje drsnost povrchu a chemická interakce mezi adhezivem a adherentem [42].

### Smáčivost

Adheze vyžaduje těsný kontakt spojovaných materiálů, proto musí lepidlo podklad smáčet. Tato vlastnost je nejlépe pochopitelná budeme-li uvažovat smáčení pevného povrchu kapalinou. Smáčení je schopnost kapaliny udržovat kontakt s pevným

povrchem, který je výsledkem meziatomových interakcí, když se tyto dvě látky spojí [42; 43].

Nejběžnější metodou pozorování smáčení je měření kontaktního úhlu. Kontaktní úhel  $\theta$  je vnitřní úhel v kapce kapaliny v kontaktu s pevnou látkou (viz Obrázek 11a). Představuje energetickou rovnováhu mezi pevnou, kapalnou a plynnou fází. Je-li kontaktní úhel kapaliny v rozmezí  $0 < \theta < 180^\circ$ , považujeme povrch za smáčený. Čím je úhel smáčení menší, tím je smáčivost lepší. Extrémními případy jsou  $\theta = 0^\circ$  odpovídající dokonalému smáčení (viz Obrázek 11b) a  $\theta = 180^\circ$ , což odpovídá nulovému smáčení (viz Obrázek 11c). Nízký kontaktní úhel je nezbytnou, ale nedostatečnou podmínkou pro pevné spojení [42].



Obrázek 11 - Smáčení povrchu [42]:

a) obecný kontaktní úhel v kapce kapaliny v kontaktu s pevnou látkou v plynném prostředí; b) dokonalé smáčení; c) nulové smáčení

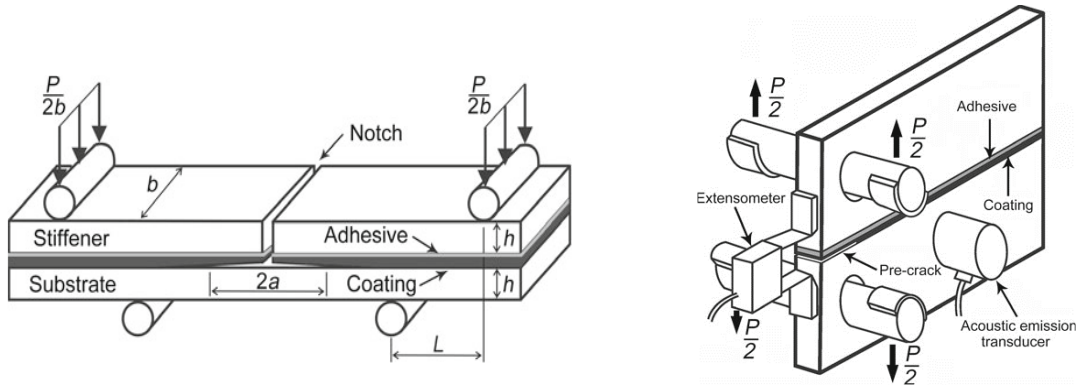
K zajištění správného smáčení a mezifázového lepení je zapotřebí ošetřit nebo očistit přilnavé povrchy a zajistit dostatečnou viskozitu lepidla, aby mohlo proudit do všech ploch lepeného povrchu. Po navázání kontaktu se musí lepidlo nechat vytvrdit, aby poskytlo potřebnou pevnost spoje. Zdrsněním povrchů před lepením zvyšuje pevnost lepených spojů. Důvodem je, že abrazivní proces odstraňuje volné vrstvy a zdrsněný povrch poskytuje určitý stupeň mechanického vzájemného blokování s lepidlem. Pro úplné smáčení (tj.  $\theta = 0^\circ$ ) musí být povrchová energie lepidla nižší než povrchová energie adherentu. Proto je primárním cílem předúpravy povrchu co nejvíce zvýšit povrchovou energii adherentu [42].

### Hodnocení adheze

Existuje několik možností, jak posoudit kvalitu lepeného spojení. Podle typů vzorků lze mechanické metody obecně rozdělit na „sendvičové“ metody a bimateriální metody. Sendvičový vzorek je konstruován vrstvením–sendvičováním povlaku do testovací struktury, zatímco bimateriální vzorek obsahuje pouze dva typy materiálů, povlak a substrát.

V praxi se k hodnocení přilnavosti adheziva používají dva různé způsoby. Zprvė lze adhezi kvantifikovat pomocí hodnocení napětí [44]. Míra adheze je definována jako maximální napětí, kterému může rozhraní podklad–lepidlo odolávat před oddělením lepidla od podkladu. Tato pevnost lze vyhodnotit například z hodnot klasické tahové zkoušky, odtrhové (pull–off) zkoušky, nebo vytahovací (pull–out) zkoušky.

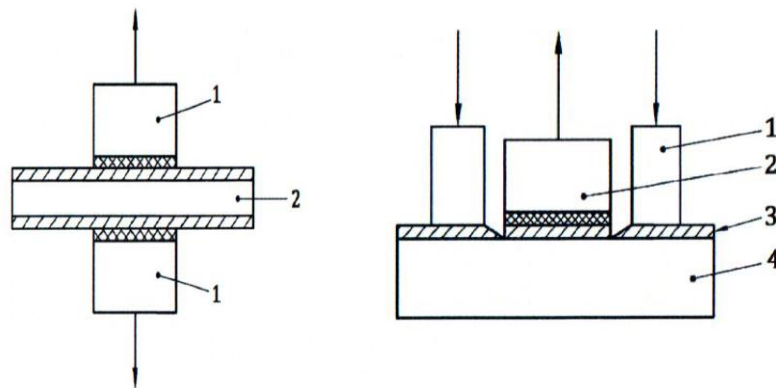
Druhou možností je hodnocení adheze pomocí mezifázové lomové houževnatosti, která je definovaná jako odolnost vůči vzniku a šíření trhliny, která úzce souvisí s množstvím energie potřebné k šíření trhliny. Mezifázová lomová houževnatost obvykle závisí na smíšeném režimu zatěžování. Pro měření lze využít například testy čtyřbodovým ohybem (viz Obrázek 12 vlevo) nebo dvojitý konzolový nosník (Obrázek 12 vpravo). Další často využívané metody jsou popsány v dalších podkapitolách.



Obrázek 12 – Příklad experimentu k hodnocení adheze čtyř bodový ohyb (vlevo); dvoukonzolový nosník (vpravo) [44]

### 1.3.1 Odtrhová zkouška přilnavosti (pull-off)

Během odtrhové zkoušky je lepený spoj namáhán tahem silou kolmou k tomuto spoji. Odtrhovou zkoušku lze provést dle normy ČSN ISO 4624 dvěma metodami [45]. První variantou je metoda se dvěma tělísky, kdy se lepidlo aplikuje mezi tato dvě tělíska a následně jsou od sebe odtrhována (viz Obrázek 13 vlevo). Druhou variantou je metoda s jedním tělískem, kdy je zkušební tělísko přilepeno k podkladu a následně odtrhováno (viz Obrázek 13 vpravo). V průběhu zkoušky je zaznamenávána vyvolaná síla a posunutí.

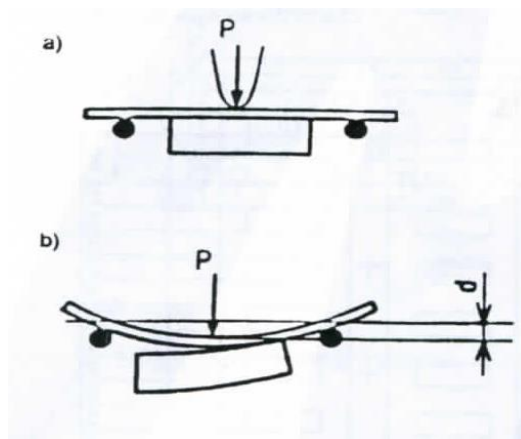


Obrázek 13 – Odtrhová zkouška: metoda se dvěma tělísky (vlevo); metoda s jedním tělískem (vpravo) [45]



### 1.3.2 Třibodová ohybová zkouška

Zkoušku popisuje norma ČSN EN 1966 [46]. Zkušební vzorek sestávající ze dvou materiálů – podkladu a lepidla, se během této zkoušky podrobuje ohybovému namáhání. Lepidlo musí být nanášeno ve tvaru bloku s rovnoběžnými stěnami do středu spodní plochy podkladu (viz Obrázek 14). Během zkoušky je zaznamenávána síla a průhyb vzorku.



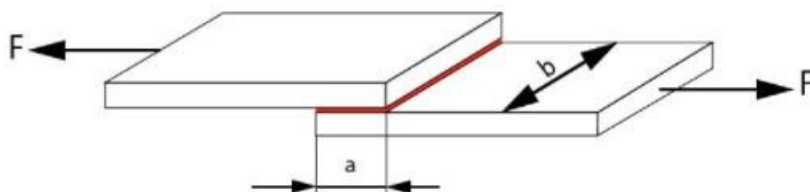
Obrázek 14 - Třibodová ohybová zkouška [46]

a) zkušební těleso před namáháním;

b) porušení slepu při zkoušce v mezipovrchové zóně

### 1.3.3 Smyková zkouška

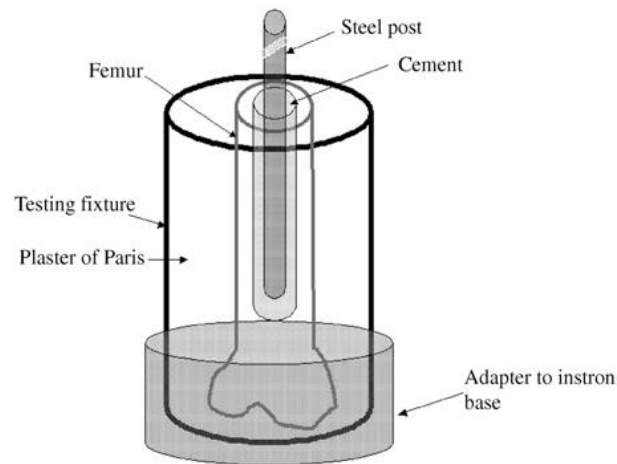
Provedení zkoušky popisuje norma ČSN EN 1465 [47]. Zkušební tělesa (viz Obrázek 15) jsou smykově namáhána konstantní rychlostí ve směru rovnoběžném se spojem. Výsledkem zkoušky je maximální síla nebo napětí při porušení spoje.



Obrázek 15 - Smyková zkouška přeplátovaných sestav [47]

### 1.3.4 Pull-out test

Zkoušené systémy můžeme považovat za jistou formu sendvičové metody, kdy vytváříme dvě rozhraní adhezivum–adherent. Zkoušenými vzorky jsou válečky, které jsou fixované adhezivem v základním materiálu (viz Obrázek 16). Principem zkoušky je vytahování vzorku z adheziva silou ve směru rovnoběžném s rozhráním, vzorky jsou zatěžované pouze smykem. Během testů je průběžně zaznamenávána zatěžovací síla a změna polohy.



Obrázek 16 - Příklad pull-out testu [7]

## 2 Cíle práce

Kostní cementy v dnešní době poutají velkou pozornost díky svému potenciálnímu širokému uplatnění. Akrylové kostní cementy (ABC, zejména PMMA) nalézají mimo jiné uplatnění při fixaci implantátů ke kosti díky svým výborným mechanickým vlastnostem, avšak obrovskou nevýhodou ABC je jejich neschopnost degradace v tělním prostředí. Z tohoto hlediska se zdá výhodnější použití CPC, které naopak vynikají svými výbornými biomechanickými vlastnostmi. Z předchozích studií známe základní mechanické vlastnosti CPC [8]. Neznámým parametrem je však jejich adheze ke kosti, kterou je nutné v této aplikaci cementů znát. Jak již bylo zmíněno v kapitole (1.2.3), akrylové cementy se při artoplastice většinou používají v kombinaci s obroběnými implantáty (bez povrchové úpravy). ale při aplikaci CPC je nutné použít implantáty s povrchovou úpravou vhodnou pro vrůstání buněk.

Tato práce se zabývá hodnocením adheze CPC ke kosti. Hodnocenými materiály byly 4 varianty kostního cementu na bázi fosforečnanu vápenatého modifikovaného různými příměsemi, u kterých bylo prokázáno, že zlepšují jeho mechanické vlastnosti [8]. Jako kontrolní materiál byl vybrán již běžně používaný PMMA cement. Použity byly dva typy implantátů lišící se v povrchové úpravě. Zvoleny byly takové úpravy, které jsou vhodné pro vrůstání kostních buněk – plasmový hydroxyapatitový (HA) nástřík a 3D tištěná trabekulární struktura. Materiál implantátů a jejich povrchové úpravy byly vybrány jako model pro běžně používané povrchy náhrad, simulují skutečné implantáty.

Prvním z cílů práce bylo určení parametrů, které popisují míru adheze jednotlivých materiálů. Pro popis adheze byly zvoleny následující parametry:

1. mez pevnosti ve smyku,
2. posunutí implantátu při porušení adheze (při dosažení meze pevnosti ve smyku),
3. práce adhezních sil,
4. účinnost.

Druhým cílem bylo pomocí statistické analýzy potvrdit či vyvrátit tři hypotézy, které popisují vztah mezi mírou adheze CPC a PMMA, vliv aditiv CPC a vliv povrchové úpravy implantátu na výslednou adhezi. Pro porovnání cementů byly vysloveny tyto hypotézy:

- I. CPC dosahují stejné míry adheze jako PMMA,
- II. aditiva základního CPC nezhorší adhezi,
- III. míra adheze za použití 3D tištěného implantátu s trabekulární strukturou bude vyšší.

### 3 Experimentální část

Pro dosažení stanovených cílů byla provedena experimentální studie k hodnocení adheze (viz kapitola 1.3). Pro experimentální část této práce byly vybrány pull-out testy, jejichž podmínky realizace jsou velmi blízké podmínkám klinického využití CPC při artoplastice. Principem zkoušek bylo vytahování implantátů fixovaných cementem *ex vivo* v prasečích femurech.

#### 3.1 Materiály a příprava vzorků

Celkem byla adheze hodnocena u 5 různých typů cementů. Prvním typem cementu (značený BA) byl základní cement na bázi fosforečnanu vápenatého skládající se ze dvou složek – kapalnou složkou tvořil triblokový kopolymer PLGA-PEG-PLGA (CEITEC VUT Brno, Ing. Klára Lysáková) a pevnou část zastupoval  $\alpha$ -trikalcium fosfát ( $\alpha$ -TCP) (CEITEC VUT Brno, MSc. E. Montufar). Výsledný cement byl smíchán pomocí elektrického šlehače SPEED STIRRER (Carl Roth GmbH, Německo). V dřívějších studiích byl zjišťován vliv stylu míchání složek (míchání ručně/elektrické šlehání) na porozitu a mechanické vlastnosti výsledného cementu. Bylo zjištěno, že cementy šlehané elektrickým šlehačem vykazují hodnoty porozity odpovídající doporučené hodnotě póru pro správný vrůst kostních buněk (100–300  $\mu$ m) [8].

Druhým typem (značený ATB) byl základní cement s příměsí antibiotik vancomycin (Mylan, Francie). Směs byla připravena nejprve smícháním antibiotik spolu s roztokem kopolymeru pomocí homogenizeru, následně byl přidán  $\alpha$ -TCP. Výsledná směs byla smíchána opět pomocí elektrického šlehače.

Třetím typem adheziva (značený FBR) byl základní cement s příměsí polykaprolaktonových (PCL) vláken (InoSPIN, InoCure, Česká republika). Vláknata byla nejprve vsypána do kopolymeru, následně byl přidán  $\alpha$ -TCP a celá směs byla smíchána elektrickým šlehačem.

Čtvrtým adhezivem (značený DOP) byl základní cement obohacený o dopamin hydrochlorid (Sigma-Aldrich, Německo) a jodičnan sodný (Penta s.r.o., Česká republika). Příměsi byly opět nejprve vsypány do kopolymeru a po přidání  $\alpha$ -TCP byla celá směs smíchána šlehačem.

Jako kontrolní materiál byl zvolen běžně používaný cement polymethylmethakrylát (PMMA), Palacos LV (Heraeus, Německo).

Další komponentou potřebnou pro provedení pull-out testů byly implantáty vyrobené z titanové slitiny Ti6Al4V ELI (ProSpon s.r.o., Česká republika), která se běžně používá pro výrobu implantátů nebo protéz. Implantáty měly tvar válečků o průměru 4 mm a délce 8 mm s vnitřním závitem M2. Testovány byly dva různé typy implantátů lišící se ve způsobu výroby a svou povrchovou strukturou. Jedním typem byl implantát s plasmovým HA nástřikem (značený typ I), druhým typem byl 3D tištěný implantát s povrchovou trabekulární strukturou (značený typ II). Obrázek níže zobrazuje oba typy implantátů (viz Obrázek 17).



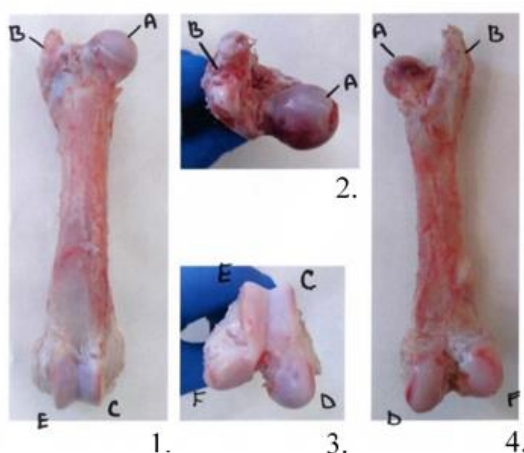
Obrázek 17 - Titanové implantáty: implantát typu I – s HA nástřikem (vlevo);  
implantát typu II – 3D tištěný s trabekulární strukturou (vpravo)

Značení skupin odpovídá typu použitého cementu, resp. použité příměsi a typu implantátu (viz Tabulka 2).

Tabulka 2 - Přehled značení skupin vzorků pro pull-out testy

BA	základní cement bez příměsi	DOP	cement s příměsí dopaminu
ATB	cement s antibiotiky	PMMA	polymethylmethakrylát
FBR	cement s vlákny		
I	implantát s HA nástřikem	II	3D tištěný implantát

Na experimenty bylo použito 25 prasečích femurů (značené 1–25), které byly před zpracováním hluboce zmrazeny. V kosti bylo potřeba využít taková místa, kde by všechny implantáty byly uchyceny do vždy strukturálně stejné homogenní části kosti, ideálně do spongiosní tkáně, která se vyskytuje převážně v jejich koncích (epifýzách). Proto ze všech kostí byla odříznuta hlavice femuru, dále proximální trochanter a oba epikondyly spolu s kondyly, které byly ještě rozděleny na poloviny – z každé kosti bylo odebráno 6 různých částí (značených A-F, viz Obrázek 18). Některým z kostí na distálním mediálním epikondylu chyběly kondyly (značeno D), které byly nahrazeny epikondyly bez kondylů (značeno DX). Zastoupení částí kostí je znázorněno v tabulce (viz Příloha 1).



Obrázek 18 - Značení částí kostí pro umístění implantátů do pravého femuru (1.-zpředu, 2.-shora, 3.-zdola, 4.-zezadu)

Do odříznutých částí kostí byly do spongiosní tkáně vyvrtány otvory o hloubce 9 mm a průměru 5 mm tak, aby byl implantát v otvoru uložen s vůlí a vznikl tak prostor, který bude vyplněný cementem. Do otvorů byl následně injekční stříkačkou vpraven cement o objemu celého otvoru a do něj byl vtlačěn implantát tak, aby byl celý jeho povrch obklopen cementem s výjimkou vrchní plochy válečku (viz Obrázek 19). Tímto způsobem bylo dosaženo uložení jako při klinické aplikaci cementu. Takto připravené vzorky byly po dobu 3 dnů (72 hod.) vytvrzovány v inkubátoru, kde byla udržována konstantní teplota 37 °C a 100 % vlhkost zajištěna nasyceným vodným roztokem modré skalice (Penta, ČR), aby došlo k zabránění případného rozvoje bakterií [48].



*Obrázek 19 - Zkoušený vzorek  
(implantát fixovaný v kosti cementem)*

Vzorky byly do skupin rozděleny tak, aby byl rovnoměrně zastoupen každý typ cementu i implantátu ve všech typech kostní tkáně a všech jejich částech kostí. Jak bylo rozdělení navrženo je zřetelné v příloze (viz Příloha 2). Celkem bylo testováno 107 vzorků v 10 skupinách.

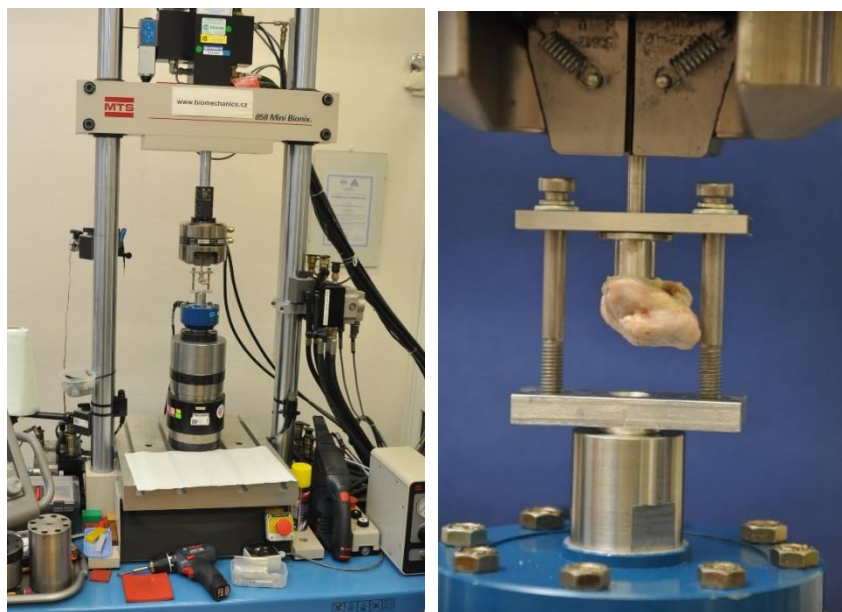
## **3.2 Metodika**

Metodika experimentu byla založena na stanovení maximální síly potřebné pro porušení adheze při pull-out testech, které byly popsány kapitole výše (viz 1.3.4). Realizace zkoušek probíhala v laboratoři mechanických zkoušek na ČVUT v Praze, která je zkušební laboratoří č. 1379 akreditovanou Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. splňující požadavky mezinárodní normy ČSN EN ISO/IEC 17025.

### **3.2.1 Použitá zařízení**

Testy probíhaly na testovacím systému MTS Mini Bionix (MTS, USA) (metrologické označení PM 00, třída přesnosti 0,5; viz Obrázek 20 vlevo). Použit byl snímač s rozsahem 2500 N (PM00/19) a další speciální přípravky pro pull-out testy. Z kalibračního listu bylo stanoveno, že snímač pracuje s relativní chybou max. 0,25 %.

Obrázek zobrazuje, jak byly vzorky uchyceny v zatěžovacím systému pomocí speciálních přípravků pro pull-out testy (viz Obrázek 20 vpravo).



Obrázek 20 - Testovací systém MTS Mini Bionix (vlevo);  
 uchycení vzorku do zatěžovacího systému za použití speciálních  
 přípravků pro pull-out testy (vpravo)

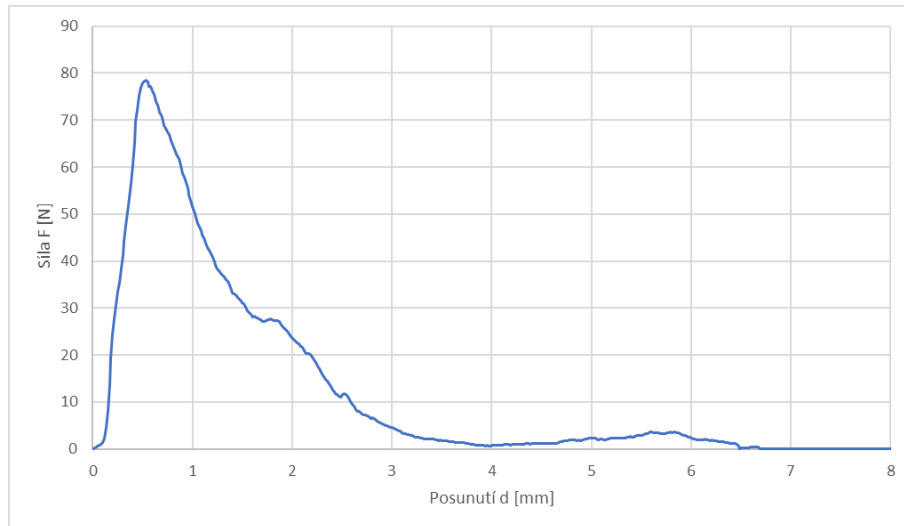
### 3.2.2 Vyhodnocované parametry

Zatěžování probíhalo až do úplného vytažení vzorků konstantní rychlostí 10 mm/min. V průběhu testů byl zaznamenáván čas, posunutí implantátu z kosti a vyvolaná síla. Z naměřených dat byl pro každý vzorek sestaven pracovní diagram, závislost síly na posunutí  $F - d$ . (viz Obrázek 21). Pro porovnání pracovních křivek byla data vzorků jedné skupiny shrnuta do jednoho diagramu (viz Obrázek 22).

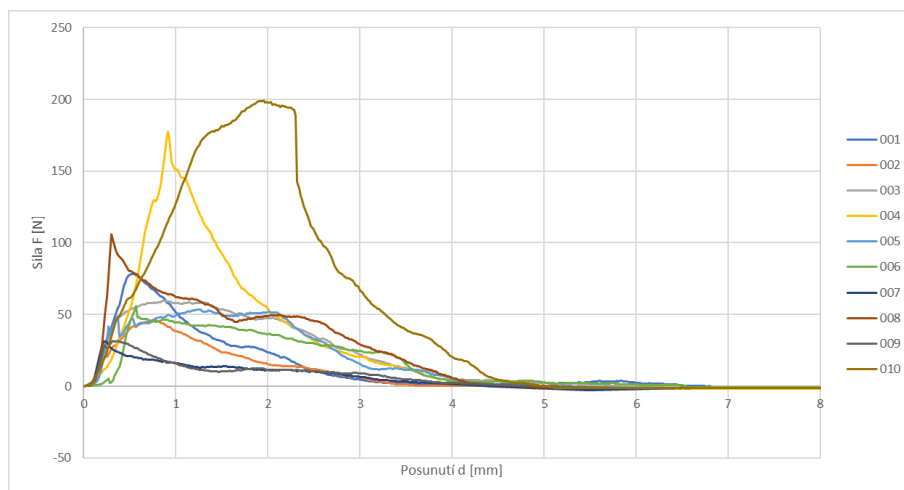
Dále byly z dat vyhodnoceny tyto parametry:

1. mez pevnosti ve smyku  $\tau$ ,
2. posunutí implantátu při porušení adheze  $d_{max}$ ,
3. práce adhezních sil  $W$ ,
4. účinnost  $W_e$ .

Parametry byly vyhodnocovány pomocí softwaru Matlab (MathWorks, USA) a veškeré grafické zpracování bylo provedeno pomocí software Microsoft Office Excel (Microsoft, USA).



Obrázek 21 - Příklad pracovního diagramu F-d (vzorek 001 skupiny BA II, 3D tištěný implantát)



Obrázek 22 – Příklad pracovního diagramu F-d celé skupiny (skupina BA II, vzorky 001–010, 3D tištěný implantát)

### 3.2.2.1 Mez pevnosti ve smyku $\tau$

Pro každý zkoušený vzorek byla vyhodnocena maximální síla potřebná pro porušení adheze  $F_{max}$ , na jejímž základě byla vypočtena mez pevnosti ve smyku jako poměr této maximální síly a smykové plochy dle vzorce:

$$\tau = \frac{F_{max}}{S} [MPa], \quad (3.1)$$

$$S = \pi \cdot d_r \cdot l [mm^2], \quad (3.2)$$

kde  $d_r$  odpovídá průměru smykové plochy,  $l$  je délka implantátu a  $S$  značí smykovou plochu soustavy implantát-cement-kost. Průměr smykové plochy byl určen dle:

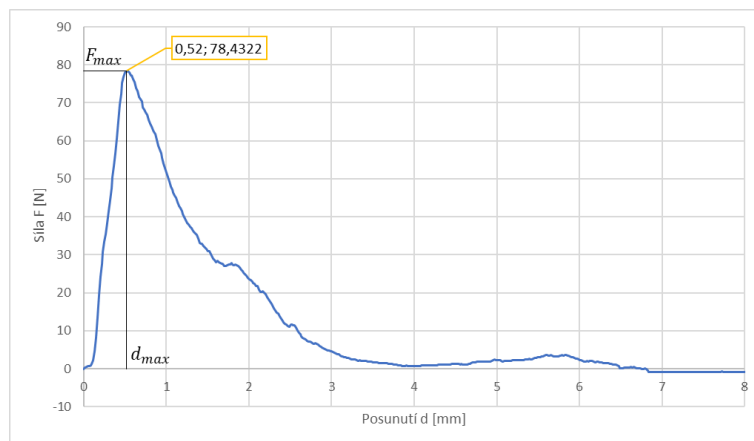


$$d_r = d_i + \frac{1}{2}t_c \text{ [mm]}, \quad (3.3)$$

kde  $d_i$  značí průměr implantátu a  $t_c$  odpovídá tloušťce vrstvy cementu.

### 3.2.2.2 Posunutí při porušení $d_{max}$

Posunutí při porušení odpovídá hodnotě posunutí, kterého bylo dosaženo při vyvolání maximální síly potřebné k porušení adheze  $F_{max}$ . Tento parametr ukazuje k jak velké dislokaci implantátu dojde, než se poruší adheze systému a dojde k uvolnění implantátu. Grafické znázornění parametru ukazuje graf níže (viz Obrázek 23).

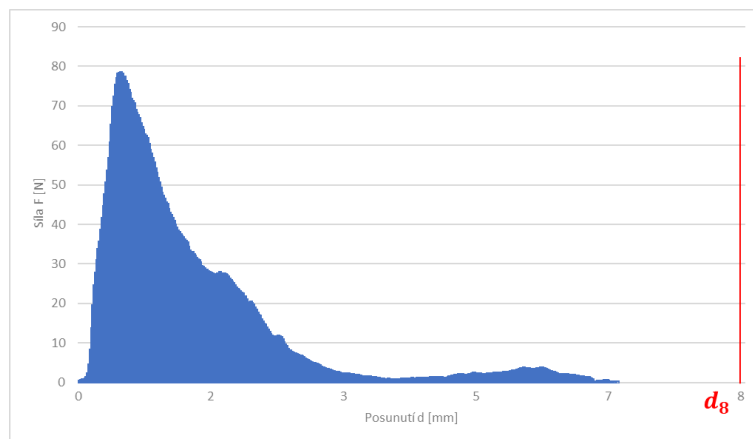


Obrázek 23 - Příklad grafického vyhodnocení maximální síly potřebné k porušení adheze a posunutí při porušení

### 3.2.2.3 Práce adhezních sil $W$

Práce adhezních sil je definovaná jako plocha pod křivkou síla–posunutí ( $F - d$ ) až do úplného vytažení vzorku, tedy do 8 mm posunutí ( $d_8$ ) (viz Obrázek 24). Fyzikálně tento parametr lze vysvětlit jako práci, kterou je nutno vynaložit, aby došlo k porušení adheze. Tuto práci lze vypočítat pomocí vzorce:

$$W = \int_0^{d_8} F \cdot dd \text{ [mJ]} \quad (3.4)$$



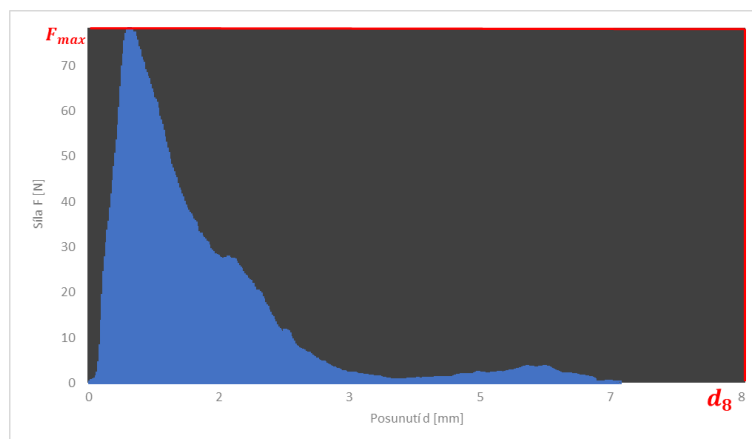
Obrázek 24 – Příklad vyhodnocení práce adhezních sil – plocha pod křivkou  $F-d$  (vzorek 001 skupiny BA II, 3D tištěný implantát)

### 3.2.2.4 Účinnost $W_e$

Posledním vyhodnocovaným parametrem byla účinnost definovaná jako podíl práce adhezních sil  $W$  a součinu maximální síly  $F_{max}$  s posunutím odpovídající úplnému vytažení vzorku  $d_8$ . Výpočet odpovídá následujícímu vztahu:

$$W_e = \frac{W}{F_{max} \cdot d_8} \cdot 100 [\%] \quad (3.5)$$

Účinnost vyjadřuje kvalitativní hodnocení spoje ukazující využití adhezních sil k udržení dvou materiálů. Graficky lze tento parametr vyjádřit jako podíl modré plochy (reprezentující práci adhezních sil) s plochou šedou (viz Obrázek 25).



Obrázek 25 - Příklad vyhodnocení účinnosti (vzorek 001 skupiny BA II, 3D tištěný implantát)

## 3.3 Statistické metody

Pro interpretaci naměřených dat je vhodné provést statistickou analýzu výběrových dat získaných měřeními náhodné veličiny experimentu. Na základě této analýzy lze mimo jiné srovnat sledované vlastnosti v rámci dvou nebo více experimentálních skupin. Tyto úlohy mají svá specifika, kterým je nutné se při hodnocení věnovat.

Prvním krokem analýzy je vždy formulace nulové hypotézy ( $H_0$ ), hypotéza jejíž platnost potvrzujeme, a k ní příslušné hypotézy alternativní ( $H_1$ ), která platnost  $H_0$  popírá. Následnými statistickými testy buď potvrdíme, nebo vyvrátíme námi stanovenou nulovou hypotézu.

V druhém kroku určíme hladinu významnosti testu (značíme  $\alpha$ ), která odpovídá maximální možné pravděpodobnosti chyby 1. druhu, která vznikne při zamítnutí  $H_0$ , když platí. Hodnotu  $\alpha$  volíme zpravidla z intervalu 0,01–0,5. O platnosti nulové hypotézy můžeme rozhodovat pomocí tzv.  $p$ -hodnoty, kterou lze definovat jako nejmenší hladinu významnosti testu, při níž na daných datech ještě zamítneme  $H_0$ . Rozhodování o platnosti či neplatnosti  $H_0$  probíhá tak, že výslednou  $p$ -hodnotu testu porovnáme se zvolenou hladinou významnosti s tím, že  $H_0$  zamítáme ve chvíli, kdy  $p$ -hodnota klesne pod tuto hladinu [49].

Posledním krokem je formulace závěru testování, kterým je buď potvrzení  $H_0$ , nebo zamítnutí nulové hypotézy  $H_0$  ve prospěch hypotézy alternativní  $H_1$ . Fakt, že nezamítáme hypotézu  $H_0$  neznamená, že naměřená data tuto hypotézu potvrzují, ale pouze to, že ji nevyvracejí. Zamítnutí hypotézy  $H_0$  je rozhodnutím o tzv. statistické významnosti rozdílu dvou či více výběrových souborů náhodné veličiny. Ta však nemusí odpovídat věcné významnosti [50]. Zatímco statistická významnost rozdílu říká pouze to, že byla zamítnuta nulová hypotéza, věcná významnost vypovídá o tom, k jak velkému rozdílu (efektu) dochází.

Při porovnávání dvou či více skupin dat nulová hypotéza  $H_0$  zpravidla říká, že mezi středními hodnotami datových výběrů je nulový rozdíl. Je-li  $H_0$  zamítnuta ve prospěch  $H_1$ , získáváme pouze informaci o tom, že rozdíl mezi středními hodnotami není nulový a mezi skupinami existuje statisticky významný rozdíl. Ale ne každý významný výsledek značí jev, který by byl v běžném životě patrný. Proto je vhodné doplnit informaci o statistické významnosti rozdílu informací o věcné významnosti, která by popisovala stupeň odchylky (velikost efektu) od nulové hypotézy  $H_0$  [51].

### 3.3.1 Statistické testy

Použití statistických testů, resp. jejich výběr, pro potvrzování statistických hypotéz je podmíněno několika předpoklady, které je nutné splnit. Pro výběr vhodného testu je nutné ověřit tyto předpoklady:

1. Nezávislost náhodných veličin
  - ověření, že v datech není žádný trend (například klesající či rostoucí závislost)
2. Normalita hodnot
  - ověření, že data jsou z normálního (Gaussova) rozdělení
  - Shapiro-Wilkův test (S-W), Z-skóre zešikmení, špičatost, Kolmogorov-Smirnov test, grafické metody (Q-Q graf) atd.
3. Extrémní odchylky
  - ověření, zda data neobsahují data s extrémními hodnotami
  - Grubbsův test, Dixonův test atd.
4. Shodnost rozptylů (homoskedasticita)
  - všechny prvky pocházejí ze stejného rozdělení s konstantním rozptylem
  - Levenův test, Barlettův test atd.

#### 3.3.1.1 Parametrické testy

Parametrické testy jsou založeny na statistických charakteristikách (parametrech) výběrového souboru a použití těchto testů je podmíněno splněním výše uvedených předpokladů. Mezi párové parametrické testy patří například t-test nebo F-test. Porovnáváme-li více souborů lze použít například Fisherův Least Significant Difference test (LSD). Tento test lze použít jak pro párové, tak i vícenásobné porovnání.

#### 3.3.1.2 Neparametrické testy

Tyto testy na rozdíl od parametrických nejsou vázány na parametry výběrového souboru ani na jeho typu rozdělení. Pro párové porovnání lze použít např. Mann-Whitney test (M-W), pro vícenásobné porovnání pak Kruskal-Wallisův test.

Použijeme-li vícenásobné porovnání, je nutné provést korekci pro snížení rizika vzniku chyby 1. druhu, která exponenciálně roste s počtem porovnání. Nejběžnější

používanou korekcí je Bonferroniho korekce, která dělí původní hladinu spolehlivosti  $\alpha$  počtem provedených porovnání.

### 3.3.1.3 Věcná významnost

Populárním měřítkem věcné významnosti je Cohenovo  $d_c$ . Výpočet hodnoty se liší dle toho, zda jsou data z normálního rozdělení či nikoliv a zda k párovému porovnání skupin používám parametrické nebo neparametrické testy.

Pro data z normálního rozdělení je pro popis střední hodnoty zpravidla používán aritmetický průměr  $\bar{x}$  a jako míra variability je používána směrodatná odchylka  $SD$ . Pak Cohenovo  $d_c$  lze vypočítat dle vztahu:

$$d_c = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{SD}, \quad (3.6)$$

kde  $\bar{x}_{1,2}$  značí průměrné hodnoty prvního a druhého datového výběru a  $SD$  značí směrodatnou odchylku populace [52].

Pokud data nejsou z normálního rozdělení, a proto na porovnání dat byly použity neparametrické testy, výpočet  $d_c$  se liší. Je-li použit například neparametrický M-W test, jehož výstupem je hodnota  $U$ , výpočet  $d_c$  vypadá následovně [52; 53]:

$$d_c = 2 \cdot \sqrt{\frac{\eta^2}{1-\eta^2}}, \quad (3.7)$$

$$\eta^2 = \frac{z^2}{n_1+n_2}, \quad (3.8)$$

$$z = \frac{U - \frac{n_1 n_2}{2}}{\sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 + 1)}{12}}}, \quad (3.9)$$

$$U = \max(U_1, U_2) \quad (3.10)$$

$$U_{1,2} = R_{1,2} - \frac{n_{1,2}(n_{1,2} + 1)}{2} \quad (3.11)$$

kde  $n_{1,2}$  je počet hodnot v datových výběrech a  $R_{1,2}$  je pořadí prvků jednotlivých výběrů ve sdruženém výběru, seřazené vzestupně dle velikosti.

Věcnou významnost/velikost rozdílu posuzujeme na základě hodnoty  $d_c$ . Cohen vymezil intervaly (viz Tabulka 3) a k nim přiřadil slovní označení [51].

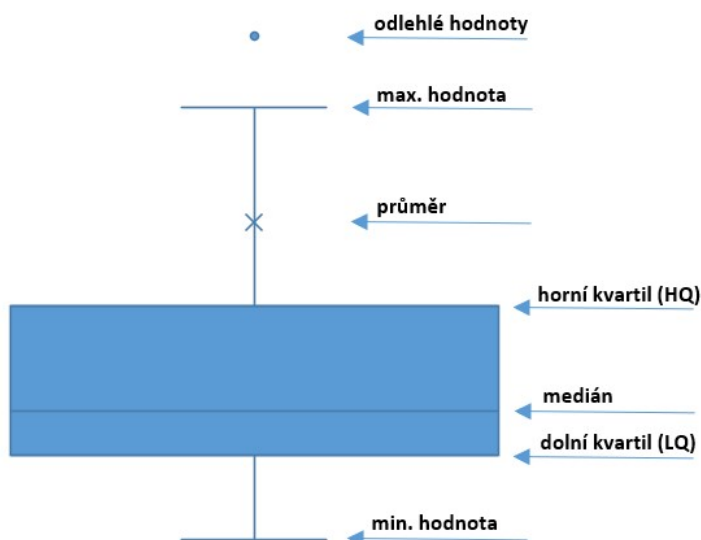
Tabulka 3 - Rozpětí hodnot Cohenova  $d_c$  a jejich slovní označení [54]

Interval	Velikost efektu
< (0,2 – 0,5)	malý
< (0,5 – 0,8)	střední
0,8 a vyšší	velký

### 3.3.2 Grafická prezentace výsledků

Pro přehlednější a názornější prezentaci výsledků je vhodné použít grafické zpracování dat jako je například krabicový graf, Q-Q graf nebo histogram, které slouží k rychlejší orientaci v datech nebo posouzení jejich charakteristik.

Krabicové grafy (box plot, Box-and-Whiskers plot) umožňují posoudit symetrii dat nebo existenci odlehlých hodnot. Hlavní část box plotu je ohraničena zdola 25 % kvantilem (také označovaný jako dolní/první kvartil – LQ) a shora 75 % kvantilem (horní/třetí kvartil – HQ). Rozdíl horního a dolního kvartilu označujeme jako mezikvartilové rozpětí (IQR), který se používá jako charakteristika rozptýlení dat. Dalším prvkem krabicového grafu je střední hodnota, která může být zastoupena mediánem, aritmetickým průměrem, nebo obojím. Medián (druhý kvartil) je v grafu značen vodorovnou čarou, zatímco aritmetický průměr značíme symbolem  $\times$ . Z krabice ve vertikálním směru vedou čáry (vousy, *whiskers*), které v případě nepřítomnosti odlehlých hodnot znázorňují nejnižší a nejvyšší hodnotu dat. Hodnoty mimo tyto úsečky považujeme za odlehlé, znázorněny bývají jako tečky. Hodnoty, které jsou více 1,5násobek mezikvartilového rozpětí pod/nad krabicí považujeme za odlehlé hodnoty a bývají značeny znaménkem plus (viz Obrázek 26), hodnoty ležící za trojnásobkem IQR lze v určitých případech považovat za extrémní hodnoty.



Obrázek 26 - Příklad krabicového grafu

### 3.4 Statistická analýza

Podle kapitoly 3.3 byla provedena statistická analýza získaných výsledků pomocí software STATGRAPHICS Centurion XV (Statpoint, USA). Každá ze skupin obsahovala 10 až 11 vzorků ( $n = 10 / n = 11$ ). Pro ověření, zda data pochází z normálního rozdělení byl použit S-W test. Normalita datových výběrů však nebyla potvrzena, což lze vysvětlit nízkým počtem vzorků ve skupině. Normalita nebyla zřejmá ani z Q-Q grafů. Z důvodu vyvrácení předpokladu normálního rozdělení volíme pro prezentaci výsledků jako střední hodnotu medián (MED) a pro popis rozložení dat mezikvartilový rozptyl (IQR). Tyto hodnoty jsou dále v textu zapisovány jako:

$$MED (LQ - HQ) \quad (3.12)$$

Z důvodu porušení jednoho z nutných předpokladů použití parametrických testů byly na statistické testy naměřených hodnot použity neparametrické testy. Provedena byla pouze párová porovnání, kdy se na rozdíl od vícenásobného porovnání nekumuluje chyba 1. druhu, čímž dosahujeme co nejpřesnějších výsledků na hladině spolehlivosti 95 % ( $\alpha = 0,05$ ). Pro všechna párová porovnání byl použit M-W test. Statistická významnost zjištěných rozdílů byla podpořena zjištěním věcné významnosti pomocí Cohenova  $d_c$  (pro výpočet byla použita online kalkulačka dostupná z [55]).

Na základě vyslovených hypotéz byla provedena tato párová porovnání:

- I. Adheze CPC je stejná jako PMMA
  - skupiny CPC byly jednotlivě porovnány spolu s PMMA, zvláště za použití implantátu typu I a typu II
- II. Aditiva základního CPC nezhorší adhezi
  - CPC s příměsemi byly porovnány se základním cementem BA, zvláště za použití implantátu typu I a typu II
- III. Adheze za použití implantátu typu II bude vyšší
  - Porovnávány mezi sebou byly skupiny téhož cementu lišící se v typu použitého implantátu

Tomuto pořadí hypotéz odpovídá i pořadí odstavců v následujících kapitolách. Není-li řečeno jinak, statisticky významné rozdíly byly potvrzeny pomocí Cohenova  $d_c$  (0,8 a vyšší). V příloze jsou shrnuta všechna vyhodnocená data (viz Příloha 3).

## 4 Výsledky

Na základě metodiky popsané v kapitole 3.2 byly provedeny pull-out testy a z naměřených hodnot byly vyhodnoceny příslušné parametry. V následujících kapitolách je věnována pozornost výsledkům zkoušek. Pořadí odstavců odpovídá pořadí vyslovených hypotéz (viz kapitola 2).

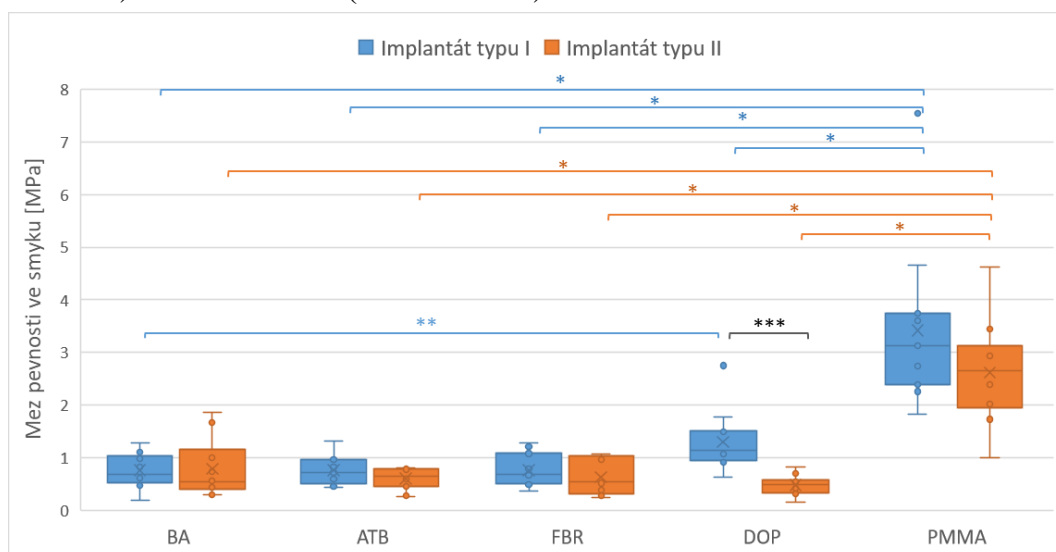
### 4.1 Mez pevnosti ve smyku $\tau$

Provedením statistické analýzy byly nalezeny rozdíly mezi všemi skupinami CPC s oběma skupinami PMMA. Skupiny PMMA vykazují vyšší míru adheze než CPC, a to s nejvyšší hodnotou meze pevnosti ve smyku 3,127 (2,392 – 3,737) MPa při použití implantátu typu I. Nejvyšších hodnot mezi CPC dosahuje skupina DOP I s hodnotou meze pevnosti 1,141 (0,937 – 1,502) MPa. Cement skupiny DOP I dosahuje téměř 36,5 % hodnoty meze pevnosti skupiny PMMA I.

Statistickými testy bylo potvrzeno, že skupina DOP I vykazuje oproti skupině BA I o 41 % vyšší míru adheze.

U cementů skupiny DOP byl nalezen rozdíl při použití různého typu implantátu. Skupina DOP II vykazuje o téměř 57 % nižší hodnoty adheze oproti skupině DOP I.

Výsledné hodnoty meze pevnosti ve smyku  $\tau$  jsou zobrazeny graficky (viz Obrázek 27) a v tabulce níže (viz Tabulka 4).



Obrázek 27 - Grafické srovnání stanovených mezí pevnosti ve smyku všech skupin  
 \* značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami CPC a PMMA (M-W test;  $p \leq 0,05$ );  
 \*\* značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami základního cementu a cementu s příměsí (M-W test;  $p \leq 0,05$ ); \*\*\* značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami implantátu typu I a typu II (M-W test;  $p \leq 0,05$ )

Tabulka 4 - Souhrn výsledků meze pevnosti ve smyku všech skupin

Skupiny		I					II				
		BA	ATB	FBR	DOP	PMMA	BA	ATB	FBR	DOP	PMMA
$\tau$ [MPa]	MED	0,67	0,71	0,67	1,14	3,13	0,54	0,65	0,52	0,49	2,66
	LQ	0,52	0,5	0,51	0,94	2,39	0,43	0,45	0,31	0,34	2,03
	HQ	1,04	0,96	1,08	1,50	3,74	0,99	0,78	1,03	0,54	3,03

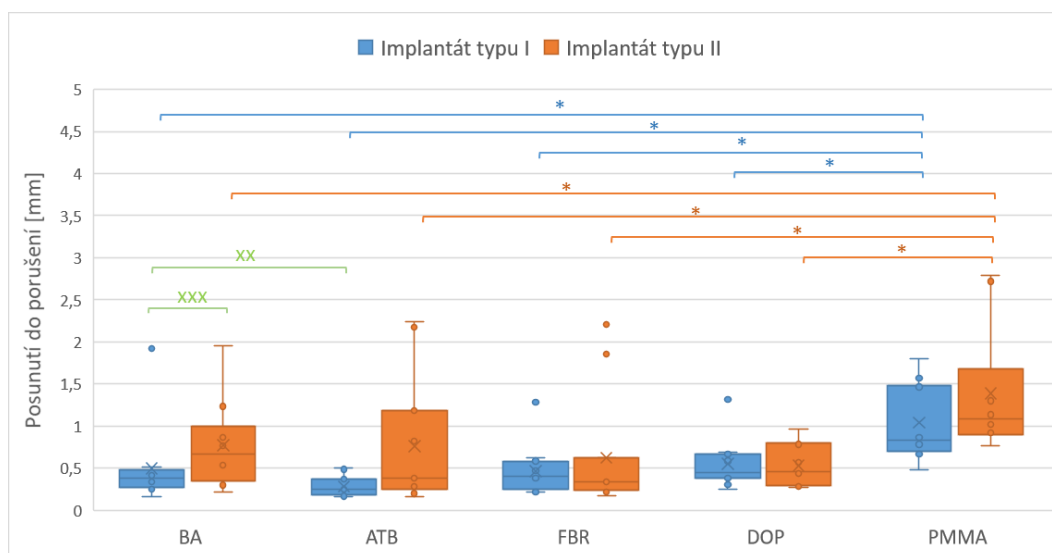
## 4.2 Posunutí při porušení $d_{max}$

Statistickou analýzou byly nalezeny rozdíly mezi všemi skupinami CPC se skupinami PMMA. Nejvyšší hodnoty  $d_{max}$  dosahovala skupina PMMA II s hodnotou 1,08 (0,92 – 1,34) mm. Skupina BA II s hodnotou 0,67 (0,37 – 0,92) mm dosahuje až 62 % posunutí skupiny PMMA II.

Mezi dalšími skupinami nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly. Cohenovo  $d_c$  však značí věcnou významnost mezi CPC skupinami BA I a ATB I. Skupina ATB I vykazuje o 34 % nižší hodnoty posunutí než skupina BA I.

Statisticky signifikantní rozdíly nebyly nalezeny ani mezi skupinami lišící se použitím různého typu implantátu. Věcnou významnost však značí  $d_c = 0,832$  mezi skupinami BA I a BA II, kdy skupina BA II dosahuje o 43 % vyšších hodnot.

V grafu níže (viz Obrázek 28) jsou data graficky porovnána. Tabulka shrnuje vyhodnocená data všech skupin (viz Tabulka 5 Tabulka 5).



Obrázek 28 - Grafické srovnání stanovených posunutí při porušení všech skupin  
 \* značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami CPC a PMMA (M-W test;  $p \leq 0,05$ );  
 XX značí věcnou významnost mezi skupinami základního cementu a cementu s příměsí  
 ( $d_c > 0,8$ ); XXX značí věcnou významnou mezi skupinami implantátu typu I a typu II  
 ( $d_c > 0,8$ )

Tabulka 5 - Souhrn výsledků posunutí při porušení všech skupin

Skupiny	I					II					
	BA	ATB	FBR	DOP	PMMA	BA	ATB	FBR	DOP	PMMA	
$d_{max}$ [mm]	MED	0,38	0,25	0,40	0,45	0,83	0,67	0,38	0,33	0,46	1,08
	LQ	0,27	0,18	0,25	0,38	0,70	0,37	0,25	0,23	0,30	0,92
	HQ	0,48	0,37	0,58	0,67	1,48	0,92	1,18	0,62	0,78	1,34



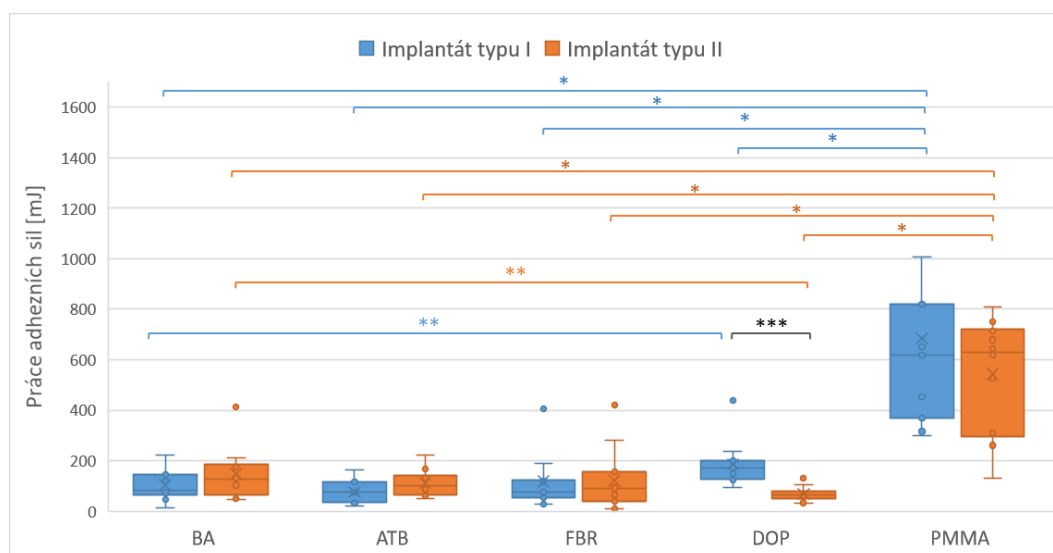
### 4.3 Práce adhezních sil $W$

Statistické testy prokázaly významný rozdíl mezi daty všech skupin CPC se skupinami PMMA. Dle očekávání nejlepších výsledků dosahovaly skupiny PMMA s hodnotami až 630 (309,4 – 712,4) mJ. Skupina DOP I s hodnotou práce adhezních sil 172,5 (127,8 – 201,6) mJ dosahovala téměř 28 % hodnot skupiny PMMA I.

V rámci CPC testy našly rozdíly mezi skupinami BA a DOP. Za použití implantátu typu I vykazuje větší hodnoty práce adhezních sil skupina DOP I až o 52 % oproti BA I. Naopak je tomu v případě použití implantátu typu II, kdy skupina BA II vykazuje o téměř 49 % vyšší hodnoty než skupina DOP II.

Signifikantní rozdíl nastává mezi skupinami DOP I a DOP II. Hodnoty práce skupiny DOP II dosahují téměř o 63 % nižších hodnot než skupina DOP I.

Data všech skupin jsou graficky porovnána níže (viz Obrázek 29) a shrnuta v tabulce (viz Tabulka 6).



Obrázek 29 - Grafické srovnání stanovených prací adhezních sil všech skupin  
 \* značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami CPC a PMMA (M-W test;  $p \leq 0,05$ ); \*\* značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami základního cementu a cementu s příměsí (M-W test;  $p \leq 0,05$ ); \*\*\* značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami implantátu typu I a typu II (M-W test;  $p \leq 0,05$ )

Tabulka 6 - Souhrn výsledků prací adhezních sil všech skupin

Skupiny	I					II					
	BA	ATB	FBR	DOP	PMMA	BA	ATB	FBR	DOP	PMMA	
$W$ [mJ]	MED	83,3	77,1	76,4	172,5	617,1	125,8	101,4	92,1	64,45	630,6
	LQ	63,5	37,0	53,4	127,8	367,9	70,4	64,2	40,4	55,0	309,4
	HQ	146,0	115,0	125,1	201,6	820,3	176,1	142,7	155,3	69,5	712,4

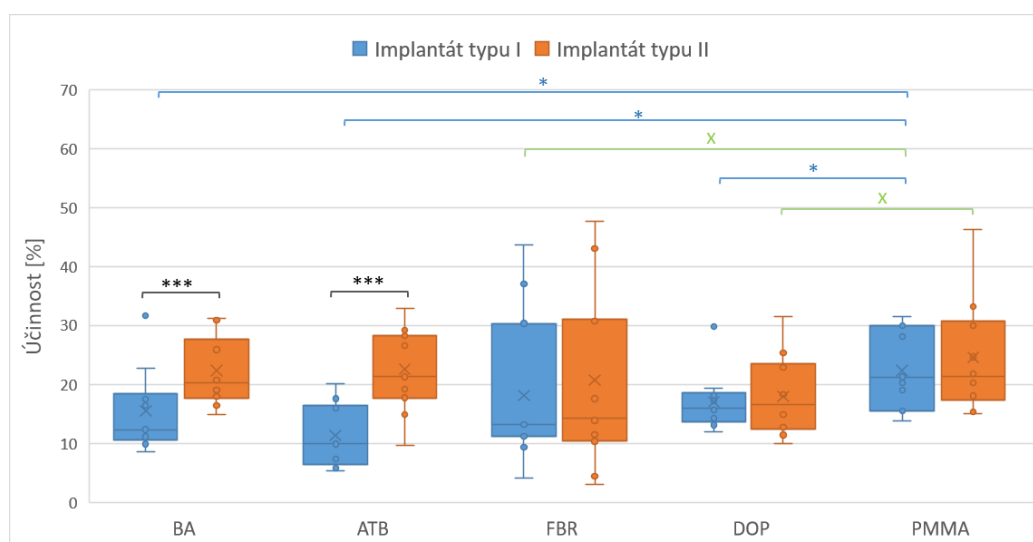
## 4.4 Účinnost $W_e$

Nejvyšších hodnot účinnosti spoje dosahovala skupina PMMA II s hodnotou 21,4 (18,1 – 30,0) %. Provedením statistické analýzy byly statisticky významné rozdíly nalezeny mezi skupinami CPC a PMMA pouze za použití implantátu typu I s výjimkou skupiny FBR. Rozdíl mezi skupinami FBR I a PMMA I však potvrzuje Cohenovo  $d_c = 0,87$ . Skupina DOP I s hodnotou 15,9 (13,6 – 18,6) % dosahovala 75 % účinnosti skupiny PMMA I. Cohenovo  $d_c$  dále značí věcný rozdíl mezi skupinami DOP II a PMMA II, kde hodnoty skupiny DOP II dosahují téměř 78 % hodnot PMMA II.

Mezi skupinami CPC nebyl nalezen žádný významný rozdíl.

Statistické testy prokázaly rozdíl mezi skupinami BA a ATB za použití různého typu implantátu. Vyšších hodnot účinnosti dosahují skupiny implantátu typu II. Skupina BA II nabývala o 39 % vyšších hodnot účinnosti než BA I a skupina ATB II dosahovala o téměř 54 % vyšších hodnot než skupina ATB I.

Data byla graficky porovnána pomocí krabicových grafů (viz Obrázek 30). Tabulka níže zobrazuje souhrn všech dat (viz Tabulka 7).



Obrázek 30 - Grafické srovnání stanovených účinností všech skupin

\* značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami CPC a PMMA (M-W test;  $p \leq 0,05$ );

\*\*\* značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami implantátu typu I a typu II (M-W test;  $p \leq 0,05$ );

X značí věcnou významnost mezi skupinami CPC a PMMA ( $d_c > 0,8$ )

Tabulka 7 - Souhrn výsledků účinnosti všech skupin

Skupiny	I					II					
	BA	ATB	FBR	DOP	PMMA	BA	ATB	FBR	DOP	PMMA	
$W_e$	12,3	9,9	13,2	15,9	21,1	20,2	21,3	14,3	16,6	21,4	
[%]	LQ	10,5	6,3	11,2	13,6	15,5	18	17,7	10,4	12,8	18,1
	HQ	18,4	16,4	30,4	18,6	30,0	26,6	28,3	31,1	22,9	30,0

## 5 Diskuse

Hodnocení adhezních schopností je důležitou částí ve fázi vývoje kostních cementů. Pro stanovení míry adheze se často využívá principů lomové mechaniky, nebo klasických tahových [56; 57] nebo smykových zkoušek [58; 59; 60]. Způsob namáhání zvolený v těchto studiích ale nezohledňuje fyziologické zatížení, které je komplexní a může kombinovat ohyb, tlak, tah, střih a krut [61]. Z nalezené literatury vyplývá, že neexistuje jednotný názor na to, jaké testy jsou nejvhodnějším způsobem hodnocení adheze kostních cementů. Využívány jsou často jak smykové zkoušky [62], vtláčovací (push-out) testy [63; 64; 65], vytahovací (pull-out) testy [66; 67], ohybové zkoušky [68; 69] nebo testy lomové mechaniky kombinující módy zatížení, např. odtrhové (pull-off) testy [70]. Zkoušky přilnavosti kostních cementů bývají prováděny *ex vivo* nebo *in vitro* na modelech, kterými se ve studiích snaží simulovat skutečné podmínky použití cementů. Vezmeme-li však v potaz fyziologické procesy těla přirozené, je zřejmé, že cementy se v tělním prostředí budou chovat rozdílně. Z tohoto důvodu se využívá *in vivo* testů, které již zohledňují fyziologické faktory [71; 72]. Jedná se však o zkoušky velmi nákladné, složité na přípravu vzorků a také rozporuplné z etického hlediska. Pro tuto práci byly zvoleny pull-out testy, které do jisté míry také zjednodušují skutečné podmínky, ale jejich provedení je velmi blízké podmínkám použití kostních cementů v klinické praxi, příprava vzorků není příliš náročná. Navíc nízké náklady umožňují použít vyšší počty zkušebních vzorků, což má zásadní vliv na věrohodnost výsledků a jejich reprodukovatelnost.

Pull-out testy, použité v této práci, spočívaly ve vytahování implantátů fixovaných kostním cementem v prasečích kostech *ex vivo*. Vzhledem k tomu, že testy adheze se obecně provádí na různých typech povrchů a za různých podmínek, je složité jednotlivé výsledky mezi sebou porovnávat [61; 70]. Úspěšnost zvýšení adheze, které je nejčastěji dosahováno materiálovou úpravou cementů nebo adheziv, lze ale posuzovat relativně. Schneider a kol. [66] dosáhli téměř trojnásobného zvýšení adheze kostního adheziva na bázi modrým světlem ( $\lambda_k = 450 \text{ nm}$ ,  $550 \text{ mW cm}^{-2}$ ) vytvrzované polymerní směsi bisfenol-a-diglycidylether metakrylátu (60 %; Bis-GMA) a tri-ethylen glykol dimethakrylátu (40 %; TEGDMA) přidáním 20 % amorfního kalcium fosfátu (Ca/P 1,5). Míru adheze stanovovali pomocí tahových zkoušek, při kterých byla určována pevnost v tahu při odtrhu adheziva vytvrzeného v kravské kosti (válec o průměru 20 mm a výšce 0,4 mm) a fixovaného na polykarbonátový trn. Při mechanických zkouškách ale docházelo k porušení spojení mezi trnem a vytahovaným adhezivem, zjištěné hodnoty tedy neodpovídají přímo adhezi na rozhraní zkoušeného adheziva a kostní tkáň a lze je podle autorů brát jako dolní mez získané adheze.

Juvonen a kol. [73] ve své studii porovnávali míru adheze běžně používaného polymethylmethakrylátu (PMMA, resp. Simplex P) s vyvíjeným cementem na bázi fosforečnanu vápenatého sestávajícího z polymerní matrice na bázi dimethylkrylátu, keramického tmelu obsahující silikátové sklo a hydroxyapatitu (HA). Pro určení míry adheze byly provedeny pull-out testy, kdy do osteoporotického modelu kosti byly pomocí cementu fixovány šrouby a po vytvrzení cementu byly z modelu vytahovány. Míra adheze byla vyjadřována pomocí maximální síly potřebné k porušení adheze. Nový cement na bázi fosforečnanu vápenatého dosahoval až 60 % míry adheze cementu PMMA.

V klinické praxi je po více jak 40 let běžně používaným kostním cementem PMMA, jehož použití však přináší řadu nevýhod. Tento materiál je inertní, nevyvolává růst okolní kostní tkáň, při vytvrzování se sráží a zahřívá se, což způsobuje nekrózu

okolní tkáň. S hypotézou, že HA částice zlepší vlastnosti PMMA Lee a kol. [72] provedli řadu mechanických i histologických testů. Hodnotili vliv HA částic různých velikostí (5  $\mu\text{m}$ /15  $\mu\text{m}$ /40  $\mu\text{m}$ /80  $\mu\text{m}$ ) v kostním cementu na bázi PMMA (4-methakryloyloxyethyltrimelitátu (4-META)/methylnmethakrylátu (MMA) -tri-n-butylboran (TBB)). Kapalná část byla tvořena z 5% 4-META rozpuštěná v MMA a TBB; prášek byl složen z 50% poly(MMA)(PMMA) a z 50% HA částicemi. Míra adheze byla stanovena na základě tahových zkoušek, při kterých byla vyhodnocována mez pevnosti v tahu při odtrhování PMMA válce (o průměru 5 mm) připevněného cementem ke kravské čelisti *in vitro*. Výsledky ukázaly, že pevnost v tahu obohaceného cementu o HA byla sice o 40 % nižší, ale bylo však prokázáno, že kombinací 4-META, TBB a HA (velikosti částic 15  $\mu\text{m}$ ) vede ke snížení srážení a zahřívání PMMA při jeho tuhnutí. Navíc HA částice napomáhají apozici kosti, což dále přispívá k celkové stabilitě cementu.

V této práci byla hodnocena a následně porovnáována míra adheze několika typů cementů. Pro experimenty bylo vybráno 5 různých cementů – 4 cementy na bázi fosforečnanu vápenatého (CPC) a dále běžně používaný PMMA cement jako kontrolní materiál. CPC se lišily v příměsích – zkoušen byl čistý cement bez příměsi (BA), s příměsí antibiotik (ATB), s příměsí PCL vláken (FBR) a s příměsí dopaminu (DOP). Použity byly dva typy titanových implantátů vyrobené z titanové slitiny Ti6Al4V ELI lišící se v povrchové úpravě. Prvním typem (typ I) byly implantáty s plasmovým HA nástříkem a druhým typem (typ II) byly 3D tištěné implantáty s trabekulární strukturou. Vyhodnocovanými parametry byla mez pevnosti v tlaku, posunutí při porušení, práce adhezních sil a účinnost. Využitím statistických metod byla vyhodnocována statistická i věcná významnost zjištěných rozdílů v mechanických vlastnostech mezi skupinami CPC a kontrolním PMMA, mezi CPC navzájem a mezi cementy za použití různého typu implantátu.

Nejvyšších hodnot zjišťovaných parametrů dosahovaly skupiny kontrolního cementu PMMA. První hypotéza pracovala s předpokladem, že nově vyvíjené CPC dosahují stejné míry adheze jako kontrolní PMMA. Statistickými testy byly proto porovnávány CPC s PMMA za použití implantátu typu I i typu II. Statistická analýza prokázala významné rozdíly mezi hodnotami meze pevnosti všech skupin CPC a PMMA. Mez pevnosti skupiny DOP I dosahovala téměř 37 % hodnoty meze skupiny PMMA I. Hodnoty práce adhezních sil vykazovaly stejné chování – hodnota práce skupiny DOP I dosáhla téměř 28 % hodnoty práce skupiny PMMA I. Stejný trend byl prokázán i u hodnot posunutí při porušení. Nejlépe si však vedla skupina BA II, jejíž hodnota posunutí dosáhla 62 % hodnoty skupiny PMMA II. Signifikantní rozdíly nastaly i mezi hodnotami účinnosti skupin implantátu typu I. Skupina DOP I dosáhla 75 % hodnoty účinnosti skupiny PMMA I. Při použití implantátu typu II dosáhly CPC podobných hodnot účinnosti jako skupina PMMA (s výjimkou skupiny DOP II, jejíž hodnoty účinnosti byly výrazně nižší).

V druhé hypotéze bylo předpokládáno, že aditiva CPC nezhorší míru adheze. Byla proto mezi sebou porovnáována data skupin BA se skupinami s příměsami (ATB, FBR a DOP) za použití implantátu typu I i typu II. Hodnoty meze pevnosti smyku se přidáním aditiv nezhoršily. Došlo naopak k jejich zlepšení při použití cementu s příměsí dopaminu a implantátu typu I – hodnota meze pevnosti skupiny DOP I byla o 41 % vyšší v porovnání se skupinou BA I. Posunutí při porušení skupin bylo srovnatelné s výjimkou skupiny ATB II, jejíž hodnoty posunutí dosahovaly až o 34 % nižších hodnot oproti skupině BA II. Vyšších hodnot práce adhezních sil oproti skupině BA I dosahovala skupina DOP I (o téměř 52 %). Skupina DOP II v porovnání se skupinou BA II naopak vykazovala nižší hodnot práce (o téměř 49 %). Účinnost všech skupin byla srovnatelná.

Dále bylo předpokládáno, že skupiny implantátu typu II (s trabekulární strukturou) budou vykazovat vyšší míru adheze. Proto byly mezi sebou porovnávány skupiny stejného typu cementu s rozdílným typem implantátu. Mez pevnosti ve smyku a práce adhezních sil všech skupin byly srovnatelné, s výjimkou skupin DOP, kdy skupina DOP II oproti DOP I dosahovala o téměř 57 % nižších hodnoty meze pevnosti a o téměř 63 % nižších hodnoty práce adhezních sil. Vyšších hodnot posunutí při porušení dosahovala skupina BA II, v porovnání se skupinou BA I až o 43 %. Vyšší účinnost při použití implantátu typu II bylo dosaženo u skupin BA (o 39 %) a ATB (o téměř 54 %).

## 6 Závěr

Tato práce se zabývá hodnocením adheze injekčně aplikovatelných kostních cementů, potenciálně využitelných jako plně biodegradovatelná a resorbovatelná alternativa ke standardně využívaným nedegradovatelným cementům. Bylo provedeno experimentální hodnocení adheze pěti různě modifikovaných kostních cementů ke kosti, konkrétně samotného cementu na bázi fosforečnanu vápenatého, který byl dále modifikován třemi různými příměsmi (antibiotiky, PCL nanovláknky a dopaminem). Jako kontrolní materiál byl použit standardní kostní cement PMMA. Testy probíhaly na dvou typech implantátů zhotovených z titanové slitiny Ti6Al4V ELI lišící se v jejich výrobě a v povrchové struktuře. Jedním typem byl implantát s povrchovým plasmový nástříkem HA, druhým typem byl 3D tištěný implantát s trabekulární povrchovou strukturou. Zkušební implantáty byly pomocí cementů fixovány *ex vivo* v prasečích femurech po dobu potřebnou k jejich vytvrzení (72 hodin). Metodika experimentu byla založena na stanovení maximální síly potřebné pro porušení adheze při pull-out testech. Dalšími vyhodnocovanými parametry byla mez pevnosti ve smyku, posunutí při porušení, práce adhezních sil a účinnost.

Pro potvrzení či vyvrácení námi stanovených hypotéz byly v rámci statistické analýzy mezi sebou porovnávány jednotlivé parametry všech skupiny cementů – CPC s PMMA, základní CPC s modifikovanými verzemi s příměsmi a dále skupiny jednoho typ cementu za použití různého typu implantátu. Výsledky ukazují na nižší míru adheze vyvíjených cementů oproti klinicky využívanému neresorbovatelnému standardu. Nelze jednoznačně prohlásit, zda některá z testovaných příměsí adhezi základního cementu zlepšuje či zhoršuje. Stejně tak není možné určit, který z hodnocených typů implantátů vykazuje lepší adhezi. Proto se volba vhodného cementu a implantátu v následujících studiích bude pravděpodobně odvíjet od požadavků na materiál a dle toho, který z parametrů popisující adhezi je pro další výzkum nejvíce relevantní a bude proto upřednostněn.

Závěrem lze konstatovat, že stanovené cíle práce byly dosaženy. Z hlediska mechanických vlastností kontrolní skupiny PMMA vykazují vyšší míru adheze, než CPC. Avšak výhodou CPC oproti PMMA je jejich biodegradovatelnost, injektovatelnost a fakt, že se při vytvrzování nezahřívají jako právě PMMA. Navíc hodnotami některých z parametrů popisující míru adheze se CPC dostávají až na 75 % hodnot PMMA. Pokles míry adheze však v prvotní fázi hojení nemusí být pro konkrétní aplikace limitující. Očekáváme, že během postupné degradace CPC okolní kostní tkáň bude prorůstat do implantátů a prvotní funkce cementu tak bude nahrazena.

## Použitá literatura

- [1] DIMITRIOU, Rozalia, Elena JONES, Dennis MCGONAGLE a Peter GIANNOUDIS. Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Medicine* [online]. 2011, **9**(1) [cit. 2020-11-22]. ISSN 1741-7015. Dostupné z: doi:10.1186/1741-7015-9-66
- [2] VAVRIK, P., I. LANDOR, S. POPELKA, R. FIALKA a J. HACH. The National Register of Joint Replacements of the Czech Republic: Hip joint replacements selected outputs and their analysis for the period 2003-2012. *Acta chirurgiae orthopaedicae et traumatologiae Cechoslovaca*. 2014, **81**(81), 3-68.
- [3] CALORI, G.M., 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. 2020-11-24]. ISSN 00201383. Dostupné z: doi:10.1016/j.injury.2011.06.011
- [4] 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. 2020-11-22]. ISSN 0957-4530. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-014-5240-2
- [5] BÖKER, Kai, Katharina RICHTER, Katharina JÄCKLE et al. Current State of Bone Adhesives—Necessities and Hurdles. *Materials* [online]. 2019, **12**(23) [cit. 2020-11-08]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma12233975
- [6] VOJTOVA, Lucy, Lenka MICHLOVSKA, Kristyna 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* [online]. 2019, **20**(2), 1-21 [cit. 2020-11-02]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20020391
- [7] ROEMHILDT, M., T. MCGEE a S. WAGNER. Novel calcium phosphate composite bone cement: strength and bonding properties: strength and bonding properties. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2003, **14**(2), 137-141. ISSN 1573-4838. Dostupné z: doi:10.1023/A:1022067729008
- [8] VLTAVSKÝ, Martin. *Analýza mechanických vlastností porézních keramických pěn pro náhrady kostní tkáně při akcelerované degradaci*. Praha, 2020. Diplomová práce. České vysoké učení technické v Praze.
- [9] LANGER, R a J. VACANTI. Tissue engineering. *Science* [online]. 1993, **260**(5110), 920-926 [cit. 2020-12-09]. ISSN 0036-8075. Dostupné z: doi:10.1126/science.8493529
- [10] VOJTOVÁ, L., L. WOLFOVÁ, L. JURČKOVÁ a L. KOHOUTOVÁ. *Úvod do tkáňového inženýrství*. Česká republika: MediaBros s.r.o, 2015. ISBN 978-80-260-9720- 4.

- [11] ČIHÁK, R. *Anatomie*. Třetí, upravené a doplněné vydání. Praha: Grada, 2016. ISBN 978-80-247-3817-8.
- [12] CLARKE, Bart. Normal Bone Anatomy and Physiology. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* [online]. 2008, **3**(3), 131-139 [cit. 2020-12-15]. ISSN 1555-9041. Dostupné z: doi:10.2215/CJN.04151206
- [13] VAN DE GRAAFF, K. M. *Human anatomy*. 6th ed. Boston: McGraw-Hill, 2002. ISBN 978-007-2907-933.
- [14] LIU, Yan, Dan LUO a Tie WANG. Hierarchical Structures of Bone and Bioinspired Bone Tissue Engineering. *Small* [online]. 2016, **12**(34), 4611-4632 [cit. 2021-02-28]. ISSN 16136810. Dostupné z: doi:10.1002/sml.201600626
- [15] RHO, Jae-Young, Liisa KUHN-SPEARING a Peter ZIOUPOS. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Medical Engineering & Physics* [online]. 1998, **20**(2), 92-102 [cit. 2020-12-15]. ISSN 13504533. Dostupné z: doi:10.1016/S1350-4533(98)00007-1
- [16] WANG, Qingge, Peng ZHOU, Shifeng LIU, Shokouh ATTARILAR, Robin MA, Yinsheng ZHONG a Liqiang WANG. Multi-Scale Surface Treatments of Titanium Implants for Rapid Osseointegration: A Review. *Nanomaterials* [online]. 2020, **10**(6) [cit. 2021-06-09]. ISSN 2079-4991. Dostupné z: doi:10.3390/nano10061244
- [17] Spongy bone. In: *Biology dictionary* [online]. 2019 [cit. 2021-02-10]. Dostupné z: <https://biologydictionary.net/spongy-bone/>
- [18] *Bone Lab* [online]. In: . [cit. 2021-07-27]. Dostupné z: [http://medcell.med.yale.edu/systems\\_cell\\_biology/bone\\_lab.php](http://medcell.med.yale.edu/systems_cell_biology/bone_lab.php)
- [19] HEANEY, R., S. ABRAMS, B. DAWSON-HUGHES, A. LOOKER, A. LOOKER, R. MARCUS, V. MATKOVIC a C. WEAVER. Peak Bone Mass. *Osteoporosis International* [online]. 2001, **11**(12), 985-1009 [cit. 2021-02-28]. ISSN 0937-941X. Dostupné z: doi:10.1007/s001980070020
- [20] MANOLAGAS, Stavros C. Birth and Death of Bone Cells: Basic Regulatory Mechanisms and Implications for the Pathogenesis and Treatment of Osteoporosis\*. *Endocrine Reviews* [online]. 2000, **21**(2), 115-137 [cit. 2021-02-28]. ISSN 0163-769X. Dostupné z: doi:10.1210/edrv.21.2.0395
- [21] FLORENCIO-SILVA, Rinaldo, Gisela SASSO, Estela SASSO-CERRI, Manuel SIMÕES a Paulo CERRI. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *BioMed Research International* [online]. 2015, **2015**, 1-17 [cit. 2021-02-28]. ISSN 2314-6133. Dostupné z: doi:10.1155/2015/421746
- [22] KAEVENY, Tony M., Elise F. MORGAN a Oscar C. YEH. Bone Mechanics. KUTZ, Myer. *STANDARD HANDBOOK OF BIOMEDICAL ENGINEERING AND DESIGN*. První vydání. The McGraw-Hill Companies, Inc., 2003, Chapter 8. ISBN 9780071498388.
- [23] HUTMACHER, Dietmar Werner, Jan Thorsten SCHANTZ, Christopher Xu Fu LAM, Kim Cheng TAN a Thiam Chye LIM. State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. *Journal of*

- Tissue Engineering and Regenerative Medicine* [online]. 2007, **1**(4), 245-260 [cit. 2021-06-15]. ISSN 19326254. Dostupné z: doi:10.1002/term.24
- [24] *Bone Mechanics Handbook*. 2nd ed. Editor Stephen C. COWIN. Boca Raton: CRC Press, 2001. ISBN 08-493-9117-2.
- [25] SANTIUSTE, C., M. RODRÍGUEZ-MILLÁN, E. GINER a H. MIGUÉLEZ. The influence of anisotropy in numerical modeling of orthogonal cutting of cortical bone. *Composite Structures* [online]. 2014, **116**, 423-431 [cit. 2021-06-15]. ISSN 02638223. Dostupné z: doi:10.1016/j.compstruct.2014.05.031
- [26] KUTZ, Myer. *Standard Handbook of Biomedical Engineering & Design*. The McGraw-Hill Companies, Inc., 2003. ISBN 9780071356374.
- [27] ZIOUPOS, P a J.D CURREY. Changes in the Stiffness, Strength, and Toughness of Human Cortical Bone With Age. *Bone* [online]. 1998, **22**(1), 57-66 [cit. 2021-06-15]. ISSN 87563282. Dostupné z: doi:10.1016/S8756-3282(97)00228-7
- [28] WANG, Wenhao a Kelvin W.K. YEUNG. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. *Bioactive Materials* [online]. 2017, **2**(4), 224-247 [cit. 2021-06-16]. ISSN 2452199X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bioactmat.2017.05.007
- [29] ONO, Takehito a Hiroshi TAKAYANAGI. Osteoimmunology in Bone Fracture Healing. *Current Osteoporosis Reports* [online]. 2017, **15**(4), 367-375 [cit. 2021-06-16]. ISSN 1544-1873. Dostupné z: doi:10.1007/s11914-017-0381-0
- [30] EINHORN, Thomas A. a Louis C. GERSTENFELD. Fracture healing: mechanisms and interventions. *Nature Reviews Rheumatology* [online]. 2015, **11**(1), 45-54 [cit. 2021-06-16]. ISSN 1759-4790. Dostupné z: doi:10.1038/nrrheum.2014.164
- [31] ZHANG, Lihai, Martin RICHARDSON a Priyan MENDIS. Role of chemical and mechanical stimuli in mediating bone fracture healing. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* [online]. 2012, **39**(8), 706-710 [cit. 2021-07-28]. ISSN 03051870. Dostupné z: doi:10.1111/j.1440-1681.2011.05652.x
- [32] FERNANDEZ DE GRADO, Gabriel, Laetitia KELLER, Ysia IDOUX-GILLET, Quentin WAGNER, Anne-Marie MUSSET, Nadia BENKIRANE-JESSEL, Fabien BORNERT a Damien 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. 2021-06-16]. ISSN 2041-7314. Dostupné z: doi:10.1177/2041731418776819
- [33] NAVARRO, M, A MICHIARDI, O CASTAÑO a J.A PLANELL. Biomaterials in orthopaedics. *Journal of The Royal Society Interface* [online]. 2008, **5**(27), 1137-1158 [cit. 2021-06-16]. ISSN 1742-5689. Dostupné z: doi:10.1098/rsif.2008.0151
- [34] HENCH, Larry L. a Ian THOMPSON. Twenty-first century challenges for biomaterials. *Journal of The Royal Society Interface* [online]. 2010, **7**(4) [cit. 2021-06-16]. ISSN 1742-5689. Dostupné z: doi:10.1098/rsif.2010.0151.focus
- [35] HENCH, L. L. Third-Generation Biomedical Materials. *Science* [online]. **295**(5557), 1014-1017 [cit. 2021-06-16]. ISSN 00368075. Dostupné z: doi:10.1126/science.1067404



- [36] T., Albrektsson a Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *European Spine Journal* [online]. 2001, **10**(0), 96-101 [cit. 2021-06-20]. ISSN 0940-6719. Dostupné z: doi:10.1007/s005860100282
- [37] HANSEN, Arlen D. Local Antibiotic Delivery Vehicles in the Treatment of Musculoskeletal Infection. *Clinical Orthopaedics and Related Research* [online]. 2005, (437), 91-96 [cit. 2020-11-08]. ISSN 0009-921X. Dostupné z: doi:10.1097/01.blo.0000175713.30506.77
- [38] TSOURVAKAS, Stefanos. Local Antibiotic Therapy in the Treatment of Bone and Soft Tissue Infections. DANILLA, Stefan, ed. *Selected Topics in Plastic Reconstructive Surgery* [online]. InTech, 2012 [cit. 2020-11-08]. ISBN 978-953-307-836-6. Dostupné z: doi:10.5772/28833
- [39] GINEBRA, Maria-Pau a Edgar B. MONTUFAR. Cements as bone repair materials. *Bone Repair Biomaterials* [online]. Elsevier, 2019, s. 233-271 [cit. 2021-06-20]. ISBN 9780081024515. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-102451-5.00009-3
- [40] PANAGIOTOPOULOU, Vasiliki C., Emmanuele SANTOLINI, Elena JONES, Animesh JHA a Peter V. GIANNOUDIS. Adhesives for treatment of bone fractures: A review of the state-of-the art. *Injury* [online]. 2021 [cit. 2021-06-16]. ISSN 00201383. Dostupné z: doi:10.1016/j.injury.2021.02.019
- [41] MARSHALL, Sally, Stephen BAYNE, Robert BAIER, Antoni TOMSIA a Grayson MARSHALL. A review of adhesion science. *Dental Materials* [online]. 2010, **26**(2), 11-16 [cit. 2020-11-25]. ISSN 01095641. Dostupné z: doi:10.1016/j.dental.2009.11.157
- [42] BALDAN, A. Adhesively-bonded joints and repairs in metallic alloys, polymers and composite materials: Adhesives, adhesion theories and surface pretreatment. *Journal of Materials Science* [online]. 2004, **39**(1), 1-49 [cit. 2020-11-25]. ISSN 0022-2461. Dostupné z: doi:10.1023/B:JMSE.0000007726.58758.e4
- [43] LEITE, Fabio, Carolina BUENO, Alessandra DA RÓZ, Ervino ZIEMATH a Osvaldo OLIVEIRA. Theoretical Models for Surface Forces and Adhesion and Their Measurement Using Atomic Force Microscopy. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2012, **13**(12), 12773-12856 [cit. 2020-12-02]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms131012773
- [44] CHEN, Zhaoxiang, Kun ZHOU, Xuehong LU a Yee LAM. A review on the mechanical methods for evaluating coating adhesion. *Acta Mechanica* [online]. 2014, **225**(2), 431-452 [cit. 2020-11-09]. ISSN 0001-5970. Dostupné z: doi:10.1007/s00707-013-0979-y
- [45] ČSN EN ISO 4624. *Nátěrové hmoty - Odtrhová zkouška přilnavosti*. 2016.
- [46] ČSN EN 1966. *Strukturní lepidla – Charakterizace povrchu měřením adheze tříbodovou ohybovou zkouškou*. Český normalizační institut, 2003.
- [47] ČSN EN 1465. *Lepidla - Stanovení pevnosti ve smyku při tahovém namáhání přeplátovaných lepených soustav*. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2009.

- [48] BENHALIMA, Lamia, Sandra AMRI, Mourad BENSOUILAH a Rachid OUZROUT. Antibacterial effect of copper sulfate against multi-drug resistant nosocomial pathogens isolated from clinical samples. *Pakistan Journal of Medical Sciences* [online]. 2019, **35**(5) [cit. 2021-04-15]. ISSN 1681-715X. Dostupné z: doi:10.12669/pjms.35.5.336
- [49] ALTMAN, Douglas G. *Practical Statistics for Medical Research*. 1st. London: Chapman & Hall, 1991. ISBN 0-412-27630-5.
- [50] ZVÁROVÁ, Jana. *Základy statistiky pro biomedicínské obory*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-7184-786-0.
- [51] COHEN, Jacob. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences* [online]. Routledge, 2013 [cit. 2021-05-18]. ISBN 9781134742707. Dostupné z: doi:10.4324/9780203771587
- [52] FRITZ, Catherine, Peter MORRIS a Jennifer RICHLER. Effect size estimates: Current use, calculations, and interpretation. *Journal of Experimental Psychology: General* [online]. 2012, **141**(1), 2-18 [cit. 2021-06-09]. ISSN 1939-2222. Dostupné z: doi:10.1037/a0024338
- [53] SIEGEL, Sydney. *Nonparametric Statistic: For The Behavioral Sciences*. New York: THE MAPLE PRESS COMPANT, YORK, PA, 1956.
- [54] SOUKUP, Petr. Substantive significance and it's measures. *Data and Research – SDA Info* [online]. 2013, **127**(2) [cit. 2021-08-09]. ISSN 23362391. Dostupné z: doi:10.13060/23362391.2013.127.2.41
- [55] *Psychometrica: Effect size* [online]. [cit. 2021-06-15]. Dostupné z: https://www.psychometrica.de/effect\_size.html
- [56] SCHREADER, Kevin J., Ilker S. BAYER, Derek J. MILNER, Eric LOTH a Iwona JASIUK. A polyurethane-based nanocomposite biocompatible bone adhesive. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2013, **127**(6), 4974-4982 [cit. 2021-08-10]. ISSN 00218995. Dostupné z: doi:10.1002/app.38100
- [57] CEDANO SERRANO, F. J., L. M. PINZÓN, D. M. NARVÁEZ et al. Evaluation of a water-resistant and biocompatible adhesive with potential use in bone fractures. *Journal of Adhesion Science and Technology* [online]. 2016, **31**(13), 1480-1495 [cit. 2021-08-10]. ISSN 0169-4243. Dostupné z: doi:10.1080/01694243.2016.1263055
- [58] KANDALAM, U., A.J. BOUVIER, S.B. CASAS et al. Novel bone adhesives: a comparison of bond strengths in vitro. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* [online]. 2013, **42**(9), 1054-1059 [cit. 2021-08-10]. ISSN 09015027. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijom.2013.04.005
- [59] PUJARI-PALMER, Michael, Hua GUO, David WENNER et al. A Novel Class of Injectable Bioceramics That Glue Tissues and Biomaterials. *Materials* [online]. 2018, **11**(12) [cit. 2021-08-10]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma11122492
- [60] BHAGAT, Vrushali, Emily O'BRIEN, Jinjun ZHOU a Matthew L. BECKER. Caddisfly Inspired Phosphorylated Poly(ester urea)-Based Degradable Bone

- Adhesives. *Biomacromolecules* [online]. 2016, **17**(9), 3016-3024 [cit. 2021-08-10]. ISSN 1525-7797. Dostupné z: doi:10.1021/acs.biomac.6b00875
- [61] PROCTER, Philip, Michael PUJARI-PALMER, Gry HULSART-BILLSTRÖM, David WENNER, Gerard INSLEY, Sune LARSSON a Håkan ENGQVIST. A biomechanical test model for evaluating osseous and osteochondral tissue adhesives. *BMC Biomedical Engineering* [online]. 2019, **1**(1) [cit. 2021-08-10]. ISSN 2524-4426. Dostupné z: doi:10.1186/s42490-019-0011-2
- [62] BRÜCKNER, MEININGER, GROLL, KÜBLER a GBURECK. Magnesium Phosphate Cement as Mineral Bone Adhesive. *Materials* [online]. 2019, **12**(23) [cit. 2021-08-10]. ISSN 1996-1944. Dostupné z: doi:10.3390/ma12233819
- [63] ZHONG, Weibin, Lin SUN, Tao YU a Changren ZHOU. Preparation and characterization of calcium phosphate cement with enhanced tissue adhesion for bone defect repair. *Ceramics International* [online]. 2021, **47**(2), 1712-1720 [cit. 2021-08-10]. ISSN 02728842. Dostupné z: doi:10.1016/j.ceramint.2020.08.288
- [64] THEODOROPOULOS, John S., J. N. AMRITHA DE CROOS, Sam S. PARK, Robert PILLIAR a Rita A. KANDEL. Integration of Tissue-engineered Cartilage With Host Cartilage: An In Vitro Model. *Clinical Orthopaedics & Related Research* [online]. 2011, **469**(10), 2785-2795 [cit. 2021-08-10]. ISSN 0009-921X. Dostupné z: doi:10.1007/s11999-011-1856-4
- [65] PENELAS, Alice Gonçalves, Valery Martins PIEDADE, Ana Carolina Oliveira da Silva BORGES, Laiza Tatiana POSKUS, Eduardo Moreira DA SILVA a José Guilherme Antunes GUIMARÃES. Can cement film thickness influence bond strength and fracture resistance of fiber reinforced composite posts?. *Clinical Oral Investigations* [online]. 2016, **20**(4), 849-855 [cit. 2021-08-10]. ISSN 1432-6981. Dostupné z: doi:10.1007/s00784-015-1568-3
- [66] SCHNEIDER, Oliver D., Alexander STEPULK, Dirk MOHN, Norman A. LUECHINGER, Kirill FELDMAN a Wendelin J. STARK. Light-curable polymer/calcium phosphate nanocomposite glue for bone defect treatment. *Acta Biomaterialia* [online]. 2010, **6**(7), 2704-2710 [cit. 2021-08-10]. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2010.01.033
- [67] WU, Dan, Michael PUJARI-PALMER, Alicja BOJAN et al. The effect of two types of resorbable augmentation materials – a cement and an adhesive – on the screw pullout resistance in human trabecular bone. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* [online]. 2020, **110** [cit. 2021-08-10]. ISSN 17516161. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmbbm.2020.103897
- [68] LUCKSANASOMBOOL, P., W.A.J HIGGS, R.J.E.D HIGGS a M.V SWAIN. Interfacial fracture toughness between bovine cortical bone and cements. *Biomaterials* [online]. 2003, **24**(7), 1159-1166 [cit. 2021-08-10]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-9612(02)00464-7
- [69] DAI, Jiewen, Yuanfei FU, Demin CHEN a Zhaoyao SUN. A novel and injectable strontium-containing hydroxyapatite bone cement for bone substitution: A systematic evaluation. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2021, **124** [cit. 2021-08-10]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2021.112052

- [70] HOFFMANN, Bettina, Elias VOLKMER, Andreas KOKOTT et al. Characterisation of a new bioadhesive system based on polysaccharides with the potential to be used as bone glue. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* [online]. 2009, **20**(10), 2001-2009 [cit. 2021-08-10]. ISSN 0957-4530. Dostupné z: doi:10.1007/s10856-009-3782-5
- [71] LIN, Dan-Jae, Chien-Ping JU, Shu-Huei HUANG, Yin-Chun TIEN, Hsiang-Shu YIN, Wen-Cheng CHEN a Jiin-Huey CHERN LIN. Mechanical testing and osteointegration of titanium implant with calcium phosphate bone cement and autograft alternatives. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* [online]. 2011, **4**(7), 1186-1195 [cit. 2021-08-10]. ISSN 17516161. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmbbm.2011.04.001
- [72] LEE, RR, M. OGISO, A. WATANABE a K. ISHIHARA. Examination of hydroxyapatite filled 4-META/MMA-TBB adhesive bone cement in vitro and in vivo environment. *Journal of Biomedical Materials Research* [online]. [cit. 2021-08-10]. Dostupné z: doi:10.1002/(sici)1097-4636(199721)38:1<11::aid-jbm2>3.0.co;2-k
- [73] JUVONEN, Tiina, Juha-Pekka NUUTINEN, Arto P KOISTINEN, Heikki KRÖGER a Reijo LAPPALAINEN. Biomechanical evaluation of bone screw fixation with a novel bone cement. *BioMedical Engineering OnLine* [online]. 2015, **14**(1) [cit. 2021-08-10]. ISSN 1475-925X. Dostupné z: doi:10.1186/s12938-015-0069-6

## Seznam použitých symbolů a zkratek

$A$	$[mm^2]$	Plocha trhliny
$d$	$[mm]$	Posunutí
$d_8$	$[mm]$	Posunutí do 8 mm
$d_c$	$[-]$	Cohenovo $d$
$d_i$	$[mm]$	Průměr implantátu
$d_{max}$	$[mm]$	Posunutí při porušení
$d_r$	$[mm]$	Průměr smykové plochy
$F$	$[N]$	Síla
$F_{max}$	$[N]$	Maximální síla
$G$	$[Jm^{-2}]$	rychlost uvolňování mezipovrchové deformační energie
$H_0$	$[-]$	Nulová hypotéza
$H_1$	$[-]$	Alternativní hypotéza
$l$	$[mm]$	Délka implantátu
$n$	$[-]$	Počet naměřených hodnot
$p$	$[-]$	p-hodnota
$S$	$[mm^2]$	Smyková plocha soustavy implantát-cement-kost
$t_c$	$[mm]$	Tloušťka vrstvy cementu
$U$	$[-]$	Výstupní hodnota M-W testu
$W$	$[mJ]$	Práce adhezních sil
$W_e$	$[%]$	Účinnost
$\alpha$	$[-]$	Hladina spolehlivosti
$\tau$	$[MPa]$	Mez pevností ve smyku
$\gamma$	$[MPa]$	Povrchové napětí
$\theta$	$[^\circ]$	Kontaktní úhel

ABC – akrylové kostní cementy (acrylic bone cement)

ATB – základní CPC s příměsí antibiotik

BA – základní CPC

CPC – cementy na bázi fosforečnanu vápenatého (calcium phosphate cement)

DOP – základní CPC s příměsí dopaminu

FBR – základní CPC s příměsí PCL vláken

HA – hydroxyapatit

HQ – horní kvartil (high quartile)

IQR – mezikvartilové rozpětí (inter quartile range)

LQ – dolní kvartil (low quartile)

LSD – test nejméně významných rozdílů (Least Significant Difference test)

MED – median

M-W – Mann-Whitey test

PCL – polykaprolakton

PLA – kyselina polymléčná, polylaktid

PLGA – PEG – PLGA – triblokový kopolymer (kopolymer kyseliny glykolové a mléčné, polyethylenglykol)

PMMA – polymethylmethakrylát

Q-Q graf – kvantil-kvantilový graf (quantile-quantile chart)

S-W – Shapiro-Wilkův test

UHMWPE – ultravysokomolekulární polyetylen (ultra-high molecular weight polyethylene)

$\alpha$  – TCP –  $\alpha$ -trikalciumfosfát

## Seznam obrázků

Obrázek 1 - Hierarchické strukturální uspořádání kosti [16] .....	12
Obrázek 2 - Kompaktní kostní tkáň [13]: (a) Kompaktní tkáň tvoří plášť kostí. (b) Osteony uspořádané kolem centrálního Haversova kanálku. (c) Haversův systém. (d) Lakuna..	13
Obrázek 3 - Spongiosní kost (upraveno z [17]).....	13
Obrázek 4 - Architektonika spongiosní kosti; průběh trámečků v horním konci stehenní kosti [18].....	13
Obrázek 5 - Schéma remodelace kosti a doba remodelačního cyklu (upraveno z [24]).	15
Obrázek 6 - Vliv anizotropie kosti na mechanické vlastnosti (křivka napětí-deformace) [25].....	16
Obrázek 7 - Křivka napětí-deformace pro kompaktní a spongiosní (trabekulární) kost s různými hodnotami hustoty [26].....	16
Obrázek 8 - Vliv věku pacienta na mechanické vlastnosti kosti [27] a) modul pružnosti E [GPa]; b) pevnost v ohybu $\sigma_f$ [MPa] c) lomová houževnatost $K_c$ [MPa m <sup>1/2</sup> ]; d) práce do destrukce $W_f$ [KJm <sup>-2</sup> ].....	17
Obrázek 9 - Závislost modulu pružnosti na koncentraci vápníku v kostní tkáni [26]....	18
Obrázek 10 - Proces hojení zlomeniny kosti [30].....	19
Obrázek 11 - Smáčení povrchu [42]: a) obecný kontaktní úhel v kapce kapaliny v kontaktu s pevnou látkou v plynném prostředí; b) dokonalé smáčení; c) nulové smáčení .....	23
Obrázek 12 – Příklad experimentu k hodnocení adheze čtyř bodový ohyb (vlevo); dvoukonzolový nosník (vpravo) [44] .....	24
Obrázek 13 – Odrhová zkouška: metoda se dvěma tělísky (vlevo); metoda s jedním tělískem (vpravo) [45] .....	24
Obrázek 14 - Tříbodová ohybová zkouška [46] a) zkušební těleso před namáháním; b) porušení slepu při zkoušce v mezipovrchové zóně.....	25
Obrázek 15 - Smyková zkouška přeplátovaných sestav [47] .....	25
Obrázek 16 - Příklad pull-out testu [7] .....	26
Obrázek 17 - Titanové implantáty: implantát typu I – s HA nástřikem (vlevo); implantát typu II – 3D tištěný s trabekulární strukturou (vpravo).....	29
Obrázek 18 - Značení částí kostí pro umístění implantátů do pravého femuru (1.-zpředu, 2.-shora, 3.-zdola, 4.-zezadu).....	29
Obrázek 19 - Zkoušený vzorek (implantát fixovaný v kosti cementem).....	30
Obrázek 20 - Testovací systém MTS Mini Bionix (vlevo); uchycení vzorku do zatěžovacího systému za použití speciálních přípravků pro pull-out testy(vpravo) .....	31
Obrázek 21 - Příklad pracovního diagramu F-d (vzorek 001 skupiny BA II, 3D tištěný implantát).....	32
Obrázek 22 – Příklad pracovního diagramu F-d celé skupiny (skupina BA II, vzorky 001–010, 3D tištěný implantát) .....	32

Obrázek 23 - Příklad grafického vyhodnocení maximální síly potřebné k porušení adheze a posunutí při porušení.....	33
Obrázek 24 – Příklad vyhodnocení práce adhezních sil – plocha pod křivkou F–d (vzorek 001 skupiny BA II, 3D tištěný implantát).....	33
Obrázek 25 - Příklad vyhodnocení účinnosti (vzorek 001 skupiny BA II, 3D tištěný implantát).....	34
Obrázek 26 - Příklad krabicového grafu.....	37
Obrázek 27 - Grafické srovnání stanovených mezí pevnosti ve smyku všech skupin * značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami CPC a PMMA (M-W test; $p \leq 0,05$ ); ** značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami základního cementu a cementu s příměsí (M-W test; $p \leq 0,05$ ); *** značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami implantátu typu I a typu II (M-W test; $p \leq 0,05$ ) .....	39
Obrázek 28 - Grafické srovnání stanovených posunutí při porušení všech skupin * značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami CPC a PMMA (M-W test; $p \leq 0,05$ ); XX značí věcnou významnost mezi skupinami základního cementu a cementu s příměsí ( $dc > 0,8$ ); XXX značí věcnou významnou mezi skupinami implantátu typu I a typu II ( $dc > 0,8$ ) .....	40
Obrázek 29 - Grafické srovnání stanovených prací adhezních sil všech skupin * značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami CPC a PMMA (M-W test; $p \leq 0,05$ ); ** značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami základního cementu a cementu s příměsí (M-W test; $p \leq 0,05$ ); *** značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami implantátu typu I a typu II (M-W test; $p \leq 0,05$ ) .....	41
Obrázek 30 - Grafické srovnání stanovených účinností všech skupin * značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami CPC a PMMA (M-W test; $p \leq 0,05$ ); *** značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami implantátu typu I a typu II (M-W test; $p \leq 0,05$ ); X značí věcnou významnost mezi skupinami CPC a PMMA ( $dc > 0,8$ ) .....	42



## Seznam tabulek

Tabulka 1 - Mechanické vlastnosti kompaktní a spongiosní kosti [23] .....	16
Tabulka 2 - Přehled značení skupin vzorků pro pull-out testy.....	29
Tabulka 3 - Rozpětí hodnot Cohenova $d_c$ a jejich slovní označení [54].....	36
Tabulka 4 - Souhrn výsledků mezi pevnosti ve smyku všech skupin .....	39
Tabulka 5 - Souhrn výsledků posunutí při porušení všech skupin .....	40
Tabulka 6 - Souhrn výsledků prací adhezních sil všech skupin .....	41
Tabulka 7 - Souhrn výsledků účinnosti všech skupin.....	42

## Seznam příloh

*Příloha 1 - Zastoupení částí kostí (A-F – místa kosti, odkud byly vzorky odebrány; X – chybějící epikondyl D; DX – nahrazení místa D kondylem bez epikondylu)*

Číslo kosti	Místo na kosti					
	A	B	C	D	E	F
1	•	•	•	•	•	•
2	•	•	•	X	•	•
3	•	•	•	•	•	•
4	X	•	•	•	•	•
5	•	•	•	DX	•	•
6	•	•	•	•	•	•
7	•	•	•	X	•	•
8	•	•	•	X	•	•
9	•	•	•	•	•	•
10	•	•	•	•	•	•
11	•	•	•	X	•	•
12	•	•	•	DX	•	•
13	•	•	•	•	•	•
14	•	•	•	•	•	•
15	•	•	•	DX	•	•
16	•	•	•	X	•	•
17	•	•	•	•	•	•
18	•	•	•	•	•	•
19	•	•	•	•	•	•
20	•	•	•	•	•	•
21	•	•	•	DX	•	•
22	•	•	•	X	•	•
23	•	•	•	X	•	•
24	•	•	•	X	•	•
25	•	•	•	DX	•	•

*Příloha 2 - Přiřazení typů implantátů a typů cementů částem kostí (A-F – místa kosti, odkud byly vzorky odebrány; BA – základní cement na bázi fosforečnanu vápenatého (CPC), ATB – CPC s příměsí antibiotik, FBR – CPC s příměsí polykaprolaktonových (PCL) vláken, DOP – CPC s příměsí dopaminu, PMMA – kontrolní polymethylmethakrylát; I – implantát s plasmovým hydroxyapatitovým (HA) nástřikem, II – 3D tištěný implantát s trabekulární strukturou)*

Číslo kosti	Místo na kosti					
	A	B	C	D	E	F
1	ATB I	FBR I	DOP I	PMMA II	PMMA I	BA II
2	FBR II	DOP II	ATB II	<del>PMMA II</del>	BA I	FBR I
3	DOP I	ATB I	PMMA I	BA II	FBR II	DOP II
4	<del>PMMA I</del>	PMMA II	BA I	DOP II	DOP I	ATB I
5	PMMA I	BA II	FBR II	FBR I	ANT II	PMMA II
6	PMMA II	BA I	FBR I	DOP I	ATB I	PMMA I
7	BA II	FBR II	DOP II	<del>PMMA II</del>	PMMA II	BA I
8	FBR I	DOP I	ATB I	<del>PMMA II</del>	BA II	FBR II
9	DOP II	ATB II	PMMA II	BA I	FBR I	DOP I
10	ATB I	PMMA I	BA II	FBR II	DOP II	ATB II
11	BA I	FBR I	DOP I	<del>PMMA II</del>	PMMA I	BA II
12	FBR II	DOP II	ATB II	PMMA II	BA I	FBR I
13	DOP I	ATB I	PMMA I	BA II	FBR II	DOP II
14	ATB II	PMMA II	BA I	FBR I	DOP I	ATB I
15	PMMA I	BA II	FBR II	DOP II	ATB II	PMMA II
16	PMMA II	BA I	FBR I	<del>PMMA II</del>	ATB I	PMMA I
17	BA II	FBR II	DOP II	ATB II	PMMA II	BA I
18	FBR I	DOP I	ATB I	PMMA I	BA II	FBR II
19	DOP II	ATB II	PMMA II	BA I	FBR I	DOP I
20	ATB I	PMMA I	BA II	FBR II	DOP II	ATB II
21	BA I	FBR I	DOP I	ATB I	PMMA I	BA II
22	FBR II	DOP II	ATB II	<del>PMMA II</del>	BA I	FBR I
23	DOP I	ATB I	PMMA I	<del>PMMA II</del>	DOP II	ATB II
24	ATB II	PMMA II	BA I	<del>PMMA II</del>	DOP I	ATB I
25	PMMA I	BA II	FBR II	BA I	ATB II	PMMA II

Příloha 3 - Souhrnná tabulka vyhodnocených parametrů ( $\tau$  – mez pevnosti ve smyku,  $d_{max}$  – posunutí při porušení,  $W$  – práce adhezních sil,  $W_e$  – účinnost; MED – medián, LQ – dolní kvartil, HQ – horní kvartil)

Skupiny		I					II				
		BA	ATB	FBR	DOP	PMMA	BA	ATB	FBR	DOP	PMMA
$\tau$ [MPa]	MED	0,67	0,71	0,67	1,14	3,13	0,54	0,65	0,52	0,49	2,66
	LQ	0,52	0,5	0,51	0,94	2,39	0,43	0,45	0,31	0,34	2,03
	HQ	1,04	0,96	1,08	1,50	3,74	0,99	0,78	1,03	0,54	3,03
$d_{max}$ [mm]	MED	0,38	0,25	0,40	0,45	0,83	0,67	0,38	0,33	0,46	1,08
	LQ	0,27	0,18	0,25	0,38	0,70	0,37	0,25	0,23	0,30	0,92
	HQ	0,48	0,37	0,58	0,67	1,48	0,92	1,18	0,62	0,78	1,34
$W$ [mJ]	MED	83,3	77,1	76,4	172,5	617,1	125,8	101,4	92,1	64,5	630,6
	LQ	63,5	37,0	53,4	127,8	367,9	70,4	64,2	40,4	55,0	309,4
	HQ	146,0	115,0	125,1	201,6	820,3	176,1	142,7	155,3	69,5	712,4
$W_e$ [%]	MED	12,3	9,9	13,2	15,9	21,1	20,2	21,3	14,3	16,6	21,4
	LQ	10,5	6,3	11,2	13,6	15,5	18,0	17,7	10,4	12,8	18,1
	HQ	18,4	16,4	30,4	18,6	30,0	26,6	28,3	31,1	22,9	30,0