

Příprava piezo-aktivních polymerních vrstev a jejich využití v tkáňovém inženýrství

Nela Fašková

Bakalářská práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Nela Fašková
Osobní číslo:	T22086
Studijní program:	B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace:	Biomateriály a kosmetika
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Příprava piezo-aktivních polymerních vrstev a jejich využití pro tkáňové inženýrství

Zásady pro vypracování

Piezo-aktivní materiály jsou v současné době velmi slibnou alternativou pro možné použití v tkáňovém inženýrství. V jejich masivnějším rozšíření brání především cena ale hlavně jejich křehkost a ne vždy vhodná kompatibilita s buněčnými systémy. Nicméně, v současnosti existují možnosti jak tyto nedostatky překonat. Je to například použití piezo-aktivních polymerů, modifikace keramických částic hydrofilními polymery a jejich kombinace s cílem maximalizovat interakci buněčných systémů a současně zachovat piezo-aktivní vlastnosti.

Student se bude v rešeršní části zabývat piezo-aktivními materiály obecně.

Poté se zaměří na polymery a kopolymery a přípravu jejich kompozitů a vliv plniv na vybrané fyzikální vlastnosti.

Nedílnou součástí bude přehled těchto typů materiálů a jejich možné interakce s buňkami (cytotoxicita, biokompatibilita).

Nakonec rozepíše jejich případné aplikace.

V experimentální části bude student optimalizovat přípravu různých typů substrátů na bázi piezo-aktivních polymerů a kopolymerů, bude připravovat kompozity těchto polymerů s piezo-aktivními částicemi s cílem dosáhnout maximální možné interakce s buněčnými systémy.

Tyto materiály bude charakterizovat pomocí kalorimetrických a spektroskopických technik.

Bude sledovat změnu mechanických vlastností vlivem různého množství piezo-aktivního plniva.

Nakonec zhodnotí finální piezo-aktivitu připravených systémů a jejich kompatibilitu s buněčnými systémy.

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

Seznam doporučené literatury:

1. SHEHATA, Nader; KANDAS Ishac; HASSOUNAH Ibrahim; SOBOLCIAK Patrik; KRUPA; MRLIK, Miroslav; POPELKA, Anton; STEADMAN, Jesse; LEWIS, Randolph. Piezoresponse, Mechanical, and Electrical Characteristics of Synthetic Spider Silk Nanofibers. *Nanomaterials*. 2018, vol. 8, no. 8 art. no. 585. ISSN:2079-4991.
2. TICHÝ, Jan et al. Fundamentals of piezoelectric sensorics: mechanical, dielectric, and thermodynamical properties of piezoelectric materials. Heidelberg: Springer, 2010. ISBN 978-3-540-43966-0.
3. LI, M., LIU, JZ., ZHENG, DZ., ZHENG, MS., ZHAO, Y., HU, MJ., YUE, GH., SHAN, GC., Enhanced dielectric permittivity and suppressed electrical conductivity in polyvinylidene fluoride nanocomposites filled with 4,4'-oxydiphenyl-guancionalized graphene, *Nanotechnology*, 2019, vol. 30, art. no. 265705.
4. JIANG, LQ., XIE, HA., HOU, Y., WANG, S., XIA, YS., LI, Y., HU, GH., YANG, QL., XIONG, CX., GAO, ZDF., Enhanced piezoelectricity of a PVDF-based nanocomposite utilizing high-yield dispersions of exfoliated few-layer MoS₂, *Ceramics International*, 2019, vol. 45, pp. 1134-11352.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Miroslav Mrlik, Ph.D.**
Centrum polymerních systémů

Datum zadání bakalářské práce: **17. února 2025**

Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem 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.

Prohlašuji, že

- jsem na bakalářské práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....

podpis autora

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá přípravou piezo-aktivních polymerních vrstev a jejich možným potenciálním využitím v oblasti tkáňového inženýrství. Teoretická část práce poskytuje přehled o principech tkáňového inženýrství, používaných biomateriálech se zaměřením na piezoaktivní materiály a metodách přípravy. Zdůrazňuje význam elektrických signálů generovaných těmito materiály pro stimulaci buněčných procesů, jako je proliferace a diferenciaci, které jsou klíčové pro regeneraci tkání. Praktická část se zabývá přípravou kompozitního polymerního povrchu na bázi Polyvinylidenfluoridu s přidavkem částic Barium titanát a Stroncium titanát a jeho modifikovanými analogy. Pro hodnocení připravených substrátů byly využity tahové zkoušky k určení mechanických vlastností, Fourierova transformační infračervená spektroskopie ke kvantifikaci obsahu beta fáze a MTT testy pro posouzení cytotoxicity.

Klíčová slova: Tkáňové inženýrství, piezoaktivní, polymerní vrstvy, buněčná interakce, topografie povrchu

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with the preparation of piezo-active polymer layers and their potential use in the field of tissue engineering. The theoretical part of the thesis provides an overview of the principles of tissue engineering, the biomaterials used with a focus on piezoelectric materials, and methods of preparation. It emphasizes the importance of electrical signals generated by these materials for stimulating cellular processes such as proliferation and differentiation, which are crucial for tissue regeneration. The practical part focuses on the preparation of a composite polymer surface based on Polyvinylidene fluoride with the addition of Barium titanate and Strontium titanate particles and their modified analogues. Tensile tests were used to determine the mechanical properties, Fourier transform infrared spectroscopy was used to quantify the beta-phase content, and MTT tests were used to assess the cytotoxicity of the prepared substrates.

Keywords: Tissue engineering, piezoelectric, polymer layers, cellular interaction, surface topography

Chtěla bych poděkovat svému vedoucímu bakalářské práce, Ing. Miroslavu Mrlíkovi, Ph.D., za jeho cenné rady, odborné vedení a čas, který mi věnoval při zpracování této bakalářské práce.

Mé poděkování patří rovněž Ing. Danilovi Gorgolovi a Ing. Přemyslu Fajkusovi za jejich ochotu a pomoc při práci v laboratořích.

OBSAH

OBSAH.....	9
ÚVOD	11
I.....	12
TEORETICKÁ ČÁST.....	12
1 TKÁŇOVÉ INŽENÝRSTVÍ	13
1.1 HISTORICKÝ VÝVOJ	13
1.2 VÝZNAM TKÁŇOVÉHO INŽENÝRSTVÍ V MEDICÍNĚ.....	13
1.2.1 <i>Regenerace a obnova tkání.....</i>	13
1.2.2 <i>Zlepšení transplantací.....</i>	14
1.2.3 <i>Využití kmenových buněk.....</i>	14
1.3 PRINCIPY TKÁŇOVÉHO INŽENÝRSTVÍ	15
1.3.1 <i>Odběr buněk.....</i>	15
1.3.2 <i>Izolace buněk.....</i>	16
1.3.3 <i>Kultivace buněk.....</i>	17
1.3.4 <i>Scaffold.....</i>	18
1.3.5 <i>Implantace buněk.....</i>	19
1.4 APLIKACE TKÁŇOVÉHO INŽENÝRSTVÍ	20
1.4.1 <i>Inženýrství kostní a srdeční tkáně</i>	20
2 MATERIÁLY PRO TKÁŇOVÉ INŽENÝRSTVÍ	22
2.1 PŘÍRODNÍ MATERIÁLY	22
2.1.1 <i>Kolagen</i>	22
2.1.2 <i>Fibrin</i>	23
2.1.3 <i>Chitosan</i>	24
2.2 SYNTETICKÉ MATERIÁLY.....	25
2.2.1 <i>Kyselina polyglykolová</i>	25
2.2.2 <i>Kyselina polymléčná.....</i>	26
2.3 KERAMICKÉ MATERIÁLY	27
2.3.1 <i>Hydroxyapatit</i>	27
3 PIEZO-AKTIVNÍ MATERIÁLY	29
3.1 KERAMIKA	29
3.1.1 <i>Zirkonát-titanát olovnatý (PZT).....</i>	29
3.1.2 <i>Titanát barnatý (BaTiO₃).....</i>	30
3.2 ANORGANICKÉ	32
3.2.1 <i>Oxid zinečnatý (ZnO)</i>	32
3.3 POLYMERNÍ	32
3.3.1 <i>Polyvinylidenfluorid (PVDF).....</i>	32
3.3.2 <i>Polyakrylonitril (PAN).....</i>	33
4 PŘÍPRAVA PIEZOAKTIVNÍCH MATERIÁLŮ	35
4.1 SOL-GEL METODA	35
4.2 SYNTÉZA Z TAVENINY	35
4.3 MECHANICKÉ MLETÍ	36
4.4 HYDROTERMÁLNÍ METODA	36
4.5 POLYMERIZACE PVDF A PAN	37
4.5.1 <i>Polymerizace PVDF.....</i>	37
4.5.2 <i>Polymerizace PAN</i>	37
4.6 PŘÍMÉ ELEKTROCHEMICKÉ USAZENÍ.....	37
4.7 PVD A CVD METODY	38
4.8 ELEKTROSPINNING	38
4.9 3D TISK PIEZOAKTIVNÍCH MATERIÁLŮ	39

4.10	METODY PŘÍPRAVY SUBSTRÁTŮ	40
4.10.1	Čištění povrchů	40
4.10.2	Povrchová úprava.....	40
4.10.3	Depozice podkladových vrstev	41
4.10.4	Výroba strukturovaných povrchů	41
5	APLIKACE PIEZO-AKTIVNÍCH MATERIÁLŮ	42
5.1	REGENERACE KOSTI A KOSTNÍ TKÁNĚ	42
5.2	REGENERACE SVALOVÉ TKÁNĚ	42
5.3	REGENERACE NERVOVÉ TKÁNĚ A NERVŮ	43
5.4	REGENERACE KOŽNÍ TKÁNĚ	44
II.		45
	PRAKTICKÁ ČÁST	45
6	MATERIÁLY A METODY	46
6.1	MATERIÁLY	46
7	REALIZACE EXPERIMENTU	50
7.1	SONIFIKACE ROZTOKU S ČÁSTICEMI BaTiO_3	50
7.2	PŘÍPRAVA ROZTOKU PVDF-HFP	50
7.3	PŘELITÍ ROZTOKU A SUŠENÍ	51
7.4	METODY CHARAKTERIZACE PŘIPRAVENÝCH SUBSTRÁTŮ	52
8	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	54
	ZÁVĚR.....	58
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	59
	SEZNAM OBRÁZKŮ	68
	SEZNAM TABULEK	69
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	70
	SEZNAM PŘÍLOH	71
	PŘÍLOHA P I: NÁZEV PRVNÍ PŘÍLOHY	72

ÚVOD

Tkáňové inženýrství spojuje poznatky biologie, chemie, fyziky, materiálového inženýrství a medicíny za účelem vývoje různých typů materiálů, které podporují regeneraci a obnovu základních biologických funkcí [1,2]. Představuje inovativní přístup k řešení medicínských výzev, jako je obnova poškozených tkání nebo náhrada orgánů [3,4]. Klíčovou složkou jsou biomateriály, které slouží jako scaffoldy podporující růst buněk a tvorbu nové tkáně [2,5].

Jednou z hlavních oblastí výzkumu v této oblasti jsou piezo-aktivní polymerní vrstvy, které patří mezi perspektivní materiály v regenerativní medicíně a tkáňovém inženýrství [6,7]. Tyto materiály vykazují piezoelektrický jev, tedy schopnost generovat elektrický náboj při mechanické deformaci [8,9]. Elektrické signály hrají důležitou roli v biologických procesech, jako je proliferace, diferenciací a migrace buněk, což činí piezo-aktivní materiály ideálními pro stimulaci buněčných procesů a regeneraci poškozených tkání, například kostní [6], srdeční [10], nervové nebo svalové [11].

Vývoj piezo-aktivních polymerních vrstev však přináší řadu výzev, od optimalizace jejich mechanických a piezoelektrických vlastností až po jejich biokompatibilitu a případnou biodegradabilitu [2,7].

V teoretické části se tato práce zabývá oblastí tkáňového inženýrství, věnuje se materiálům pro tkáňové inženýrství, kde rozebírá vlastnosti a využití přírodních a syntetických materiálů. Závěr této kapitoly patří keramickým materiálům, s důrazem na hydroxyapatit a jeho aplikace. Významnou částí je rozbor piezo-aktivních materiálů klasifikované na keramické, anorganické a polymerní, přičemž u každé skupiny popisuje jejich specifické vlastnosti a využití. Detailně se zabývá různými metodami přípravy piezoaktivních materiálů a popisem metod přípravy substrátů. Závěrečná část se zabývá konkrétními aplikacemi piezo-aktivních materiálů v tkáňovém inženýrství.

V praktické části se tato práce zabývá přípravou kompozitních povrchů na bázi Polyvinylidenfluoridu (PVDF-HFP). Do polymeru byly přidávány částice Barium titanátu (BaTiO_3) a Stroncium titanátu (SrTiO_3), včetně jejich modifikovaných analogů (s PBA nebo PTFEMA). Tyto povrchy byly připravovány s definovanou topografií (mikrostrukturami) pomocí silikonové matrice. Připravené vzorky byly charakterizovány z hlediska mechanických vlastností, pomocí FTIR spektroskopie a cytotoxicity.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 TKÁŇOVÉ INŽENÝRSTVÍ

Tkáňové inženýrství (TE) je vědní obor, který využívá principy a metody medicíny, fyziologie a inženýrství k vytvoření nových tkání. Vzniklé tkáně mají podobné funkce a vlastnosti jako tkáně nacházející se v lidském těle a slouží k opravě, náhradě či k vylepšení funkce orgánů.

Zdrojem pro tvorbu nových tkání mohou být lidské tkáně, zvířecí tkáně nebo jejich kombinace s využitím syntetických materiálů. Po kultivaci a izolaci jsou buňky umístěny do specifických útvarů tzv. scaffoldů, které slouží jako nosič a podporuje tvorbu nové tkáně. Poslední krok představuje implantaci této tkáně do lidského těla [1,3,12].

1.1 Historický vývoj

Na počátku 70.let 20.století dětský ortoped W.T.Green provedl řadu experimentů, při kterých se snažil vypěstovat novou chrupavku. Implantoval chondrocyty na kostní výčnělky do myši. I když se jeho experiment nepodařil, jeho výzkum ukázal, že by mohlo být možné vytvořit nové tkáně pomocí speciálních podpůrných struktur a živých buněk [2,13]. O několik let později spolupracoval s doktory Burke a Yannas na studiích o náhradě kůže [2,13]. Chtěli vytvořit náhradu pomocí kolagenové matrice, která podporuje růst dermálních fibroblastů [2,13]. Později doktor Howard Green přenesl listy keranocytů na pacienty, kteří měli popáleniny [2,13], zatímco doktor Eugene Bell nasadil kolagenové gely s fibroblasty, které se označují jako smrštitelné kolagenové gely [14]. Všechny uvedené příklady představují základy nového vědního oboru, nyní známé jako tkáňové inženýrství [13].

1.2 Význam tkáňového inženýrství v medicíně

Tkáňové inženýrství hraje důležitou roli v medicíně, jelikož nabízí inovativní přístupy k regeneraci poškozených tkání a léčbě různých onemocnění [1,3,12].

1.2.1 Regenerace a obnova tkání

Omezená schopnost lidského organismu regenerovat postižené tkáně, jako jsou např. kostní, nervová, svalová a kožní tkáň, vede často k funkčnímu postižení nebo k amputacím končetin [15,16].

1.2.2 Zlepšení transplantací

Tkáňové inženýrství se snaží generovat živé tkáně pro transplantaci orgánů, které často čelí problémům. Uměle vytvořené tkáně mohou být vyrobeny z buněk pacienta, což minimalizuje rizika [15,16].

1.2.3 Využití kmenových buněk

Kmenové buňky jsou nediferencované buňky s potenciálem k sebeobnově a diferenciaci do různých specializovaných buněčných typů [17,18]. Tato vlastnost je důležitá pro vývoj embrya, udržování tkání a jejich regeneraci po poškození [2,17]. V závislosti na původu a vývojovém stádiu rozlišujeme několik typů kmenových buněk, přičemž embryonální kmenové buňky (ESC) vykazují nejvyšší míru pluripotence, tedy schopnost diferencovat se do všech buněčných typů dospělého organismu [2,17]. Dospělé kmenové buňky jsou více specializované a přispívají k homeostáze (schopnost živých organismů udržovat stabilní vnitřní prostředí, které je nezbytnou podmínkou pro jejich fungování a existenci, i když se vnější podmínky mění) [19] a opravám specifických tkání [2,19].

Nicméně využití embryonálních kmenových buněk je spojeno s etickými problémy, protože jejich získání vyžaduje destrukci embryí [17]. Proto výzkum často směřuje k alternativám, které tyto obavy eliminují. Jednou z nejperspektivnějších možností jsou indukované pluripotentní kmenové buňky (iPSC), které lze získat reprogramací dospělých somatických buněk (např. kožních fibroblastů) pomocí specifických transkripčních faktorů [2,18]. iPSC vykazují podobné vlastnosti jako ESC, včetně pluripotence, avšak jejich výroba nevyžaduje embryonální materiál, čímž se vyhýbají etickým dilematům [18]. Tyto buňky představují významný pokrok v regenerativní medicíně, protože umožňují autologní terapii, kdy jsou buňky získány přímo od pacienta, což snižuje riziko imunologické rejekce [2,4]. Kombinace iPSC s piezoelektrickými materiály, jako jsou scaffoldy z Polyvinylidenfluoridu (PVDF) [6] nebo ZnO [7], může dále podpořit jejich diferenciaci a regenerační potenciál díky elektrické stimulaci, což otevírá nové možnosti pro tkáňové inženýrství.

Výzkum kmenových buněk úzce souvisí s tkáňovým inženýrstvím, které mají schopnost diferencovat se do různých typů tkáně. Tyto buňky mohou být použity k vytvoření specifických tkání pro léčebné účely [17,18].

Dalšími významnými typy jsou neurální a dermální buňky, které jsou multipotentní a přímo využitelné pro specifické regenerační aplikace. Neurální kmenové buňky (NSC), získávané z dospělých tkání, například mozku nebo vlasových folikulů, se diferencují do neuronů a

gliových buněk (*neneuronálních buněk podporujících funkci neuronů*) [2,20]. Jejich autologní původ eliminuje etické omezení a činí je ideálními pro regeneraci nervové tkáně, například při poranění míchy, i když jejich omezenější diferenciační potenciál ve srovnání s ESC může komplikovat širší použití [20,21]. Dermální buňky, jako jsou fibroblasty a kmenové buňky, pocházející z kůže pacienta a produkují extracelulární matrix (ECM) pro obnovu kožní tkáně [4]. Jejich snadná dostupnost a absence etických problémů podporují využití v aplikacích spojených s hojením ran, avšak vyžadují scaffoldy k zajištění strukturální integrity při větších defektech [2,4]. Kombinace těchto buněk s piezoelektrickými materiály, například PVDF scaffoldy, zvyšuje jejich regenerační potenciál díky elektrické stimulaci, což je slibné pro nervovou i kožní regeneraci [6,7].

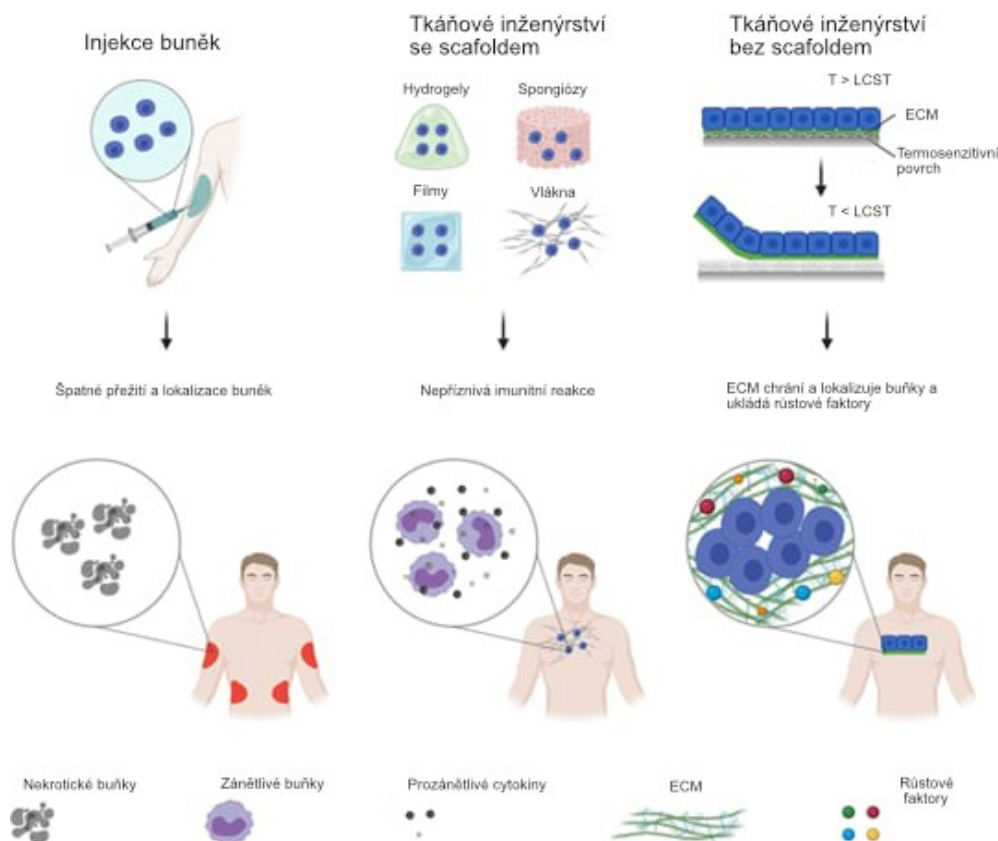
1.3 Principy tkáňového inženýrství

Součástí procesu tkáňového inženýrství jsou důležité kroky: odběr buněk a jejich následná izolace a kultivace, využití scaffoldů a implantace vzniklé tkáně do organismu. Tyto principy jsou základním procesem TE, který umožňuje produkci a regeneraci tkání v laboratorních podmínkách a jejich následnou aplikaci.

1.3.1 Odběr buněk

Odběr buněk (**Obrázek 1**) je prvním krokem v procesu TE a je zásadní pro zajištění adekvátního výchozího materiálu pro následné in vitro manipulace [2]. Buňky mohou být odebrány z různých zdrojů na závislosti na typu tkáně, která má být regenerována [2,4]. Pro regeneraci kostní tkáně jsou běžně využívány mezenchymální kmenové buňky izolované z kostní dřevě [2,7], zatímco pro regeneraci epiteliálních tkání, jako je kůže, jsou primárně využívány keratinocyty [4].

Z hlediska původu lze buňky rozdělit na alogenní a autologní [2]. Autologní buňky, které získáváme přímo od pacienta, eliminují riziko imunitní reakce, i když jejich odběr může být spojen s vysokými náklady [2,4]. Alogenní buňky, které získáváme od geneticky nesusoudržných dárců, vyžadují komplexnější zpracování s cílem minimalizovat imunitní reakci [2].



Obrázek 1 Odběr buněk

(Upraveno dle: Odběr buněk, 2021. Online. In: . Dostupné

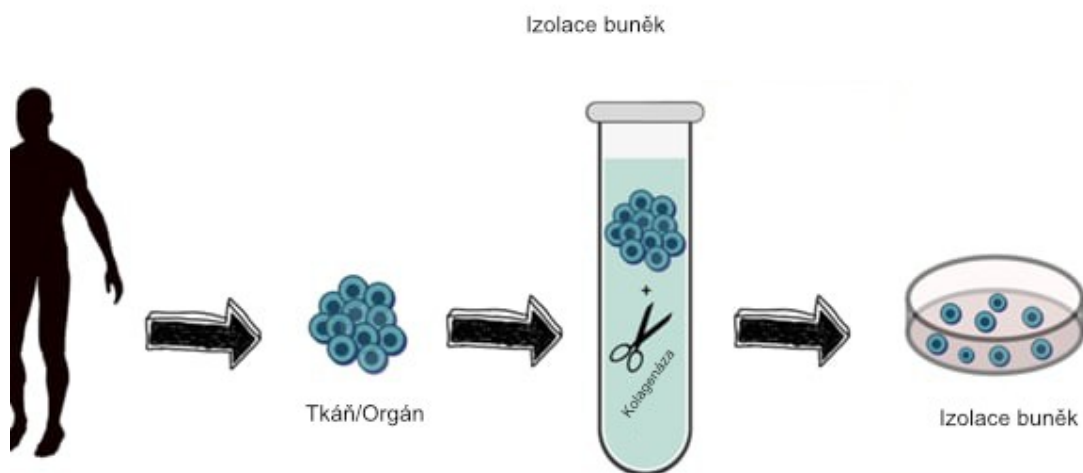
z: <https://www.nature.com/articles/s41536-021-00133-3>. [cit. 2024-11-17]).

1.3.2 Izolace buněk

Následující fází po odběru buněk je jejich izolace (**Obrázek 2**), což je velmi důležitá fáze pro získání homogenní populace buněk s vysokou životaschopností a proliferační schopností [2,22]. Izolace spočívá v separaci cílových buněk od ostatních buněčných typů a nežádoucích složek přítomných ve vzorku [3]. K dosažení tohoto cíle lze využít široké spektrum metod, které lze obecně rozdělit na enzymatické, mechanické a imunologické [2,23].

Mechanické metody, jako je filtrace a centrifugace, se využívají pro separaci metod buněk na základě jejich velikosti a hustoty [23]. Enzymatické metody využívají enzymy, jako je kolagenáza, které umožňují disociaci buněk z tkáně štěpením extracelulární matrice [2,22]. Imunologické metody jsou založené na specifické interakci protilátek s buněčnými antigeny, které umožňují selektivní izolaci jednotlivých buněčných typů [23].

Kvalita izolovaných buněk má zásadní vliv na úspěšnost následných experimentálních postupů [2]. Kontaminace izolované populace nežádoucími buňkami může vést ke snížení proliferace, funkčnosti buněk a životaschopnosti, což může negativně ovlivnit výsledky experimentů v oblasti TE [2,22,23].



Obrázek 2 Izolace buněk

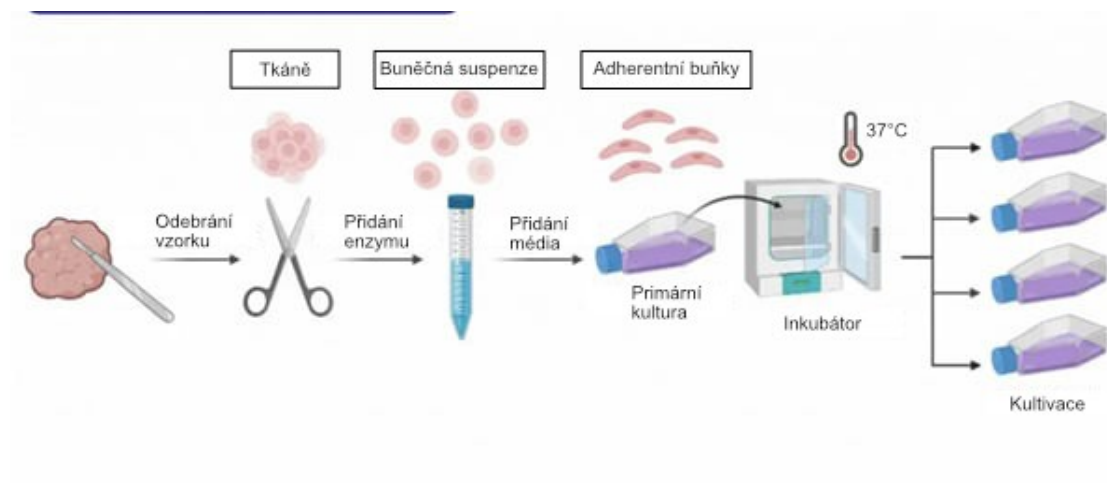
(Upraveno dle: Cell isolation procedure. Online. In: . Dostupné z: https://www.abielbiotech.com/?page_id=100. [cit. 2024-11-17])

1.3.3 Kultivace buněk

Kultivace buněk (**Obrázek 3**) je klíčovým procesem v TE, při němž jsou izolované buňky udržovány a rozmnožovány in vitro podmínkách s cílem získat dostatečné množství buněk pro následné experimenty [2,22]. Kultivační média obsahují směs růstových faktorů, esenciálních živin a dalších biomolekul, které poskytují buňkám optimální prostředí pro proliferaci a růst [22,23].

Různé typy buněk vyžadují specifické kultivační podmínky, které zahrnují optimální pH, teplotu, přítomnost specifických růstových faktorů a koncentraci kyslíku [2,23]. Vzhledem k pluripotenci kmenových buněk vyžadují navíc specifické signály pro udržování jejich nediferencovaného stavu nebo indukci jejich diferenciaci do požadovaných buněčných typů [2,17].

Hlavním cílem kultivace buněk v rámci TE je získání buněk s požadovanými vlastnostmi a schopností tvořit funkční tkáň. Toho je dosaženo přesnou regulací buněčných procesů, jako je proliferace, diferenciaci, migrace a interakce buněk s extracelulárním matrixem [2,22,23].



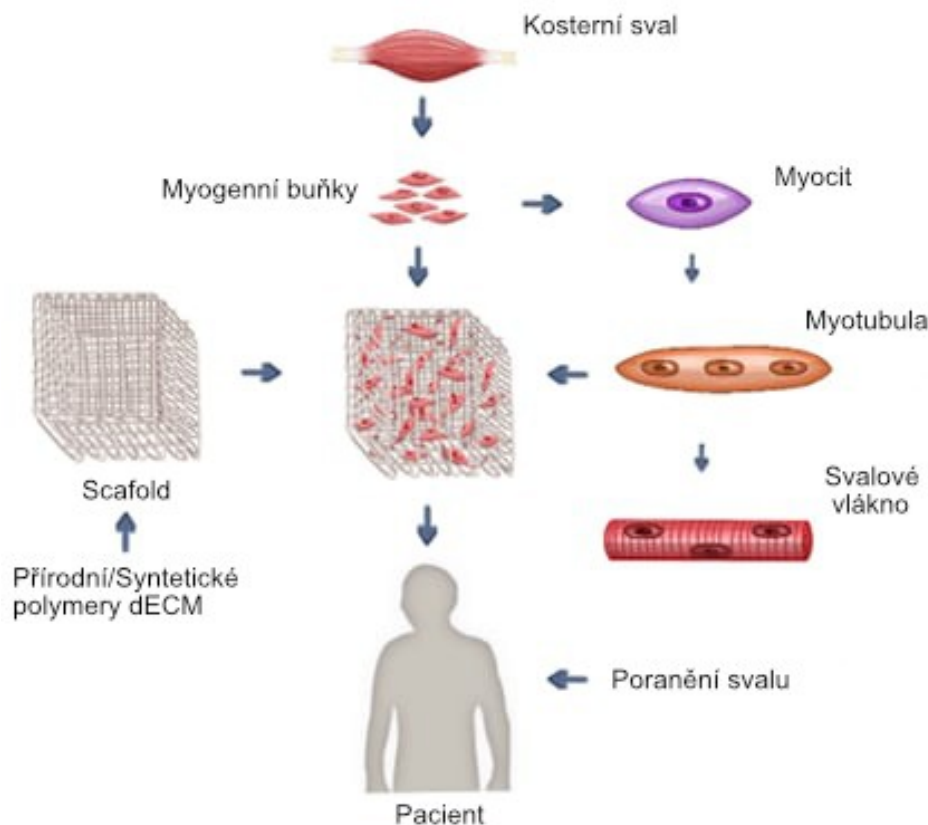
Obrázek 3 Kultivace buněk

(Upraveno dle: Cell culture. Online. In: . Dostupné z: <https://rsscience.com/cell-culture/>.
[cit. 2024-11-17])

1.3.4 Scaffold

Scaffold (**Obrázek 4**) je důležitou součástí TE, jelikož poskytují trojrozměrnou strukturu, která slouží jako nosič pro buňky a podporuje jejich růst, diferenciaci a proliferaci [2,5]. Ideální scaffold by měl být biokompatibilní, aby minimalizoval imunitní reakci hostitele, a v některých případech také biodegradabilní, aby se mohl postupně rozkládat a být nahrazen novou tkání [2,23].

Materiály pro výrobu scaffoldů mohou být jak přírodního původu (kolagen, chitosan) [14], tak syntetického (kyselina polymléčná, polyglykolid) [2,23]. Struktura scaffoldu může být velmi variabilní a zahrnuje porézní matrice, vláknité struktury a hydrogely [5]. Vzhled scaffoldu je často inspirován přirozenou extracelulární matricí, která poskytuje buňkám signály nezbytné pro jejich diferenciaci a tvorbu funkční tkáně [2,5,14,23].



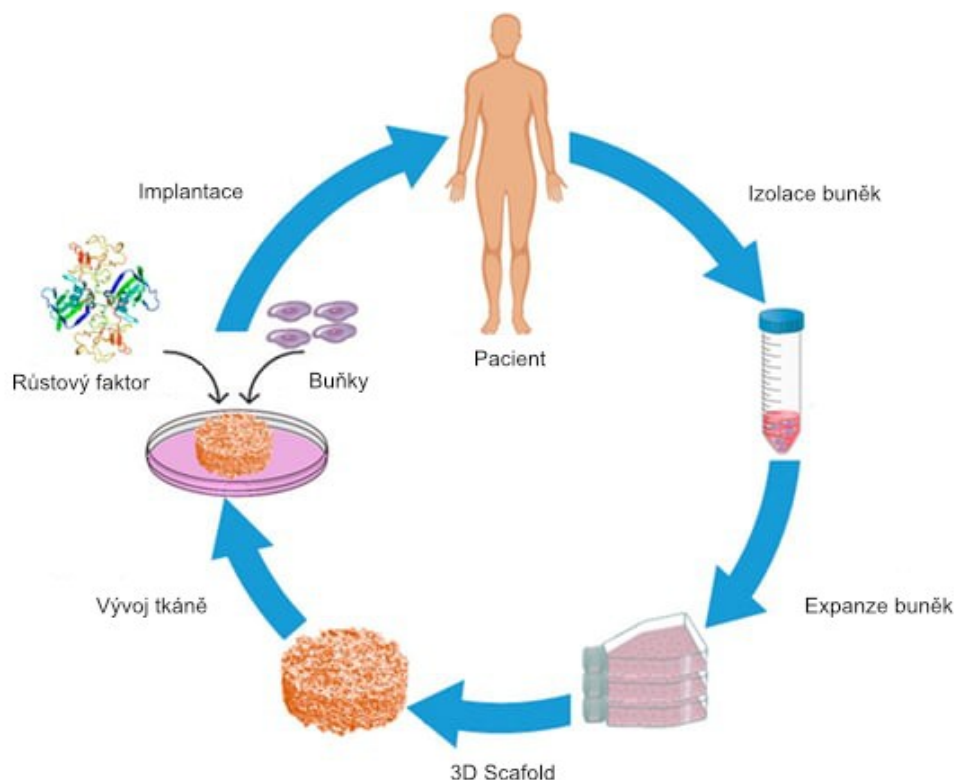
Obrázek 4 Scaffold buněk

(Upraveno dle: Scaffold. Online. In: . Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2306-5354/9/12/744#>. [cit. 2024-11-17])

1.3.5 Implantace buněk

Implantace je poslední fází při vytváření nové tkáně (**Obrázek 5**), která spočívá v chirurgickém zavedení tkáně do poškozeného či chybějícího místa v organismu [2]. Úspěšná implantace vyžaduje komplexní interakci mezi implantovanou tkání a okolními tkáněmi, zahrnující integraci, vaskularizaci a funkční zhojení [1]. Faktorem pro přežití implantátu je rychlá vaskularizace, která zajišťuje přísun kyslíku a živin do nové tkáně, což může být podpořeno použitím bioaktivních scaffoldů stimulujících angiogenezi (proces tvorby nových krevních cév, což je důležité pro zásobení tkání kyslíkem a živinami) [5].

Jedním z hlavních problémů při implantaci je imunitní reakce organismu na novou tkáň, pokud nejsou použity autologní buňky, například alogenní nebo xenogenní materiály mohou vyvolat zánětlivou odpověď zprostředkovanou T-lymfocyty a makrofágy [4]. Po implantaci je často nutná rehabilitace a dlouhodobé sledování pacienta [12].



Obrázek 5 Implantace buněk

(Upraveno dle: *Implantation of cells. Online. In: . Dostupné*

z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10853-022-08102-x>. [cit. 2024-11-17])

1.4 Aplikace tkáňového inženýrství

Při aplikaci tkáňového inženýrství se zaměřujeme na obnovu, náhradu a regeneraci poškozených orgánů nebo tkání pomocí syntetických materiálů, biomateriálů, buněčných technologií a bioaktivních molekul [2,5,25,27].

1.4.1 Inženýrství kostní a srdeční tkáně

Kost je mineralizovaná pojivová tkáň zajišťující ochranu vnitřních orgánů a podporu těla [2]. Skládá se z kolagenu typu I a fosforečnanů vápenatých [24]. Vnější vrstva kosti má vysokou mechanickou pevnost a nízkou poréznost, zatímco vnitřní vrstva má nižší mechanické vlastnosti a je poréznější. Obě vrstvy jsou protkány krevními cévami zajišťující přísun živin a kyslíku [1].

Kost má schopnost regenerace, ale při větších úrazech, je nutné použít kostní štěpy [2]. Nejčastěji se používají autologní štěpy mající omezenou dostupnost a mohou se u nich

objevit komplikace [25]. Jedním z hlavních přístupů v inženýrství kostní tkáně je vývoj 3D porézních scaffoldů napodobujících složení kosti [5]. Biokeramické scaffoldy, zejména hydroxyapatit, podporující růst nové kosti, ale mají nízkou mechanickou pevnost [24]. Díky tomu se využívají kompozity z přírodních hydrogelů a hydroxyapatitu zlepšující mechanické vlastnosti [4].

Srdeční tkáň je tvořena různými typy buněk, mezi nimiž převládají kardiomyocyty, endoteliální buňky, fibroblasty a pericyty [2,4]. Kardiomyocyty jsou zodpovědné za kontrakci srdečního svalu a tvoří přibližně 30-40 % všech buněk v srdeční tkáni [2].

Pro dosažení funkční tkáně je nutné nejen zajistit dostatečné množství kardiomyocytů, ale také vytvořit vhodné mikroprostředí, které podporuje jejich přežití a optimální funkci [4]. Klíčovou roli zde hraje použití biomateriálů, jako jsou hydrogelové (přírodní nebo syntetické) a další syntetické polymerní matrice, které napodobují přirozené prostředí srdeční tkáně [4,5].

2 MATERIÁLY PRO TKÁŇOVÉ INŽENÝRSTVÍ

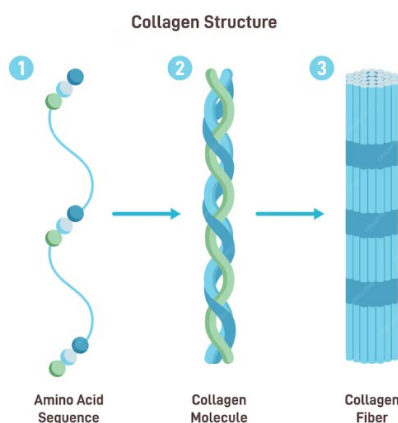
Materiály používané v TE jsou klíčovým prvkem pro úspěšnou regeneraci tkání [1,2]. Jejich návrh je zaměřen na optimalizaci mikroprostředí pro buňky, včetně podpory proliferace, adheze a diferenciací [2,5,23]. V závislosti na konkrétní aplikaci mohou být využity materiály přírodního původu, jako je kolagen nebo chitosan [4,14,26], nebo syntetické polymery, například polyaktid (PLA) nebo polyglykolová kyselina PGA [4,25]. Výběr vhodného materiálu je ovlivněn požadavky na mechanické vlastnosti [5], rychlost degradace [27] a biokompatibilitu [2].

2.1 Přírodní materiály

Přírodní materiály jsou hojně využívány v tkáňovém inženýrství, převážně kvůli vynikající biokompatibilitě, která je zajištěna tím, že jsou získávány z vhodných biologických zdrojů.

2.1.1 Kolagen

Kolagen (**Obrázek 6**), nejhojnější protein v extracelulární matrici, hraje důležitou roli v udržování struktury a funkce tkání [2,14]. Tvoří přibližně 30 % všech proteinů v lidském těle. Jeho fibrilární struktura přispívá k tvorbě trojrozměrné sítě v ECM, která poskytuje mechanickou podporu buňkám a tkáním [5,14]. Díky svému rozšíření v různých typech tkání, od kostí až po kůži, a vynikajícím biologickým vlastnostem, jako je biokompatibilita a biodegradabilita, se kolagen stal jedním z nejdůležitějších biomateriálů pro tkáňové inženýrství [2,14]. Při biodegradabilitě se kolagen rozkládá v těle na neškodné vedlejší produkty [14]. Tento proces je katalyzován enzymy, například kolagenázami, které odbourávají kolagen a podporují postupnou regeneraci přirozené tkáně [2,14].



Obrázek 6 Struktura kolagenu

(zdroj: *Collagen structure*. Online. In: . Dostupné z: https://www.freepik.com/premium-vector/collagen-structure-amino-acid-sequence-chain-form-three-polypeptides_53401126.htm. [cit. 2024-11-20].

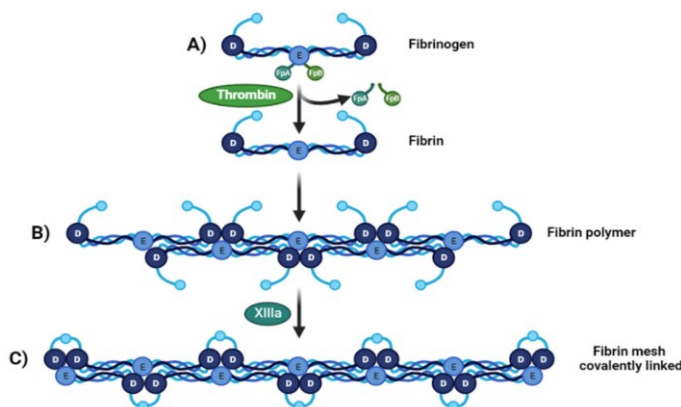
Kolagenní scaffoldy, které jsou vyrobené z vysoce čistého kolagenu, nabízejí řadu výhod pro regeneraci poškozených tkání [14]. Kromě mechanické podpory kolagenní scaffoldy podporují také proliferaci, diferenciaci a adhezi buněk [5,14]. Díky své porézní struktuře umožňují difuzi růstových faktorů a živin, což je nezbytné pro úspěšnou tkáňovou regeneraci [2,14].

Jedním z hlavních omezení kolagenních scaffoldů je jejich nízká mechanická pevnost, zejména po hydrataci (*proces vázání a zadržování vody v ECM nebo biomateriálech, který zajišťuje hydratované prostředí podobné přirozené tkáni, podporuje buněčné funkce a usnadňuje transport živin a odpadních látek*) [2,4,5,14]. Pro zlepšení mechanických vlastností kolagenních scaffoldů se využívají například kompozitní materiály, jako jsou kolagen-hydroxyapatitové kompozity pro kostní regeneraci nebo kolagen-chitosanové směsi pro měkké tkáně [5,14]. Další metodou je síťování, například chemické síťování glutaraldehydu, které zvyšuje stabilitu a pevnost scaffoldů [2,5,14].

2.1.2 Fibrin

Fibrin (**Obrázek 7**) je nerozpustný protein, který vzniká jako reakce na krvácení a je hlavní složkou krevní sraženiny [2]. Tvoří pevnou proteinovou síť uspořádanou do dlouhých vláknitých řetězců [2,4] Fibrin se vytváří z fibrinogenu, rozpustného proteinu produkovaného játry, který se nachází v krevní plazmě [2]. Když dojde k poškození tkáně a krvácení, fibrinogen se pod vlivem trombinu, klíčového enzymu srážecího procesu,

přeměňuje na fibrin [2,4]. Molekuly fibrinu se následně spojují a vytvářejí dlouhá vlákna, která se zamotávají do krevních destiček a vytvářejí houbovitou hmotu [2]. Ta postupně tvrdne a stahuje se, což vede ke vzniku krevní sraženiny [2]. Proces zpevnění sraženiny je stabilizován fibrin-stabilizujícím faktorem, známým také jako faktor XIII, který katalyzuje tvorbu kovalentních vazeb mezi fibrinovými molekulami [2,4]. Tím vzniká trojrozměrná síť, která zvyšuje mechanickou pevnost sraženiny [2,4].



Obrázek 7 Vznik fibrinu

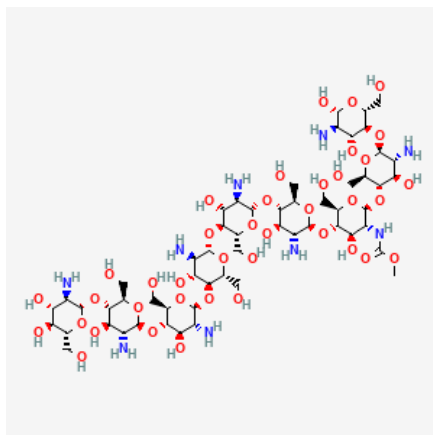
(zdroj: Fibrin. Online. In: . Dostupné z: <https://encyclopedia.pub/entry/26930>. [cit. 2024-11-20].

Fibrin je biokompatibilní a biodegradabilní materiál, který je postupně odbouráván přirozenými mechanismy těla [2,4]. To umožňuje kontrolovat jeho rozklad podle potřeb konkrétní aplikace [4]. Degradaci fibrinu lze regulovat úpravou koncentrace fibrinogenu, trombinu a přidáním dalších látek, jako je aprotinin, který proces degradace zpomaluje [2]. Nevýhodou fibrinu je, že má relativně slabé mechanické vlastnosti ve srovnání s jinými biomateriály, jako je kolagen, polyaktid nebo hydroxyapatit [2,5,25]. Například fibrin má modul pružnosti v řádu kPa, zatímco polyaktid dosahuje hodnot v řádu GPa, což jej činí vhodnějším pro nosné aplikace, jako je kostní tkáň [5,25]. Fibrin se v TE využívá např. pro podporu regenerace kůže, kostní tkáně, nervové tkáně a kardiovaskulární systém [4,28-31].

2.1.3 Chitosan

Chitosan je lineární polysacharid získávaný deacetylací chitinu (**Obrázek 8**), který se přirozeně vyskytuje v exoskeletech korýšů, buněčných stěnách některých hub a kutikulách hmyzu [14,32]. Je to biopolymer s antifugálními, antibakteriálními, gelujícími a slizničními

vlastnostmi, a je považován za hojně používaný materiál v TE a podávání léků díky své biodegradabilitě, biokompatibilitě a netoxicitě [2,32]. Nevýhodou chitosanu jsou jeho omezené mechanické vlastnosti [32]. Kationtová povaha chitosanu ho odlišuje od jiných polymerů. Umožňuje chitosanu integrovat se s negativně nabitými složkami, jako jsou např. buněčné membrány, enzymy, aniontové polymery (např. hyaluronan, alginát) [2,26] a proteiny (např. transformující růstový beta) [2,32].



Obrázek 8 Struktura chitosanu

(zdroj: Chitosan. Online. In: . Dostupné

z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chitosan#section=2D-Structure>. [cit. 2024-11-20].

V TE se chitosan využívá např. při hojení ran a regeneraci kůže, jako scaffold pro podporu růstu osteoblastů, při regeneraci chrupavky [26,32].

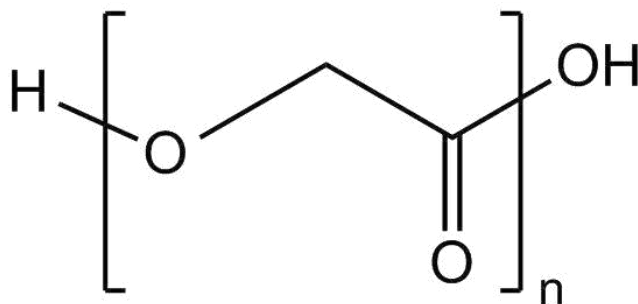
2.2 Syntetické materiály

Syntetické materiály mají tu výhodu, že je možné navrhnout jejich funkčnost a pro specifické vlastnosti, jako je mechanická pevnost, biokompatibilita a kontrolovaná degradace, podle požadavků předpokládané aplikace.

2.2.1 Kyselina polyglykolová

Kyselina polyglykolová (PGA) je nejjednodušší syntetický alifatický polyester (**Obrázek 9**) ze všech alifatických polyesterů a její syntéza byla poprvé provedena v roce 1932 Wallaceem Carothersem. Patří mezi nejčastěji používané biodegradabilní polymery [2,33].

PGA má lineární strukturu, která obsahuje esterové vazby v hlavním řetězci, které jsou hydrolyticky nestabilní [25,33]. Tato nestabilita způsobuje, že se PGA v těle snadno rozkládá na neškodné produkty, zejména na kyselinu glykolovou, která je následně metabolizována na CO_2 a H_2O a je přirozeně vylučována z organismu [25,27]. Degradace PGA probíhá velmi rychle, ale rychlá degradace může vést k vytvoření kyselého prostředí, které může vyvolat zánětlivé reakce, pokud se materiál nerozloží dostatečně rychle [25,27].



Obrázek 9 Struktura PGA

(zdroj: PGA structure. Online. In: . Dostupné z: <https://polylactide.com/polyglycolide/>. [cit. 2024-11-20].

PGA má vysokou pevnost v tahu, což umožňuje její využití v aplikacích, které vyžadují dočasnou mechanickou podporu [33]. Krystalická struktura PGA zajišťuje dostatečnou stabilitu, ale vzhledem k její hydrofilní vlastnosti, PGA rychle absorbuje vodu, a to urychluje proces degradace [25]. Je vysoce biokompatibilní a biodegradabilní [2,33].

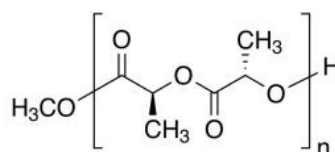
Využívá se např. v oblasti regenerace chrupavkové a kostní tkáně, regenerace vazů a šlach, regenerace cév a regenerace nervové tkáně [2,25,27,34].

2.2.2 Kyselina polymléčná

Kyselina polymléčná (PLA) je alifatický polyester (**Obrázek 10**) s vysokou biokompatibilitou, bioabsorbovatelností a biodegradabilitou [2,25]. V organismu se rozkládá procesem úplné hydrolyzy na oxid uhličitý a vodu, což z PLA činí ideální materiál pro aplikaci vyžadující postupnou degradaci a přirozené vyloučení degradačních produktů z těla [25,27].

PLA se vyznačuje výhodnými mechanickými vlastnostmi, jako je vysoká pevnost v tahu a modul pružnosti, což je velmi důležité pro konstrukci scaffoldů [25,33]. Má schopnost sloužit jako nosič bioaktivních látek nebo růstových faktorů [27]. Biodegradabilita PLA umožňuje, že se po aplikaci v těle rozkládá na neškodné produkty, zejména na kyselinu mléčnou [25].

Kyselina mléčná je přirozeně metabolizována v Krebsově cyklu (*biochemická dráha v mitochondriích, která oxiduje acetyl-CoA za vzniku energie ve formě ATP, NADH a FADH₂, přičemž slouží jako klíčový proces buněčného dýchání*) [2] a následně vyloučena z těla [25,27]. Degradace PLA probíhá hydrolytickým štěpením esterových vazeb v přítomnosti vody [25,33].



Obrázek 10 Struktura PLA

(zdroj: Structure PLA. Online. In: . Dostupné

z: <https://www.polysciences.com/german/catalog-products/polymers/biodegradable-polymers/poly-dl-lactic-acid>. [cit. 2024-11-20].

PLA se využívá např. u scaffoldů pro regeneraci kostí a chrupavek, v inženýrství měkkých tkání (svaly, cévy a šlachy), u kontrolovaného uvolňování léčiv [25,27,34-36].

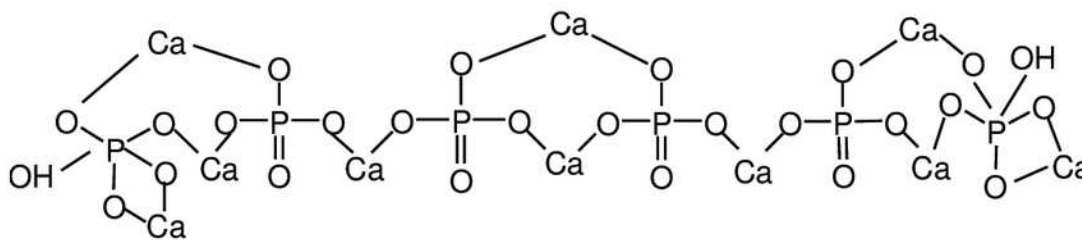
2.3 Keramické materiály

Keramické materiály představují zásadní prvek v oblasti tkáňového inženýrství, zejména při regeneraci kosti a zubů [24,38]. Díky své vysoké mechanické pevnosti, například modulu pružnosti hydroxyapatitu v rozmezí 10-100 GPa, schopnosti napodobovat přirozenou strukturu minerální složky kostí a vhodné biokompatibilitě hrají tyto materiály důležitou roli v procesech obnovy a regenerace kostní tkáně [2,24,39]. Ve srovnání s jinými biomateriály, jako je fibrin (1-10 kPa), kolagen (1-10 MPa) nebo PLA (1-3 GPa), nabízejí keramické materiály výrazně vyšší pevnost, což je činí ideálními pro nosné aplikace [5,25].

2.3.1 Hydroxyapatit

Hydroxyapatit (**Obrázek 11**) má krystalickou strukturu, která se podobá přírodnímu apatitu [2,24]. Jeho struktura obsahuje ionty vápníku (Ca²⁺), fosfátu (PO₄³⁻) a hydroxidové skupiny (OH⁻) [24]. Tyto složky jsou uspořádány do tetragonální mřížky, což mu poskytuje

vynikající biokompatibilitu, vysokou tvrdost a chemickou stabilitu, ale zároveň nízkou rozpustnost ve fyziologických podmínkách [24,38].



Obrázek 11 Struktura hydroxyapatitu

(zdroj: *Structure of Hydroxyapatite. Online. In: . Dostupné*

z: https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-hydroxyapatite-Ca-10-PO-4-6-OH-2_fig8_47933950. [cit. 2024-11-20].

Hydroxyapatit je dobře snášen v těle, což usnadňuje jeho použití v implantátech a kostních náhradách [2,24,38]. Reaguje s tělesnými tekutinami a vytváří složení, které je podobné přírodnímu apatitu, čímž podporuje adhezi buněk [2,24]. Hydroxyapatit má vysokou pevnost v tlaku dosahující hodnot v rozmezí 400-900 MPa u hustých forem, což je důležité pro jeho využití v aplikacích vystavených mechanickému namáhání, jako je regenerace kostí [24,39].

Využívá během povrchové úpravy ortopedických implantátů a kostních náhrad [28,29]. Aplikuje se na zubní implantáty a je součástí zubních past zaměřených na obnovu zubní skloviny [29]. Může se také využít jako materiál pro tvorbu scaffoldů zabezpečující růst nových tkání [2,24,38,39].

3 PIEZO-AKTIVNÍ MATERIÁLY

Piezo-aktivní materiál je druhem materiálu, který generuje elektrický náboj v reakci na aplikované mechanické napětí. Funguje na principu piezoelektrického jevu, jenž spočívá ve vzájemné vazbě mezi mechanickým napětím a elektrickou [8,40,41].

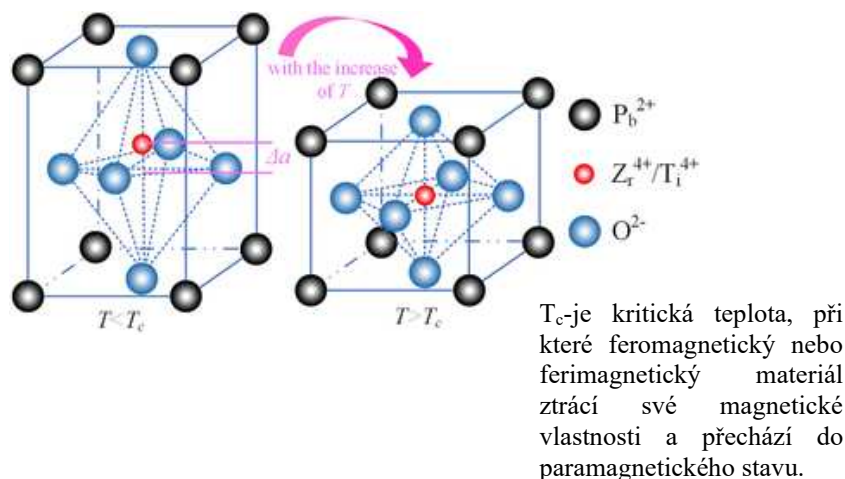
3.1 Keramika

Piezoelektrická keramika se skládá z polykrystalů, které se připravují slinováním. Základním krokem je homogenizace práškových směsí. Následně se tvaruje prášková směs do požadovaného tvaru. V závěrečné fázi při vysoké teplotě se provádí slinování, během kterého dochází k růstu zrn a difúzi iontů, jako jsou ionty vápníku nebo kyslíku, podél hranic zrn a povrchu částic, čímž vznikne pevná keramická struktura se žádoucími piezoelektrickými vlastnostmi [42,43].

3.1.1 Zirkonát-titanát olovnatý (PZT)

Zirkonát-titanát olovnatý (**Obrázek 12**), je keramický materiál skládající se z kombinace oxidu titaničitého (TiO_2) a oxidu zirkoničitého (ZrO_2), které reagují s oxidem olovnatým (PbO), čímž vzniká směs s výjimečnými piezoelektrickými vlastnostmi [44]. Krystalová struktura PZT se mění v závislosti na složení a teplotě, a to především mezi dvěma fázemi:

- Rombické fáze: Stabilní při vyšších koncentracích zirkonia.
- Tetragonální fáze: Tato fáze převládá při nižším obsahu zirkonia a nižších teplotách.



Obrázek 12 Krystalická struktura PZT při různých teplotách

(zdroj: *Crystal structure of PZT*. Online. In: . Dostupné

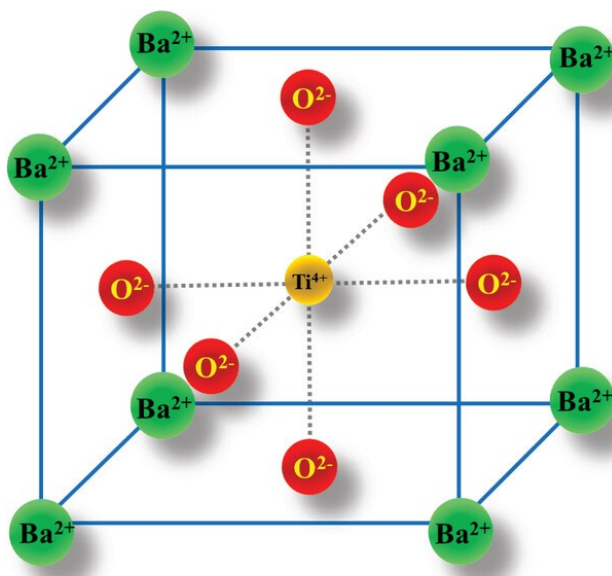
z: https://www.researchgate.net/figure/Crystal-structure-of-lead-zirconate-titanate-PZT-at-different-temperatures_fig5_356272903. [cit. 2024-11-20].

PZT dosahuje výrazně vyššího piezoelektrického koeficientu (360 pC/N) než mnoho jiných piezoelektrických materiálů, což jej činí ideálním pro přeměnu mechanické energie na elektrickou a opačně [44,45]. Piezoelektrické vlastnosti PZT lze modifikovat změnou poměru titanu a zirkonia nebo přidáváním jinými prvky, jako je niob nebo lanthan, které ovlivňují polarizaci a zlepšují mechanické a elektrické vlastnosti [45].

Výroba PZT probíhá metodou slinování keramických prášků, kde jsou oxidy homogenizovány, smíchány, lisovány a poté vypáleny při vysokých teplotách [44,46]. Kontrola tohoto procesu umožňuje dosáhnout optimální hustoty materiálu a minimalizovat vnitřní defekty, což přispívá k mechanické pevnosti a stabilitě elektrických vlastností PZT [44-46].

3.1.2 Titanát barnatý ($BaTiO_3$)

Titanát barnatý je piezoelektrický keramický materiál (**Obrázek 13**) [45]. Je to sůl kyseliny metatitanové, v práškové formě se projevuje jako bílá látka, zatímco v krystalické podobě je transparentní [45]. V závislosti na teplotě existuje tato látka ve čtyřech polymorfních modifikacích. S klesající teplotou se krystalová symetrie těchto polymorfů mění v následujícím pořadí: kubická, tetragonální, ortorombická a romboedrická krystalová struktura [45]. Tetragonální, ortorombická a romboedrická struktura jsou piezoaktivní díky necentro-symetrické krystalové mřížce, zatímco kubická struktura není piezoaktivní kvůli své centro-symetrii [45].



Obrázek 13 Krystalická struktura kubické fáze

(zdroj: SOOD, Ankur; DESSEIGNE, Margaux; DEV, Atul a HAN, Sung Soo. *Crystal structure of cubic BaTiO₃ phase*. Online. In: . Dostupné

z: [https://www.researchgate.net/figure/Crystal-structure-of-cubic-BaTiO₃-phase_fig2_366715323?_tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6Il9kaXJlY3QiLCJwYWdlIjoX2RpcmVjdCJ9fQ.](https://www.researchgate.net/figure/Crystal-structure-of-cubic-BaTiO3-phase_fig2_366715323?_tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6Il9kaXJlY3QiLCJwYWdlIjoX2RpcmVjdCJ9fQ.) [cit. 2025-05-14].)

Běžně se používá pro výrobu scaffoldů pro tkáňové inženýrství kostí [2,45]. Piezoelektrický efekt je důležitý pro tvorbu kostí, hojení zlomenin, udržování nabitého povrchu a zlepšení adheze a proliferace kostních buněk [7,45]. Pro přípravu suspenzí a scaffoldů z BaTiO₃ s vysokou pevností v tlaku, ohybu a elasticitou se používají různé metody, jako je sol-gel, mechanické míchaní nebo slinování [45,46]. Zvýšená teplota slinování vede ke zlepšení mechanických vlastností porézních scaffoldů například pevnost v tlaku, piezoelektrický koeficient, biokompatibilita a schopnost vytvářet pevné spojení s okolní kostní tkání [45,46]. Hodnota piezoelektrického koeficientu BaTiO₃ může být až 191 pC/N [45].

Titanát barnatý se vyznačuje vysokou mechanickou pevností a tuhostí, což ho činí vhodným materiálem také pro nosné kostní implantáty [45]. Pro zlepšení bioaktivity a stability implantátu je však klíčové smíchat titanát barnatý s dalšími bioaktivními materiály, jako je například hydroxyapatit, aby se zajistila integrace s hostitelskou kostní tkání [2,24,45].

3.2 Anorganické

Anorganické piezoaktivní materiály jsou významnou skupinou látek využívající se díky jejich výborným piezoelektrickým vlastnostem a vysoké stabilitě. Hlavním omezením je jejich křehkost a obtížná zpracovatelnost ve složitějších strukturách [8,41-43].

3.2.1 Oxid zinečnatý (ZnO)

Oxid zinečnatý má hexagonální krystalickou strukturu typu wurtzit, který je zásadní pro jeho piezoelektrické vlastnosti [47,48]. Ve struktuře ZnO jsou atomy zinku a kyslíku tvoří uspořádání generující elektrický dipól [48,49]. Při mechanickém zatížení tento dipól vytváří elektrické pole, což umožňuje ZnO přeměňovat mechanickou energii na elektrickou [8,47]. ZnO je průhledný pro viditelné světlo a velmi citlivý na UV záření [48,49].

Vyrábí se různými metodami, mezi které patří chemické nanášení par, sol-gel syntéza a hydrotermální syntéza, což umožňuje upravit strukturu materiálu pro konkrétní aplikaci [47-49]. Důležitá je kontrola uspořádání a orientace ZnO krystalů, které významně ovlivňují piezoelektrickou efektivitu [40]. Často se využívá ve formě tenkých vrstev či nanodrátů, což umožňuje výrobu flexibilních a miniaturních zařízení [47-49].

3.3 Polymerní

Piezoaktivní vlastnosti u polymerních látek byly prokázány v roce 1960 [42]. Při působení mechanického namáhání (deformace či tlaku) na piezoaktivní polymery dochází k separaci elektrických nábojů na jejich povrchu, což umožňuje přeměnu mechanické energie na elektrickou [42,43].

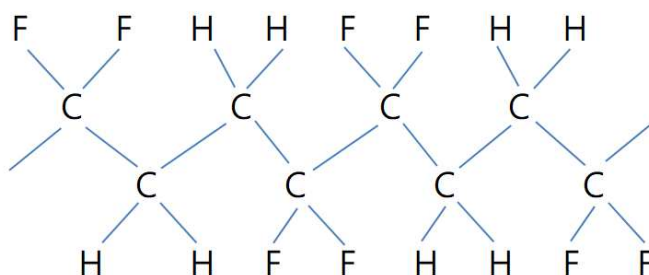
Výhodou těchto polymerů je vysoká flexibilita s modulem pružnosti přibližně 0,2 – 0,4 GPa, dobrá zpracovatelnost, snadná výroba a tvarovatelnost do různých geometrických tvarů [25,43]. Naopak velkou nevýhodou je nízká stabilita při vysokých teplotách a vlhkosti, ve srovnání s keramickými materiály mají nižší piezoelektrický koeficient [42]. Keramické materiály mají piezoelektrický koeficient 10 až 100 vyšší než polymery. Například Titanát zirkoničtan olovnatý má hodnotu piezoelektrického koeficientu 410 pC/N a PVDF 30 pC/N. [42,43].

3.3.1 Polyvinylidenfluorid (PVDF)

Jeden z nejznámějších zástupců této skupiny je polyvinylidenfluorid (**Obrázek 14**). Je to syntetický fluorovaný polymer. Vyrábí se radikálovou polymerizací vinylidenfluoridu [9].

Může existovat ve více krystalických formách, z nichž nejběžnější jsou α , β a γ fáze [6,9]. Fáze α je nejběžnější a má nízkou piezoelektrickou aktivitu, zatímco fáze β vykazuje výrazně vyšší piezoelektrické vlastnosti [6]. Je to důsledkem polarizace vytvářející se v důsledku uspořádání fluoridových a vodíkových atomů v polymerním řetězci [9]. Piezoelektrický efekt je vyvolán deformací materiálu pod vlivem mechanického napětí, což následně generuje elektrický náboj, tedy podobně jako u piezokeramických materiálů [6,9].

Je vysoce chemicky odolný. Odolává velmi dobře např. aromatickým rozpouštědlům, oxidačním činidlům, slabých a silným kyselinám či slabým zásadám [6]. Na druhou stranu je chemická odolnost PVDF omezena působením některých chemických látek zejména silných zásad, ketonů a esterů, což je třeba zohlednit při jeho aplikaci [6]. Mezi další výhody PVDF patří snadná zpracovatelnost a flexibilita [9].



Obrázek 14 Struktura PVDF

(zdroj: *Structure of PVDF*. Online. In: . Dostupné

z: <https://www.unictron.com/piezoelectric-components/piezoelectric-technologies/pvdf/>.

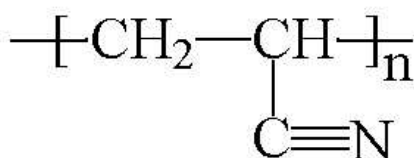
[cit. 2024-11-20].

Zpracování a modifikace PVDF hrají důležitou roli při určování jeho piezoelektrických vlastností [6]. Různé technologie, jako litografie, elektrospinning a 3D tisk, umožňují vytváření nanostruktur a rozmanitých morfologií optimalizujících výkon PVDF pro specifické aplikace [6,9,50]. Například elektrospinning umožňuje výrobu nanovláken PVDF, jež mají zvýšenou povrchovou plochu a vylepšené mechanické vlastnosti [6,9,50].

3.3.2 Polyakrylonitril (PAN)

Polyakrylonitril je syntetický lineární polymer (**Obrázek 15**), jehož chemická struktura se skládá z jednotek akrylnitrilu uspořádaných do dlouhých řetězců [51]. Díky této struktuře

vykazuje PAN specifické mechanické a elektrické vlastnosti [51]. Vyznačuje se vysokou polarizací díky své specifické chemické struktuře, která mu dává piezoelektrické vlastnosti [51,52]. Lze ho zpracovávat do různých forem, jako jsou filmy a vlákna, čímž se jeho mechanické a piezoelektrické vlastnosti dále přizpůsobují potřebám aplikací [52]. Krystalické fáze PAN, zejména β -fáze mající výraznější piezoelektrické vlastnosti než amorfni [51]. Výsledná polarizace se projevuje schopností PAN generovat elektrický náboj při deformaci materiálu mechanickým napětím [51].



Obrázek 15 Struktura PAN

(zdroj: *Structure of PAN. Online. In: . Dostupné*

z: https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-PAN_fig2_368465813. [cit. 2024-11-20].

Piezoelektrický jev vychází z asymetrie v jeho krystalické struktuře, která vzniká během procesu polarizace [52]. Když je PAN vystaven mechanickému napětí, posunují se atomy v jeho struktuře, což generuje elektrický náboj [51]. Tento jev může být ještě zesílen změnami teploty a různými metodami zpracování, které ovlivňují orientaci molekulárních řetězců v polymeru [52]. Hodnota piezoelektrického koeficientu je 20-30 pC/N [51].

Modifikace a zpracování PAN hrají důležitou roli v optimalizaci jeho piezoelektrických vlastností [52]. Techniky, jako je elektrospinning, umožňují výrobu nanovláken mající větší povrchovou plochu a vylepšené mechanické vlastnosti [51,52]. Tato nanovlákna mohou být dále kombinována s dalšími materiály, čímž se zvyšuje jejich piezoaktivní výkon a rozšiřují možnosti potenciálních aplikací [51,52].

4 PŘÍPRAVA PIEZOAKTIVNÍCH MATERIÁLŮ

Piezoaktivní materiály se vyrábějí různými metodami, které se liší v závislosti na použitých surovinách a požadovaných vlastnostech výsledného produktu.

4.1 Sol-gel metoda

Sol-gel metoda je chemický proces, který umožňuje výrobu piezoaktivních materiálů na molekulární úrovni [53]. V tomto procesu se suroviny (kovové alkoxidy nebo soli) dispergují v rozpouštědle a reagují, což vede k vytvoření gelové fáze [53,54]. Vzniklý gel se následně suší a kalcinuje, čímž se vytváří konečný piezoaktivní materiál. Sol-gel metoda se nejčastěji využívá pro výrobu tenkých vrstev [54].

Při použití sol-gel metody lze řídit složení a strukturu materiálu, a to umožňuje optimalizaci jeho piezoaktivních vlastností [53]. Výhodou této metody je že, lze dosáhnout různých fází krystalizace, což přímo ovlivňuje výkon materiálu [54]. Též má schopnost vyrábět homogenní materiály s dobrou adhezí k substrátům [53].

Syntetizovat piezoaktivní materiály touto metodou lze i při relativně nízkých teplotách, což je velmi výhodné pro aplikace, které jsou citlivé na teplo [54]. Nevýhodou této metody je že, může být časově náročná a vyžaduje pečlivé řízení chemických reakcí [53,54].

4.2 Syntéza z taveniny

Syntéza z taveniny je metodou, při které se vyrábějí keramické piezoaktivní materiály např. zirkonát titanový (PZT) [47,53]. Technika této metody spočívá v zahřátí surovin na vysoké teploty, což umožňuje jejich tavení a následné smíchání [53]. Jakmile je dosaženo požadované taveniny, materiál se ochladí a ztuhne, čímž vzniká pevná struktura s piezoaktivními vlastnostmi [47].

Jedním z klíčových aspektů této metody je kontrola chladicího procesu, jelikož rychlost ochlazení ovlivňuje mikrostrukturu a vlastnosti výsledného materiálu [53]. Různé chladicí techniky mohou optimalizovat krystalickou strukturu a zlepšit tak piezoaktivní vlastnosti [47]. Tato metoda také umožňuje přidávání různých dopantů pro dosažení specifických vlastností [53].

Na druhou stranu syntéza z taveniny vyžaduje vysoké teploty a specializované zařízení, což může být nákladné [47]. Pokud není proces pečlivě řízen, což může být nákladné. Pokud

není proces pečlivě řízen, může docházet k vzniku defektů v krystalické mřížce, které negativně ovlivňují výkon piezoaktivních materiálů [47,53].

4.3 Mechanické mletí

Mechanické mletí je technika používající k přípravě piezoaktivních materiálů, zejména keramiky [55]. V tomto procesu se suroviny (např. oxidy) mechanicky zpracovávají pomocí mlecích zařízení, aby se dosáhlo požadované velikosti částic [55,56]. Tento proces může zvýšit reaktivitu surovin a vést k homogennějšímu materiálu [55].

Díky mechanickému mletí lze dosáhnout různých velikostí částic a distribucí, což má významný vliv na výsledné piezoaktivní vlastnosti [56]. Mletí také může přispět k tvorbě porézní struktury, která zlepšuje výkon materiálu [55]. Navíc se tato metoda často používá jako předběžný krok před dalšími procesy, jako je slinování [56].

Mechanické mletí může vyžadovat dodatečné úpravy, jako je kalcinace, pro dosažení stabilní krystalické struktury [55]. Také je třeba pečlivě sledovat proces mletí, aby se minimalizovaly ztráty a defekty materiálu [55,56].

4.4 Hydrotermální metoda

Hydrotermální metoda je technika využívající vysoký tlak a teploty v kapalném médiu k syntéze piezoaktivních materiálů [57]. Tato metoda se často používá k výrobě piezoaktivní krystalů, jako je PZT [57,58]. V hydrotermálním prostředí mohou reagenty vytvářet struktury, které by se za normálních podmínek nevytvořily [57].

Jednou z hlavních výhod hydrotermální metody je schopnost syntetizovat materiály s vysokou čistotou a danou mikrostrukturou [58]. Díky kontrolovanému prostředí je možné dosáhnout lepších piezoaktivních vlastností než při tradičních metodách [57]. Též tato metoda umožňuje přidávání dopantů, které mohou zlepšit výkon materiálu [58].

Hydrotermální metoda může být energeticky náročná a vyžaduje specializovaná zařízení [57]. Proces může být citlivý na podmínky, jako je koncentrace a pH reagentů, což vyžaduje pečlivé sledování a optimalizace [57,58].

4.5 Polymerizace PVDF a PAN

Polymerizace představuje klíčovou metodu pro přípravu polymerních piezoelektrických materiálů, jako jsou PVDF a PAN. Tyto materiály nacházejí uplatnění v tkáňovém inženýrství díky kombinaci svých biokompatibilních a piezoelektrických vlastností. Během polymerizace dochází k řízení chemické reakci monomerů, čímž vznikají dlouhé polymerní řetězce s definovanými charakteristikami. Tento proces umožňuje přesnou kontrolu nad molekulovou strukturou a výslednými fyzikálními vlastnostmi materiálů, což je nezbytné pro jejich následné zpracování do funkčních struktur, například scaffoldů [2,25].

4.5.1 Polymerizace PVDF

PVDF je fluoropolymer s výraznými piezoelektrickými vlastnostmi, které PVDF umožňují generovat elektrický náboj při mechanickém zatížení [20]. Syntéza PVDF probíhá převážně radikálovou polymerizací vinylidenfluoridových monomerů. Tento proces, uskutečňovaný za přítomnosti iniciátorů (např. peroxidů) při zvýšené teplotě a tlaku, vede k tvorbě polymerních řetězců s krystalickou strukturou, která je zodpovědná za piezoelektrické chování materiálu [25]. Alternativní metodou je emulzní polymerizace, jež umožňuje přípravu PVDF s vyšší čistotou a kontrolovanou velikostí částic díky stabilizaci monomerů v emulzi [27]. Získaný PVDF je biokompatibilní a nachází uplatnění při výrobě scaffoldů určených k podpoře regenerace svalové či nervové tkáně [20,21].

4.5.2 Polymerizace PAN

PAN je polymer, jenž své piezoelektrické vlastnosti získává až po procesu polarizace. Využívá se pro výrobu nanovláken a také jako prekurzor pro syntézu uhlíkových vláken. Syntéza PAN se uskutečňuje radikálovou polymerizací akrylonitrilových monomerů, typicky v roztoku či suspenzi, za přítomnosti iniciátorů [27]. Tímto způsobem vznikají polymerní řetězce s vysokou molekulovou hmotností, které lze následně zpracovávat (např. metodou elektrospinningu), na porézní struktury vhodné pro scaffoldy [5]. PAN je využíván pro svou biokompatibilitu a mechanickou pevnost, díky čemuž je vhodným materiálem pro aplikaci v tkáňovém inženýrství, zejména pro podporu buněčné diferenciaci [2].

4.6 Přímé elektrochemické usazení

Přímé elektrochemické usazení je metodou zahrnující aplikaci elektrického pole k usazení piezoaktivních materiálů na substrát [59]. Tato technika umožňuje výrobu tenkých vrstev,

kteřé mají široké uplatnění v mikrosystémech a nanoelektronice [59,60]. Výhodou této metody je, že umožňuje přesné řízení tloušťky vrstvy a morfologii usazeného materiálu [59].

Tento proces může zlepšit adhezivní vlastnosti mezi vrstvami a substrátem, což je důležité pro dlouhodobou stabilitu zařízení [60]. Elektrochemické usazení umožňuje syntézu materiálů při nižších teplotách, což je výhodné pro integraci s jinými senzory nebo elektronickými komponenty [59]. Též může snadno upravovat strukturu a složení usazeného materiálu [60].

U elektrochemického usazení je důležité přesné řízení elektrochemických podmínek, což může být velmi složité [59]. Pokud by podmínky nebyly optimální, může dojít k vytvoření defektů nebo nedostatečnému usazení materiálu, které by mohlo ovlivnit jeho výkon [59,60].

4.7 PVD a CVD metody

Chemická depozice z páry (CVD) a fyzikální depozice z páry (PVD) jsou metody, které se používají pro nanášení tenkých vrstev piezoaktivních materiálů na substráty [61]. PVD zahrnuje fyzikální procesy, jako je sputtering nebo vypařování, při kterých se materiál nanáší na substrát [61]. Naopak CVD zahrnuje chemické reakce vedoucí k usazení materiálu na substrátu [62].

Metody PVD a CVD umožňují vysokou přesnost při kontrole tloušťky vrstev a chemického složení [61,62]. Díky tomu lze dosáhnout velmi kvalitních tenkých vrstev s požadovanými vlastnostmi [61]. Tyto metody se nejčastěji používají v mikroelektronice a při výrobě senzorů, kde jsou vyžadovány homogenní a tenké vrstvy [62].

CVD a PVD vyžadují speciální zařízení a mohou být energeticky náročné [61]. Procesy musí být pečlivě optimalizovány, aby se minimalizovaly defekty a zajistila se stabilita výsledných vrstev [61,62].

4.8 Elektrospinning

Elektrospinning je metoda využívající se k výrobě nanovláken, včetně piezoaktivních polymerních vláken [63,64]. Proces zahrnuje použití vysokého elektrického pole k vytvoření vláken z polymerního roztoku [63,65]. Tato vlákna mají extrémně malé průměry (v řádu nanometrů), což jim poskytuje unikátní mechanické a elektrické vlastnosti [58,59]. V případě piezoaktivních materiálů, jako je polyvinylidenfluorid (PVDF), jsou tato vlákna schopna vykazovat silný piezoelektrický jev díky své polarizované struktuře [6,9].

Tento proces je relativně jednoduchý a levný, což z něj činí dobrou volbu pro výrobu piezoaktivních materiálů v aplikacích, kde jsou potřeba flexibilní a lehké struktury [63,64]. Elektrospinning umožňuje snadnou modifikaci vlastností vláken, a to buď změnou polymerního roztoku, nebo experimentálními podmínkami, jako je intenzita elektrického pole či složení rozpouštědla [63,65]. Výsledná nanovlákna mohou být využita v nositelných technologiích, zdravotnických senzorech a dalších aplikacích [6,65].

Nevýhodou elektrospinningu je omezená kontrola nad strukturou jednotlivých vláken, což může vést k nehomogenitě ve vlastnostech materiálu. Důležité je dosáhnout optimální krystalické fáze, aby byla maximalizována piezoelektrická odezva [63-65].

4.9 3D tisk piezoaktivních materiálů

3D tisk piezoaktivních materiálů je technika umožňující výrobu složitých piezoelektrických struktur s vysokou přesností a flexibilitou [66,67]. Využívá aditivní výrobu, kde se materiál nanáší vrstvu po vrstvě podle předem vytvořeného digitálního modelu [66]. Výhodou této metody je, že umožňuje integraci piezoaktivních materiálů do složitých geometrických tvarů, které by byly obtížné či by nebylo možné je vyrobit pomocí jiných metod [67,68].

Při této metodě se nejčastěji využívají speciální piezoelektrické inkousty nebo práškové směsi, které jsou upraveny tak, aby mohly být zpracovány 3D tiskárnami. Často jsou využívány polymerní piezoelektrické materiály, jako je polyvinylidenfluorid (PVDF) [6,9]. Po vytisknutí je často nutné provést dodatečné zpracování, jako je polarizace materiálu, aby byly piezoelektrické vlastnosti aktivní [9].

Hlavní výhodou 3D tisku je jeho flexibilita při vytváření piezoelektrických zařízení pro specifické aplikace [67]. Naopak nevýhodou je omezená dostupnost vhodných materiálů a nutnost optimalizace mechanických a elektrických vlastností tisknutých struktur [66-68].

Jednou z pokročilých metod 3D tisku je melt-electrowriting (MEW), elektrickým polem asistovaný 3D tisk, která kombinuje tavenou extruzi s elektrohydrodynamickým působením, což umožňuje vytvářet mikrovláknité scaffoldy s piezoelektrickými vlastnostmi a přesnou kontrolou nad strukturou [63,66]. Tato technika je zvláště vhodná pro přípravu PVDF scaffoldů, protože umožňuje zpracování materiálu bez použití toxických rozpouštědel a dosažení vláken o průměru v řádu mikrometrů [9,67]. Například studie od Kade a kol. (2021) ukázala, že pomocí MEW lze vyrobit PVDF scaffoldy s vlákny o průměru 17–55 μm za použití vyhřívaného kolektoru při 110 $^{\circ}\text{C}$, což zlepšilo adhezi vrstev a umožnilo tisk až 20

vrstev s piezoelektrickými vlastnostmi vhodnými pro regeneraci tkání [5]. Tento přístup rozšiřuje možnosti výroby piezoaktivních struktur pro biomedicínské aplikace, jako jsou senzory nebo tkáňové inženýrství, a představuje alternativu k tradičním metodám, jako je elektrospinning, s vyšší přesností a řízením tohoto procesu [63,66,67].

4.10 Metody přípravy substrátů

Příprava substrátů představuje důležitý krok při vytváření funkčních struktur z piezoelektrických materiálů například scaffoldy pro tkáňové inženýrství. Substráty slouží jako podkladové vrstvy či nosné struktury, na které se nanášejí piezoelektrické materiály (např. PVDF nebo BaTiO₃), a zajišťují jejich mechanickou stabilitu, biokompatibilitu a interakci s buňkami. Tyto substráty, zhotovené z materiálu (např. křemíkové destičky, polymerní folie nebo biokompatibilní vrstvy), vyžadují specifické úpravy pro optimalizaci povrchových vlastností, adheze a podpory buněčného růstu [2,5].

4.10.1 Čištění povrchů

Čištění povrchů je úvodním krokem při přípravě substrátů, jehož cílem je odstranění nečistot a organických zbytků, které by mohly negativně ovlivnit adhezi nanášených piezoelektrických materiálů nebo výslednou buněčnou kompatibilitu. Mezi běžně využívané techniky patří plazmové čištění, při kterém se aplikuje nízkonoenergetické plazma k odstranění organických látek a aktivaci povrchu, a dále ultrazvukové čištění v roztocích, jako jsou ethanol či aceton, pro efektivní odstranění částic. Pro specifické materiály, například křemík nebo sklo, se uplatňuje také chemické ošetření, například zásadami nebo kyselinami [5]. Tyto metody přispívají ke zvýšení čistoty a adhezivitu substrátů [20].

4.10.2 Povrchová úprava

Modifikuje fyzikální či chemické vlastnosti substrátů s cílem zlepšit adhezi piezoelektrických materiálů a podpořit interakci s buňkami. Příkladem je silanizace, při které se na povrch aplikují silanové sloučeniny, čímž se vytvářejí funkční skupiny (např. aminoskupiny) umožňující lepší vazbu polymerního nebo keramických vrstev [27]. Plazmová polymerizace zase umožňuje depozici tenkých polymerních filmů s bioaktivními vlastnostmi, které mohou napodobovat mimobuněčnou matrix [2]. Dále se využívají biokompatibilní povlaky, tvořené například kolagenem nebo chitosanem, jež zvyšují přilnavost buněk a podporují regeneraci tkání např. svalová či nervová tkáň [5].

4.10.3 Depozice podkladových vrstev

Depozice podkladových vrstev spočívá ve vytváření tenkých filmů či povlaků, které slouží jako mezivrstvy mezi substrátem a vlastním piezoelektrickým materiálem. Tyto vrstvy mohou zlepšovat adhezi nebo poskytovat specifické funkční vlastnosti. Metoda spin-coating se často používá pro nanášení polymerních vrstev díky možnosti přesné kontroly tloušťky [25]. Dip-coating umožňuje potahování substrátů biokompatibilními materiály, jako je kolagen, s cílem zlepšení buněčné kompatibility [2]. Elektrochemická depozice nachází uplatnění při vytváření kovových nebo vodivých polymerních vrstev, které mohou zvyšovat elektrickou vodivost substrátu [5]. Existence těchto podkladových vrstev je nezbytné pro aplikace, kde piezoelektrické materiály, jako například BaTiO_3 , vyžadují stabilní a dobře definovaný podklad [57].

4.10.4 Výroba strukturovaných povrchů

Výroba strukturovaných povrchů zahrnuje soubor technik určených k vytváření mikro – či nanotopografických vzorů na substrátech. Tyto struktury mohou následně ovlivňovat buněčné chování např. buněčnou diferenciaci. Fotolitografie se využívá pro přesné vzorování povrchů prostřednictvím vytvoření mikrodrážek či mřížek, které mohou podporovat usměrněný růst neuronů [2]. Nanotopografické úpravy, jako je tvorba nanovláken či nanoporů, se připravují pomocí technik, jakými jsou anodizace či plazmové leptání, a přispívají ke zvýšení buněčné adheze a proliferaci [27]. Strukturované substráty nabývají zvláštního významu u piezoelektrických scaffoldů, kde povrchová topografie významně ovlivňuje například regeneraci nervových spojení [21].

5 APLIKACE PIEZO-AKTIVNÍCH MATERIÁLŮ

Piezoaktivní materiály, které při mechanickém namáhání generují elektrický náboj, nacházejí v tkáňovém inženýrství čím dál širší uplatnění díky své schopnosti napodobovat přirozené bioelektrické signály těla. V rámci tkáňového inženýrství se piezoaktivní materiály používají zejména při tvorbě scaffoldů podporující regeneraci svalové, nervové a kostní tkáně.

5.1 Regenerace kosti a kostní tkáně

Piezoaktivní materiály pro tkáňové inženýrství se od roku 2016 staly významným tématem mezi výzkumníky [6,7]. Biologické vlastnosti piezoaktivních materiálů závisejí hlavně na schopnosti napodobovat vlastnosti lidské kostní tkáně, přičemž klíčovým faktorem jsou elektrické signály [10,24]. Bioelektrické signály, jako jsou feroelektrické, piezoelektrické a pyroelektrické, přirozeně přítomné v živé kostní tkáni, zásadně ovlivňují procesy hojení a růstu kosti [8,11]. Vnější elektrická stimulace, elektrická pole a bioelektrické signály jsou klíčové pro regeneraci kostní tkáně [6,7]. Piezoaktivní materiály dokážou generovat elektrické signály i bez vnější stimulace, což podporuje přirozenou schopnost kostí k regeneraci [10,47]. Tyto materiály také vykazují inverzní piezoelektrický efekt, kdy fyziologické elektrické změny modulují jejich elektromechanické chování, což umožňuje přenos mechanických signálů do tkáně [8,11]. Při aplikaci piezoelektrického scaffoldu do kostního defektu se prostřednictvím fyziologického zatížení vyvolává elektrická stimulace, která aktivuje kalciové kanály v buněčné membráně a způsobuje hyperpolarizaci, jež podporuje proliferaci a osteogenní diferenciaci buněk, čímž urychluje regeneraci kostní tkáně [7,20].

Hojení kostí je procesem regenerace směřujícím k plné obnově tkáně bez jizev. Přesto podle studií 5–10 % pacientů trpí komplikacemi, které způsobují zpožděné hojení nebo nedostatečné hojení kostí [2,10]. Současný výzkum piezoelektrické stimulace kostních buněk se zaměřuje na osteoblasty a buňky s osteogenním potenciálem [6,7].

5.2 Regenerace svalové tkáně

Kosterní svaly mají schopnost samoregenerace díky aktivaci rezidentních svalových kmenových buněk, známých jako satelitní buňky [2,10]. Při nadměrném poškození, vlivem stárnutím či chronických onemocněních však může být přirozená regenerace narušena, což vyžaduje lékařské intervence [2]. Biofyzikální podněty hrají klíčovou roli v myogenní

diferenciaci a svalovém zrání [10]. Například mechanické podněty in vitro podporují zarovnání myoblastů, svalovou hypertrofii a fúzi myotubů [10]. Využití cyklického napětí se prokázalo jako efektivní pro aktivaci kultivovaných klidových satelitních buněk [10]. Elektrické podněty mají slibný potenciál ovlivnit svalové buňky v různých ohledech, včetně směrového uspořádání, diferenciace, syntézy proteinů a metabolické aktivity [6,10]. Piezoelektrické substráty mohou tyto mechanické a elektrické signály integrovat, čímž usnadňují regeneraci svalové tkáně [6,10,11].

5.3 Regenerace nervové tkáně a nervů

Piezoelektrické materiály, jako je Polyvinylidenfluorid (PVDF) a jeho kopolymery (např. PVDF-TrFE), generují povrchové náboje při mechanické deformaci [6,9]. Tyto náboje ovlivňují různé buněčné procesy, včetně diferenciace nervových buněk a prodloužení neuritů [20,21]. Například aplikace piezoelektrických scaffoldů vedla k aktivaci iontových kanálů, což zvýšilo příliv kalcia do buněk a podpořilo tvorbu neuritů prostřednictvím cAMP-závislých signálních drah, které jsou regulovány adenosinmonofosfátem [11,20].

Piezoelektrické systémy ve formě scaffoldů byly úspěšně použity pro kultivaci Schwannových buněk, což je klíčové pro regeneraci periferních nervů [11,20]. Studie ukázaly, že PVDF-TrFE nanovlákná podporují růst neuritů a myelizaci axonů [6,53]. Rovněž se osvědčilo využití kompozitních scaffoldů s polymerní maticí a bariérami titanátu jako plnivem, které zlepšují piezoelektrické vlastnosti a podporují diferenciaci neuronů při ultrazvukové stimulaci [57,63].

Experimenty na zvířecích modelech demonstrovaly schopnost piezoelektrických scaffoldů podporovat regeneraci nervové tkáně [11,21]. Implantace PVDF-TrFE scaffoldů urychlila obnovu poškozené míchy a podpořila axonální regeneraci, tj. růst axonů, dlouhých výběžků neuronů nezbytných pro přenos nervových signálů [20,21]. V kombinaci s ultrazvukovou stimulací tyto materiály zvyšují expresi, tj. produkci nervových růstových faktorů, které stimulují růst a opravu nervových buněk, a podporují regeneraci nervových spojení [11,21].

Kromě regenerace periferních nervů se piezoelektrické materiály zkoumají i v souvislosti s léčbou poranění centrální nervové soustavy, jako je poranění míchy nebo neurodegenerativní onemocnění [20,21]. Kombinace piezoelektrických scaffoldů s farmakologickou terapií a růstovými faktory do budoucna slibuje významné zlepšení regeneračních schopností nervové tkáně [11,20,21].

5.4 Regenerace kožní tkáně

Regenerace kožní tkáně je jednou z klíčových oblastí tkáňového inženýrství, která se zaměřuje na obnovu funkce a struktury kůže po úrazech, popáleninách nebo chronických ranách [2,4]. Kůže, jako největší orgán těla, má přirozenou schopnost regenerace, zejména díky přítomnosti dermálních buněk, jako jsou kmenové buňky vlasových folikulů a fibroblasty, které produkují ECM a podporují hojení [4]. Při rozsáhlých poškozeních přirozená regenerace nestačí, což vede ke ztrátě funkce nebo k tvorbě jizev, a proto je nutná intervence pomocí biomateriálů nebo scaffoldů [2]. V TE se k tomu využívají scaffoldy, které stimulují proliferaci a diferenciaci buněk, poskytují mechanickou podporu a napodobují strukturu ECM [5]. Mezi vhodné materiály patří přírodní polymery, jako je kolagen, díky své biokompatibilitě a schopnosti integrovat se do kožní tkáně [14].

Piezoaktivní materiály, jako PVDF, představují perspektivní přístup díky své schopnosti generovat elektrické signály při mechanické deformaci [6,9]. Tyto signály zvyšují aktivitu dermálních fibroblastů, urychlují tvorbu kolagenu a podporují hojení [11]. Například PVDF scaffoldy vyrobené metodou melt-electrowriting mají mikrovláknitou strukturu vhodnou pro difuzi živin a piezoelektrickou stimulaci buněk, což zlepšuje regeneraci kůže [13,63]. Kombinace těchto scaffoldů s autologními dermálními buňkami minimalizuje etické omezení a zvyšuje efektivitu [4,6].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 MATERIÁLY A METODY

6.1 Materiály

Polyvinylidenfluorid (PVDF-HFP)

Výrobce: Sigma-Aldrich

M_w : 400 000

M_n : 130 000

Úroveň kvality: 100

Polyvinylidenfluorid (PVDF) je termoplastický biokompatibilní fluoropolymer, který je široce využíván v biomedicině díky svým vynikajícím vlastnostem, jako jsou chemická stabilita, biokompatibilita, mechanická pevnost a odolnost vůči degradaci [2,5,27]. PVDF-MF použitý v tomto experimentu byl dodán ve formě granulí o průměru přibližně 2 mm. Tato specifická forma PVDF je charakterizována vysokou čistotou a nízkým obsahem nečistot, což je klíčové pro biologické aplikace [20,21]. Díky své polykrystalické struktuře vykazuje PVDF piezoelektrické vlastnosti, které mohou podporovat buněčnou adhezi a proliferaci, jak bylo diskutováno v teoretické části práce [2,20,21]. PVDF-MF byl zvolen pro svou schopnost tvořit pevné a homogenní filmy po rozpuštění a sušení, což umožňuje vytvoření povrchů s kontrolovanou topografií [5,20,21].

Dimethylformamid (DMF)

Výrobce: Sigma-Aldrich

Molekulová hmotnost: 73,02 g/mol

Čistota: 99,8 %

Úroveň kvality: 300

Dimethylformamidu (DMF, systematický název N,N-dimethylformamid) je polární rozpouštědlo s vysokou rozpustností pro širokou škálu polymerů, včetně PVDF [25,27]. DMF použitý v experimentu je bezbarvá kapalina s bodem varu 153 °C a hustotou 0,945 g/ml při 20 °C. Jeho vysoká dielektrická konstanta ($\epsilon = 36,7$) a dipólový moment zajišťují efektivní rozpuštění polykrystalických polymerů, jako je PVDF, díky narušení intermolekulárních vazeb v polymerní matici [20,21,25]. DMF byl zvolen jako rozpouštědlo díky své schopnosti vytvářet homogenní roztoky s PVDF při zvýšených teplotách (např. 60 °C), což je nezbytné pro přípravu polymerních povrchů [20,21]. Přestože je DMF toxické a vyžaduje opatrnou manipulaci, jeho použití bylo nezbytné kvůli absenci méně toxických alternativ s podobnou rozpustností pro PVDF [20,21,25].

Barium titanát (BaTiO_3)

Výrobce: Sigma-Aldrich

Molekulová hmotnost: 233,19 g/mol

Čistota: 99 %

Velikost částic: 100 nm

Krystalografická struktura: kubická

Barium titanát je piezoelektrický keramický materiál, který zvyšuje funkčnost biomateriálů [2,5,57]. Velikost částic BaTiO_3 použitých v experimentu umožnila jejich rovnoměrnou disperzi v polymerní matici [5,57]. BaTiO_3 byl zvolen pro svou schopnost zlepšit piezoelektrické vlastnosti kompozitního povrchu, což může podporovat buněčnou odpověď při mechanické nebo elektrické stimulaci [20,21,57].

Stroncium titanát (SrTiO_3)

Výrobce: Sigma-Aldrich

Molekulová hmotnost: 183,49 g/mol

Čistota: 99 %

Velikost částic: 100 nm

Stroncium titanát je keramický materiál s perovskitovou strukturou, složený ze stroncía, titanu a kyslíku [2,5]. Je netoxický a vhodný pro kontakt s biologickými tkáněmi, což podporuje jeho použití v scafoldech [5]. Má vysokou tvrdost a odolnost. V tkáňovém inženýrství se SrTiO_3 využívá díky své biokompatibilitě a schopnosti generovat elektrické náboje při mechanickém zatížení, což stimuluje buněčné procesy, jako je regenerace nebo diferenciací [2,20,21,57].

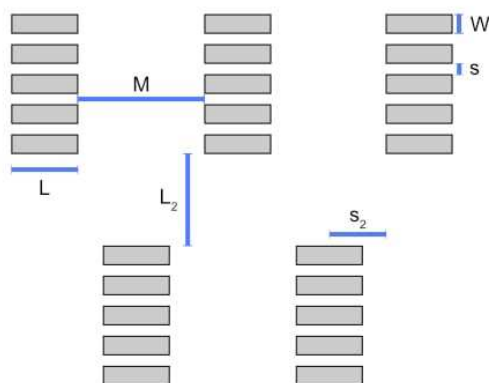
Modifikované částice:

Barium titanát – PBA – Částice byly nejprve povrchově upraveny (např. HCl pro vytvoření hydroxylových skupin, následně (3-aminopropyl) triethoxysilanem (APTES) pro zavedení aminových skupin). Na tyto povrchové aminové skupiny byl imobilizován ATRP iniciátor (2-brompropionylbromid, BPB). Nakonec byl z těchto iniciátorových míst polymerován n-butylakrylát (BA) metodou povrchově iniciované radikálové polymerizace s přenosem atomu (SI-ATRP), čímž se na povrchu CI částic vytvořila tenká vrstva (shell) z poly(n-butylakrylátu) (PBA) – viz [69]

Stroncium titanát – PTFEMA – Nanočástice SrTiO_3 byly nejprve povrchově funkcionalizovány kovalentním navázáním bifunkčního ATRP iniciátoru (2-

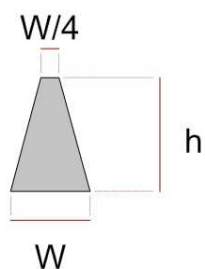
brombutyrylbromid, BBiB). Následně byl z těchto povrchově vázaných iniciátorových míst polymerován monomer 2,2,2-trifluoretylmetakrylát (TFEMA) metodou povrchově iniciované radikálové polymerizace s přenosem atomu (SI-ATRP). Tímto způsobem byl na povrchu nanočástic SrTiO_3 vytvořen tenký nanovrstvý povlak z poly(2,2,2-trifluoretylmetakrylátu) (PTFEMA) viz [70].

Matrice s topografií: Mikrostrukturovaná silikonová forma (připravená fotolitografií, poskytnuta laboratoří), která definovala topografii výsledného povrchu.



Obrázek 16 Struktury

(zdroj: vlastní)

Profilový řez
výčnělku

Obrázek 17 Profilový řez výčnělku

(zdroj: vlastní)

Tabulka 1 Parametry povrchových struktur

Vzorek	h [nm]	L [nm]	W [nm]	s [nm]	M [nm]	L ₂ [nm]	s ₂ [nm] s ₂ =M/2
3C	500	6000	1500	1500	4500	1500	2250
4C	500	12000	3000	3000	10000	3000	5000

7 REALIZACE EXPERIMENTU

7.1 Sonifikace roztoku s částicemi BaTiO₃

Do skleněné kádinky o objemu 25 ml bylo nalito přibližně 20 ml DMF. Pomocí pipety bylo odpipetováno 17 ml DMF, což odpovídalo hmotnosti 16,065 g (při hustotě 0,945 g/ml), a přelito do skleněné vialky o objemu 30 ml. Na analytických vahách bylo naváženo 0,3 g částic barium titanátu (stroncium titanátu) na Petriho misce, které byly poté přidány do vialky s DMF. Vialky byla uzavřena víčkem potaženým parafilmem, do kterého byl vytvořen otvor pro vložení sonifikační sondy a pozdější přidávání granulátů PVDF-HFP.

Roztok s částicemi BaTiO₃ (SrTiO₃) byl umístěn do sonikátoru vybaveného ultrazvukovou sondou (sonda H3). Sonda byla ponořena do roztoku přibližně 1 cm nad dnem vialky, aby bylo zajištěno efektivní šíření ultrazvukových vln. Sonifikace byla provedena v šesti po sobě následujících cyklech s různými nastaveními cyklu, amplitudy a času, aby byla zajištěna optimální disperze částic a minimalizována tvorba aglomerátů. Parametry jednotlivých cyklů jsou uvedeny v následující **tabulce 2**:

Tabulka 2 Parametry cyklů, amplitud a času

Cyklus	Amplituda [%]	Čas[min]
0,5	70	5
1	40	5
1	70	5
1	30	10
1	50	10
1	90	3

Každý cyklus byl pečlivě monitorován, aby bylo zajištěno, že roztok zůstává stabilní a nedochází k přehřátí. Po každém cyklu byl roztok vizuálně zkontrolován na přítomnost sedimentu nebo aglomerátů. Po dokončení sonifikace byl roztok homogenní, s rovnoměrně dispergovanými částicemi BaTiO₃ (SrTiO₃).

7.2 Příprava roztoku PVDF-HFP

Po sonifikace byl roztok s částicemi BaTiO₃ (SrTiO₃) připraven pro přidání granulátů PVDF-HFP a homogenizaci. Vialka s roztokem byla umístěna na magnetické míchadlo,

které bylo ponořeno do vodní lázně vytvořené skleněnou kádinkou s destilovanou vodou. Vodní lázeň byla ohřívána na 60 °C, přičemž teplota byla kontrolována pomocí teplotní sondy. Magnetické míchadlo bylo nastaveno na rychlost 280 otáček za minutu, aby bylo zajištěno rovnoměrné míchání a zabráněno tvorbě shluků. Roztok byl ohříván přibližně 10 minut, dokud teplota vody nedosáhla stabilních 60 °C, což je optimální teplota pro rozpuštění PVDF v DMF díky snížení viskozity rozpouštědla a zvýšení solubility polymeru. Na analytických vahách bylo naváženo 4 g granulátu PVDF-MF na Petriho misce.

Po dosažení teploty 60 °C byly pomocí pinzety postupně přidávány granuláty PVDF-HFP. Proces přidávání byl rozdělen do dvou fází, aby bylo zabráněno rychlému zahuštění roztoku, které by mohlo vést k nerovnoměrnému rozpuštění:

- 1) V první fázi byly po 5minutových intervalech přidávány 3 granuláty PVDF-HFP.
- 2) V druhé fázi, kdy roztok začal vykazovat zvýšenou viskozitu, byl interval zkrácen na 3 minuty a přidáván pouze 1 granulát za interval. Tímto způsobem byly přidány zbývající granuláty.

Během přidávání granulátů byl roztok míchán při 60 °C, aby bylo zajištěno úplné rozpuštění PVDF-HFP a rovnoměrná distribuce částic BaTiO₃ (SrTiO₃). Po přidání všech granulátů byl roztok vizuálně zkontrolován na přítomnost nerozpuštěných částic a nechal se ještě zahřívát na magnetické míchačce ve vodní lázni, aby bylo zajištěno úplné rozpuštění PVDF-HFP.

7.3 Přelití roztoku a sušení

Homogenní roztok obsahující PVDF-HFP a částice BaTiO₃ (SrTiO₃) byl opatrně přelit do sterilní Petriho misky, která obsahovala předem připravenou silikonovou matici s mikrostrukturami. Přelití bylo provedeno pomocí skleněné tyčinky, aby bylo zajištěno rovnoměrné rozložení roztoku a minimalizováno vytváření bublin. Petriho miska s roztokem a maticí byla umístěna do sušárny nastavené na teplotu 50 °C a tlak 800 mbar. Tato kombinace teploty a tlaku byla zvolena pro zajištění pomalého odpařování DMF, což je nezbytné pro vytvoření hladkého a homogenního polymerního filmu bez defektů, jako jsou trhliny nebo póry. Proces sušení trval 24 hodin.

7.4 Metody charakterizace připravených substrátů

Tahové zkoušky

Pro testování tahových vlastností substrátů byl použit přístroj Testometric, což je univerzální zkušební stroj navržený pro přesné měření mechanických vlastností materiálů, jako jsou polymery, kompozity nebo kovy. Tato metoda zahrnuje následující kroky:

Vzorek o rozměrech 2 mm (šířka), 0,4 mm (tloušťka) a 10 mm (délka) byl upevněn mezi čelisti přístroje. Před zahájením zkoušky bylo aplikováno předpětí 0,5 N, aby se zajistilo správné napnutí vzorku bez počátečního prověšení. Následně byl vzorek vystaven tahovému zatížení při konstantní rychlosti deformace 10 mm/min. Přístroj Testometric automaticky zaznamenával sílu (v N) a prodloužení vzorku, z čehož byly vypočteny hodnoty napětí (v N/mm²) a deformace (v %). Zkouška probíhala až do přetržení vzorku, přičemž získaná data byla použita k vytvoření napětí-deformační křivky, která umožnila analýzu klíčových mechanických vlastností, jako je Youngův modul, maximální napětí, deformace při přetržení a napětí při přetržení.

FTIR

Pro kvantifikaci obsahu beta fáze v PVDF materiálu byla použita Fourierova transformační infračervená spektroskopie (FTIR). Tato metoda umožňuje identifikaci krystalických fází PVDF na základě charakteristických absorpčních píků odpovídajících alfa a beta fází. FTIR spektra byla získána v rozsahu vlnových čísel relevantních pro identifikaci jednotlivých fází, konkrétně kolem 762 cm⁻¹ pro alfa fázi a 840 cm⁻¹ pro beta fázi.

Obsah beta fáze ($F(\beta)$) byl vypočítán podle rovnice:

$$F(\beta) = \frac{A_{\beta}}{\left(\frac{\kappa_{\beta}}{\kappa_{\alpha}}\right)A_{\alpha} + A_{\beta}} \quad (1)$$

kde:

- A_{α} a A_{β} jsou absorbance na vlnočtech 762 cm⁻¹ (charakteristický pro α -fázi) a 840 cm⁻¹ (charakteristický pro β -fázi).
- K_{α} a K_{β} jsou absorpční koeficienty pro α -krystalickou fázi (6.1×10^4 cm² mol⁻¹) a β -krystalickou fázi (7.7×10^4 cm² mol⁻¹).

Cytotoxicita

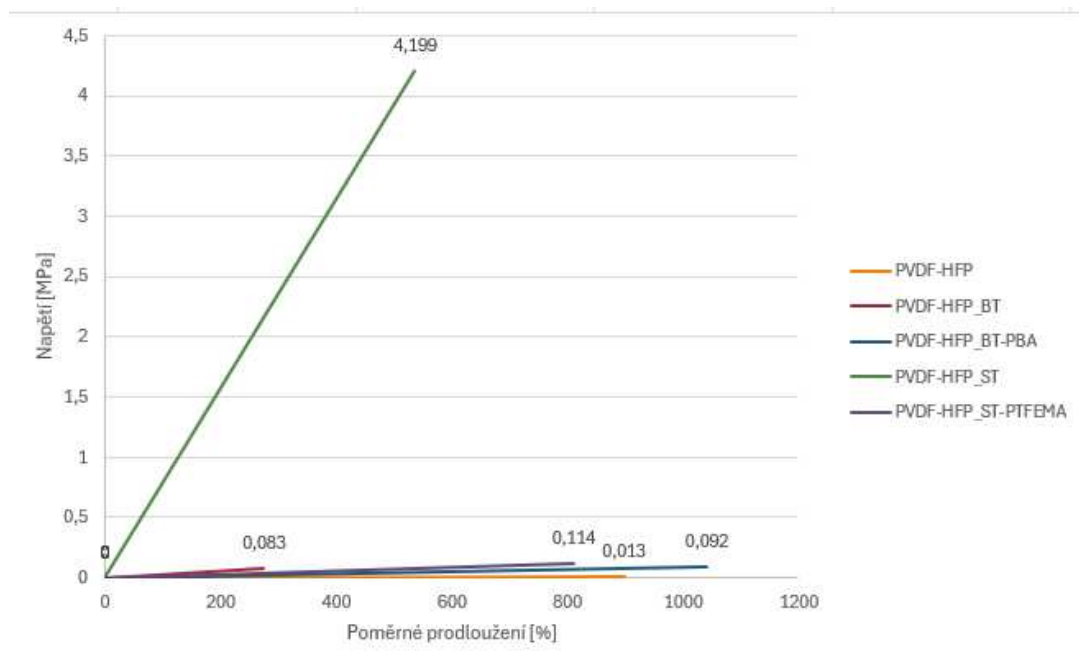
Pro posouzení cytotoxicity extraktů byly použity myší embryonální fibroblastové buňky (linie ATCC CRL-1658 NIH/3T3, USA), kultivované v Dulbeccově modifikovaném Eagleově médiu (Biosera, Francie) s přidavkem 10 % telecího séra a 1 % penicilinu/streptomycinu při 37 °C a 5 % CO₂ v zvlhčeném vzduchu. Vzorky (1–5) byly extrahovány podle normy ISO 10993 v koncentraci 0,2 g/ml v pěstebním médiu za míchání při 37 °C. Na první den byla buněčná suspenze v koncentraci 2×10^5 buněk/ml vyseta na 96-jamkovou destičku (TPP, Švýcarsko). Druhý den byly extrakty po filtraci (0,22 µm) přidány k buňkám v koncentracích 100, 90, 75, 50, 25 a 10 %. Třetí den byla provedena mikroskopická analýza morfologie buněk pomocí inverzního mikroskopu Olympus IX 81 a test životaschopnosti MTT (Duchefa Biochemie, Nizozemsko), kde byla absorbance měřena při 570 nm s referenční vlnovou délkou 690 nm. Výsledky byly vyjádřeny jako procentuální snížení životaschopnosti v porovnání s kontrolními buňkami kultivovanými bez testovaných materiálů.

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tahové zkoušky

Tabulka 3 Hodnoty tahových zkoušek pro jednotlivé vzorky

Vzorek	Youngův modul pružnosti [N/mm ²]	Napětí [MPa]	Prodloužení při přetržení [%]
PVDF-HFP	387,352	0,013	897,828
PVDF-HFP_BT	400,937	0,083	275,137
PVDF-HFP_BT-PBA	79,852	0,092	1041,218
PVDF-HFP_ST	376,082	4,199	536,718
PVDF-HFP_ST-PTFEMA	334,952	0,114	810,877



Obrázek 18 Tahové zkoušky

(zdroj: vlastní)

Obrázek 18 a **Tabulka 3** prezentuje výsledky tahových zkoušek pro pět různých polymerních vzorků na bázi PVDF-HFP a jeho směsí/modifikací (s PVDF-HFP_BT, PVDF-HFP_BT-PBA, PVDF-HFP_ST, PVDF-HFP_ST-PTFEMA).

Tahové zkoušky ukázaly, jak přidavek keramických částic a jejich povrchová modifikace ovlivnily mechanické vlastnosti matrice PVDF-HFP, která v čisté formě vykazovala Youngův modul 387,352N/mm², napětí při přetržení 0,013 MPa a prodloužení 897,828 %.

Přídavek nemodifikovaného Titanátu barnatého (BaTiO_3) k PVDF-HFP mírně zvýšil tuhost (Youngův modul na 400,937N/mm²) a napětí při přetržení (na 0,083 MPa), avšak výrazně snížil prodloužení (na 275,137 %). Modifikace těchto BaTiO_3 částic pomocí PBA u vzorku PVDF-HFP_BT-PBA vedla k výraznému snížení tuhosti (Youngův modul na 79,852N/mm²) při zachování srovnatelného napětí při přetržení (0,092 MPa) jako u nemodifikovaného BaTiO_3 , ale dosáhla nejvyššího prodloužení ze všech vzorků (1041,218 %).

U kompozitů s Titanátem strontnatým (SrTiO_3) vykazoval vzorek PVDF-HFP_ST s nemodifikovanými částicemi tuhost (376,082N/mm²) podobnou čistému PVDF-HFP, ale zdaleka nejvyšší napětí při přetržení (4,199 MPa) při prodloužení 536,718 %. Modifikace SrTiO_3 částic pomocí PTFEMA (vzorek PVDF-HFP_ST-PTFEMA) mírně snížila tuhost (Youngův modul na 334,952N/mm²) a napětí při přetržení (0,114 MPa) ve srovnání s nemodifikovaným SrTiO_3 , ale zachovala vysoké prodloužení (810,877 %), srovnatelné s čistým PVDF-HFP.

Celkově tedy přídavek nemodifikovaného SrTiO_3 nejvýrazněji zvýšil pevnost materiálu. Modifikace BaTiO_3 částic pomocí PBA vedla k největšímu prodloužení, zatímco nemodifikovaný BaTiO_3 mírně zvýšil tuhost na úkor tažnosti. Modifikace SrTiO_3 pomocí PTFEMA pak nabídla kompromis mezi zachováním vysoké tažnosti a mírným zvýšením napětí při přetržení oproti čistému PVDF-HFP.

FTIR

Tabulka 4 Hodnoty Beta fáze jednotlivých substrátů

Vzorek	Beta fáze	Beta fáze v %
PVDF-HFP	0,5982888	59,83
PVDF-HFP BT	0,6423041	64,23
PVDF-HFP BT-PBA	0,768416	76,84
PVDF-HFP ST	0,4408901	44,09
PVDF-HFP ST-PTFEMA	0,5385537	53,86
PVDF-HFP BT- 4C	0,6274889	62,75
PVDF-HFP BT-PBA – 4C	0,6739511	67,40
PVDF-HFP ST – 4C	0,5045956	50,46
PVDF-HFP ST-PTFEMA – 4C	0,6283677	62,84
PVDF-HFP BT- 3C	0,6443768	64,44
PVDF-HFP BT-PBA – 3C	0,6731749	67,32
PVDF-HFP ST – 3C	0,4873502	48,74
PVDF-HFP_ST-PTFEMA – 3C	0,6244506	62,45

PVDF-HFP	PVDF-HFP 3C	0,4955451	49,55
PVDF-HFP	PVDF-HFP 4C	0,6943421	69,43

Tabulka 4 shrnuje kvantitativní vyhodnocení obsahu krystalické beta fáze v sérii vzorků na bázi kopolymeru PVDF-HFP a jeho různých modifikací, včetně s odlišným strukturním uspořádáním (3C,4C). Obsah beta fáze je klíčovým parametrem ovlivňujícím zejména piezoelektrické, pyroelektrické a feroelektrické vlastnosti PVDF materiálů.

Analýza základních materiálů ukázala, že čistý PVDF-HFP vykazuje výchozí podíl beta fáze 59,83 %. Přidáním nemodifikovaného titanátu barnatého (PVDF-HFP_BT) se tento podíl zvýšil na 64,23 %, což je více než u čistého PVDF-HFP. Naopak, materiál PVDF-HFP s nemodifikovaným titanátem strontnatým (PVDF-HFP_ST) měl nejnižší výchozí podíl beta fáze, a to 44,09 %.

Při zkoumání vlivu modifikátorů PBA a PTFEMA na nestrukturovaných vzorcích bylo zjištěno, že modifikace titanátu barnatého pomocí PBA (BT-PBA) vedla k nejvyššímu dosaženému podílu beta fáze v celé sadě vzorků, konkrétně 76,84 %. Tento výsledek naznačuje, že PBA je velmi efektivní pro podporu tvorby beta fáze v matrici s titanátem barnatým. Modifikace PVDF-HFP_ST pomocí PTFEMA (ST-PTFEMA) rovněž zvýšila podíl beta fáze ze 44,09 % na 53,86 %, avšak tento nárůst nebyl tak výrazný jako u kombinace BT a PBA.

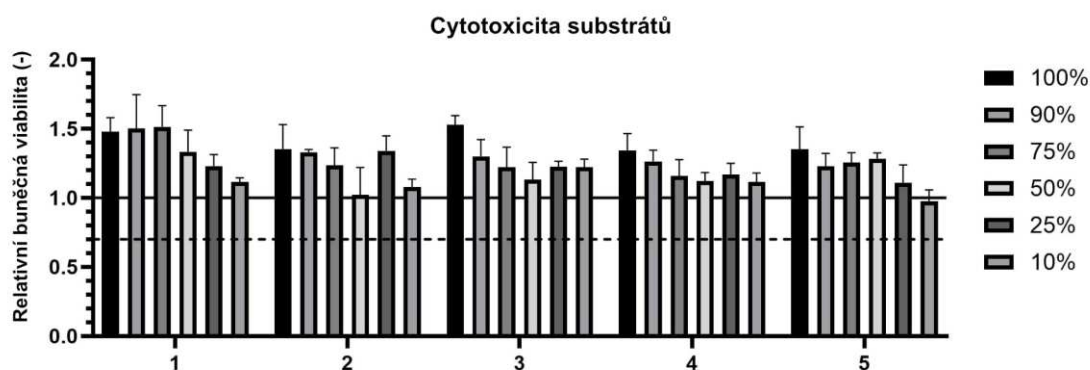
Dále byl hodnocen vliv mikrostruktury 4C. U čistého PVDF-HFP vedla struktura 4C k výraznému zvýšení podílu beta fáze z 59,83 % na 69,43 %. U materiálu PVDF-HFP_BT však struktura 4C mírně snížila podíl beta fáze z 64,23 % na 62,75 %. Podobně u PVDF-HFP_BT-PBA struktura 4C způsobila pokles beta fáze oproti nemodifikovanému vzorku PVDF-HFP_BT-PBA (ze 76,84 % na 67,40 %), i když hodnota stále zůstala vyšší než u čistého BT. Na druhou stranu, u materiálů PVDF-HFP_ST i PVDF-HFP_ST-PTFEMA struktura 4C podíl beta fáze zvýšila, konkrétně na 50,46 % pro PVDF-HFP_ST-4C a 62,84 % pro PVDF-HFP_ST-PTFEMA-4C.

Podobně byl zkoumán i vliv mikrostruktury 3C. U čistého PVDF-HFP struktura 3C naopak snížila podíl beta fáze z 59,83 % na 49,55 %. U materiálu PVDF-HFP_BT měla struktura 3C téměř zanedbatelný vliv, s nepatrnou změnou z 64,23 % na 64,44 %. U vzorku PVDF-HFP_BT-PBA vedla struktura 3C k poklesu beta fáze oproti nemodifikovanému BT-PBA (ze 76,84 % na 67,32 %), což je podobný efekt jako u 4C struktury. U materiálů

PVDF HFP_ST i PVDF-HFP_ST-PTFEMA struktura 3C opět zvýšila podíl beta fáze, a to na 48,74 % pro ST-3C a 62,45 % pro ST-PTFEMA-3C.

Při porovnání obou typů struktur, 3C a 4C, bylo zjištěno, že pro čistý PVDF-HFP je struktura 4C (69,43 %) výrazně výhodnější než struktura 3C (49,55 %). Pro PVDF-HFP_BT byla struktura 3C (64,44 %) nepatrně lepší než 4C (62,75 %). U materiálu PVDF-HFP_BT-PBA byly obě struktury srovnatelné (4C: 67,40 %; 3C: 67,32 %) a obě snižovaly obsah beta fáze oproti nestrukturovanému vzorku. Pro PVDF-HFP_ST byla struktura 4C (50,46 %) mírně lepší než 3C (48,74 %), a podobně pro PVDF-HFP_ST-PTFEMA byla struktura 4C (62,84 %) mírně výhodnější než 3C (62,45 %).

Cytotoxicita:



Obrázek 19 Cytotoxicita substrátů

(zdroj: vlastní)

Obrázek 19 zobrazuje průměrné hodnoty relativní životaschopnosti pro každý vzorek v jednotlivých koncentracích extraktů, doplněné o chybové sloupce, které indikují rozptyl dat (standardní odchylku). Všechny testované vzorky vykazují relativní životaschopnost nad prahem 0,7 napříč všemi koncentracemi, což naznačuje, že žádný z materiálů není cytotoxický podle stanovených kritérií. Nejvyšší hodnoty životaschopnosti (přibližně 1,5–1,8) byly pozorovány u vzorku čistého PVDF (1) a PVDF ST-PTFEMA (5) při nižších koncentracích (10–50 %), zatímco vzorek PVDF BT (2) vykázal mírně nižší hodnoty (přibližně 1,0–1,3), což může souviset s rozdíly v chemickém složení nebo zpracováním materiálu. Vzorek PVDF BT-PBA (3) a PVDF ST (4) vykazovaly stabilní hodnoty kolem 1,0–1,4, s minimálním poklesem při vyšších koncentracích.

Závěrem lze říct, že všechny testované vzorky jsou biologicky bezpečné a neovlivňují negativně životaschopnost buněk i při maximální koncentraci extraktu (100 %).

ZÁVĚR

Teoretická část této práce se zabývá přehledem o problematice tkáňového inženýrství, jeho principech, historickém vývoji a významu v moderní medicíně. Detailně byly rozebrány různé typy biomateriálů využívaných v tkáňovém inženýrství, zahrnující materiály přírodní (jako kolagen, fibrin, chitosan), syntetické (kyselina polyglykolová, kyselina polymléčná) a keramické (hydroxyapatit). Zvláštní pozornost byla věnována piezo-aktivním materiálům, jejich klasifikaci na keramické (PZT, BaTiO_3), anorganické (ZnO) a polymerní (PVDF, PAN), metodám jejich přípravy (včetně sol-gel metody, syntézy z taveniny, elektrospinningu či 3D tisku) a metodám přípravy substrátů pro tkáňové inženýrství.

V praktické části byly připraveny kompozitní polymerní substráty na bázi kopolymeru Polyvinylidenfluoridu-hexafluorpropyleny (PVDF-HFP) s přídavkem nemodifikovaných a modifikovaných keramických částic Titanátu barnatého (BaTiO_3) a Titanátu strontnatého (SrTiO_3). Konkrétně byly použity částice BaTiO_3 modifikované (PBA) a částice SrTiO_3 modifikované (PTFEMA). Příprava vzorků zahrnovala sonifikaci roztoku s částicemi v dimethylformamidu (DMF) pro zajištění jejich optimální disperze, následnou přípravu roztoku PVDF-HFP a finální přelití homogenního roztoku do Petriho misek se silikonovou maticí s mikrostrukturami a jeho sušení. Připravené substráty byly následně charakterizovány z hlediska jejich mechanických vlastností pomocí tahových zkoušek, obsahu krystalické beta fáze metodou FTIR a biokompatibilitu prostřednictvím testů cytotoxicity.

Z provedených měření vyplynulo, že v rámci tahových zkoušek vykazoval nejvyšší pevnost v tahu (napětí při přetržení 4,199 MPa) vzorek PVDF-HFP s nemodifikovanými částicemi SrTiO_3 . Naopak nejvyšší tažnost (prodloužení při přetržení 1041,218 %) byla zjištěna u vzorku PVDF-HFP s modifikovanými částicemi BaTiO_3 – PBA. Nejtužším materiálem s Youngovým modulem pružnosti $400,937 \text{ N/mm}^2$ byl vzorek PVDF-HFP s nemodifikovanými částicemi BaTiO_3 . Analýza FTIR ukázala, že nejvyššího obsahu piezoelektricky aktivní beta fáze (76,84 %) dosáhl vzorek PVDF-HFP s modifikovanými částicemi BaTiO_3 – PBA. Testy cytotoxicity potvrdily, že všechny testované vzorky byly shledány jako ne cytotoxické, jelikož relativní buněčná viabilita pro všechny koncentrace extraktů přesahovala hraniční hodnotu 0,7. Nejvyšší hodnoty buněčné viability (přibližně 1,5-1,8) při nižších koncentracích extraktu (10-50 %) byly pozorovány u vzorků čistého PVDF-HFP a PVDF-HFP s modifikovanými částicemi SrTiO_3 – PTFEMA.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Tissue Engineering and Regenerative Medicine. Online. Dostupné z: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/tissue-engineering-andregenerative-medicine>. [cit. 2024-10-28].
- [2] LANZA, Robert; LANGER, Robert; P. VACANTI, Joseph a ATALA, Anthony. Principles of Tissue Engineering. Online. Dostupné z: https://www.aghalibrary.com/storage/books/1602276022_AWKLibrary.pdf. [cit. 2024-10-28].
- [3] What is tissue engineering. Online. Dostupné z: <https://www.eurogct.org/what-tissueengineering>. [cit. 2024-10-28].
- [4] CASTELLS-SALA, Cristina a ALEMANY-RIBES, Mireia. Current Applications of Tissue Engineering in Biomedicine. Online. S. 16. Dostupné z: https://www.researchgate.net/profile/Cristina-CastellsSala/publication/281029988_Current_applications_in_Tissue_Engineering/links/55d1a9c708ae6a881385f3b2/Current-applications-in-Tissue-Engineering.pdf. [cit. 2024-11-03].
- [5] Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. Online. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S136970211170058X>. [cit. 2024-10-28].
- [6] RIBEIRO, Clarisse; SENCADAS, Vítor; CORREIA, Daniela M. a LANCEROSMÉNDEZ, Senentxu, 2015. Piezoelectric polymers as biomaterials for tissue engineering applications. Online. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776515301600?via%3Dihub>. [cit. 2024-11-09].
- [7] ZASZCZYŃSKA, Angelika; ZABIELSKI, Konrad; GRADYS, Arkadiusz; KOWALCZYK, Tomasz a SĄKIEWICZ, Paweł, 2024. Piezoelectric Scaffolds as Smart Materials for Bone Tissue Engineering. Online. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2073-4360/16/19/2797>. [cit. 2024-11-17].
- [8] The Piezoelectric Effect. Online. Dostupné z: <https://www.nanomotion.com/nanomotion-technology/the-piezoelectric-effect/>. [cit. 2024-11-09].

- [9] MARTINS, P.; LOPES, A.C. a LANCEROS-MENDEZ, S., 2016. Electroactive phases of poly(vinylidene fluoride): Determination, processing and applications. Online. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670013000865>. [cit. 2024-11-09].
- [10] LIU, P. Joseph; WANG, K.; LI, L.; ZHANG, R. a XU, Z.P. Gordon, 2023. Lead-free piezoelectric materials for musculoskeletal tissue engineering. Online. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589234723000799#sec2>. [cit. 2024-11-17].
- [11] RAJABI, Amir Hossein; JAFFE, Michael a ARINZEH, Treena Livingston, 2015. Piezoelectric materials for tissue regeneration: A review. Online. Dostupné z: <https://www.ceas3.uc.edu/ret/archive/2019/ret/docs/readings/Project%201/Piezoelectric%20materials%20for%20tissue%20regeneration.pdf>. [cit. 2024-11-17].
- [12] Tissue Engineering: Toward a New Era of Medicine. Online. Dostupné z: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-med-102715-092331#right-ref-B2>. [cit. 2024-10-28].
- [13] The history of tissue engineering. Online. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1582-4934.2006.tb00421.x>. [cit. 2024-10-28].
- [14] DONG, Chanjuan Dong a LV, Yonggang Lv. Application of Collagen Scaffold in Tissue Engineering: Recent Advances and New Perspectives. Online. Dostupné z: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6432532/#B14-polymers-08-00042>. [cit. 2024-11-03].
- [15] Tissue Engineering and Regenerative Medicine: Achievements, Future, and Sustainability in Asia, 2005. Online. Dostupné z: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7105900/>. [cit. 2024-10-28].
- [16] Tissue regeneration: The past, the present and the future. Online. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020138305004171?casa_token=il3sdZScG4oAAAAA:XDiu0r4gfMxoJ05HjMzmlqBIr4F4Kfw5ciF1q8J2mVxPXLHD5vHNOAHHrrGGxuNwkrGVYD6n6w. [cit. 2024-10-28].
- [17] Stem Cell Basics. Online. Dostupné z: <https://stemcells.nih.gov/info/basics/stc-basics>. [cit. 2024-10-28].

- [18] Stem cells: What they are and what they do. Online. Dostupné z: <https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/bone-marrow-transplant/in-depth/stemcells/art-20048117>. [cit. 2024-10-28].
- [19] Homeostáze, 2025. Online. Dostupné z: <https://www.arcus-lymfo.cz/lymfatickysystem/homeostaza/>. [cit. 2025-02-18].
- [20] ZASZCZYNSKA, Angelika; SAJKIEWICZ, Paweł a GRADYS, Arkadiusz, 2020. Piezoelectric Scaffolds as Smart Materials for Neural Tissue Engineering. Online. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2073-4360/12/1/161>. [cit. 2024-11-17].
- [21] YAO, Xiangyun; QIAN, Yun a FAN, Cunyi, 2021. Electroactive nanomaterials in the peripheral nerve regeneration. Online. Dostupné z: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2021/tb/d1tb00686j>. [cit. 2024-11-17].
- [22] Tissue Engineering. Online. Dostupné z: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.8493529>. [cit. 2024-10-28].
- [23] The cell: a molecular approach. Online. Dostupné z: https://archive.org/details/cellmolecularapp0000coop_w4k6/page/n9/mode/2up. [cit. 2024-10-28].
- [24] KAREEM, Rebaz Obaid; BULUT, Niyazi a KAYGILI, Omer. Hydroxyapatite Biomaterials. Online. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/375342769_Hydroxyapatite_Biomaterials_A_Comprehensive_Review_of_their_Properties_Structures_Medical_Applications_and_Fabrication_Methods. [cit. 2024-11-03].
- [25] MIDDLETON, John C. a TIPTON, Arthur J. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. Online. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961200001010>. [cit. 2024-11-03].
- [26] DASH; CHIELLINI; OTTENBRITE a CHIELLINI. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. Online. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S007967001100027X>. [cit. 2024-11-03].
- [27] NAIR, Lakshmi S. a LAURENCIN, Cato T. Biodegradable polymers as biomaterials. Online. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670007000664#aep-section-id40>. [cit. 2024-11-03].

- [28] MATTHIAS, Meg Matthias. Fibrin. Online. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/fibrin>. [cit. 2024-11-03].
- [29] WEISEL, John W. a LITVINOV, Rustem I. Litvinov. Fibrin Formation, Structure and Properties. Online. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28101869/>. [cit. 2024-11-03].
- [30] AHMED, Tamer A.E. Ahmed; DARE, Emma V. a HINCKE, Max. Fibrin: a versatile scaffold for tissue engineering applications. Online. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18544016/>. [cit. 2024-11-03].
- [31] JANMEY, Paul A. Janmey; WINER, Jessamine P. a WEISEL, John W. Fibrin gels and their clinical and bioengineering applications. Online. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18801715/>. [cit. 2024-11-03].
- [32] SHARKAWY, Asma; BARREIRO, Maria Filomena a RODRIGUES, Alírio E. Chitosan-based Pickering emulsions and their applications. Online. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/chitosan>. [cit. 2024-11-03].
- [33] YAMANE, Kazuyuki; SATO, Hiroyuki; ICHIKAWA, Yukio; SUNAGAWA, Kazuhiko a SHIGAKI, Yoshiki. Development of an industrial production technology for high-molecular-weight polyglycolic acid. Online. Dostupné z: <https://www.nature.com/articles/pj201469>. [cit. 2024-11-03].
- [34] PUPPI; CHIELLINI a PIRAS. Polymeric materials for bone and cartilage repair. Online. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670010000134#aep-section-id29>. [cit. 2024-11-03].
- [35] CHAUDHARY, Vandana; THAKUR, Neha; CHAUDHARY, Suman a BANGAR, Sneha Punia. Nano/micro-Plastics Toxicity on Food Quality and Food Safety. Online. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/polylactic-acid>. [cit. 2024-11-03].
- [36] RANAKOTI, Lalit; GANGIL, Brijesh; MISHRA, Sandip Kumar; SINGH, Tej a SHARMA, Shubham. Critical Review on Polylactic Acid: Properties, Structure, Processing, Biocomposites, and Nanocomposites. Online. Dostupné z:

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9228835/#sec3-materials-15-04312>. [cit. 2024-11-03].

[37] AURAS, Rafael; LIM, Loong-Tak a SELKE, Susan. Poly(Lactic Acid): Synthesis, Structures, Properties, Processing, and Applications. Online. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/216770320_PolyLactic_Acid_Synthesis_Structures_Properties_Processing_and_Applications. [cit. 2024-11-03].

[38] SHI, Hui; ZHOU, Ziqi; LI, Wuda a FAN, Yuan. Hydroxyapatite Based Materials for Bone Tissue Engineering. Online. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/348946061_Hydroxyapatite_Based_Materials_for_Bone_Tissue_Engineering_A_Brief_and_Comprehensive_Introduction. [cit. 2024-11-03].

[39] RAHAMAN, Nursyairah; DAY, Delbert E.; BAL, B. Sonny a FU, Qiang. Bioactive Glass in Tissue Engineering. Online. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/50594683_Bioactive_Glass_in_Tissue_Engineering. [cit. 2024-11-03].

[40] HONG, Chang-Hyo; KIM, Hwang-Pill; CHOI, Byung-Yul a HAN, Hyoung-Su. Lead-free piezoceramics. Online. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352847815300083>. [cit. 2024-11-09].

[41] Princip a aplikace piezoelektrického jevu. Online. Dostupné z: <https://cz.pztpiezo.com/info/the-principle-and-application-of-piezoelectric60184971.html>. [cit. 2024-11-09].

[42] Piezoelektrické keramické materiály. Online. Dostupné z: <https://cz.pztpiezo.com/news/what-is-piezoelectric-ceramic-materials-14392442.html>. [cit. 2024-11-09].

[43] ERHART, Jiří. Základy piezoelektriny pro aplikace. Online. Dostupné z: http://www.crr.vutbr.cz/offline/SYSTEM/FILES/BROZURA_06_1112.PDF. [cit. 2024-11-09].

[44] SAFARI, Ahmad a AKDOGAN, E. Koray, 2008. Piezoelectric and Acoustic Materials for Transducer Applications. Online. Dostupné z: <https://download.e-bookshelf.de/download/0000/0024/00/L-G-0000002400-0002340602.pdf>. [cit. 2024-11-09].

- [45] GÓMEZ, Ernesto Suaste, 2010. Piezoelectric Ceramics. Online. Dostupné z: http://www.issp.ac.ru/ebooks/books/open/Piezoelectric_Ceramics.pdf. [cit. 2024-11-09].
- [46] TULLER, Harry L., 2005. ELECTROCERAMIC-BASED MEMS Fabrication Technology and Applications. Online. Dostupné z: <https://download.e-bookshelf.de/download/0000/0002/97/L-G-0000000297-0002339979.pdf>. [cit. 2024-11-09].
- [47] WANG, Zhong Lin a SONG, Jinhui, 2006. Piezoelectric Nanogenerators Based on Zinc Oxide Nanowire Arrays. Online. Science. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/7166455_Piezoelectric_Nanogenerators_Based_on_Zinc_Oxide_Nanowire_Arrays. [cit. 2024-11-09].
- [48] ÖZGÜR, Ü.; ALIVOV, Yahya; LIU, Chunli a TEKE, Ali, 2005. A Comprehensive Review of ZnO Materials and Devices. Online. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/234922421_A_Comprehensive_Review_of_ZnO_Materials_and_Devices. [cit. 2024-11-09].
- [49] NAHHAS, Ahmed M., 2018. Recent Advances of ZnO Based Nanowires and Nanorods Devices. Online. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/325785929_Recent_Advances_of_ZnO_Based_Nanowires_and_Nanorods_Devices. [cit. 2024-11-09].
- [50] HOUIS, S.; WURM, Florian M. a GRIES, Thomas, 2010. Application of Polyvinylidene Fluoride (PVDF) as a Biomaterial in Medical Textiles. Online. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/288212553_Application_of_Polyvinylidene_Fluoride_PVDF_as_a_Biomaterial_in_Medical_Textiles. [cit. 2024-11-09].
- [51] TAO, Junzhu; WANG, Yifan; ZHENG, Xuekai; ZHAO, Chao; JIN, Xin et al., 2023. Polyacrylonitrile as high-performance piezoelectric materials. Online. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211285523008248>. [cit. 2024-11-09].
- [52] WANG, Wenyu; ZHENG, Yide; JIN, Xin; SUN, Yue; LU, Binbin et al., 2018. Unexpectedly high piezoelectricity of electrospun polyacrylonitrile nanofiber membranes. Online. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211285518308942>. [cit. 2024-11-15].
- [53] BRINKER, C. Jeffrey a SCHERER, George W., 1990. Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing. Online. Academic Press. Dostupné z:

file:///C:/Users/nelka/Downloads/D1Sol-

GelScienceThephysicsandchemistryofsolgelprocessing-Brinker1990.pdf. [cit. 2024-11-15].

[54] PIERRE, Alain C., 2020. Introduction to Sol-Gel Processing. Online. 2.vydání. Springer. Dostupné z:

https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=uQzWDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR10&dq=sol-gel+processing&ots=tQCWp2lux-&sig=SWItM8KJYuyqSE3OVwqi7f0Mgd4&redir_esc=y#v=onepage&q∓f=false. [cit. 2024-11-15].

[55] JEON, Jae-Ho, 2013. Mechanochemical synthesis and mechanochemical activationassisted synthesis of alkaline niobate-based lead-free piezoceramic powders. Online. Dostupné z:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211339813000968?casa_token=iS1boHHE3QkAAAAA:R0p13u6R8Ekma6p-uiHPXKwVLvShMotElg3S07IQAs9bWgs6JSeZVaCWz9tkFt--F2LXngOJQ. [cit. 2024-11-15].

[56] Effect of milling media on structural and electrical properties of PLZT 8/60/40 ceramics prepared by high energy mechanochemical milling, 2011. Online. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/267448708_Effect_of_milling_media_on_structural_and_electrical_properties_of_PLZT_86040_ceramics_prepared_by_high_energy_mechanochemical_milling. [cit. 2024-11-15].

[57] JIAO, Hua; ZHAO, Kang; MA, Lining; LIU, Xiao; BIAN, Tierong et al., 2016. Preparation and characterization of BaTiO₃/HA nanocomposite materials by hydrothermal synthesis. Online. Dostupné z:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925838816329292?casa_token=HNRzV2lpEaYAAAAA:7smLbZ6jQuDrQf20H2WN9bo9rvM7csqpRwqIz12_Wl8Q_53q19eWf3Sc2BBV9ZjBgJxFkDgSQ. [cit. 2024-11-15].

[58] RAMAJO, Leandro; RUBIO-MARCOS, Fernando; DEL CAMPO, Adolfo a FERNÁNDEZ, Jose F. Fernández, 2015. Influence of surface modifiers on hydrothermal synthesis of $K_x Na(1-x)NbO_3$. Online. Dostupné z:

https://www.researchgate.net/publication/278681550_Influence_of_surface_modifiers_on_hydrothermal_synthesis_of_K_x_Na1-xNbO3. [cit. 2024-11-15]. [59] STARR, Matthew B. a WANG, Xudong, 2015. Coupling of piezoelectric effect with electrochemical processes.

Online. Dostupné z:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211285515000452?via%3Dihub>. [cit. 2024-11-15].

[60] ZHANG, Yan; QIAN, Weiqi; YANG, Weiyong; YANG, Ya a BOWEN, Chris R., 2020. Piezoelectric Materials for Controlling Electro-Chemical Processes. Online. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40820-020-00489-z>. [cit. 2024-11-15].

[61] OHRING, Milton, 1992. The Materials Science of Thin Films. Online. Academic Press. Dostupné z: https://arshadnotes.wordpress.com/wpcontent/uploads/2018/02/the_materials_science_of_thin_films.pdf. [cit. 2024-11-15].

[62] KUNRATH, Augusto, 2024. What's the Difference Between PVD and CVD Coating Processes? Online. Dostupné z: <https://blog.vaportech.com/pvd-cvd-coating-process>. [cit. 2024-11-15].

[63] LI, D. a XIA, Y., 2004. Electrospinning of Nanofibers: Reinventing the Wheel? Online. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adma.200400719>. [cit. 2024-11-15].

[64] WANG, L. a RYAN, A. J., 2011. Introduction to electrospinning. Online. Dostupné z: https://sate.himatteks.stttekstil.ac.id/sateapp/pdf_lecture/jurnal/INTRODUCTION%20TO%20ELECTROSPINNING.pdf. [cit. 2024-11-15].

[65] SUNDARRAJAN, Subramanian; TAN, Kwong Luck; LIM, Soon Huat Lim a RAMAKRISHNA, Seeram, 2014. Electrospun Nanofibers for Air Filtration Applications. Online. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/265015605_Electrospun_Nanofibers_for_Air_Filtration_Applications. [cit. 2024-11-15].

[66] PARK, Jiwon Park; LEE, Dong-Guy; HUR, Sunghoon; BAIK, Jeong Min; KIM, Hyun Soo et al., 2023. A Review on Recent Advances in Piezoelectric Ceramic 3D Printing. Online. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/370136272_A_Review_on_Recent_Advances_in_Piezoelectric_Ceramic_3D_Printing. [cit. 2024-11-17].

[67] CHOLLETI, Eshwar Reddy, 2018. A Review on 3D printing of piezoelectric materials. Online. Dostupné z:

https://www.researchgate.net/publication/329791287_A_Review_on_3D_printing_of_piezoelectric_materials/fulltext/5c1ae9f1a6fdccfc705acab8/A-Review-on-3D-printing-ofpiezoelectric-materials.pdf. [cit. 2024-11-17].

[68] ZENG, Yushun; JIANG, Laiming; HE, Qingqing a WODNICKI, Robert, 2021. Recent Progress in 3D printing Piezoelectric Materials for Biomedical Applications. Online. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/354670134_Recent_Progress_in_3D_printing_Piezoelectric_Materials_for_Biomedical_Applications. [cit. 2024-11-17].

[69] Mrlik, M., & Pavlinek, V. (2016). Magnetorheological suspensions based on modified carbonyl iron particles with an extremely thin poly(n-butyl acrylate) layer and their enhanced stability properties. *Smart Materials and Structures*,

[70] Fajkus, P., Ilcikova, M., Gorgol, D., Osicka, J., Plachy, T., Urbanek, M., Kracalik, M., & Mrlik, M. (2025). Effective vibration sensing nanocomposite sheets based on Poly(vinylidene fluoride-co-hexafluoropropylene) matrix and SrTiO₃ nanoparticles grafted with 2,2,2-trifluoroethyl methacrylate nanoscale coating. *Materials Today Chemistry*

[71] FLORCZAK, S., LORSON, T., ZHENG, T., MRLIK, M., HUTMACHER, D. W., HIGGINS, M. J., LUXENHOFER, R. a DALTON, P. D., 2019. Melt electrowriting of electroactive poly(vinylidene difluoride) fibers. *Polymer International* [online]. 2019 [cit. 2024-05-16].

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Odběr buněk	16
Obrázek 2 Izolace buněk.....	17
Obrázek 3 Kultivace buněk.....	18
Obrázek 4 Scaffold buněk	19
Obrázek 5 Implantace buněk.....	20
Obrázek 6 Struktura kolagenu.....	23
Obrázek 7 Vznik fibrinu	24
Obrázek 8 Struktura chitosanu.....	25
Obrázek 9 Struktura PGA	26
Obrázek 10 Struktura PLA.....	27
Obrázek 11 Struktura hydroxyapatitu	28
Obrázek 12 Krystalická struktura PZT při různých teplotách	30
Obrázek 13 Krystalická struktura kubické fáze	31
Obrázek 14 Struktura PVDF	33
Obrázek 15 Struktura PAN	34
Obrázek 16 Struktury	48
Obrázek 17 Profilový řez výčnělku	49
Obrázek 18 Tahové zkoušky.....	54
Obrázek 19 Cytotoxicita substrátů.....	57

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Parametry povrchových struktur.....	49
Tabulka 2 Parametry cyklů, amplitud a času	50
Tabulka 3 Hodnoty tahových zkoušek pro jednotlivé vzorky	54
Tabulka 4 Hodnoty Beta fáze jednotlivých substrátů	55

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

TE Tkáňové inženýrství

ECM Extracelulární matrix

PGA Polyglykolová kyselina

PLA Polyaktidová kyselina

PZT Zirkonát-titanát olovnatý

ZnO Oxid zinečnatý

PVDF Polyvinylidenfluorid

PAN Polyakrylnitril

CVD Chemická depozice z páry

PVD Fyzikální depozice z páry

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Název první přílohy

PŘÍLOHA P I: NÁZEV PRVNÍ PŘÍLOHY

Obsah první přílohy.