

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

Ivana Vrtělová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Zkoumání morfologie povrchu materiálů používaných ve zdravotnictví pomocí
mikroskopických a jiných experimentálních technik

Ivana Vrtělová

Bakalářská práce

2020

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Ivana Vrtělová**
Osobní číslo: **C16302**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Zkoumání morfologie povrchu materiálů používaných ve zdravotnictví pomocí mikroskopických a jiných experimentálních technik**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Popište stručně používané materiály, jejich vlastnosti a konkrétní použití.
2. Specifikujte pojem povrch materiálů, významné vlastnosti povrchu a antimikrobiální povrchy.
3. Popište vybrané techniky měření a pozorování vybraných vlastností povrchu a jejich důvody.
4. Uveďte příklady aplikací mikroskopických technik pro zkoumání morfologie povrchu materiálů.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Andréa Kalendová, Dr.**
Ústav chemie a technologie makromolekulárních látek

Konzultant bakalářské práce: **Ing. Denisa Steinerová**
Ústav chemie a technologie makromolekulárních látek

Datum zadání bakalářské práce: **21. prosince 2018**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Ivana Vrtělová

Poděkování:

Ráda bych tímto chtěla poděkovat Ing. Denise Steinerové za odbornou konzultaci, cenné poznámky a za její čas, který mi vždy byla ochotná věnovat. Dále bych chtěla poděkovat prof. Ing. Andrée Kalendové, Dr., díky které jsem měla možnost se této práci věnovat. V neposlední řadě patří velké poděkování mé rodině, která mi umožnila studovat a při studiu mě vždy podporovala.

ANOTACE

Tato práce je zaměřena na popis a zkoumání morfologie povrchu materiálů používaných ve zdravotnictví pomocí mikroskopických a jiných experimentálních technik. V práci jsou vysvětleny termíny z oblasti biomateriálů a popsány jejich fyzikálně-chemické a biologické vlastnosti. Stručně se práce zabývá i jejich historií a také možnostmi aplikace v lékařském odvětví. Biomateriály jsou systémy, které jsou schopny řídit průběh terapeutických či diagnostických procedur skrze interakce se živým organismem a jsou využívány od katetrů až po implantáty.

KLÍČOVÁ SLOVA

Biomateriály, biokompatibilita, lékařské aplikace, implantáty, mikroskopické techniky

TITLE

Studying of material's morphology with microscopy techniques and the other experimental techniques

ANNOTATION

This work is focused on the description and investigation of the surface morphology of materials used in health care using microscopic and other experimental techniques. The work explains the terms in the field of biomaterials and describes their physico-chemical and biological properties. The work briefly deals with their history and also the possibilities of application in the medical industry. Biomaterials are systems that are able to control the course of therapeutic or diagnostic procedures through interactions with a living organism and are used from catheters to implants.

KEYWORDS

Biomaterials, biocompatibility, medical applications, implants, microscopy techniques

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ	10
SEZNAM TABULEK	10
SEZNAM ZKRATEK	11
ÚVOD	12
1 BIOMATERIÁLY	13
1.1 Požadované vlastnosti biomateriálů	13
1.1.1 Biokompatibilita	13
1.1.2 Reakce hostitele	14
1.1.3 Toxicita	14
1.1.4 Odolnost proti korozi	14
1.1.5 Mechanické a fyzikální vlastnosti.....	14
1.2 Historie biomateriálů	15
1.2.1 Rozdělení biomateriálů	16
1.2.2 Polymerní biomateriály.....	16
1.2.2.1 <i>Celulóza</i>	17
1.2.2.2 <i>Polypropylen</i>	17
1.2.3 Kovové biomateriály.....	17
1.2.3.1 <i>Titan a jeho slitiny</i>	18
1.2.3.2 <i>Slitiny kobaltu</i>	18
1.2.3.3 <i>Nerezová ocel</i>	19
1.2.4 Keramické biomateriály	20
1.2.4.1 <i>Bioaktivní keramika</i>	20
1.2.5 Kompozitní biomateriály	21
1.2.5.1 <i>Kompozity na bázi polyesteru</i>	21
1.3 Použití biomateriálů	22
1.3.1 Srdeční chlopně.....	23
1.3.2 Biomateriály v ortopedii	23
1.3.3 Kyčelní klouby	23
1.3.4 Zubní implantáty	24
1.3.5 Biomateriály v oftalmologii.....	24
1.3.6 Kostní implantáty.....	25
2 POVRCH MATERIÁLŮ, VÝZNAMNÉ VLASTNOSTI A ANTIMIKROBIÁLNÍ POVRCHY	26
2.1 Povrch	26
2.2 Modifikace povrchu	27
2.3 Povrchové vlastnosti	28

2.3.1	Adsorpce proteinu	28
2.3.2	Buněčná adheze	29
2.3.3	Biomimetika.....	29
2.3.4	Hydrofobní a hydrofilní povrchy	29
2.4	Antimikrobiální vlastnosti.....	30
2.4.1	Povrchové antimikrobiální povlaky	30
2.4.1.1	<i>Antimikrobiální peptidy</i>	31
2.4.1.2	<i>Chitosan</i>	31
2.4.1.3	<i>Antibiotika</i>	31
2.4.1.4	<i>Antimikrobiální enzymy</i>	32
2.4.1.5	<i>Polymerní povlaky</i>	32
3	TECHNIKY MĚŘENÍ A POZOROVÁNÍ VYBRANÝCH VLASTNOSTÍ POVRCHŮ A JEJICH DŮVODY.....	33
3.1	Rentgenová fotoelektronová spektroskopie.....	33
3.2	Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů	33
3.3	Energiově disperzní rentgenová spektroskopie.....	34
3.4	Infračervená spektroskopie.....	34
3.5	Ramanova spektroskopie.....	35
3.6	Ultrafialovo-viditelná spektroskopie	35
3.7	Mikroskopie atomárních sil	36
3.8	Hmotnostní spektrometrie.....	36
3.9	Skenovací elektronová mikroskopie.....	37
3.10	Transmisní elektronová mikroskopie.....	38
3.11	Souhrn	38
4	PŘÍKLADY APLIKACÍ MIKROSKOPICKÝCH TECHNIK PRO ZKOUMÁNÍ MORFOLOGIE POVRCHU MATERIÁLU.....	40
4.1	Analýza povrchu dentálních implantátů.....	40
4.2	Charakterizace slitin.....	41
4.3	Nerezová ocel u stentů	42
4.4	Zobrazování bakterií tvořící biofilm	42
4.5	Rozhraní biomateriálů a biomolekul.....	43
5	ZÁVĚR	45
	POUŽITÁ LITERATURA.....	46

SEZNAM ILUSTRACÍ

obrázek 1 <i>Použití biomateriálů v lidském těle</i>	22
obrázek 2 <i>Popis povrchu materiálu</i>	26
obrázek 3 <i>Schéma hmotnostního spektrometru</i>	37

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 <i>Přehled vybraných metod</i>	41
--	----

SEZNAM ZKRATEK

AFM – mikroskopie atomárních sil

AMP – antimikrobiální peptidy

DLC – diamantový uhlíkový povlak

DNA – deoxyribonukleová kyselina

EDS – energiově disperzní rentgenová spektroskopie

FTIR – infračervený spektrometr s Fourierovou transformací

HFN – fibronektin lidské plazmy

HPF – fibrinogen lidské plazmy

IR – infračervená spektroskopie

MS – hmotnostní spektrometrie

PEEK – polyetherketonová vlákna

PEG – polyethylenglykol

PMMA – polymethylmethakrylát

PPF – polypropylen fumarát

SAMs – samoskladné vrstvy

SEM – skenovací elektronová mikroskopie

SIMS – hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů

TEM – transmisní elektronová mikroskopie

UHMWPE – polypropylen s velmi vysokou molekulovou hmotností

UV-VIS spektroskopie – ultrafialovo-viditelná spektroskopie

UV záření – ultrafialové záření

XPS, ESCA – rentgenová fotoelektronová spektroskopie

ÚVOD

Biomateriály jsou důležitou součástí medicíny. Jejich využití je široké a vývoj jde stále kupředu. Nemoc či úraz ovlivňuje člověka nejen fyzicky, ale i psychicky a spolu s ním prožívají utrpení i jeho blízcí. Dnes je medicína na vysoké úrovni a díky pokrokům můžeme léčit či nahradit poškozenou tkáň různými materiály, ve kterých hrají hlavní roli právě biomateriály. V dřívějších dobách, biomateriály jak je známe dnes, neexistovaly a lidé využívali takové předměty, které bylo možné opracovat a následně použít. Je zřejmé, že tyto materiály člověk využíval jen na vnější část těla, jelikož v dobách, kdy se lidé léčili svépomocí nebyla medicína na vyspělé úrovni, aby bylo možné biomateriál do těla úspěšně zavést. Postupem času došlo k vývoji medicíny a byl vynalezen aseptický přístup, který je důležitou součástí při procesu vkládání biomateriálů do těla. S pokrokem doby a poznatků v medicíně, byly materiály zkoumány různými mikroskopickými technikami, aby byla zjištěna jejich vhodnost pro lékařské použití. Jedinou mikroskopickou technikou není možné zjistit veškeré informace o daném materiálu, a proto se používají různé mikroskopické metody, pomocí nichž se biomateriály zkoumají v různých stádiích zpracování. Celkové pochopení vlastností biomateriálu nám dává možnost, použít jej tak, aby v lidském těle plnilo účel, který potřebujeme a zároveň nebylo ohroženo zdraví pacienta.

Díky biomateriálům dnes existuje velké množství implantátů, které je možné využít v různých medicínských aplikacích. Pokud je potřeba nahradit chybějící část těla či tkáň, přijdou na řadu právě implantáty. Jejich hlavním úkolem je pomoci pacientům se zdravotním postižením a začlenit je tak zpět do běžného života.

1 BIOMATERIÁLY

Obecná definice charakterizuje biomateriály jako systémy, které jsou schopny řídit průběh terapeutických či diagnostických procedur skrze interakce se živým organismem. Biomateriál je tedy jakákoli látka, která byla zkonstruována tak, aby interagovala s biologickými systémy pro lékařské účely [1].

Již po celá staletí se ve zdravotnictví využívá různých druhů materiálů, ale jako věda jsou biomateriály známé asi padesát let. Studium biomateriálů se nazývá biomateriálové vědy nebo biomateriálové inženýrství. Během své historie zažili stabilní a silný růst, kdy mnoho společností investovalo velké množství peněz do vývoje nových produktů. Věda o biomateriálech zahrnuje prvky medicíny, biologie, chemie, tkáňového inženýrství a vědy o materiálech [2].

Obecně se biomateriály využívají k výrobě zařízení, které jsou schopné nahradit část těla či jeho funkci. Mezi biomateriály však řadíme i různé běžné předměty a materiály jako jsou např. stehy, jehly, katétry, destičky nebo výplně zubů. Jedná se o materiály přírodního i syntetického původu, živé i neživé a obvykle vyrobené z více složek. Biomateriály musí být bezpečné, spolehlivé, ekonomické a v neposlední řadě fyziologicky přijatelné, aby nepříznivě neovlivňovaly živý organismus [3].

1.1 Požadované vlastnosti biomateriálů

Vývoj a výzkum biomateriálů představuje práci, která je vykonávána ve spolupráci biomedicínských inženýrů, vědců a materiálových techniků, ale také patologů a kliniků, pokud je potřeba řešit klinické problémy. Na vlastnostech, kterými daný biomateriál oplývá, závisí volba konkrétního biomateriálu, se kterým přijde pacient do kontaktu za účelem nahrazení části těla, ošetření či z důvodu zlepšení výkonu části těla [4].

1.1.1 Biokompatibilita

Všechny biomateriály spojuje základní vlastnost, kterou je biokompatibilita. Biokompatibilita je termín, který není jednoznačně definován, ale obecně se označuje jako schopnost biomateriálu plnit potřebnou funkci bez vyvolání nežádoucí či systémové reakce u příjemce [5]. Tato zjednodušená a obecná definice v sobě ovšem ve skutečnosti zahrnuje celou řadu komplikovaných interakcí a reakcí, charakteristik a testů, které jsou definovány mezinárodními normami. Pro úspěšnou aplikaci biomedicínských materiálů je tedy biokompatibilita rozhodující vlastností [6].

1.1.2 Reakce hostitele

Implantace požadovaného materiálu způsobuje lokalizovanou či systémovou zánětlivou odpověď. Ta se objeví, bez ohledu na způsob zavedení biomateriálu, jelikož u pacienta dojde k narušení tkáně. Ovšem míra zánětlivé odpovědi se odvíjí od umístění, kompatibility a implantačního postupu biomateriálu [7]. Reakce hostitele je tedy definována jako reakce organismu (lokální či systémový) na implantované zařízení či biomateriál [8].

1.1.3 Toxicita

Biomateriál by měl v prostředí živého organismu sloužit požadovanému účelu bez ovlivnění tělesných orgánů [9]. U biomateriálů je požadována netoxicity, pokud tedy není záměrně zkonstruován tak, aby z něj látky migrovaly, např. vyspělý systém dodávky léků zaměřený na rakovinové buňky a jejich zničení. Z biomateriálu by se tedy neměla uvolňovat žádná látka, pokud tento požadavek není vysloveně žádán [8].

1.1.4 Odolnost proti korozi

Implantované materiály jsou v lidském těle vystaveny tělesným tekutinám, které mohou mít negativní vliv na implantát. Vlivem této skutečnosti je využití dokonalého implantátu omezeno [10]. Kovové ionty se mohou hromadit ve tkáních či se transportovat do jiných částí organismu. Tato skutečnost je negativní vlastností biomateriálů, jelikož koroze může značně zkrátit nejen životnost implantátu, ale také život pacienta. Z tohoto důvodu jsou využívány pouze materiály odolné vůči vzniku koroze [8].

1.1.5 Mechanické a fyzikální vlastnosti

Na všechny biomateriály jsou kladeny mechanické a výkonnostní požadavky, které závisí na jejich fyziologickém použití. Lze je rozdělit do tří kategorií, a to mechanický výkon, mechanická odolnost a fyzikální vlastnosti [11].

Mechanický výkon představuje vlastnosti jako jsou síla, pevnost, ohebnost a tvrdost. Pro představu druhé kategorie (mechanická odolnost) můžeme uvést např. dobu funkce kostních desek, které činí 6 a více měsíců, či katétry, které jsou funkční jen 3 dny [11]. Při výběru biomateriálu jsou zohledňovány také fyzikální vlastnosti, např. specifická propustnost u dialyzačních membrán či mazivost u náhrad kyčelních kloubů. Z tohoto důvodu by mělo být chování biomateriálů při daném použití nejprve pečlivě prostudováno [8].

1.2 Historie biomateriálů

Využívání biomateriálů sahá až do starověku, kde je lidé využívaly k nápravě či k posílení těla [12]. Není tomu ovšem tak dávno co biomateriály, tak jak jsou známy dnes, neexistovaly. Tyto materiály dříve nebyly označovány pojmem „biomateriál“ a neexistovaly ani výrobci zdravotnických zařízení s výjimkou externích protetik [2].

V minulosti se využívalo přírodních materiálů, jako je např. dřevo, perleť, slonová kost či zuby zvířat. Dřevem se lidé nejčastěji snažili stavebně nahradit chybějící končetinu ať již z důvodu nemoci či úrazu. Mezi první materiály, které byly využívány, patřila kromě dřeva, již výše zmíněná, slonová kost a dále také xenogenní či alogenní kost, které měly ortopedické využití. Svě místo měly také různé zvířecí zuby, např. od psů či telat, které používali zubaři jako náhradu místo původních zubů. Zubní implantáty používali lidé jako náhradu za chybějící zuby již od počátku lidstva [13]. K jejich výrobě se používal i kámen a slonovina, a právě z nich byly nalezeny implantáty v Číně a Egyptě [14]. S pokrokem technologií se později využíval jako implantační a protetický materiál kov, převážně zlato, stříbro, měď a olovo [15]. Výběr materiálu se odvíjel dle jeho dostupnosti, zručnosti a vynalézavosti jednotlivce [12].

Role dnešních biomateriálů byla značně ovlivněna pokroky vědy a biotechnologie. Uvedení biomateriálů do praxe nebylo možné v době, kdy nebyl známý aseptický postup při chirurgických zákrocích a implantace různých kovových zařízení, jako jsou např. dráty či špendlíky ze železa, zlata a stříbra, nebyly úspěšné. V 19. století J. Lister vyvinul postupy aseptické techniky a díky tomu se snížil počet nepovedených implantací z důvodu infekce [16]. I přes aseptické postupy problémy s infekcí mají tendenci se zhoršovat v přítomnosti biomateriálů, protože implantát může vytvořit oblast, která je imunitním buňkám těla nepřístupná [3]. V dnešní době k boji proti infekcím, které souvisejí s aplikací medicínského zařízení, existuje mnoho metod. Řadí se zde přírodní produkty, jako jsou fenolové sloučeniny, ale i povrchové potahování biomateriálů např. peptidy nebo využití anorganických prvků, jako je měď a stříbrné nanočástice [17]. Je známo, že prevencí před infekcemi a nepostradatelnou součástí léčby infekcí jsou antibiotika [18, 19].

1.2.1 Rozdělení biomateriálů

Biomateriály můžeme rozdělit do 4 hlavních skupin. Jedná se o:

- polymery
- kovy
- keramiku
- kompozity [2]

1.2.2 Polymerní biomateriály

Polymery jsou dlouhé řetězce molekul, které se skládají z velkého počtu malých, opakujících se jednotek. V biomedicínských zařízeních se využívá různých typů polymerních implantátů, a právě polymery reprezentují největší třídu biomateriálů. Patří zde např. ortopedické, zubní a kardiovaskulární implantáty. Polymery můžeme rozdělit na přírodní a syntetické. Přírodní polymery se využívají především kvůli dobré biokompatibilitě a jejich nízké toxicitě. Mezi polymery přírodního původu patří např. kolagen a celulóza [20]. Není pochyb, že tyto polymery jsou důležité, ovšem překonat je mohou zdánlivě neomezené druhy syntetických polymerů, které jsou dnes snadno dostupné [2], a z tohoto důvodu se dnes přírodní polymery využívají jen v omezené míře. Častější využití mají tedy polymery syntetické, které jsou více přizpůsobivé a jejich vlastnosti lze upravit podle toho, na jakou aplikaci budou využity [21]. Syntetické polymerní materiály sahají od hydrofobních materiálů nevstřebávajících vodu (např. polyethylen a polypropylen) až po polární materiály (např. polyvinylchlorid a nylony), ale zahrnují i materiály rozpustné ve vodě (např. polyetylglykol a polyvinylalkohol). Pro konkrétní použití je nutné brát ohled na vlastnosti polymeru, protože vlastnosti určitého polymeru musí odpovídat požadavkům pro konkrétní použití. Z tohoto důvodu je důležité znát jejich vlastnosti, aby bylo možné vybrat vhodný typ polymeru pro požadovanou aplikaci [22].

Použití syntetických materiálů je velice rozšířeno u lékařských jednorázových potřeb, protetických materiálů, dentálních materiálů, implantátů nebo obvazů. Oproti keramickým nebo kovovým materiálům mají polymerní materiály podstatné výhody a těmi jsou: při výrobě snadná zpracovatelnost do různých tvarů (film, fólie, vlákna atd.), ale také přiměřené náklady, nízká hmotnost, přizpůsobitelné fyzikální a mechanické vlastnosti či biokompatibilita (schopnost modifikace povrchu a imobilizace buněk) [3]. Mezi nevýhody patří těžká sterilizace, opotřebení a rozpad, kontaminace povrchu a absorpce vody a proteinů [23].

1.2.2.1 Celulóza

Jedná se o polymer, který je jedním z nevyčerpatelných přírodních zdrojů polymerů na světě. Nachází se v rostlinách, ovoci, kůrách a v listech, kde je přítomna v buněčné stěně tkání rostlin [24]. Celulóza se získává ze zpracované bavlny či dřevěné buničiny a řadí se mezi nejvíce využívané biopolymery, které tvoří vlákno [2]. Jelikož mají celulózová vlákna absorpční povahu, používají jako absorbovatelný materiál, kam patří např. obvazy na rány [25]. Ve většině případů, se však neaplikují *in vivo* z důvodu vysoké zánětlivé reakce [2]. Celulóza se v přírodě vyskytuje ve velkém množství, a proto jsou biomateriály na bázi celulózy levnou a dostupnou platformou pro tkáňové inženýrství [25]. Je možné ji využít také v modifikované formě u hemodialyzačních membrán či jako regulovatelný systém dodávání léčiv. V minulosti se využívala i k výrobě zkumavek [26].

1.2.2.2 Polypropylen

Polypropylen patří mezi hojně využívaný syntetický materiál. Není trombogenní a díky tomu nachází využití u pacientů při kardiovaskulárních zákrocích [27]. Vyrábí se z něj struktury srdečních chlopní [28]. Je velice plastický a jestliže je vystaven napětí, je možné jej snadno tvarovat. V chirurgii tato skutečnost přispívá k zajištění uzlů, jestliže jsou stehy správně utaženy [27].

1.2.3 Kovové biomateriály

Nejčastěji využívanými kovy v oblasti biomateriálů jsou titan a jeho slitiny, kobalt-chromová slitina a nerezové oceli. Většina kovů využívaných k výrobě implantátů (např. Fe, Co, Cr, Ni a Mo) se v těle nacházejí v přirozeně se vyskytujících formách a jsou důležité pro správnou funkci lidského těla, např. železo je důležité pro tvorbu červených krvinek či kobalt pro syntézu vitamínu B₁₂, avšak ve velkém množství jsou pro tělo toxické [2].

Kovové biomateriály jsou hojně využívány v zubním lékařství a v oblasti ortopedie, a to především díky jejich vysoké odolnosti vůči mechanické zátěži [29]. Ovšem existují jisté obavy v oblasti biokompatibility, neboť lidské tělo je velmi agresivní prostředí, ve kterém kovy rychle korodují. První kovovou slitinou, která měla speciální využití pro lidské potřeby byla „Shermanova“ vanadová ocel, která vykazovala výbornou odolnost vůči mechanickému namáhání, ale od jejího používání se upustilo poté, co bylo zjištěno, že má velkou tendenci ke korozi [29]. Pokud nastane koroze, dochází k oslabení implantátu a produkty koroze působí svými škodlivými účinky na okolní tkáň a orgány [3]. K převratu ve využívání kovových

biomateriálů došlo teprve v 30. letech 19. století s příchodem kobalt-chromové slitiny a nerezové oceli [20]. Mezi výhody kovových materiálů patří vysoká pevnost, odolnost proti únavě materiálu, dále jednoduchá výroba, snadná sterilizace, tvarová paměť a odolnost proti opotřebení. Naopak negativní vlastností je koroze, toxicita iontů kovu, kovový vzhled a vysoký modul pružnosti [23].

1.2.3.1 Titan a jeho slitiny

Mechanické vlastnosti čistého titanu jsou v některých případech nedostatečné, a proto se často využívá slitina Ti_6Al_4V . Titanové slitiny vyrobené s 6 % hliníku a/nebo 4 % vanadu jsou nejpoužívanějšími slitinami titanu pro medicínské aplikace [20]. Titan a slitiny titanu mají výhodné vlastnosti, a právě díky nim je jeho použití v medicíně velmi rozšířené [21]. Největší výhodou je jeho netoxicitu, odolnost proti korozi, biokompatibilita, vysoká odolnost vůči zlomení a schopnost spojit se s lidskou kostí. Výše uvedené vlastnosti spolu s jeho nízkou hmotností nabízí výborné vlastnosti pro implantát, a právě proto se stal základním materiálem používaným v moderní medicíně [20].

Schopnost titanu spojit se s živou kostí, je velice často využívána v oblasti stomatologie. Titanové zubní implantáty jsou úspěšně používaným typem materiálů a jedná se o jediný kov, který umožňuje osteointegraci. Osteointegrace je děj, při kterém se vlastní kost či tkáň těla naváže na implantát. To znamená, že buňky, které vytvářejí kost se připojí k titanovému implantátu a vytvoří se funkční můstek, přes který dochází ke spojení implantátu a kosti, která se formuje na povrchu kovu [21].

1.2.3.2 Slitiny kobaltu

Obecně lze slitiny na bázi kobaltu označit jako nemagnetické, odolné proti korozi a ohnivzdorné. Není lehké je vyrobít, a proto se využívají v omezené míře. Vůbec první lékařské využití slitin na bázi kobaltu bylo na dentální implantáty, jelikož tyto slitiny mají výbornou odolnost vůči degradaci v prostředí dutiny ústní. V současnosti se využívají především u ortopedických protéz kolen, ramen, kyčlí a v neposlední řadě také na fixaci zlomenin [24]. Ve srovnání s titanovými slitinami, mají implantáty na bázi kobaltu větší mechanickou odolnost, a díky tomu se mohou rozsáhle využívat na části těla, u kterých postupem času může dojít k opotřebení [30].

Slitina Co – Cr – Mo, v biomedicíně jinak nazývána Vitallium je jednou z nejvíce používaných slitin na bázi kobaltu, a to díky výhodné kombinaci, kterou je velká pevnost

a vysoká tažnost. Slitiny Co – Cr mají výborné mechanické vlastnosti, mezi které patří houževnatost, pevnost, odolnost proti korozi a opotřebení, a proto se využívají pro pohyblivé části umělých spojů. Jejich dobrá slévateľnost umožňuje jejich použití i pro zubní protézy [31].

1.2.3.3 Nerezová ocel

Nerezová ocel je důležitým materiálem při chirurgických zákrocích i v biomedicínských implantátech [32]. Chirurgické nerezové oceli jsou vyrobeny z několika hlavních prvků. Jedná se především o chrom, nikl a molybden. Tyto prvky kladně ovlivňují celkové vlastnosti oceli. Díky nim je odolná proti korozi, má vysokou tepelnou odolnost a je nemagnetická [33]. Nerezová ocel je nazvána nerezovou právě díky své odolnosti vůči korozi. Tato vlastnost je způsobena přidáním chromu do slitiny, tím dojde k reakci chromu s kyslíkem, čímž vznikne ochranná vrstva oxidu chromitého (Cr_2O_3) na povrchu požadovaného implantátu [34]. Kromě pozitivního účinku proti snížení vzniku koroze, je také chrom odolný vůči mechanickému poškození povrchu např. poškrábání, čímž se stává vhodným materiálem pro předměty, které je nutné opětovně čistit a sterilizovat [32]. Dalším známým nerezovým kovem, je již výše zmíněný nikl, který má důležitou roli ve výrobě austenitických nerezových ocelí, kterým poskytuje pevnost, houževnatost a tažnost [34]. Nerezové oceli dodává hladký a velice leštiteľný povrch a tím umožňuje snadné čištění povrchu. Neméně podstatným kovem je molybden, který se po vytvarování vyznačuje svou tvrdostí, a proto se využívá na ostré hrany např. čepele skalpelů [32].

Nutno podotknout, že nikl a chrom jsou známé svými karcinogenními účinky. Působení karcinogenního účinku daných prvků na lidské tělo je však závislé na množství a formě daného materiálu. U niklu je velká část rizika tvořena kontaktem s jeho surovou formou a v případě legování ocelí, představuje pro nositele malé riziko. Zdravotní účinky chromu na lidské tělo, jsou ovlivněny formou, ve které se s ním člověk setká. Šestimocný chrom (Cr^{+6}) má vysokou toxicitu a karcinogenní účinky, což je známo již od konce 18. století. Naopak je tomu u trojmocného chromu (Cr^{+3}), který má nízký stupeň toxicity a je dokonce známá i jeho stopová přítomnost ve vodě a v potravě. Chrom, se kterým přijde většina pacientů do kontaktu v nerezové oceli, je tedy bezpečný [34].

1.2.4 Keramické biomateriály

Keramika je obecně tvrdý materiál, který je znám pro svou vysokou teplotu tání a nízkou tepelnou a elektrickou vodivost [3]. Jedná se o materiál vyrobený z trvale vytvrzených nekovových materiálů při vysoké teplotě [23]. Keramické materiály, stejně jako ostatní biomateriály, nesmí být toxické, karcinogenní, zánětlivé či vyvolávající alergii, a proto mezi nejdůležitější vlastnosti patří biokompatibilita a zachování funkčnosti po celou dobu života nositele [3].

Keramiku, která je využívána na výrobu implantátů lze nazvat jako neabsorbovatelnou a biologicky rozložitelnou [3]. Keramické biomateriály se využívají ve stomatologii jako zubní implantáty a v oblasti ortopedie jako náhradní kyčelní jamky [21]. V porovnání s kovy či polymery není využití keramiky v jiných oblastech biomedicíny tak rozšířené, kvůli jejich křehkosti. Mezi výhody keramických biomateriálů patří odolnost vůči opotřebení a korozi, mohou být vysoce leštěny a jsou chemicky příbuzné s lidskou kostí. Jsou ovšem málo pevné v tahu i ohybu, což je jejich nevýhodou [23]. Biomateriály vyrobené z keramiky jsou tedy velice dobře kompatibilní s živými tkáněmi, odolné vůči korozi, avšak jak již bylo zmíněno, jejich nevýhodou je křehkost, která omezuje jejich použití [21]. Z tohoto důvodu nacházejí nejčastěji využití jako povlaky na kovové implantáty nebo v mechanicky nízko zátěžových aplikacích.

1.2.4.1 Bioaktivní keramika

Bioaktivní materiál je obecně materiál, který v případě umístění do lidského těla, je schopný interagovat s okolní kostí či měkkou tkání [35].

Bioaktivní keramika je třídou keramiky a jedná se o biologicky aktivní materiál, který je bohatý na vápník a fosfát [23]. Bioaktivní keramika je dle definice označována jako biokeramika, která se po implantaci váže přímo na živé tkáně, a to bez přítomnosti fibrilární pojivové tkáně [36, 37]. Tato schopnost vazby je velmi užitečná hlavně u biomateriálů použitých v místech, kde je materiál spojený s kostí. Mezi bioaktivní keramiku patří např. hydroxyapatit, bioaktivní skleněná keramika a bioaktivní sklo [36].

Bioaktivní keramika se využívá na objemná a porézní tělesa, která našla uplatnění u umělých kořenů zubů pro obnovu funkce chybějících zubů. Používá se také jako povrchově aktivní vrstva na zubních implantátech či jako aktivní opora vsunutá do čelisti, čehož se využívá k regeneraci kostní tkáně [38].

1.2.5 Kompozitní biomateriály

Kompozitní biomateriály jsou dle definice materiály, které jsou tvořené dvěma a více fázemi s odlišnými vlastnostmi (fyzikálními, mechanickými a chemickými) přičemž všechny fáze jsou plynulé. Tyto materiály mají tedy rozdílné vlastnosti od prekurzorů a jejich kombinací vzniká „nový“ materiál [39]. Mezi přírodní kompozity lze řadit např. kost či dřevo. Jestliže se přidá příměs syntetických vláken do kompozitního materiálu, označujeme je jako vlákny vyztužené kompozity [22]. Nejčastěji se pro vyztužení používají polyetylenová vlákna UHMWPE (ultra high molecular weight polyethylene – polypropylen s velmi vysokou molekulovou hmotností), karbonová vlákna, sklo a keramika [2]. Je velice důležité, aby každá složka kompozitu byla biokompatibilní a rozhraní mezi složkami nebylo degradováno prostředím těla [3].

Kompozitní biomateriály mají v medicíně rozsáhlé využití, např. u totálních náhrad kolenních kloubů či páteřních implantátů, u protéz končetin, v oblasti stomatologie a při léčbě komplikovaných, otevřených, infikovaných či tříštivých zlomenin, tedy u vnějších i vnitřních fixací [39]. Např. ve stomatologii je nejčastěji využívaným kompozitem pro biomateriály kompozit polymer–keramika, jehož složení je organického pojivo (např. pryskyřice) a anorganické plnivo (např. borokřemičité či hlinitokřemičité sklo) [22]. Nevýhodou kompozitních biomateriálů jsou vysoké náklady, které je potřeba použít na jejich výrobu a dále fakt, že není snadné měnit jejich tvar [40]. Naopak výhodou je kombinace hustoty ku váze a pevnosti, což z nich činí vhodný materiál pro stomatologické aplikace [23]. Dále jsou odolné proti korozi a také vůči únavě materiálu [41]. Jsou vysoce biokompatibilní, oplývají vysokou tvrdostí, odolností proti mechanickému působení a mají schopnost nést velkou zátěž. Díky těmto vyjmenovaným vlastnostem jsou vhodné pro tkáňové inženýrství [42].

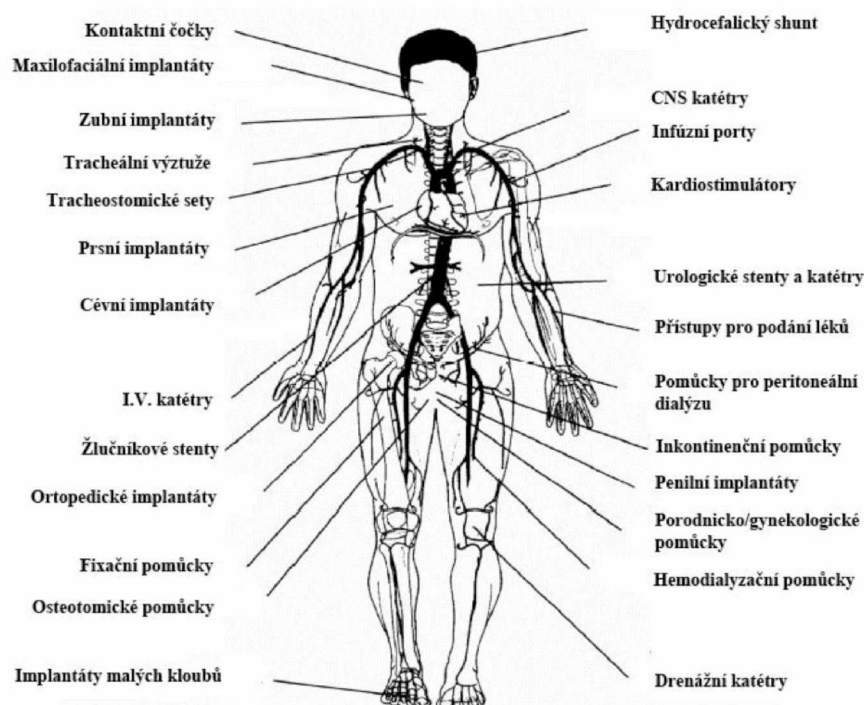
1.2.5.1 Kompozity na bázi polyesteru

Polypropylen fumarát (PPF) patří mezi nenasyčené lineární polyestery. PPF je biologicky rozložitelný polymer (k jeho degradaci dochází pomocí hydrolýzy za vzniku konečných produktů propylenglykolu a kyseliny fumarové) a obsahuje velké množství nasycených dvojných vazeb. Bylo zjištěno, že je biokompatibilní a není cytotoxický. Kompozity na bázi polyesteru byly studovány pro kostní aplikace a léčbu defektů kostí. Dle dostupné literatury bylo pomocí studií prokázáno, že pevný PPF disponuje mechanickými vlastnostmi, které jsou podobné vlastnostem kostí a má vhodnou pevnost v tlaku, která je

potřebná pro ortopedické aplikace. Jestliže se k PPF přidá fosforečnan vápenatý vznikne kompozitní cement, který má mechanické vlastnosti podobné trabekulární kosti [43].

1.3 Použití biomateriálů

Použití biomateriálů je v dnešní době značně rozsáhlé. Nejrozšířenějším využitím biomateriálů jsou náhrady částí těla, které pozbyly funkci ať již z důvodu nemoci či traumatu. Biomateriály napomáhají při léčení, zlepšují výkon a případně napravují abnormality [3]. Na obrázku 1 je znázorněn přehled využití biomateriálů v lidském těle.



Obrázek 1 Použití biomateriálů v lidském těle [44]

Jako příklady konkrétního použití lze uvést např. náhrady srdečních chlopní, náhrady kyčelních kloubů, zubní náhrady, biomateriály v ortopedii, oftalmologii či kostní implantáty [2].

1.3.1 Srdeční chlopně

Srdeční chlopně se otevřou a uzavřou více než 100 tisíckrát za den, což může vést k opotřebením a tím ztrátě jejich funkčnosti a z tohoto důvodu je poté nutné chlopně vyměnit [2]. Každým rokem dojde k výměně téměř 300 000 chlopní [45]. Jejich náhrada je nutná ať již z důvodu jejich přirozeného opotřebením či kvůli vrozeným vadám. Srdeční protézy můžeme rozdělit na mechanické a biologické [3]. U mechanických chlopní může být náhrada vyrobena z uhlíku, který se nachází ve formě čistého pyrolytického uhlíku bez příměsí, z kovů, elastomerů, plastů či tkanin [2, 46]. Nejčastějším konstrukčním materiálem je slitina titanu, která je obalená pyrolytickým uhlíkem z důvodu snížení trombogenicity. Biologické chlopně (tzv. bioprotézy) se vyrábí z tkáně hovězího perikardu nebo vepřové chlopně. Tato biologická tkáň je chemickým způsobem upravena glutaraldehydem z důvodu snížení antigenicity [47].

1.3.2 Biomateriály v ortopedii

Ortopedické biomateriály se značně podílí na úspěšné obnově mobility a kvality života několika milionů osob [2]. Do lidského těla jsou implantována zařízení, která jsou navržena tak, aby vykonávala určité biologické funkce ať již zastoupením nebo opravou různých tkání, jako je kost, vazy, chrupavka nebo šlachy [48]. Mezi ortopedické implantáty se řadí např. rekonstrukční implantáty, materiály pro nápravu zlomenin či páteře a artroskopické produkty [2].

Nejvíce využívána v traumatologických dočasných zařízeních, jako jsou šrouby či fixační destičky zlomenin, je nerezová ocel díky nízkým nákladům a dostupnosti. U protéz kloubů se využívají slitiny na bázi titanu a kobalt-chromu. Dále se také využívají keramické biomateriály, které mají široké využití u totálních kyčelních artroplastik [48].

1.3.3 Kyčelní klouby

Lidské kyčelní klouby jsou vystaveny vysokému mechanickému působení a po padesáti či více letech opakující se mechanické zátěži se vlastní kloub může, vlivem degenerativního nebo revmatologického poškození, opotřebovat. Je zřejmé, že tato situace vede ke značné ztrátě mobility [2]. Výměna kyčelního kloubu je operací, při které se nahradí kloub takovým implantátem, který obnoví funkčnost kloubu. V dnešní době jsou náhrady kyčelních kloubů vyrobeny z keramiky, kovů a plastů. Mezi nejvíce využívané materiály patří slitiny titanu, oxid hlinitý, nerezová ocel, oxid zirkoničitý a UHMPWE. Krček a tělo jsou obvykle vyrobeny z kovů, femorální hlava bývá kovová i keramická a kloubní jamka může být vyrobena jak

z kovů, keramiky tak i z polymerů [49]. Ročně se dle odhadů provede přibližně 1 milion zákroků náhrad kyčle a z důvodu stárnutí populace na celém světě a rostoucím zájmu po vysoké kvalitě života, se předpokládá, že do roku 2025 bude těchto zákroků dvojnásobně více [50].

1.3.4 Zubní implantáty

Zubní implantát má schopnost obnovit či zlepšit funkci zubů implantováním jednoho či více umělých kořenů do čelisti. Implantát představuje trvalou a bezpečnou náhradu chybějících zubů, zlepšuje vzhled chrupu a není přitom potřeba zasahovat do okolí a brousit okolní zuby [51]. Lze tedy říct, že zubní implantát funguje jako náhrada za kořen ztraceného zubu [52]. U zubních náhrad je na používaný materiál kladen speciální požadavek, a to schopnost vytvořit těsné spojení proti bakteriím v místě, kde implantát prochází gingivou [2].

Zubní implantáty jsou většinou vyrobeny z titanu, jelikož právě ten má schopnost sjednotit se s kostí a tělo ho nedetekuje jako cizí těleso [52]. Dříve byly používány materiály z drahých kovů jako je např. zlato a platina, ovšem z finančních důvodů se přešlo na využití kovů a slitin jako je již zmíněný titan či slitiny na bázi kobaltu [2].

1.3.5 Biomateriály v oftalmologii

V odvětví oftalmologie hrají biomateriály důležitou roli při postupech, které jsou využívány pro zlepšení a udržení zraku [53]. Věk populace roste a onemocnění oka je stále rozšířenější. Díky biomateriálům je však v posledních několika letech možná obnova zraku, čímž je možné zlepšit kvalitu života pacientů [54].

Oční implantáty jsou např. využívány k obnovení funkčnosti rohovky, čočky či sklivce. Jako příklad využití se uvádí nitrooční čočka, která je implantována namísto zakalené čočky vlastního těla po jejím odstranění pomocí fakoemulzifikace [55]. Jedná se o postup, při kterém dojde k rozmělnění zakalené lidské čočky ultrazvukem a odsátí z oka. Do prostoru, který je takto vytvořen se vloží umělá čočka [56]. Nitrooční čočka může být vyrobena z tvrdých materiálů, jakým je např. polymethylmethakrylát (PMMA) či z měkkých materiálů, mezi které patří např. silikagel [57].

Ke srovnání optické funkce oka se využívají různá polymerní zařízení [2]. Téměř všechny oční implantáty se vyrábí ze syntetických polymerů [58]. Pro korekci krátkozrakosti či dalekozrakosti lze použít nitrooční implantáty namísto brýlí či kontaktních čoček. Aby bylo dosaženo vysoké permeability pro metabolity a schopnosti korigovat těžkou krátkozrakost, jsou některé nitrooční implantáty vyrobeny z hydrogelových materiálů [2].

1.3.6 Kostní implantáty

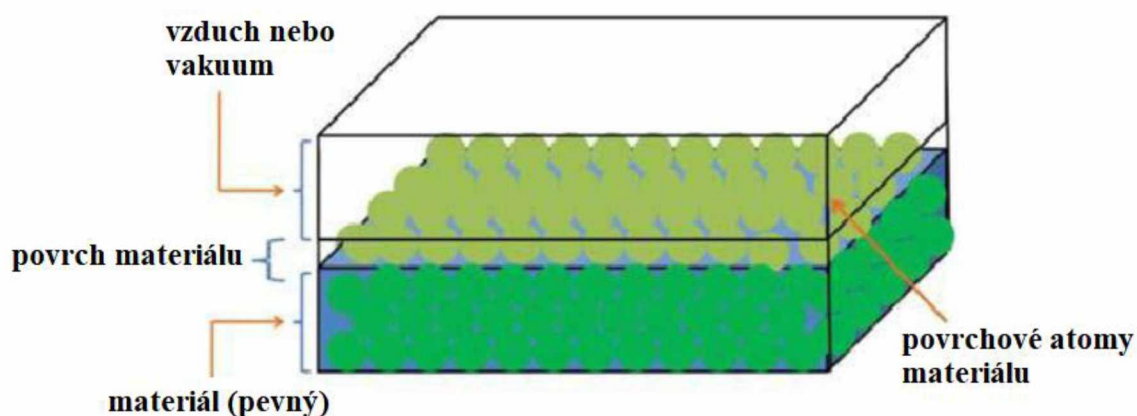
Kostní implantáty se používají k nahrazení tkáně po onemocnění, a to při regeneraci kostí, které může být zapříčiněné poraněním, selháním či stárnutím [59]. Jsou důležité pro nápravu kostí, jelikož poskytují substrát, který je nezbytný pro buněčnou proliferaci, adhezi a diferenciaci. Důležitým kritériem pro výběr kostního implantátu jsou stabilita a mechanické vlastnosti, které musí odpovídat místu použití (postižení). Je důležité, aby dokázaly poskytnout strukturální podporu pro defektní místo, ale i pro nově vytvořenou tkáň. Podstatná je také dobrá osteoinduktivita, tedy schopnost vyvolat diferenciaci kmenových buněk na osteogenní buňky, což má za následek vytvoření kostní tkáně [60].

Podle biokompatibility můžeme moderní kostní implantáty rozdělit na bioinertní, bioaktivní a biotolerantní materiály. Titan a oxid hlinitý, spadající do bioinertních materiálů, které jsou známé pro svou dobrou integraci do kostí. U bioaktivních materiálů jako je keramika fosforečnanu vápenatého a skla, se ukázala přímá chemická vazba implantátu s kostí a biotolerantní materiály jsou tkáni zcela tolerovány, tzn. z větší části dochází k distanční fibrointegraci (vytvoření vláknité tkáně okolo implantátu [62]), jako příklad lze uvést PMMA. V posledních letech se však hovoří o novém implantátovém materiálu, který má dle publikací dobré výsledky. Jedná se o čistý tantal, který je chemickým nanášením ukládán na skelný uhlíkový skelet [63].

2 POVRCH MATERIÁLŮ, VÝZNAMNÉ VLASTNOSTI A ANTIMIKROBIÁLNÍ POVRCHY

2.1 Povrch

Pojem povrch materiálu lze popsat jako vnější stranu, vnější hranici či vnější atomovou vrstvu materiálu. Dle další definice je povrch materiálu také popsán jako schránka, která odděluje objekt od prostředí. Hraniční oblast mezi dvěma sousedními fázemi, např. mezi kapalinou a pevnou látkou, nazýváme rozhraní. Povrchové vlastnosti daného materiálu jsou řízeny molekulami a atomy, které tvoří povrch, jelikož právě ty budou v kontaktu s buňkami hostitele či v jejich bezprostřední blízkosti [64]. Popis povrchu materiálu je znázorněn na obrázku 2. Zde můžeme pozorovat 3 vrstvy. Spodní vrstva (tmavě zelená) značí pevný materiál, horní vrstvu (bílou) tvoří vzduch a mezi těmito vrstvami je znázorněná vrstva (světle zelená), která představuje povrch materiálu – atomy, jež jsou v kontaktu se vzduchem či jinou fází [64]. Povrchy biomateriálů jsou zhotoveny a uzpůsobeny tak, aby modulovaly požadované chemické a fyzikální vlastnosti a vedly tak ke zlepšení funkčnosti biomateriálu při jeho aplikaci [65].



Obrázek 2 Popis povrchu materiálu [64]

Chemické složení a povrchová struktura materiálu hraje tedy důležitou roli při jeho biologickém chování [66]. Vlastnosti povrchu můžeme popsat pomocí různých technik, které

budou podrobněji rozepsány v kapitole 3. Jedná se např. o mikroskopii atomárních sil (AFM) a skenovací elektronovou mikroskopii (SEM) [64].

2.2 Modifikace povrchu

Povrchovou modifikací se rozumí připojení různých molekul či ligandů z důvodu zajištění odlišných chemických, fyzikálních či biologických vlastností. Využívá se k vylepšení mezifázových vlastností, jako je např. lepší smáčivost či vyšší drsnost, díky čemuž dochází k vyšší účinnosti biomateriálu, tzn. přizpůsobení povrchu materiálu pro zlepšení funkce a efektivní životnosti. Děje se tak nejen díky změně chemických, fyzikálních a biologických vlastností, jak již bylo zmíněno, ale i díky mechanickým vlastnostem, které mají souvislost s funkčností materiálu [67]. Cílem modifikace povrchu je:

- eliminovat či snížit adsorpci proteinů (dle dané aplikace)
- snížit adhezi bakterií
- řídit adhezi buněk
- zvýšení mazivosti
- zvýšení biologické kompatibility
- snížit či zvýšit smáčivost
- zvýšit odolnost vůči korozi
- zvýšit tvrdost či měkkost [64]

Metody povrchové úpravy dělíme na tři skupiny. (i) Fyzikální modifikace, která způsobuje změnu topografie či morfologie povrchu a nedochází k vůbec žádné či velice malé změně v chemii, jako př. lze uvést leptání, obrábění či tryskání [68]. Způsobují tedy změny ve struktuře povrchu biomateriálu. (ii) Chemická modifikace povrchu, ke které dochází prostřednictvím UV záření, acetylace, oxidace, alkalické hydrolýzy, přidáním glycidylových skupin atd. Při těchto chemických modifikacích dochází k přidání funkčních skupin a díky nim dochází k podpoře buněčné adheze, genové exprese či proliferace. Např. přídavek kyseliny arginin–glycin–asparagové na povrch biomateriálu patří mezi metody, které podporují adhezi buněk. (iii) Modifikace pomocí nanosení vrstvy na povrch. Nanesená vrstva může být vyrobena z organické vrstvy, polymeru, mikrobů či tenkého filmu, který pochází z jiného materiálu [64]. Potahování povrchovými povlaky je docíleno pomocí metod, kterými jsou odlévání rozpouštědla, sol–gel povlakování, depozice par, srážení či tepelné zpracování a zpracování

pomocí ponořování a páry. Použití povlaků vede ke změně povrchových vlastností a dochází tak k lepším interakcím mezi buňkami a biomateriály [69]. Obecně můžeme říct, že modifikace povrchu materiálu má za cíl tvorbu specifického fyzikálního a chemického prostředí, díky kterému bude buněčná reakce v tvrdé či měkké tkáni příznivá [68].

2.3 Povrchové vlastnosti

Povrchové vlastnosti můžeme popsat jako vlastnosti, jež jsou spojeny s povrchem materiálu, konkrétně můžeme jmenovat povrchové napětí, adsorpci, povrchovou energii, adhezi atd. Vlastnosti povrchu hrají důležitou roli při reakci biomateriálu v hostitelském prostředí. Na povrchových vlastnostech závisí i další vlastnosti kteréhokoli materiálu, jako jsou např. reaktivita a rozpustnost. Za vlastnosti povrchu zodpovídají povrchové atomy daného materiálu, jak již bylo probráno výše [64].

2.3.1 Adsorpce proteinu

U všech implantátů hraje důležitou roli neřízená proteinová vrstva, které se nelze vyhnout a po kontaktu s biologickým prostředím se naváže na všechny povrchy. Je třeba si uvědomit, že téměř všechny implantáty narušují vaskularizaci hostitele, což má za následek krvácení, které umožňuje tisícům různých krevních proteinů napadnout oblast rány [70]. Jestliže biomateriály přijdou do kontaktu s biologickou tekutinou jako je např. krev, dojde k kulpování proteinů na jejich povrchu. K tomuto ději dochází díky procesu známém jako adsorpce proteinu. K kulpování proteinu dochází v řádech milisekund [71] a lze tedy říct, že proces adheze buněk probíhající ve fyziologickém prostředí vede vždy k adsorpci proteinu [72].

Vlivem adsorpce proteinu na povrchu implantovaného zařízení se spustí kaskáda nepříznivých reakcí, které způsobí omezení funkční trvanlivosti implantátu. Na nespecifické adsorpci na povrch daného zařízení se účastní více než 20 000 různých hostitelských proteinů. U velké části těchto proteinů dochází k denuraci a přijetí konformace závislé na materiálu, která je ovšem pro proteiny nepřirozená. Po počáteční adsorpci proteinu přicházejí makrofágy a další buňky imunitního systému, které mohou detekovat a spustit reakci na nepřirozené stavy vrstvy proteinů na povrchu, přesněji řečeno na povrchu tkáně či na holém povrchu daného implantátu. Makrofágy hrají v hostitelském imunitním systému důležitou roli, jelikož reagují na biomateriály univerzálně a v různé míře, ale také jedinečně, což závisí na místě, na jaké místo byl implantát vložen a také na jeho velikosti [70].

2.3.2 Buněčná adheze

Obecně se jedná o vazbu buňky s extracelulární maticí. V případě biomateriálů se však buněčnou adhezí rozumí schopnost biomateriálu přilnout k buňkám, které se nachází v jeho okolí. Pro představu můžeme uvést implantát kyčle, kde adhezivní vlastnosti buněk hrají hlavní roli v úspěšném fungování implantátu. Buněčná adheze má za následek proliferaci a růst buněk na povrchu biomateriálu a tím vytváří stabilitu v životnosti umělé kyčle u pacienta [64].

Nesporným faktem je, že během kontaktu mezi buňkou a daným materiálem jsou informace přenášeny z povrchu materiálu na buňku. Vlivem tohoto kontaktu dojde ke změně materiálu, kdy tento jev může způsobit materiální přestavbu. K povrchům přilnou buňky díky adhezním proteinům jako je vitrolektin, laminin, kolagen a fibronectin. Děje se tak za pomoci využití specifických buněčných receptorů, které se nazývají integriny a jsou připojeny k buněčné membráně [73].

2.3.3 Biomimetika

V případě biomateriálu se biomimetikou rozumí návrh takového biomateriálu, který je podobný s přirozeným orgánem. Jde o to, aby bylo možné nahradit orgán či část orgánu, který je poškozen nebo je jeho funkce nesprávná. Pro představu můžeme uvést, že u materiálů, které se používají jako náhrada kosti musí být jejich tvrdost a poréznost velice blízká porézności a tvrdosti kosti. Aby bylo možné navrhnout takový biomateriál, je potřeba analyzovat funkční vlastnosti a prostředí dané části těla, aby mohl být materiál správně navržen [64].

2.3.4 Hydrofobní a hydrofilní povrchy

Hydrofilnost a hydrofobicita patří mezi důležité povrchové vlastnosti, které jsou potřebné pro adhezi buněk na površích biomateriálů [64]. Hydrofobním povrchem se rozumí povrch, který je schopný odpuzovat vodu [62] a tudíž, jestliže je povrch hydrofobní, má malou smáčivost vůči vodě, což znamená, že buněčná adheze je velice slabá. Pokud se jedná o povrch hydrofilní, je smáčivost vůči vodě velká a dochází k silnějšímu ulpívání adherentních buněk, mezi které patří např. fibroblastová buňka, na povrchu.

Bylo zjištěno, že pokud má materiál dobrou schopnost adheze buněk, vede tato skutečnosti k šíření a proliferaci buněk na povrchu implantátu [64]. Hydrofilní materiály jsou využívány např. v dentálním lékařství, kde bylo prokázáno, že hydrofilní implantáty podporují hojení ran a zlepšují počáteční kontakt s krví, čímž dochází k rychlejší osseointegraci [74]. O hydrofilním povrchu můžeme tedy říct, že podporuje syntézu kostní matrix, podněcuje

usazení osteogenních buněk a podporuje jejich diferenciaci [75]. Hydrofobní materiály mají využití např. u umělých ledvin, protetických srdečních chlopních či kardiopulmonálního bypassu [76].

2.4 Antimikrobiální vlastnosti

Každý cizí předmět, který je zaveden do těla je náchylný k bakteriální infekci, neboť bakterie disponují (v závislosti na bakteriálním kmeni) adhezními mechanismy k implantátům. Jestliže dojde ke kolonizaci bakterií na povrchu implantátu, může tato situace vést k vytvoření biofilmu a znemožnění použití implantátu v těle [77]. Biofilm je vrstva, která se vytvoří během růstu bakterií a díky ní jsou bakterie schopné přilnout jak k sobě, tak k implantovanému povrchu [64]. Povrch implantátu může být rychle pokryt bakteriemi i přesto, že má pacient účinný imunitní systém. Pokrytí povrchu implantátu bakteriemi vede k infekci, k přetrvávání infekce, selhání implantátu a případně i smrti pacienta [77]. Antimikrobiální vlastnosti jsou tedy u biomateriálů velmi důležité, jelikož brání růstu bakterií na jeho povrchu [64].

2.4.1 Povrchové antimikrobiální povlaky

Bakteriální adheze a následná tvorba biofilmu na povrchu materiálu je závažný problém jak z ekonomického, tak ze zdravotního hlediska. Velký význam mají povrchové povlaky, které jsou schopné zabránit bakteriální adhezi a tvorbě biofilmu [78]. Povrchové antimikrobiální povlaky mohou fungovat na antiadhezivním principu či na baktericidní strategii. Existuje i multifunkční přístup, jehož součástí jsou oba tyto mechanismy. Antiadhezivní princip brání ulpívání bakterií. Výhodné je použití polymerních řetězců nebo hydrogelů. Jedním z prvních polymerů, který byl za tímto účelem použit byl polyethylenglykol (PEG). Baktericidní strategie funguje tak, že ničí organismy před nebo po kontaktu s povrchem. Lze jí dosáhnout pomocí antimikrobiálních peptidů, chitosanu, antibiotik nebo přímo vázaných enzymů [78]

2.4.1.1 Antimikrobiální peptidy

Antimikrobiální peptidy (AMP) či hostitelské obranné peptidy byly objeveny v 80. letech minulého století. Mají dobrou antimikrobiální účinnost proti bakteriím, virům a plísním. Řadí se mezi prvořadou obranu proti mikrobiálnímu napadení a jsou důležitou součástí přirozeného imunitního systému [79]. Používání peptidů proti napadení mikrobů není tedy novinkou, jelikož jej tělo využívá přirozeně. Tyto peptidy jsou účinné i proti kmenům, které mají vysoký stupeň rezistence na antibiotika. Disponují antibakteriální aktivitou, kterou získávají po spojení s negativně nabitou bakteriální buněčnou stěnou a následně dochází k hydrofobní interakci akumulovaných AMP, což má za následek narušení buněčné stěny. Díky těmto vlastnostem jsou AMP vhodnou volbou pro začlenění do povrchových povlaků [78].

K přímému spojení AMP s aktivovanými povrchy, které obsahují karboxylové či aldehydové modifikace se používají primární aminoskupiny spojené s většinou aminokyselin. Přímé propojení AMP je možné např. u titanu. Je ovšem třeba brát ohled na fakt, že potahování implantátů pro ortopedické aplikace často vyžaduje další úpravu povrchu a teprve poté se implantát stává vhodný pro plnění dané funkce. Kalcium fosfát (CaP) je známý svou schopností zvýšit růst kostí u ortopedických implantátů a u systému, do kterého byl přidán AMP pomocí jeho absorpce do mikroporézního titanu, jež byl potažen CaP, byla zjištěna velká antimikrobiální aktivita proti *Pseudomonas aeruginosa* [78].

2.4.1.2 Chitosan

Jedná se o přírodní biopolymer s dlouhým řetězcem, který se získává chemickou modifikací chitinu, což je hlavní součást skořápek korýšů. Po prokázání dobré biokompatibility se stal žádaným povlakovacím materiálem pro biomateriální aplikace [80]. Je možné jej připravit v různých formách, mezi které patří gely, vlákna, nanočástice, houby či membrány. Díky tomu jej lze využít pro širokou řadu lékařských aplikací, jako je hojení ran, regenerace kůže nebo tkáňové inženýrství [81].

2.4.1.3 Antibiotika

Antibiotika patří mezi nejběžněji používaná antimikrobiální činidla. Jelikož jsou široce dostupná a využívána, došlo k nárůstu bakteriálních kmenů, u kterých se vyvinula rezistence proti antibiotickým činidlům. I přesto jsou antibiotika stále používána a jsou také předmětem vývoje antibakteriálních povlaků. Jedním z důvodů je fakt, že díky vývoji povrchového

potahování je umožněné jejich řízené uvolňování, které ve srovnání s podáváním systémovým snižuje riziko možné bakteriální rezistence [78].

2.4.1.4 Antimikrobiální enzymy

Enzymy, které nejsou toxické a patří mezi biologicky nezávadné sloučeniny jsou cenným zdrojem pro výrobu povrchových antimikrobiálních povlaků [78]. Jelikož rezistence na antibiotika roste, jsou antimikrobiální enzymy, narušující bakteriální buněčné mechanismy a tvorbu biofilmu, usilovně zkoumány [82].

Enzymy dispergující biofilm jsou schopny inhibovat tvorbu biofilmu, oddělovat zavedený biofilm a zvyšovat citlivost biofilmu na jiné antimikrobiální látky [83]. Co se týká adheze, je prokázáno, že enzymy jsou schopny nejen interference s adhezním mechanismem, který využívají bakterie pro přilnutí na povrch, ale mohou bakterie i zabít. K zabíjení bakterií vede katalýza hydrolýzy peptidoglykanu buněčné stěny a tímto dochází k lýze buňky. Interferenci s adhezním mechanismem lze uskutečnit degradací pomocí enzymů či seskupením molekul, které jsou potřebné pro adhezi, jedná se např. o extracelulární DNA, uhlohydráty či adhezivní proteiny [78].

2.4.1.5 Polymerní povlaky

Polymerní povlaky jsou popsány jako polymerní filmotvorné látky nacházející se na povrchu materiálu [84].

Modifikovaný PEG lze využít jako příklad polymeru, který má schopnost chránit povrch před adhezí bakterií. Je považován za standardní úpravu povrchu polymerů, navržený tak, aby odolával znečištění povrchu mnoha různými látkami. Děje se tak vytvořením bariéry, na niž nemohou bakterie přilnout, přičemž PEG brání adhezii bakterií pasivním mechanismem. Velká část polymerů nemá žádnou antibakteriální aktivitu a způsob jakým dokáží zabránit kolonizaci bakteriemi, je právě pasivní prevence adheze [78].

3 TECHNIKY MĚŘENÍ A POZOROVÁNÍ VYBRANÝCH VLASTNOSTÍ POVRCHŮ A JEJICH DŮVODY

Jestliže chceme pochopit a pozorovat biologický výkon biomateriálů, je zapotřebí výborná znalost jejich povrchových vlastností. Jedna jediná technika nám neposkytne veškeré informace o povrchu a ve většině případů je pro výzkum biomateriálů zapotřebí využít různých analytických metod [85].

3.1 Rentgenová fotoelektronová spektroskopie

Rentgenová fotoelektronová spektroskopie (X-Ray Photoelectron Spectroscopy – XPS), jinak nazývána jako elektronová spektroskopie pro chemickou analýzu (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis – ESCA) je účinná technika, která je vhodná pro určení elementárního a chemického složení nejsvrchnější vrstvy povrchu (1–10 nm) a to jakéhokoliv pevného materiálu. Jedná se o nejpoužívanější techniku pro zkoumání velice tenkých povrchových vrstev. XPS je založena na fotoelektrickém efektu, kdy dochází k povrchovému napadení rentgenovými fotony s jednotnou energií (monochromatické záření měkkých rentgenových paprsků), v prostředí, jež je ultra vysoce vakuové, způsobující uvolnění elektronů. Tato technika je velice citlivá na chemické složení materiálu a z vazebné energie fotoelektronů a intenzity fotoelektronového píku se stanovuje prvek, jeho kvantita a chemický stav [85]. XPS má vysoký potenciál v analýze biomolekul, přičemž některé z nich zahrnují proteiny, peptidy, enzymy, DNA, lipidy a enzymy. Pomocí této metody lze zkoumat rozsah funkčnosti a adsorpci těchto biomolekul na různé povrchy. Napomáhá tedy k vývoji biosenzorů a umožňuje kontrolu biologického znečištění pro lékařské aplikace [86].

3.2 Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů

Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů (Secondary ion mass spectrometry – SIMS) je důležitou metodou pro získání chemických a strukturních informací o několika horních monovrstvách povrchu. Tato metoda se může využít ke sledování identity, orientace a prostorového rozložení adsorbované vrstvy [87]. Jedná se o citlivou techniku, kterou je možné určit molekulární a elementární obsah. Přístroj schopný SIMS se v základu skládá ze tří složek. Jedná se o primární zdroj iontů, vakuový hmotnostní spektrometr a systém iontového filtru selektující ionty s definovanou energií. Pro měření není potřebná žádná speciální předpříprava vzorků, přesto by měl být vzorek prostý nečistot maximálně

s náhodnými kontaminanty, které se na vzorek dostaly prostřednictvím transportu či při skladování [88].

Metoda SIMS se dělí na dva typy a sice na dynamickou a statickou. Statická analýza se využívá k získávání informací o chemické struktuře povrchu na molekulární úrovni (analýza jednoatomových vrstev na povrchu), kdy díky nízkoproudému primárnímu iontovému paprsku dojde k minimálnímu poškození povrchu a pro biomateriály je výhodnou technikou kvůli dobré povrchové citlivosti. Pomocí statické SIMS lze u adsorpce proteinu identifikovat typ přítomných proteinů, ale také jejich konformaci, stupeň denaturace a jiné informace o adsorbovaném proteinu, které např. pomocí XPS nejsou zjištěitelné. Naopak u dynamické SIMS dochází k bombardování vzorku vysokým proudem primárních iontů, čímž dochází k narušení povrchu materiálu (analýza objemu) a během tohoto procesu jsou zaznamenávány signály v reálném čase. Dynamická SIMS se ovšem u biomateriálů netěší velké oblibě, a to hlavně u organických biomateriálů, jelikož poškození vzorku primárními ionty je vysoké [88].

3.3 Energiově disperzní rentgenová spektroskopie

Energiově disperzní rentgenová spektroskopie (Energy-dispersive X-ray spectroscopy – EDS) je analytická technika, která se používá k elementární analýze pevných povrchů a má časté využití pro charakterizaci krystalických biomateriálů [89]. Metoda EDS spočívá v detekci rentgenového záření vyzařovaného atomy vzorku, který je vybuzený dopadem svazku elektronů. Rentgenová energie, která je vyzařována se obecně liší prvek od prvku, jelikož každý prvek disponuje jedinečnou atomovou strukturou. Velká důležitost se této metodě přikládá v elektronových mikroskopech TEM či SEM, protože umožňuje elementární analýzu spolu s obrazy topografie povrchu ve vysokém rozlišení, a to v řádech nanometrů. Ve spojení s detekčním systémem EDS se hojně využívá metoda SEM, a to především u kompozitních materiálů, které mají vysokou citlivost [90].

3.4 Infračervená spektroskopie

Infračervená spektroskopie (Infrared spectroscopy – IR) je často využívanou optickou technikou ke stanovení sloučenin a analýzy jejich chemické struktury [86]. Patří mezi nejčastěji využívanou povrchovou vibrační spektroskopií, a to díky své univerzálnosti (je použitelná téměř na všech površích) a nízkým nákladům [88]. V molekulách se nachází rozmanité funkční skupiny, které absorbují IR záření při různých frekvencích, díky tomu je možné zjistit, zda se dané chemické funkčních skupiny v molekule nachází [86]. K absorpci IR dojde, jestliže se při

ozáření vzorku zjistí, že infračervená frekvence se shoduje s vibrační frekvencí vazby. Právě díky monitorování absorbovaného či procházejícího IR světla můžeme získat informace o molekulární struktuře [88]. Jedná se o techniku, která není destruktivní a lze ji použít k analýze pevných, kapalných i plynných materiálů. Nejvíce používaným typem infračerveného přístroje je infračervený spektrometr s Fourierovou transformací (FTIR) a to díky vysokému poměru signálu k šumu, dále kvůli nízkým nákladům a snadnému použití [86].

3.5 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie (Raman spectroscopy) je metoda doplňující IR absorpční spektroskopii a využívá se stejně jako IR k hodnocení molekulárních vibrací. Tato metoda využívá tzv. Ramanův jev, který nastává při interakci laserového paprsku s elektrony materiálu, který je zkoumán [91].

Její potenciál spočívá v charakterizaci biomateriálů v jakémkoli stavu (pevném, plynném či kapalném) [86]. Je citlivá na takové vibrační režimy, které není možno pomocí IR pozorovat nebo vykazují slabá absorpční pásma v IR. Spektrum vlnové délky u excitačního zdroje může být viditelné, ultrafialové, blízké IR či IR [85]. Interakcí fotonů a molekul vzorku se tvoří Ramanova spektra, která jsou pomocí optických filtrů z rozptýleného světla shromažďována. Právě v Ramanových spektrech se vyskytují informace o molekulárních strukturách. Poskytují tedy důležité informace pro identifikaci materiálu [86]. V případě biomateriálů se Ramanova spektroskopie používá k identifikaci chemické struktury biomateriálu. Můžeme uvést příklad kdy byl nanesen diamantový uhlíkový povlak (DLC) na substrát polyetherketonových vláken (Polyether ether ketone-PEEK), aby byly zajištěny lepší vlastnosti u kostní náhrady. Pomocí Ramanového spektra bylo zjištěno, že se DLC na PEEK uložil [85].

3.6 Ultrafialovo-viditelná spektroskopie

Ultrafialovo-viditelná (UV-VIS) spektroskopie se obecně využívá ke kvantitativnímu stanovení koncentrace látek v roztoku, která využívá Lambert-Beerova zákona, dle kterého je absorbance dané látky přímo úměrná její koncentraci. Absorptivita molekuly je parametrem, který je závislý na vlnové délce a její intenzita závisí na chemické povaze [86]. Základem metody je tedy interakce elektromagnetického záření s anorganickou či organickou hmotou [92]. Spektrum, které vzniká díky absorpci vlnových délek UV-VIS světla, je studováno a tím dochází k analýze látky [93].

Do UV-VIS spektroskopie se řadí elektromagnetické záření s vlnovou délkou 200–400 nm s názvem ultrafialová spektroskopie a dále viditelná spektroskopie s vlnovou délkou 400–800 nm. UV-VIS spektroskopie patří mezi hlavní analytické nástroje pro výzkum polymerů [94]. Lze ji využít také pro charakterizaci pevných biomateriálů ve škále nanometrů, jestliže jsou dané nanobiomateriály homogenně rozptýleny v rozpouštědle. UV-VIS spektroskopie má využití i u pevných biomateriálů, jestliže se nachází v přirozeném stavu. V tomto případě se ovšem zkoumají pouze povrchové oblasti. Dle literatury Van den Beucken [95] zhotovil dva typy vícevrstvých povlaků na křemenných substrátech a poté byla sledována tvorba povlaků DNA pomocí této metody, a to měřením absorpčního maxima chromoforů v nukleové bázi DNA [85].

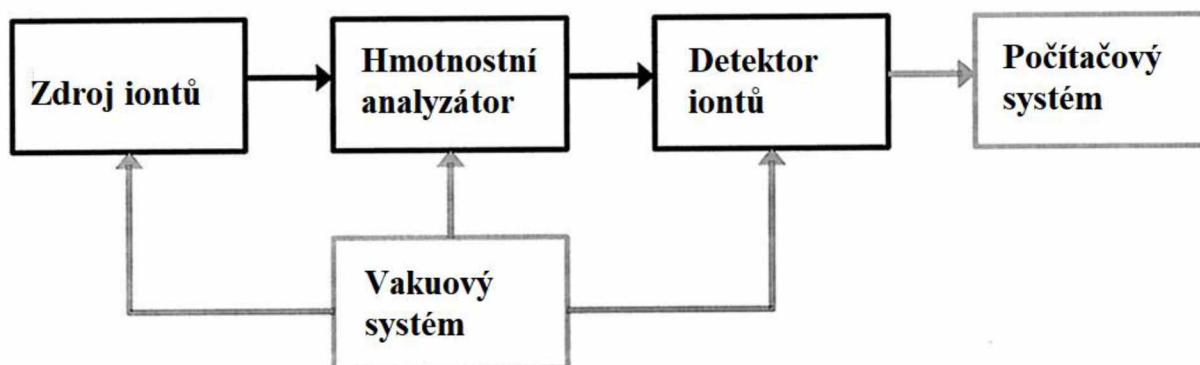
3.7 Mikroskopie atomárních sil

Mikroskopie atomárních sil (Atomic force microscopy – AFM) je mikroskopická technika, která umožňuje trojrozměrné zobrazení povrchů [86]. Na povrchu vzorků mapuje rozložení atomárních sil, ke kterým dochází, jestliže se hrot těsně přiblíží k povrchu. Tím vznikne odpudivá nebo přitažlivá síla, což má za následek ohnutí raménka s hrotem. Detekční zařízení snímá právě toto ohnutí [86, 96]. Jedná se o metodu určenou pro měření povrchové topografie, ovšem využití má i ve výzkumu biomateriálů, který se zabývá vlastnostmi, strukturou a manipulací s povrchy biomateriálů a rozhraními [97]. Na rozhraní implantovaného biomateriálu dochází k molekulárním procesům určující odpověď hostitele a také k jevům, kterými jsou adsorpce proteinu, konformační změny a poté interakce s buněčnými složkami. Pomocí AFM lze získat mechanický pohled na molekulární úrovni právě na interakce, které probíhají na rozhraní biomateriálů [98]. AFM lze také využít ke zkoumání biomateriálů přirozeně se vyskytujících jako jsou kosti, zuby či chrupavky [96].

3.8 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie (Mass spectrometry – MS) je metoda využívající se hojně k charakterizaci biomateriálů. Princip MS je založen na ionizaci vzorku, tvorbě nabitých molekul nebo fragmentů molekul a následném dělení založeném na poměru hmotnosti ku náboji iontů plynné fáze [86]. Poskytuje kvantitativní a kvalitativní informace o izotopickém, molekulárním a elementárním složení organických a anorganických vzorků. Např. u peptidů se využívá pro objasnění chemické struktury molekul. Jak můžeme vidět na obrázku 1, hmotnostní spektrometr se skládá ze tří hlavních částí. Jedná se o zdroj iontů,

hmotnostní analyzátor a detektor iontů či systém sběru. Nedílnou součástí je i počítačový systém kvůli zpracování a záznamu dat a také vakuové čerpadlo, které řídí nízký tlak, aby nedocházelo ke změně dráhy iontů, což by mohlo vést k nežádoucím reakčním produktům či ztrátě náboje a také kvůli omezení počtu kolizí iontů [99].



Obrázek 3 Schéma hmotnostního spektrometru [99]

Rozsah využití MS je široký a můžeme jej rozdělit na 3 základní kategorie. Izotop-poměr MS, MS s malými organickými molekulami a makromolekulární MS. (i) Izotop-poměr MS je technika, pomocí které je možné měřit směsi izotopů pro konkrétní sloučeninu ve směsi, či je možné analyzovat poměr elementárních izotopů pro konkrétní polohu uvnitř sloučeniny. (ii) MS analýza malých organických sloučenin zjišťující informace o chemickém vzorci, molekulové hmotnosti, chemické struktuře či množství analytu. (iii) Makromolekulární MS umožňuje studium peptidů, proteinů, lipidů a oligosacharidů [99].

3.9 Skenovací elektronová mikroskopie

Skenovací elektronová mikroskopie (Scanning electron microscopy – SEM) je metodou využívanou pro zobrazování mikrostruktury a morfologie materiálů. Je to vhodná metoda pro stanovení biokompatibility biomateriálů. U tradiční SEM je nezbytné, aby vzorek byl elektricky vodivý a vakuově kompatibilní, neboť elektronové mikroskopy pracují ve vakuu [100]. SEM dokáže poskytnou trojrozměrné topografické informace [2] a používá se tedy k měření povrchových vlastností jako je drsnost, či homogenita povrchových vrstev [101, 102]. U biomateriálů je využívána ke studiu struktury daných materiálů a zařízení v řádech mikrometrů až nanometrů a dále k interakci mezi biomateriály a buňkami [2].

SEM je založena na vyzařování elektronového paprsku, jež má nízkou energii, do materiálu čímž dochází ke skenování povrchu. V případě, že paprsek vstoupí do materiálu,

vzniknou interakce elektron-vzorek, což zapříčiní emisi elektronů a fotonů z povrchu vzorku či jeho blízkosti [103]. Hlavní výhodou SEM je neobvykle velká hloubka ostrosti, díky které je možné přímo zobrazit složité mikroskopické struktury [2]. Další předností této techniky je, že není vyžadována žádná či jen minimální předpříprava vzorku a manipulace se vzorky je možná i během měření (pozorování) [100]. Metoda se využívá zejména k pozorování topografie buněk ve vzorcích při velkém zvětšení. Jedná se o rutinní metodu využívanou při lékařském zkoumání [104].

3.10 Transmisní elektronová mikroskopie

Transmisní elektronová mikroskopie (Transmission electron microscopy – TEM) se používá jako účinný nástroj pro přímé zobrazení informací o velikosti a morfologii krystalů, defektů krystalů a povrchových struktur [105]. Ve vědě o biomateriálech patří mezi neúčinnější metodu [90]. Díky TEM je možné zobrazit vnitřní mikrostrukturu materiálu od několika mikrometrů po atomové rozlišení [106]. Aby mohl být vytvořen obraz na fotografické desce či specializované kameře, využívá TEM k interakci se vzorkem elektronový paprsek. Z tohoto důvodu je nutné, aby byl vzorek schopen odolat elektronovému paprsku a také vakuové komoře, do které je zaveden. Vzorek musí být velice tenký, což má za následek časově náročnou přípravu vzorku. Elektronový paprsek interaguje se vzorkem při průchodu daným vzorkem a charakteristika povrchu vzorku je získána právě v případě, když elektronový paprsek projde skrz tenký vzorek [107].

3.11 Souhrn

Jak již bylo zmíněno, povrchové vlastnosti mohou kriticky ovlivnit úspěšnost či selhání biomateriálu. Z tohoto důvodu jsou analytické povrchové techniky stěžejními postupy, pro odhalení informací o povrchových vlastnostech, mezi které patří chemie, topografie, hydrofobicita, hydrofilnost atd. [85]. Je tedy zřejmé, že povrchové vlastnosti hrají důležitou roli v charakterizaci biomateriálů, z důvodu korelace s biologickými výkony, které biomateriály podávají [90]. Dle dostupné literatury je obecně doporučeno, aby se kombinace metod zaměřující se na charakterizaci povrchu zaobírala problémem z různých perspektiv a dala tak vzniku komplexním informacím o povrchu daného biomateriálu [85]. Pro rychlý přehled, jsou některé využívané metody uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1 Přehled vybraných metod [101, 108, 85]

<i>Název metody</i>	<i>Využití</i>
XPS	Zobrazení svrchní vrstvy až do hloubky 10 nm
SIMS	Stopové složení, kvalitativní analýza materiálu
EDS	Analýza prvkového složení materiálů
IR	Analýza chemické struktury
Ramanova spektroskopie	Ověření chemické struktury, poskytnutí informací o strukturních jednotkách
UV-VIS spektroskopie	Přítomnost chromoforů
AFM	Povrchové topografické informace, nanostruktura
MS	Kvalitativní a kvantitativní informace o molekulárním složení
SEM	Povrchová morfologie, homogenita
TEM	Zobrazení struktury s vysokým rozlišením

4 PŘÍKLADY APLIKACÍ MIKROSKOPICKÝCH TECHNIK PRO ZKOUMÁNÍ MORFOLOGIE POVRCHU MATERIÁLU

Materiály používané pro zdravotnické prostředky jsou zkoumány ve všech fázích vývoje. Jestliže porozumíme vlastnostem materiálů, které souvisí s jejich výkonem, je možné tak zabránit selhání zařízení a zajistit tak bezpečnost pacienta [109].

4.1 Analýza povrchu dentálních implantátů

Při zkoumání dentálních implantátů je potřeba důkladně prostudovat chemii povrchu daného implantátu, jelikož obsah kontaminujících částic může ovlivnit reakci tkání na kov. Pokud je povrch drsný, vylepší se tak mechanické připevnění implantátu, jelikož díky drsnosti je umožněn růst kostí přes póry nacházející se na povrchu implantátu. Drsný povrch má tedy za následek lepší reakci tkáně na implantát [109].

Analýze ve čtyřech povrchových úpravách byly podrobeny válcové zubní implantáty, jež byly vyrobeny z čistého titanu. Povrchové úpravy byly následující: (i) obrábění (tedy implantát získaný z procesu soustružení), (ii) otryskání aluminou, (iii) plazmový nástřik kapkami titanu a (iv) elektrolytický povlak hydroxyapatitu. Díky SEM spolu s EDS byly získány informace o topografii povrchů a také chemické složení implantátů. Pomocí XPS byla zjištěna zbytková kontaminace z procesů povlakování, čištění a tryskání. Úpravou obráběním, byl analýzou SEM u tohoto implantátu viděn pouze čistý povrch. U vzorku otryskaného oxidem hlinitým byly nalezeny částice bohaté na hliník, které pochází z procesu tryskání. U vzorku upraveného plazmovým nástřikem byl zjištěn jednotný a velice drsný povrch. Implantát potažený hydroxyapatitem měl homogenní povrch, u kterého se mikrostruktura skládala z malých hydroxyapatitových krystalů. Analýzou XPS se zjistila adsorpce uhlíku na všech čtyřech površích. Nutné podotknout, že tato adsorpce nastává na všech površích, které jsou v kontaktu s atmosférou. Implantát, který byl mechanicky opracovaný neobsahoval žádné stopy kontaminantů. Vzorky otryskané aluminou byly kontaminovány hliníkem, pocházejícího z procesu tryskání, což bylo prokázáno i metodou SEM. U vzorku s plazmovým nástřikem byla prokázána kontaminace hliníkem a zinkem. Je pravděpodobné, že zinek se zde objevil vlivem detergentů, které byly použity při procesu čištění a hliník pochází z procesů tryskání aluminou, který byl proveden před samotným plazmovým nástřikem. U vzorku potaženého hydroxyapatitem, byly nalezeny stopy sodíku pocházejícího z procesu potahování. Je zřejmé,

že tyto zjištěné informace, je třeba vzít v úvahu během čištění, výroby a sterilizace implantátu, jelikož mohou ovlivnit spojení s kostí [109].

4.2 Charakterizace slitin

Jak již bylo zmíněno, pro studium povrchové struktury materiálů se využívá metoda AFM. Jelikož topografie biomateriálů má vliv na cytokompatibilitu, je nutná celková charakterizace daného biomateriálů, při které je potřeba zjistit povrchovou morfologii. Byla provedena studie s použitím AFM, jež měla za cíl charakterizovat povrch tří slitin, které byly vyvinuty pro biomedicínské aplikace. Jednalo se o slitiny Ti – 15Zr – 4Nb, Ti – 6Al – 7Nb a Ti – 13Nb – 13Zr. Tyto tři uvedené materiály poskytovaly dobrou kompatibilitu a měly vhodné mechanické vlastnosti. U každé slitiny byly studovány dva povrchové stavy, což byl stav, v jakém byl materiál přijat a dále stav po tepelném zpracování. Ve stavu, v jakém byl materiál přijat, disponuje ochrannou pasivní vrstvou, která se na povrchu spontánně vytvoří vlivem kontaktu slitiny se vzduchem. Proces tepelného zpracování si dává za cíl vytvořit na povrchu biomateriálu silnou vrstvu oxidu, která by zvýšila odolnost slitiny proti korozi. Pomocí AFM byla zjištěna mikrostruktura slitin. Slitina Ti – 15Zr – 4Nb obsahovala podélné drážky, u slitiny Ti – 6Al – 7Nb byla zjištěna přítomnost jedné fáze a zkoumání slitiny Ti – 13Nb – 13Zr potvrdilo přítomnost dvou fází [110]. Fází se rozumí homogenní část slitiny, kterou od ostatních částí dělí rozhraní [111].

U slitin oxidovaných 24 hodin byla u Ti – 6Al – 7Nb zjištěna granulární struktura ve velkých řadách spolu s pravidelnou topografií, u slitiny Ti – 13Nb – 13Zr byla také pozorována kruhová struktura, ovšem nikoli v řadách a u slitiny Ti – 15Zr – 4Nb kde byly spatřeny podélné hluboké drážky, které se vyskytovaly na celém skenovaném povrchu. Dospělo se k závěru, že oxidovaná vrstva, která se vytvořila u slitiny Ti – 7Nb – 6Al po 24 hodinách, kdy byla tepelně zpracovávána, je jednotná a kompaktní a její korozní chování je uspokojivé, což značí její vhodnost pro použití v biomedicině. Oxidační proces má za následek zvýšení drsnosti povrchu. Srovnáním hodnot drsnosti získaných z AFM, s morfologií povrchu, která byla zobrazena pomocí SEM, bylo zjištěno, že povrch u slitiny Ti – 15Zr – 4Nb, který byl oxidován 24 hodin, je méně homogenní než povrch slitiny Ti – 7Nb – 6Al, jež byla oxidována stejně dlouhou dobu. Jelikož mají tyto slitiny potenciální využití jako biomateriály, je vhodné, aby jejich povrch byl homogenní s vysokými hodnotami drsnosti, jelikož tato skutečnost má za následek podporu dokonalého přilnutí tkáňových buněk. Z tohoto důvodu byl zde oxidovaný Ti – 6Al – 7Nb vyhodnocen jako vzorek disponující nejlepšími vlastnostmi [110].

4.3 Nerezová ocel u stentů

Obecně vhodnou technikou pro analýzu kovů je TEM, díky které lze porozumět jejich elementárním a strukturním vlastnostem. TEM je možné využít na materiály nacházející se v různých stádiích zpracování, jak na zhotovená zařízení, tak i na opotřebované zbytky, jako jsou mikrometrické částice, které se odstraňují z povrchu daného zařízení nebo tkání pacienta. Na leštěném řezu stentu z nerezové oceli, byla provedena studie, která měla za cíl identifikovat krystalickou fázi a elementární složení precipitátů. Není neobvyklé, že se u slitin z nerezové oceli, u kterých se na povrchu vytváří povlak oxidu chromitého inhibující vznik koroze, vyskytuje precipitát. Chrom může vytvořit precipitáty karbidu chromu u oceli, která má vysoký obsah uhlíku nebo precipitáty oxidu chromitého v oceli, která má nízký obsah uhlíku. Z tohoto důvodu bylo zapotřebí stanovit složení pozorovaných precipitátů, jelikož byl materiál modifikován přidáním platiny. Pomocí TEM byla zjištěna velikost precipitátu a metodou EDS byla zjištěna přítomnost kyslíku a chromu [112].

Ve druhé studii byly srovnány vzorek trubice 316L a trubice 316L vylepšená platinou. Při pozorování TEM nebyly zjištěny žádné inkluze ani objeveny sraženiny kovu. Bylo však zjištěno, že krystalická zrna, která obsahovala slitina vylepšená platinou byla větší než zrna u standardní nerezové oceli 316L. Pomocí EDS byla provedena rozsáhlá analýza, kdy bylo provedeno mapování ploch a bodová analýza zrn a jejich hranic. Jestliže by došlo k vyloučení prvku (platiny) do hraničních částí mezi zrny, mohlo by dojít k ovlivnění pevnosti slitiny. U 316L a slitiny modifikované platinou bylo analýzou TEM-EDS prokázáno velice rovnoměrné rozdělení prvků. Dospělo se k závěru, že platina modifikované slitiny nebyla vyloučena do hranic zrn a nedošlo k vytvoření sekundárních fází, což znamená, že nebyly ohroženy fyzikální vlastnosti slitiny [112].

4.4 Zobrazování bakterií tvořící biofilm

Jevy odehrávající se na bakteriálních površích jsou velice malé a někdy se pohybují na škále jen několika nanometrů. Vhodnou technikou pro podrobné mikrobiální výzkumy je AFM, jelikož pomocí ní je možné zkoumat živé mikrobiální organismy v jejich přirozeném prostředí, a to v měřítku nanometrů [113]. Vůbec nejvíce rozšířené využití v bakteriologii je zkoumání změn bakteriálních povrchů, ke kterým dochází při ošetření antimikrobiálními látkami nebo změnou stavu [113, 114]. Vnější bakteriální membrána interaguje s mimobuněčným prostředím přímo. Z tohoto důvodu je charakterizace membránových struktur důležitá pro získání informací o základních procesech, mezi které patří bakteriální

adheze a počáteční přichycení k abiotickým či biotickým povrchům. Spousta jevů, které probíhají na buněčném povrchu závisí na molekulárních silách, což je souhra biologických, fyzikálních a chemických interakcí [115]. Právě bakteriální infekce patří mezi hlavní příčinu nemocí a úmrtnosti ve světě. I přes pokroky ve vývoji biomateriálů, podléhají některé zdravotnické prostředky bakteriální kolonizaci a dochází k infekci, která souvisí s implantáty [116]. Na spoustě infekcích získaných v nemocničním prostředí se podílí gram pozitivní patogen *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), který je často spojován s biofilmem, jež se vytvořil na lékařských implantátech [117].

Byla provedena studie, ve které byl použit kmen *S. aureus* ATCC 27217. Jedná se o referenční kmen, který dokáže vytvářet biofilmy *in vivo* i *in vitro* a je citlivý na methicilin. Pomocí AFM se zkoumala jeho povrchová nanotopografie a mechanické vlastnosti kmene *S. aureus* 27217. Jednalo se o popis povrchové nanotopografie od bakteriální adheze po vytvoření první fáze biofilmu za 24 hodin. Pomocí TEM a SEM byly identifikovány dva typy subpopulací. Bakterie *S. aureus* byly kultivovány 3 hodiny, kdy se jednalo o exponenciální růstovou fázi a 18 hodin, což byla stacionární fáze. Bylo možné pozorovat dva typy buněčných povrchů, z nichž jeden vykazoval drsnou povrchovou strukturu a u druhého byla pozorována struktura hladká a pravidelná. Drsná struktura se jevila jako specifická vlastnost kmenů *S. aureus*, díky které mohou tvořit husté biofilmy. Mezi tyto patří, již zmiňovaný kmen ATCC 27217 [117].

4.5 Rozhraní biomateriálů a biomolekul

Implantované biomateriály adsorbují na své povrchy proteiny během několika sekund. Buňky doputují na povrch a dojde k interakci s adsorbovanou vrstvou proteinů. K výzkumu rozhraní protein-biomateriál byla použita metoda AFM. Studie mohou zahrnovat výzkum např. fibronektinu či fibrinogenu lidské plazmy (human plasma fibrinogen – HPF) na polymethylmethakrylát (PMMA). Studie protein-rozhraní biomateriálů jsou realizovány v destilované vodě, na vzduchu či v pufru při různých teplotách. Jejich cílem je charakterizovat morfologii adsorbovaných superstruktur či konformaci a velikost molekul proteinů, které byly adsorbovány. Byl proveden výzkum pomocí AFM spolu s XPS, ve kterém se měřil dynamický kontaktní úhel fibronektinu lidské plazmy (human plasma fibronectin – HFN), jež byl adsorbován na PMMA a TiO₂. Bylo zjištěno, že šíření adsorbovaného HFN je závislé na povrchovém napětí a chemickém složení povrchu biomateriálů. Struktura HFN

se zobrazením pomocí AFM v režimu vzduchu, se ukázala ve formě prodloužených vláken [105].

Důležité je i studování konformací HPF, který je adsorbovaný na biomateriálech. HPF je plazmatický protein, který má zásadní roli u biomateriálů při regulaci hemostázy a u povrchově indukované trombózy, což jsou biomateriály používající se v kardiovaskulárních zařízeních. Za pomoci AFM byla zkoumána trojrozměrná struktura HPF adsorbovaného na samoskladných vrstvách (self-assembled monolayers – SAMs). Studie poskytly informace o molekulárním rozlišení HPF v adsorbovaném stavu. U dimerů a trimerů HPF byla zjištěna lineární konformace a ve srovnání s monomerním HPF, byla prokázána zvýšená afinita k hydrofóbnímu povrchu SAMs [97].

5 ZÁVĚR

Tato práce je zaměřena na biomateriály, jejich rozdělení, mikroskopické techniky používané k jejich zkoumání a možnosti využití biomateriálů pro lékařské účely. Biomateriály jsou různými materiály využívajícími se pro medicínské aplikace, které interagují s lidským organismem. Obecně se používají k výrobě zařízení, která jsou schopná naradit část těla a poskytnout oporu či ochranu při léčení pacienta. Jelikož biomateriály přichází do kontaktu s lidským organismem, je důležité, aby disponovaly takovými vlastnostmi, které neohrožují zdraví ani život pacienta. Mezi nejdůležitější vlastnost, která je zároveň vlastností spojující všechny biomateriály, je biokompatibilita. Tento pojem označuje schopnost biomateriálu plnit potřebnou funkci, aniž by u pacienta došlo k vyvolání nežádoucí reakce. Abychom zjistili, zda biomateriál splňuje předpoklady pro výrobu potřebného zařízení, je nutné znát jeho povrchové vlastnosti. Tyto vlastnosti můžeme zjistit pomocí mikroskopických metod, které jsou schopné nám poskytnout informace o povrchu materiálu. Ve většině případů se pro analýzu jednoho materiálu využívá více metod, aby byly zjištěny veškeré informace o daném povrchu a mohli jsme tak pochopit biologický výkon biomateriálů.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] BAINO, F. Bioactive glasses – When glass science and technology meet regenerative medicine. *Ceramics International*. 2018, 44(13), 14953-14966. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.05.180>. ISSN 0272-8842. Dostupné také z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0272884218313269>
- [2] RATNER, B. D., A. S. HOFFMAN, F. J. SCHOEN a kol., 2004. *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*. Second edition. San Diego (California): Elsevier. ISBN 9780080470368.
- [3] PARIDA, P., A. BEHERA a S. CH MISHRA, 2012. Classification of Biomaterials used in Medicine. *Classification of Biomaterials used in Medicine* [online]. Odisha (India): Institute of Advanced Engineering and Science, s. 125-129 [cit. 2019-10-24]. 2252-8814. Dostupné z: <https://www.britannica.com/technology/materials-science/General-requirements-of-biomaterials>
- [4] MARCHANT, R. E. a L. A. GIRIFALCO, 2018. Materials science. *Encyclopædia Britannica* [online]. *Encyclopædia Britannica* [cit. 2020-06-01]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/technology/materials-science/General-requirements-of-biomaterials>
- [5] GAHARWAR, A. K., 2013. *Nanomaterials in tissue engineering: fabrication and applications*. Philadelphia: Woodhead Publishing. Woodhead Publishing series in biomaterials, no. 56. ISBN 085709596X.
- [6] SANKARA NARAYANAN, T. S. N., Il-Song PARK a Min-Ho LEE, c2015. *Surface modification of magnesium and its alloys for biomedical applications*. Waltham, MA: Elsevier/Woodhead Publishing. Woodhead Publishing series in biomaterials, no. 89. ISBN 9781782420774.
- [7] GONZALEZ-SIMON, A. L. a O. ENIOLA-ADEFESO, 2012. *Engineering Biomaterials for Regenerative Medicine*. New York, NY: Springer New York. DOI: 10.1007/978-1-4614-1080-5_6. ISBN 9781461410799. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4614-1080-5>
- [8] PATEL, N. R. a P. P. GOHIL, 2012. A Review on Biomaterials: Scope, Applications & Human Anatomy Significance [online]. 4. Changa [cit. 2020-03-03]. ISSN 2250-2459. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/292739494_A_Review_on_Biomaterials_Scope_Applications_Human_Anatomy_Significance

- [9] THOMAS, S., Y. GROHENS a N. NINAN, 2015. Nanotechnology applications for tissue engineering. Waltham, Massachusetts: William Andrew. ISBN 9780323328890.
- [10] SRIDHAR, T.M. a S. RAJESWARI, 2009. BIOMATERIALS CORROSION. Corrosion Reviews. 27(Supplement). DOI: 10.1515/CORRREV.2009.27.S1.287. ISSN 2191-0316. Dostupné také z: <https://www.degruyter.com/view/j/corrrev.2009.27.s1/corrrev.2009.27.s1.287/corrrev.2009.27.s1.287.xml>
- [11] RATNER, B., A. HOFFMAN, F. SCHOEN a kol., 2013. Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine. 3. Oxford: Elsevier. ISBN 9780123746269.
- [12] HUEBSCH, N. a D. J. MOONEY, 2009. Inspiration and application in the evolution of biomaterials. Nature. 462(7272), 426-432. DOI: 10.1038/nature08601. ISSN 0028-0836. Dostupné také z: <http://www.nature.com/articles/nature08601>
- [13] ABRAHAM, C. M., 2014. A Brief Historical Perspective on Dental Implants, Their Surface Coatings and Treatments. The Open Dentistry Journal. 8(1), 50-55. DOI: 10.2174/1874210601408010050. ISSN 1874-2106. Dostupné také z: <https://opendentistryjournal.com/VOLUME/8/PAGE/50/>
- [14] SAINI, M., 2015. Implant biomaterials: A comprehensive review. World Journal of Clinical Cases. 3(1). DOI: 10.12998/wjcc.v3.i1.52. ISSN 2307-8960. Dostupné také z: <http://www.wjgnet.com/2307-8960/full/v3/i1/52.htm>
- [15] HILDEBRAND, H. F., 2013. Biomaterials – a history of 7000 years. BioNanoMaterials. 14(3-4). DOI: 10.1515/bnm-2013-0014. ISSN 2193-066X. Dostupné také z: <https://www.degruyter.com/view/j/biomat.2013.14.issue-3-4/bnm-2013-0014/bnm-2013-0014.xml>
- [16] PARK, J. a R. S. LAKES, c2007. Biomaterials: an introduction. 3rd ed. New York: Springer. ISBN 9780387378794.
- [17] MARTINS, N. a C. F. RODRIGUES, 2020. Biomaterial-Related Infections. Journal of Clinical Medicine [online]. 9(3) [cit. 2020-05-21]. DOI: 10.3390/jcm9030722. ISSN 2077-0383. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7141348/>
- [18] PRITCHARD, E. M., T. VALENTIN, B. PANILAITIS, a kol., 2013. Antibiotic-Releasing Silk Biomaterials for Infection Prevention and Treatment. Advanced Functional Materials [online]. 23(7), 854-861 [cit. 2020-05-21]. DOI: 10.1002/adfm.201201636. ISSN 1616301X. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3589549/>

- [19] CAMPOCCIA, D., L. MONTANARO, P. SPEZIALE a kol., 2010. Antibiotic-loaded biomaterials and the risks for the spread of antibiotic resistance following their prophylactic and therapeutic clinical use. *Biomaterials* [online]. **31**(25), 6363-6377 [cit. 2020-07-12]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.05.005. ISSN 01429612. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014296121000623X>
- [20] KOUTSKÝ, J. Biomateriály. Plzeň: Západočeská univerzita, 1997. ISBN 8070823704
- [21] *Titanium: The Medical Metal of Choice* [online], c2020. Camarillo, CA: Supra Alloys [cit. 2020-02-18]. Dostupné z: <http://www.supraalloys.com/medical-titanium.php>
- [22] BANDYOPADHYAY, A. a S. BOSE. Characterization of biomaterials. Amsterdam: Elsevier Science, 2013. ISBN 978-0-12-415800-9.
- [23] Biomaterials: A Global Market Overview, 2011. In: *Www.academia.edu* [online]. Chino, CA: Industry Experts, April 2011 [cit. 2019-11-18]. Dostupné z: https://www.academia.edu/7286060/Biomaterials_-_a_global_market
- [24] SHARIF, F., N. MUHAMMAD a T. ZAFAR, 2020. Cellulose Based Biomaterials: Benefits and Challenges. *Biofibers and Biopolymers for Biocomposites* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2020-03-21, 229-246 [cit. 2020-05-23]. DOI: 10.1007/978-3-030-40301-0_11. ISBN 9783030403003. Dostupné z: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-40301-0_11
- [25] HICKEY, R. J. a A. E. PELLING, 2019. Cellulose Biomaterials for Tissue Engineering. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* [online]. 7 [cit. 2020-05-24]. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00045. ISSN 2296-4185. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6438900/>
- [26] SINDHU, K. A., R. PRASANTH a V. K. THAKUR, 2014. Medical Applications of Cellulose and its Derivatives: Present and Future. *Nanocellulose Polymer Nanocomposites* [online]. Hoboken, NJ, USA, 2014-11-14, 437-477 [cit. 2020-05-24]. DOI: 10.1002/9781118872246.ch16. ISBN 9781118872246. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/278317433_Medical_Applications_of_Cellulose_and_its_Derivatives_Present_and_Future
- [27] LANGLEY-HOBBS, S.J., 2014. Sutures and general surgical implants. *Feline Soft Tissue and General Surgery* [online]. Elsevier, 2014, 105-116 [cit. 2020-05-26]. DOI: 10.1016/B978-0-7020-4336-9.00010-X. ISBN 9780702043369. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/polypropylene>

- [28] JAGANATHAN, S. K., E. SUPRIYANTO, S. MURUGESAN, a kol., 2014. Biomaterials in Cardiovascular Research: Applications and Clinical Implications. BioMed Research International [online]. 2014, 1-11 [cit. 2020-05-26]. DOI: 10.1155/2014/459465. ISSN 2314-6133. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/459465/>
- [29] BANDHYOPADHYA, A., 2013. Characterization of Biomaterials. Amsterdam: Elsevier. ISBN 9780124158009.
- [30] RAWAT, S. a J. SAXENA, 2019. Fiber-reinforced polymer: applications in biomedical engineering. Materials for Biomedical Engineering [online]. Elsevier, 2019, 393-429 [cit. 2020-06-01]. DOI: 10.1016/B978-0-12-818431-8.00012-X. ISBN 9780128184318. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/materials-science/cobalt-alloys>
- [31] GOHARIAN, A., 2017. Trauma plating systems: biomechanical, material, biological, and clinical aspects. Cambridge, MA: Elsevier. ISBN 9780128046340.
- [32] STAINLESS STEEL: A MODERN MEDICAL MARVEL, 2020. [Http://www.steelmor.co.za](http://www.steelmor.co.za) [online]. Benoni: Cnr Apex & Rotterdam Rds Apex Industrial Sites [cit. 2020-02-19]. Dostupné z: <http://www.steelmor.co.za/stainless-steel-modern-medical-marvel/>
- [33] Stainless Steel In Medical Industry, 2019. [Https://www.fortemetals.com](https://www.fortemetals.com) [online]. Franklin Park (Illinois): Carlou Luchavez [cit. 2020-02-19]. Dostupné z: <https://www.fortemetals.com/stainless-steel/stainless-steel-medical-industry/>
- [34] Marvellous Medical Materials: Stainless Steel - Part One, 2017. [Https://www.instituteofmaking.org.uk](https://www.instituteofmaking.org.uk) [online]. London: UCL Engineering [cit. 2020-02-19]. Dostupné z: <https://www.instituteofmaking.org.uk/blog/2017/11/marvellous-medical-material-stainless-steel-part-one>
- [35] HENESS, G. a B. BEN- NISSAN, 2004. Biomaterials - Classifications and Behaviour of Different Types of Biomaterials. AZO materials [online]. [cit. 2020-06-02]. Dostupné z: <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=2630>
- [36] MILNE, I., R. O. RITCHIE a B. L. KARIHALOO, c2003. Comprehensive structural integrity. Boston: Elsevier/Pergamon. ISBN 0080441505.
- [37] SALINAS, A. J. a M. VALLET-REGÍ, 2013. Bioactive ceramics: from bone grafts to tissue engineering. RSC Advances [online]. 3(28) [cit. 2020-02-20]. DOI:

- 10.1039/c3ra00166k. ISSN 2046-2069. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c3ra00166k>
- [38] KOSMAC, T. a J. SHEN, 2014. *Advanced Ceramics for Dentistry*. United States: Elsevier - Health Sciences Division. ISBN 9780123946195.
- [39] SUCHÝ, T., *Kompozitní materiály v medicíně* [online]. Praha: Institute of Rock Structure and Mechanics, [cit. 2019-11-14]. Dostupné z: http://www.csm-kompozity.wz.cz/tomas_suchy_kompozity.pdf
- [40] SHAMIKA, M, 2017. Advantages & Disadvantages of Biomaterials. Dostupné z: <https://sciencing.com/advantages-disadvantages-biomaterials-8385559.html>
- [41] ZAGHO, M., E. HUSSEIN a A. ELZATAHRY, 2018. Recent Overviews in Functional Polymer Composites for Biomedical Applications. *Polymers*. 10(7). DOI: 10.3390/polym10070739. ISSN 2073-4360. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/2073-4360/10/7/739>
- [42] IAQUINTA, M., E. MAZZONI, M. MANFRINI, a kol., 2019. Innovative Biomaterials for Bone Regrowth. *International Journal of Molecular Sciences*. 20(3). DOI: 10.3390/ijms20030618. ISSN 1422-0067. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/20/3/618>
- [43] DAVIM, J. P., 2013. *Biomedical Composites: Materials, Manufacturing and Engineering* [online]. 2. Germany: De Gruyter [cit. 2020-05-29]. ISBN 9783110266696. Dostupné z: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/upce-ebooks/detail.action?docID=1130266&query=COMPOSITES%20BIOMATERIAL>
- [44] PARK, J. B. a R. S. LAKES. *Biomaterials: an introduction*. 3. New York: Springer, 2007. ISBN 9780387378800.
- [45] SEWELL-LOFTIN, M. K., Y. W. CHUN, A. KHADEMHOSEINI a kol., 2011. EMT-Inducing Biomaterials for Heart Valve Engineering: Taking Cues from Developmental Biology. *Journal of Cardiovascular Translational Research*. 4(5), 658-671. DOI: 10.1007/s12265-011-9300-4. ISSN 1937-5387. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s12265-011-9300-4>
- [46] *On-X Protetická srdeční chlopeč* [online], 2017. Texas: On-X Life Technologies [cit. 2019-12-06]. Dostupné z: <https://www.onxlti.com/wp-content/uploads/2017/11/01012230E.pdf>
- [47] *Chirurgická léčba chlopečních vad – technické aspekty* [online], 2008. Olomouc: Interv Akut Kardiolog [cit. 2019-12-06]. Dostupné z: <https://www.iakardiologie.cz/pdfs/kar/2008/03/07.pdf>

- [48] NAVARRO, M., A. MICHIARDI, O. CASTAÑO a kol., 2008. Biomaterials in orthopaedics. *Journal of The Royal Society Interface*. 5(27), 1137-1158. DOI: 10.1098/rsif.2008.0151. ISSN 1742-5689. Dostupné také z: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsif.2008.0151>
- [49] MEROLA, M. a S. AFFATATO, 2019. Materials for Hip Prostheses: A Review of Wear and Loading Considerations. *Materials*. 12(3). DOI: 10.3390/ma12030495. ISSN 1996-1944. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1996-1944/12/3/495>
- [50] GHALME, S, 2016. Biomaterials in Hip Joint Replacement. *International Journal of Materials Science and Engineering* [online]. (4), 113-125 [cit. 2020-07-10]. DOI: 10.17706/ijmse.2016.4.2.113-125. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/305358274_Biomaterials_in_Hip_Joint_Replacement
- [51] Dental implants, <https://www.ghc.cz> [online]. Prague: GHC Clinic Prague [cit. 2020-02-24]. Dostupné z: <https://www.ghc.cz/en/aesthetics/men/head-and-neck/dental-implants/>
- [52] Dental Implants Procedure, Types, Problems, and Cost. <https://www.medicinenet.com> [online]. Mission Viejo (California): Donna S. Bautista, DDS [cit. 2020-02-24]. Dostupné z: https://www.medicinenet.com/dental_implants/article.htm
- [53] Biomaterials, 2002. Dordrecht: Springer Netherlands. ISBN 9780792370581. Dostupné také z: http://link.springer.com/10.1007/978-94-010-0328-5_10
- [54] CHIRILA, T., 2010. Biomaterials and Regenerative Medicine in Ophthalmology [online]. Great Abington, USA: Woodhead Publishing [cit. 2020-05-28]. ISBN 978-184-569-443-2. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/book/9781845694432/biomaterials-and-regenerative-medicine-in-ophthalmology#book-description>
- [55] KOOPMANS, S. A. a V. W. Renardel de LAVALETTE, 2008. Biomaterials in Ophthalmology. *Biomaterials in Modern Medicine*. WORLD SCIENTIFIC, 2008-01-02, 209-227. DOI: 10.1142/9789812709578_0012. ISBN 9789812709561. Dostupné také z: http://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/9789812709578_0012
- [56] Fakoemulzifikace. *Gemini* [online]. Průhonice: Oční klinika Gemini [cit. 2020-06-02]. Dostupné z: https://www.gemini.cz/ocni_vady_a_pojmy/fakoemulzifikace/
- [57] KE, F., Y. WANG, L. ZHAO, a kol., 2017. Clinical Application of Ophthalmic Implant Materials and Biocompatibility. *MATEC Web of Conferences*. 100. DOI:

- 10.1051/mateconf/201710004020. ISSN 2261-236X. Dostupné také z: <http://www.matec-conferences.org/10.1051/mateconf/201710004020>
- [58] ALLAN, B., 1999. Closer to nature: new biomaterials and tissue engineering in ophthalmology. *British Journal of Ophthalmology*. 83(11), 1235-1240. DOI: 10.1136/bjo.83.11.1235. ISSN 0007-1161. Dostupné také z: <http://bjo.bmj.com/cgi/doi/10.1136/bjo.83.11.1235>
- [59] WINKLER, T., F. A. SASS, G. N. DUDA a kol., 2018. A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering. 7(3), 232-243. DOI: 10.1302/2046-3758.73.BJR-2017-0270.R1. ISSN 2046-3758. Dostupné také z: <https://online.boneandjoint.org.uk/doi/10.1302/2046-3758.73.BJR-2017-0270.R1>
- [60] GAO, C., S. PENG, P. FENG a kol., 2017. Bone biomaterials and interactions with stem cells. *Bone Research*. 5(1). DOI: 10.1038/boneres.2017.59. ISSN 2095-6231. Dostupné také z: <http://www.nature.com/articles/boneres201759>
- [61] JAIN, R. a D. KAPOOR, 2015. The dynamic interface: A review. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry* [online]. 5(5) [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.4103/2231-0762.165922. ISSN 2231-0762. Dostupné z: <http://www.jispcd.org/text.asp?2015/5/5/354/165922>
- [62] CHIENG, B. W., N. A. IBRAHIM, N. AHMAD DAUD a kol., 2019. Functionalization of Graphene Oxide via Gamma-Ray Irradiation for Hydrophobic Materials. *Synthesis, Technology and Applications of Carbon Nanomaterials* [online]. Elsevier, 2019, 177-203 [cit. 2020-04-12]. DOI: 10.1016/B978-0-12-815757-2.00008-5. ISBN 9780128157572. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/materials-science/hydrophobic-surface>
- [63] CROSS, M.J., G.J. ROGER a J. SPYCHER, 2014. Cementless fixation techniques and challenges in joint replacement*Note: This chapter is an updated version of Chapter 9 from the first edition of *Joint replacement technology* edited by P. A. Revell and published by Woodhead Publishing 2008*. *Joint Replacement Technology*. Elsevier, 2014, 186-211. DOI: 10.1533/9780857098474.2.186. ISBN 9780857098412. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/topics/nursing-and-health-professions/bone-implant>
- [64] BALANI, K., [2015]. *Biosurfaces: a materials science and engineering perspective* [online]. Hoboken, New Jersey: The American Ceramic Society/Wiley [cit. 2020-04-10]. ISBN 978-111-8299-975. Dostupné z: databáze Proquest

- [65] Biolin Scientific: Surface Treatments & Coatings [online], [cit. 2020-03-16]. Dostupné z: <https://www.biolinscientific.com/surface-treatments-and-coatings/biomaterial-and-medical-devices#>
- [66] CASTNER, D. G., 2006. Surface analysis of biomaterials. ASAIO Journal [online]. Seattle, 2(52) [cit. 2020-03-09]. Dostupné z: https://journals.lww.com/asaijournal/fulltext/2006/03000/surface_analysis_of_biomaterials.30.aspx
- [67] PECHEVA, E., 2017. Study of biocompatible and biological materials [online]. 1. Bulgaria: Materials Research Forum [cit. 2020-04-10]. ISBN 9781945291241. Dostupné z: databáze Proquest
- [68] BOSE, S., S. F. ROBERTSON a A. BANDYOPADHYAY, 2018. Surface modification of biomaterials and biomedical devices using additive manufacturing. Acta Biomaterialia [online]. 66, 6-22 [cit. 2020-04-11]. DOI: 10.1016/j.actbio.2017.11.003. ISSN 17427061. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5785782/>
- [69] Recent Advances in Biomaterials for 3D Printing and Tissue Engineering, 2018. Journal of Functional Biomaterials [online]. 9(1) [cit. 2020-04-11]. DOI: 10.3390/jfb9010022. ISSN 2079-4983. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/323523299_Recent_Advances_in_Biomaterials_for_3D_Printing_and_Tissue_Engineering
- [70] HOLLINGER, J. O., c2012. An introduction to biomaterials [online]. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press [cit. 2020-04-11]. Biomedical engineering series (Boca Raton, Fla.). ISBN 9781439812570. Dostupné z: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/upce-ebooks/reader.action?docID=1446213&ppg=1&query=Protein%20Adsorption%20to%20Biomaterials#>
- [71] KHALILI, A. a M. AHMAD, 2015. A Review of Cell Adhesion Studies for Biomedical and Biological Applications. International Journal of Molecular Sciences. 16(8), 18149-18184. DOI: 10.3390/ijms160818149. ISSN 1422-0067. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/16/8/18149>
- [72] ROACH, P., D. EGLIN, K. ROHDE a kol., 2007. Modern biomaterials: a review—bulk properties and implications of surface modifications. Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 18(7), 1263-1277. DOI: 10.1007/s10856-006-0064-3. ISSN 0957-4530. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10856-006-0064-3>

- [73] LOTFI, M., M. NEJIB a M. NACEUR, 2013. Cell Adhesion to Biomaterials: Concept of Biocompatibility. *Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications*. InTech, 2013-03-27. DOI: 10.5772/53542. ISBN 978-953-51-1051-4. Dostupné také z: <http://www.intechopen.com/books/advances-in-biomaterials-science-and-biomedical-applications/cell-adhesion-to-biomaterials-concept-of-biocompatibility>
- [74] RUPP, F., L. LIANG, J. GEIS-GERSTORFER, a kol., 2018. Surface characteristics of dental implants: A review. *Dental Materials* [online]. 34(1), 40-57 [cit. 2020-06-04]. DOI: 10.1016/j.dental.2017.09.007. ISSN 01095641. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0109564117307443>
- [75] RBOVÁ, R. a M. SOCHOR, 2010. Povrch dentálních implantátů a jeho vliv na interakci s biologickým prostředím. *Česká stomatologie / Praktické zubní lékařství* [online]. Praha, 110(3), 49-60 [cit. 2020-06-04]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/ceska-stomatologie/2010-3/povrch-dentalnich-implantatu-a-jeho-vliv-na-interakci-s-biologickym-prostredim-souborny-referat-32251>
- [76] BRASH, J. L., 1979. *Hydrophobic Polymers as Materials for Interfacing with Blood. Assisted Circulation* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1979, 506-519 [cit. 2020-06-04]. DOI: 10.1007/978-3-642-67268-2_49. ISBN 978-3-642-67270-5. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-67268-2_49
- [77] AHMED, W., Z. ZHAI a C. GAO, 2019. Adaptive antibacterial biomaterial surfaces and their applications. *Materials Today Bio* [online]. 2 [cit. 2020-03-31]. DOI: 10.1016/j.mtbio.2019.100017. ISSN 25900064. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590006419300183>
- [78] SWARTJES, J.J.T.M., P.K. SHARMA, a kol., 2015. Current Developments in Antimicrobial Surface Coatings for Biomedical Applications. *Current Medicinal Chemistry* [online]. 22(18), 2116-2129 [cit. 2020-03-31]. DOI: 10.2174/0929867321666140916121355. ISSN 09298673. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/266029484_Current_Developments_in_Antimicrobial_Surface_Coatings_for_Biomedical_Applications
- [79] LEI, J., L. SUN, S. HUANG, a kol., 2019. The antimicrobial peptides and their potential clinical applications. *American Journal of Translational Research* [online]. 11(7) [cit. 2020-04-02]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6684887/>
- [80] *Surface Modification of Magnesium and Its Alloys for Biomedical Applications: Modification and Coating Techniques* [online], 2015. 2. Cambridge: Elsevier Science

- & Technology [cit. 2020-06-03]. ISBN 978-178-242-078-1. Dostupné z: databáze Proquest
- [81] D'ALMEIDA, M., N. ATTIK, J. AMALRIC, a kol., 2017. Chitosan coating as an antibacterial surface for biomedical applications. PLOS ONE [online]. 12(12) [cit. 2020-06-03]. DOI: 10.1371/journal.pone.0189537. ISSN 1932-6203. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5728531/>
- [82] Biotechnology Journal [online], 2013. 8. [cit. 2020-04-02]. ISSN 18606768. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23281326>
- [83] ALVES, D. a M. OLÍVIA PEREIRA, 2014. Mini-review: Antimicrobial peptides and enzymes as promising candidates to functionalize biomaterial surfaces. Biofouling [online]. 30(4), 483-499 [cit. 2020-04-02]. DOI: 10.1080/08927014.2014.889120. ISSN 0892-7014. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08927014.2014.889120>
- [84] WINTER, P. M., G. M. LANZA, S. A. WICKLINE, a kol., 2012. Polymer Coatings. Encyclopedia of Nanotechnology [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012, 2167-2174 [cit. 2020-06-23]. DOI: 10.1007/978-90-481-9751-4_105. ISBN 9789048197507. Dostupné z: https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-94-017-9780-1_105
- [85] WANG, H. a P. K. CHU, 2013. Surface Characterization of Biomaterials. Characterization of Biomaterials [online]. Elsevier, 2013, 105-174 [cit. 2020-04-05]. DOI: 10.1016/B978-0-12-415800-9.00004-8. ISBN 9780124158009. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124158009000048>
- [86] OMIDI, M., A. FATEHINYA, M. FARAHANI, a kol., 2017. Characterization of biomaterials. Biomaterials for Oral and Dental Tissue Engineering [online]. Elsevier, 2017, 97-115 [cit. 2020-04-05]. DOI: 10.1016/B978-0-08-100961-1.00007-4. ISBN 9780081009611. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081009611000074>
- [87] YANG, J. a I. GILMORE, 2014. Application of secondary ion mass spectrometry to biomaterials, proteins and cells: a concise review. Materials Science and Technology [online]. 31(2), 131-136 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1179/1743284714Y.0000000613. ISSN 0267-0836. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1179/1743284714Y.0000000613?journalCode=ymst20>

- [88] BANDYOPADHYAY, A. a S. BOSE, 2013. Characterization of biomaterials [online]. Amsterdam: Elsevier [cit. 2020-04-16]. ISBN 978-0-12-415800-9. Dostupné z: databáze Proquest
- [89] MEHRBAN, N. a J. BOWEN, 2017. Monitoring biomineralization of biomaterials in vivo. Monitoring and Evaluation of Biomaterials and their Performance In Vivo [online]. Elsevier, 2017, 81-110 [cit. 2020-06-11]. DOI: 10.1016/B978-0-08-100603-0.00005-5. ISBN 9780081006030. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/energy-dispersive-x-ray-spectroscopy>
- [90] MITIĆ, Ž., A. STOLIĆ, S. STOJANOVIĆ, a kol., 2017. Instrumental methods and techniques for structural and physicochemical characterization of biomaterials and bone tissue: A review. Materials Science and Engineering: C [online]. 79, 930-949 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1016/j.msec.2017.05.127. ISSN 09284931. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/317041446_Instrumental_methods_and_techniques_for_structural_and_physicochemical_characterization_of_biomaterials_and_bone_tissue_A_review
- [91] MALÍŠEK, V., 2007. Rozptyl světla. Česká oční optika [online]. 48(1), 62-64 [cit. 2020-06-05]. Dostupné z: https://www.4oci.cz/dokumenty/pdf/4oci_2007_01.pdf
- [92] APPELHANS, D., R. HAAG, B. VOIT a kol., [2016]. Bio-and multifunctional polymer architectures: preparation, analytical methods and applications [online]. Hoboken, New Jersey: Wiley [cit. 2020-04-19]. ISBN 978-111-8158-913. Dostupné z: databáze Proquest
- [93] VENKATESWARLU, K., N. DEVANNA, H. ARIKERI a kol., UV-visible spectroscopy: An overview. <https://www.pharmatutor.org> [online]. [cit. 2020-04-19]. Dostupné z: <https://www.pharmatutor.org/articles/uv-visible-spectroscopy-overview>
- [94] MANIVANNAN, G., UV-vis spectroscopy as an analytical tool for the characterization of polymers [online]. 1997-6-30, 1029107- [cit. 2020-04-19]. DOI: 10.1117/12.279857. Dostupné z: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.279857>
- [95] VAN DEN BEUCKEN, J. J.J.P., M. R.J. VOS, P. C. THÜNE, a kol., 2006. Fabrication, characterization, and biological assessment of multilayered DNA-coatings for biomaterial purposes. Biomaterials [online]. 27(5), 691-701 [cit. 2020-06-28]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2005.06.015. ISSN 01429612. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961205005892>

- [96] VARIOLA, F., 2015. Atomic force microscopy in biomaterials surface science. *Physical Chemistry Chemical Physics* [online]. 17(5), 2950-2959 [cit. 2020-04-21]. DOI: 10.1039/C4CP04427D. ISSN 1463-9076. Dostupné z: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2015/cp/c4cp04427d>
- [97] JANDT, K. D, 2001. Atomic force microscopy of biomaterials surfaces and interfaces. *Surface Science* [online]. 491(3), 303-332 [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.1016/S0039-6028(01)01296-1. ISSN 00396028. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/222580685_Atomic_force_Microscopy_of_Biomaterials_Surfaces_and_Interfaces
- [98] SIEDLECKI, Ch. A. a R. E. MARCHANT, 1998. Atomic force microscopy for characterization of the biomaterial interface. *Biomaterials* [online]. 19(4-5), 441-454 [cit. 2020-04-21]. DOI: 10.1016/S0142-9612(97)00222-6. ISSN 01429612. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9677156>
- [99] FINEHOUT, E. J. a K. H. LEE, 2004. An introduction to mass spectrometry applications in biological research. *Biochemistry and Molecular Biology Education* [online]. 32(2), 93-100 [cit. 2020-04-22]. DOI: 10.1002/bmb.2004.494032020331. ISSN 14708175. Dostupné z: <https://iubmb.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/bmb.2004.494032020331>
- [100] HUMENANSKY, J., Using SEM for Medical Applications. *Www.mddionline.com* [online]. 2003 [cit. 2020-04-30]. Dostupné z: <https://www.mddionline.com/using-sem-medical-applications>
- [101] VOIT, B., R. HAAG, D. APPELHANS a kol., 2016. *Bio- and Multifunctional Polymer Architectures: Preparation, Analytical Methods, and Applications* [online]. 2. Hoboken (New Jersey): John Wiley & Sons, Incorporated [cit. 2020-04-23]. ISBN 9781119188889. Dostupné z: databáze Proquest
- [102] BOVI, M., N. GASSLER a B. HERMANNNS-SACHWEH, 2008. Determination of the biocompatibility of biomaterials by scanning electron microscopy (SEM). EMC 2008 14th European Microscopy Congress 1–5 September 2008, Aachen, Germany [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 727-728 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1007/978-3-540-85226-1_364. ISBN 978-3-540-85225-4. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-85226-1_364
- [103] TAYEBI, L. a K. MOHARAMZADEH, [2017]. *Biomaterials for oral and dental tissue engineering* [online]. Kidlington, United Kingdom: Elsevier/Woodhead Publishing [cit. 2020-04-06]. Woodhead Publishing series in biomaterials. ISBN 978-0-08-100961-1.

- Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/scanning-electron-microscope>
- [104] Techniques for Oral Microbiology, 2015. Atlas of Oral Microbiology [online]. Elsevier, 2015, 15-40 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1016/B978-0-12-802234-4.00002-1. ISBN 9780128022344. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128022344000021>
- [105] ZHOU, W. a H. F. GREER, 2016. What Can Electron Microscopy Tell Us Beyond Crystal Structures? European Journal of Inorganic Chemistry [online]. 2016(7), 941-950 [cit. 2020-05-08]. DOI: 10.1002/ejic.201501342. ISSN 14341948. Dostupné z: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ejic.201501342>
- [106] KARLÍK, M., 2005. Transmisní elektronová mikroskopie: pohled do nitra materiálů. Československý časopis pro fyziku [online]. (55) [cit. 2020-05-08]. Dostupné z: https://nanoed.tul.cz/pluginfile.php/603/mod_resource/content/1/TEM_05_Karlik.pdf
- [107] SONIA, T. A. a Ch. P. SHARMA, 2014. Experimental techniques involved in the development of oral insulin carriers. Oral Delivery of Insulin [online]. Elsevier, 2014, 169-217 [cit. 2020-06-28]. DOI: 10.1533/9781908818683.169. ISBN 9781907568473. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/transmission-electron-microscopy>
- [108] UPADHYAY, R. K. a L. A. KUMARASWAMIDHAS, 2018. Bearing failure issues and corrective measures through surface engineering. Handbook of Materials Failure Analysis [online]. Elsevier, 2018, 209-233 [cit. 2020-06-10]. DOI: 10.1016/B978-0-08-101928-3.00011-2. ISBN 9780081019283. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/engineering/surface-characterization-technique>
- [109] SILVA, M.H. P. da, G.A. SOARES, C.N. ELIAS, a kol., 2000. Surface analysis of titanium dental implants with different topographies. Materials Research [online]. 3(3), 61-67 [cit. 2020-06-14]. DOI: 10.1590/S1516-14392000000300003. ISSN 1516-1439. Dostupné z: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-14392000000300003&script=sci_arttext&tlng=en
- [110] MORANT, C., M.F LÓPEZ, A GUTIÉRREZ a kol., 2003. AFM and SEM characterization of non-toxic vanadium-free Ti alloys used as biomaterials. Applied Surface Science [online]. 220(1-4), 79-87 [cit. 2020-06-12]. DOI: 10.1016/S0169-4332(03)00746-3. ISSN 01694332. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169433203007463>

- [111] VOJTĚCH, D., 2006. Kovové materiály [online]. Praha: Vydavatelství VŠCHT [cit. 2020-06-12]. ISBN 8070806001. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_isbn-80-7080-600-1/pdf/020.pdf
- [112] SCHUMACHER, E. F., Transmission Electron Microscopy of Stainless Steel for Stents. [Http://www.jeolusa.com](http://www.jeolusa.com) [online]. ASM international, 2010 [cit. 2020-05-11]. Dostupné z: <http://www.jeolusa.com/Portals/2/Press/McCrone-Schumacher-TEM-for-Stents-Aug-2010%20AMP.pdf>
- [113] CHANG, K.-Ch., Y.-W. CHIANG, Ch.-H. YANG a kol., 2012. Atomic force microscopy in biology and biomedicine. Tzu Chi Medical Journal [online]. 24(4), 162-169 [cit. 2020-05-14]. DOI: 10.1016/j.tcmj.2012.08.002. ISSN 10163190. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/257450912_Atomic_force_microscopy_in_biology_and_biomedicine
- [114] ALIOFKHAZRAEI, M. a N. ALI, 2014. AFM Applications in Micro/Nanostructured Coatings. *Comprehensive Materials Processing* [online]. Elsevier, 2014, s. 191-241 [cit. 2020-07-13]. DOI: 10.1016/B978-0-08-096532-1.00712-3. ISBN 9780080965338. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780080965321007123>
- [115] HINTERDORFER, P. a Y. J. OH, 2019. Looking Bacteria Using AFM. Wiley Analytical Science [online]. Linz, Austria [cit. 2020-05-14]. Dostupné z: <https://analyticalscience.wiley.com/do/10.1002/imaging.6596/full/>
- [116] ARMENTANO, I., C. R. ARCIOLA, E. FORTUNATI, a kol., 2014. The Interaction of Bacteria with Engineered Nanostructured Polymeric Materials: A Review. *The Scientific World Journal* [online]. 2014, 1-18 [cit. 2020-06-12]. DOI: 10.1155/2014/410423. ISSN 2356-6140. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4084677/>
- [117] BOUDJEMAA, R., K. STEENKESTE, A. CANETTE, a kol., 2019. Direct observation of the cell-wall remodeling in adhering Staphylococcus aureus 27217: An AFM study supported by SEM and TEM. *The Cell Surface* [online]. 5 [cit. 2020-06-14]. DOI: 10.1016/j.tcs.2019.100018. ISSN 24682330. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468233018300331>