Chem. Listy *115*, 634–643 (2021) Referát

POLYMERY PRO TKÁŇOVÉ INŽENÝRSTVÍ

ZDEŇKA NOVOTNÁ[a], ZDEŇKA KOLSKÁ[b], PETR SLEPIČKA[a], NIKOLA SLEPIČKOVÁ KASÁLKOVÁ[a], DOMINIK FAJSTAVR[a], LUCIE BAČÁKOVÁ[c] a VÁCLAV ŠVORČÍK[a]

[a] *Ústav inženýrství pevných látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3, 166 28 Praha,* [b] *Ústecké materiálové centrum, Přírodovědecká fakulta, Univerzita J. E. Purkyně, Pasteurova 15, 400 96 Ústí nad Labem,* [c] *Fyziologický ústav AV ČR, Vídeňská 1083, 142 20 Praha*
vaclav.svorcik@vscht.cz

Došlo 23.6.21, přijato 9.8.21.

Klíčová slova: polymer, modifikace plazmatem, Au naprašování, biokompatibilita

Obsah

1. Úvod
2. Vybrané polymery pro tkáňové inženýrství
3. Vybrané metody modifikace polymerů
4. Polymery po plazmatické modifikaci a jejich biokompatibilita
5. Biokompatibilita polymerů po Au naprašování
6. Závěr

1. Úvod

Tkáňové inženýrství je interdisciplinární obor, který kombinuje různé přístupy. Především je to materiálové inženýrství, biologie, chemie a medicína. Zabývá se studiem a vývojem nových biologických a biokompatibilních (cytokompatibilních) náhrad, které by mohly regenerovat, udržovat nebo zlepšovat funkce poškozené tkáně nebo orgánů[1,2]. Zejména v poslední době jsou studovány a vyvíjeny nové postupy modifikace biomateriálů pro zlepšení jejich fyzikálně-chemických a mechanických vlastností a biokompatibility. Studují se především materiály na bázi keramiky, kovů a přírodních nebo syntetických polymerů[3]. Narůstající role polymerů v biotechnologiích souvisí s jejich výhodnými fyzikálními, mechanickými a elektrickými vlastnostmi a jejich relativně snadným zpracováním a modifikací[4].

2. Vybrané polymery pro tkáňové inženýrství

V biomedicíně je využíváno mnoho druhů polymerů na výrobu např. zdravotnických prostředků, v kardiologii, v zubním lékařství, při léčbě popálenin. Některé polymery mohou, po umístění do organismu pacienta, po celou dobu jeho života zůstat nezměněny, jiné jsou hydrolyticky nestabilní a v mohou být v těle degradovány. Použití konkrétního typu polymeru je omezeno jeho mechanickými vlastnostmi. S výjimkou těch silně zesíťovaných jsou polymery velmi flexibilní a jsou schopné odolat velkým deformacím v důsledku možnosti pohybu jednotlivých polymerních řetězců nebo jejich fragmentů. Jsou to většinou amorfní nebo semikrystalické materiály, přičemž stupeň krystalinity ovlivňuje jejich vlastnosti i míru deformace[5,6].

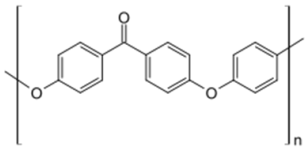
Máme k dispozici řadu polymerních materiálů, které byly nebo jsou studovány/aplikovány ve tkáňovém inženýrství, u nichž může být pomocí povrchové modifikace vyvolána nebo zvýšena biologická aktivita. Patří mezi ně např. kyselina polymléčná, polystyren, polyethylentereftalát, polyethylennaftalát, polyetheretherketon, polyethylen, polymethylpenten, polyhydroxybutyrát a polytetrafluorethylen.

Tato přehledová práce se věnuje zejména dvěma polymerům (polyetheretherketonu a ultravysokomolekulárnímu polyethylenu), které jsou pro tkáňové inženýrství v poslední době intenzivně studovány vzhledem k možnostem jejich širokého uplatnění.

Polyetheretherketon (PEEK)

PEEK (vzorec – obr. 1) se hojně používá v medicínské praxi a řadí se mezi polyaryletherketony (PAEK). Je to semikrystalický, polyaromatický, lineární polymer s krystalinitou 16–47 %, teplotou skelného přechodu 143–185 °C a teplotou tání 334–343 °C. V porovnání s jinými typy termoplastů má PEEK pro použití v bioaplikacích vhodné mechanické a tepelné vlastnosti, sterilizační a únavovou odolnost a výbornou odolnost vůči otěru a chemické degradaci. V medicíně je využíván zejména pro svůj modul pružnosti, který je podobný modulu pruž-

a b



$-[CH_2-CH_2]_n-$

Obr. 1. **Chemická struktura polymerů studovaných v této práci: (a) PEEK, (b) UHMWPE**

nosti kortikální kosti[7]. To umožňuje rovnoměrné rozložení zatížení rozhraní mezi kostí a implantátem, díky čemuž nedochází k tzv. „stress shielding“ efektu[8], který způsobuje ztrátu kostní hmoty a osteoporózu, což po odstranění implantátu vede k opětovným zlomeninám kostí. Wenz a spol. v roce 1990 provedli první *in vivo* testy cytotoxicity PEEK s použitím myších fibroblastů[9] a cytotoxicita nebyla pozorována. O pět let později Morrison a spol. provedli *in vitro* studie s myšími fibroblasty 3T3 a osteoblasty odvozenými od novorozených potkanů[10]. Testy ukázaly, že polymer není cytotoxický. Nevýhodou tohoto materiálu pro některá lékařská užití je jeho povrchová bioinertnost, která vede ke špatné – omezené adhezi buněk a adsorpci proteinů[11,12].

Ultravysokomolekulární polyethylen (UHMWPE)

Tento typ polyethylenu (UHMPWE, vzorec viz obr. 1) je semikrystalický a nepolární termoplast. Jeho vlastnosti jsou závislé na tvaru a délce makromolekul, prostorovém uspořádání „merů“ v řetězci a na stupni krystalinity. Molekulová struktura je ovlivněna způsobem jeho výroby. UHMWPE je lineární polymer s teplotou tání 135–155 °C, která je vyšší než u nízko- (LDPE) a vysokohustotního (HDPE) polyethylenu. Krystalická fáze činí cca 50 % a obsahuje řetězce skládané do orientovaných lamel, které jsou obklopeny amorfní fází. Tato sktruktura určuje jeho vlastnosti, tj. vysokou odolnost vůči otěru i proti únavě materiálu, značnou pevnost, houževnatost, a nízký koeficient tření[13–15]. UHMWPE je často používán v ortopedii a traumatologii[16], primárně jako artikulační povrch u náhrady kolenního nebo kyčelního kloubu[17]. Stále se hledá jeho náhrada, jelikož mikroskopické úlomky z povrchu UHMWPE vzniklé otěrem a oxidací[18] vyvolávají v organismu zánětlivé reakce. Tyto nevýhodné vlastnosti se dají zlepšit modifikací povrchu polymeru, kdy je ovlivněna jeho hydrofilita, morfologie, mikrostruktura a drsnost. To má významný vliv na cytokompatibilitu materiálu[19].

3. Vybrané metody modifikace polymerů

Interakce biologického prostředí se substrátem je velmi složitý proces a závisí především na fyzikálně-chemických vlastnostech povrchu polymerů, které velmi často nevyhovují požadavkům pro jejich medicínské aplikace. Z toho důvodu jsou vyvíjeny a studovány různé metody pro modifikace povrchů, ať už chemické či fyzikální. Aby připravený materiál vyvolával u buněk biologickou odezvu (aby vykazoval bioaktivitu), je často nutné nejprve provést jeho vhodnou povrchovou aktivaci a/nebo modifikaci[20–22]. Při tomto procesu dochází k výrazným změnám řady povrchových vlastností – např. povrchové drsnosti (a morfologie obecně), chemického složení, povrchového náboje a energie, smáčivosti, povrchové elektrické vodivosti[23–25]. Popsaných a studovaných metod povrchové aktivace a modifikace materiálů je řada, patří mezi ně např. iontová implantace[25–27], modifikace UV-excimerovou lampou[28], napařování kovů[29], roubování kovových nanočástic[30] nebo biomolekul[31,32], expozice povrchu laserem[33,34] nebo plazmatickým výbojem[35,36], leptání povrchu polymerů vybranými roztoky[37–40].

V této práci se zaměříme na modifikaci povrchu vybraných polymerů plazmatem a/nebo depozicí kovů.

Modifikace plazmatem

Plazma může, v závislosti na experimentálních podmínkách, účinkovat na povrchu materiálů různými způsoby: (i) čištěním (odstraňováním organických kontaminantů), (ii) leptáním (ablací a degradací polymerních materiálů), (iii) síťováním (tvorbou radikálů a větvením makromolekulárních řetězců) a (iv) funkcionalizací (tvorbou nových funkčních skupin v povrchové vrstvě o tloušťce až 10 nm) (cit.[41]). U polymerních substrátů může vést plazmatická modifikace ke změně chemického složení povrchu materiálu, která tím způsobí změnu povrchové drsnosti, adheze, energie, smáčivosti a biokompatibility[42–44]. Modifikace bývá prováděna za použití různých plynů[45] (Ar, H_2, N_2, O_2, NH_3). Jejich vhodný výběr umožňuje zavedení požadovaných funkčních skupin na povrch substrátu pro zlepšení biokompatibility nebo umožnění následného kovalentního navázání různých bioaktivních molekul.

Interakce mezi polymerem a plazmatem vede ke dvěma kompetitivním reakcím – modifikaci a degradaci[46]. Při modifikaci se vlastnosti polymeru mění v důsledku interakce iontového svazku s povrchem polymeru. Pokud převládá degradace, na povrchu polymeru dochází ke štěpení řetězců a k leptání povrchu. Rychlost úbytku materiálu je závislá na povaze polymeru a na energii a době působení plazmatu a je způsobena zejména štěpením chemických vazeb a reakcemi takto vzniklých radikálů[47]. Modifikace plazmatem často předchází jiné techniky povrchových úprav, kterými jsou např. roubování či depozice kovových vrstev.

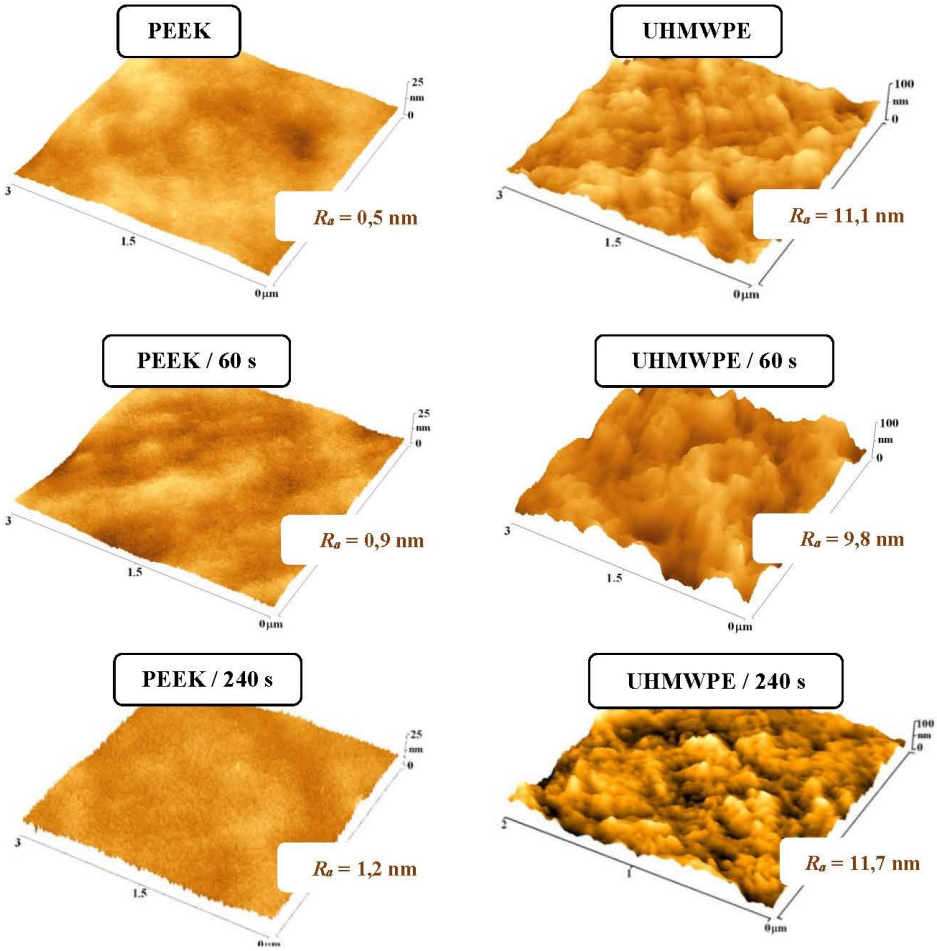
Katodové naprašování

Naprašování je metoda, při níž jsou uvolňovány převážně neutrální atomy kovů z povrchu elektrody v důsledku dopadu energetických iontů[48]. Na katodě je umístěn pevný terč z vhodného materiálu (např. Au, Ag, Ti, Pt). V závislosti na typu materiálu a experimentálních podmínkách dochází na povrchu substrátu k vytvoření klastrů nebo tenké vrstvy, čímž může být vytvořena specifická povrchová struktura pro interakci protein-povrch, která vede ke zvýšení biokompatibility materiálu[49,50]. To lze využít např. u Au a Ti, které vykazují nízkou alergickou reakci v organismu, a nebo u Ag, které je dlouhodobě používáno pro své antimikrobiální vlastnosti[51,52]. Výhodou katodového naprašování je jeho vysoká účinnost a čistota naprášené vrstvy, protože k naprašování dochází ve vakuu nebo při nízkém tlaku[53,54].

4. Polymery po plazmatické modifikaci a jejich biokompatibilita

Často využívanými materiály v oblasti tkáňového inženýrství jsou polyetheretherketon (PEEK) a ultravysokomolekulární polyethylen (UHMWPE). Pro zlepšení jejich povrchových vlastností v biologickém prostředí jsou jejich povrchy často modifikovány (např. plazmatem). Je známo, že modifikací plazmatem vznikají na povrchu funkční skupiny, povrch se stává nestabilním a mění se s časem[55,56]. Povrch materiálu má tendenci vracet se do původního „nemodifikovaného“ stavu[57], dochází při tom ke změně orientace chemických skupin touto modifikací vzniklých[57,58]. Vyšší krystalinita a zesíťování řetězců na povrchu snižují pohyblivost polymerních řetězců, a vedou ke zkrácení procesu „zrání“ (stárnutí) polymerních vzorků[59–61].

Je známo, že cytokompatibilita substrátů je silně ovlivněna smáčivostí jejich povrchu, která se studuje pomocí stanovení kontaktního úhlu (KU). Z dat publikovaných různými autory lze pozorovat, že s přibývající dobou modifikace se hodnota kontaktního úhlu významně mění. To je způsobeno změnou hydrofobity či hydrofility polymerů v závislosti na jejich původním chemickém složení[61–65], přičemž růst hodnoty KU ukazuje na růst hydrofobity. Např. v případě PEEK je kontaktní úhel před modifikací 79,5°, což odpovídá spíše hydrofilnímu charakteru. Modifikace PEEK kyslíkovým plazmatem vede k tvorbě silně hydrofilního povrchu, který však má tendenci se během stárnutí (zrání) stávat hydrofobnějším[43]; výsledná hodnota KU je ale nižší než u původního PEEK. Modifikace PEEK plazmatem v atmosféře argonu (dále jen Ar plazmatem) vede k výraznému snížení smáčivosti povrchu, naopak u UHMWPE dochází vlivem působení Ar plazmatu k výraznému nárůstu smáčivosti[61]. Po vyzrání (zestárnutí) vzorků je však smáčivost srovnatelná s hodnotami nemodifikovaných vzorků[66]. Toto odlišné chování je dáno rozdílným množstvím kyslíkatých skupin v povrchovém složení obou polymerů[61].



Obr. 2. **AFM snímky nemodifikovaných PEEK a UHMWPE (nahoře) a plazmatem modifikovaných polymerních filmů po dobu 60 a 240 s.** Snímky byly pořízeny v bezkontaktním módu. Výsledky převzaty z publikací[66,67]. (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chemické listy)

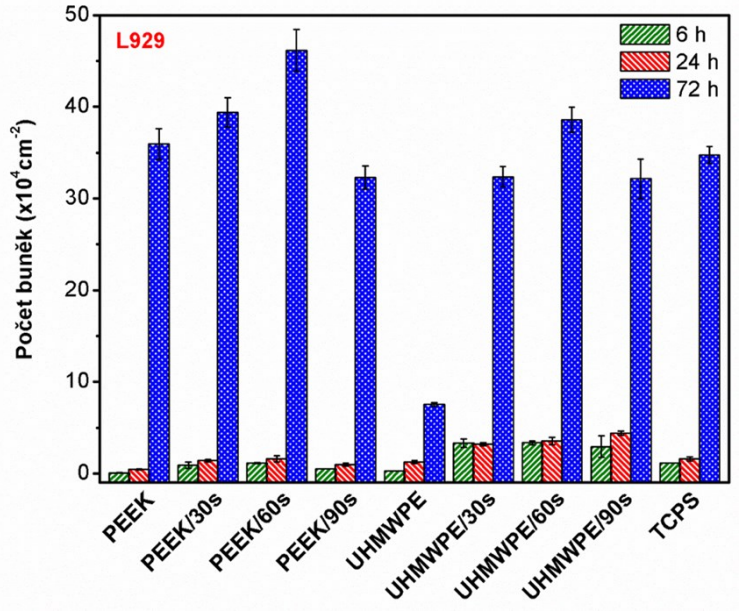
Informace o změně chemického složení po modifikaci plazmatem poskytuje metoda XPS (z angl. X-ray Photoelectron Spectroscopy, rentgenová fotoelektronová spektroskopie). Touto metodou lze studovat chemické složení povrchu do hloubky cca 8–10 atomových vrstev. U plazmatem modifikovaných polymerů lze pozorovat nárůst koncentrace kyslíku s prodlužující se dobou modifikace[45–47]. Míru oxidace materiálu po jeho modifikaci lze výhodně vyjádřit poměrem O/C. Vznik kyslíkatých funkčních skupin lze vysvětlit reakcí vzniklých radikálů s kyslíkem ze vzduchu[63–65].

Pro potenciální bioaplikace a pro adhezi buněk hraje významnou roli též povrchová drsnost a morfologie substrátu. Na obr. 2 je prezentována povrchová morfologie a střední hodnoty drsnosti R_a povrchů nemodifikovaných a Ar plazmatem modifikovaných PEEK a UHMWPE získané pomocí AFM (z angl. Atomic Force Microscopy, mikroskopie atomárních sil) (cit.[66,67]). Je patrné, že povrch polymeru PEEK byl, podle naměřené drsnosti R_a = 0,5 nm, „velmi hladký“. S narůstající dobou plazmatické modifikace docházelo k narušení povrchu polymeru, což mělo za následek, že se povrchová drsnost mírně zvýšila. Oproti tomu nemodifikovaný „drsnější“ UHMWPE mění s dobou modifikace (degradace) také svoji drsnost, ale dramaticky zejména morfologii povrchu.

Cílem modifikace PEEK a UHMWPE pro následné využití v oblasti tkáňového inženýrství je zvýšit atraktivitu jejich povrchu pro následnou adhezi a proliferaci buněk. Pro testy *in vitro* byly použity např. myší fibroblasty L929 (cit.[68]). Tyto buňky z pojivové tkáně jsou buněčnou linií schválenou pro posouzení cytokompatibility a cytotoxicity materiálu podle mezinárodní normy EN ISO 10993. Jako referenční vzorek byl použit polystyren používaný pro kultivaci buněk tkáňových kultur (z angl. tissue culture PS, TCPS). Cytokompatibilita povrchů PEEK a UHMWPE byla studována pomocí (i) buněčné adheze (po 6 h od nasazení) a (ii) proliferace buněk (po 24 a 72 h od nasazení). Jak je patrné z obr. 3, plazmatická modifikace polymerů výrazně podpořila adhezi a následnou proliferaci buněk, a to především na UHMWPE. Je zřejmé, že adheze buněk po 6 h od jejich nasazení a jejich proliferace po 24 h byla vyšší na všech modifikovaných UHMWPE substrátech v porovnání s nemodifikovaným vzorkem. Nepatrné zvýšení počtu buněk stanovených po 24 h od nasazení je pravděpodobně způsobeno tzv. „lag“ fází, při níž se buňky adaptují na nové prostředí, adherují na povrch substrátu a nedělí se[69]. Obvykle tato fáze trvá 12–24 h. Po 72 h kultivace byl zaznamenán rapidní nárůst počtu buněk na modifikovaných vzorcích a u TCPS. Z analýzy XPS (cit.[21,68]) a zmíněných výsledků je patrné, že jak chemické složení povrchu, tak i povrchová drsnost a morfologie mají vliv na adhezi a následnou proliferaci buněk. V tomto případě je vhodnější použít plazmatickou modifikaci na UHMWPE, kde došlo jejím vlivem k výraznému zvýšení atraktivity povrchu pro L929 buňky, kdežto u PEEK neměla modifikace na adhezi a proliferaci L929 tak výrazný vliv.

5. Biokompatibilita polymerů po Au naprašování

V této kapitole jsou shrnuty výsledky experimentů, při kterých bylo na povrch polymerů modifikovaných plazmatem následně deponováno zlato. Depozice Au byla



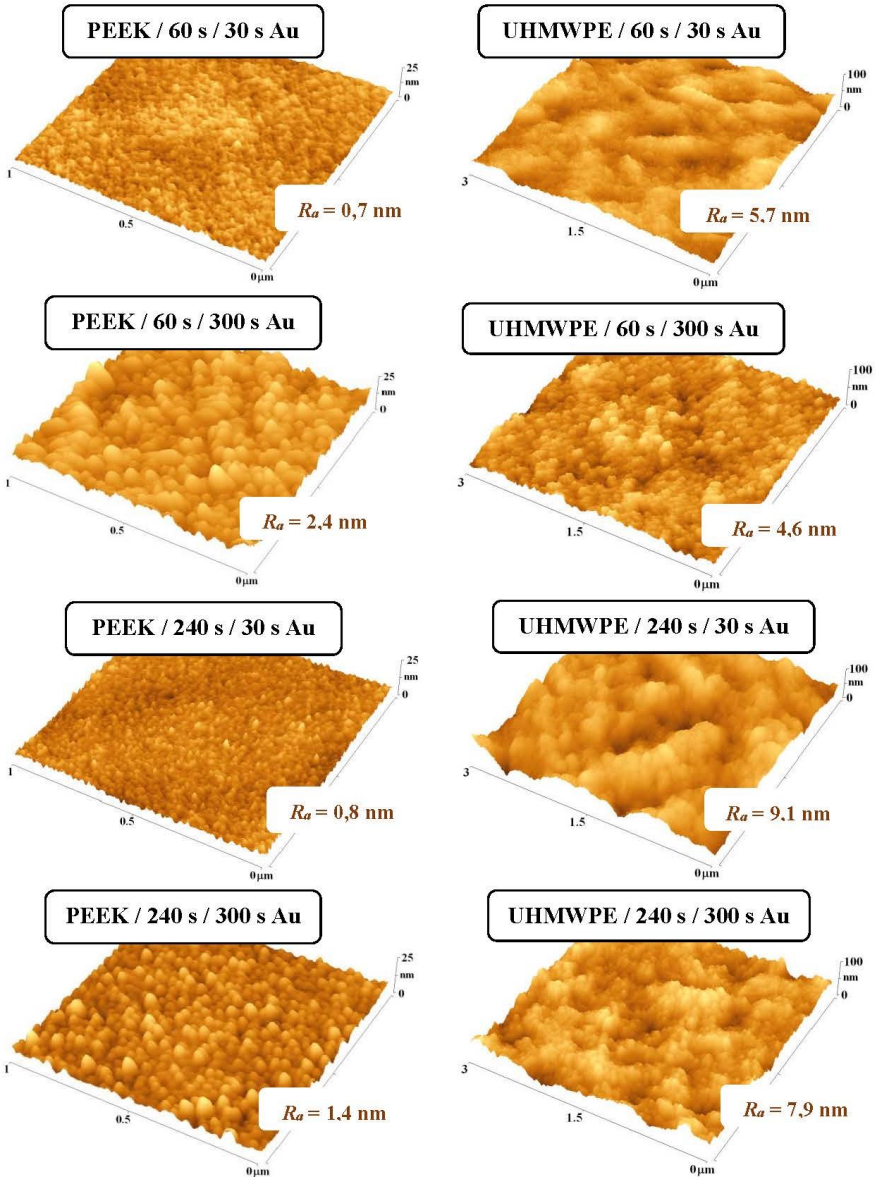
Obr. 3. **Počet buněk L929 adherovaných a proliferovaných po 6, 24 a 72 h od nasazení na nemodifikovaných substrátech PEEK a UHMWPE a plazmatem modifikovaných po dobu 30, 60 a 90 s. Pro kontrolu byl použit tkáňový polystyren (TCPS).** Výsledky převzaty z publikací[66,67]. (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chem. listy)

volena tak, aby byly připraveny nespojité (doba naprašování 30 s) zlaté nanostruktury i spojité (300 s) zlaté nanovrstvy[69–71].

Analogicky k výše popsané modifikaci plazmatem byly studovány povrchové vlastnosti a cytokompatibilita připravených zlatých vrstev. Významným parametrem pro biokompatibilitu je tloušťka deponované zlaté vrstvy. Z publikovaných dat vyplývá, že tato tloušťka, stanovená gravimetricky, závisí (i) na době trvání plazmatické modifikace (která předchází samotnému procesu naprašování), což souvisí se změnou drsnosti povrchu, a (ii) na následné době depozice Au (cit.[69–71]).

Biokompatibilitu povrchu ovlivňuje jeho smáčivost. Proto byly u modifikovaných polymerů studovány změny kontaktního úhlu destilované vody. Hodnota kontaktního úhlu u PEEK byla 79,5°, u UHMWPE 97,5°, což je očekávatelné vzhledem k tomu, že PEEK je řazen mezi polární a UHMWPE nepolární polymery. Jak bylo uvedeno výše, modifikace Ar plazmatem u PEEK způsobila zvýšení kontaktního úhlu, avšak následná depozice Au vedla k jeho mírnému poklesu. Depozice Au měla stejné důsledky na povrchovou smáčivost i u UHMWPE (cit.[69–71]).

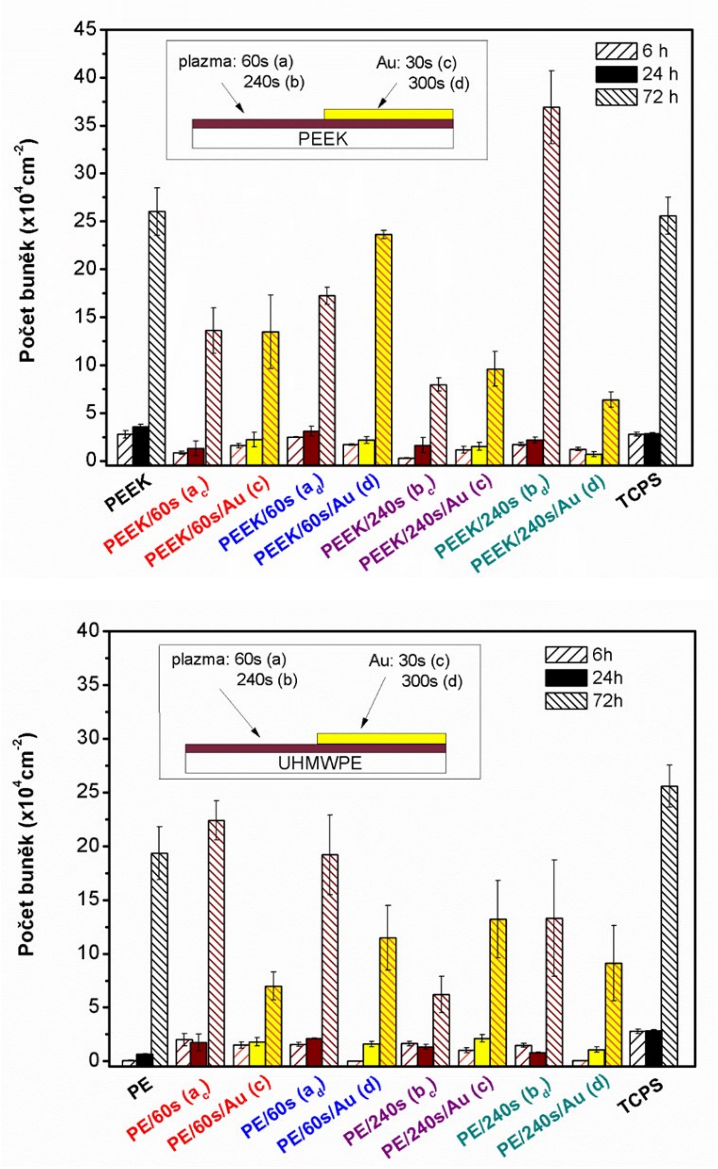
Pokles kontaktního úhlu vyvolaný depozicí zlata odpovídal výsledkům prvkového složení povrchu polymerů



Obr. 4. **AFM snímky plazmatem modifikovaných (po dobu 60 a 240 s) a zlatem deponovaných polymerů (po dobu 30 a 300 s).** Původní drsnost povrchu, R_a, u PEEK byla 0,5 nm a u UHMWPE byla 11,1 nm. Snímky byly pořízeny v bezkontaktním módu. (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chem. listy)

získaného z XPS (cit.[20,60,72]). Po depozici Au na polymery docházelo ke snižování koncentrace O na „úkor“ Au (cit.[20,60,72]). Morfologie povrchu a drsnost plazmatem modifikovaných a následně zlatem deponovaných PEEK a UHMWPE byla studována metodou AFM (cit.[66,67]). Výsledky analýzy jsou uvedeny na obr. 4. Z obr. 4 je patrné, že s dobou depozice Au se mění drsnost a morfologie povrchu. Nejdříve se Au formuje na povrchu v podobě klastrů, a až při delších časech depozice dochází k tvorbě spojité zlaté vrstvy. Porovnáním obr. 2 a 4 je zřejmé, že depozicí Au dochází k výraznějším změnám povrchové drsnosti u UHMWPE, kdežto změny zaznamenané u PEEK jsou významně menší.

U pokovených substrátů je nutné sledovat, zda nedochází k uvolňování kovu či kovových iontů do prostředí (což by mohlo zvyšovat toxicitu[73]), ve kterém se následně studuje interakce buňka/materiál. Proto byla metodou ICP-MS (z angl. Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry, hmotnostní spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem) stanovena koncentrace zlata uvolněného do kapalného média. Pro simulaci podmínek kultivace byl použit roztok fosfátového pufru (Phosphate Buffered Saline, PBS), který má stejné pH a osmolalitu jako médium pro kultivaci buněk. Stanovení koncentrace uvolněného Au probíhalo po 6 h (odpovídá době buněčné adheze) a po 72 h (odpovídá době buněčné proliferace) od statické

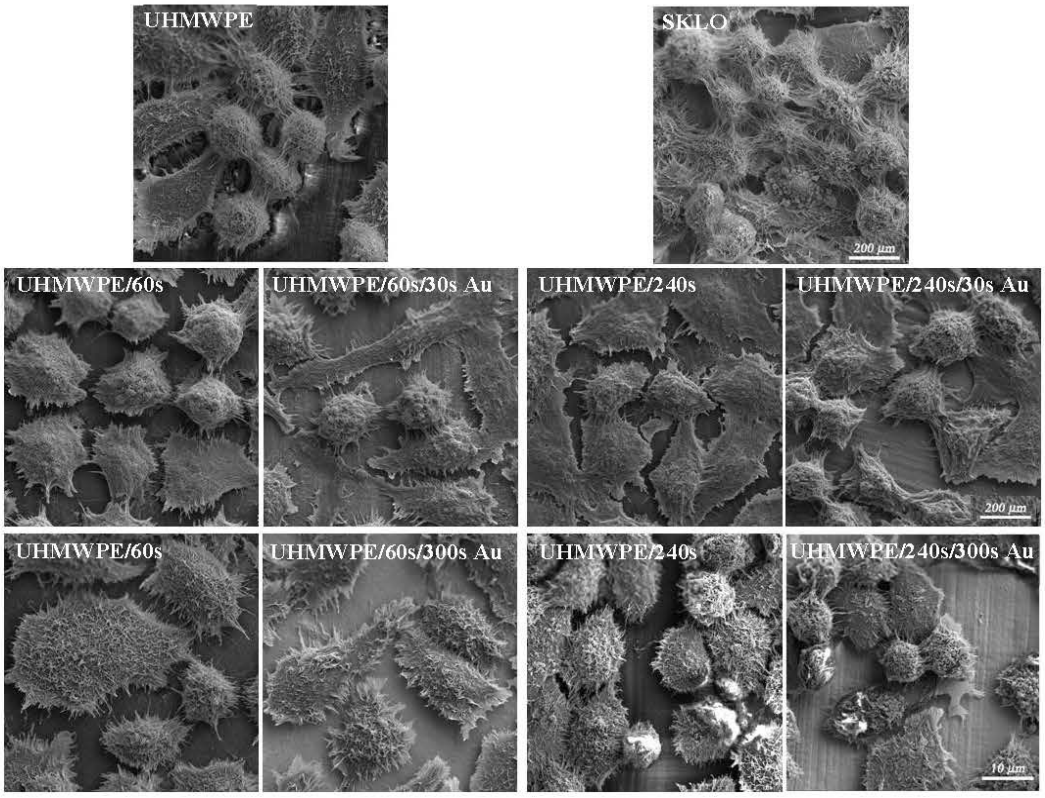


Obr. 5. **Počet L929 buněk adherovaných a proliferovaných po 6, 24 a 72 h na nemodifikovaných a na plazmaticky modifikovaných polymerech:** (a–b / expozice 60–240 s) a Au deponovaných (c–d / naprašování 30–300 s). Na horním obr. jsou výsledky pro PEEK, dole pro UHMWPE. Označení (a), (b), (c) a (d) je uvedeno v legendě vložené nad obr. u schémat. Pro kontrolu byl použit TCPS (tkáňový PS). (Barevná verze obrázku je dostupná na webových stránkách časopisu Chem. listy)

inkubace. Bylo zjištěno, že koncentrace Au uvolněného do PBS byla nejméně trojnásobně vyšší u vzorků deponovaných Au po dobu 30 s než v případě 300 s. Pravděpodobně to bylo zapříčiněno tím, že u nespojité vrstvy zlata (při kratší době depozice), kdy povrch byl tvořen zlatými klastry, se snadněji uvolňovaly částice, které přecházely do roztoku, než v případě delší doby depozice, kdy vznikla souvislá Au vrstva[74].

Obr. 5 ukazuje výsledky studia cytokompatibility polymerů PEEK a UHMWPE, která byla stanovena na základě studia adheze (6 h) a proliferace buněk (24 a 72 h) na obou polymerech. Na obr. 5 jsou nahoře uvedeny výsledky pro PEEK, dole pro UHMWPE (značeno je PE). Vzorky byly modifikovány plazmatem po dobu 60 s nebo 240 s a následně deponovány zlatem po dobu 60 nebo 300 s. Je zřejmé, že po 24 h byl zaznamenán pouze mírný nárůst nebo pokles počtu buněk, který byl pravděpodobně způsoben „lag" fází[75]. Tento pokles nemusí nutně souviset s uvolňováním Au do kultivačního média. Např. u vzorku PEEK s vrstvou Au deponovanou po dobu 300 s byl zaznamenám vyšší úbytek buněk než u vzorku s Au vrstvou deponovanou po dobu 30 s. Během „lag" fáze se buňky přizpůsobují novému prostředí a povrchu a dopředu není možné stanovit, jak dlouho bude tato fáze trvat a jak se projeví (zda dojde k úbytku buněk či nikoliv). Ať už došlo v předcházejících dnech k poklesu nebo mírnému nárůstu počtu buněk, to, zda bude substrát vhodný pro další testování či nikoliv, závisí na počtu buněk stanovených po 72 h od nasazení. Z obr. 5 je zřejmé, že zde není jednotný trend. Bylo by možné konstatovat, že provedení samotné plazmatické modifikace vede k tvorbě povrchů dostatečně atraktivních pro daný typ buněk a následná depozice Au ji ve většině případů již více nezvýší. Menší množství buněk kultivovaných na površích se zlatou vrstvou bylo způsobeno kombinací všech parametrů povrchu. Lze říci, že přítomnost uvolněného Au v kultivačním médiu neměla výrazný vliv na množství kultivovaných buněk, a tudíž pro ně nebyl testovaný povrch toxický[73].

Pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM) s vysokým rozlišením bylo provedeno též vyhodnocení morfologie buněk L929 a jejich mezibuněčných vazeb[66]. Ty mají velký význam v průběhu adheze, proliferace a diferenciace buněk. Tyto výsledky jsou pro vybrané vzorky prezentovány na obr. 6. Pro SEM analýzu bylo použito stejné množství L929 buněk (30 000 na jamku) jako pro studium jejich adheze a proliferace. Analýza SEM byla provedena po 72 h růstu buněk na (i) mikroskopickém skle, (ii) nemodifikovaném UHMWPE, (iii) vzorcích modifikovaných pouze plazmatem a (iv) vzorcích s deponovanou zlatou vrstvou. Mikroskopická skla se běžně používají jako srovnávací materiál v celé řadě testů a studií[76].



Obr. 6. **SEM snímky buněk L929 kultivovaných po 72 h na nemodifikovaném, plazmatem modifikovaném (60 a 240 s) a Au deponovaném (30 a 300 s) UHMWPE.** Mikroskopické sklo bylo použito jako kontrola

Při porovnání tvaru buněk na všech UHMWPE vzorcích a na skle byla většina buněk „na polymerech“ rozprostřená. Na nemodifikovaném UHMWPE je patrný výrazně vyšší počet rozprostřených buněk v porovnání s buňkami plně rozprostřenými na povrchu substrátu modifikovaného plazmatem[77]. Na modifikovaných vzorcích našly buňky odpovídající počet „kotvících“ míst. Na modifikovaných a pokovených vzorcích měly buňky charakteristický trojúhelníkový tvar, což je jeden z faktorů potvrzující vhodnost povrchu pro adhezi a proliferaci buněk. Z toho vyplývá, že působením plazmatu a následnou depozicí zlatých struktur byly vytvořeny vhodné substráty pro adhezi a následnou proliferaci buněk[66], což je klíčová vlastnost pro využití studovaných polymerů (zejména UHMWPE) v oblasti tkáňového inženýrství[78].

6. Závěr

V této práci přinášíme přehled výsledků studií věnovaných využití dvou významných polymerů pro oblast tkáňového inženýrství. Byl studován vliv plazmatické modifikace a katodového naprašování zlata na povrchové vlastnosti a cytokompatibilitu polymerů PEEK a UHMWPE. Při plazmatické modifikaci argonem dochází ke změnám v chemickém složení povrchové vrstvy. To má vliv zejména na změnu smáčivosti jejich povrchu, hrající významnou roli pro následnou adhezi a proliferaci buněk. Modifikace plazmatem též mění povrchovou morfologii polymerů (zejména u UHMWPE). Tyto změny závisí na době expozice. Drsnost, polarita a morfologie plazmatem upravených povrchů polymerů hrají významnou roli pro následnou adhezi a proliferaci buněk. Modifikace plazmatem má pozitivní vliv na buněčnou adhezi a proliferaci buněčné linie L929.

Dále byl studován vliv deponovaných zlatých nanostruktur a nanovrstev na plazmatem upravené povrchy těchto polymerů a na biokompatibilitu. Pro studium adheze a proliferace buněk je nutné vědět, zda nedochází k uvolňování Au do roztoku. Bylo zjištěno, že kratší depozice Au vede ke vzniku zlatých nanostruktur na povrchu, které se snáze uvolňují z povrchu. Delší doba depozice Au vede ke vzniku pevněji ukotvených zlatých nanovrstev.

Lze konstatovat, že plazmatická modifikace zvyšuje cytokompatibilitu PEEK a UHMWPE v porovnání s nemodifikovanými polymery. Taktéž následná depozice zlata může vést k významnému zlepšení adheze a proliferace buněk, to však závisí na výsledné kombinaci všech parametrů povrchové vrstvy.

Tato práce vznikla za finanční podpory grantu Ministerstva zdravotnictví ČR č. NU20-08-00208 a GAČR č. 20-01641S.

LITERATURA

1. Fajstavr D., Neděla O., Slepička P., Neznalová K., Švorčík V.: Chem. Listy *113*, 718 (2019).
2. Fajstavr D., Slepička P., Kolská Z., Švorčík V.: Chem. Listy *112*, 762 (2018).
3. Slepička P., Rimpelová S., Slepičková Kasálková N., Fajstavr D., Sajdl P., Kolská Z., Švorčík V.: Nanomater. *11*, 182 (2021).
4. Slepička P., Slepičková Kasálková N., Bačáková L., Kolská Z., Švorčík V.: J. Nanomater. *527403*, 1 (2012).
5. Psatlazhan S., Remond Y.: J. Mater. Sci. *47*, 6749 (2012).
6. Farge L., Andre S., Meneau F., Dillet J., Cunat C.: Macromolecules *46*, 9659 (2013).
7. Zhou J., Xia Q., Dong J., Li X., Zhou X., Fang T., Lin H.: Acta Neurochir. *153*, 115 (2011).
8. Sagomonyants K. B., Jarman-Smith M. L., Devine J. N., Aronow M S., Gronowiczet G. A.: Biomaterials *29*, 1563 (2008).
9. Wenz L. M., Merritt K., Brown S. A., Moet A., Steffee A. D.: J. Biomed. Mater. Res. *24*, 207 (1990).
10. Morrison C., Macnair R., MacDonald C., Wykman A., Goldie I., Grant M. H.: Biomaterials *16*, 987 (1995).
11. Tsou H. K., Hsieh P. Y., Chung C. J., Tang C. H., Shyr T. W., He J. L.: Surf. Coat. Technol. *204*, 1121 (2009).
12. Briem D., Strametz S., Schroder K., Meenen N. M., Lehmann W., Linhart W., Ohl A., Ruegeret J. M.: J. Mater. Sci. Mater. Med. *16*, 671 (2005).
13. Diop M. F., Burghardt W. R., Torkelson J. M.: Polymer *55*, 4948 (2014).
14. Ansari F., Ries M. D., Pruitt L. J.: Mech. Behav. Biomed. *53*, 329 (2016).
15. Baker D. A., Hastings R. S., Pruitt L.: Polymer *41*, 795 (2000).
16. Collier J. P., Sutula L.C., Currier B. H., Currier J. H., Wooding R. E., Williams I. R., Farber K. B., Mayoret M. B.: Clin. Orthop. Relat. Res. *333*, 76 (1996).
17. Affatato S., Bordini B., Fagnano C., Taddei P., Tinti A., Toni A.: Biomaterials *23*, 1439 (2002).
18. Hirakawa K., Bauer T. W., Stulberg B. N., Wilde A. H.: J. Biomed. Mater. Res. *31*, 257 (1996).
19. Chukov D., Stepashkin A., Gorshenkov M., Tcherdyntsev V. V., Kaloshkin S. D.: J. Alloys Compd. *586*, 459 (2014).
20. Kasálková N., Makajová Z., Pařízek M., Slepička P., Kolářová K., Bačáková L., Hnatowicz V., Švorčík V.: J. Adhes. Sci. Technol. *24*, 743 (2010).
21. Slepička P., Siegel J., Lyutakov O., Slepičková Kasálková N., Kolská Z., Bačáková L., Švorčík V.: Biotechnol. Adv. *36*, 839 (2018).
22. Švorčík V., Rybka V., Hnatowicz V., Bačáková L., Lisá V.: J. Mater. Chem. *5*, 27 (1995).
23. Brown B. N., Badylak S. F.: Acta Biomater. *9*, 4948 (2013).
24. Kolská Z., Řezníčková A., Hnatowicz V., Švorčík V.: Vacuum *86*, 643 (2012).
25. Bačáková L., Mares V., Grazia Bottone M., Pellicciari C., Lisa V., Švorčík V.: J. Biomed. Mater. Res. *49*, 369 (2000).

26. Švorčík V., Hnatowicz V., Stopka P., Bačáková L., Heitz J., Ryssel H.: Rad. Phys. Chem. *60*, 89 (2001).
27. Švorčík V., Rybka V., Hnatowicz V., Smetana K.: J. Mater. Sci.: Mater. Med. *8*, 435 (1997).
28. Švorčík V., Ročková K., Ratajová E., Heitz J., Dvořánková B.: Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B *217*, 307 (2004).
29. Švorčík V., Hubáček T., Slepička P., Siegel J., Kolská Z., Bláhová O., Hnatowicz V.: Carbon *47*, 1770 (2009).
30. Slepička P., Michaljaničová I., Kasálková N. S., Kolská Z., Rimpelová S., Ruml T., Švorčík V.: J. Mater. Sci. *48*, 5871 (2013).
31. Ročková K., Švorčík V., Bačáková L., Dvořánková B., Heitz J.: Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B *225*, 275 (2004).
32. Pařízek M., Kasálková N., Bačáková L., Slepička P., Blažková M., Švorčík V.: Int. J. Mol. Sci. *10*, 4352 (2009).
33. Fajstavr D., Michaljaničová I., Slepička P., Neděla O., Sajdl P., Kolská Z., Švorčík V.: React. Funct. Polym. *125*, 20 (2018).
34. Arenholz E., Švorčík V., Keffer T., Heitz J., Bauerle D.: Appl. Phys. A *53*, 330 (1991).
35. Michaljaničová I., Slepička P., Kolská Z., Švorčík V.: Chem. Listy *112*, 10 (2018).
36. Slepička P., Slepičková Kasálková N., Pinkner A., Sajdl P., Kolská Z., Švorčík V.: React. Funct. Polym. *131*, 266 (2018).
37. Merret K., Cornelius R. M., McClung W. G., Unsworth L. D.: J. Biomater. Sci., Polym. Ed. *13*, 593 (2002).
38. Reisinger B., Fahrner M., Frischauf I., Yakunin S., Švorčík V., Fiedorowicz H., Bartnik A., Romanin C., Heitz J.: Appl. Phys. A *100*, 511 (2010).
39. Vosmanská V., Kolářova K., Rimpelová S., Kolská Z., Švorčík V.: RSC Adv. *5*, 17690 (2015).
40. Benkocká M., Lupínková S., Knapová T., Kolářová K., Matoušek J., Slepička P., Švorčík V., Kolská Z.: Mater. Sci. Eng. *C 96*, 479 (2019).
41. Vesel A., Mozetic M., Strnad S., Peršin Z., Stana-Kleinschek K., Hauptman N.: Vacuum *84*, 79 (2009).
42. Hegemann D., Brunner H., Oehr C.: Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B *208*, 281 (2003).
43. Awaja F., Gilbert M., Kelly G., Fox B., Pigram P. J.: Prog. Polym. Sci. *34*, 948 (2009).
44. Comyn J., Mascia L., Xiao G., Parker B. M.: Int. J. Adhes. Adhes. *16*, 97 (1996).
45. Chappell P. J. C., Brown J. R., George G. A., Willis H. A.: Surf. Interface Anal. *17*, 143 (1991).
46. Chu P. K., Chen J. Y., Wang L. P., Huang N.: Mater. Sci. Eng., R *36*, 143 (2002).
47. Chan C. M., Ko T. M., Hiraoka H.: Surf. Sci. Rep. *24*, 3 (1996).
48. Pišlová M., Kolářová K., Vokatá B., Brož A., Ulbrich P., Bačáková L., Kolská Z., Švorčík V.: Mater. Sci. Eng. C *115*, 1 (2020).
49. Pan Y., Neuss S., Leifert A., Fischler M., Wen F., Simon U., Schmid G., Brandau W., Jahnen-Dechent W.: Small *3*, 1941 (2007).
50. Jain P. K., Huang X.,, El-Sayed I. H., El-Sayed M. A.: Acc. Chem. Res. *41*, 1578 (2008).
51. Shukla R., Bansal V., Chaudhary M., Basu A., Bhonde R. R., Sastry M.: Langmuir *21*, 10644 (2005).
52. Neděla O., Slepička P., Švorčík V.: Materials *10*, 1 (2017).
53. Porta M., Nguyen M. T., Ishida, Y., Yonezawa T.: RSC Adv. *6*, 105030 (2016).
54. Švorčík V., Kotál V., Slepička P., Bláhová O., Šutta P.: Polym. Eng. Sci. *46*, 1326 (2006).
55. Vesel A., Junkar I., Cvelbar U., Kovac J., Mozeticet M: Surf. Interface Anal. *40*, 1444 (2008).
56. Nakamatsu J., Delgado-Aparicio L. F., Da Silva R., Soberon F.: J. Adhes. Sci. Technol. *13*, 753 (1999).
57. Larrieu J., Held B., Martinez H., Tison Y.: Surf. Coat. Technol. *200*, 2310 (2005).
58. Morent R., De Geyter N., Leys C., Gengembre L., Payen E.: Surf. Coat. Technol. *201*, 7847 (2007).
59. Švorčík V., Kolářová K., Slepička P., Macková A., Novotná M., Hnatowicz V.: Polym. Degrad. Stab. *91*, 1219 (2006).
60. Kotál V., Švorčík V., Slepička, P., Sajdl P., Bláhová O., Šutta P., Hnatowicz V.: Plasma Processes Polym. *4*, 69 (2007).
61. Liu H., Pei Y., Xie D., Deng X., Leng X. Y., Jin Y., Huang N.: Appl. Surf. Sci. *256*, 3941 (2010).
62. Tsougeni K., Vourdas N., Tserepi A., Gogolides E., Cardinaud C.: Langmuir *25*, 11748 (2009).
63. Slepička P., Trostová, S., Slepičková Kasálková N., Kolská Z., Malinský P., Macková A., Bačáková L., Švorčík V.: Polym. Degrad. Stab. *97*, 1075 (2012).
64. Siegel J., Řezníčková, A., Chaloupka A., Slepička P., Švorčík V.: Radiat. Eff. Defects Solids *163*, 779 (2008).
65. Neděla O., Slepička P., Kolská Z., Slepičková Kasálková N., Sajdl P., Veselý M., Švorčík V.: React. Funct. Polym. *100*, 44 (2016).
66. Novotná Z., Rimpelová S., Juřík P., Veselý M., Kolská Z., Hubáček T., Ruml T., Švorčík V: Mater. Sci. Eng. C *71*, 125 (2017).
67. Novotná Z., Rimpelová S., Juřík P., Veselý M., Kolská Z., Hubáček T., Borovec J., Švorčík V.: Nanoscale Res. Lett. *12*, 1 (2017).
68. Vunjak-Novakovic G., Freshney I. (ed.): *Culture of Cells for Tissue Engineering.* John Wiley and Sons, New York 2006.
69. Kirby B. J., Hasselbrink E. F., Jr.: Electrophoresis *25*, 187 (2004).
70. Lossdörfer S., Schwartz Z., Wang L., Lohmann C. H., Turner J. D., Wieland M., Cochran D. L., Boyanet B. D.: J. Biomed. Mater. Res. *70A*, 361 (2004).
71. Řezníčková A., Novotná Z., Slepičková Kasálková N., Švorčík V.: Nanoscale Res. Lett. *8*, 1 (2013).
72. Khorasani M. T., Mirzadeh H., Irani S.: Radiat. Phys. Chem. *77*, 280 (2008).
73. Pišlová M., Hubálek Kalbáčová M., Vrabcová L., Slepička P., Kolská Z., Ulbrich P., Švorčík V.: Digest J. Nanomater. Biostructures *13*, 1035 (2018).

74. Michaljaničová I., Slepička P., Slepičková Kasálková N., Sajdl P., Švorčík V.: Vacuum *107*, 184 (2014).
75. Sianina H., Koenig A., Claus H., Frosch M., Schubert-Unkmeir A.: J. Microbiol. Methods *84*, 101 (2011).
76. Howat W. J., Barabas T., Holmes J. A., Holgate S. T., Lackie P. M.: J. Struct. Biol. *139*, 137 (2002).
77. Novotná Z., Rezníčková A., Rimpelová S., Veselý M., Kolská Z., Švorčík V.: RSC Adv. *5*, 41428 (2015).
78. Šlouf M., Vacková T., Nevoralová M., Mikešová J., Dybal J., Pilař J., Zhigunov A., Kotek J., Kredatusová J., Fulín P.: Chem. Listy *107*, 783 (2013).

Z. Novotná[a], Z. Kolská[b], P. Slepička[a], N. Slepičková Kasálková[a], D. Fajstavr[a], L. Bačáková[c], and V. Švorčík[a] *([a] Department of Solid State Engineering, University of Chemistry and Technology Prague, Prague, [b] Faculty of Science, J. E. Purkyně University, Ústí nad Labem, [c] Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Prague):* **Polymers for Tissue Engineering**

The present work provides an overview of the results of studies devoted to the use of two polymers, polyetheretherketone and ultrahigh molecular weight polyethylene in the field of tissue engineering. The effect of plasma modification and cathode sputtering of gold on polymer surface properties and especially on cytocompatibility of these polymers was described. Both modification steps lead to significant changes of surface properties, such as the chemical composition of the surface layer, wettability, roughness and surface morphology. These properties have a significant effect on the surface biocompatibility. Plasma modification has a beneficial effect on cell adhesion and proliferation depending on the duration of exposure. The duration of sputtering affects the size and stability of the gold nanostructures, isolated nanoclusters can partially be released into the biological solution and thus affect the cytocompatibility of the polymer.

Keywords: polymers, plasma treatment, Au sputtering, biocompatibility

Acknowledgements
This work was supported by the project of the Ministry of Health of the CR No. NU20-08-00208 and GACR No. 20-01641S.