

Příprava tenkých vrstev na povrchu medicínských a farmaceutických materiálů

Bc. Adéla Vystavělová

Diplomová práce
2015



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2014/2015

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Adéla Vystavělová**
Osobní číslo: **T13387**
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství polymerů**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Příprava tenkých vrstev na povrchu medicínských
a farmaceutických materiálů**

Zásady pro vypracování:

1. Zpracujte rešerši na zadané téma.
2. Provedte depozici aktivní složky na povrch syntetického polymerního materiálu za účelem vytvoření tenké vrstvy.
3. Provedte charakterizaci připravené tenké vrstvy.
4. Studujte interakci tenké vrstvy is vybranými buňkami.
5. Citujte použitou literaturu.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

1. Bílek F., Sulovská K., Lehocký M., Sáha P., Humpolíček P., Mozetič M. and Junkar I.: Preparation of Active Antibacterial LDPE Surface Through Multistep Physicochemical Approach II: Graft Type Effect on Antibacterial Properties, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 102 (2013) 842–848.
2. Bílek F., Křížová T. and Lehocký M.: Preparation of Active Antibacterial LDPE Surface Through Multistep Physicochemical Approach: I. Allylamine Grafting, Attachment of Antibacterial Agent and Antibacterial Activity Assessment, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 88 (2011) 440–447.
3. Popelka A., Novák I., Lehocký M., Junkar I., Mozetič M., Kleinová A., Janigová I., Šlouf M., Bílek F. and Chodák I.: A New Route for Chitosan Immobilization onto Polyethylene Surface, Carbohydrate Polymers 90 (2012) 1501–1508.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.**
Institut zdravotnických studií

Datum zadání diplomové práce: **16. ledna 2015**

Termín odevzdání diplomové práce: **15. května 2015**

Ve Zlíně dne 2. března 2015


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




Ing. Lubomír Beníček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: VYSTAVĚLOVA' ADELA

Obor: INŽENÝRSTVÍ POLYMERŮ

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 19. 5. 2015

Vystavělová'

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Biokompatibilita syntetických polymerních materiálů zaujímá vysokou vědeckou důležitost v důsledku vzrůstajícího množství aplikací v medicíně. V důsledku toho dochází k vysoce důležitým potřebám přípravy aktivních povrchových vrstev, které vykazují adekvátní interakci s živými buňkami. V této diplomové práci byla studována imobilizace chondroitin sulfátu na vzorku polyethylenu navázaného prostřednictvím víceúrovňového fyzikálně-chemického procesu.

Klíčová slova: biokompatibilita, povrchová úprava, proliferace buněk, chondroitin sulfát

ABSTRACT

The biocompatibility of synthetic polymer materials is of a high scientific importance due to the increasing amount of applications in medicine. Due to this fact, there is high importance to prepare active surface layers which have adequate interaction to the living cells. In this thesis, the immobilization of chondroitin sulphate on polyethylene substrate via multistep physico-chemical approach has been studied.

Keywords: biocompatibility, surface treatment, cell proliferation, chondroitin sulphate

Poděkovat bych chtěla hlavně vedoucímu své diplomové práce panu doc. Ing. Mariánovi Lehockému PhD. za odborné vedení v průběhu diplomové práce, trpělivost a velkou ochotu k řešení problémům. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Zdence Kucekové PhD. za odborné rady. V neposlední řadě patří mé poděkování Bc. Lence Hýlové za obětavou pomoc.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 POLYETHYLEN	11
1.1 VÝROBA	12
1.2 VLASTNOSTI A POUŽITÍ.....	13
1.2.1 Vysokohustotní polyethylen.....	14
1.2.2 Nízkohustotní polyethylen	14
1.2.3 Odolnost proti mikroorganismům	14
1.3 POLYETHYLEN JAKO BIOMATERIÁL	15
2 CHONDROITIN SULFÁT	16
2.1 REGULAČNÍ VLASTNOSTI.....	17
2.2 POUŽITÍ CHS V BIOMEDICÍNĚ.....	17
3 CHONDROCYTY	19
3.1 CHONDROGENEZE	19
3.2 FUNKCE ZRALÝCH KLOUBNÍCH CHONDROCYTŮ.....	21
4 FIBROBLASTY	22
5 PLAZMA	24
5.1 NÍZKOTLAKÉ PLAZMA	25
5.2 INTERAKCE MEZI PLAZMATEM A POVRCHEM POLYMERNÍHO MATERIÁLU	27
5.3 APLIKACE.....	28
II PRAKTICKÁ ČÁST	30
6 PŘÍPRAVA VZORKŮ	31
7 CHARAKTERIZACE RŮZNĚ MODIFIKOVANÉHO PE	32
7.1 MĚŘENÍ POVRCHOVÉ ENERGIE.....	32
7.2 XPS – RENTGENOVÁ FOTOELEKTRONOVÁ SPEKTROSKOPIE.....	33
7.3 SEM – SKENOVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE	34
7.4 PROLIFERACE FIBROBLASTŮ.....	35
8 VÝSLEDKY A DISKUZE	36
8.1 MĚŘENÍ POVRCHOVÉ ENERGIE.....	36
8.2 XPS – RENTGENOVÁ FOTOELEKTRONOVÁ SPEKTROSKOPIE.....	38
8.3 SEM – RASTROVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE	41
8.4 PROLIFERACE FIBROBLASTŮ.....	47
ZÁVĚR	53
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	55
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	64
SEZNAM OBRÁZKŮ	66
SEZNAM TABULEK	67

ÚVOD

Je známo, že UV záření plazmatu i chemické interakce mezi reaktivními částicemi plazmatu a bakteriemi nebo spory mohou způsobit nekrózu bakterií. Bylo také prokázáno, že citlivé materiály, jako jsou polymery, nejsou odolné vůči reaktivním plynným částicím plazmatu a dochází k pomalému leptání povrchu polymeru. Nejlepší výsledky byly dosaženy zamezením interakce opracovávaného povrchu s excitovanými plynnými ionty pomocí dohasínající emise.

Zpracování biomedicínských materiálů pomocí plynného plazmatu má velký potenciál pro budoucí aplikace. Např. diagnózou neurodegenerativních onemocnění před tím, než jsou viditelné první příznaky. Neurodegenerativní onemocnění je způsobeno přítomností určitých proteinů v tělních tekutinách, mozkomíšním moku a krvi. Koncentrace těchto proteinů je velmi nízká a je obtížné je detekovat konvenčními metodami. Problémem taky je, že proteiny mají tendenci k adsorpci na povrchu zkumavky pro ukládání tělních tekutin. Tomuto jevu se podařilo zabránit ošetřením vnitřní stěny zkumavky plazmatem helia za nízkého tlaku v kapacitním režimu. Na aktivovaný povrch se nanasly ochranné povlaky obsahující specifické chemické látky, které umožňovaly pouze nepatrnou adsorpci proteinů ve skladovaných zkumavkách.

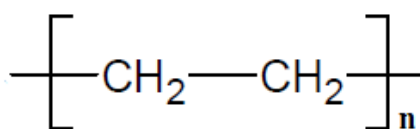
Další využití je u kardiovaskulárních chorob, které jsou často léčeny chirurgicky. Špatná krevní céva je nahrazena umělou vyrobenou z polymeru. Cévní štěpy s průměry menšími jak milimetr mají nízkou biokompatibilitu, která způsobuje aktivaci trombocytů a v konečném důsledku vznik trombu. Tomuto efektu se dá zabránit modifikací cévní náhrady použitím vysoce nerovnovážného plazmatu kyslíku. Toto plazma s velkou koncentrací neutrálních atomů kyslíku je často nehomogenní, takže ošetřený povrch polymeru má nanostrukturovanou morfologii, která v kombinaci s přítomnými vysoce polárními funkčními skupinami způsobuje, že povrch polymeru má velmi hydrofilní charakter. A právě hydrofilní charakter povrchu polymeru zabraňuje aktivaci krevních destiček.

Rány při diabetes se ošetřují netkanými celulóзовými materiály, které slouží jako absorpční vrstva. Plazmová úprava pomocí nízkotlakých výbojů zlepšuje sorpční vlastnosti těchto materiálů [1].

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 POLYETHYLEN

Polyethylen (PE) patří mezi polyolefiny, což je kvantitativně největší skupina syntetických polymerů, a to hlavně díky dostupnosti surovin pro výrobu monomerů a dobré zpracovatelnosti [2]. Žádný jiný polymer se nevyvinul tak rychle jako právě PE. Je znám už od roku 1935, ale jeho výroba se začala rozšiřovat až po roce 1953 zavedením nízkotlaké polymerace, která nebyla tak náročná jako polymerace za vysokého tlaku. Má vynikající vlastnosti, díky nimž má všestranné způsoby použití a vyrábí se téměř ve všech průmyslově vyspělých státech [3, 4].



Obrázek 1: Vzorec PE

PE se řadí mezi termoplasty, které při vyšší teplotě měknou a stávají se plastickými, přičemž se chemicky nemění, a ochlazením opět ztvrdnou. Tento proces lze libovolně opakovat [3]. Podle hustoty se dělí na PE s nízkou hustotou (LDPE), PE s vysokou hustotou (HDPE) a na PE o střední hustotě (MDPE). V tab. 1 jsou uvedeny přesné hodnoty hustot. Dále pak rozeznáváme lineární PE o nízké hustotě (LLDPE) a PE s ultravysokou molekulovou hmotností (UHMW-PE) [2].

Tabulka 1: Hustota jednotlivých typů PE při teplotě 23 °C

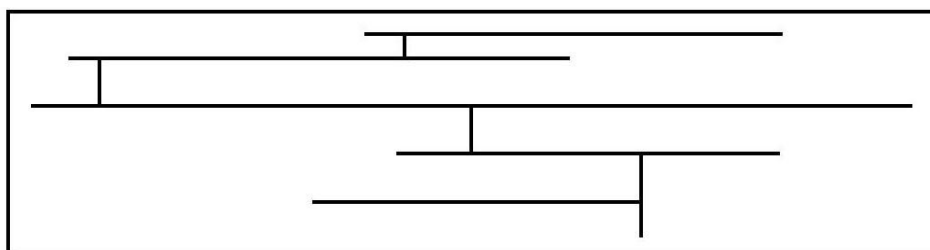
Typy PE	Hustota [g/cm ³]
LDPE	0,915 – 0,925
HDPE	0,950 – 0,960
MDPE	0,925 – 0,940
LLDPE	0,915 – 0,935
UHMW-PE	0,944 – 0,954

1.1 Výroba

Monomerem pro výrobu PE je poměrně reaktivní ethylen, bezbarvý nasládlý plyn, jenž se získává hlavně z ropy a zemního plynu. Je to jednoduchý symetrický alken, u kterého probíhá polymerace jen za mimořádných podmínek nebo za použití katalyzátorů [4].

- Vysokotlaká polymerace

Polymerace se provádí v kontinuálních reaktorech za použití vysokého tlaku (50 až 300 MPa) při teplotě 150 až 400 °C. Polymer vzniká ve formě taveniny. Při daných podmínkách se vódk snadno přenáší z polymeru na rostoucí radikál. Tím vzniká na polymeru radikál, na kterém poté roste řetězec [4, 5]. To má za následek vznik vysoce rozvětveného polymeru s nízkou hustotou (viz obr. 2), který má nižší stupeň krystalinity, je měkký, pružný a houževnatý [6].

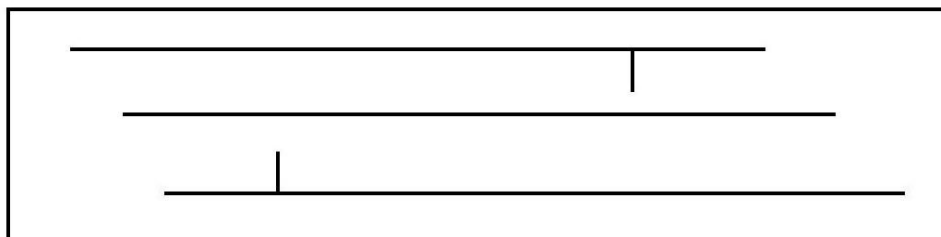


Obrázek 2: Struktura LDPE

Radikálovou polymerací lze vyrábět kopolymery ethylenu s polárními monomery. Příkladem je kopolymer EVA, kopolymer ethylen-akrylát [5].

- Nízkotlaká polymerace

Polymerace se provádí podle Zieglera za použití nízkého tlaku a katalyzátorů. PE se vyrábí buď v suspenzi, nebo výhodnějším postupem na fluidním loži, protože se zde nepoužívá rozpouštědlo. Výsledkem je lineární polymer s vysokou hustotou (viz obr. 3), který je tužší, lesklejší a má vyšší tepelnou odolnost. Katalytickým způsobem lze vyrábět i LLDPE [5, 6].



Obrázek 3: Struktura HDPE

1.2 Vlastnosti a použití

Všechny typy PE jsou tuhé, v tenkých vrstvách ohebné a téměř průhledné, mají vysokou houževnatost a tažnost. Teplota tání je v rozsahu 105 až 136 °C. Za normální teploty je PE odolný vůči kyselině sírové, chlorovodíkové, dusičné i fluorovodíkové a nerozpouští se v žádném rozpouštědle. Méně stálý je v přítomnosti oxidačních činidel. Většina typů PE se nad 50 °C rozpouští v aromatických nebo chlorovaných uhlovodících. PE odolává mrazu, nepropouští vodní páru, při působení napětí má tendenci praskat. Absorbuje tuky, uhlovodíky, aminy, ethery, ketony a jiné kapalné organické sloučeniny. Můžeme na něm pozorovat studený tok. Pokud není PE stabilizovaný, má nízkou odolnost proti povětrnosti, a to především proti slunečnímu záření. Odolnost se zvyšuje přidávkem 2% ZnO [2].

Vesmět všechny vlastnosti PE jsou závislé na teplotě. Amorfní část zajišťuje ohebnost LDPE do velmi nízkých teplot. Převládající krystalická část je zodpovědná za dobrou pevnost. Přibližně při 60 °C začíná krystalická část tát a polymer měkne. Při teplotě kolem 110 až 115 °C dochází k roztavení veškeré krystalické části a polymer se stává plastický. Při ochlazení dochází opět k vytvoření krystalické struktury. Obsah krystalické fáze a velikost krystalů lze ovlivnit rychlostí chlazení taveniny. Při pomalém chlazení vznikají relativně velké krystaly, při rychlém vznikají početné krystalické oblasti a polymer má vyšší transparentnost. PE je při velmi nízkých teplotách (-120 °C) tvrdý a křehký. S rostoucí teplotou se stává ohebným. Pokud výrobky z PE nedeformují vnější síly, nebo pokud nemají sklon ke smršťování, jsou tvarově stálé do teplot kolem 100 °C [3].

Největší uplatnění má PE o velké průměrné relativní molekulové hmotnosti. Dá se zpracovávat vstřikováním, vytlačováním, tvářením, vyfukováním, litím a lisováním. Vyrábí se z něj např. obaly pro potravinářský a spotřební průmysl, koše, vaničky, nádobí, lahve, tašky, hračky, transparentní fólie, z technických výrobků pak trubky, nádoby pro dopravu a přechovává-

ni chemikálií. Dále se používá k opláštění kabelů. Práškový PE slouží i jako ochrana povrchu kovových předmětů před korozi, kdy se na povrch předmětů nanáší natavováním [4, 6].

I když má PE přívětivé vlastnosti a je snadno zpracovatelný, vzhledem k jeho inertnímu povrchu nemá využití jako speciální materiál. K dosažení takových povrchových vlastností, jako je hydrofilita, drsnost, selektivní propustnost, potiskovatelnost apod., je třeba povrch modifikovat. Povrchovou modifikací, kdy se na povrchu PE vytvoří karbonylové, karboxylové a jiné skupiny, lze dosáhnout použitím různých metod, např. působením chemikálií, roubováním, zavedením atomu halogenu, působením plazmatu aj. [7, 8].

1.2.1 Vysokohustotní polyethylen

HDPE je nejtěžší ze všech typů PE. V některých případech je nutné začlenit malé množství komonomeru, např. 1-hexenu, který snižuje hladinu krystalinity. Tím se zlepší jeho houževnatost, ovšem na úkor tuhosti. Stupeň krystalinity je vyšší jako 60 %. Je to dáno nízkou úrovní větvení, která takřka nebrání polymeru krystalizovat [9].

1.2.2 Nízkohustotní polyethylen

Molekuly LDPE mají mnoho krátkých a dlouhých řetězců, LDPE má tedy velkou polydisperzitu. Úroveň krystalinity se pohybuje v rozmezí od 30 do 55 %. Tento nižší obsah krystalické fáze je dán vysokou úrovní větvení LDPE, která narušuje schopnost polymeru krystalizovat [9]. Větvení je náhodné a u polymeru se může vyskytovat buď s mnoha krátkými rameny na základním řetězci, nebo může mít polymer komplexní stromovou strukturu [10]. Vysoce rozvětvená struktura a široká distribuce molekulové hmotnosti dává tavenině vysokou pevnost a snadnou zpracovatelnost, proto bývá LDPE přidáván do takových typů PE, které jsou obtížně zpracovatelné [9].

Filmy vyrobené z LDPE jsou relativně transparentní, protože jejich sférolity jsou obvykle podstatně menší než vlnová délka světla [9]. LDPE fólie lze snadno zpracovávat vyfukováním nebo jako lité fólie vytlačovacím zařízením. Výběr vytlačovacího zařízení závisí na konkrétní aplikaci a požadovaných vlastnostech [11].

1.2.3 Odolnost proti mikroorganismům

PE není živná půda pro mikroorganismy, proto není jimi napaden. To ovšem neplatí, pokud je tloušťka stěny nebo filmu menší jak 0,1 μm . V tenčí stěně mohou být při výrobě zavedeny malé póry. Látky s nízkou molekulovou hmotností, jako jsou změkčovadla, stabilizátory, an-

tioxidanty atd. mohou migrovat na povrch polymeru a podporovat tak růst mikroorganismů, což se může projevit zhoršením mechanických vlastností, estetické kvality, ztrátou optické transparentnosti apod. K zabránění růstu mikroorganismů se používají konzervační činidla, např. fungicidy nebo biocidy, která se přidávají do plastových materiálů [12].

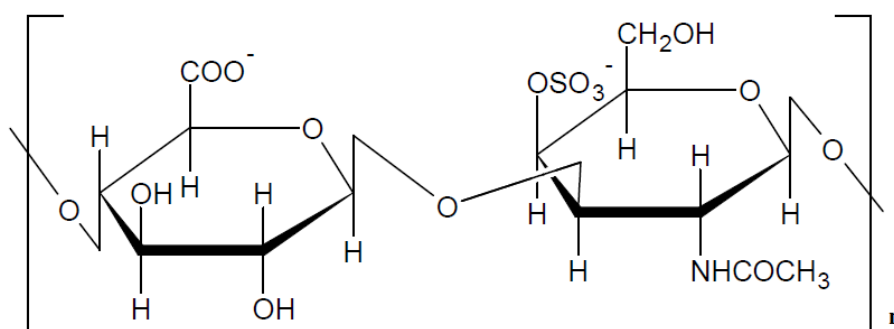
1.3 Polyethylen jako biomateriál

Polymery získaly mnoho různých aplikací v oblasti biomedicínského inženýrství díky svému zpracování a výhodným vlastnostem. Mohou být snadno vyráběny v různých velikostech a tvarech (latex, vlákna, film, atd.) a jsou lehčí než konvenční materiály. PE se v biomedicínských aplikacích používá k výrobě ortopedických implantátů (kolenního a kyčelního kloubu), dále jako farmaceutické lahve, netkané textilie, katétry, pružné obaly, atd. [13].

Aby mohl být PE použit jako biomateriál, musí splňovat řadu kritérií a být biokompatibilní. Testy na biokompatibilitu jsou navrženy tak, aby určily riziko nepříznivých účinků na zdraví. Toxicita materiálu závisí na toxicitě přidaných složek a jejich migrace do těla. Mezi potenciálně toxické látky patří antioxidanty, stabilizátory, maziva, separační činidla atd. a degradační produkty vzniklé při skladování polymeru nebo při implantaci. Hodnocení bezpečnosti zdravotnických prostředků, ať už jsou přímo či nepřímo v kontaktu s tělem nebo s tělními tekutinami, popisuje norma ISO 10993 – Biologické hodnocení zdravotnických prostředků. Rozsah testování závisí na délce kontaktu, jaká část těla bude v kontaktu s materiálem a na povahu kontaktu s tělem (vnější nebo vnitřní) [12].

2 CHONDROITIN SULFÁT

Chondroitin sulfát (CHS) je komplexní polysacharid spadající mezi glykosaminoglykany (GAG). Nachází se v extracelulární matrix tkání jako součást proteoglykanů, na buněčných povrchových receptorech a uvnitř buňky. Je významnou složkou chrupavky. Jeho struktura se skládá z opakujících se jednotek kyseliny D-glukuronové (GlcA) a N-acetyl-D-galaktosaminu (GalNAc), jejichž hydroxylové skupiny jsou sulfatovány (u GlcA na druhém a třetím uhlíku, u GalNAc na čtvrtém a šestém uhlíku). Počet a umístění sulfátových skupin se může lišit, nejčastěji se však vyskytují u GalNAc v pozici 4 (viz obr. 4) nebo 6. Jeden řetězec obsahuje přibližně 40 disacharidových jednotek o molekulové hmotnosti asi 20 000. Jednotlivé typy CHS mají rozdílné regulační schopnosti jak v případě biologických funkcí, tak i v případě zánětů, enzymatické aktivity, syntézy extracelulární matrix, adheze, proliferace, diferenciaci a apoptóze. O tom, jak velký význam má specifický vzor CHS v biologických funkcích, dokazuje vysoká variabilita vzorů a jejich přítomnost v různých typech tkání [14, 15, 16].



Obrázek 4: Vzorec chondroitin-4-sulfátu

2.1 Regulační vlastnosti

Vnější část kloubní chrupavky obsahuje nediferencované mezenchymální buňky. Existuje domněnka, že pericelulární prostor těchto buněk je složen z proteoglykanů obsahující CHS s nízkým stupněm sulfatace, který udržuje buňky v nediferencovaném stavu. Když se nediferencované mezenchymální buňky začnou dělit, dceřiné buňky opustí oblast s nízkou sulfatací a vstoupí do oblasti s vysokou sulfatací, kde se začnou diferencovat do zralých chondrocytů. Buňky se od sebe v oblasti s velkou sulfatací odlišují z toho důvodu, že proteoglykany obsahující CHS selektivně vážou růstové faktory v závislosti na počtu sulfátových skupin v CHS. A tyto růstové faktory diferenciaci řídí [14].

CHS se řadí mezi symptomaticky pomalu působící lék na osteoartrózu. V mnoha klinických studiích se uvádí, že po perorálním podání dochází k úlevě od symptomů, zlepšení šířky kloubního spojení, ke snížení degradace extracelulární matrix chrupavky a kostní tkáně a ke zlepšení pohyblivosti kloubů. Účinnost však hodně závisí na kvalitě podávaného CHS. Ke zlepšení stavu dochází až po několika měsících, zato příznivé účinky přetrvávají i po skončení medikace [14].

2.2 Použití CHS v biomedicíně

CHS izolovaný z obratlovců se využívá terapeuticky. Zejména CHS izolovaný z kostí drůbeže, skotu a z nosní přepážky prasat se používá jako biomedicínská přísada pro léčbu osteoartritidy a osteoartrózy. Tato onemocnění se běžným způsobem léčí nesteroidními protizánětlivými léky a analgetiky, které mohou způsobit vážné nežádoucí účinky. Proto je použití CHS výhodnou alternativou. CHS-C se prodává jako vyživující látka pro kloubní chrupavky k zabránění jejich poškození nebo degeneraci. Dále se pro své viskoelastické vlastnosti používá u operace očního zákalu a při implantaci nitrooční čočky a jako přísada do hydratačních krémů pro léčbu popálenin. Skrz rostoucí zájem o CHS bylo navrženo několik dalších farmaceutických aplikací k různým typům CHS. Jejich vysoká variabilita v živočišných tkáních vyžaduje přísnou kontrolu úrovně sulfatace ve výrobcích [17]. Informace o struktuře lze získat pomocí nukleární magnetické rezonance (NMR), která však vyžaduje dostatečné množství relativně čistého vzorku [18].

Do biomateriálů je výhodné začleňovat CHS, protože jim poskytuje biologickou účinnost v oblasti regulace buněk, jako je proliferace, diferenciaci, syntéza enzymů, apoptóza a sekrece cytokinů. Vyvíjejí se pro řadu klinických aplikací, např. pro regeneraci chrupavky, tkáňové

inženýrství (pro srdeční chlopně), podávání léků, chirurgická lepidla a tmely, regeneraci meziobratlové ploténky, hojení ran atd. Tyto materiály jsou buď zcela biologické, nebo jsou složeny z biologických a syntetických polymerů. Použitím syntetických polymerů můžeme kontrolovat mechanické vlastnosti biomateriálů, které jsou dány chemickou strukturou molekul. Samozřejmě chemická struktura musí být taková, aby materiál vykazoval co nejmenší toxicitu do okolní tkáně [14].

3 CHONDROCYTY

Chondrocyty jsou buňky chrupavčité tkáně. Jsou to dospělé, většinou velké, plně vyvinuté buňky obsahující kulaté jádro s jedním nebo dvěma jadérkami. Nezralé chondrocyty se nazývají chondroblasty, jsou menší, ploché a na rozdíl od chondrocytů nemají v cytoplazmě zrnka glykogenu a jemné tukové kapky. V plně vyvinuté chrupavce se chondrocyty většinou vyskytují v párech, nebo v trochu větším seskupení umístěných v dutinách matrix, zvaných lakuny. Většimu množství chondrocytů se říká izogenetické skupiny [19]. Chondrocyty mají různou morfologii v závislosti na hloubce výskytu v chrupavce: na povrchu jsou více zploštělé, v hlubších oblastech jsou kulatější a větší. Chondrocyty v povrchové vrstvě produkují lubricin, který přispívá k mezní vrstvě maziva, díky čemuž má chrupavka hladký povrch s velmi nízkým koeficientem tření. Chondrocyty ve střední zóně syntetizují relativně větší množství agrekanu a množství menších proteoglykanů. Za normálních okolností jsou chondrocyty v klidovém, ustáleném stavu a udržují syntézu proteoglykanů a jiných nekolagenních molekul [20]. Obvod buňky těsně přiléhá k mezibuněčné hmotě. V místě výskytu izogenetických skupin je extracelulární matrix výrazně basofilní [19]. Matrix kolem chondrocytů je bohaté na GAG a chudé na kolagen [21].

Vzhled chondrocytů na ultratenkých řezech závisí na tom, zda je chondrocyt v aktivním stavu, nebo zda je již nečinný. Aktivní formy (chondroblasty) produkují extracelulární matrix, obsahují granulované endoplazmatické retikulum a Golgiho aparát. Jakmile dochází k poklesu jejich aktivity, redukuje se velikost endoplazmatického retikula i Golgiho komplexu, celá cytoplazma se přestavuje a objevují se v ní zrnka glykogenu a lipoidní materiál [19].

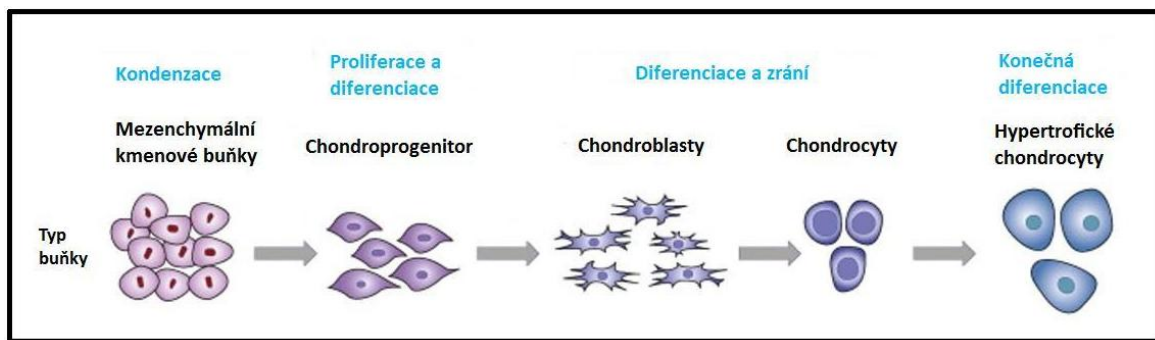
Chondrocyty se vyvíjejí z mezenchymu v procesu zvaném chondrogenese [19].

3.1 Chondrogenese

Při chondrogenese vznikají chondroblasty buď po interakci kondenzovaného mezenchymu s bazální membránou, nebo po interakci epitelového krytu a mezenchymu. Počátek chondrogenese je signalizován ovalizací budoucích chrupavčitých buněk a produkcí kolagenu typu II [22]. Proces začíná agregací a kondenzací mezenchymu. Kondenzační mezenchym produkuje různý extracelulární matrix a různé adhezní molekuly. Mezenchym diferencuje do chondrocytů a tyto buňky začínají produkovat extracelulární matrix bohatý na kolagen typu II a agrekan [23].

K chondrogenezi dochází jak v průběhu embryogeneze, tak i v dospělosti v důsledku opravy skeletální tkáně. Velmi důležité jsou při chondrogenezi kostní morfogenetické proteiny (BMP), jenž patří mezi růstové faktory. Jejich účinek závisí na tom, v jaké koncentraci se ve tkáni nachází a na době působení. Reguluje se kladnou i zápornou zpětnou vazbou [22, 23].

Během vývoje se buňky rychle množí. Buňky v blízkosti středu každého rostoucího prvku nakonec vystoupí z buněčného cyklu a zahájí hypertrofickou diferenciaci neboli proces zrání. V tomto procesu se chondrocyty zvětšují, diferencují, mineralizují a nakonec podléhají apoptóze. Jejich zbytková chrupavčitá matrix slouží jako scaffold pro další ukládání minerálů a pro tvorbu kostní tkáně s následným osídlením osteoblasty a osteoklasty [23].



Obrázek 5: Chondrogeneze [24]

3.2 Funkce zralých kloubních chondrocytů

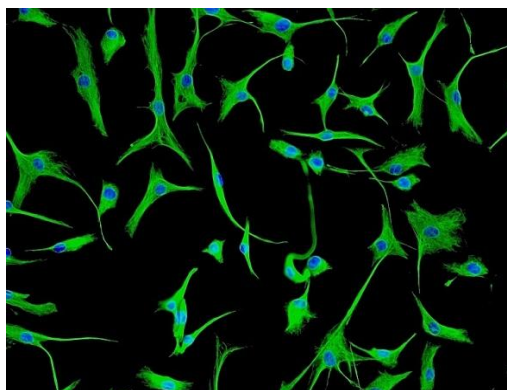
Zralý kloubní chondrocyt není v extracelulárním matrix mitoticky aktivní a má nízkou rychlost syntetické aktivity. Protože kloubní chrupavka není vaskularizovaná, musí se pro výměnu živin a metabolitů spoléhat na difúzi chondrocytů z povrchu kloubu nebo ze subchondrální kosti. Chondrocyty udržují transportní systém membrány aktivní pro výměnu kationtů (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} a H^+), jejichž koncentrace kolísají se zatížením a se změnou složení chrupavčité matrix. Cytoskelet chondrocytů se skládá z aktinu, tubulinu a vimentin vláken a složení těchto vláken je odlišné v různých zónách chrupavky [25].

Metabolismus chondrocytů pracuje v chrupavčité matrix při nízké koncentraci kyslíku. Rozmezí je od 10 % na povrchu chrupavky do méně než 1 % v hlubší zóně. Spotřeba kyslíku na jednotlivé buňky je pouze 2 až 5 %. Chondrocyty obvykle neobsahují mitochondrie, jejich metabolismus je silně závislý na dodání glukózy, která slouží jako hlavní zdroj energie a jako základní prekurzor pro syntézu GAG. Usnadnění transportu glukózy v chondrocytech je zprostředkováno několika odlišnými proteiny pro transport glukózy [25].

Pokud dojde k vážnému poškození kolagenové sítě, je replikace chondrocytů v matrix kloubní chrupavky těžší. V počátečních stádiích OA reagují chondrocyty na strukturální změny v okolí matrix tak, že zvyšují proliferaci a syntézu proteinů, proteináz a anabolických a katabolických faktorů. Toto nestandardní chování chondrocytů se odráží ve vzhledu fibrilace, vyčerpání matrix, shromažďování buněk a ve změně množství, distribuce nebo složení proteinů v matrix [25].

4 FIBROBLASTY

Fibroblasty se řadí mezi nejběžnější a nejvýznamnější buňky vazivové tkáně. Mají protáhlý, vřetenovitý až hvězdicovitý tvar, jenž se mění podle aktuálního funkčního stavu. Pokud probíhá tvorba bílkovin, buňky se zvětšují. Fibroblasty obsahují četná drsná endoplazmatická retikula a Golgiho aparát. Produkují základní vláknitou a amorfní hmotu vaziva, tedy tropokolagen, proteoglykany a dokonce i molekuly elastinu. Fibroblasty se podílejí na regeneraci tkáně, jsou hlavním zdrojem materiálu vyplňujícího tkáňové defekty – jizvy. Fibroblasty, které se aktivně nepodílí na sekreci, se nazývají fibrocyty. Jsou vývojově starší a mají minimální schopnost diferenciací [26, 27].



Obrázek 6: Fibroblasty [28]

Fibroblasty jsou schopné fagocytovat cizorodé částice. V tkáňových kulturách snadno proliferují a rostou, a to hlavně působením různými druhy dráždivel a přívodu živin krví. Jako první byly pěstovány fibroblasty, které se získaly z embryonálních tkání. Poté se začaly získávat i z dalších druhů pŕjiv, např. ze synoviálních membrán a synoviálních tkání. V médiu těchto tkání byla zjištěna přítomnost hyaluronanu, proto se fibroblasty pokládají za místo, kde vznikají mukopolysacharidy [29].

Dermální fibroblasty produkují a organizují extracelulární hmotu dermis. Komunikují jak mezi sebou, tak i s jinými typy buněk. Mají klíčovou roli v regulaci fyziologie kůže a hojení ran. Normální dospělá lidská kůže obsahuje nejméně tři odlišné subpopulace fibroblastů, a to papilární, retikulární a folikulární. Fenotypový rozdíl mezi těmito populacemi fibroblastů se projevuje v produkci a organizaci extracelulární hmoty, produkci růstových faktorů/cytokinů a v účasti v zánětlivých odpovědích [30].

- **Fibroblasty při hojení ran**

V případě, že dojde k poškození tkáně, začnou fibroblasty v její blízkosti proliferovat, migrovat do rány a produkovat velké množství kolagenní hmoty, která pomáhá izolovat a opravit poškozenou tkáň. Fibroblasty jsou schopné se pohybovat rychlostí 1,2 $\mu\text{m}/\text{min}$ [31, 32]. Při opravě tkáně dochází u fibroblastů ke změně fenotypu z jejich obvykle relativního klidového stavu na kontraktilní myofibroblasty. Tyto buňky jsou fenotypově podobné s buňkami hladkého svalstva. Několik výzkumníků z různých oborů v roce 1990 ukázalo, že myofibroblasty jsou během opravy tkáně současně přítomné v dalších tkání, včetně jater, ledvin a plic. Při běžné opravě tkáně dochází u myofibroblastů k apoptóze a vzniká jizva. V případě, že myofibroblasty setrvávají ve tkáni, dochází k fibróze vlivem zvýšené syntézy matrix a tím ke zkracování tkáně, což v mnoha případech brání normální funkci orgánu [33].

- **Organizace mezibuněčné hmoty**

Fibroblasty dokáží organizovat mezibuněčnou hmotu do ucelených částí. Pokud se k fibroblastům v kultivační nádobě přidá kolagen, jehož síť vláken je náhodně orientovaná a tvoří tak gel, začnou k sobě fibroblasty kolagen přitahovat a tím dojde k redukci gelu na menší části. Další z možností je, že se fibroblasty shluknou do těsné blízkosti a zůstanou obklopeny orientovanými kolagenními vlákny. Podobný jev nastává, když se dvě embryonální tkáně s fibroblasty vloží odděleně do kolagenního gelu. Kolagen vytvoří pevné vlákno mezi těmito tkáněmi a fibroblasty tak mohou z tkání migrovat [31].

5 PLAZMA

Plazma, též někdy nazývané jako čtvrté skupenství hmoty, je částečně nebo úplně ionizovaný plyn. Ionizovaný znamená, že alespoň jeden elektron není vázán k atomu nebo molekule. Se zvyšující se teplotou mají molekuly čím dál větší energii a dochází k transformaci pevné látky na kapalnou, plynnou a nakonec vzniká plazma, kde se volně pohybuje směs nabitých a neutrálních částic, elektronů a iontů [34, 35]. Pojem plazma byl vytvořen Langmuirem a Tonksem v roce 1929, kdy tak označily část obloukového typu výboje, ve kterém jsou hustoty elektronů a iontů vysoké a v podstatě stejné [36]. Plazma je vlivem volných elektrických nábojů (elektronů a iontů) elektricky vodivé, často i více jak zlato a měď, interaktivní a je silně ovlivňováno elektromagnetickým polem. Aby se ionizovaný plyn mohl nazývat plazmatem, musí být elektricky neutrální a obsahovat velké množství elektricky nabitých částic, které mají vliv na elektrické chování a vlastnosti [34, 35].

Plazma tvoří většinu viditelné hmoty ve vesmíru, např. sluneční koróny, mlhoviny, sluneční vítr, a to až z 99 %. Na Zemi lze plazma pozorovat ve formě blesku a polární záře. Účinně se vyrábí v laboratoři a průmyslu. Používá se pro řadu aplikací včetně termionové syntézy, elektroniky, laserů, zářivek a mnoha dalších [34, 35].

- **Stupeň ionizace**

Důležitým parametrem pro popis plazmatu je stupeň ionizace. Ve většině případů nebývají všechny částice v plazmatu ionizované. Při velmi nízké hustotě nabitých částic dojde k zničení účinků interakce mezi těmito částicemi vlivem neutrálních částic, které jsou v přebytku a dominují nad srážkami. U neutrálních částic dochází ke srážkám pouze tehdy, jsou-li navzájem v těsné blízkosti. Srážky mezi nabitými částicemi se řídí Coulombovým zákonem [35].

- **Debyeovo stínění a délka**

Debyeovo stínění definuje plazma z kvantitativního hlediska. Plazma je kvazineutrální, což znamená, že má hustotu kladných a záporných nábojů stejnou. Ovšem v rozsahu Debyeovy délky může při určité teplotě a hustotě nabitých částic nastat nerovnováha v nábojích. Pokud je do plazmatu vložen záporný náboj, elektrony jsou odpuzovány a ionty přitahovány. Tento děj se děje velmi rychle a vede k posunutí elektronů a iontů a vytváří se polarizační náboj, který chrání plazma proti vloženému náboji – dochází k Debyeovu stínění. Ionizovaný plyn se nazývá plazmatem, pokud je Debyeova stínící vzdálenost menší než charakteristická délka systému [36, 37]. Debyeovu délku λ_D lze vypočítat podle vztahu (1):

$$\lambda_D = \left(\frac{\varepsilon_0 KT}{n_0 e^2} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (1)$$

Kde: n_0 je hustota nabitých částic, e je náboj elektronu, ε_0 je permitivita vakua a KT popisují kinetickou energii elektronu.

Počet částic v Debyeově rozsahu (N_D) se definuje jako parametr plazmatu:

$$N_D \equiv n_0 \cdot \frac{4}{3} \pi \lambda_D^3 \quad (2)$$

Jestliže je $N_D < \approx 1$, mají kolektivní jevy malý význam a dominují srážky. Pokud je $N_D \gg 1$, velké množství částic je zodpovědné za Debyeovo stínění. Tomuto jevu se říká kolektivní chování. Kolektivní účinky tedy dominují nad srážkami, což je kritérium plazmatu [37].

- **Generace plazmatu**

Existuje mnoho různých metod generace plazmatu. Plazma může mít vysokou nebo nízkou hustotu, vysokou nebo nízkou teplotu, může být trvalé nebo přechodné, stabilní nebo nestabilní atd. Na základě termodynamických podmínek rovnováhy spolu úzce souvisí stupeň ionizace a teplota elektronů [38].

Plazma se dělí na termodynamicky rovnovážné a nerovnovážné. Termodynamicky rovnovážné plazma se vyznačuje velmi vysokou teplotou těžkých částic (často až 10 000 K). Tento typ plazmatu není vhodný k ošetření polymerních materiálů, protože teplota plynu je tak vysoká, že způsobuje jejich tepelnou degradaci. Zato v termodynamicky nerovnovážném plazmatu je teplota plynu podstatně nižší. Je to dáno nízkou teplotou těžkých částic a velmi vysokou teplotou elektronů (často až 50 000 K). Proto je tento typ plazmatu vhodný k ošetření polymerních materiálů. Další kapitoly budou zaměřeny právě na nevyvážené plazma [39].

5.1 Nízkotlaké plazma

Výboj plazmatu probíhá za nízkého tlaku (≤ 133 Pa) a vysoké frekvenci (≥ 1 MHz). Těžké částice (molekuly plynů a ionty) mají při pokojové teplotě kinetickou energii jen kolem 0,025 eV, zatímco elektrony mají dostatek kinetické energie (1 – 10 eV) ke zničení kovalentní vazby a k vytváření další ionizace. Vytvořené chemicky reaktivní částice se mohou podílet na homogenních (plynná fáze) nebo heterogenních reakcí s pevným povrchem, který je v kontaktu s plazmatem. Nízkotlaké plazma se používá přibližně při pokojové teplotě, proto je vhodné pro zpracování tepelně citlivých materiálů, jako jsou polymery a polovodiče [40, 41].

V nízkoteplotním plazmatu dochází k zahřívání elektronů pomocí elektromagnetické vlny, ionty musí být studené. Je proto nutné, aby hustota elektronů nebyla příliš vysoká. V opačném případě by mohlo dojít k přenosu energie z elektronů do iontů vlivem Coulombovým srážkám, což by mělo za následek zahřívání iontů. Rychlost srážek mezi elektrony a ionty musí být tedy mnohem nižší, než mezi elektrony/ionty a neutrálním plynem [41].

Klíčové procesy pro disipaci translační a vnitřní energie představují pružné a nepružné srážky mezi elektrony, ionty, neutrálními atomy a molekulami. Zejména neelastické srážky horkých elektronů s těžkými částicemi mají velký význam jako hlavní zdroj v generaci nabitých, excitovaných nebo vysoce reaktivních radikálů. Elementární srážky mezi částicemi v plazmatu musí být popsány zákonem zachování hybnosti a energie. V nízkotlakém plazmatu dominují binární srážky. Výsledek srážky mezi dvěma částicemi zpravidla závisí na jejich specifické fyzické interakci, která určuje energii, hmotnost a náboj částic, a na jejich specifickém srážkovém průřezu [42].

- **Buzení plazmatu**

K vybuzení plazmatu je třeba zajistit tři základní složky:

- 1) Zdroj energie pro ionizaci
- 2) Vakuový systém pro udržení plazmatu
- 3) Reakční komoru

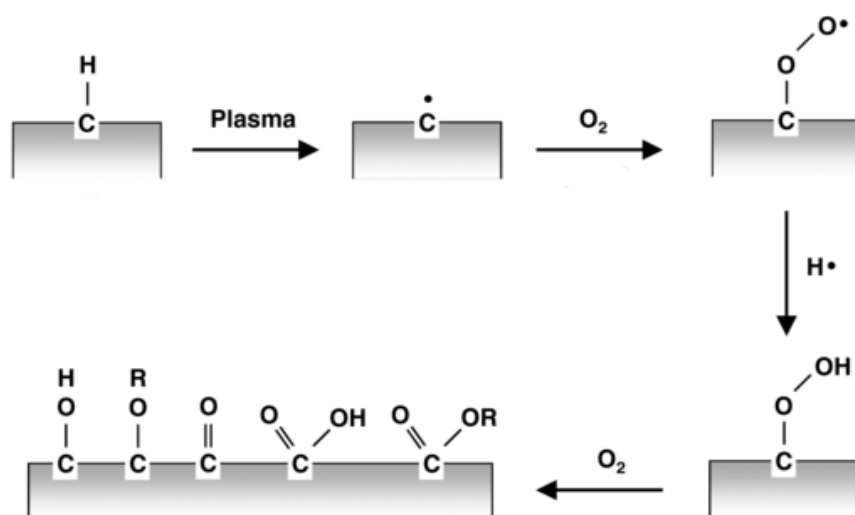
Jako zdroj energie pro ionizaci atomů a molekul se používá elektrická energie, a to buď ve formě nízkofrekvenčního střídavého proudu s frekvencí 50 nebo 60 Hz, nebo ve formě střídavého proudu s frekvencí vyšší jak 60 Hz. Sem patří střídavý proud s vysokou frekvencí (10 nebo 20 kHz), s radio-frekvencí (13,56 MHz) a mikrovlný kmitočet (2,45 GHz). Tato elektrická energie je dodávána z dvojice elektrod umístěných v reakční komoře v kapacitním připojení s elektrickými generátory. Je možné také indukční připojení s elektrickými generátory [43].

Jedním ze způsobů výroby plazmatu je elektrický výboj v plynech. Při výboji v plynu je napříč ionizovaným plynem aplikováno elektrické pole, které urychluje volné elektrony a dochází k dalším srážkám. Jednou z charakteristik tohoto procesu je, že aplikace elektrického pole na přenosy energie je mnohem účinnější u lehkých elektronů než u relativně těžkých iontů. Teplota elektronů je obvykle vyšší než teplota iontů [38].

Když je zdroj ionizace vypnutý, ionizace se postupně snižuje v důsledku rekombinace. V laboratoři obvykle dochází k rekombinaci tak rychle, že plazma zcela vymizí v malém zlomku sekundy [38].

5.2 Interakce mezi plazmatem a povrchem polymerního materiálu

Když je polymer vystaven plazmatu v optimálním čase a hustotě plazmatu, dojde k aktivaci povrchu polymeru. Dokonce může být vytvořen i síťovaný polymerní řetězec. Jako první je z polymerního řetězce odštěpen vodík, čímž se ve středu polymerního řetězce vytváří radikály, které potom rekombinují s radikály vytvořenými v plazmatu (např. vzduchu) za vzniku kyslíkatých nebo dusíkatých funkčních skupin [44].



Obrázek 7: Vznik nových funkčních skupin na povrchu polymeru [45]

Jelikož je povrch polymeru vystaveny energii vyšší, než je vazebná energie, dochází ke štěpným reakcím, čímž vznikají na povrchu nové vazebné konfigurace. S každou povrchovou úpravou pomocí plazmatu dochází současně k ablaci a depozici. Řadou parametrů se dá ovlivnit, jestli bude převládat leptání nebo povrchová úprava. Poněvadž jsou základní parametry reaktoru a substrát často předdefinované, musí být ošetření optimalizováno kontrolou toku materiálu do reaktoru a regulací příkonu do plazmové fáze. Často se nejprve provádí leptání, aby se odstranily slabé hraniční vrstvy, a poté dochází k vytváření radikálů, které se budou chemicky vázat [46].

Pokud působení plazmatu nevede k vytvoření tenké vrstvy, jsou na povrchu substrátu obvykle pozorovány 4 hlavní účinky:

- 1) **Čištění povrchu**, např. od organického znečištění
- 2) **Ablace nebo leptání materiálu** z povrchu, čímž se odstraní slabé mezní vrstvy a zvýší se povrchová plocha
- 3) **Sít'ování nebo větvení** v blízkosti povrchových molekul
- 4) **Povrchová modifikace chemické struktury**

Každý z těchto čtyř hlavních účinků je při použití plazmatu vždy přítomné, ale v závislosti na substrátu, použitém plynu, konstrukci reaktoru a provozních parametrech může být jeden účinek upřednostňován nad ostatními [40].

5.3 Aplikace

Povrchová úprava pomocí plazmatu pravděpodobně patří mezi nejuniverzálnější metody. Různé typy plynů (jako je např. argon, kyslík, dusík, fluor, oxid uhličitý), mohou vytvořit jedinečné povrchové vlastnosti nutné pro řadu různých aplikací. Například ošetření povrchu pomocí plazmatu kyslíku může zvýšit povrchovou energii polymeru, kdežto ošetření plazmatem fluoru může povrchovou energii polymeru snížit a zlepšit chemickou inertnost. Zesít'ování povrchu polymeru může být uskutečněno plazmatem inertního plynu. Modifikace plazmatem ovlivňuje povrch polymeru jen do několika desítek nanometrů [47]. Typ plynu a podmínky působení plazmatu musí být zvoleny podle typu polymeru, aby se minimalizovala jeho degradace. K degradaci dochází především při rychlé interakci s radikály nebo ionty. Zde je důležitá intenzita a doba působení plazmatu [48].

Plazmová polymerace je unikátní technika pro výrobu tenkých polymerních filmů z různých organických a organokovových výchozích látek, nejedná se tedy o běžně známé polymerace. Plazmový polymer je vytvořen průchodem organického plynu nebo páry přes doutnavý výboj. Materiály vytvořené plazmovou polymerací jsou naprosto odlišné od běžných polymerů, představují tak nový druh materiálu. Díky vysoce zesít'ované struktuře jsou nerozpustné, teplotně stabilní, chemicky inertní a mechanicky odolné. Polymerizované filmy se v posledních letech využívají pro různé aplikace, např. jako ochranné nátěry, biomedicínské materiály, elektronická a optická zařízení atd. [49, 50, 51].

Čištění povrchu za použití nízkotlakého plazmatu se používá pro vysoce kvalitní aplikace v mikroelektronice, leteckém průmyslu, zdravotnictvím [52].

Relativně nová aplikace nízkotlakého plazmatu je sterilizace. Je to slibná alternativa k jiným sterilizačním postupům (jako je zvýšená teplota, gama záření a etylenoxid), které nejsou vhodné pro klinické aplikace, kde se vyžaduje krátký sterilizační cyklus, nízká teplota, absence toxických zbytků atd. Hlavním důvodem použití plazmatu při sterilizaci je přítomnost vysoce reaktivních částic a udržení sterilizovaného materiálu při pokojové teplotě, což má velký význam pro polymerní materiály [53].

Nejvíce se rozšiřující oblastí v současném výzkumu je pravděpodobně depozice tenkých vrstev. V mikroelektronice se využívá depozice SiO_2 k oddělení jednotlivých prvků integrovaných obvodů. Další využití je depozice supertvrdých vrstev (většinou na bázi nitridů titanu, bóru a jiných kovových prvků) pro obráběcí stroje nebo na součástky, které jsou na povrchu mechanicky namáhané (např. písty motorů). Na polymerní a jiné materiály se mohou nanášet ochranné vrstvy hlavně na bázi uhlíku v konfiguraci podobné diamantu a různé organokřemičité vrstvy [54].

V neposlední řadě se plazma využívá k aktivaci povrchů u polymerů. Povrch substrátu se stává vysoce reaktivním vlivem narušení některých chemických vazeb nebo excitací povrchových molekul. Na takovýto povrch se pak mohou nechat navázat různé látky, které mění povrchové vlastnosti polymerních materiálů, příkladem může být změna povrchové energie [54].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 PŘÍPRAVA VZORKŮ

V experimentální části práce byla použita fólie nízkohustotního polyethylenu. Fólie byla nastříhána na velikost 5×5 cm. Vzorky byly ošetřeny z každé strany pomocí plazmatu v plazmatickém reaktoru. Výkon reaktoru byl zvolen 50 W, frekvence 40 kHz, průtok vzduchu 20 sccm, doba ošetření 1 minuta. Poté se na část takto upravených vzorků naněsly monomery, a to allylamin (AAM), N-allylmethylamin (MAAM) a N,N-dimethylallylamin (DAAM). Nánášení se provádělo v digestoři, kde se vzorky držely po dobu 20-ti sekund nad parami monomerů. Vzorky s monomery, PE ošetřený plazmatem a neošetřený PE se ponořily do 1% roztoku chondroitin sulfátu po dobu 24 hodin za stálého míchání. Po této době byly vzorky řádně opláchnuty, usušeny a schovány do připravených sáčků.

Připraveno tedy bylo 10 vzorků:

- PE neopracovaný
- PE neopracovaný + CHS
- PE opracovaný
- PE opracovaný + CHS
- PE opracovaný + AAM
- PE opracovaný + MAAM
- PE opracovaný + DAAM
- PE opracovaný + AAM + CHS
- PE opracovaný + MAAM + CHS
- PE opracovaný + DAAM + CHS

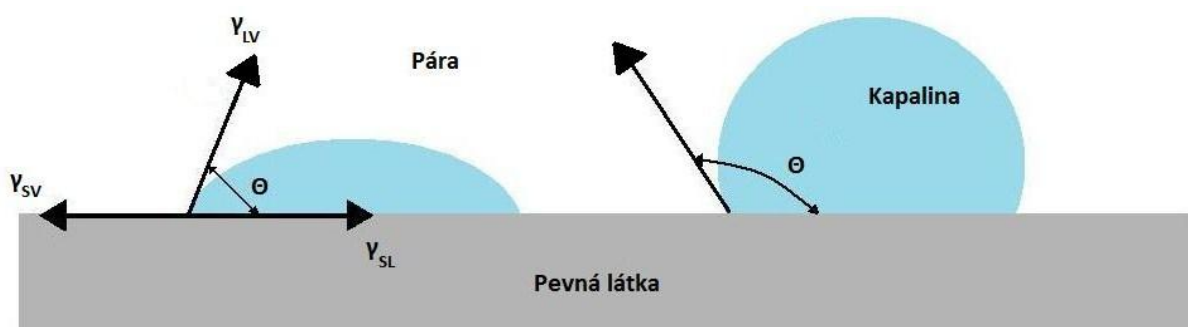
7 CHARAKTERIZACE RŮZNĚ MODIFIKOVANÉHO PE

Připravené vzorky byly charakterizovány níže uvedenými metodami. Dále byly u nich zjišťovány biologické vlastnosti.

7.1 Měření povrchové energie

Mezi základní vlastnosti polymerů patří smáčivost. Povrch polymerů je hydrofilní nebo hydrofobní, což je dáno interakcí na rozhraní mezi polymerem a vodní plochy. Za hydrofilní povrch jsou zodpovědné polární skupiny, mezi nimiž a vodou se vyskytují silné interakce. Naopak hydrofobní povrch vykazuje slabé interakce s vodou vlivem přítomnosti nepolárních skupin [55].

Jednoduchá a široce používaná metoda pro stanovení smáčivosti polymerních filmů je měření statického kontaktního úhlu kapky deionizované vody nebo jiné kapaliny na povrchu polymeru. Kontaktní úhel θ je geometricky definován jako úhel, který svírá tečna k povrchu kapky vedoucí přes třífázové rozhraní, kde se protíná kapalina, plyn a pevná látka. Kontaktní úhel se pohybuje v rozmezí od 0° do 180° [55]. Působení kapky na povrchu materiálu je výsledkem rovnováhy mezi třemi povrchovými energiemi: mezifázovou energií kapalina-pára (γ_{LV}), pevná látka-pára (γ_{SV}) a pevná látka-kapalina (γ_{SL}). Kapka s vysokým povrchovým napětím spočívající na povrchu pevné látky s nízkou povrchovou energií zaujímá sférický tvar, kontaktní úhel je vysoký (vyšší jak 90°). Pokud je povrchová energie pevné látky vyšší jak povrchové napětí kapaliny, zaujímá kapka plošší tvar, kontaktní úhel je nízký (nižší jak 90°) (viz obr. 8) [56].



Obrázek 8: Smáčení pevného povrchu kapalinou

Napříč rozhraní pevné látky a kapaliny působí dvě přitažlivé síly, a to disperzní Lifshitz-van der Waalsovi síly (γ^{LW}) a Lewisovi acidobazické síly (γ^{AB}). Lifshitz-van der Waalsovi síly vznikají v důsledku indukovaných dipólů mezi sousedními molekulami, zatímco Lewisovi acidobazické síly vznikají polárními interakcemi mezi akceptorem elektronu (Lewisova kyselina: γ^+) a donorem elektronu (Lewisova báze: γ^-) [56].

Pro měření kontaktního úhlu byla použita metoda „Acid-Base“, kde se používají 3 odlišné kapaliny.

Postup měření kontaktního úhlu

K měření povrchové energie byl použit See Systém (Surface energy evaluation system). Na vzorky o velikosti 5×5 cm byly nanášeny kapky tří různých kapalin o objemu 5 μ l. Použité kapaliny byly následující: deionizovaná voda, diiodomethan a ethyleglykol. Od každé kapaliny bylo nanášeno 5 kapek, které se snímaly pomocí CCD kamery a vyhodnocovaly pomocí See softwaru.



Obrázek 9: See systém

7.2 XPS – rentgenová fotoelektronová spektroskopie

Rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS) identifikuje a kvantifikuje přítomné prvky na povrchu polymerů. XPS používá rentgenový paprsek, který způsobuje emisi elektronů z povrchu vzorku. Vazebná energie emitovaných elektronů se měří a následně využívá

k identifikaci přítomných prvků. XPS analyzuje povrch vzorku ve velmi malé tloušťce (menší jak 10 nm). Nepružná střední volá dráha excitovaných fotoelektronů je typicky 2 – 4 nm. Změnou úhlu vzorku k detektoru můžeme měnit tloušťku analyzované povrchové vrstvy. Čím nižší úhel vyzařování budou mít fotoelektrony, tím je měření povrchu citlivější. S výjimkou vodíku a helia jsou pomocí XPS snadno detekovány všechny prvky v periodické tabulce. XPS měření se nejlépe provádí za použití monochromatického rentgenového zdroje. Monochromatická XPS způsobuje nejmenší poškození jemných materiálů a je nezbytným předpokladem pro vytěžení maximálního informačního obsahu od většiny polymerních systémů. XPS je široce aplikována pro charakterizaci chemického složení materiálů používaných v bioinženýrství. Analyzuje funkční skupiny s kvalitativního i kvantitativního hlediska. Dále se ve velkém rozsahu používá ke zjištění čistoty a kontaminace povrchů vzorků v různých průmyslových odvětvích, např. v letectví, v automobilovém, biomedicinském a chemickém průmyslu [57, 58, 59].

Postup měření XPS

Pro měření XPS byly použity všechny vzorky o velikosti 1×1 cm. Měření probíhalo v laboratořích spolupracujícího pracoviště ve Slovinsku.

7.3 SEM – skenovací elektronová mikroskopie

Skenovací elektronová mikroskopie (SEM) slouží k pozorování nejrůznějších povrchů. Určitým způsobem ji lze považovat za analogii světelného mikroskopu v dopadajícím světle. Velkou předností SEM mikroskopie oproti světelnému mikroskopu je velká hloubka ostrosti. To dává dvojrozměrným snímkům jistý náznak trojrozměrnosti [60]. Vedle topografických informací poskytuje SEM i informace o chemickém složení blízko povrchu. Princip SEM mikroskopie je následující. Zdroj elektronů je soustředěn do paprsku o velikosti 5 nm, energie je v rozmezí od 1 do 50 keV [61]. Paprsek je rastrován po povrchu vzorku pomocí vychylovací cívk. Elektrony narážejí a pronikají na povrch, dochází k množství interakcí a SEM snímky jsou vytvářené pomocí sběru emitovaných elektronů na katodové trubici. Různé SEM techniky jsou rozlišeny na základě toho, co je následně detekováno a zobrazeno. Existují 3 typy SEM snímků: snímky ze sekundárních elektronů, ze zpětně odražených elektronů a elementární rentgenové mapy [62]. Nevodivé vzorky se většinou musí před samotným měřením nechat naprášit tenkou vrstvou kovového zlata [63].

Postup měření SEM

K měření bylo použito 5 vzorků o velikosti 1×1 cm: PE neopracovaný, PE opracovaný, PE opracovaný + AAM + CHS, PE opracovaný + MAAM + CHS a PE opracovaný + DAAM + CHS. Vzorek se připevnil na držáček a vložil do mikroskopu Phenom PRO.

7.4 Proliferace fibroblastů

Postup kultivace

Pro kultivaci byla použita buněčná linie z myších embryonálních fibroblastů (NIH/3T3) z ATCC® (číslo: CRL-1658™). Jako kultivační médium bylo použito: Dulbecco's Modified Eagle Medium – s vysokým obsahem glukózy, ke které bylo přidáno 10 % telecího séra a antibiotikum (penicilin/streptomycin, 100 mg/ml), PAA laboratoře GmbH, Rakousko.

Buňky byly odděleny ode dna kultivační nádoby, a to tímto způsobem: z kultivační nádoby se odsálo kultivační médium. Buňky se opláchly PBS (Phosphate Buffered Saline 10×) od firmy GIBCO. V dalším kroku se buňky inkubovaly při 37 °C s přidaným trypsinem-EDTA (1×) od firmy PAA (0,1 ml/cm²), aby se buňky od sebe oddělily. Inkubace netrvala déle jak 20 minut. Po inkubaci se k buňkám přidalo kultivační médium, a to v množství, jako se přidávalo trypsinu. Buňky se oddělily od kultivačního média pomocí centrifugace při teplotě 37 °C po dobu 3 minut a $1,1 \cdot 10^3$ RPM a byly naředěny na koncentraci 10^5 /ml. Jednotlivé vzorky byly před samotnou kultivací dezinfikovány pomocí UV-záření (258 nm). Vzorky byly nastříhány tak, aby měly v průměru 3,5 cm a poté se vložily do Petriho misek stejného průměru. Na vzorky byly napipetovány buňky o objemu 2 ml, které se následně nechaly kultivovat v inkubátoru při 37 °C po dobu 48 h. Buněčná proliferace byla zjišťována pomocí mikroskopu Olympus, IX81 a pomocí kamery Leica DFC480 byly buňky vyfoceny.

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

8.1 Měření povrchové energie

Měření povrchové energie bylo provedeno pomocí metody sedící kapky na přístroji See System. Kapky byly postupně nanášeny na vzorek vedle sebe a jednotlivě snímány. Poté byla odečtena hodnota jednotlivých kontaktních úhlů smáčení. Výsledná hodnota pro daný povrch byla aritmetickým průměrem jednotlivých měření.

Výsledky jsou přehledně uvedeny v následující tabulce. Dále je zde přiložena tabulka, kde jsou pro jednotlivé vzorky vypočteny hodnoty povrchové energie a její složky.

Z naměřených výsledků plyne, že čistý neopracovaný PE má poměrně malou smáčivost, kdy kontaktní úhel pro vodu dosahuje hodnot kolem 97° . Tato hodnota se porovnání se vzorkem, který nebyl upraven a byl jen ponořen do CHS téměř nemění. Je to dáno tím, že samotný CHS nemá možnost se navázat na PE.

Po úpravě v plazmatu se však situace zásadně mění, kdy hodnota kontaktního úhlu pro vodu klesá až k přibližně 42° . Podstatné je sledovat rozdíl mezi vzorky opracovanými v plazmatu a vystavenými reakci s monomery a jejich srovnání se stejnými vzorky po navázání CHS. Výsledné hodnoty smáčivosti naznačují, že došlo úspěšně k navázání CHS, což je důvod změny hodnot kontaktních úhlů.

V případě povrchové energie lze konstatovat přibližně totéž. Zatímco povrchová energie PE je přirozeně nízká, avšak po úpravě v plazmatu, roubování monomery i navázáním CHS vzrůstá. Zejména pak dochází k růstu polární části povrchové energie, která indikuje přítomnost polárních funkčních skupin v povrchové struktuře.

Tabulka 2: Hodnoty kontaktních úhlů pro jednotlivé vzorky (kde W je deionizovaná voda, D je diiodomethan a E je ethylenglykol)

Vzorek	Θ_w [°]	Θ_D [°]	Θ_E [°]
PE neopracovaný	$96,8 \pm 3,4$	$52,2 \pm 4,4$	$68,5 \pm 12,2$
PE neopracovaný + CHS	$92,1 \pm 7,4$	$52,2 \pm 9,6$	$64,8 \pm 9,1$
PE opracovaný	$41,9 \pm 5,3$	$50,2 \pm 13,6$	$32,9 \pm 5,2$
PE opracovaný + CHS	$55,2 \pm 2,8$	$39,5 \pm 8,0$	$34,9 \pm 8,6$
PE opracovaný + AAM	$40,6 \pm 8,1$	$62,9 \pm 22,9$	$33,0 \pm 3,5$
PE opracovaný + MAAM	$59,1 \pm 7,9$	$49,2 \pm 4,5$	$33,4 \pm 16,5$
PE opracovaný + DAAM	$28,2 \pm 33,0$	$48,2 \pm 12,3$	$35,6 \pm 5,5$
PE opracovaný + AAM + CHS	$55,6 \pm 7,6$	$32,6 \pm 11,5$	$35,7 \pm 9,6$
PE opracovaný + MAAM + CHS	$54,9 \pm 3,4$	$38,8 \pm 13,2$	$30,8 \pm 6,9$
PE opracovaný + DAAM + CHS	$58,9 \pm 41,1$	$41,8 \pm 10,8$	$40,7 \pm 4,9$

Tabulka 3: Hodnoty povrchové energie pro jednotlivé vzorky

Vzorek	γ^{total} [mJ/m ²]	γ^{LW} [mJ/m ²]	γ^{AB} [mJ/m ²]	γ^+ [mJ/m ²]	γ^- [mJ/m ²]
PE neopracovaný	33,06	33,05	0,01	0,00	1,08
PE neopracovaný + CHS	33,42	33,06	0,36	0,01	2,27
PE opracovaný	35,13	34,18	0,95	0,00	50,41
PE opracovaný + CHS	40,39	39,88	0,51	0,00	29,61
PE opracovaný + AAM	36,62	26,94	9,68	0,45	52,07
PE opracovaný + MAAM	41,85	34,72	7,13	0,58	22,08
PE opracovaný + DAAM	46,61	35,27	11,34	0,42	76,00
PE opracovaný + AAM + CHS	45,78	43,13	2,65	0,06	29,76
PE opracovaný + MAAM + CHS	42,86	40,19	2,67	0,06	27,42
PE opracovaný + DAAM + CHS	39,49	38,69	0,79	0,01	27,62

8.2 XPS – rentgenová fotoelektronová spektroskopie

Rentgenová fotoelektronová spektroskopie byla měřena na našem partnerském pracovišti v Lublani. Tato metoda dává výsledné hodnoty procentuálního zastoupení prvků v povrchové

strukturu. Získané výsledky jsou uvedeny pro jednotlivé vzorky v následující tabulce a dále je pro vizuální porovnání uveden graf se spektry neopracovaného a opracovaného PE.

Z naměřených hodnot je zjevné, že neopracovaný povrch obsahuje ve své povrchové struktuře téměř výhradně atomy uhlíku, což plně odpovídá struktuře PE. Je zde přítomno i zanedbatelné množství kyslíku, to je však zřejmě dáno nečistotami, zejména prachem.

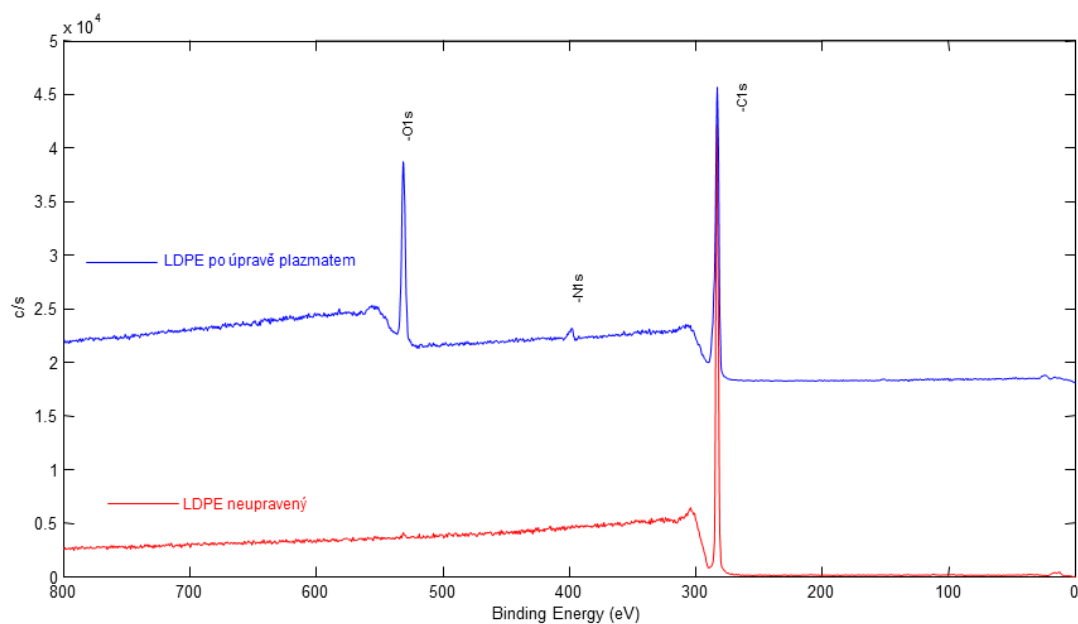
Po ponoření neupraveného vzorku do CHS se situace zásadně nemění. Tento výsledek potvrzuje měření povrchové energie a fakt, že CHS se není schopen na neupravený vzorek vázat.

Po opracování v plazmatu je však situace odlišná, dochází k výraznému úbytku v procentuálním zastoupení atomu uhlíku v povrchové struktuře na úkor atomu kyslíku, kdy je také přítomno malé množství dusíku. Tento výsledek potvrzuje výraznou změnu v chemickém složení povrchové struktury opracovaného PE, kdy se na jeho povrchu tvoří polární funkční skupiny obsahující kyslík a dusík, což jsou základní složky použitého plazmového plynu vzduchu. Pokud je tento vzorek vystaven interakci s CHS, tak lze opět uzavřít, že v podstatě neprobíhá.

Po reakci s monomery AAM, MAAM a DAAM se situace mění v tom, že vzrůstá množství uhlíku, které je totiž v samotných monomerech obsaženo a stejně tak i dusíku. Tento nárůst je současně doprovázen poklesem množství kyslíku v povrchové struktuře, což dokazuje, že monomery jsou schopné se vázat na povrch. Obdobně, pokud jsou tyto vzorky vystaveny interakci s CHS, jsou patrné změny. Výrazně se snižuje množství uhlíku a dusíku na úkor vzrůstu obsahu kyslíku, což odpovídá struktuře CHS, který je tímto procesem navázán. Významná je přítomnost atomu síry, který s jistotou potvrzuje navázání CHS.

Tabulka 4: Tabulka naměřených hodnot - výsledná data XPS

vzorek	C %	N %	O %	S %
PE neopracovaný	99,8	0,0	0,2	0,0
PE neopracovaný + CHS	99,8	0,0	0,2	0,0
PE opracovaný	67,2	1,8	31,0	0,0
PE opracovaný + CHS	67,4	1,7	30,9	0,0
PE opracovaný + AAM	72,6	4,8	22,6	0,0
PE opracovaný + MAAM	75,3	4,6	20,1	0,0
PE opracovaný + DAAM	78,2	4,4	17,4	0,0
PE opracovaný + AAM + CHS	62,3	2,8	31,3	3,6
PE opracovaný + MAAM + CHS	60,1	2,9	33,3	3,7
PE opracovaný + DAAM + CHS	59,2	3,0	34,0	3,8



Obrázek 10: Graf naměřených XPS spekter neupraveného LDPE a LDPE po úpravě plazmatem

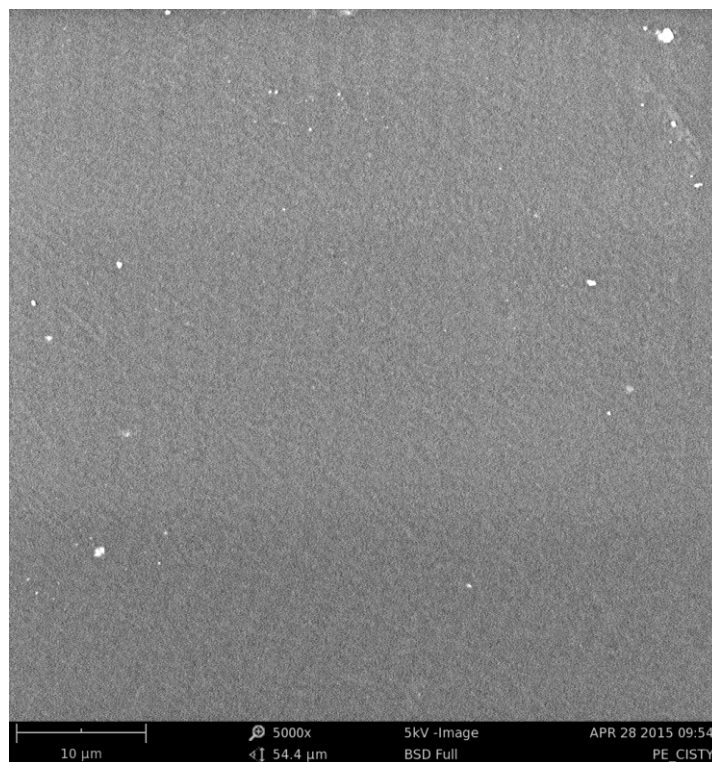
8.3 SEM – rastrovací elektronová mikroskopie

Rastrovací elektronová mikroskopie byla použita za účelem popisu topografické struktury povrchů vzorků. Výsledky jsou znázorněny pomocí sejmutých snímků na následujících obrázcích.

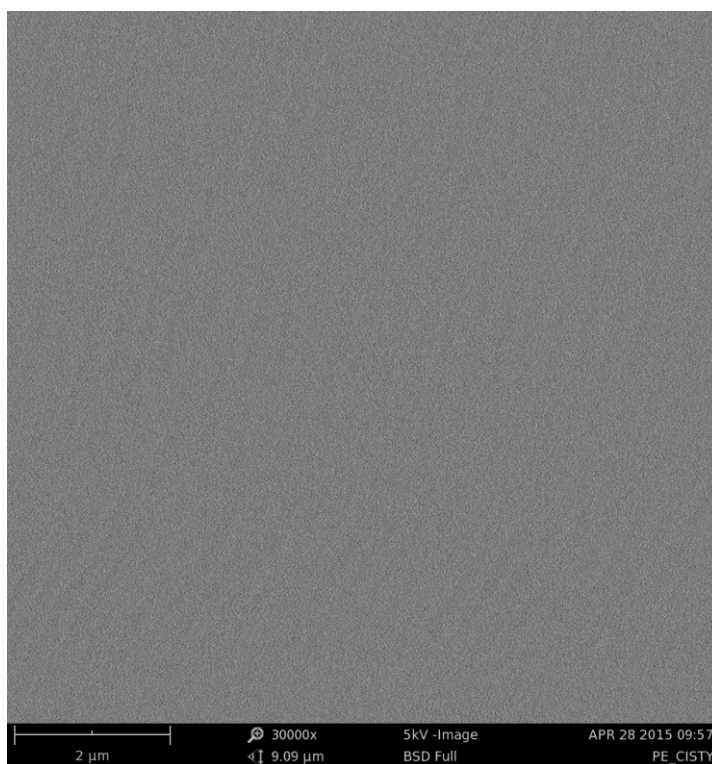
Z výsledků je patrné, že neopracovaný vzorek PE vykazuje poměrně hladkou povrchovou strukturu, která jen místy vykazuje přítomnost stop nečistot, které lze připsat zřejmě prachu, což potvrdila i měření XPS.

Opracovaný vzorek vypadal podobně, kdy nečistoty byly ablací plazmatu odstraněny.

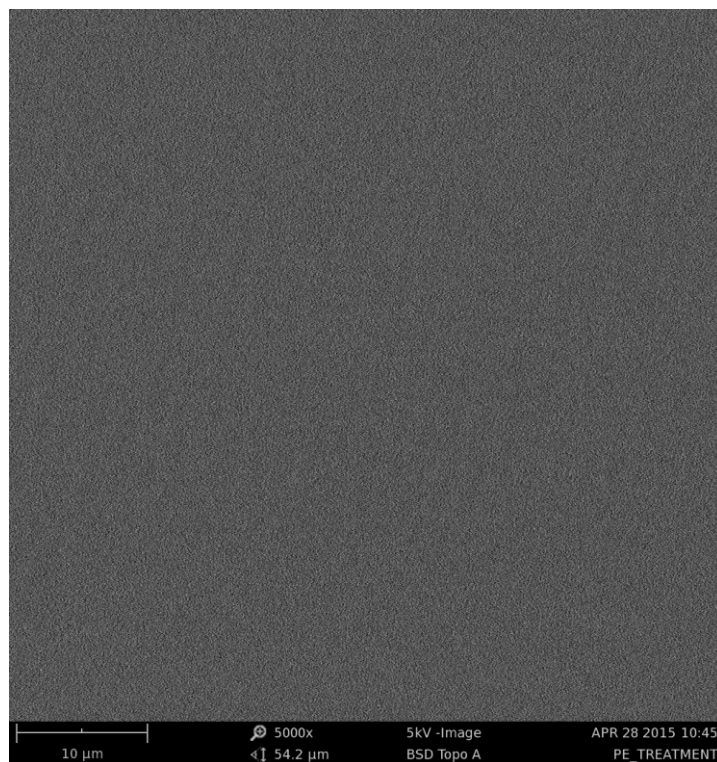
Výrazně jiné povrchové topografie však bylo dosaženo v případě ostatních vzorků, kdy je z obrázků patrné zvrásnění struktury.



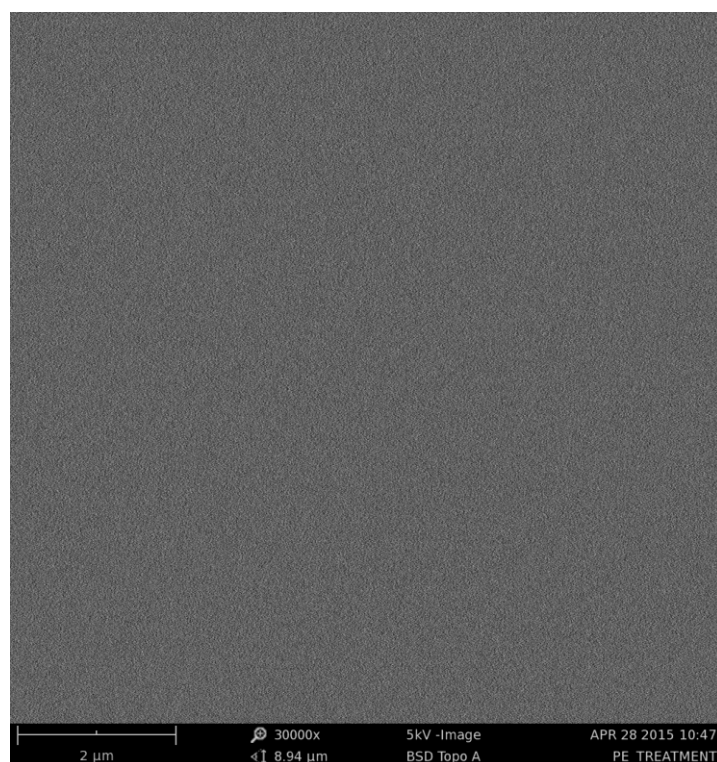
Obrázek 11: SEM, PE neopracovaný – 5000 × zvětšeno



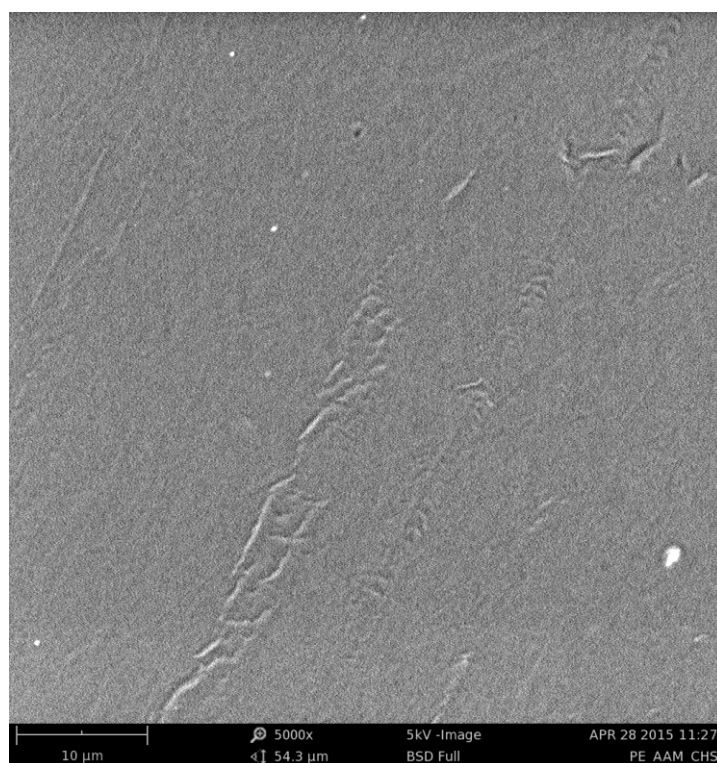
Obrázek 12: SEM, PE neopracovaný – 30 000 × zvětšeno



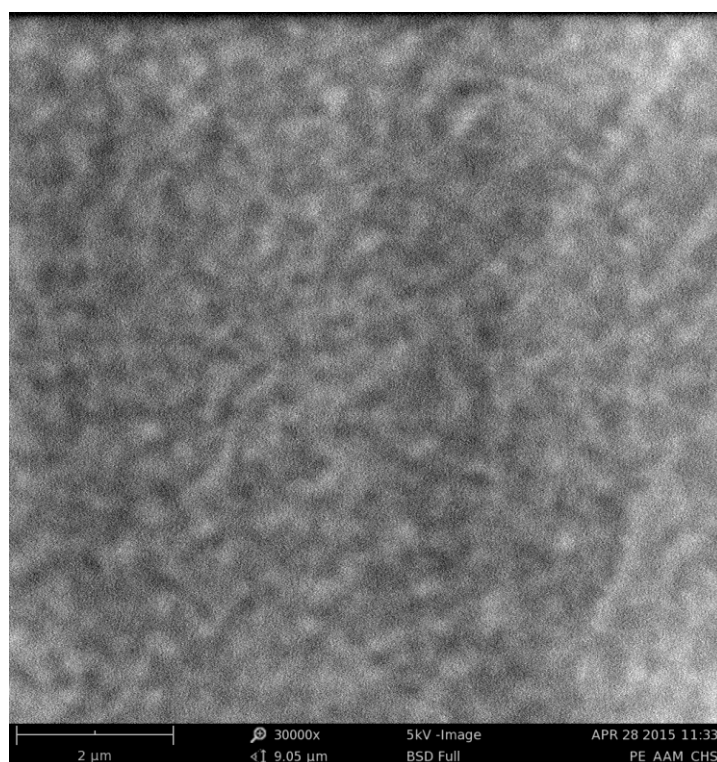
Obrázek 13: SEM, PE opracovaný – 5000 × zvětšeno



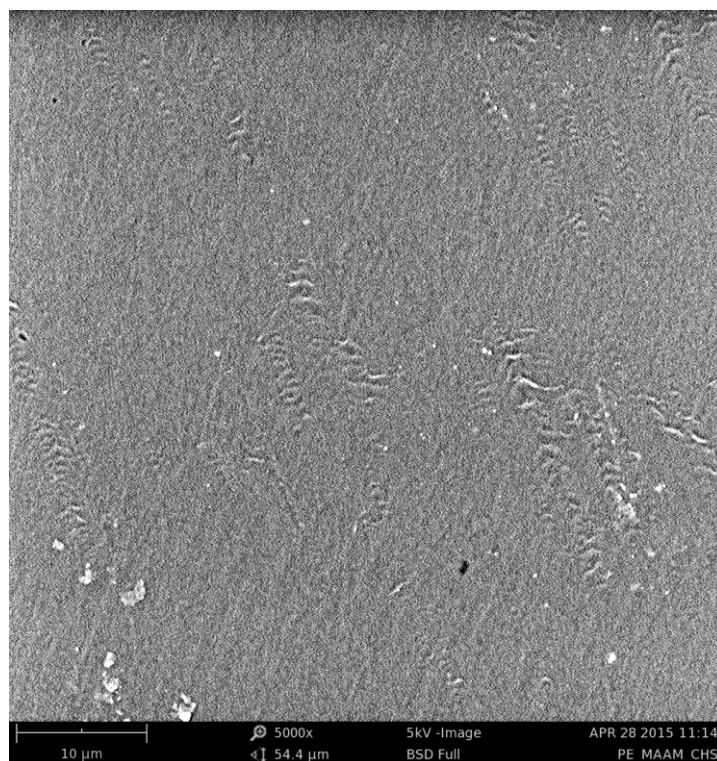
Obrázek 14: SEM, PE opracovaný – 30 000 × zvětšeno



Obrázek 15: SEM, PE opracovaný + AAM + CHS – 5000 × zvětšeno



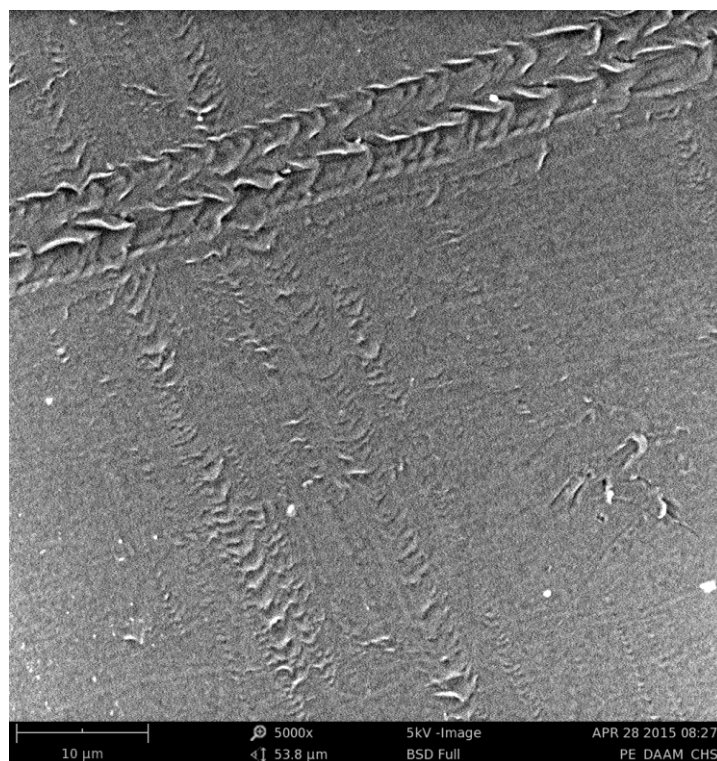
Obrázek 16: SEM, PE opracovaný + AAM + CHS – 30 000 × zvětšeno



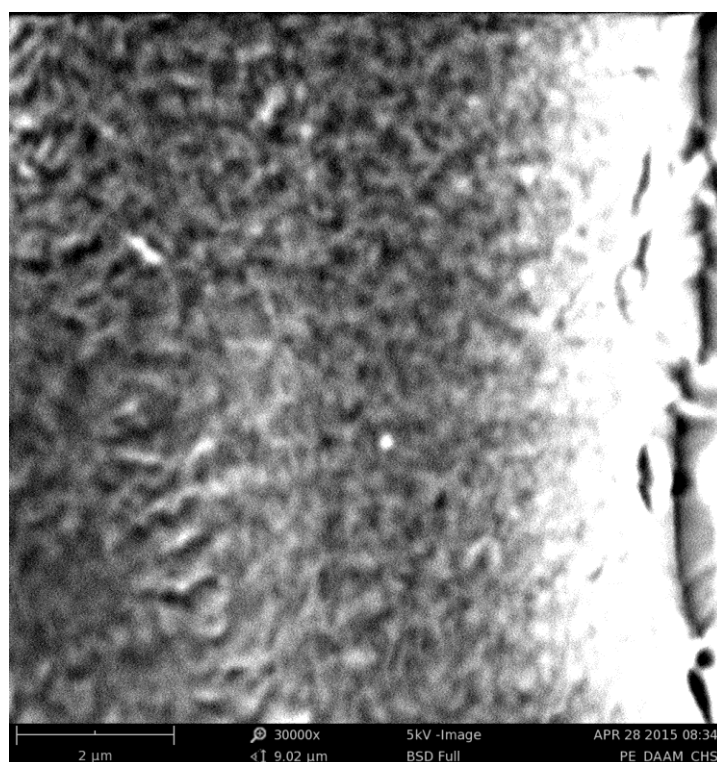
Obrázek 17: SEM, PE opracovaný + MAAM + CHS – 5000 × zvětšeno



Obrázek 18: SEM, PE opracovaný + MAAM + CHS – 30 000 × zvětšeno



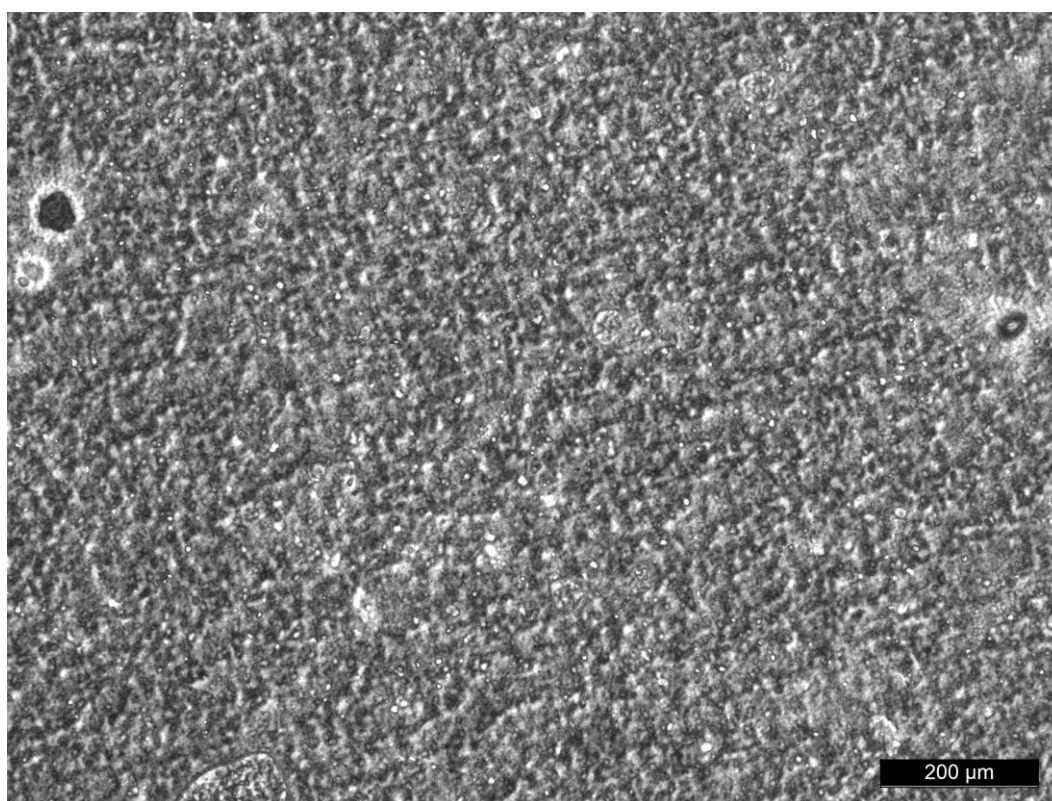
Obrázek 19: SEM, PE opracovaný + DAAM + CHS – 5000 × zvětšeno



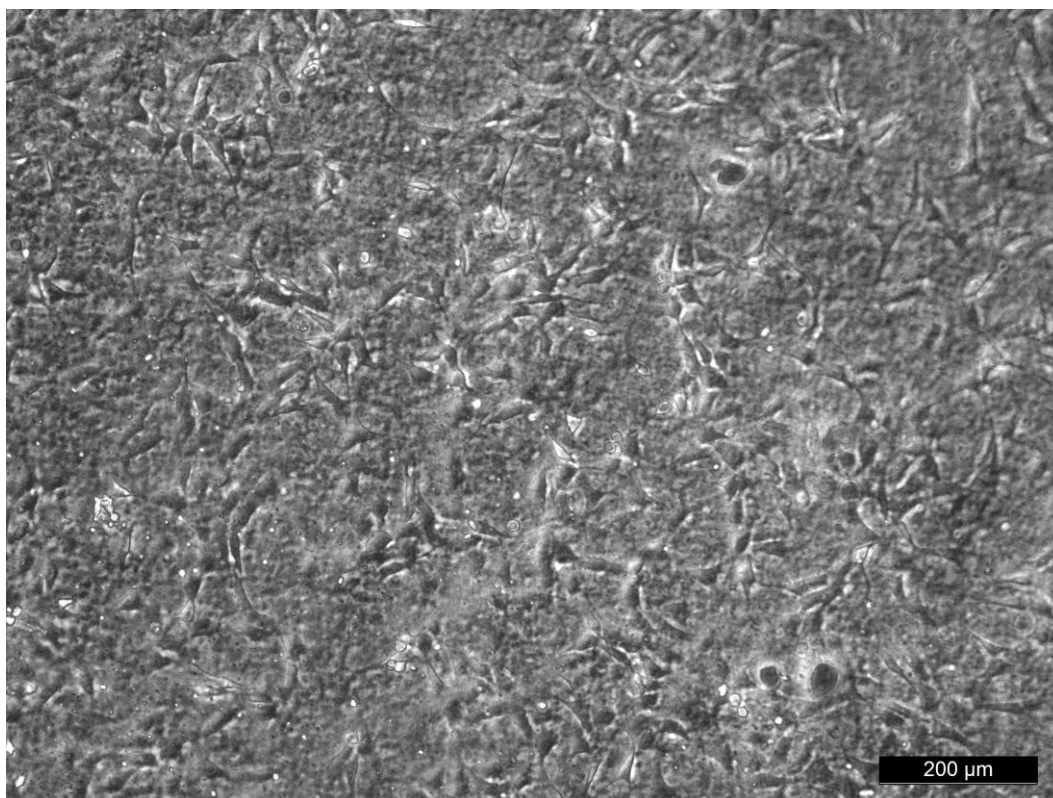
Obrázek 20: SEM, PE opracovaný + DAAM + CHS – 30 000 × zvětšeno

8.4 Proliferace fibroblastů

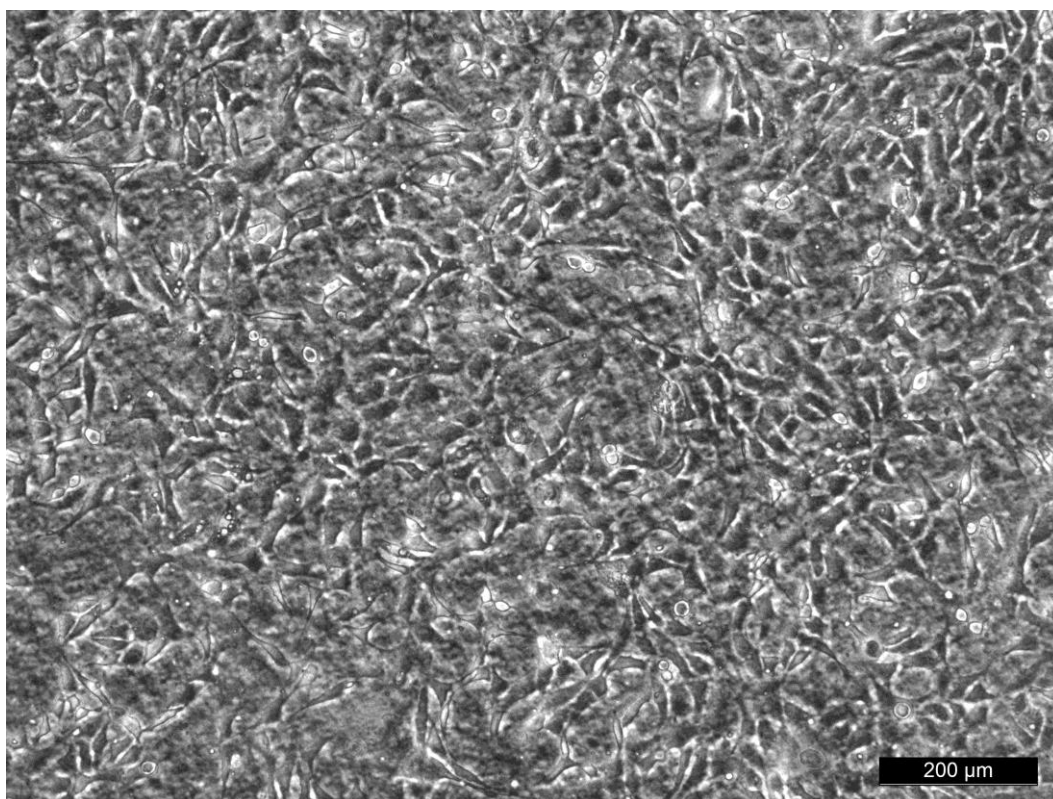
Kultivace fibroblastů proběhla u všech vzorků ve dvou opakováních. Zároveň se jako referen- ce buňky nechaly proliferovat na čisté Petriho misce z tkáňového polystyrenu, kde jsou vidět životoschopné buňky (viz obr. 30). Pro všechny vzorky byly po stejné době kultivace poříze- ny fotografie, které jsou zvětšené 64 ×. U neopracovaného PE (viz obr. 20) nejsou podle oče- kávání žádné přeživší buňky. Stejný stav můžeme pozorovat u vzorku PE opracovaný + AAM (viz obr. 24). Několik adheovaných buněk lze spatřit u vzorků PE neopracovaný + CHS (viz obr. 21), PE opracovaný (viz obr. 22), PE opracovaný + MAAM a DAAM (viz obr. 25, 26). Nicméně, v porovnání s referencí je na těchto vzorcích proliferace buněk o mnoho slabší. Největší nárůst buněk, porovnatelný s referencí, lze vidět u vzorků, kde jsou navázány mo- nomery s CHS, tedy u: PE opracovaný + AAM + CHS; MAAM + CHS a DAAM + CHS (viz obr. 27, 28, 29). Z výsledků je patrné, že došlo k úspěšnému navázání CHS na vzorky a k zvýšení biokompatibility těchto vzorků.



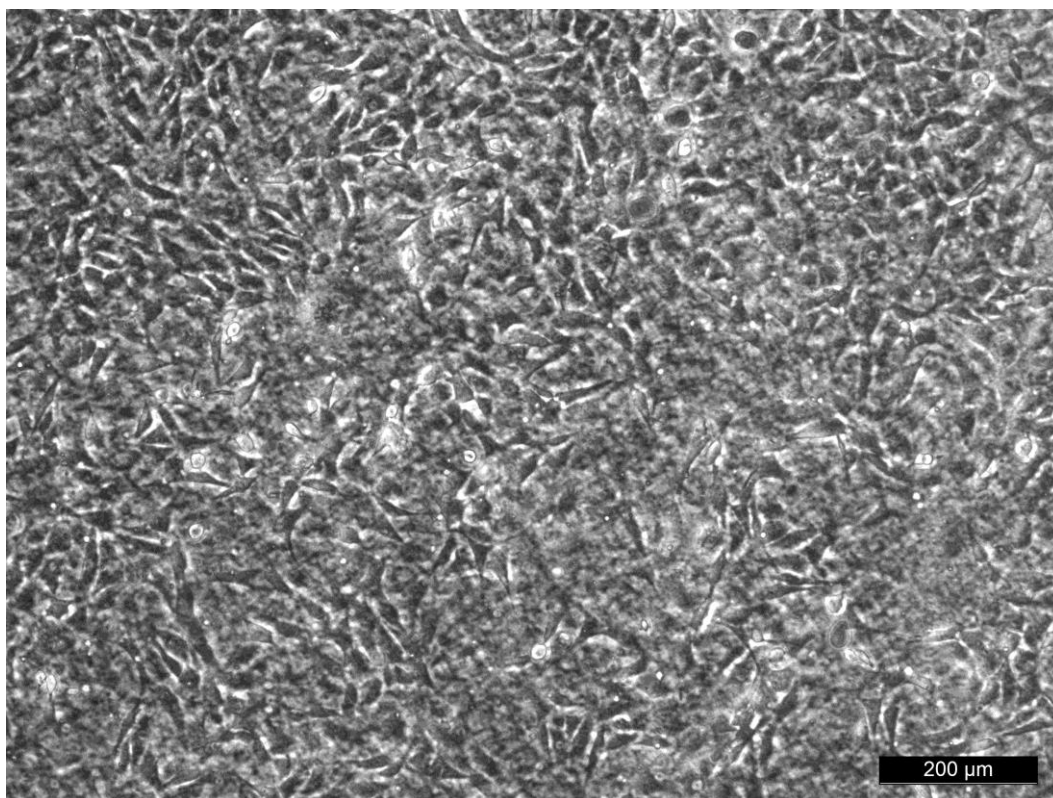
Obrázek 21: NIH/3T3, PE neopracovaný, zvětšení 64×



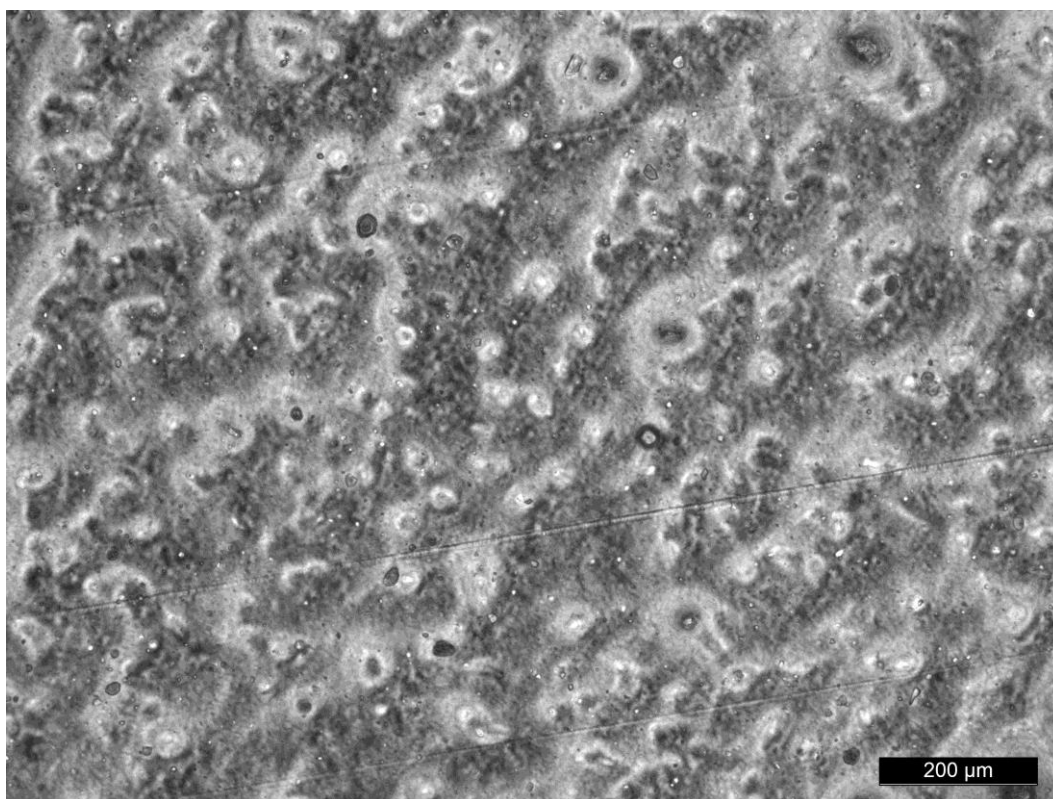
Obrázek 22: NIH/3T3, PE neopracovaný + CHS, zvětšení 64×



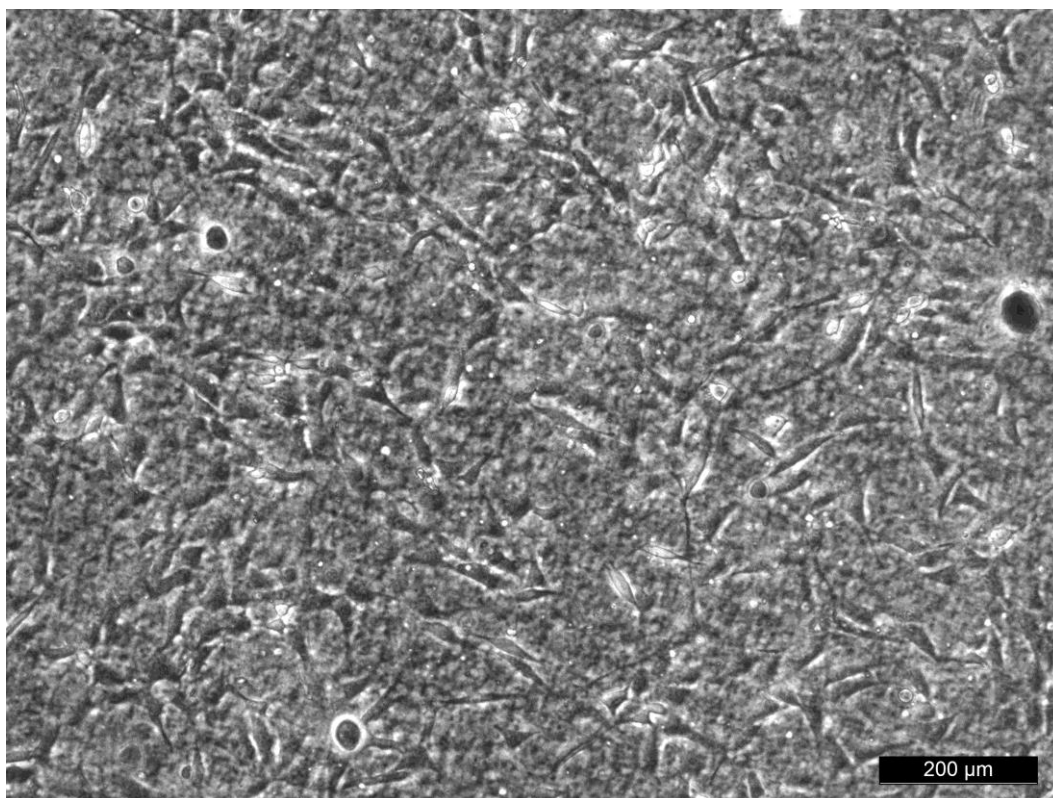
Obrázek 23: NIH/3T3, PE opracovaný, zvětšení 64×



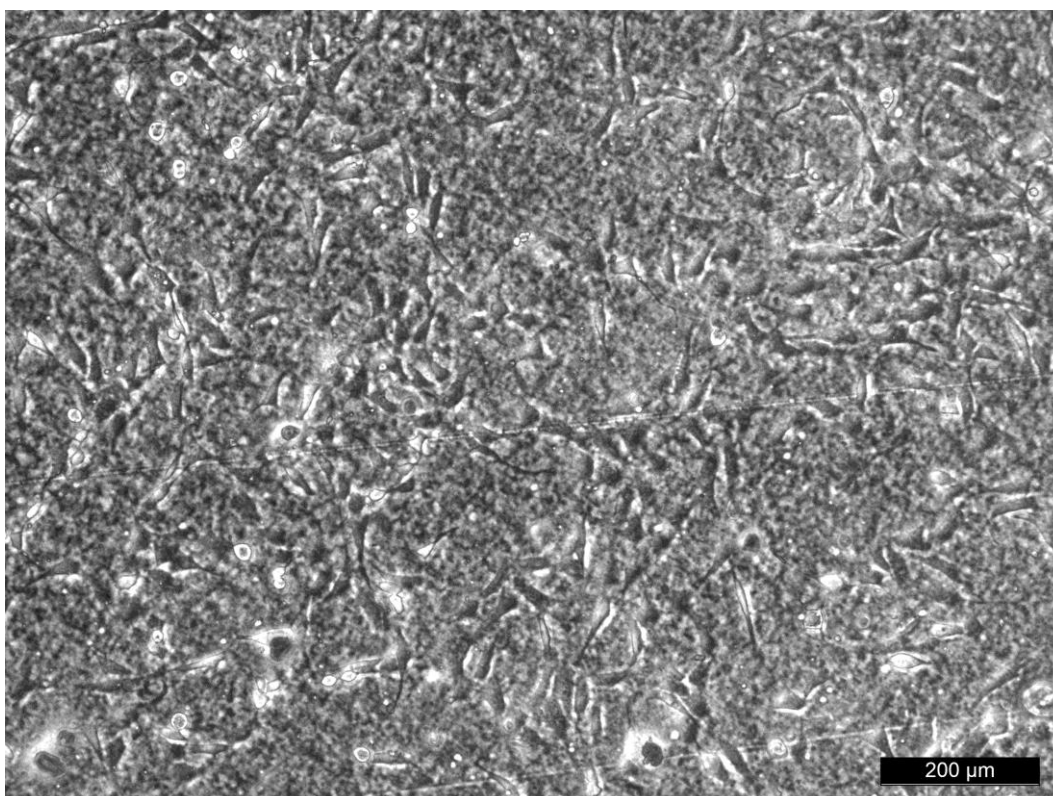
Obrázek 24: NIH/3T3, PE opracovaný + CHS, zvětšení 64×



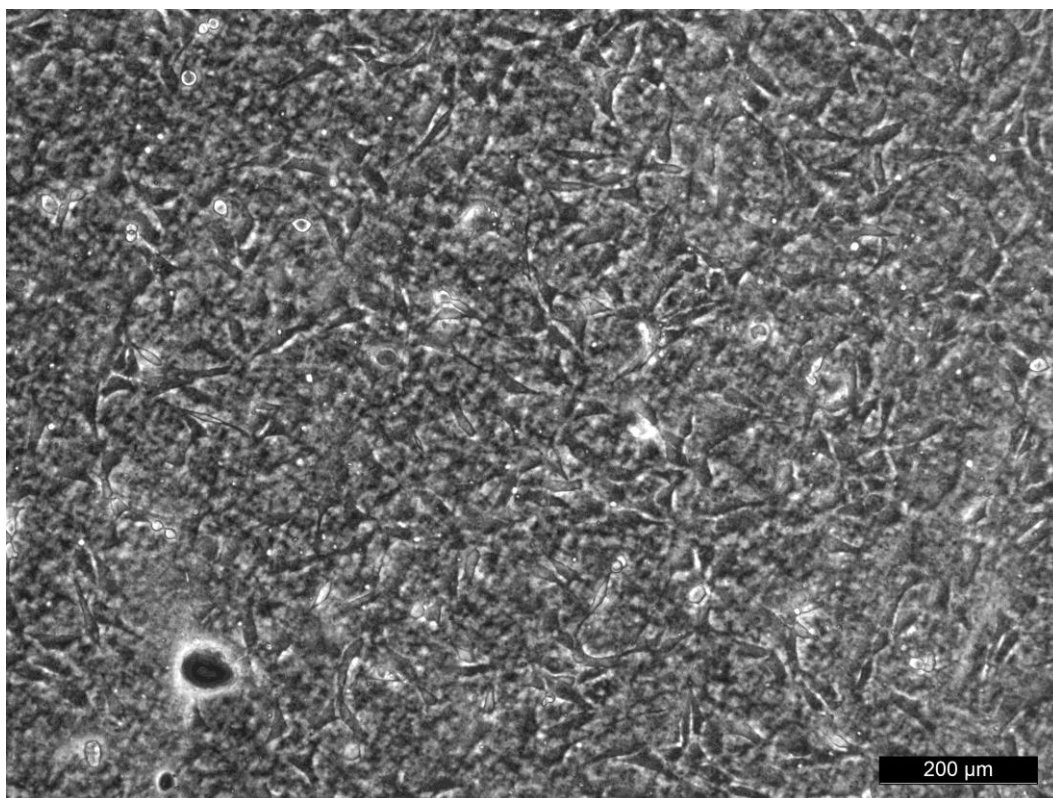
Obrázek 25: NIH/3T3, PE opracovaný + AAM, zvětšení 64×



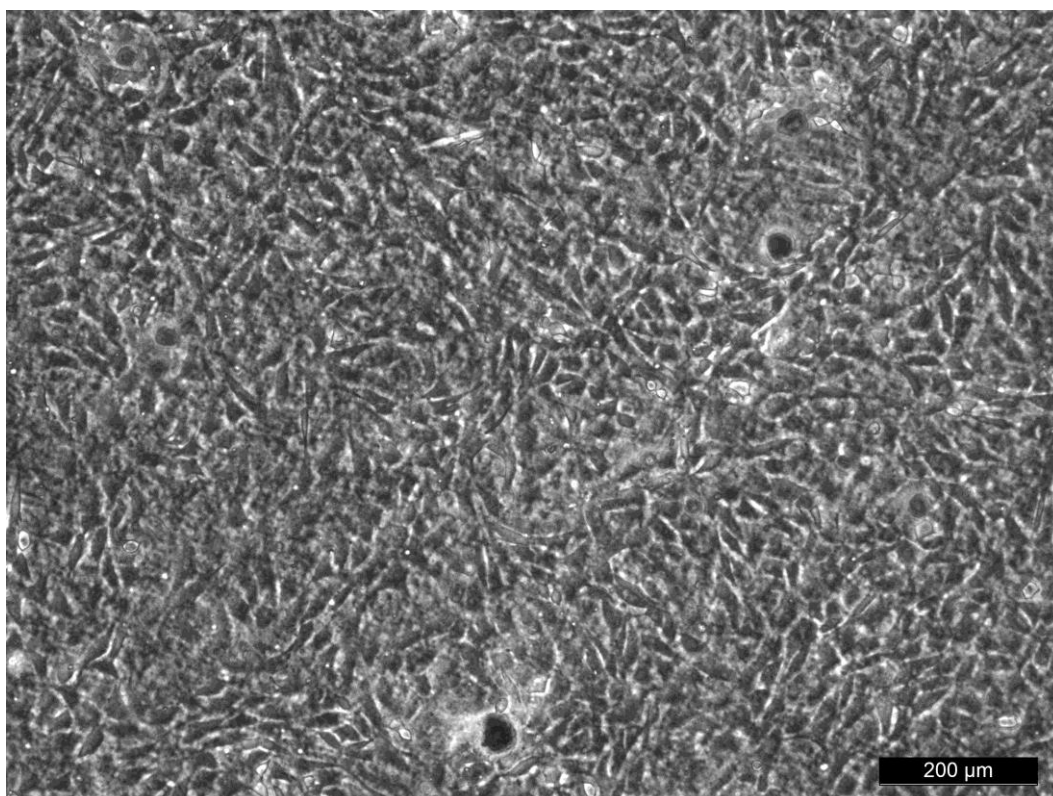
Obrázek 26: NIH/3T3, PE opracovaný + MAAM, zvětšení 64×



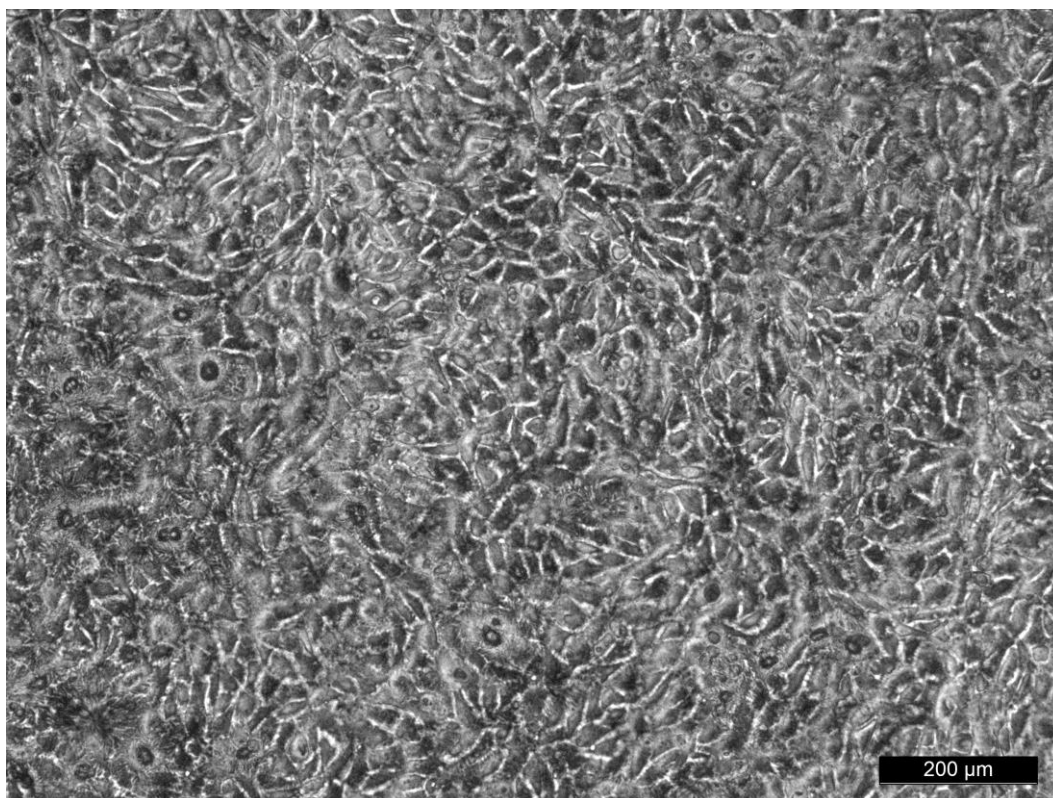
Obrázek 27: NIH/3T3, PE opracovaný + DAAM, zvětšení 64×



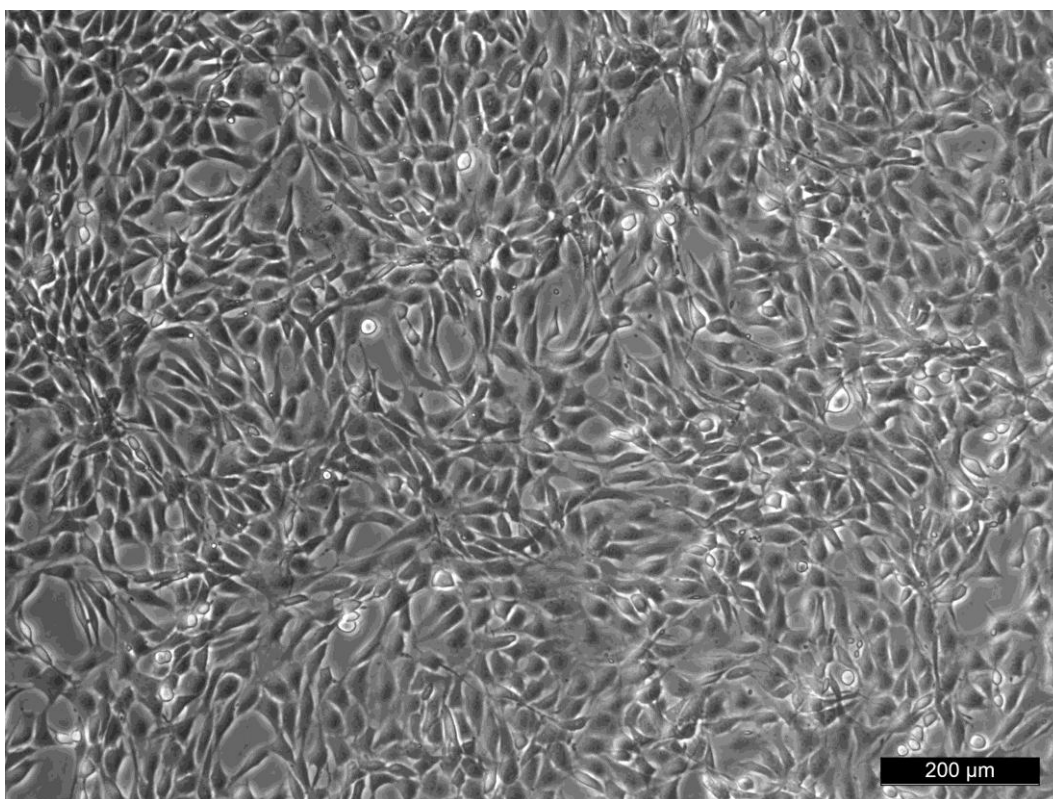
Obrázek 28: NIH/3T3, PE opracovaný + AAM + CHS, zvětšení 64×



Obrázek 29: NIH/3T3, PE opracovaný + MAAM + CHS, zvětšení 64×



Obrázek 30: NIH/3T3, PE opracovaný + DAAM + CHS, zvětšení 64×



Obrázek 31: NIH/3T3, reference, zvětšení 64×

ZÁVĚR

Závěry této diplomové práce lze shrnout následovně:

- Neopracovaný PE má poměrně malou smáčivost, kdy kontaktní úhel pro vodu dosahuje hodnot kolem 97° . Tato hodnota se porovnání se vzorkem, který nebyl upraven a byl jen ponořen do CHS téměř nemění. Po úpravě v plazmatu se však situace zásadně mění, kdy hodnota kontaktního úhlu pro vodu klesá až k přibližně 42° . Podstatné je sledovat rozdíl mezi vzorky opracovanými v plazmatu a vystavenými reakci s monomery a jejich srovnání se stejnými vzorky po navázání CHS. V případě povrchové energie lze konstatovat přibližně totéž. Zatímco povrchová energie PE je přirozeně nízká, avšak po úpravě v plazmatu, roubování monomery i navázáním CHS vzrůstá.

- Neopracovaný povrch obsahuje ve své povrchové struktuře téměř výhradně atomy uhlíku je zde přítomno i zanedbatelné množství kyslíku, to je však zřejmě dáno nečistotami, zejména prachem. Po ponoření neupraveného vzorku do CHS se situace zásadně nemění, neboť CHS se není schopen na neupravený vzorek vázat. Po opracování v plazmatu je však situace odlišná, dochází k výraznému úbytku v procentuálním zastoupení atomu uhlíku v povrchové struktuře na úkor atomu kyslíku, kdy je taktéž přítomno malé množství dusíku. Pokud je tento vzorek vystaven interakci s CHS, tak lze opět uzavřít, že v podstatě neprobíhá. Po reakci s monomery AAM, MAAM a DAAM se situace mění v tom, že vzrůstá množství uhlíku, které je totiž v samotných monomerech obsaženo a stejně tak i dusíku. Tento nárůst je současně doprovázen poklesem množství kyslíku v povrchové struktuře, což dokazuje, že monomery jsou schopné se vázat na povrch. Obdobně, pokud jsou tyto vzorky vystaveny interakci s CHS, jsou patrné změny. Výrazně se snižuje množství uhlíku a dusíku na úkor vzrůstu obsahu kyslíku a významná je přítomnost atomu síry, který s jistotou potvrzuje navázání CHS.

- Neopracovaný vzorek PE vykazuje poměrně hladkou povrchovou strukturu, která jen místy vykazuje přítomnost stop nečistot. Opracovaný vzorek vypadal podobně, ovšem v případě ostatních vzorků došlo k zvrásnění struktury.

- U neopracovaného PE nejsou žádné přeživší buňky. Stejný stav můžeme pozorovat u vzorku PE opracovaný + AAM. Několik adherovaných buněk lze spatřit u vzorků PE neopracovaný + CHS, PE opracovaný, PE opracovaný + MAAM a DAAM. Nicméně, v porovnání s referencí je na těchto vzorcích proliferace buněk o mnoho slabší. Největší nárůst buněk, porovnatelný

s referencí, lze vidět u vzorků, kde jsou navázány monomery s CHS, tedy u: PE opracovaný + AAM + CHS; MAAM + CHS a DAAM + CHS.

- Z výsledků je patrné, že došlo k úspěšnému navázání CHS na vzorky a k zvýšení biokompaktibility těchto vzorků.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MOZETIČ, M. et al. *Recent advances in vacuum sciences and applications* [online]. 2014, Journal of Physics D: Applied Physics. Vol. 47 [cit. 2015-01-05]. DOI: 10.1088/0022-3727/47/15/153001. Dostupné z: <http://iopscience.iop.org/0022-3727/47/15/153001>
- [2] MLEZIVA, Josef a Jaromír ŠŇUPÁREK. *Polymery: výroba, struktura, vlastnosti a použití*. Vydání druhé, přeprac. Praha: Sobotáles, 2000, 537 s. ISBN 8085920727.
- [3] KOVAČIČ, Ľudomír a Jaroslav BÍNA. *Plasty: vlastnosti, spracovanie, využitie*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1974, 339 s.
- [4] ČERNÝ, František. *Chemická technologie polymerů*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1982, 302 s.
- [5] VESELÝ, Karel. *Polymery: struktura, syntézy, vlastnosti, zpracování*. Brno: Česká společnost průmyslové chemie, 1992, 177 s. ISBN 8002009517.
- [6] FRY, Bill. *Working with Polyethylene – Speaking of Plastics Manufacturing Series* [online databáze]. Society of Manufacturing Engineers (SME), c1999 [cit. 2015-03-12]. ISBN 978-61344-981-3. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpWPSPMS01/viewerType:toc/root_slug:working-with-polyethylene/url_slug:working-with-polyethylene
- [7] DESAI, Shrojal M. a R. P. Singh. *Surface Modification of Polyethylene* [online]. 2004, Vol. 169, pp 231-294 [cit. 2015-03-12]. Dostupné z: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/b13524>
- [8] EVERHART, Dennis S. a Charles N. REILLEY. *Chemical Derivatization in Electron Spectroscopy for Chemical Analysis of Surface Functional Groups Introduced on Low-Density Polyethylene Film*. 1981, Analytical Chemistry. Vol. 53, No 4. DOI: 10.1021/ac00227a022.
- [9] PEACOCK, Andrew J. a Allison CALHOUN. *Polymer Chemistry – Properties and Applications* [online databáze]. Hanser Publishers, c2006 [cit. 2015-03-13]. Chap. 18. ISBN 978-1-61344-300-2. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpPCPA0002/viewerType:toc/root_slug:polymer-chemistry-properties/url_slug:polymer-chemistry-properties
- [10] DEALY, John M. a Ronald G. LARSON. *Structure and Rheology of Molten Polymers – From Structure to Flow Behavior and Back Again* [online databáze]. Hanser

- Publishers, c2006 [cit. 2015-03-13]. Chap. 5. ISBN 978-1-60119-489-3. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpSRMPFSF1/viewerType:toc/root_slug:structure-rheology-molten/url_slug:structure-rheology-molten
- [11] BUTLER, Thomas I. *Low-Density Polyethylene* [online]. [cit. 2015-03-13]. Dostupné z: <http://blownfilmtech.com/eBooks/Free/LDPE.pdf>
- [12] VASILE, Cornelia a Michaela PASCU. *Practical Guide to Polyethylene* [online databáze]. Smithers Rapra Technology, c2005 [cit. 2015-03-14]. Chap. 3. ISBN 978-62870-309-2. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpPGP00011/viewerType:toc/root_slug:practical-guide-polyethylene/url_slug:practical-guide-polyethylene
- [13] SRIVASTAVA, Tiwari Atul a B. RAVI. *Biotechnology in Biopolymers Developments – Applications and Challenging Areas* [online databáze]. Smithers Rapra Technology, c2012 [cit. 2015-03-14]. Chap. 11. ISBN 978-1-62198-011-7. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpBBDACA04/viewerType:toc/root_slug:biotechnology-in-biopolymers/url_slug:biotechnology-in-biopolymers
- [14] POPA, Valentin. *Polysaccharides in Medicinal and Pharmaceutical Applications* [online databáze]. Smithers Rapra Technology, c2011 [cit. 2015-04-02]. Chap. 8. ISBN 978-1-61344-280-7. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpPMPA0001/viewerType:toc/root_slug:polysaccharides-in-medicinal/url_slug:polysaccharides-in-medicinal
- [15] CAMMACK, R. et al. *Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology* [online databáze]. Oxford University Press, c2006 [cit. 2015-04-02]. ISBN 978-1-61344-113-8. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpODBMBE01/viewerType:toc/root_slug:oxford-dictionary-biochemistry/url_slug:oxford-dictionary-biochemistry
- [16] MURRAY, Robert K. *Harperova biochemie*. Vyd. V ČR 4., V H & H 3. Praha: H & H, 2002, 872 s. ISBN 80-7319-013-3.
- [17] LAEZZA, Antonio et al. Inter vs. intraglycosidic acetal linkages control sulfation pattern in semi-synthetic chondroitin sulfate. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2014, Vol. 112, s. 546-555 [cit. 2015-04-12]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.05.085. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861714005633>

- [18] CHEN, Shu-Ting a Guor-Rong HER. Structural analysis of isomeric chondroitin sulfate oligosaccharides using regioselective 6-O-desulfation method and tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2014, Vol. 843, s. 27-37 [cit. 2015-04-20]. DOI: 10.1016/j.aca.2014.07.027. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267014008915>
- [19] MARŠALA, Jozef. *Tkanivá a orgány človeka: histológia, mikroskopická a elektrónovooptická anatómia*. Vyd. 1. Bratislava: Veda, 1983, 604 s.
- [20] GOLDRING, Mary B. Chondrogenesis, chondrocyte differentiation, and articular cartilage metabolism in health and osteoarthritis. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease* [online]. 2012, s. 269-285 [cit. 2015-04-25]. DOI: 10.1177/1759720X12448454. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3403254/>
- [21] JUNQUEIRA, Carlos Luiz a José CARNEIRO. *Basic Histology: Text and Atlas* [HTML]. 11th edition. McGraw-Hill, 2005. ISBN 9780071440912.
- [22] DYLEVSKÝ, Ivan. *Obečná kineziologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2007, 190 s. ISBN 978-80-247-1649-7.
- [23] ZUSCIK, Michael J. et al. Regulation of chondrogenesis and chondrocyte differentiation by stress. *Journal of Clinical Investigation* [online]. 2008, Vol. 118, s. 429-438 [cit. 2015-04-27]. DOI: 10.1172/JCI34174. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2214711/>
- [24] KELC, Robi et al. Novel Therapies for the Management of Sports Injuries. *Current Issues in Sports and Exercise Medicine* [online]. 2013 [cit. 2015-04-27]. Obrázek ve formátu JPEG. DOI: 10.5772/53593. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/current-issues-in-sports-and-exercise-medicine/novel-therapies-for-the-management-of-sports-injuries>
- [25] FIRESTEIN, Gary S. et al. Morphology, Classification, and normal Function of Chondrocytes. *Kelley's Textbook of Rheumatology* [online]. Chap. 3 [cit. 2015-04-27]. Dostupné z: <https://www.inkling.com/read/kelleys-textbook-of-rheumatology-firestein-budd-gabriel-mcinnis-odell-9th/chapter-3/morphology-classification-and>
- [26] DYLEVSKÝ, Ivan. *Funkční anatomie*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, 2009, 532 s. ISBN 978-80-247-3240-4.

- [27] MARIEB, Elaine Nicpon a Jon MALLATT. *Anatomie lidského těla*. Vyd. 1. Brno: CP Books, 2005, 863 s. ISBN 8025100669.
- [28] *ScienCell Research Laboratories* [online]. c2015 [cit. 2015-04-27]. Obrázek ve formátu JPEG. Dostupné z: <https://sciencellonline.com/human-cardiac-fibroblasts-adult.html>
- [29] MUSIL, Jan, Milan ADAM a Václav HOUBA. *Vysokomolekulární složky pojiva*. Vyd. 1. Praha: Academia, 1966, 407 s.
- [30] DAYAN, Nava. *Skin Aging Handbook – An Integrated Approach to Biochemistry and Product Development* [online databáze]. William Andrew Publishing, c2008 [cit. 2015-04-27]. Chap. 7. ISBN 978-0-8155-1979-9. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpSAHAIAB4/viewerType:toc/root_slug:skin-aging-handbook-an/url_slug:skin-aging-handbook-an
- [31] ALBERTS, Bruce. *Molecular biology of the cell*. 4th ed. New York: Garland Science, c2002, 1463 s. ISBN 0-8153-3218-1.
- [32] SILBERNAGL, Stefan a Agamemnon DESPOPOULOS. *Atlas fyziologie člověka: 6. vydání, zcela přepracované a rozšířené*. Vyd. 3. české. Praha: Grada, 2004, 435 s. ISBN 80-247-0630-x.
- [33] DARBY, Ian A. a Tim D. HEWITSON. *Fibroblast Differentiation in Wound Healing and Fibrosis* [online]. 2007, vol. 257, s. 143-179 [cit. 2015-04-27]. DOI: 10.1016/S0074-7696(07)57004-X. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S007476960757004X>
- [34] FRIDMAN, Alexander. *Plasma chemistry* [online]. 1st ed. New York: Cambridge University Press, 2008, 978 s. [cit. 2015-04-27]. ISBN 978-0-521-84735-3. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=ZzmtGEHCC9MC&printsec=frontcover&dq=plasma&hl=cs&sa=X&ei=PZIFVca1D8HaaLG2gdAI&ved=0CCkQ6AEwAA#v=onepage&q=plasma&f=false>
- [35] FRIDMAN, Alexander a Lawrence A. KENNEDY. *Plasma physics and engineering* [online]. 1st ed. New York: Taylor, 2004, 853 s. [cit. 2015-04-27]. ISBN 15-603-2848-7. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=9wqtYiy_gloC&printsec=frontcover&dq=plasma&hl=cs&sa=X&ei=PZIFVca1D8HaaLG2gdAI&ved=0CEIQ6AEwAA#v=onepage&q=plasma&f=false

- [36] CHEN, Francis F. a Mark D. SMITH. Plasma. *Van Nostrands Scientific Encyclopedia* [online]. Hoboken, NJ, USA: John Wiley, 2005 [cit. 2015-04-27]. DOI: 10.1002/0471743984.vse9673. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471743984.vse9673/abstract;jsessionid=E7E6471A38529428F8A53E93D9F774DC.f04t04?deniedAccessCustomisedMessage=&userIsAuthenticated=false>
- [37] HOSSAIN, Mohammad Mokbul. *Plasma technology for deposition and surface modification* [online]. Berlin: Logos Verlag, 2008 [cit. 2015-04-27]. ISBN 978-383-2520-748. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=Q9Gj07Ch7SMC&pg=PA7&dq=low+pressure++plasma&hl=cs&sa=X&ei=xdoWVcmYOKeiygPjxoIw&ved=0CEsQ6AEwBTgK#v=onepage&q=low%20pressure%20%20plasma&f=false>
- [38] BITTENCOURT, J. A. *Fundamentals of physics: 3rd edition* [online]. 3rd ed. New York: Springer, 2004, 678 s. [cit. 2015-04-27]. ISBN 978-0-387-20975-3. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=qCA64ys-5bUC&printsec=frontcover&dq=plasma&hl=cs&sa=X&ei=DzkQVZOkDav7ygOK8YCIAw&ved=0CDUQ6AEwAzgK#v=onepage&q=plasma&f=false>
- [39] JUNKAR, Ita, Uroš CVELBAR a Marian LEHOCKY. *Plasma treatment of biomedical materials* [online]. 2011 [cit. 2015-04-27]. ISSN 1580-2949.
- [40] STROBEL, M., C. S. LYONS a K. L. MITTAL. *Plasma surface modification of polymers: relevance to adhesion* [online]. Utrecht: VSP, 1994, 290 s. [cit. 2015-04-27]. ISBN 90-676-4164-2. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=P9er1ebJqhAC&printsec=frontcover&dq=plasma+surface+modification&hl=cs&sa=X&ei=5ZBbVda8BaXVyAPnuoGoCA&ved=0CCAQ6AEwAA#v=onepage&q=plasma%20surface%20modification&f=false>
- [41] CHU, Paul K. a XinPei LU. *Low Temperature Plasma Technology: Methods and Applications* [online]. Taylor a Francis Group: CRC Press, 2014 [cit. 2015-04-28]. ISBN 978-1-4665-0991-7. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=nzrSBQAAQBAJ&pg=PA41&dq=low+pressure++plasma&hl=cs&sa=X&ei=F9gWVZLuNYKhyAP_2YCICw&ved=0CEAQ6AEwAw#v=onepage&q=low%20pressure%20%20plasma&f=false

- [42] MEICHSNER, Jürgen et al. *Nonthermal plasma chemistry and physics* [online]. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2013, 548 s. [cit. 2015-04-27]. ISBN 14-200-5916-5. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=ckZ3V6Ss32sC&printsec=frontcover&dq=nonthermal+plasma+chemistry+and+physic&hl=cs&sa=X&ei=FHshVf2TDIWwsAGgoILQDQ&ved=0CB8Q6AEwAA#v=onepage&q=nonthermal%20plasma%20chemistry%20and%20physic&f=false>
- [43] INAGAKI, N. *Plasma surface modification and plasma polymerization* [online]. Lancaster: Techomic Publishing Company, 1996, 256 s. [cit. 2015-04-28]. ISBN 15-667-6337-1. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=SNOKJwHqTqwC&printsec=frontcover&dq=plasma&hl=cs&sa=X&ei=UMYXVZy0MZHUavHagrgI&ved=0CGgQ6AEwCQ#v=onepage&q=plasma&f=false>
- [44] CHU, P. K. et al. Plasma-surface modification of biomaterials. *Materials Science and Engineering: R: Reports* [online]. Vol. 36, is. 5-6, s 143-206 [cit. 2015-04-28]. DOI: 10.1016/S0927-796X(02)00004-9. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927796X02000049>
- [45] OH, Se Heang a Jin Ho LEE. *Hydrophilization of synthetic biodegradace polymer scaffolds ...* [online databáze]. c2013 [cit. 2015-04-28]. Vol. 8. Obrázek ve formátu JPEG. DOI: 10.1088/1748-6041/8/1/014101. Dostupné z: <http://iopscience.iop.org/1748-605X/8/1/014101/article>
- [46] OEHR, Christian. Plasma surface modification of polymers for biomedical use. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* [online]. 2003, vol. 208, s. 40-47 [cit. 2015-04-28]. DOI: 10.1016/S0168-583X(03)00650-5. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168583X03006505>
- [47] CHAN, C.-M., T.-M. KO a H. HIRAOKA. Polymer surface modification by plasmas and photons. *Surface Science Reports* [online]. 1996, vol. 24, is. 1-2, s. 1-54 [cit. 2015-04-28]. DOI: 10.1016/0167-5729(96)80003-3. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0167572996800033>
- [48] HEGEMANN, Dirk, Herwig BRUNNER a Christian OEHR. Plasma treatment of polymers for surface and adhesion improvement. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* [onli-

- ne]. 2003, vol. 208, s. 281-286 [cit. 2015-04-28]. DOI: 10.1016/S0168-583X(03)00644-X. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168583X0300644X>
- [49] YASUDA, H. *Plasma polymerization* [online]. Academic Press INC. 1985 [cit. 2015-04-28]. ISBN 0-12-768760-2. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=5Fi1IIMCdtsC&oi=fnd&pg=PP1&dq=plasma+polymerization&ots=ASFRNMbasw&sig=2k92iJHqwJWNNVCmpBBS4ZgZBNM#v=onepage&q=plasma%20polymerization&f=false>
- [50] AREFL, F. et al. Plasma polymerization and surface treatment of polymers. *Pure and Applied Chemistry* [online]. 1992, vol. 64, No. 5 [cit. 2015-04-28]. DOI: 10.1016/b978-0-12-200430-8.50007-5.
- [51] BIEDERMAN, Hynek. *Plasma polymer films* [online]. London: Imperial College Press, 2004, 386 s. [cit. 2015-04-28]. ISBN 18-609-4467-1.
- [52] PETASCH, W. et al. Low-pressure plasma cleaning: a process for precision cleaning applications. *Surface and Coatings Technology* [online]. 1997, vol. 97, is. 1-3, s. 176-181 [cit. 2015-04-28]. DOI: 10.1016/S0257-8972(97)00143-6. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0257897297001436>
- [53] LEROUGE, S. et al. Sterilization by Low-Pressure Plasma: The Role of Vacuum-Ultraviolet Radiation. *Plasmas and Polymers* [online]. 2000, vol. 5, is. 1 [cit. 2015-04-28]. DOI: 10.1023/A:1009504209276. Dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1009504209276>
- [54] KRČMA, František. Plazma za sníženého tlaku, vlastnosti a aplikace. *Zpravodaj ČVS* [online]. 2006 [cit. 2015-04-28]. Dostupné z: http://www.vakspol.cz/z/downloads/zpr06_1-2.pdf
- [55] PAN, N. a G. SUN. *Functional Textiles for Improved Performance, Protection and Health* [online databáze]. Woodhead Publishing, c2011 [cit. 2015-04-28]. ISBN 978-0-85-709287-8. Dostupné z: http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpFTIPPHOJ/viewerType:toc/root_slug:functional-textiles-improved/url_slug:functional-textiles-improved
- [56] HAN, Jung H., Yachuan ZHANG a Roberto BUFFO. Surface chemistry of food, packaging and biopolymer materials. In: HAN, Jung H. *Innovations in Food Packaging* [online databáze]. Elsevier, c2005 [cit. 2015-04-28]. ISBN 978-0-08-045517-4.

- Dostupné z:
http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpIFP00001/viewerType:toc/root_slug:innovations-in-food-packaging/url_slug:innovations-in-food-packaging
- [57] KOHLI, Rajiv a K. L. MITTAL. *Developments in Surface Contamination and Cleaning – Fundamentals and Applied Aspects* [online databáze]. William Andrew Publishing, c2008 [cit. 2015-04-28]. ISBN 978-0-8155-1555-5. Dostupné z:
http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpDSCCFAA5/viewerType:toc/root_slug:developments-in-surface-2/url_slug:developments-in-surface-2
- [58] CROMPTON, T. R. *Polymer Reference Book* [online databáze]. Smithers Rapra Technology, c2006 [cit. 2015-04-28]. ISBN 978-1-85957-526-0. Dostupné z:
http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpPRB00004/viewerType:toc/root_slug:polymer-reference-book/url_slug:polymer-reference-book
- [59] VLADKOVA, Todorca G. *Surface Engineering of Polymeric Biomaterials* [online databáze]. Smithers Rapra Technology, c2013 [cit. 2015-04-28]. ISBN 978-1-62870-044-2. Dostupné z:
http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpSEPB0007/viewerType:toc/root_slug:surface-engineering-polymeric/url_slug:surface-engineering-polymeric
- [60] NEBESÁŘOVÁ, J. *Paru.cas.cz: Elektronová mikroskopie pro biology* [online]. c2001 [cit. 2015-04-28]. Dostupné z:
<http://www.paru.cas.cz/lem/book/Podkap/7.0.html>
- [61] MICHLER, Goerg, H., Baltá-CALLEJA a J. FRANCISCO. *Nano-and Micromechanics of Polymers – Structure Modification and Improvement of Properties* [online databáze]. Hanser Publishers, c2012 [cit. 2015-04-28]. ISBN 978-1-62870-196-8. Dostupné z:
http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpNMPSMIPQ/viewerType:toc/root_slug:nano-micromechanics-polymers/url_slug:nano-micromechanics-polymers
- [62] CAO, Guozhong. *Nanostructures and Nanomaterials – Synthesis, Properties and Applications* [online databáze]. World Scientific, c2004 [cit. 2015-04-28]. ISBN 978-1-59124-997-9. Dostupné z:
http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpNNSPA008/viewerType:toc/root_slug:nanostructures-nanomaterials/url_slug:nanostructures-nanomaterials
- [63] ADAMS, R. D. *Adhesive Bonding – Science, Technology and Applications* [online databáze]. Woodhead Publishing, c2005 [cit. 2015-04-28]. ISBN 978-1-85573-741-

9. Dostupné z:
http://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpABSTA002/viewerType:toc/root_slug:adhesive-bonding-science/url_slug:adhesive-bonding-science

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AAM	Allylamin
BMP	Kostní morfogenetické proteiny
CCD	Moderní detektor obrazu
D	Diiodomethan
DAAM	N,N-dimethylallylamin
e	Náboj elektronu
E	Ethylenglykol
eV	Elektronvolt
GAG	Glykosaminoglykany
GalNAc	N-acetyl-D-galaktosamin
GHz	Gigahertz – jednotka frekvence
GlcA	Kyselina D-glukuronová
HDPE	Polyethylen o vysoké hustotě
Hz	Hertz – jednotka frekvence
CHS	Chondroitin sulfát
kHz	Kilohertz - jednotka frekvence
KT	Popisuje kinetickou energii elektronu
LDPE	Polyethylen o nízké hustotě
LLDPE	Lineární polyethylen o nízké hustotě
MAAM	N-allylmethylamin
MDPE	Polyethylen o střední hustotě
MHz	Megahertz - jednotka frekvence
n_0	Hustota nabitých částic
N_D	Počet částic v Debyeově rozsahu
NIH/3T3	Buněčná linie z myších embryonálních fibroblastů

NMR	Nukleární magnetická rezonance
OA	Osteoartróza
PBS	Phosphate Buffered Saline
PE	Polyethylen
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie
UHMW-PE	Polyethylen s ultra vysokou molekulovou hmotností
W	Deionizovaná voda
XPS	Rentgenová fotoelektronová spektroskopie
γ^{Total}	Hodnota celkové povrchové energie [mJ/m^2]
γ^-	Lewisova báze
γ^+	Lewisova kyselina
γ^{AB}	Lewisovi acidobazické síly
γ^{LW}	Disperzní Lifshitz-van der Waalsovi síly
γ_{LV}	Mezifázová energie kapalina-pára
γ_{SV}	Mezifázová energie pevná látka-pára
γ_{SL}	Mezifázová energie pevná látka-kapalina
Θ	Kontaktní úhel [$^\circ$]
ϵ_0	Permitivita vakua
λ_{D}	Debyeova délka

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Vzorec PE	11
Obrázek 2: Struktura LDPE	12
Obrázek 3: Struktura HDPE	13
Obrázek 4: Vzorec chondroitin-4-sulfátu	16
Obrázek 5: Chondrogenese [24].....	20
Obrázek 6: Fibroblasty [28]	22
Obrázek 7: Vznik nových funkčních skupin na povrchu polymeru [45]	27
Obrázek 8: Smáčení pevného povrchu kapalinou	32
Obrázek 9: See systém	33
Obrázek 10: Graf naměřených XPS spekter neupraveného LDPE a LDPE po úpravě plazmatem	40
Obrázek 11: SEM, PE neopracovaný – 5000 × zvětšeno.....	42
Obrázek 12: SEM, PE neopracovaný – 30 000 × zvětšeno.....	42
Obrázek 13: SEM, PE opracovaný – 5000 × zvětšeno	43
Obrázek 14: SEM, PE opracovaný – 30 000 × zvětšeno	43
Obrázek 15: SEM, PE opracovaný + AAM + CHS – 5000 × zvětšeno.....	44
Obrázek 16: SEM, PE opracovaný + AAM + CHS – 30 000 × zvětšeno	44
Obrázek 17: SEM, PE opracovaný + MAAM + CHS – 5000 × zvětšeno	45
Obrázek 18: SEM, PE opracovaný + MAAM + CHS – 30 000 × zvětšeno	45
Obrázek 19: SEM, PE opracovaný + DAAM + CHS – 5000 × zvětšeno	46
Obrázek 20: SEM, PE opracovaný + DAAM + CHS – 30 000 × zvětšeno	46
Obrázek 21: NIH/3T3, PE neopracovaný, zvětšení 64×	47
Obrázek 22: NIH/3T3, PE neopracovaný + CHS, zvětšení 64×	48
Obrázek 23: NIH/3T3, PE opracovaný, zvětšení 64×	48
Obrázek 24: NIH/3T3, PE opracovaný + CHS, zvětšení 64×	49
Obrázek 25: NIH/3T3, PE opracovaný + AAM, zvětšení 64×	49
Obrázek 26: NIH/3T3, PE opracovaný + MAAM, zvětšení 64×.....	50
Obrázek 27: NIH/3T3, PE opracovaný + DAAM, zvětšení 64×	50
Obrázek 28: NIH/3T3, PE opracovaný + AAM + CHS, zvětšení 64×	51
Obrázek 29: NIH/3T3, PE opracovaný + MAAM + CHS, zvětšení 64×	51
Obrázek 30: NIH/3T3, PE opracovaný + DAAM + CHS, zvětšení 64×	52
Obrázek 31: NIH/3T3, reference, zvětšení 64×	52

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Hustota jednotlivých typů PE při teplotě 23 °C	11
Tabulka 2: Hodnoty kontaktních úhlů pro jednotlivé vzorky (kde <i>W</i> je deionizovaná voda, <i>D</i> je diiodomethan a <i>E</i> je ethylenglykol)	37
Tabulka 3: Hodnoty povrchové energie pro jednotlivé vzorky.....	38
Tabulka 4: Tabulka naměřených hodnot - výsledná data XPS	40