

CYTOKOMPATIBILITA ANODIZOVANÝCH POVRCHŮ IMPLANTAČNÍCH MATERIÁLŮ

Původní práce – experimentální studie

THE CYTOCOMPATIBILITY OF ANODIZED SURFACES FOR IMPLANT MATERIALS

Original article – experimental study

Krčil J.¹, Březina V.², Vaněk J.³

¹Ústav materiálového inženýrství, Fakulta strojní Českého vysokého učení technického, Praha

²Laboratoř tkáňových kultur, Fakulta rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity, Nové Hradce

³Stomatologická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice u sv. Anny, Brno

SOUHRN

Úvod a cíl: Oxidické vrstvy na povrchu titanové slitiny mají vliv na odolnost proti korozi a biokompatibilitu. Vynikající kompatibilita mezi tkání, kostí a slitinou titanu je převážně řízena vlastnostmi jeho stabilní povrchové vrstvy složené z oxidu titaničitého. Oxidové vrstvy mohou být připraveny mnoha různými metodami; oxidační proces a jeho podmínky vedou k různým vrstvám: rozdíly jsou v chemickém složení, mechanických vlastnostech, struktuře atd. Odchylka ve struktuře vrstvy může ovlivnit stabilitu, přilnavost nebo biokompatibilitu vrstvy.

Anodická oxidace titanových slitin ve vhodném médiu (a za určitého napětí a proudové hustoty) může vytvořit nejen oxidickou vrstvu, ale také strukturu na povrchu oxidické vrstvy. Tato struktura je obvykle charakterizována póry o velikosti od desítek do stovek nanometrů. Strukturní povrch radikálně mění interakci mezi povrchem titanu a buňkami, a tím i chování tohoto materiálu uvnitř těla. Chování buněk na strukturovaném povrchu různých slitin titanu není dosud řádně popsáno. Tato experimentální práce povede k lepšímu pochopení těchto strukturovaných oxidových vrstev.

Metody: Anodická oxidace byla provedena na vyleštěných vzorcích z Ti6Al4V ELI. Oxidační proces probíhal v elektrolytu 1M H₂SO₄ s napětím kolem 100 V a proudovou hustotou 50 mA/cm². Výsledná oxidická vrstva byla hodnocena a dokumentována pomocí řádkovací elektronové mikroskopie (SEM), kterou byla kontrolována tloušťka oxidické vrstvy a povrchová morfologie. Pozorována byla také změna zbarvení a drsnosti povrchové vrstvy po oxidaci související s růstem oxidů.

Cytopatibilita povrchu materiálu je vyjádřena stanovením plochy povrchu, kterou obsadí buňky po třídenní kultivaci. Jedná se o metodu, která je běžně užívána

a akreditována Českým institutem pro akreditaci. K pokusu byly užity buňky MG63 a bylo stanoveno procento buňkami kolonizované plochy povrchu. Hodnocení bylo provedeno na leštěných a anodizovaných površích vzorků z Ti6Al4V ELI. Výsledky byly navzájem porovnány.

Výsledky: Byly připraveny vzorky s povrchem nanostrukturovaným pomocí anodické oxidace, přičemž struktura povrchu byla tvořena póry o velikostech v řádech desítek až stovek nanometrů.

Výsledky pokusů ukázaly větší vůli buněk kolonizovat anodizovaný povrch. Neanodizovaný povrch byl kolonizován v 56,9 %, kdežto anodizovaný byl při stejných podmínkách kolonizován v 63,5 %. Všechny výběrové soubory byly gaussovsky distribuovány.

Závěr: Anodickou oxidací byla připravena nanostrukturovaná oxidická vrstva na vzorcích z Ti6Al4V ELI. Cytopatibilita vytvořené vrstvy byla porovnávána vůči neoxidovaným vzorkům. Bylo ukázáno, že buňky kolonizují větší plochu povrchu vzorku v případě oxidovaných vzorků.

Klíčová slova: titan, oxidická vrstva, cytopatibilita, buňky, MG63, anodická oxidace

SUMMARY

Introduction, aim: The oxide layers on surface of titanium alloy are influencing corrosion resistance and biocompatibility. The compatibility between the bony tissue and titanium alloy is prevalently dependent on properties of a stable titanium dioxide layer. These layers can be prepared by various methods. The oxidation process (and its conditions) is resulting in different types of oxide layer: difference in chemical composition, mechanical properties, inner structure etc. The deviation inside of the layers structure may influence the stability of the layer, its adhesion or biocompatibility.

The anodic oxidation of titanium alloys in appropriate electrolyte (under certain conditions) can lead not only to creation of the oxide layer, but to creation of an oxide layer with structured surface. This kind of structure is usually characterized by pores in nanometer scale. The structured surface radically changes the interaction between the titanium alloys surface and cells; and thus influencing its behavior inside a body. The cell interaction with the structured surfaces is not properly described yet. This work aims for better understanding of such structured layers.

Methods: The anodic oxidation was carried out on Ti6Al4V ELI polished samples. The oxidation process was realized in 1M H₂SO₄ electrolyte with the voltage 100 V and current density 50 mA/cm². The thickness and surface morphology of the resulting oxide layer were evaluated and documented using a scanning electron microscope (SEM). The changes of color and roughness of the surface after the oxidation were observed as well. The cytocompatibility of the materials surface is expressed by a surface area colonized by cells after the three days of cultivation. This method is standardly used and

accredited by ČIA. The MG63 cells were used for the experiment and the percentage of colonized surface area was evaluated. The evaluation was done on polished and oxidized Ti6Al4V ELI samples and the results were compared.

Result: The structure of samples prepared using the anodic oxidation consisted of pores with size ranging from tens to hundreds of nanometers.

The cytocompatibility testings showed that the cells colonized larger area on the oxidized samples. The cells covered 56.9% of the surface area of the polished samples, while 63.5% of the surface area of the anodized samples. Results of all samples exhibited Gaussian distribution.

Conclusion: The anodic oxidation lead to a creation of nanostructured oxide layer on Ti6Al4V ELI samples. The cytocompatibility of this layer was compared to polished samples. It was shown that cells are colonizing the larger surface area on the oxidized samples.

Key words: titanium, oxide layer, cytocompatibility, cells, MG63, anodic oxidation

Krčil J., Březina V., Vaněk J.

Cytokompatibilita anodizovaných povrchů implantačních materiálů
Čes. stomatol. Prakt. zubní lék. 2019; 119(3): 81–87

ÚVOD

V současné době existuje velké množství materiálů (biomateriálů) užívaných pro výrobu implantátů. Jednou z nejvíce prominentních skupin jsou titanové slitiny, které jsou využívány pro široké spektrum výrobků. Je tomu tak pro jejich mechanické vlastnosti, korozní odolnost a biokompatibilitu. Protikorozní odolnost i biokompatibilita jsou výrazně ovlivněny oxidickou vrstvou, která se nachází na povrchu titanových slitin. Vlastnosti a charakteristiky titanových oxidických vrstev jsou závislé na základním podkladovém materiálu, přítomnosti mezivrstvy jiné slitiny, způsobu a podmínkách přípravy oxidické vrstvy atd. [1–3].

Jednou z charakteristik, pomocí níž je možné hodnotit biomateriály a jejich povrchy, je biologická odezva, která je závislá na charakteru a vlastnostech povrchu biomateriálu, resp. oxidické vrstvy. Obecně mezi variabilní atributy povrchové vrstvy ovlivňující její chování patří chemické složení, povrchová energie, morfologie povrchu, drsnost aj. Jedná se o charakteristiky, jejichž vliv je sledován a analyzován s cílem přesnějšího porozumění

oxidickým vrstvám a jejich biologickým interakcím [1, 4–6].

Vzájemný vztah mezi tkání, kostí a titanovými slitinami je řízen převážně vlastnostmi stabilní oxidické vrstvy [1]. Takovouto vrstvou je možné připravit pomocí různých metod. Nejběžnější a relativně nejjednodušší metodou přípravy oxidické vrstvy je řízená oxidace. Existují různé postupy přípravy; patří mezi ně: oxidace za vyšších teplot (termická oxidace), oxidace v různých chemických lázních (chemická oxidace) a oxidace v elektrolytu při zvýšeném napětí (anodická oxidace). Různé oxidační procesy (a různé oxidační podmínky) vedou ke vzniku rozdílných oxidických vrstev; jedná se o rozdíly v chemickém složení, mechanických vlastnostech, geometrickém uspořádání atomů atd. Rozdílnost v geometrickém uspořádání atomů může vést k ovlivnění stability vrstvy, adhezi k povrchu materiálů či biokompatibilitě. Někteří autoři [7] například uvádějí, že rutilová struktura oxidické vrstvy je vhodnější jen pro určitý typ buněk, zatímco jiní [1] tvrdí, že je nevhodnější pro lidské tělo obecně [8–11].

Pomocí anodické oxidace je možné vytvářet strukturované povrchy, tj. povrchy se specifickou morfologií, která ovlivňuje vlastnosti vrstvy. Při vyšších napětích (kolem 100 V) dochází během anodické oxidace ke vzniku výbojů a oblouků na povrchu vytvářené oxidické vrstvy, a tím ke vzniku pórů na povrchu (jejich velikost, tvar a rozmístění jsou závislé na ostatních oxidačních podmínkách). Tyto póry podporují interakci s lidským tělem [8–11].

Vedle základní anodické oxidace existuje také její komplexnější modifikace, která je označována jako nanostrukturování. Je realizována ve složitějších elektrolytech (roztok 1M H_3PO_4 a 0,4 hm.% HF; nebo roztok 1M $(NH_4)_2SO_4$ s 0,25M NH_4F). Během tohoto procesu vzniká povrch pokrytý strukturou složenou z tzv. nanotubic o průměrech v jednotkách až desítkách nanometrů. Nanostrukturované povrchy jsou využívány pro zvýšení interaktivity s buňkami a urychlení oseointegrace [1, 11].

Cílem této práce bylo vytvořit nanostrukturovaný povrch (s přítomností nanopórů, nikoli nanotubic) na vzorcích ze slitiny Ti6Al4V ELI pomocí jednoduché anodické oxidace. Posléze pak provést hodnocení cytotoxicity takto upravených povrchů nasazením buněk MG63 a porovnat tyto výsledky s reakcí buněk na neoxidovaném povrchu.

MATERIÁL A METODIKA

Materiál, který byl využit pro experimenty a hodnocení, se nacházel ve formě disků s průměrem 8 mm a tloušťkou ~3 mm (materiál byl dodán firmou Martikan, s.r.o., Dolná Mariková, Slovenská republika). Vzorky byly dodány v leštěném stavu a před oxidačním procesem byly pouze vyčištěny pomocí etanolu v ultrazvukové lázni.

Anodická oxidace probíhala v elektrolytu 1M H_2SO_4 za pokojové teploty, cirkulace elektrolytu byla zajištěna probubláváním pomocí stlačeného vzduchu. Vzorky byly do lázně zavěšeny na titanových drátech. Anodizace byla realizována pomocí platinových katod a zdroje napětí (SZ 20 110/400, NES Nova Dubnica, Slovenská republika). Napětí, za kterého byla oxidace realizována, bylo 100 V a odpovídající proudová hustota ~50 mA/cm²; oxidace vzorků probíhala po dobu jedné hodiny. Parametry oxidace byly zvoleny na základě literatury [11] a předcházejících experimentů. Po ukončení procesu oxidace byly vzorky vyjmuty z lázně, očištěny a osušeny. Byla pozorována změna zbarvení povrchu a hodnocena povrchová drsnost pomocí drsnoměru Hommel Tester T 1000

(jehla 5 μ m/90°; analyzovaná dráha 5 mm) (HOMMEL CS, s.r.o., Teplice, Česká republika). Posléze byla hodnocena povrchová morfologie materiálu za využití řádkovacího elektronového mikroskopu (SEM) Jeol JEM7600F (JEOL Ltd., Tokio, Japonsko). Elektronového mikroskopu bylo užito i k hodnocení tloušťky vrstev na příčném řezu oxidovaným vzorkem.

Následně byla hodnocena cytotoxicita povrchu vzorků, a to na oxidovaných i neoxidovaných vzorcích, aby bylo možné vzájemné porovnání. Cytotoxicita povrchu materiálu je vyjádřena stanovením plochy povrchu, kterou obsadí buňky po třídenní kultivaci. Jedná se o metodu, jež je běžně užívána [12] a akreditována Českým institutem pro akreditaci (ČIA). K pokusu byly užity buňky MG63 a bylo stanoveno procento buňkami kolonizované plochy povrchu. Pro pozorování kolonizace povrchu buňkami bylo použito časosběrných snímků pořízených pomocí mikroskopu Nikon SMZ500 (Nikon Instruments, Inc. Melville, NY, USA). Posléze byla počítána plocha překrytí povrchu buňkami a byly provedeny statistické analýzy.

VÝSLEDKY

Změna povrchového zbarvení oxidovaných vzorků se nachází v **tabulce 1**. Dále také tabulka uvádí odměřenou tloušťku oxidické vrstvy a změnu drsnosti zapříčiněnou oxidací. Pro porovnání jsou uváděny také relevantní hodnoty před oxidačním procesem.

Povrch vzorků po oxidaci vykázal změnu zbarvení: před oxidací byl povrch vyleštěn do zrcadlového lesku, po oxidaci byl povrch matně šedý, místy přecházející do nafialového zbarvení (při pozorování pod úhlem). Zbarvení povrchu značí přítomnost oxidické vrstvy. Povrch vzorku nevykazoval rovnoměrné zbarvení v celé ploše povrchu, některá místa měla odlišný odstín šedé. Nerovnoměrnosti zbarvení mohou svědčit o rozdílné tloušťce vrstvy či o odlišné struktuře na povrchu vrstvy. Pro efektivní porovnání bylo provedeno mikroskopické pozorování na SEM.

Měření povrchové drsnosti před oxidací a po oxidaci ukázal, že oxidačním procesem došlo k nárůstu povrchové drsnosti na zhruba desetinásobek původní hodnoty. Změna povrchové drsnosti úzce souvisí s růstem oxidů. Oxidy narůstají ve formě krystalů a dochází k tomu relativně nerovnoměrně; dochází tudíž ke zdrsňování povrchu. Navíc, v případě tohoto procesu oxidace je nutno brát v potaz vznik strukturovaného povrchu, který také dále ovlivňuje povrchovou drsnost; přičemž drsnost je parametr ovlivňující interaktivitu s buňkami.

Tab. 1 Zbarvení povrchu oxidovaného vzorku, povrchová drsnost oxidovaného a neoxidovaného vzorku, tloušťka oxidické vrstvy

Tab. 1 The surface colour of oxidized sample, the surface roughness of oxidized and untreated sample, the thickness of the oxide layer

Vzorek	Neoxidovaný Ti6Al4V ELI	Oxidovaný Ti6Al4V ELI
Zbarvení povrchu	Zrcadlový lesk	Šedá s náznaky fialové
Povrchová drsnost, Ra [μm]	0,021	0,224
Tloušťka vrstvy [μm]	---	~ 1,5

Při měření tloušťky oxidické vrstvy na příčném řezu vzorkem byla pozorována vrstva o tloušťce pohybující se okolo 1,5 μm , kompaktní v celé měřené oblasti. Zbarvení pozorované na povrchu vzorku odpovídá změřené tloušťce vrstvy (porovnáno s [1]), ale nepotvrdilo se, že by nerovnoměrnosti ve zbarvení přímo souvisely se změnami tloušťky oxidické vrstvy.

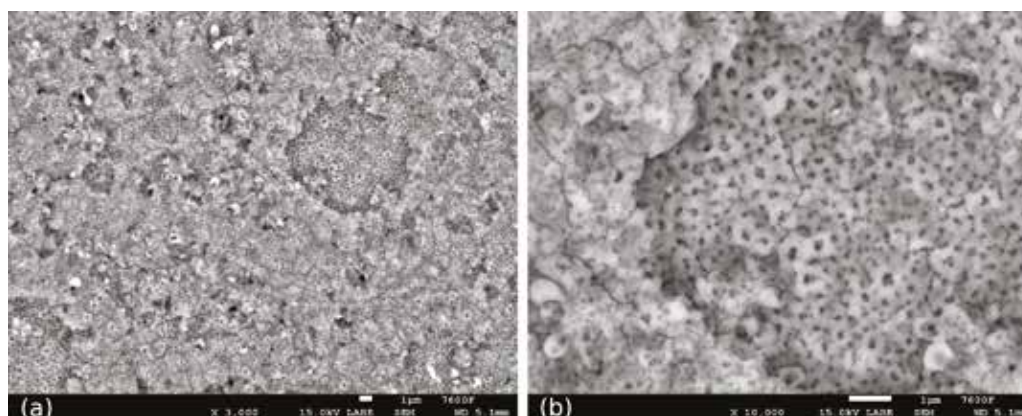
Povrchová morfologie

Povrch vzorku byl v různých místech pozorován na SEM. Pořízené snímky se nacházejí na obrázcích 1–3. Na **obrázku 1** je přehled (**1a**) a detail (**1b**) toho, jak vypadala většina povrchu vzorku. Lze pozorovat povrch rovnoměrně pokrytý póry; je také možné si povšimnout místa, kde se nachází prohlubeň (detail 1b). Zde jsou viditelné póry nacházející se uvnitř oxidické vrstvy. Zároveň toto místo může souviset s nehomogenitami ve zbarvení povrchu, jelikož se jedná o místo, ve kterém je oxidická vrstva (nepatrně) tenčí.

Z obrázku 1 je patrné, že póry na povrchu jsou sice rozpoznatelné, ale při detailnějším pozorování nejsou snadno rozeznatelné. Pro přesnější hodnocení a měření velikosti pórů

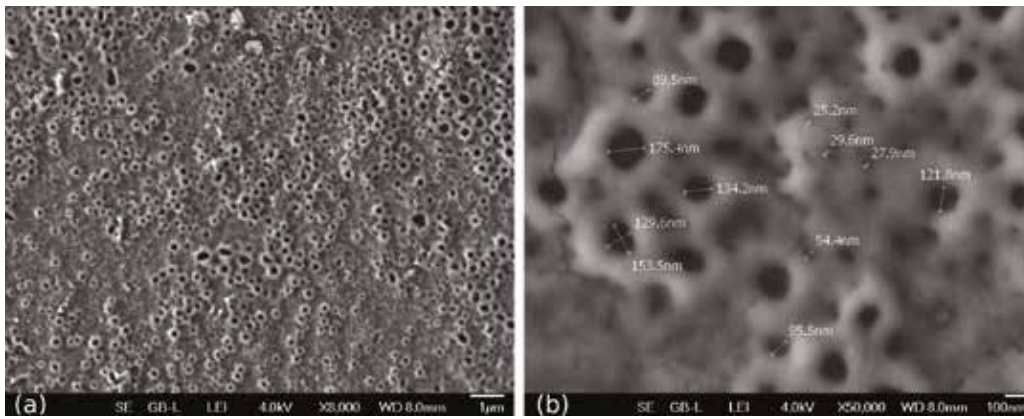
tedy byly pořízeny snímky s použitím detektoru LEI (viz **obr. 2**). V rámci přehledu povrchu (**2a**) je vidět povrch, který je rovnoměrně pokryt póry, ale tyto póry nemají uniformní velikost. Pohybují se zhruba od desítek po stovky nanometrů. Při detailnějším pozorování (**2b**) bylo možné provést měření velikosti pórů na vybraných místech. Póry jsou zhruba kruhového tvaru, byl tudíž měřen jejich vnitřní průměr. Z vybraného snímku je patrné, že se průměr pórů opravdu pohybuje v předpokládaném rozsahu. Nejmenší póry měly průměr okolo 20 nm, největší okolo 200 nm. To ovšem nevylučuje přítomnost menších či větších pórů.

Prohlubeň na obrázku 1 nebyla ovšem jediným defektem připraveného povrchu. Na **obrázku 3** je zdokumentováno jedno z míst, které se se vyznačovalo odlišným odstínem zbarvení povrchu. Ze snímků, přehledu (**3a**) i detailu (**3b**), je patrné, že v tomto místě vznikla během procesu oxidace jiná struktura. Stále jsou patrné póry, které byly nalezeny na zbytku povrchu, ale toto místo je obecně méně rovnoměrné a kompaktní. Lze si povšimnout výrazných oxidických krystalů, kde došlo k odlišnějšímu růstu vrstvy. V detailu



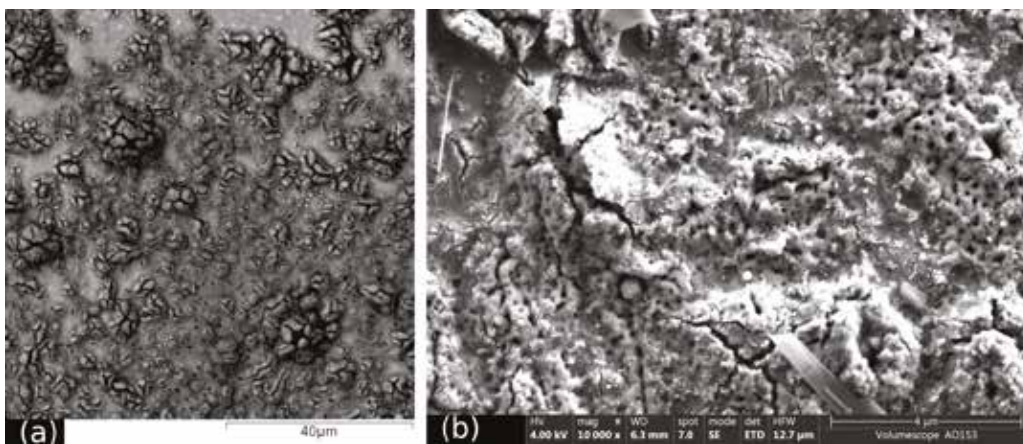
Obr. 1
Anodizovaný povrch vzorků z Ti6Al4V ELI, přehled (**a**) a detail (**b**)

Fig. 1
Surface of anodized Ti6Al4V ELI samples, overview (**a**) and detail (**b**)



Obr. 2
Nanostruktura anodizovaného povrchu vzorků z Ti6Al4V ELI, přehled (a) a detail s odměřenými rozměry pórů (b)

Fig. 2
Nanostructure of anodized surface of Ti6Al4V ELI samples, overview (a) and detail with measurement of pore sizes (b)



Obr. 3
Defekty anodizovaného povrchu, přehled (a) a detail (b)

Fig. 3
Defects of anodized surface, overview (a) and detail (b)

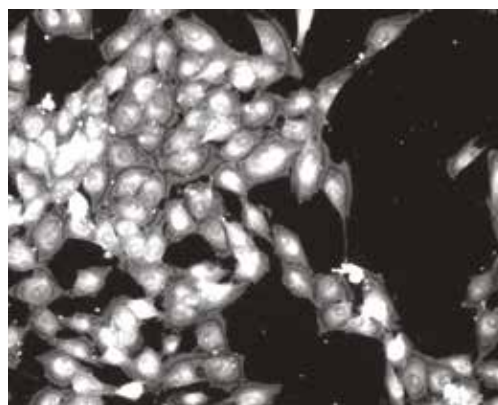
je také dobře patrné, že v těchto místech docházelo ke vzniku trhlin ve vrstvě, což souzní s nerovnoměrností růstu. V místech s oxidickými krystaly dochází k popraskání vrstvy – vzhledem k tomu, že samotná oxidická vrstva je křehká a v místech, kde probíhá růst vrstvy odlišně, může docházet ke vzniku prnutí, a tím i porušení vrstvy (ať již se jedná o popraskání, špatnou adhezi ap.).

Vznik míst s takto odlišnou strukturou může být zapříčiněn jednak vnitřními nečistotami nacházejícími se uvnitř materiálu, jednak povrchovými nečistotami, které se na povrch dostaly při přípravě vzorků na oxidaci a nebyly dostatečně očištěny (mastnota aj.). V tomto případě lze vyloučit vnitřní nečistoty vzhledem k atestům, které byly dodané výrobcem. S nejvyšší pravděpodobností se tedy jedná o nedostatečně očištěná místa, kde posléze docházelo k odlišnému procesu oxidace.

Cytokompatibilita

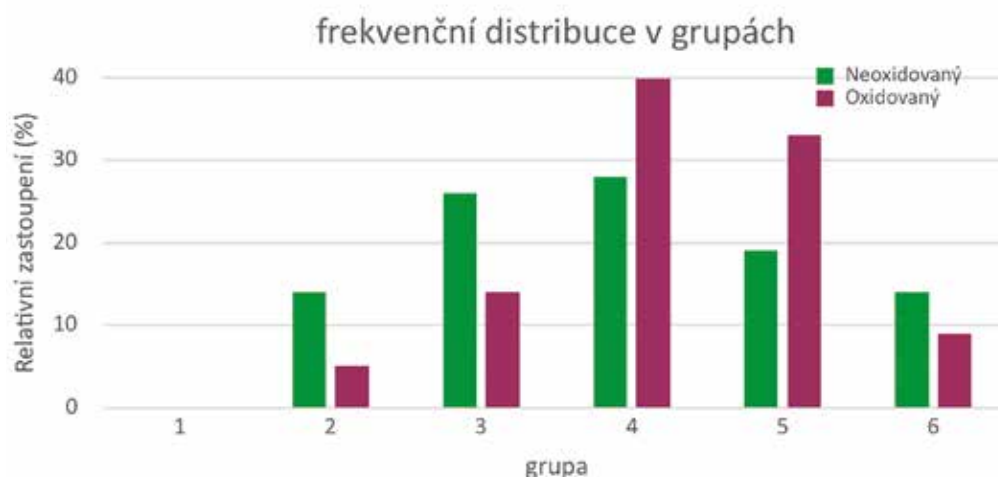
Cytokompatibilita byla hodnocena na oxidovaných i neoxidovaných vzorcích. Na povrch

vzorků byly nasazeny buňky MG63 a po třídní kultivaci byla hodnocena kolonizace povrchu, který byl zmapován, a bylo vypočteno procentuální pokrytí povrchu buňkami. Na **obrázku 4** je příklad jednoho vyhodnocovaného pole, kdy povrch vzorku nepokrytý buňkami je zastoupen černou barvou, buňky bílou a odstíny šedé. Analyzovaných polí bylo celkem 43 pro každý ze vzorků.



Obr. 4
Buňky MG63 na povrchu vzorku obarvené fluoresceinem, jedno hodnocené obrazové pole

Fig. 4
The MG63 cells, colored by fluorescein, on the surface of the sample, one of the analyzed fields



Graf 1 Procento kolonizace v grupách podle Sturgesova pravidla

Graph 1 The percentage of colonization in groups according to Sturges rule

Graf 1 uvádí rozdělení frekvenční distribuce v grupách podle Sturgesova pravidla v závislosti na překrytí povrchu buňkami. Je zde uvedeno také porovnání mezi neoxidovanými (leštěnými) a oxidovanými (strukturovanými) vzorky. Rozdělení do grup je odstupňováno podle míry kolonizace, tj. v grupě jedna jsou snímky s povrchem nejméně kolonizovaným buňkami a v grupě šest snímky s povrchem nejvíce kolonizovaným buňkami. Jedná se tedy o gaussovské rozdělení překrytí povrchu buňkami jednotlivých analyzovaných polí.

Je patrné, že vyšší procento kolonizace povrchu bylo pozorováno převážně u oxidovaných vzorků, ale nejde o výrazný rozdíl. Z celkové statistiky vyplývá, že v případě neoxidovaných vzorků bylo po třídení kolonizací buňkami pokryto 56,9 % povrchu, kdežto v případě oxidovaných vzorků bylo pokryto 63,5 % povrchu.

DISKUSE

Vznik nanostruktury na povrchu titanových slitin pomocí anodické oxidace je v souladu s předcházejícími experimenty [13, 14] a literaturou [9], kde byla obdobná struktura získána na čistém titanu (CP Ti grade 2). Změna drsnosti i zbarvení povrchu také odpovídá předpokladům dostupným z literatury [1, 13].

Problematickým se ovšem jeví vznik nerovnoměrné struktury (viz obr. 1 v porovnání s obr. 3), která je indikována změnami odstínu zbarvení povrchu oxidovaných vzorků. Tento jev může souviset s těmito faktory: vnitřní čistota a struktura materiálu, vnější

nečistoty ulpívající na povrchu vzorku způsobené nedostatečným očištěním vzorku, vliv použitého elektrolytu a jeho čistoty a umístění vzorku v oxidační lázni.

Vliv vnitřní struktury se ovšem projevuje ve větší míře (viz výsledky termické i anodické oxidace na β titanové slitině [14]). Navíc u zkoumaných vzorků z Ti6Al4V ELI byl dodán atest od výrobce materiálu a struktura byla také kontrolována pomocí metalografické analýzy, kde nebyly nalezeny odchylky. Vliv elektrolytu a umístění v lázni by se projevil ve větším měřítku – nejednalo by se jen o selektivní místa na vzorcích. Je tedy nejvíce pravděpodobné, že jde o nečistoty nacházející se na povrchu vzorků, způsobené manipulací či nedokonalým očištěním vzorku. Pro další práce by tedy bylo vhodné unifikovat proces přípravy vzorků, aby se předešlo obdobným výsledkům.

S relativní nerovnoměrností struktury na povrchu oxidovaných vzorků souvisejí také výsledky z testů cytotoxicity. Zde se může jevit, že v porovnání s leštěným povrchem není dosaženo tak podstatného rozdílu. V následujících pracích bude vhodné ověřit, jaký je vliv nerovnoměrné povrchové struktury v porovnání s rovnoměrnou povrchovou strukturou.

Zároveň je ovšem možné říci, že vyšší buněčná aktivita na oxidovaných vzorcích odpovídá výsledkům získaným na obdobných vzorcích z Ti6Al4V v práci [14] a CP Ti grade 2 v práci [15], kde byly vzorky ponořeny do Hanksova roztoku a byl sledován růst hydroxylapatitu.

ZÁVĚR

- Nanostrukturovaná oxidická vrstva na slitině Ti6Al4V ELI byla vytvořena pomocí popsané metody anodické oxidace. Povrchová struktura byla tvořena kruhovitými póry, jejichž velikost se pohybovala přibližně od 20 nm do 200 nm.
- Oxidy pokrývaly celý vzorek s vrstvou tloušťky pohybující se okolo 1,5 μm. Povrchová drsnost se oproti vyleštěnému stavu navýšila na zhruba desetinasobek.
- Ačkoli se vrstva jevila homogenní a rovnoměrná, na určitých místech povrchu bylo proměnlivé zbarvení. Analýza na SEM ukázala, že v určitých místech došlo k tvorbě odlišné struktury než na většině vzorku. Tato nerovnoměrnost byla pravděpodobně ovlivněna povrchovými nečistotami na vzorku či umístěním v oxidační lázni.
- Na vyleštěných a oxidovaných vzorcích byl proveden test cytokompatibility. Po třech dnech kolonizace povrchu vzorků

buňkami MG63 byla hodnocena buňkami pokrytá plocha.

- Přestože se na povrchu anodizovaných vzorků nacházela místa s nerovnoměrnou strukturou, prokázaly buňky větší vůli kolonizovat povrch anodizovaných vzorků oproti vzorkům leštěným.
- Po třech dnech kultivace byl povrch leštěných vzorků pokryt buňkami z 56,9 % u anodizovaných vzorků tomu bylo u 63,5 %.
- Pro budoucí práce by bylo vhodné stanovit postup čištění a přípravy vzorků před oxidací, který by vedl k unifikovanému povrchu se standardními vlastnostmi, zejména tloušťkou oxidové vrstvy a její strukturou povrchu.

Ing. Jan Krčil

Fakulta strojní ČVUT

Ústav materiálového inženýrství

Karlovo náměstí 13

121 35 Praha 2

e-mail: jan.krcil@fs.cvut.cz

LITERATURA

1. Yoshiki O.

Bioscience and bioengineering of titanium materials. Elsevier; 2007. cit 22. červen 2019. doi: 10.1016/b978-0-08-045142-8.x5000-2. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780080451428X50002>

2. Zhang F, Burkel E.

Novel titanium manganese alloys and their macroporous foams for biomedical applications prepared by field assisted sintering. *biomedical engineering, trends in materials Science*. 2011 cit. 22. červen 2019; doi: 10.5772/12874. Dostupné z: <https://www.intechopen.com/books/biomedical-engineering-trends-in-materials-science/novel-titanium-manganese-alloys-and-their-macroporous-foams-for-bio-medical-applications-prepared-by>

3. Tolde Z, Starý V, Cvrček L, Vandrovová M, Remsa J, Daniš S, Krčil J, Špatenka P.

Growth of a TiNb adhesion interlayer for bioactive coatings. *Mater Sci Eng: C*. 2017; 80: 652–658. doi: 10.1016/j.msec.2017.07.013.

4. Jirka I, Vandrovová M, Frank O,

Tolde Z, Plšek J, Luxbacher T, et al.

On the role of Nb-related sites of an oxidized β-TiNb alloy surface in its interaction with osteoblast-like MG-63 cells. *Mater Sci Eng: C*. 2013; 33(3): 1636–1645. doi: 10.1016/j.msec.2012.12.073.

5. Godley R, Starosvetsky D, Gotman I.

Corrosion behavior of a low modulus β-Ti-45%Nb alloy for use in medical implants. *J Materials Sci: Mater Med*. 2006; 17(1): 63–67. doi: 10.1007/s10856-006-6330-6.

6. Niinomi M, Nakai M, Hieda J.

Development of new metallic alloys for biomedical applications. *Acta Biomaterialia*. 2012; 8(11): 3888–3903. doi: 10.1016/j.actbio.2012.06.037.

7. Gilbert J.

Medical Device Materials V: Proceedings of the Materials & Processes for Medical Devices Conference 2009, August 10–12, 2009, Minneapolis, MN, USA. ASM International; 2010. 285 s.

8. Metikoš-Huković M, Kwok A, Piljac J.

The influence of niobium and vanadium on passivity of titanium-based implants in physiological solution. *Biomaterials*. 2003; 24(21): 3765–3775. doi: 10.1016/0376-4583(85)90077-9.

9. Cui X, Kim HM, Kawashita M, Wang L,

Xiong T, Kokubo T, Nakamura T.

Preparation of bioactive titania films on titanium metal via anodic oxidation. *Dent Mater*. 2009; 25(1): 80–86.

10. Zorn G, Lesman A, Gotman I.

Oxide formation on low modulus Ti45Nb alloy by anodic versus thermal oxidation. *Surface*

Coatings Technol. 2006; 201(3): 612–618. doi: 10.1016/j.dental.2008.04.012.

11. Bae I-H, Yun K-D, Kim H-S, Jeong B-C, Lim H-P, Park S-W, et al.

Anodic oxidized nanotubular titanium implants enhance bone morphogenetic protein-2 delivery. *J Biomed Materials Res Part B: Applied Biomaterials*. 2010; 93B(2): 484–491. doi: 10.1002/jbm.b.31606.

12. Homolková M, Březina V.

Interakce slitiny kovu a buněčné linie. *Chem Listy*. 109; 2015(2): 151–154.

13. Krčil J, Mára V, Krum S, Sobotová J.

The characterization of anodic oxide layers on selected bio-compatible titanium alloys. *Acta Polytechnica*. 2018; 58(4): 240. doi: 10.14311/AP.2018.58.0240.

14. Krčil J, Rafaj Z, Mára V, Krum S, Starý V, Nehasil V, et al.

The analysis of thermal and anodic oxide layers on selected biocompatible titanium alloys. *Surface Interface Analysis*. 2018; 50(11): 1007–1011. doi: 10.1002/sia.6466.

15. Yang B, Uchida M, Kim H-M, Zhang X, Kokubo T.

Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment. *Biomaterials*. 2004; 25(6): 1003–1010. doi: 10.1016/S0142-9612(03)00626-4.