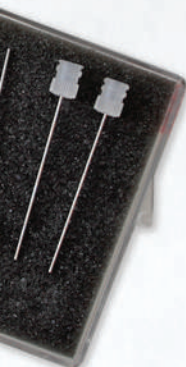
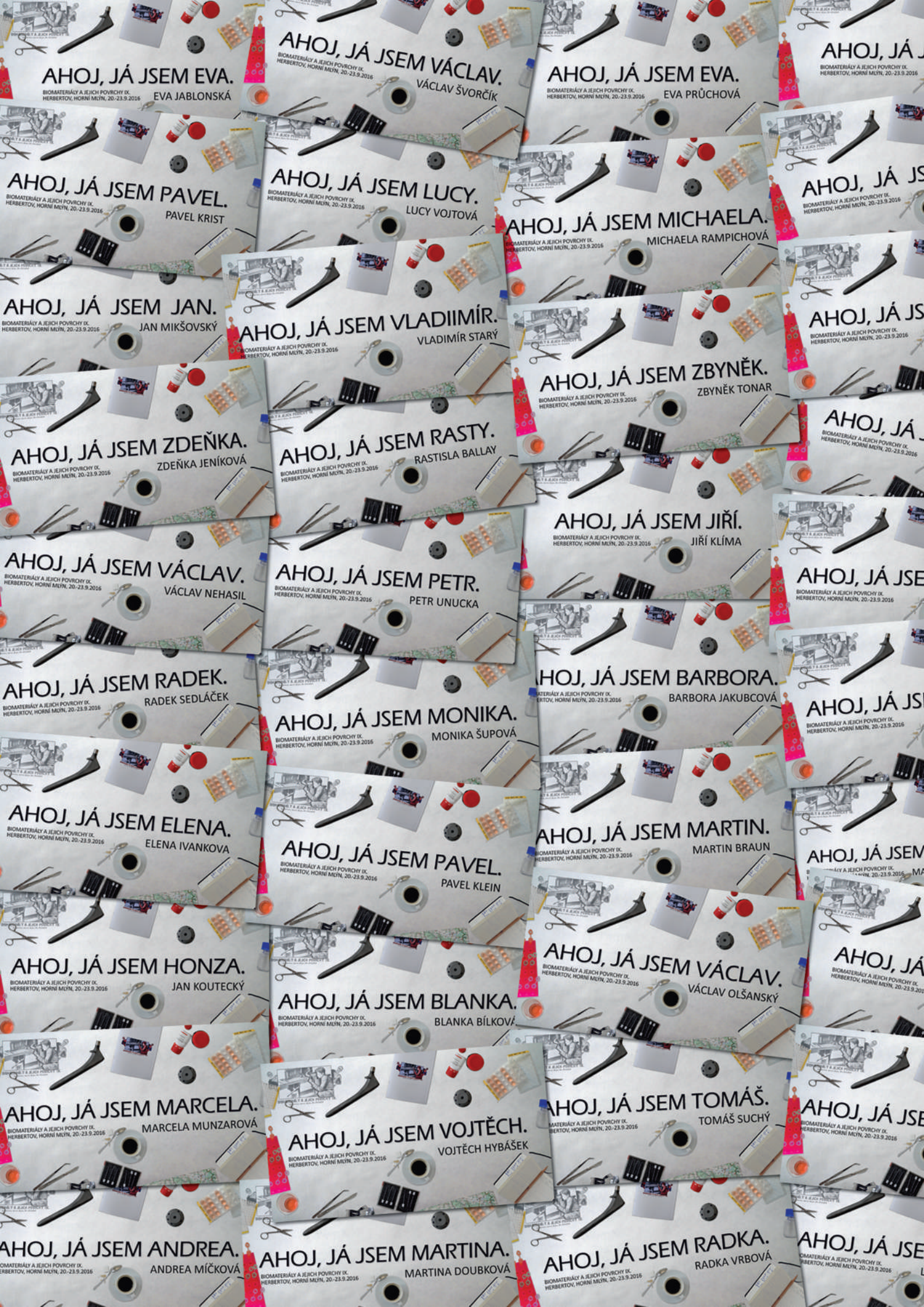


BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.

Herbertov, Horní Mlýn, 20.-23.9.2016





AHOJ, JÁ JSEM EVA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
EVA JABLONSKÁ

AHOJ, JÁ JSEM VÁCLAV.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
VÁCLAV ŠVORČÍK

AHOJ, JÁ JSEM EVA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
EVA PRŮCHOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016

AHOJ, JÁ JSEM PAVEL.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
PAVEL KRIST

AHOJ, JÁ JSEM LUCY.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
LUCY VOJTOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM MICHAELA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
MICHAELA RAMPICHOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016

AHOJ, JÁ JSEM JAN.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
JAN MIKŠOVSKÝ

AHOJ, JÁ JSEM VLADIMÍR.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
VLADIMÍR STARÝ

AHOJ, JÁ JSEM ZBYNĚK.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
ZBYNĚK TONAR

AHOJ, JÁ JSEM
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016

AHOJ, JÁ JSEM ZDEŇKA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
ZDEŇKA JENÍKOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM RASTY.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
RASTISLA BALLAY

AHOJ, JÁ JSEM JIŘÍ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
JIŘÍ KLÍMA

AHOJ, JÁ JSEM
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016

AHOJ, JÁ JSEM VÁCLAV.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
VÁCLAV NEHASIL

AHOJ, JÁ JSEM PETR.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
PETR UBUCKA

AHOJ, JÁ JSEM JIŘÍ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
JIŘÍ KLÍMA

AHOJ, JÁ JSEM
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016

AHOJ, JÁ JSEM RADEK.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
RADEK SEDLÁČEK

AHOJ, JÁ JSEM MONIKA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
MONIKA ŠUPOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM BARBORA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
BARBORA JAKUBCOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016

AHOJ, JÁ JSEM ELENA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
ELENA IVANKOVA

AHOJ, JÁ JSEM PAVEL.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
PAVEL KLEIN

AHOJ, JÁ JSEM MARTIN.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
MARTIN BRAUN

AHOJ, JÁ JSEM
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016

AHOJ, JÁ JSEM HONZA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
JAN KOUTECKÝ

AHOJ, JÁ JSEM BLANKA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
BLANKA BÍLKOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM VÁCLAV.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
VÁCLAV OLŠANSKÝ

AHOJ, JÁ JSEM
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016

AHOJ, JÁ JSEM MARCELA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
MARCELA MUNZAROVÁ

AHOJ, JÁ JSEM VOJTĚCH.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
VOJTĚCH HYBÁŠEK

AHOJ, JÁ JSEM TOMÁŠ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
TOMÁŠ SUCHÝ

AHOJ, JÁ JSEM
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016

AHOJ, JÁ JSEM ANDREA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
ANDREA MIČKOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM MARTINA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
MARTINA DOUBKOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM RADKA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016
RADKA VRBOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM
BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.
HERBERTOV, HORNÍ MLŮN, 20.-23.9.2016

Biomateriály a jejich povrchy IX.

Tomáš Suchý, Vladimír Starý, Karel Balík

ISBN 978-80-01-06004-9

Vydalo: České vysoké učení technické v Praze
Zpracovala: Fakulta strojní

Kontaktní adresa:

Tomáš Suchý

Tel.: 266 009 287

Tisk: Česká technika – nakladatelství ČVUT

Adresa tiskárny: Žitná 4, Praha 6, 166 36

Počet stran: 68

Náklad: 100

Pořadí vydání: 1.

Praha 2016

ÚTERÝ 20. 9. 2016

ÚVODNÍ PŘEDNÁŠKA & OHLÉDNUTÍ ZA VYBRANÝMI TÉMATY MINULÝCH ROČNÍKŮ

úterý 13:30

Zahájení semináře

úterý 13:50

Vítězslav Březina a Jan Kreisler

Tvrdá zubní tkáň jako přirozený biomateriál

8

úterý 14:10

Radka Vrbová, Pavel Bradna, Martin Bartoš, Lucie Himmlová a Tomáš Kaše Horažďovský

Současný pohled na využití rekonstrukčních materiálů ve stomatologii

8

úterý 14:30 (S)

Eva Jablonská, Peter Minárik, Jan Lipov, Šárka Beranová, Pavlína Tláskalová, Vítězslav Březina a Tomáš Ruml

Hoříčková slitina LAE442 po úpravě ECAP a její testování in vitro (nejen) s využitím techniky mikrokinematografie

9

úterý 14:50

Vladimír Havránek

Urychlené energetické ionty pro analýzy i modifikace povrchových vrstev

10

úterý 15:10

David Chvátil, Pavel Krist a Václav Olšanský

Radiační polymerizace a síťování na mikrotronu MT25

11

COFFEE BREAK (15:30-16:00)

PROBLEMATIKA KARDIOVASKULÁRNÍCH NÁHRAD

úterý 16:00

Zbyněk Tonar, Tereza Kubíková, Jana Horáková, Petr Mikeš, Martin Bartoš, Jiří Janáček, Miroslav Jiřík a David Lukáš

Mikroskopická stavba cév jako inspirace pro maloprůměrové cévní náhrady

12

úterý 16:40

Horáková Jana, Mikeš Petr a Tomáš Suchý

Hemokompatibilita nanovláknenných materiálů a způsob její prezentace

14

úterý 17:00

Eduard Brynda, T. Riedel, Z. Riedelová, M. Houska, E. Filová, O. Kaplan a L. Bačáková

Modifikované biologické, bioartifciální a syntetické kardiovaskulární implantáty

15

PŘEDSTAVUJEME

úterý 17:20

Elena Ivankova, Irina Dobrovol'skaya, Pavel Popryadikhin, Vladimir Yudin

Polymer materials for tissue engineering and transplantology

16

VEČEŘE (18:00-19:30)

MOŽNÁ PŘIJDE I JÁRA

úterý 19:30

Ivan Janda

Megalithic structures in Sacsayhuaman and Puma Punku from the point of view of Materials Science and Engineering

18

STŘEDA 21. 9. 2016 - DOPOLEDNE

Z LABORATOŘE DO VELKÉHO DIVADLA:
REGULACE, DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ, BIOLOGICKÉ HODNOCENÍ, VÝROBA

středa 08:50

Pavel Šimek

Regulační aspekty léčivých přípravků obsahujících biomateriály

20

středa 9:20

Tereza Bělinová

Patenty a užité vzory - jak naložit s výsledky výzkumu jinak

20

středa 9:40

Štefan Juhás, Tomáš Suchý a Marie Hubálek Kalbáčová

Problematika biologického hodnocení in vivo

21

středa 10:00

Pavel Klein

Zvířecí modely hojení ran

21

COFFEE BREAK (10:20-10:50)

středa 10:50

Jiří Klíma, Petra Rausová, Jana Juhásová, Tomáš Suchý, Marie Hubálek Kalbáčová
a Štefan Juhás

Adipogenic protocol well suited for porcine BM-MSC

22

středa 11:10

Elena Filová, Roman Matějka, Jana Havlíková, Marie Marková, Jaroslav Chlupáč,
Tomáš Riedel, Eduard Brynda a Lucie Bačáková

Buněčná odpověď na mechanické zatěžování

23

středa 11:30

Jaroslav Fojt, Luděk Joska, Jaroslav Fencel, Vojtěch Hybášek a Eva Průchová

Nanostrukturované povrchy - z laboratoře k implantátu

23

středa 11:50

Marcela Munzarová

Technologické zázemí pro výrobu nanovlákných materiálů ve společnosti Nanovia s.r.o.

24

OBĚD (12:10-13:30)

STŘEDA 21. 9. 2016 - ODPOLEDNE

NOSIČE & NANOČÁSTICE

středa 13:30

Lucie Bačáková, Markéta Bačáková, Julie Pajorová a Radmila Kudláčková 25
Kožní náhrady – současný stav a budoucí trendy

středa 14:00 (S)

Radmila Kudláčková, Markéta Bačáková, Petr Mikeš, Martin Pelcl, Lucie Bačáková 27
Růst buněk na nanovlákných membránách pro účely kožních náhrad

středa 14:20

Michala Rampichová, Matej Buzgo, Věra Lukášová, Andrea Míčková, Karolína Vocetková, 29
Věra Sovková, Franco Rustichelli a Evžen Amler
Funkcionalizace 3D nosičů připravených metodou odstředivého zvlákňování

středa 14:40 (S)

Pavla Sauerová, Martina Verdánová, Blanka Bílková, Tomáš Suchý, Monika Šupová, 30
Šárka Rýglová, Margit Žaloudková, Zbyněk Sucharda, František Denk, Martin Bartoš
a Marie Hubálek Kalbáčová
Studium interakce buněk s biomateriály na bázi kolagenu

středa 15:00

Andrea Míčková, Věra Sovková, Karolína Vocetková, Eva Filová a Evžen Amler 31
Funkcionalizované nanovlákné nosiče pro řízené dodávání bioaktivních látek

COFFEE BREAK (15:20-15:50)

středa 15:50

Antonín Brož, Małgorzata Świątek, Martin Pařízek, Lucie Bačáková, Stanisław Błazewicz 32
Biokompatibilita polykaprolaktonových scaffoldů s mnohostěnnými uhlíkovými nanotubami

středa 16:10

Eva Filová, Lenka Waloszková, Matej Buzgo, Věra Lukášová, Evžen Amler 33
Core-shell nanovláknna na bázi polykaprolaktonu pro regeneraci chrupavky

středa 16:30

Tereza Bělinová, Lucie Ostrovská, Jan Valenta, Minoru Fujii, Marie Hubálek Kalbáčová 34
Křemíkové částice a lidské buňky - současné poznatky a budoucí výzvy

středa 16:50 (S)

Anna Zavaďáková, Pavel Klein, Tomáš Suchý, Lucie Vištejnová 34
Úspěchy a pády při vytváření scaffoldu pro 3D kultivaci kožních fibroblastů

středa 17:10

Tomáš Suchý, Lucy Vojtová, Monika Šupová a Marek Pokorný 36
Zeugolisův paradox, část I. - sázka

FIREMNÍ PREZENTACE

středa 17:15

Prezentace firmy HANYKO Praha, s.r.o. 64

VEČEŘE (18:00-19:30)

MOŽNÁ PŘIJEDE I PETR

středa 19:30

Petr Vydra
Úskalí prezentace vědecké práce

ČTVRTEK 22. 9. 2016

CHARAKTERIZACE & MODIFIKACE

čtvrtek 8:50

Lucy Vojtová, Jan Žídek, Veronika Švachová, Jana Brtníková, Markéta Tesařová, Tomáš Zikmund, Eva Prosecká, Michaela Rampichová, Jiří Chmelík, Roman Jakubiček, Jiří Jan a Jozef Kaiser 39

Morfologické hodnocení porézních kolagenových skafoldů s kmenovými buňkami pomocí počítačové mikro- a nanotomografie

čtvrtek 9:20 (S)

Martin Bartoš a Tomáš Suchý 41

Možnosti mikro-CT hodnocení kompozitních scaffoldů

čtvrtek 9:40

Lucie Vištejnová, Azalia Mariel Carranza Trejo, Iveta Zímová a Tomáš Suchý 43

Úpravy plastových povrchů pro dlouhodobou kultivaci hepatocytů

Otázka zní „Koutovat či nekoutovat, a případně jak?“

čtvrtek 10:00 (S)

Rastislav Ballay, Ivan Landor, František Růžička a Tomáš Suchý 44

Aloplastické materiály a jejich citlivost ke kolonizaci

čtvrtek 10:20 (S)

Eva Průchová, Kosová M, Joska L, Filip V 45

Vývoj metody pro testování antibakteriální aktivity

COFFEE BREAK (10:40-11:00)

čtvrtek 11:00

Vítězslav Březina 46

„Live Cell Imaging“ v průzkumu interakcí buňky a biomateriálů

čtvrtek 11:20

Zdeňka Kolská, Monika Benkocká, Nikola Slepíčková Kasálková, Kateřina Kolářová a Václav Švorčík 49

Chemické modifikace povrchů materiálů pro bioaplikace

čtvrtek 11:40 (S)

Barbora Jakubcová, Jana Turňová, Ondrej Řehounek a Vladimíra Petráková 50

Vplyv hrubosti a chemickej úpravy povrchu na rast kortexových neurónov

čtvrtek 12:00

Jakub Kronek, Vlastimil Králík a Jan Mervart 50

Experimentální biotribologie

čtvrtek 12:20

Martin Braun, Monika Šupová, Šárka Rýglová, Margit Žaloudková, Martina Křížková, Zbyněk Sucharda, Eva Klappková, František Denk, Karel Balík a Tomáš Suchý 51

Možnosti HPLC a elektroforézy při charakterizaci kompozitních biomateriálů připravovaných pro klinické aplikace

OBĚD (12:40-14:30)

VOLNÉ ODPOLEDNE

PÁTEK 23. 9. 2016

KOVY & POVRCHOVÉ ÚPRAVY

pátek 9:00

Václav Švorčík, P. Slepíčka, J. Siegel, O. Lyutakov, Z. Kolská 54
Kovové nanostruktury a jejich antibakteriální vlastnosti

pátek 9:20 (S)

Kamila Moriová, Vladimír Starý, Zdeněk Tolde a Václav Nehasil 54
Stabilita vrstev BaTiO₃ nanosených na Ti a TiNb podložkách

pátek 9:40

Ivan Jirka, Marta Vandrovcová, Vítězslav Březina, Jan Plšek a Lucie Bačáková 55
Interakce lidských kostních buněk podobných osteoblastům s povrchy oceli a Si(100) pokrytými silikalitovým filmem

pátek 10:00

Martina Doubková, Lucie Bačáková, Martin Pařízek, Roman Gabor a Jaroslav Marvan 56
Adheze, růst a osteogenní diferenciacce buněk na kovových materiálech pro potenciální kostní implantáty

pátek 10:20 (S)

Jan Krčil a Vladimír Mára 58
TiNb povlaky a jejich vliv na oxidickou vrstvu

COFFEE BREAK (10:40-11:00)

pátek 11:00

Tomáš Kolegar, Martin Matoušek, Monika Vilémová, Vladimír Starý 59
Adheze biokompatibilního TiNb povlaku

pátek 11:20 (S)

Vojtěch Hybášek, Jaroslav Fojt, Luděk Joska 60
Impedanční odezva nanostrukturovaných povrchů slitin titanu pro biomateriálovou oblast

pátek 11:40

Jan Mikšovský, M. Jelínek, P. Písařík, T. Kocourek, J. Remsa, K. Jurek 61
Studie povrchových vlastností vrstev DLC/Ti připravených hybridní laserovou technologií

pátek 12:00

Petr Písařík, M. Jelínek, J. Remsa, J. Mikšovský, T. Kocourek, J. Zemek, K. Jurek, J. Lukeš, J. Šepitka, Z. Tolde, L. Bačáková, M. Vandrovcová a E. Filová 61
Dopace diamantu podobného uhlíku pro použití v medicíně

pátek 12:20

Ukončení semináře a vyhlášení výsledků studentské soutěže

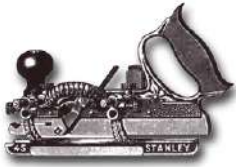
OBĚD (12:40-14:30)

ODJEZD



20.9.2016

ÚTERÝ



úterý 13:50

Vítězslav Březina a Jan Kreisler

Tvrdá zubní tkáň jako přirozený biomateriál

Lékařská fakulta MU Brno, Vývojová laboratoř stomatologické kliniky

brezinavita@gmail.com

Biomateriál je poměrně dobře definovaný světovou zdravotnickou organizací a je chápán převážně jako umělý získaný z nerostných materiálů, jejich kompositů, různých kovů a jejich slitin a v poslední době také materiálů, pocházejících z materiálů přírodních, tedy živočišných, které jsou různě chemicky či fyzikálně upravovány do formy, která vyhovuje medicínskému užití, tedy nejčastěji komposity, vláknové materiály, či scaffoldy s účinkem degradačním.

V této práci vám představíme účinky přirozeného materiálu, tvrdé zubní tkáně, která je již úspěšně užívána v Evropských dentálních ambulancích. Funguje to, ale zatím si nikdo neuměl racionalizovat podstatu jevu, při kterém dochází po aplikaci dentinu k rychlé augmentaci čelistní kosti s možností brzy aplikovat potřebné dentální implantáty. Východiskem se stal průzkum izraelských lékařů ve skupině Dr. Itzhaka Bindermana. Ti nejenom prokázali, že to funguje, ale také vyvinuli přístrojovou základnu, dostupnou dnes i ve střední Evropě. Použili jsme jejich metody a zobrazili pomocí sběrné mikrokinematografie vzájemné interakce mezi strukturovanou tvrdou zubní tkání a osteocyty v tkáňové kultuře. Po kvalitativní i kvantitativní analýze, se ukazuje důvod zlepšené interakce lidských osteocytů MG63 a aplikované strukturované tvrdé zubní tkáně, v porovnání s jinými, tržně dodávanými materiály.

úterý 14:10

**Radka Vrbová¹, Pavel Bradna¹, Martin Bartoš¹, Lucie Himmlová¹
a Tomáš Horažd'ovský²**

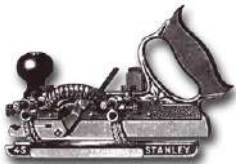
Současný pohled na využití rekonstrukčních materiálů ve stomatologii

¹ Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Stomatologická klinika 1. LF UK a VFN

² České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Ústav fyziky

vrbova@vus.cz

Zuby jsou specifické útvary v dutině ústní, tvořené převážně tvrdými tkáněmi, mezi něž patří sklovina, dentin a cement. Sklovina, pokrývající povrch anatomické korunky, je vzhledem k vysokému obsahu minerálních látek nejtvrdší tkání v lidském těle, která musí odolávat jak fyzikálně-mechanické zátěži, tak i chemickému působení řady látek z přijímané potravy či nápojů a rovněž produktů metabolismu bakterií, přítomných v ústní dutině. Tyto látky s nízkým pH rozpouštějí minerální složky skloviny, čímž dochází k její demineralizaci. Sklovina je pak náchylnější ke vzniku zubního kazu nebo erozi. V případě nedodržování důsledné ústní hygieny, nevhodných stravovacích návyků či nezahájení včasné léčby může v konečném důsledku dojít k závažným nevratným změnám až ztrátám tvrdých zubních tkání s nutností jejich náhrady, což bývá někdy komplikované i finančně nákladné.



Nabídka dentálních materiálů, určených k rekonstrukcím ztracených zubních tkání, je velmi široká. V mechanicky silně namáhaných distálních úsecích mohou být aplikovány dentální amalgámy, založené na reakci rtuti s práškovou formou slitin kovů, obsahujících převážně stříbro, cín a měď. Avšak v důsledku často diskutované toxicity rtuti a jejího možného uvolňování z amalgámů v průběhu korozních dějů, ale i z důvodů rostoucích estetických požadavků, se od amalgámů ustupuje. V současné době se při rekonstrukcích zubních tkání dává přednost polymerním materiálům, skloionomerním cementům a dentální keramice, na něž se zaměřuje i materiálový vývoj.

Polymery mají ve stomatologii velmi široké uplatnění. Přední místo zaujímají kompozitní materiály, jejichž matrici tvoří především metakrylátové polymery a plnivy jsou Ba-Sr, Zr mletá skla a amorfní SiO₂, povrchově upravená silanizačními činidly. Podle velikosti částic plniva se kompozity dělí do dalších podskupin s různým stupněm naplnění, přes mikro k nanokompozitům včetně hybridních materiálů, navzájem se lišících především mechanickými vlastnostmi, odolností proti opotřebení, polymeračním smrštěním, atd. Avšak i u těchto materiálů jsou již prokázána rizika v podobě možného uvolňování zbytkových volných monomerů do okolního prostředí, které mohou u citlivých jedinců vyvolávat nepříjemné zdravotní komplikace, především alergické reakce.

Další vývoj kompozitních materiálů je veden snahou vylepšit jejich mechanické a estetické vlastnosti, zvýšit odolnost proti opotřebení, snížit polymerační smrštění a především zlepšit biokompatibilitu zamezením uvolňování zbytkových monomerů.

Tento příspěvek vznikl za podpory institucionální dotace PRVOUK P28/LF1/6 MŠMT.

úterý 14:30 (S)

**Eva Jablonská¹, Peter Minárik², Jan Lipov¹, Šárka Beranová³,
Pavlína Tláskalová³, Vítězslav Březina³ a Tomáš Ruml¹**

**Hořčíková slitina LAE442 po úpravě ECAP a její testování *in vitro*
(nejen) s využitím techniky mikrokinematografie**

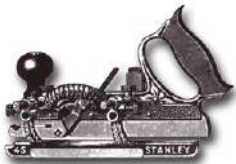
¹ Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Ústav biochemie a mikrobiologie

² Univerzita Karlova, Matematicko-fyzikální fakulta, Katedra fyziky materiálů

³ Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Ústav komplexních systémů, Pracoviště tkáňových kultur

eva.jablonska@vscht.cz

Hořčíkové slitiny mohou být využity pro dočasné ortopedické aplikace. Tyto fixace (šroubky či destičky) by se měly ideálně odbourat se stejnou rychlostí, jakou dochází k regeneraci poškozené kostní tkáně, čímž odpadá nutnost reoperace. V současné době je snahou vyvinout hořčíkové materiály s optimální korozní rychlostí, čehož může být dosaženo vhodným složením slitiny a dalším zpracováním, které ovlivní mikrostrukturu slitiny - například použitím metody ECAP (equal channel angular pressing), kdy dochází k intenzivní plastické deformaci a zjemnění mikrostruktury. Naším cílem bylo charakterizovat hořčíkovou slitinu s obsahem Li, Al a vzácných



kovů (LAE442) po úpravě ECAP z hlediska korozní rychlosti a cytotoxicity *in vitro* s použitím různých metod a aplikovat na vzorky těchto hořčíkových slitin metodu mikrokinematografie.

Byla sledována korozní rychlost hořčíkové slitiny LAE442 v simulované tělní tekutině i v kultivačním médiu (měření koncentrace vylouhovaných iontů i výpočet z hmotnostních úbytků) v různých časových intervalech a podmínkách před a po procesu ECAP. Byly provedeny nepřímé testy cytotoxicity s výluhy slitin s použitím buněčné linie L929 za různých podmínek vyhodnocené pomocí WST-1 testu a také pomocí časosběrné mikroskopie. Dále byly provedeny kontaktní testy s použitím buněčné linie U 2-OS, kdy byla hodnocena kolonizace materiálu buňkami pomocí elektronové a fluorescenční mikroskopie po fixaci v různých časových intervalech a také byly v reálném čase mikroskopicky sledovány buňky MG-63 na rozhraní materiálu během tří dní.

Po týdnu inkubace v SBF bylo zjištěno významné snížení korozní rychlosti po procesu ECAP. Žádný z testovaných vzorků nevykazoval cytotoxicitu v nepřímém *in vitro* testu (WST-1), naopak byl pozorován toxický efekt nezřetělených výluhů z obou typů vzorků při vyhodnocení pomocí mikrokinematografie, což bylo pravděpodobně způsobeno odlišnými podmínkami testu (např. přidávkou výluhu k buněčné suspenzi oproti přidávku na subkonfluentní vrstvu v prvním případě). Byl pozorován růst buněk U-2 OS na materiálech bez rozdílu v úpravě. Naopak při mikroskopickém sledování rozhraní materiálů byl pozorován rozdíl v toxicitě ve prospěch materiálu bez úpravy ECAP.

I přes nižší korozní rychlost slitiny LAE442 po úpravě ECAP se použitými metodami nepodařilo potvrdit jednoznačný pozitivní vliv úpravy ECAP na cytotoxicitu. Aplikaci metody mikrokinematografie pro hořčíkové slitiny komplikuje zejména nehomogenita materiálu v rámci vzorků (kvůli riziku bodové koroze je nutno provádět měření ve více paralelních opakováních, což není při této metodě snímání v reálném čase vždy možné) i v rámci jednoho vzorku (v případě přímého testu při sledování rozhraní materiálu bylo pozorováno nejednotné chování v různých částech vzorku). Dále je také v případě přímého testu komplikováno vyhodnocení záznamu, neboť dochází během snímání k uvolňování vodíkových bublin a korozních produktů. Metoda mikrokinematografie je tedy vhodnější pro vyhodnocení nepřímého testu s výluhy a v případě vyhodnocení přímého testu by bylo vhodnější testovat vzorky po předchozí inkubaci v médiu, kdy vytvořená korozní vrstva zpomalí uvolňování vodíkových bublin.

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠMT ČR (č. 20/2016).

úterý 14:50

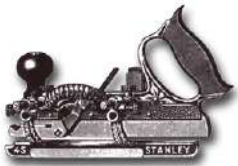
Vladimír Havránek

Urychlené energetické ionty pro analýzy i modifikace povrchových vrstev

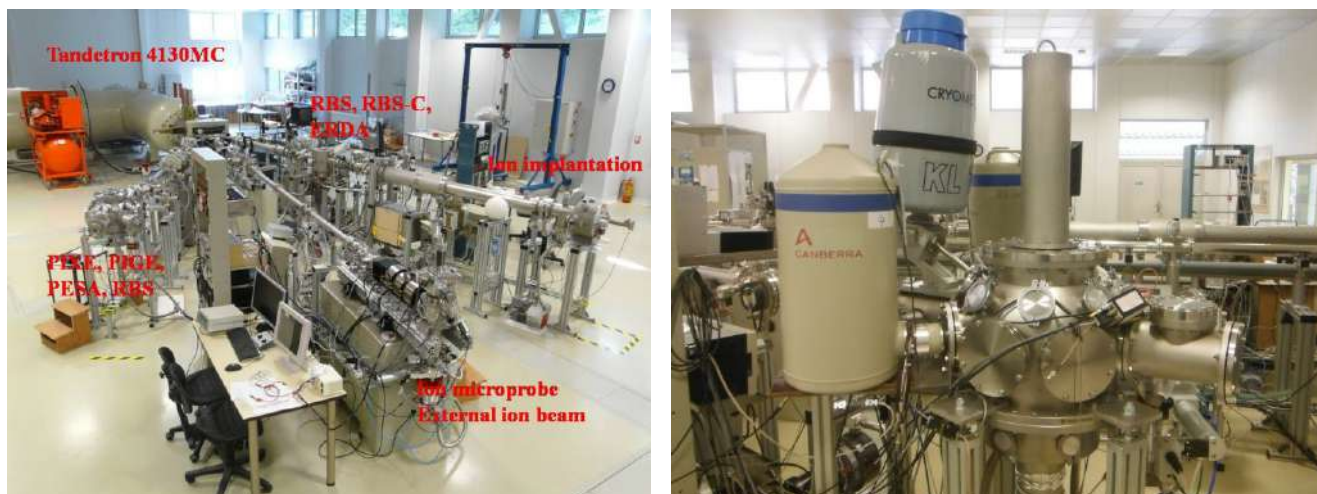
Ústav jaderné fyziky AV ČR, v.v.i.

havranek@ujf.cas.cz

Urychlené energetické ionty mohou složit jako praktický nástroj k charakterizaci složení a struktury tenkých povrchových vrstev určených pro biologické aplikace i k analýze vlastních biologických materiálů. Zároveň pomocí vysokoenergetických iontů lze vhodně modifikovat povrch



některých materiálů a vytvářet tak povrchy s požadovanými vlastnostmi, nebo vytvářet povrchové struktury vhodné pro dané aplikace. V Ústavu jaderné fyziky v Řeži máme od roku 2005 k dispozici moderní urychlovač částic TANDETRON 4130MC s terminálovým napětím 3MV, který slouží jako univerzální zdroj MeV iontů téměř všech prvků od vodíku po zlato. Tandetron v současné době zcela nahradil starší Van de Graffův elektrostatický urychlovač, který je nyní součástí sbírky Národního technického muzea v Praze.



Obr. 1 Laboratoř Tandetronu s iontovými trasami (stav 2012) a koncová víceúčelová komora pro simultánní měření metodami PIXE,RBS,ERDA (PESA) a PIGE.

Na trase mikrosondy je možno kvantitativně analyzovat koncentrace prvků s laterálním rozlišením až 1 μ m a v koncentracích až na úrovni jednotek hmotnostních ppm, což umožňuje sledovat rozložení koncentrací sledovaných prvků i rámci jediné buňky. Je zde také nově možnost využívat metodu IBW (Ion Beam Writing – psaní iontovým svazkem) pro vytváření jemných 3D objektů ve vhodném materiálu (PMMA, PDMS, sklo, apod.). Na konci trasy iontové mikrosondy je dále instalován externí svazek pro ozařování živých tkání v normální atmosféře definovanou dávkou, zvolenou energií a daným typem iontu (H, He, C apod.)

Laboratoř Tandetronu umožňuje volný přístup na experimentální zařízení (na základě podaného a úspěšně obhájeného návrhu experimentu) v rámci projektu CANAM (Center of Accelerators and Nuclear Analytical Methods) podporovaným grantem MŠMT LM 2011019.

úterý 15:10

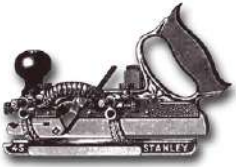
David Chvátíl, Pavel Krist a Václav Olšanský

Radiační polymerizace a síťování na mikrotronu MT25

Ústav jaderné fyziky AV ČR, v.v.i.

chvatil@ujf.cas.cz

Mikrotron MT 25 slouží jako zdroj relativistických elektronů (primární elektronový svazek), sekundárních fotonových svazků (brzděné záření) a neutronů z jaderných reakcí. Elektronové svazky jsou v poslední době často využívány k radiačnímu síťování a radiační polymerizaci pro



výzkum v oblasti biomedicíny a v potravinářském průmyslu. Ve spolupráci s ÚMCH byly ozařovány kompozity z účelně strukturovaných makroporézních hydrogelů, tyto vrstvené kryogely byly polymerovány pomocí elektronového svazku s energií do 10 MeV. Ve spolupráci s VÚP Praha byly radiačně sítěny kolageny, které po ozáření získávají vhodnější mechanické vlastnosti.



Obr. 1 Pohled na urychlovací komoru mikrotronu MT25.

úterý 16:00

Zbyněk Tonar¹, Tereza Kubíková¹, Jana Horáková², Petr Mikeš², Martin Bartoš³, Jiří Janáček⁴, Miroslav Jiřík⁵ a David Lukáš²

Mikroskopická stavba cév jako inspirace pro maloprůměrové cévní náhrady

¹ Ústav histologie a embryologie a Biomedicínské centrum, LF UK v Plzni

² Katedra netkaných textilií a nanovlákných materiálů, Fakulta textilní, TU Liberec

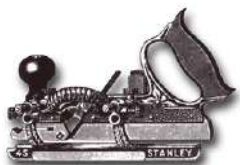
³ Stomatologická klinika, 1. LF UK v Praze a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

⁴ Laboratoř nádorové léčby a regenerace tkáně, Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Plzni

⁵ Oddělení biomatematiky, Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i.

zbynek.tonar@lfp.cuni.cz

Úvod: Podmínkami pro dlouhodobé udržení průchodnosti umělých biodegradabilních maloprůměrových cévních náhrad (<2,5-3 mm) připravených technikami tkáňového inženýrství je při testování *in vivo* zajištění dostatečného průtoku a takový průběh remodelace, osídlení a postupného odbourávání stěny náhrady, který nevede k uzavěru štěpu. Cíle příspěvku jsou dva: (i) shrnout dostupné poznatky z oblasti složení cévní stěny, které mohou být inspirací pro výrobu



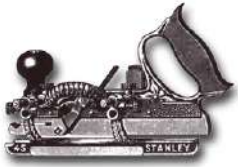
nanovlákných cévních náhrad a (ii) kvantitativně popsat trojrozměrnou stavbu nanovlákných cévních náhrad pomocí výpočetní tomografie s vysokým rozlišením a stereologických postupů.

Metodika: (i) V oblasti složení cévní stěny představujeme postupy vedoucí k hodnocení objemového zastoupení hlavních složek stěny tepen elastického a svalového typu (cévní hladká svalovina, glykosaminoglykany, kolagen, elastin) a poměrné tloušťky vrstev tepenné stěny. (ii) V oblasti hodnocení stavby cévních náhrad vycházíme z pilotních snímků z mikroCT pořízených s rozlišením 0,5 μm .

Výsledky: (i) Jednou z tepen využitelných pro *in vivo* testování maloprůměrových cévních náhrad je a. carotis prasete. V její stěně lze stanovit objemový podíl hladké svaloviny, kolagenu i elastinu, publikovaných údajů je však dosud velmi málo. (ii) V oblasti kvantifikace obrazových dat mikroCT podáváme následující přehled:

- Odhad objemového podílu vláken
 - interaktivně pomocí bodové testovací mřížky
 - interaktivně pomocí systému izotropních jednorozměrných sond
 - automatizovaně s pomocí volumetrie binarizovaného obrazu
- Odhad povrchové hustoty (povrchu) vláken
 - u arbitrárně orientovaných skenů, interaktivně s pomocí systému izotropních jednorozměrných sond
 - v sérii izotropních řezů po znáhodnění roviny skenu, interaktivně s pomocí cykloid
 - automatizovaně u binarizovaného obrazu
- Odhad délkové hustoty (délek) vláken
 - pomocí skeletonizace binárního obrazu
 - v sérii izotropních řezů po znáhodnění roviny skenu, interaktivně s pomocí počítačového rámečku (unbiased counting frame)
- Odhad počtu segmentů vláken na základě počítání uzlových bodů větvené sítě vláken
- Odhad průměru vláken
- Vzorkování pro jednotlivé metody
- Časová a metodická náročnost a srovnání výsledků jednotlivých metod

Závěr: (i) Znalost rozdílů v mikroskopické stavbě jednotlivých úseků tepen vybraných pro testování maloprůměrových cévních náhrad umožňuje uzpůsobit výrobu těchto náhrad na míru včetně zohlednění tloušťky, průměru a vlastností proximálního a distálního konce cévní náhrady. (ii) Stereologické hodnocení mikroskopické stavby náhrad je důležitou zpětnou vazbou pro jejich výrobu a nástrojem k přiblížení jejich struktury vlastnostem cév, které mají být náhradou překlenuty.



úterý 16:40

Jana Horáková¹, Petr Mikeš¹ a Tomáš Suchý²

Hemokompatibilita nanovláknenných materiálů a způsob její prezentace

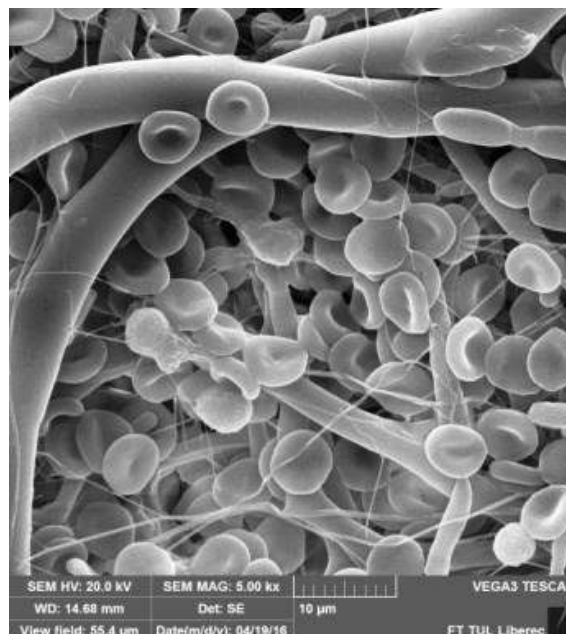
¹ Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů, Fakulta textilní, TU Liberec

² Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AV ČR, v.v.i.

jana.horakova@tul.cz

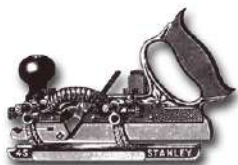
Nanovláknenné materiály napodobující svou strukturou mezibuněčnou hmotu jsou využívány jako tkáňové nosiče pro nejrůznější aplikace. Jako implantabilní materiál musí splňovat řadu požadavků jako např. cytokompatibilita, vhodné chemické složení, povrchové vlastnosti, mechanické vlastnosti apod. V neposlední řadě je nutné analyzovat interakce těchto materiálů s krví, které pomohou predikovat funkci těchto materiálů s krevními elementy a plasmou. Hemokompatibilita nanovláknenných materiálů byla testována dle normy ISO 10993-4 Biologické hodnocení zdravotnických prostředků - část 4: Výběr zkoušek interakce s krví. Pro testování byly použity elektrostaticky zvlákněné biodegradabilní polyestery s rozdílnou morfologií vláken.

Hemolytické vlastnosti nanovláknenných materiálů byly hodnoceny po inkubaci nanovláknenných materiálů s plnou krví. Interakce s krevními elementy byla sledována kvalitativně pomocí skenovací elektronové mikroskopie (viz obr. 1). Množství uvolněného hemoglobinu z červených krvinek bylo stanoveno spektrofotometricky. Testované nanovláknenné materiály vykazovaly nízké procento hemolýzy, které bylo závislé na struktuře scaffoldu.



Obr. 1 Snímek ze skenovací elektronové mikroskopie po inkubaci elektrostaticky zvlákněného polykaprolaktonu s plnou krví.

Vliv nanovláknenných materiálů na proces **koagulace** byl testován po inkubaci materiálů s plasmou chudou na destičky pomocí měření aktivovaného parciálního tromboplastinového času (APTT), který odráží vnitřní cestu aktivace krevního srážení a protrombinového času (PT) sledující vnější cestu aktivace koagulační kaskády.



Další sledovanou vlastností byla míra **trombogenicity** materiálů, která byla analyzována po inkubaci materiálů se suspenzí trombocytů. Díky vysokému měrnému povrchu nanovláknenných vrstev vykazují testované materiály vysoký trombogenní potenciál, který je však závislý i na chemickém složení povrchu.

Vyhodnocení hemokompatibility nanovláknenných vrstev se opírá o studium interakce krevních elementů s testovanými materiály. Nevýhodou těchto prvotních pokusů je provedení experimentů ve statických podmínkách, které plně nesimulují situaci v organismu. Proto budou testy opakovány při proudění krve v dynamických systémech, tzv. Chandler Loop. Testování vycházelo z hodnocení interakce materiálů s lidskou krví. Během vývoje zdravotnických prostředků jsou však tkáňové nosiče testovány na zvířecích modelech, proto budou provedeny experimenty s krví modelových zvířat.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 15-29241A.

úterý 17:00

**Eduard Brynda¹, T. ¹, Z. Riedelová¹, M. Houska¹, E. Filová², O. Kaplan²
a L. Bačáková²**

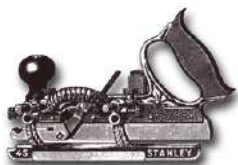
Modifikované biologické, bioartifciální a syntetické kardiovaskulární implantáty

¹ Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v.v.i.

² Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i.

brynda@imc.cas.cz

Přednáška poskytuje přehled postupů vyvíjených spoluprací týmů ÚMCH a FGÚ, jejichž cílem je zlepšení stávajících nebo získání nových náhrad cév, srdečních chlopní a cévních stentů. Část vlastní zdravé cévy pacienta (**autologní biologická náhrada**) představuje pro pacienta nejlepší cévní náhradu, ale cévy vhodné pro transplantaci jsou dostupné pouze u 60-70% pacientů. Jednou z hlavních příčin selhání autologních náhrad je zmožení hladkých svalových buněk (VSMC)-hyperplasie, která vede k zúžení až uzavření náhrady po transplantaci. V pokusech na králících byla hyperplasie blokována obalením autologní náhrady sítíkou uvolňujícím sirolimus (inhibitor proliferace VSMC) vyvinutou **ÚMCH** a **FGÚ**. **Syntetické cévní protézy** jsou dodávány různými výrobci jako trubice pletené nebo tkané z vláken polyetylen tereftalátu (PET) nebo lité z expandovaného polytetrafluoroethylenu (ePTFE) obsahující póry 30 to 90 μm . Jako každý povrch kromě nepoškozeného cévního endotelu vyvolává povrch protézy po implantaci reakce krve vedoucí k rychlé tvorbě povlaku z fibrinového gelu agregovaných krevních destiček zánětlivým procesům. Během několika měsíců je povrch pokryt stabilní kompaktní vrstvou fibrinu – pseudointimou, na které se jen vzácně tvoří ostrůvky endotelu. Tato vrstva ovšem nemůže nahradit živý cévní endotel, který by dlouhodobě bránil trombotickým a zánětlivým komplikacím. Kvůli rychlé trombotické okluzi po implantaci nemohou být cévy s průměrem menším než 6 mm nahrazovány syntetickou protézou. **ÚMCH** a **FGÚ** vyvinuly povlaky, které umožňují vypěstovat na vnitřním povrchu syntetické protézy konfluentní vrstvu cévních endoteliálních buněk (VECs). Povlaky připravené řízeným růstem umělé fibrinové sítě od povrchu protézy jsou modifikovány



připojením fibronektinu specificky interagujícím s integriny na povrchu VECs. Povlečený povrch je *in vitro* osazen VECs, které jsou následně kultivovány při mechanickém zatěžování v bioreaktoru napodobujícím dynamické poměry v přirozené cévě. Pro chirurgickou aplikaci se předpokládá, že pro vypěstování endotelu budou použity VECs odebrané pacientovi před operací. Stejný postup je aplikován pro endotelizaci náhrad z decelularizovaných (zbavených původních buněk) biologických cév a při konstrukci nových **bioprotéz pro náhradu srdeční chlopně**. V tomto případě je endotel pěstován na chlopni vytvořené z decelularizovaného perikardu (zbaveného původních buněk) a pokrytého fibrinovým povlakem. Je jasné, že by bylo mnohem výhodnější, kdyby syntetický implantát sám podpořil vytvoření přirozeného endotelu na svém povrchu až po implantaci. Odpadly by tak problémy s odebráním a kultivací autologních buněk před operací nebo s imunitní reakcí na cizí buňky. V tomto případě nesmí implantát po implantaci vyvolat akutní trombotické a zánětlivé reakce dokud není překryt vlastním endotelem cévy. **ÚMCH** a **FGÚ** vyvíjejí fibrinové povlaky s navázaným heparinem a cévním endoteliálním růstovým faktorem (VEGF) nebo kombinací VEGF s fibroblastovým růstovým faktorem (FGF). Na různých materiálech včetně decelularizovaného perikardu **pro chlopně** tyto povlaky podporují vytvoření konfluentní vrstvy VECs *in vitro* lépe než samotný fibrin a v podmínkách simulujícím krevní oběh jsou dokonale kompatibilní s krví od lidských dárců. Výborná *in vitro* kompatibilita s krví byla dosažena povlečením NiTi (nitinol) **stentů** určených pro úzké mozkové cévy. I když nejdůležitějším cílem vývoje jsou umělé cévní protézy s malým průměrem, povlaky mohou být aplikovány i na stávající polymerní součásti stávajících mechanických a biologických chlopní.

Výzkum je podporován grantem AZV ČR 15-29153A.

úterý 17:20

**Elena Ivankova^{1,2}, Irina Dobrovol'skaya², Pavel Popryadikhin²
and Vladimir Yudin¹**

Polymer materials for tissue engineering and transplantation

¹ Institute of Macromolecular Compounds RAS, St. Petersburg, Russia

² Peter the Great Saint-Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia

ivelen@mail.ru

One of the urgent tasks of modern materials science is the development of materials for medicine and biology, in particular polymeric matrices for the cellular technologies and transplantation of human organs. Material for such matrices should be biocompatible and biodegradable; strength and flexibility needed to use them at liquid media. Polyglycolides, polylactides, polilactates, polysaccharides and other natural and synthetic polymers are used for preparation of the bioresorbable matrices. Each of these polymers has its advantages and limitations.

Films, fibers and sponges on the basis of chitosan, D,L-poly lactide and aliphatic copolyamide (CoPA) were produced and intensively studied in Institute of Macromolecular Compounds RAS. These materials were successfully used as the matrices for proliferation of cells (Fig.1).

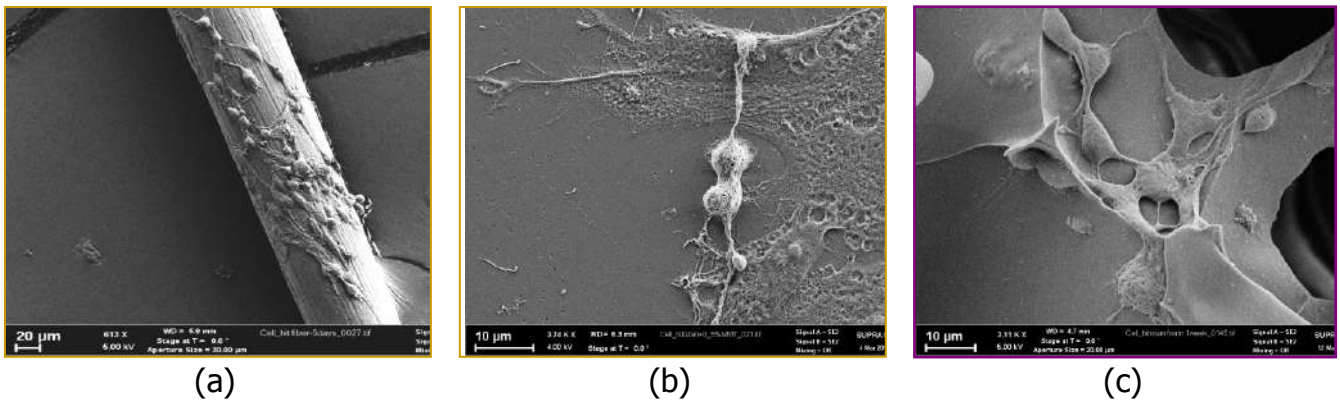
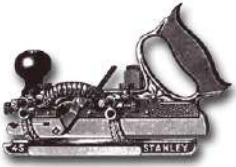


Fig. 1 SEM micrographs of chitosan fiber (a), film (b) and sponge (c) covered by proliferated cells.

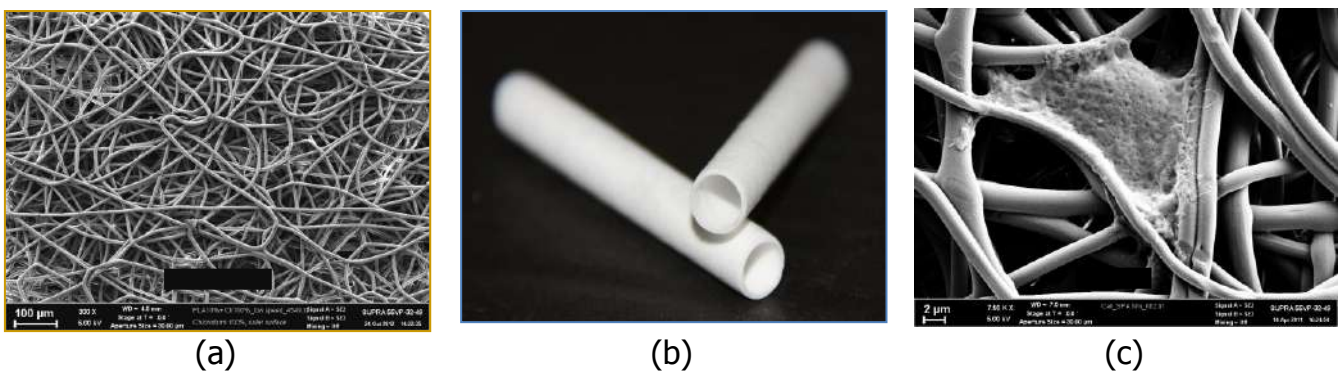
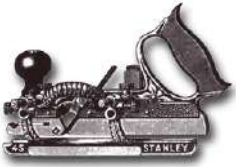


Fig. 2 SEM micrographs of D,L-poly lactide nanofibers mat (a), blood vessel implants (b) and stem cell proliferated on them (c).

D,L-poly lactide and CoPA (aliphatic copolymer of ϵ -caprolactam $[-NH-(CH_2)_5-CO-]_n$ and salt $[-NH-(CH_2)_6-NH-CO-(CH_2)_4-CO-]_n$) could be also used for production of nanofibers felt by electro-spinning. Diameters of nanofibers and pores between them can be varied. These materials are very suitable for preparing tubes as blood vessels implants (Fig.2).

It is well seen that all of these materials demonstrate good adhesion to stem cell and absence of cytotoxicity, therefore, they are very good candidates for using in transplantology. Results of investigation of bioresorption of the materials implanted in a living organism will be discussed as well.

Financial support of this work by the Russian Science Foundation Grant No. 14-33-00003 is gratefully acknowledged.



BIOMATERIALY A JEJICH POVRCHY IX.

Herbertov, Horní Mlýn, 20. – 23. 9. 2016

úterý 19:30

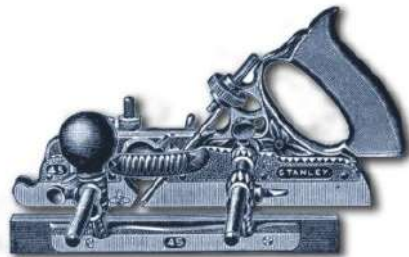
Ivan Janda

Megalithic structures in Sacsayhuaman and Puma Punku from the point of view of Materials Science and Engineering

Private Research Laboratory, Prague, Czech Republic

ivan.janda@gmail.com

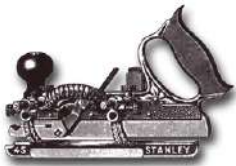
In 1894, a famous Czech traveller and researcher E. S. Vráz returned from a journey to Peru with a pile of amazing photographs of damaged medieval megalithic structures. He showed them to his former co-worker J. Cimrman and suggested him to go to Peru in order to finish his interrupted explorations. In Sacsayhuaman near Cuzco J. C. made his own research and decided to repair at least the most prominent structures. For this purpose, he invented a novel technology based on moulding a mash of custom-made composition. After having completed planned restoration works J. C. was given the possibility to travel further to Lake Titicaca in Bolivia to study local Aymara population. J. C. found the Indians living on floating reed islands under poor conditions. He resolved on building new modern housing facilities for them, again by means of quite innovative technology. Although J. C. was not able to finish the project due to severe illness, his remarkable achievements set up a new branch of materials science that was only re-invented some 60 years later.





21.9.2016

STREDA



středa 8:50

Pavel Šimek

Regulační aspekty léčivých přípravků obsahujících biomateriály

Státní ústav pro kontrolu léčiv, Praha

pavel.simek@sukl.cz

Legislativní základ určující požadavky pro biomateriály se liší v závislosti na klasifikaci finálního výrobku, jehož jsou součástí. Výrobky pro použití v humánní medicíně mohou být z pohledu regulace zdravotnickými prostředky nebo léčivými přípravky. O tomto zařazení rozhoduje na území České republiky Státní ústav pro kontrolu léčiv (SÚKL) v souladu s platnými právními předpisy Evropské unie a České republiky. Biomateriály se mohou ve výrobcích vyskytovat v kombinaci s aktivními látkami chemické či biologické povahy, buňkami, tkáněmi či nebuněčným materiálem lidského nebo zvířecího původu. V případě, že primární mechanismus účinku takového komplexního systému je zajištěn imunologickým, farmakologickým nebo metabolickým působením, je zpravidla takový výrobek považován za léčivý přípravek, případně kombinovaný léčivý přípravek pro moderní terapii regulovaný dle speciální právní normy. Kvalita, bezpečnost a účinnost léčivého přípravku musí být prokázána v rámci pre-klinického výzkumu a klinických hodnocení. Klinické hodnocení humánních léčivých přípravků na území České republiky povoluje, ukončuje či pozastavuje SÚKL. Po úspěšném ukončení klinických hodnocení může být léčivý přípravek registrován a uveden na trh. Rozhodnutí o registraci vydává po posouzení žádosti a předložené dokumentace SÚKL nebo, v případě přípravků podstupujících centralizovanou registraci, Evropská léková Agentura (EMA). V rámci centralizované procedury jsou přípravky registrovány pro všechny členské státy Evropské unie zároveň a pro některé typy přípravků je tato cesta povinná (např. pro léčivé přípravky pro moderní terapii nebo přípravky vyrobené za použití biotechnologií). Výzkum a vývoj v oblasti biomateriálového inženýrství, nanotechnologií a genetických manipulací postupuje nezadržitelnou rychlostí a regulace nových léčivých přípravků může být v mnoha případech složitá a vyžaduje multidisciplinární přístup. Vzájemné interakce jednotlivých prvků komplexních systémů obsahujících biomateriály jsou jedním z hlavních aspektů posouzení a v mnoha případech jsou pro regulační autority náročnou výzvou.

středa 9:20

Tereza Bělinová

Patenty a užitné vzory - jak naložit s výsledky výzkumu jinak

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Praha

belinot@live.com

V dnešní době je stále více kladen důraz na uplatnění technologií získaných vědeckými týmy v různých komerčních odvětvích. Toto propojení není úplně snadné zajistit, ale jednou z cest, jak toho lze dosáhnout, jsou právě patenty a užitné vzory. Je tedy vhodné vést v patrnosti, že vedle publikování existují i jiné možnosti, jak využít data získaná výzkumem a co to pro nás znamená.



středa 9:40

Štefan Juhás¹, Tomáš Suchý^{2,3} a Marie Hubálek Kalbáčová^{4, 5}

Problematika biologického hodnocení *in vivo*

¹ Laboratoř buněčné regenerace a plasticity, Ústav živočišné fyziologie a genetiky, AV ČR, v.v.i.

² Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AV ČR, v.v.i.

³ Laboratoř biomechaniky člověka, FS ČVUT v Praze

⁴ Laboratoř biochemie a buněčné biologie dědičných poruch metabolismu, Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN

⁵ Laboratoř studia interakcí buněk s materiálem, UK v Praze, LF v Plzni, Biomedicínské centrum

juhas@iapg.cas.cz

Vývoj nových biomateriálů v kombinaci s buněčnou terapií představuje nadějnou budoucnost v léčbě různých onemocnění. Před zahájením klinických zkoušek těchto nových terapeutických postupů je nutné ověřit jejich bezpečnost a účinnost v experimentech *in vitro* a *in vivo*. *In vivo* experimenty na hlodavcích jsou relativně jednoduše proveditelné za pomoci nízkých nákladů s vynikajícími statisticky relevantními výsledky. Testování *in vivo* na velkých zvířecích modelech představuje poslední krok ke klinickým studiím, který je často komplikován etickými, ekonomickými a logistickými problémy. Nasimulovat některé lidské patologické situace v relativně zdravém zvířecím organismu není jednoduché a *in vivo* experimenty jsou někdy doprovázeny nepředvídatelnými komplikacemi, které jsou v návrhu preklinické studie opomenuty.

Poděkování: Projekt 15-25813A (AZV) - Vývoj a komplexní preklinické testování nových kompozitních materiálů pro kostní chirurgii, Národní program udržitelnosti I – projekt LO1609 (MSMT) a Institucionální podpora RVO: 67985904.

středa 10:00

Pavel Klein

Zvířecí modely hojení ran

Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze

pavel.klein@lfp.cuni.cz

Hojení ran je velmi komplexní proces, jehož se v současné době neobejde bez použití pokusných zvířat. Za použití zvířecích modelů lze studovat hojení jak za fyziologických, tak i patofyziologických podmínek. Lze tak modelovat například hojení diabetických, ischemických či infikovaných ran na běžných laboratorních zvířatech (myš, potkan, králík), ale i na prasatech. Zejména výsledky získané z prasečích modelů vynikají vysokou klinickou relevancí, neboť fyziologické mechanismy hojení kožních lézí u prasete jsou do jisté míry podobné člověku. I přes řadu omezení, které zákonitě vyplývají z rozdílů mezi zvířetem a člověkem, mají *in vivo* modely nezastupitelnou úlohu zejména ve vývoji a zkoušení nových materiálů pro krytí ran.



středa 10:50

**Jiří Klíma¹, Petra Rausová¹, Jana Juhásová¹, Tomáš Suchý²,
Marie Hubálek Kalbáčová^{3,4} a Štefan Juhás¹**

Adipogenic protocol well suited for porcine BM-MSC

- ¹ Laboratory of Cell Regeneration and Plasticity, Institute of Animal Physiology and Genetics, Academy of Sciences of Czech Republic
- ² Department of Composites and Carbon Materials, IRSM ASCR v.v.i.
- ³ Laboratory of Interaction of Cells with Nanomaterials, Institute of Inherited Metabolic Disorders, 1st Faculty of Medicine UK and VFN in Prague
- ⁴ Laboratory of Cell-Biomaterial Interactions, Charles University in Prague, Faculty of Medicine in Pilsen, Biomedical Center

klima@iapg.cas.cz

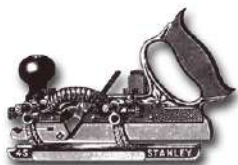
Mesenchymal stem cells (MSCs) and their progeny reside in various tissues and contribute to tissue build up and maintenance. MSC are considered to be valuable in cell (bone and cartilage) replacement therapies based on their multilineage differentiation potential. Adipogenic differentiation potential of MSC can also be exploited for example in plastic surgery of „soft tissues“. In addition to a simply fat storage function adipose tissue has been assessed to have endocrine function affecting nutritional intake, control of sensitivity to insulin and inflammatory process mediators. MSC or their derived adipocytes can be thus beneficial in immunomodulation or regulation of insulin resistance and obesity.

We have explored adipogenic differentiation of porcine BM-MSC. CD45⁻, CD29⁺, CD90⁺, CD105⁺ and CD44⁺ MSC were in vitro propagated up to 1st passage and two different adipogenic protocols were applied to confluent cells. Notably in one specific protocol, adipogenic differentiation of porcine BM-MSC was promoted using PPAR γ agonist Rosiglitazone for the first time.

Differentiation status of derived adipocytes was proved by lipid droplet detection and immunofluorescence staining of cultivated cells on labtek. Early markers C/EBP α , PPAR γ , as well as an intermediate marker aP2 (an adipocyte-specific fatty acid binding protein) and mature adipogenic marker Adiponectin, were identified. Rosiglitazone containing medium exhibited faster and higher expression of adipomarkers by 6 day of differentiation.

Porcine BM-MSC can be readily differentiated into adipocytes using our protocol. Further utilization of these cells requires assessment of their differentiation potential and survival in vivo.

This work was supported by following grants: AZV - project number 15-25813A; the National Sustainability Programme, project number LO1609 (Czech Ministry of Education, Youth and Sports); 7F – EEA/Norwegian Financial Mechanism (2008-2017) 7F14308 and RVO: 67985904.



středa 11:10

**Elena Filová¹, Roman Matějka^{1,2}, Jana Havlíková¹, Marie Marková¹,
Jaroslav Chlupáč^{1,3}, Tomáš Riedel⁴, Eduard Brynda⁴ a Lucie Bačáková¹**

Buněčná odpověď na mechanické zatěžování

¹ Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha

² Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT v Praze, Kladno

³ Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

⁴ Ústav makromolekulární chemie, Praha

elena.filova@fgu.cas.cz

Fyziologicky jsou tkáně a buňky namáhány tlakem, tahem, ohýbáním, prouděním krve a podobně. Toto fyziologické, nebo i patologické namáhání má vliv na správnou diferenciaci buněk, ovlivňuje produkci mezibuněčné hmoty a má významný vliv na chování buněk nebo implantátu ve tkáňovém inženýrství. Mechanické zatěžování napomáhá např. diferenciaci kmenových buněk ve vhodný buněčný typ. Poznání mechanismů působení a účinků mechanického namáhání na buňky je prospěšné pro optimalizaci vlastností například kardiovaskulárních nebo kostních implantátů.

Podporováno granty Ministerstva zdravotnictví (AZV 15-29153A) a TAČR (TA04011345).

středa 11:30

**Jaroslav Fojt¹, Luděk Joska¹, Jaroslav Fenc², Vojtěch Hybášek¹
a Eva Průchová¹**

Nanostrukturované povrchy - z laboratoře k implantátu

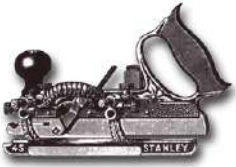
¹ Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta chemické technologie, Ústav kovových materiálů a korozního inženýrství, Praha

² Beznoska s.r.o., Kladno

fojtj@vscht.cz

Pro urychlení srůstu implantátu s kostí jsou opatřovány povrchy kovovým biomateriálů vhodnou úpravou. Může se jednat o různé nástřiky, například na bázi hydroxyapatitu, nebo o přímou úpravu povrchu. Jednou z možností je i tvorba nanotubulární struktury na povrchu implantátu. Nanostruktura vzniká v důsledku dvou soutěžících dějů – oxidace povrchu aplikací vnějšího napětí a rozpouštění vznikajícího oxidu agresivními složkami elektrolytu. Struktura je tvořena oxidy kovu implantátu a má specifickou morfologii. Ta může být vhodnými podmínkami přípravy modulovatelná v celé škále parametrů. Nanostrukturované povrchy mohou stimulovat deposici kostních buněk, urychlovat srůst implantátu s kostí a mají antibakteriální účinky.

Před klinickou aplikací musí projít povrchová úprava řadou testů, než je schválena jako vhodná pro použití v lidském těle. Příspěvek je zaměřena na tvorbu nanostruktur na povrchu slitiny Ti-6Al-4V, popisu její morfologie a chování. V první části bude popsán vliv parametrů na tvorbu nanotrubelek. Dále bude diskutováno korozní chování nanostruktur v modelových tělních



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.

Herbertov, Horní Mlýn, 20. – 23. 9. 2016

prostředích a testování případné bioaktivity. Pro reálnou aplikaci musí vrstva vykazovat určitou soudržnost s povrchem. Ta byla testována jak odtrhovými testy, tak pomocí dynamického namáhání. Na základě buněčných testů byla vytipována nanostruktura optimálních parametrů a následně prošla in vivo zkouškami. Tyto testy ukázaly rychlejší srůst zkušebního tělíska s kostí, než v případě běžně používaných povrchových úprav. V závěru prezentace budou diskutovány problémy při přípravě nanostruktur na reálných implantátech.

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20-SVV/2016).

středa 11:50

Marcela Munzarová

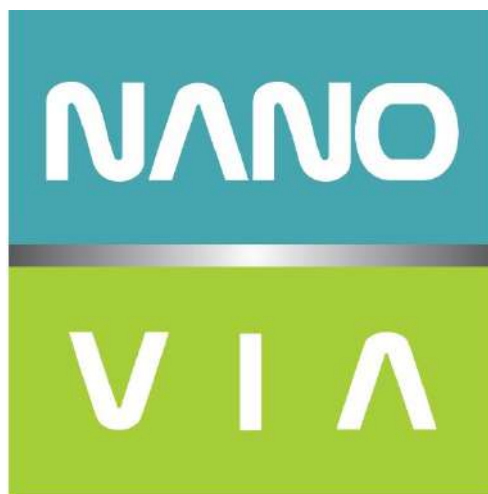
Technologické zázemí pro výrobu nanovláknenných materiálů ve společnosti Nanovia s.r.o.

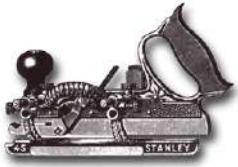
Nanovia, s.r.o., Litvínov-Chudeřín

marcela.munzarova@nanovia.cz

Nanovia je jediný průmyslový výrobce nanovláknenných materiálů v Evropě. Má zázemí pro výrobu technických aplikací nanovláken – filtrační materiály, membrány pro oděvní aplikace, atd.. Také si vybudovala zázemí pro výrobu zdravotnických prostředků – čisté prostory třídy C dle EN 14644.

Nanovia má zájem spolupracovat s akademickými partnery na vývoji a certifikaci zdravotnických prostředků na bázi nanovláken a komercializovat je pro klinickou praxi.





středa 13:30

**Lucie Bačáková, Markéta Bačáková, Julie Pajorová
a Radmila Kudláčková**

Kožní náhrady – současný stav a budoucí trendy

Odd. biomateriálů a tkáňového inženýrství, Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha 4

lucie.bacakova@fgu.cas.cz

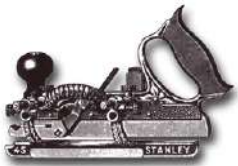
Náhrady ireverzibilně poškozené kožní tkáň jsou důležitou problematikou v transplantologii i v nových mezioborových disciplínách, jako jsou biomateriály a tkáňové inženýrství. K poškození tkáň může dojít např. vlivem vysoké teploty (popáleniny, opařeniny), tlakové zátěže (proleženiny), poruch krevního oběhu (žilní trombóza, zúžení arterií), metabolických onemocnění (diabetes), nádorových onemocnění, kožních chorob (epidermolysis bullosa), vrozených vad (aplasie) a různých poranění (včetně chirurgických). Kožní náhrady používané v současné klinické praxi lze rozdělit z několika hledisek, a to na biologické, syntetické a hybridní, na epidermální, dermální či nahrazující kůži v celé její tloušťce, a rovněž na náhrady bez buněčné složky a s buněčnou složkou.

Biologické náhrady kožní tkáň lze rozlišit na autologní, tj. pocházející z organismu samotného pacienta, allogenní, tj. pocházející od jiného lidského dárce, a na xenogenní, tj. pocházející z organismu dárce jiného živočišného druhu.

Autologní náhrady zahrnují obvykle epidermální buněčné náhrady, např. subkonfluentní nebo konfluentní vrstvy keratinocytů, komerčně dostupné pod názvy CellSpray, EPIBASE, EpiCel či MySkin [1, 2]. Tyto vrstvy jsou často uchyceny na podpůrném syntetickém nosiči (gáza s vazelínou, silikon), který je po uchycení keratinocytů do rány odstraněn.

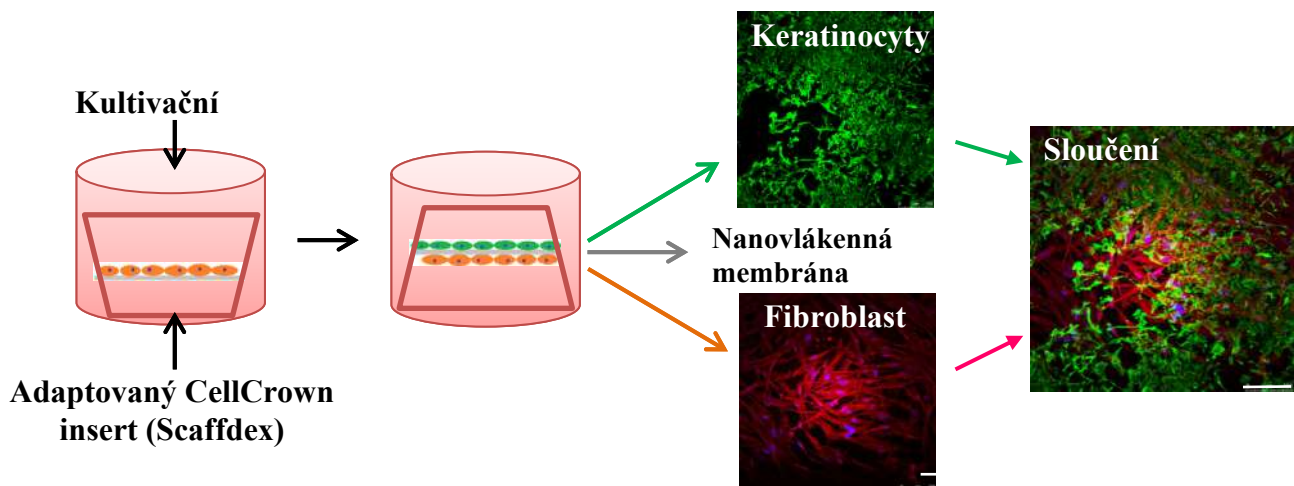
Alogenní náhrady s buněčnou složkou zahrnují zejména náhrady dermální, a to TransCyte (neonatální dermální fibroblasty na nylonové síťce), Dermagraft (neonatální dermální fibroblasty na nosiči z PLGA) nebo ICX-SKN (neonatální dermální fibroblasty na fibrinové matici) [2, 3]. Allogenní náhrady kůže jsou však často bezbuněčné, jako např. Alloderm (decelularizovaná dermis z lidských kadaverů), jemu příbuzné náhrady (KaroDerm, SureDerm, Cymetra, DermaMatrix) a Neox (amniová membrána z lidské placenty) [1-3]. Mezi regenerační prostředky alogenního původu lze zařadit i Regranex (rekombinantní lidský destičkový růstový faktor (rhPDGF-BB) [3] a krevní plasmu obohacenou destičkami (platelet rich plasma, PRP), která byla úspěšně použita u pacientů s popáleninami [4].

Xenogenní náhrady kůže jsou rovněž především bezbuněčné, jako např. náhrady založené na decelularizovaných dermálních maticích (Permacol, EZ-Derm), matici získané ze submukosy tenkého střeva prasete (Oasis Wound Matrix) [1, 3], bovinní dermální matici obsahující kolagen a elastin (Matriderm) [5] či na molekulách extracelulární matrix (kolagen, chitin, chitosan, alginát, kyselina hyaluronová) mořských živočichů (ryby, medúzy, mořské okurky) [6]. Bezbuněčné xenogenní kožní náhrady bývají často kombinovány i s materiály syntetickými. Typickým příkladem je Integra, významná a často používaná kožní náhrada, obsahující bovinní kolagen ze šlach a žraločí chondroitin-6-sulfát na silikonové membráně. Integra je porézní, a tudíž umožňuje vaskularizaci, osídlení fibroblasty a následně i keratinocyty. Je používána zejména při těžkých rozsáhlých popáleninách, postihujících celou tloušťku kůže. Další náhradou podobného typu je



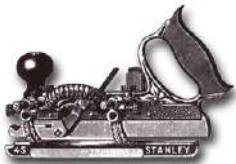
Biobrane, obsahující prasečí kolagen na jemné silikonové síťce [1-3]. Buněčnou xenogenní kožní náhradou je Mediskin, tj. xenograft z prasečí kůže [1]. Častými náhradami kůže jsou náhrady kombinované, a sice autologního a allogenního původu (Laser Skin: autologní keratinocyty na rekombinantní matici z esteru kyseliny hyaluronové; Hyalograft-3D: autologní lidské fibroblasty na vláknech z allogenní kyseliny hyaluronové se silikonovou membránou) [1, 3], autologního a xenogenního původu, např. lidské autologní keratinocyty na feederu myších fibroblastů uchycených na poly(2-hydroxyethylmetakrylátu) [7], a allogenního a xenogenního původu (Apligraf a Orcel, obsahující allogenní lidské keratinocyty a fibroblasty na bovinním kolagenu) [1, 3].

V péči o kožní rány jsou rovněž používány čistě syntetické materiály, jako je nylon (Dermalon, Ethilon), PLGA (Vycril), polyglykolid (Dexon) či polykaprolakton (Monocryl) ve formě šicích materiálů a polyuretan (Tegaderm, Opsite) ve formě krytů ran [3].



Obr. 1. Vývoj dvojvrstevného konstruktů lidských keratinocytů linie HaCaT a lidských neonatálních dermálních fibroblastů na protilehlých stranách nanovláknenné membrány (úsečka = 100 μm).

Současným trendem je vyvinout kožní náhrady, které by nezpůsobovaly imunitní aktivaci buněk, nebyly spojeny s rizikem přenosu infekce (viry, priony), byly relativně levné, snadno dostupné v dostatečném množství a snadno manipulovatelné. Takovými náhradami by mohly být hybridní konstrukty obsahující autologní kožní buňky na degradovatelných syntetických polymerních nosičích, přičemž by tyto nosiče byly připraveny moderními metodami (3D printing, electrospinning) a svou morfologií by napodobovaly utváření přirozené extracelulární matrix (nanovláknena). Vhodnost syntetických polymerů pro adhezi a růst buněk by byla zvýšena jejich fyzikálně-chemickými modifikacemi (např. modifikací v plasmatu) [8] nebo nanosením fibrinu, který může být v dostatečném množství připraven v autologní podobě z fibrinogenu ve vzorku krve odebrané pacientovi. Fibrin podporuje adhezi a růst fibroblastů, a spolu s kyselinou askorbovou i produkci kolagenu v těchto buňkách, který se osvědčil jako vhodný adhezní substrát pro keratinocyty [9]. Keratinocyty mohou být následně nasazeny na vrstvu fibroblastů nebo na protilehlou stranu nanovláknenné membrány, kde mohou prostřednictvím pórů v membráně fyzicky i humorálně komunikovat s fibroblasty (obr. 1). Nanovláknenné membrány či fibrinové vrstvy na nich mohou být rovněž nosiči pro řízené uvolňování růstových faktorů, vitaminů a dalších bioaktivních molekul pro růst a maturaci keratinocytů. Při malé dostupnosti diferencovaných keratinocytů mohou být využity i buňky kmenové, například z embryonálních tkání, z pupečníku, z epidermis, z tukové tkáně či z kostní dřeně. Tyto buňky mohou být jednak stimulovány



k diferenciaci přímo v keratinocyty [10], nebo mohou zastoupit i funkci fibroblastů [11]. Je známo, že kmenové buňky produkují široké spektrum růstových faktorů navozujících vaskularizaci kožního konstruktu, a rovněž napomáhají rekonstrukci kožních adnex, jako jsou vlasy, potní a mazové žlázy [12]. Na druhou stranu je možné kůži rekonstruovat i z buněk těchto adnex [13, 14]. Této možnosti bylo využito v kožní náhradě EpiDex, kde autologní keratinocyty pocházejí z vlasových folikulů [2]. V moderním tkáňovém inženýrství kůže je rovněž žádoucí navodit pigmentaci kůže, což bylo alespoň částečně realizováno v kožní náhradě PermaDerm, a to příměsí melanocytů [3]. I přes veškerý uvedený pokrok vyžaduje však konstrukce moderních a vysoce funkčních kožních náhrad pro dosažení plné regenerace poškozených míst ještě mnoho úsilí.

Podporováno Technologickou agenturou České republiky (grant č. TA04010065).

- [1] Anish S. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2015;81(2):175-178.
- [2] Maver T et al. Wien Klin Wochenschr. 2015;127 Suppl 5:S187-S198.
- [3] Debels H et al. Plast Reconstr Surg Glob Open. 2015;3(1):e284.
- [4] Massara M et al. Semin Vasc Surg. 2015;28(3-4):195-200.
- [5] Demircan M et al. Burns. 2015;41(6):1268-1274.
- [6] Chandika P et al. Int J Biol Macromol. 2015;77:24-35.
- [7] Dvořánková B et al. Int J Dermatol. 2003;42(3):219-223.
- [8] Bačáková M et al. J Biomater Appl. 2015;29(6):837-853.
- [9] Bačáková M et al. Int J Nanomedicine. 2016;11:771-789.
- [10] Kidwai FK et al. J Invest Dermatol. 2013;133(3):618-628.
- [11] Trottier V et al. Stem Cells. 2008; 26(10): 2713-23.
- [12] Shi S et al. Cell Biochem Biophys. 2015;71(2):951-956.
- [13] Klíma J et al. J Mol Histol. 2005;36(1-2):89-96.
- [14] Böttcher-Haberzeth S et al. J Invest Dermatol. 2013;133(2):316-324.

středa 14:00 (S)

**Radmila Kudláčková¹, Markéta Bačáková¹, Petr Mikeš², Martin Pelcl³
a Lucie Bačáková¹**

Růst buněk na nanovlákných membránách pro účely kožních náhrad

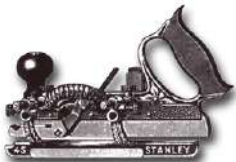
¹ Odd. biomateriálů a tkáňového inženýrství, Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha 4

² Katedra netkaných textilií a nanovlákných materiálů, Fakulta textilní, TU Liberec

³ Nanopharma a. s., Pardubice

kudlackovaradmila@seznam.cz

Nanotechnologie od svého vzniku v 80. letech 20. století zaznamenávají stále větší zájem veřejnosti a jejich „pole působnosti“ se neustále zvětšuje. Kromě využití v elektrotechnice, informačních technologiích, textilním průmyslu, potravinářství, ochraně přírody nebo kosmetice jsou dnes nanovlákná používána i v medicíně. První úspěchy zaznamenávají nanočástice jako přenašeče léčivých látek nebo jako kontrastní látky v diagnostice pomocí magnetické rezonance.



Nanotechnologie jsou velkou nadějí i pro tkáňové inženýrství, které využívá nanovláknenné matrice jako náhradu extracelulární hmoty. Tyto materiály následně slouží jako nosiče pro buňky. Náš výzkum ohledně nanovláken a jejich použití v medicíně, se soustředil na kožní tkáňové inženýrství. Nanovláknenné membrány byly zkoumány za účelem využití jako kožních náhrad. Takové materiály tedy nesmí být toxické a zároveň by měly být biodegradabilní a podporovat adhezi a růst kožních buněk.

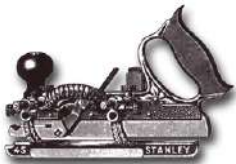
Na adhezi a růst buněk byly testovány tři nanovláknenné membrány. Membrány z polykaprolaktonu (PCL) a z kopolymeru L-laktidu a ϵ -kaprolaktonu v molárním poměru 70:30 (PLA/PCL) připravila metodou bezjehlového elektrostatického zvláknování Technická univerzita v Liberci. Membránu z acetátu celulózy (AC) připravila firma Nanopharma a. s. metodou elektrostatického zvláknování z jehly. Na materiálech byly kultivovány primární lidské kožní fibroblasty a lidské keratinocyty linie HaCaT. V časových intervalech 1., 3. a 7. den po nasazení buněk byla sledována jejich adheze a proliferace. Metodou fluorescenční mikroskopie byla sledována morfologie buněk a jejich počet byl měřen nepřímou metodou pomocí metabolického testu WST-1. 1. den po nasazení primárních lidských kožních fibroblastů bylo pozorováno, že tyto buňky na materiály adherují. Třetí den kultivace se však počet fibroblastů příliš neměnil. Na PCL a PLA/PCL počet fibroblastů spíše klesal a morfologie buněk se lišila od kontrolních buněk na polystyrenovém dně kultivační jamky. Tento trend zůstal do 7. dne zachován. Na AC však počet fibroblastů mezi 3. a 7. dnem výrazně stoupl a buňky dosáhly konfluence. Linie lidských keratinocytů HaCaT na materiálech z PCL a PLA/PCL adherovala a rostla ve všech časových intervalech dobře a na obou materiálech dosáhla 7. den konfluence.

Vzhledem ke špatné proliferaci kožních fibroblastů na PCL a PLA/PCL, byly materiály podrobeny testování na cytotoxicitu. Všechny membrány byly týden louhovány v kultivačním médiu. Do výluhů byly nasazeny primární lidské kožní fibroblasty a lidské keratinocyty linie HaCaT. Růst buněk ve výluzích byl zaznamenáván metodou xCELLigence, která měří změny impedance pomocí zlatých elektrod ve dně kultivačních jamek. Změny impedance korelují s počtem buněk adherujících na dno. Ve všech výluzích impedance narůstala a počet buněk se neustále zvyšoval. Průběh experimentu nevykazoval přítomnost cytotoxických látek ve výluzích. Na vylouhované materiály byly nasazeny primární kožní fibroblasty a byla sledována jejich adheze a růst. Sledování probíhalo fluorescenčním mikroskopem ve stejných časových intervalech jako u nelouhovaných vzorků. Ke zlepšení proliferace buněk nedošlo, naopak zejména u AC došlo ke snížení počtu adherujících buněk. Tyto výsledky přispívají k tvrzení, že materiály toxické nejsou a jejich louhování v kultivačním médiu nedochází k odstranění cytotoxických látek. Naopak může docházet k narušení chemických vlastností.

Špatná proliferace primárních lidských kožních fibroblastů mohla být způsobena nevhodnými vlastnostmi materiálů, které nepodporují adhezi a následnou proliferaci buněk. Modifikace fibrinem je v tkáňovém inženýrství používána pro úpravu chemicko-fyzikálních vlastností materiálů. Kromě toho fibrin podporuje produkci kolagenu kožními fibroblasty. Fibrinová vrstva na všech nanovláknenných membránách zlepšila adhezi a proliferaci lidských kožních fibroblastů. 7. den kultivace byly buňky na všech membránách konfluentní.

Nanovláknenné membrány jsou slibnými nosiči buněk pro kožní náhrady. Vlastnosti materiálů pro adhezi buněk je ale potřeba vylepšit. Celulóza v podobě nanovláken se zdá být velmi perspektivní, ale díky jejím mechanickým vlastnostem a nedegradovatelnosti zatím není vhodná pro klinické použití.

Studie byla podporována Technologickou agenturou České republiky (TAČR, grant č. TA04010065) a Grantovou agenturou České republiky (GAČR, grant č. P108/12/1168).



středa 14:20

Michala Rampichová^{1,2}, Matej Buzgo¹, Věra Lukášová², Andrea Míčková^{1,2}, Karolína Vocetková^{1,2}, Věra Sovková², Franco Rustichelli² a Evžen Amler^{1,2}

Funkcionalizace 3D nosičů připravených metodou odstředivého zvlákňování

¹ Laboratoř pokročilých biomateriálů, Univerzitní centrum energeticky efektivních budov, ČVUT v Praze, Buštěhrad

² Laboratoř tkáňového inženýrství, Ústav experimentální medicíny, AV ČR, v.v.i., Praha

michala.rampichova@cvut.cz

Troj-dimenzionální porézní nosiče jsou výchozím materiálem pro tkáňové inženýrství kosti. V současné době jsou vyhledávány nosiče, které fungují nejen jako mechanická podpora pro růst buněk, ale slouží současně i pro stimulaci jejich proliferace a diferenciaci. Tohoto efektu lze dosáhnout funkcionalizací nosiče pomocí růstových faktorů a dalších bioaktivních molekul.

Funkcionalizované nosiče pak mohou být implantovány do těla samotné, bez osazení buňkami. Stimulační látky z nich uvolněné přímo v místě defektu totiž stimulují buňky z okolních tkání k migraci a infiltraci. Tím odpadá problematická kultivace autologních buněk, která je spojená s rizikem kontaminace a je finančně velmi náročná.

V současné studii jsme se zaměřili na vytvoření jednoduchého systému funkcionalizace. Jako nosič byla použita vlákna z polykaprolaktonu, vytvořená metodou odstředivého zvlákňování. Metoda odstředivého zvlákňování dává vzniknout vláknům s průměry v řádu nano- a mikrometrů a s 3D vysoce porézní strukturou. Jako zdroj růstových faktorů byly použity trombocyty nebo trombocytární lyzát uzavřený do liposomů.

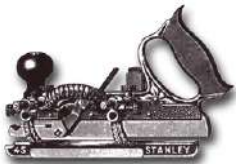
Adheze liposomů a trombocytů na vlákna byla prokázána pomocí elektronové mikroskopie. Uvolňování růstových faktorů bylo měřeno v uvolňovací studii (ELISA, měření celkového proteinu). Nosiče byly osazeny buňkami MG-63 a byla sledována buněčná adheze a proliferace *in vitro* (MTS test, měření celkové DNA, konfokální mikroskopie). Dále byla sledována osteogenní diferenciaci (PCR, aktivita alkalické fosfatázy, konfokální mikroskopie). Byly použity různé koncentrace liposomů a trombocytů. Jako kontrola byl použit vzorek s liposomy naplněnými fosfátovým pufrům (PBS) a samotná PCL vlákna.

Z výsledků studie bylo patrné, že liposomy neměly vliv na buněčnou adhezi. Uvolňovací studie ukázala poměrně rychlé počáteční uvolnění obsahu liposomů. V buněčné proliferaci se tento efekt objevil již 3. den. Pozitivní vliv liposomů na buněčnou proliferaci byl sledován i během dalších experimentálních dní. Naopak nebyla ovlivněna buněčná viabilita. Podpora osteogenní diferenciaci a produkce proteinů typických pro kost nebyla prokázána.

Jako druhý systém pro funkcionalizaci PCL vláken jsme použili adhezi samotných trombocytů. Ukázalo se, že trombocyty měly pozitivní vliv na buněčnou adhezi, proliferaci a osteogenní diferenciaci. Byla prokázána pozitivní závislost na koncentraci trombocytů.

Funkcionalizace vláknenných nosičů trombocyty a jejich lyzáty uzavřenými v liposomech se ukázala jako úspěšný jednoduchý systém řízeného dodávání léčiv. Výhodou tohoto přístupu je možnost použití autologních trombocytů.

Tato práce byla podpořena Grantovou agenturou České Republiky, grantem č. 15-15697S.



středa 14:40 (S)

**Pavla Sauerová^{1,3}, Martina Verdánová^{2,3}, Blanka Bílková³,
Tomáš Suchý^{4,5}, Monika Šupová⁴, Šárka Rýglová⁴, Margit Žaloudková⁴,
Zbyněk Sucharda⁴, František Denk⁴, Martin Bartoš⁶
a Marie Hubálek Kalbáčová^{1,3}**

Studium interakce buněk s biomateriály na bázi kolagenu

¹ Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze

² Katedra genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze

³ Ústav dědičných metabolických poruch, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze

⁴ Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AV ČR, v.v.i.

⁵ Laboratoř biomechaniky člověka, FS ČVUT v Praze

⁶ Stomatologická klinika, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

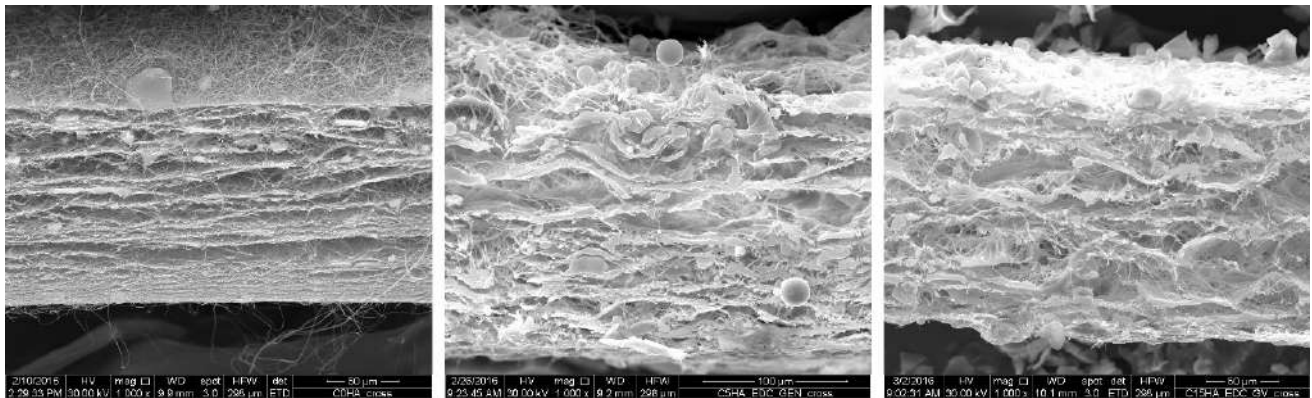
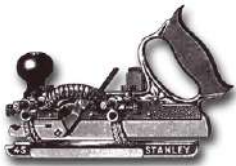
pavla.sauerova@gmail.com

Biomateriály musí být pro buňky netoxické a snadno odbouratelné - musí být tolerovány organismem. Proto jsou *in vitro* a následné *in vivo* testy zásadní a určující pro aplikaci daného biomateriálu v klinické praxi. Na základě *in vitro* analýz je možno materiál modifikovat potřebným způsobem a poté vybrat jeho nejvhodnější variantu pro požadované použití. V rámci mezioborové spolupráce byly vyvinuty dva typy kompozitů na bázi přírodního kolagenu.

Prvý typ má svým složením maximálně napodobit strukturu kosti. Po osazení kmenovými buňkami by měl takovýto nosič indukovat novotvorbu kosti a umožnit tak regeneraci poškozené kostní tkáně.

Druhým typem kompozitů je resorbovatelná kolagen-kalcium fosfátová nanovrstva s řízenou elucí antibiotik. Nanovrstva má díky svým vlastnostem podpořit integraci implantátu do kosti, prodloužit jeho životnost a zabránit jeho septickému uvolnění vyvolaného zánětem. Na obou typech kompozitů byla sledována viabilita buněk, úroveň buněčné adheze (případně penetrace do hloubky vzorku), dále zde byla stanovena cytotoxicita samotného materiálu s ohledem na buněčnou morfologii a distribuci na vzorku v různých kultivačních časech. Vzorky prvního typu byly navíc vystaveny podmínkám dynamické kultivace.

V rámci prvního typu kompozitů byly pro *in vitro* studie vybrány dva podtypy vzorků – mezi nimi však nebyl, doposud použitými metodami, zaznamenán zásadní rozdíl v interakci s buňkou. Vzorek s vyšším zastoupením hydroxyapatitu se přesto zdá být v kombinaci s dynamickou kultivací ideálnější pro podporu kolonizace nosiče buňkami. Kompozity druhého typu (nanovrstvy s ATB) se ukázaly být pro buňky netoxické z hlediska testování výluhů. Přímá interakce jednotlivých podtypů nanovrstev (rozdílný typ ATB, koncentrace hydroxyapatitu) s buňkami však rozdíly ukázala. Reakce buněk jsou v různé míře závislé na typu antibiotika či kombinaci vybraných antibiotik, toto chování je navíc ovlivňováno konkrétní koncentrací hydroxyapatitu ve vzorku a časem buněčné kultivace.



Obr. 1. Ukázka testovaných resorbovatelných kolagen-kalcium fosfátových nanovrstev s řízenou elucí antibiotik (mag. 1000x). Zleva: řez spinovanou kolagenovou vrstvou, řez vrstvou s 5%hm. hydroxyapatitu a 10%hm. gentamicinu, řez vrstvou s 15%hm. hydroxyapatitu a 5%hm. gentamicin a 5%hm. vancomycinu.

Tato práce je podporována projekty AZV 15-25813A (MZ ČR) a TA04010330 (TAČR), dále pak granty LF UK v Plzni SVV-2016 No. 260 279 a projektem GAUK 400215.

středa 15:00

**Andrea Míčková^{1,2}, Věra Sovková¹, Karolína Vocetková^{1,2}, Eva Filová¹
a Evžen Amler^{1,2}**

Funkcionalizované nanovláknenné nosiče pro řízené dodávání bioaktivních látek

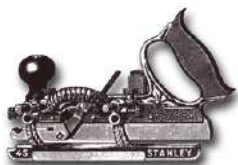
¹ Laboratoř tkáňového inženýrství, Ústav experimentální medicíny AVČR, v.v.i., Praha

² Laboratoř pokročilých biomateriálů, Univerzitní centrum energeticky efektivních budov ČVUT v Praze, Buštěhrad

andrea_mickova@labdemo.cz

Nanovláknena PCL připravena metodou elektrostatického zvlákňování byla obohacena o lipozomy s enkapsulovanými růstovými faktory, jakožto systému pro dodávání bioaktivních látek „na míru“. Po optimalizaci enkapsulačních technologií aktivních látek do lipozomů a testování jejich adheze na vláknech PCL jsme po dobu devatenáctidenního experimentu sledovali vliv uvolněných růstových faktorů na proliferaci a chondrogení diferenciaci lidských mesenchymálních kmenových buněk z kostní dřene (hMSCs) pomocí metod fluorescenční konfokální mikroskopie (1., 7. a 14. den), skenovací elektronové mikroskopie (1, 7 a 14 den); PicoGreen testu (1., 3., 7., 11. a 14. den), MTS testu (1., 3., 7., 11. a 14. den) a RT-PCR (1., 7. a 19. den). Výsledky devatenáctidenního experimentu prokázaly, že adherované lipozomy s enkapsulovanými růstovými faktory jsou vhodným nosičovým systémem pro stimulaci buněčné proliferace a následné diferenciaci za podmínek kultivace hMSC v 5% FBS. Funkcionalizace pomocí fyzikální adsorpce na povrch PCL nanovláken se ukázala jako vhodná metoda pro aplikace v tkáňovém inženýrství, ve kterých je potřeba rychlé a krátkodobé dodání látek.

Studie byla podpořena projektem NPU I:LO1508 a NPU I:LO1309; MŠMT Univerzitní centrum energeticky efektivních budov a Grantovou agenturou ČR (číslo projektu 15-15697S).



středa 15:50

**Antonín Brož¹, Małgorzata Świątek², Martin Pařízek¹, Lucie Bačáková¹
a Stanisław Błażewicz²**

Biokompatibilita polykaprolaktonových scaffoldů s mnohostěnnými uhlíkovými nanotubami

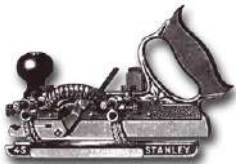
¹ Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i. Praha 4

² AGH University of Science and Technology, Kraków, Poland

antonin.broz@fgu.cas.cz

Biodegradabilní nanokompozitní scaffoldy jsou studovány jako jedna z alternativ pro regeneraci kostní tkáň. Mnohostěnné uhlíkové nanotuby (MWCNT) jsou využívány pro konstrukci uvedených scaffoldů, a to kvůli svým mechanickým i elektrickým vlastnostem. MWCNT lze také povrchově modifikovat pro změnu jejich fyzikálně chemických vlastností. V této studii byla hodnocena biokompatibilita volných MWCNT a polykaprolaktonových (PCL) scaffoldů s MWCNT vytvořených pomocí „solvent casting & particulate leaching“ (SPCL) metody. Studované nanotuby byly na svém povrchu modifikovány dvěma způsoby: 1) Zakoupené nanotuby byly již od výrobce na povrchu hydroxylovány (MWCNT-OH). 2) Na hydroxylované uhlíkové nanotuby byly následně navázány pouhou fyzisorpcí magnetické nanočástice z oxidu železa (MWCNT-MNP). Hydroxylace zvyšuje smáčivost MWCNT, a tak i možnost jejich následného rozptýlení do matrice kompozitu. Větší smáčivost může také ovlivnit buněčnou adhezi. MNP budou v následné studii využity k stimulaci diferenciaci buněk pomocí magnetického pole nanočástic. K hodnocení biokompatibility MWCNT a scaffoldů byla použita lidská buněčná linie SAOS-2. Buňky byly vystaveny působení nanotub v kultivačním médiu, a byly rovněž pěstovány na povrchu PCL scaffoldů. Viabilita buněk byla měřena jako metabolická aktivita za pomoci MTS testu (Promega) a přímého počítání přeživších buněk po 3 a 7 dnech kultivace. Buňky byly po kultivaci fixovány, imunofluorescenčně obarveny a sledovány pomocí widefield a konfokální fluorescenční mikroskopie. Působení volně rozptýlených nanotub na buňky bylo také pozorováno pomocí life-cell imaging (LCI) mikroskopie. Z výsledků vyplývá, že přímé působení nanotub na buňky je dobře snášeno při koncentraci 10 mg/l média. O řád vyšší koncentrace již snižuje viabilitu o polovinu, a to jak u MWCNT-OH tak MWCNT-MNP. Testy metabolické aktivity na PCL scaffoldech prokázaly, že přítomnost MWCNT-OH může mít na buňky negativní vliv. Přidání MWCNT-MNP ve správné koncentraci do kompozitu však metabolickou aktivitu vrací na úroveň kontroly bez MWCNT.

Práce byla podporována projekty Grantové agentury České Republiky č. P108/12/1168 a 14-04790S.



středa 16:10

**Eva Filová^{1,2}, Lenka Waloszková¹, Matej Buzgo^{1,3}, Věra Lukášová^{1,2}
a Evžen Amler^{1,2,3}**

Core-shell nanovlákná na bázi polykaprolaktonu pro regeneraci chrupavky

¹ Ústav experimentální medicíny AVČR, v.v.i., Praha

² 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Praha

³ Univerzitní centrum energeticky efektivních budov, České vysoké učení technické v Praze, Buštěhrad

evafil@biomed.cas.cz

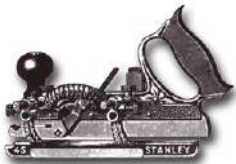
Nanovlákná z poly- ϵ -kaprolaktonu (PCL) jsou vhodné biomateriály pro růst buněk. Core-shell nanovlákná umožňují inkorporaci růstových faktorů nebo léků do nanovláken a následně jejich postupné uvolňování. Cílem studie bylo sledovat růst a diferenciaci prasečích mesenchymálních buněk (MSC) na core-shell nanovláčkenech z PCL s obsahem růstových faktorů a hyaluronanu sodného příp. s přísávkem Pluronic® F68, při kultivaci v médiu se sníženým obsahem séra.

Elektrostatickým zvlákňováním z volné hladiny jsme připravili nanovláčenné nosiče z poly- ϵ -kaprolaktonu s obsahem vodného roztoku z růstových faktorů: bazický fibroblastový růstový faktor (bFGF), inzulinu podobný růstový faktor-I (IGF-I), transformační růstový faktor - β 1 (TGF- β 1). Stejně růstové faktory s přidáním amfifilní látky Pluronic® F68 (vzorek PLUGF), nebo Hyalganu inj (hyaluronan sodný) ($M_r=500-730$ kDa), nebo Synvisc One inj (hyaluronan sodný a deriváty hyaluronanu ($M_r=6$ MDa), kontrolní vzorek bez růstových faktorů s Pluronikem F68 a čistý PCL bez růstových faktorů.

Buňky jsme kultivovali 14 dní v MEM médiu s 1% fetálního telecího séra a antibiotiky. Hodnotili jsme růst a metabolickou aktivitu MSC, chondrogenní diferenciaci MSC pomocí imunohistochemického barvení kolagenu II a následnou vizualizaci konfokálním mikroskopem. Rozprostření buněk na nanovláčkenech jsme sledovali barvením DiOC(6)3 a propidium jodidem a snímali konfokálním mikroskopem.

PCL nanovlákná s Pluronic®F68 a růstovými faktory stimulovaly růst a chondrogenní diferenciaci MSC po dobu 7 dní kultivace. PCL nanovlákná s hyaluronanem s vyšší i nižší molekulovou hmotností podpořily přežití buněk a stimulovaly tvorbu kolagenu II po dobu 14 dní, proto jsou vhodné jako systémy řízeného uvolňování látek pro regeneraci chrupavky.

Projekt byl podpořený grantem MŠMT NPU I: LO1309 a projektem Akademie věd „Otevřená věda“.



středa 16:30

**Tereza Bělinová¹, Lucie Ostrovská², Jan Valenta³, Minoru Fujii⁴
a Marie Hubálek Kalbáčová^{2,5}**

Křemíkové částice a lidské buňky - současné poznatky a budoucí výzvy

¹ Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze, Praha

² Biomedicínské centrum LFP UK, Plzeň

³ Matematicko-fyzikální fakulta UK, Praha

⁴ Department of Electrical and Electronic Engineering, Graduate School of Engineering, Kobe, Japan

⁵ Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK, Praha, ČR

belinot@live.com

V posledních několika letech je čím dál tím větší pozornost směřována na potenciální využití různých typů nanočástic v biomedicině, a to především jako biosenzorů či nosičů léčiv. Pro takové využití je nutné pochopení fyzikálních a chemických interakcí probíhajících při vstupu částice do buňky a následně pak sledování jejich pohybu po ní. Při zkoumání reálné využitelnosti nanočástic z různých typů materiálů je nutné v kontextu s živými organismy uvažovat o jejich co možná nejvyšší bezúhonnosti. Jakožto biokompatibilní, biodegradovatelný a nízké toxický materiál se tedy jeví křemík jako jednou z vhodných platform pro aplikace v živých soustavách. Další výhodou křemíku je také jeho stabilní červená luminiscence, a tedy relativně snadná pozorovatelnost a identifikace částic z tohoto materiálu.

V současné době se společně s kolegy z Matematicko-fyzikální fakulty UK snažíme o důkladnější prozkoumání a pochopení chování křemíkových nanokrystalů (SiNC), pocházejících z Univerzity v Kobe, v biologickém prostředí. Z dosavadních poznatků je prozatím možno určit, že chování SiNC je ovlivňováno složením média, respektive přidaným typem séra v médiu, ve kterém se částice spolu s buňkami nacházejí. Odhalení přesného mechanismu chování SiNC v závislosti na prostředí, ve kterém se nacházejí, by nám otevřelo zcela nové obzory v oblasti funkcionalizace povrchu těchto částic. Nadále také čelíme výzvě v podobě pozorování vstupu a pohybu SiNC po buňkách. Odhalení přesných principů interakcí SiNC s biologickými systémy má potenciál značnou měrou přispět k reálnému využití těchto částic v biomedicině.

středa 16:50 (S)

Anna Zavadáková¹, Pavel Klein¹, Tomáš Suchý² a Lucie Vištejnová¹

Úspěchy a pády při vytváření scaffoldu pro 3D kultivaci kožních fibroblastů

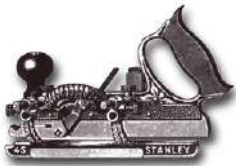
¹ Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze

² Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AV ČR, v.v.i., Praha

zavadaka@lfp.cuni.cz

Proč je 3D lepší než 2D

V běžné praxi se kožní buňky, fibroblasty, kultivují na kultivačním plastu z polystyrenu, tedy ve 2D uspořádání. Tento model má však řadu omezení, především nepřítomnost přirozeného kontaktu buněk s mimobuněčnou hmotou, který je pro správnou funkci kožních fibroblastů



nezbytný. Na základě toho jsou vyvíjeny reprezentativnější modely – modely 3D. Prostorové uspořádání buněk v těchto podmínkách odpovídá mnohem více skutečnosti než v 2D uspořádání. Scaffolds pro kultivaci buněk v 3D se tak jeví se jako vhodné nástroje pro studium chování dermálních fibroblastů.

Pro vytvoření 3D prostředí se běžně používá kolagen. Jedná se o přírodní materiál, který v závislosti na teplotě, pH a dalších podmínkách mění své vlastnosti, jejichž úpravou jsme schopni docílit například požadovaného skupenství.

Cílem této práce bylo vytvořit kolagenový scaffold pro kultivaci a následné studium kožních fibroblastů v 3D prostředí.

Co všechno jsme s kolageny zkoušeli

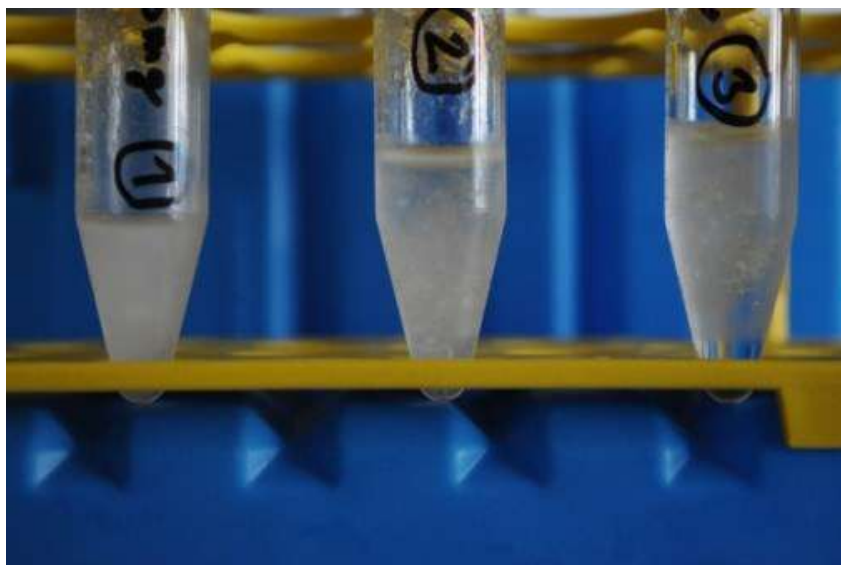
Všechny vzorky kolagenů byly rozpouštěny v roztoku slabé kyseliny octové a úpravou pH bylo docíleno jejich tuhnutí. Snadno dostupné kolageny, které byly naší první volbou, byly lyofilizované kolageny získané z rybí a telecí kůže. Později byly použity i různými způsoby izolované kolageny z prasečí kůže a vlastnoručně izolovaný kolagen z krysích šlach.

Z homogenního roztoku kolagenu byl dle protokolů výrobců komerčních kolagenů vytvořen první acelulární scaffold stabilní v podmínkách vhodných pro kultivaci buněk.

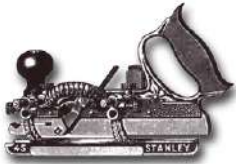
Scaffold s buňkami byl vytvořen smícháním neutrálního roztoku kolagenu se suspenzí fibroblastů a následným tuhnutím v prostředí pro *in vitro* kultivaci buněk. Fibroblasty byly ve scaffoldech pozorovány týdny. Byl sledován jejich tvar, distribuce ve scaffoldu a životaschopnost, která byla stanovena měřením metabolické aktivity a specifickým barvením buněčných organel závislým na jejich fyziologickém stavu. Měřením rozdílu průměrů scaffoldů v čase byla sledována schopnost kontrakce, jež je pro fibroblasty typická.

První úspěch a postupné vystřízlivění

Nejprve bylo nutné pevný kolagen rozpustit. Už v tomto kroku byla zřejmá velká variabilita mezi vzorky, a to i mezi kolageny získanými různými metodami ze stejného organismu (Obr. 1).



Obr. 1 Kolagen z prasečí kůže izolovaný různými způsoby rozpuštěný v 1% kyselině octové (5 mg/ml); 1 - homogenní mléčně zakalený roztok, 2 - nehomogenní mléčná suspenze s patrnými sraženinami kolagenu, 3 - lehce mléčný roztok s nerozpuštěným shlukem.



V publikacích zabývajících se konstrukcí scaffoldů pro buněčný růst jsme se často potýkali s kolagenem izolovaným z krysích ocasů. Mohli jsme si ho tedy koupit za pěkných pár tisíc, nebo ho zkusit izolovat přímo z ocasů. Rozhodli jsme se vydat se delší, zato horší cestou a kolagen z krysích šlach získat. Naším vodítkem byl postup podle (Bell et al. 1979). Izolace se zdařila a dle protokolů výrobců komerčních kolagenů (IBIDI) se nám podařilo vytvořit první acelulární scaffold stabilní v podmínkách vhodných pro kultivaci buněk.

Následovala příprava scaffoldů s buňkami. S narůstajícím počtem vytvořených scaffoldů však začal narůstat i počet neúspěchů při jejich vytváření. Zjistili jsme, že příprava, která zpočátku zdála být snadná, si žije vlastním životem, a opakovaná příprava scaffoldu se stejnými vlastnostmi se daří jen zřídka. A tak vytvoření stabilního prostředí, ve kterém se budou cítit fibroblasty jako doma (v kůži), prostředí, které bude vhodné pro studium jejich chování po několik týdnů, se zdá být obrovskou výzvou!

Reference

Bell, E., B. Ivarsson & C. Merrill (1979) PRODUCTION OF A TISSUE-LIKE STRUCTURE BY CONTRACTION OF COLLAGEN LATTICES BY HUMAN-FIBROBLASTS OF DIFFERENT PROLIFERATIVE POTENTIAL INVITRO. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 76, 1274-1278.

Práce je podpořena z Národního programu udržitelnosti I (NPU I) č. LO1503 poskytovaného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy.

středa 17:10

Tomáš Suchý^{1,2}, Lucy Vojtová^{3,4,5} a Marek Pokorný⁶

Zeugolisův paradox, část I. - sázka

¹ Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AV ČR, v.v.i., Praha

² Laboratoř biomechaniky člověka, FS ČVUT v Praze

³ Středoevropský technologický institut (CEITEC), Vysoké učení technické v Brně, Brno

⁴ Ústav chemie materiálů, Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně, Brno

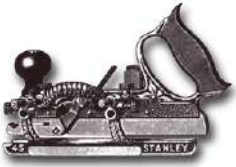
⁵ SCITEG, a.s., U vodárny 2965/2, 616 00 Brno

⁶ Contipro a.s., R&D Department, Dolní Dobrouč

suchyt@irms.cas.cz

Při zpracování kolagenu do různých forem urazíte od jeho izolace dlouhou cestu, na které hrozí, že se vlivem některých výmolů (působením chemických sloučenin) a nerovností (tepelnými účinky) mohou ztrácet jeho původní nativní vlastnosti. Existuje celá řada metod, jak míru této případné ztráty charakterizovat, existuje ale také celá řada přístupů, jak tyto charakterizace interpretovat. A v neposlední řadě se na této cestě setkáte s celou řadou názorů a zkušeností, které vám ji mohou usnadnit anebo zprostředkovat jiný pohled „pod kapotu“.

Přednáška shrnuje některé poznatky získané při řešení projektu TA04010330, finančně podpořeného Technologickou agenturou České republiky.



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY IX.

Herbertov, Horní Mlýn, 20. – 23. 9. 2016

středa 17:15

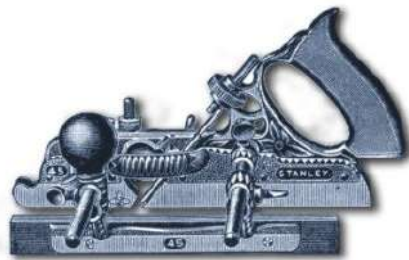
Prezentace firmy HANYKO Praha, s.r.o.

Prezentace firmy HANYKO Praha, s.r.o. je umístěna na závěr sborníku

středa 19:30

Petr Vydra

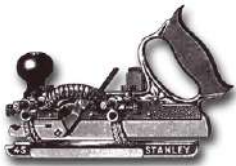
Úskalí prezentace vědecké práce





22.9.2016

CTVRTEK



čtvrtek 8:50

**Lucy Vojtová^{1,2,3}, Jan Žídek¹, Veronika Švachová², Jana Brtníková¹,
Markéta Tesařová¹, Tomáš Zikmund¹, Eva Prosecká⁴, Michaela
Rampichová⁴, Jiří Chmelík⁵, Roman Jakubíček⁵, Jiří Jan⁵ a Jozef Kaiser¹**
**Morfologické hodnocení porézních kolagenových skafoldů s kmenovými
buňkami pomocí počítačové mikro- a nanotomografie**

¹ Středoevropský technologický institut (CEITEC), Vysoké učení technické v Brně, Brno

² Ústav chemie materiálů, Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně, Brno

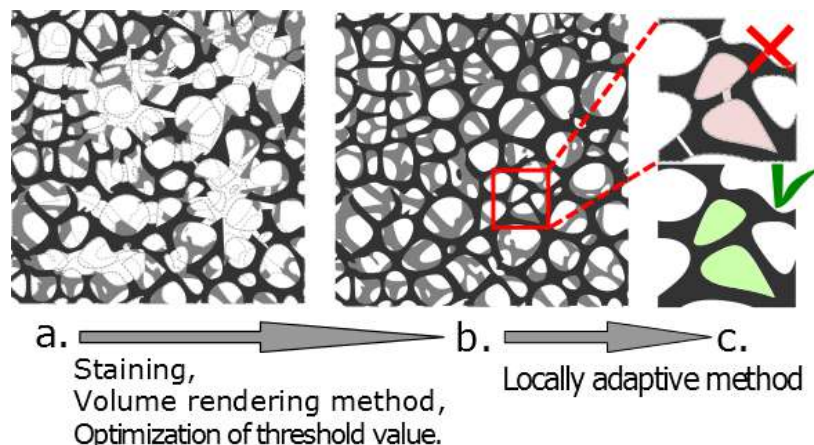
³ SCITEG, a.s., U vodárny 2965/2, 616 00 Brno

⁴ Ústav experimentální medicíny AVČR v.v.i., Vídeňská 1083, 142 40 Praha, CZ.

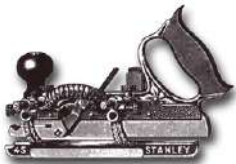
⁵ Ústav biomedicínského inženýrství, Fakulta elektrotechniky, Vysoké učení technické v Brně, Technická 12, 61600 Brno, CZ.

lucy.vojtova@ceitec.vutbr.cz

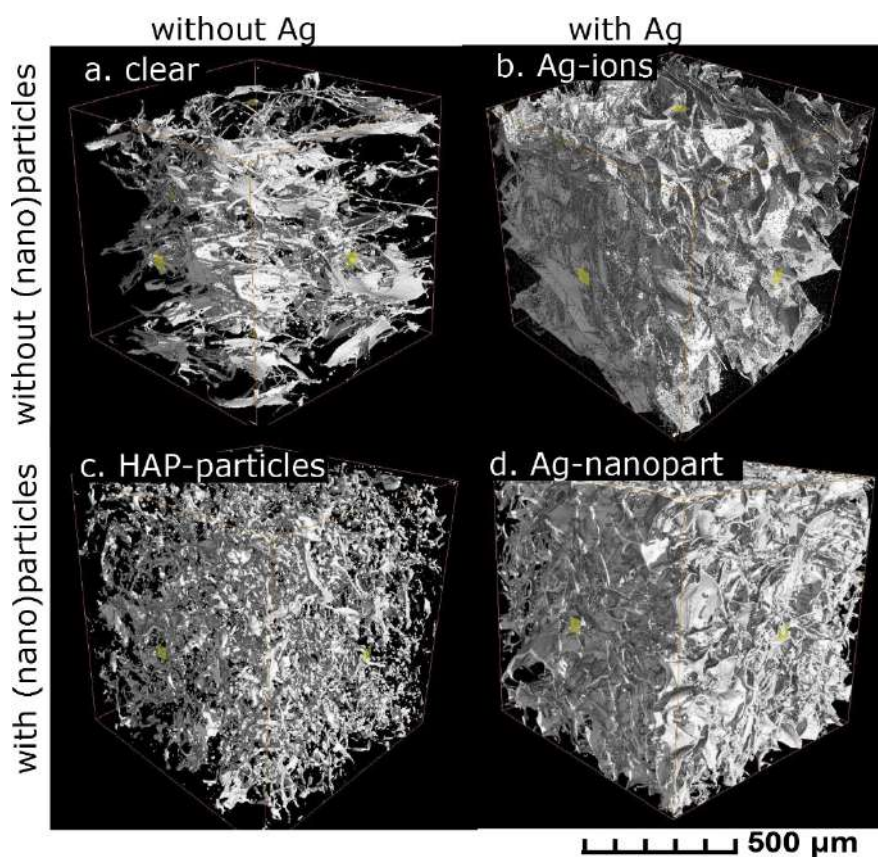
V uplynulých letech byly na našem pracovišti vyvinuty a připraveny nové resorbovatelné porézní nosiče buněk a léčiv (skafoldy) na bázi biopolymerního kompozitu k léčbě kostí či chrupavek metodou tkáňového inženýrství s úspěšným preklinickým hodnocením^{1,2}. Kromě chemického složení těchto biopolymerních skafoldů založených na modifikovaném kolagenu, je velice důležitou charakteristikou morfologie jejich 3D porézní struktury hrající významnou roli při regeneraci tkáně. Morfologie porézních skafoldů je běžně sledována pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM), bohužel snímek ze SEM je pouze dvojrozměrný a neurčuje morfologii v celém objemu vzorku, ale jen v malé části jeho řezu. Navíc musí být vzorek před pozorováním upraven (nařezán a pokoven). Z těchto důvodů jsme použili rentgenovou počítačovou mikro-tomografii (μ CT), kdy byl vzorek skafoldu nedestruktivně evaluován v celém svém objemu. Ovšem biopolymery, díky své nízké hustotě, se nezobrazují tak přesně a ostře jako pevné, kompaktní materiály (kovy, keramika). Navrhli jsme proto systém kontrastování kolagenového skafoldu, kdy jsme společně s metodou „volume rendering“ (objemového vykreslování), optimalizací prahových hodnot vizualizačních parametrů doplněných o lokálně adaptivní metodu dosáhli nezkraslených 3D zobrazení porézních skafoldů (Obr. 1)³. Ukázka kontrastování kolagenového nosiče a jeho zobrazení pomocí μ CT je na Obr. 2³.



Obr. 1 Optimalizace 3D zobrazení kolagenového skafoldu



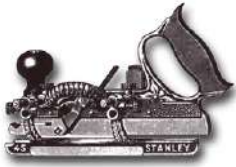
Následně jsme kolagenové nosiče osadili mezenchymálními kmenovými buňkami a snažili se zobrazit jak skafold tak i buňky pomocí μ CT. Stejně jako biopolymery, tak i buňky nejsou bez kontrastování snadno pozorovatelné pomocí μ CT. Buď jsme velice dobře pozorovali skafold, ale bez buněk nebo naopak buňky, ale zase bez skafoldu. Proto jsme nově použili na tento systém v Evropě zcela unikátní počítačový nanotomograf (nCT) fy Rigaku s rozlišením až 270 nm, který byl zakoupen v rámci projektu Ceitec. Pomocí nCT jsme nakonec byli schopni zobrazit buňkami osazený skafold. Ve finále jsme porovnali jak snímky ze SEM, tak i μ CT, nCT a nakonec pořízených i ze synchrotronu Elettra (Trieste, Itálie). K lepšímu dokreslení jak skafoldu tak i buněk přispělo zobrazení finálních 3D snímků pomocí stereoskopie.



Obr. 2 Vliv kontrastování na zobrazení kolagenového nosiče pomocí μ CT: (a) čistý kolagen typ I, (b) kolagen se stříbrnými ionty, (c) kolagen s mikro-hydroxyapatitem, (d) kolagen s nanočásticemi stříbra připravenými „*in-situ*“.

Ukazuje se, že počítačová nanotomografie bude další plnohodnotnou metodou pro pozorování morfologie polymerních skafoldů a také pro stanovení porozity, velikosti pórů a jejich vzájemného propojení. Po osazení skafoldu buňkami lze stanovit i objemový poměr buněk a skafoldu a především také distribuci buněk uvnitř 3D skafoldu. Tato nová technika nám pomůže lépe porozumět metodám osazování skafoldu buňkami, chování buněk ve skafoldu (proliferaci a diferenciaci v různých časových intervalech), případně změny v morfologii skafoldu po určité době vystavené buňkám, což je nezbytné v moderním tkáňovém inženýrství pro regeneraci tkání.

Výsledky tohoto výzkumu byly získány v rámci projektu CEITEC 2020 (LQ1601) za finančního přispění Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky v rámci účelové podpory z prostředků Národního programu udržitelnosti II.



Použitá literatura:

1. Prosecká, E., Rampichová, M., Vojtová, L., Tvrdík, D., Melčáková, Š., Juhasová, J., Plencner, M., Jakubová, R., Jančář, J., Nečas, A., Kochová, P., Klepáček, J., Tonar, Z., Amler, E. Optimized conditions for mesenchymal stem cells to differentiate into osteoblasts on a collagen/hydroxyapatite matrix. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2011, 99A(issue 2), 307-315.
2. Prosecká, E., Rampichová, M., Litvinec, A., Tonar, Z., Králíčková, M., Vojtová, L., Kochová, P., Plencner, M., Buzgo, M., Míčková, A., Jančář, J., Amler, E. Collagen/hydroxyapatite scaffold enriched with polycaprolactone nanofibers, thrombocyte-rich solution and mesenchymal stem cells promotes regeneration in large bone defect *in vivo*. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2015, 103(2), 671-682.
3. Žídek, J.; Vojtová, L.; Abdel-Mohsen, A.; Chmelík, J.; Zikmund, T.; Brtníková, J.; Jakubiček, R.; Zubal, L.; Jan, J.; Kaiser, J. Accurate micro-computed tomography imaging of pore spaces in collagen-based scaffold. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2016, 27(6), 1-18.

čtvrtek 9:20 (S)

Martin Bartoš¹ a Tomáš Suchý^{2,3}

Možnosti mikro-CT hodnocení kompozitních scaffoldů

¹ Oddělení maxilofaciální chirurgie, Stomatologická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

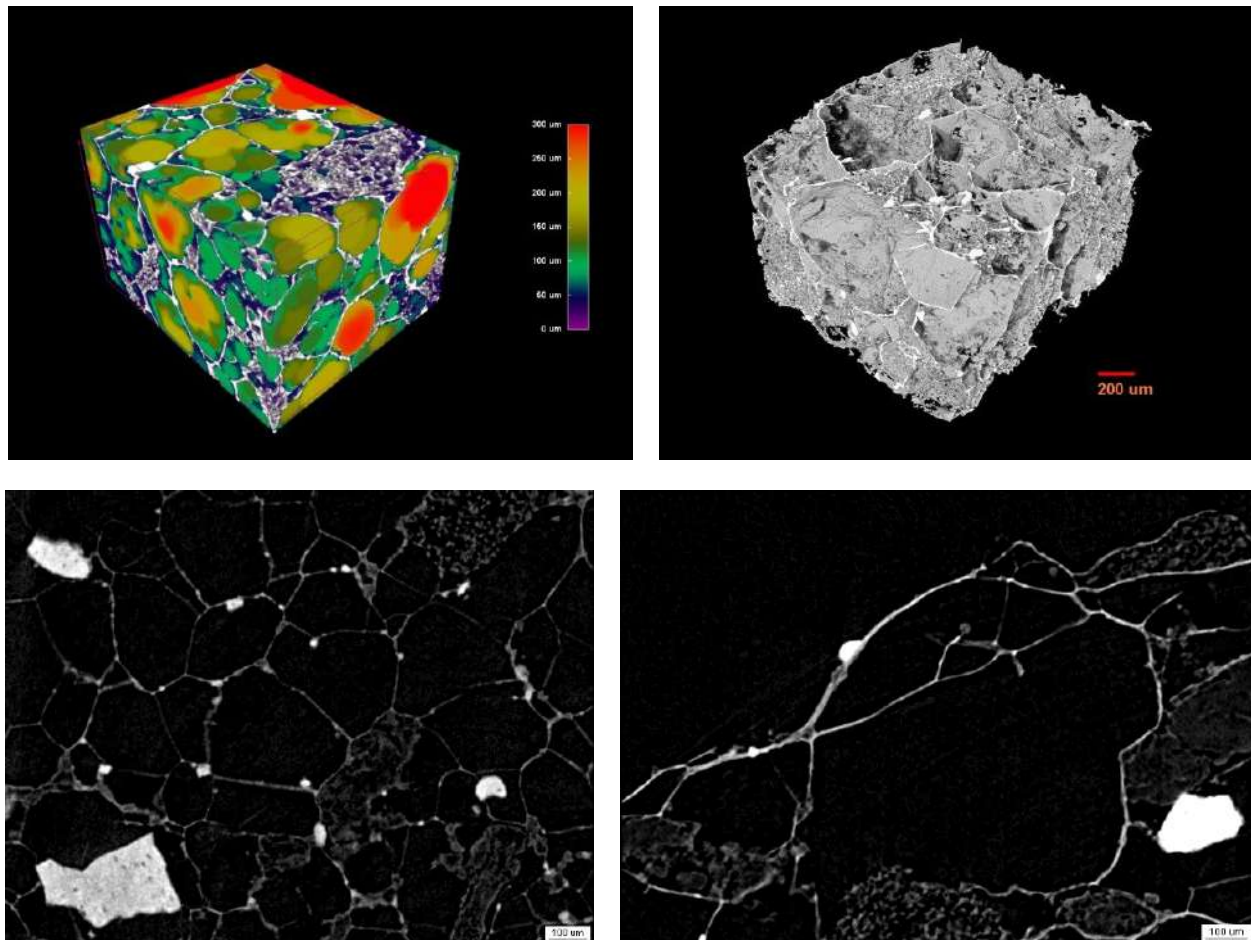
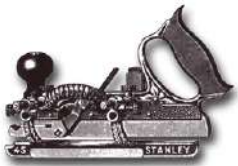
² Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AV ČR, v.v.i., Praha

³ Laboratoř biomechaniky člověka, FS ČVUT v Praze

martin.bartos@vfn.cz

Kostní defekty různé etiologie (traumata, nádorová onemocnění, záněty apod.) mohou představovat terapeutický problém, a to především v závislosti na jejich rozsahu a lokalizaci. Perspektivní možností léčby těchto defektů je využití scaffoldů na bázi polymerů, které po implantaci do místa defektu zajistí podmínky vyhovující procesům hojení; v ideálním případě dosáhnou regenerace poškozené tkáně. Jedním ze základních požadavků na vlastnosti scaffoldů je vhodná prostorová struktura, která významně ovlivňuje interakci scaffoldu s okolní tkání.

Mikro-CT představuje preklinickou zobrazovací metodu založenou na RTG záření, která umožňuje zobrazení 3D struktury vzorků v rozlišení několika mikrometrů a jejich prostorovou analýzu. Zásadní předností je nedestruktivní charakter metody. Scaffoldy mohou být vyhodnoceny *in vitro* v suchém či mokřém stavu. V případě pokusu *in vivo* je možné posuzovat proces hojení přímo v organismu pokusného zvířete nebo po získání vzorku této tkáně. Mikro-CT scaffoldů umožňuje vizualizovat a analyzovat prostorové uspořádání vzorků, které je konvenčními metodami obtížně hodnotitelné. Mezi klíčové parametry patří porozita (otevřená i zavřená), neboť má významný vliv mj. na pronikání buněk do scaffoldu. Porozita může být hodnocena 2D i 3D metodikou. Významnou charakteristikou porozity je PSD (Pore Size Distribution – distribuce pórů dle velikosti a jejich podílu na celkovém objemu porozity).

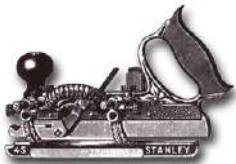


Obr. 1. Ukázka 3D modelu scaffoldu s barevně kódovanou porozitou v závislosti na velikosti pórů, 3D model scaffoldu (měřítko 200 μm), 2D průřezy scaffoldem (měřítko 100 μm).

Přínos a možnosti hodnocení prostorové struktury při výzkumu těchto materiálů je dokumentován prostorovou analýzou a stanovením porozity několika typů scaffoldů na bázi kolagenu typu I, polylaktidu, kalcium fosfátových nanočástic a kyseliny hyaluronové, a to za užití *ex-vivo* mikro-CT přístroje SkyScan 1272 (Bruker, Belgie) a originálního softwaru Bruker (NRecon, DataViewer, CTAn, CTvox, CTvol). Mikrotomografie je významnou metodou hodnocení scaffoldových materiálů, která přináší řadu poznatků o jejich vnitřní struktuře. Její použití však může být komplikováno relativně nízkou RTG densitou scaffoldových materiálů a přítomností gracilních struktur na hranici rozlišení (např. tenká septa mezi póry).

Poděkování

Mikro-CT bylo pořízeno za podpory MŠMT, EU a OpVaVpI v rámci projektu č. CZ.1.05/4.1.00/16.0346. Příspěvek vznikl za podpory výzkumného programu Prvok P28/LF1/6 MŠMT. Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 15-25813A.



čtvrtek 9:40

**Lucie Vištejnová¹, Azalia Mariel Carranza Trejo¹, Iveta Zímová¹
a Tomáš Suchý²**

Úpravy plastových povrchů pro dlouhodobou kultivaci hepatocytů – Otázka zní „Koutovat či nekoutovat, a případně jak?“

¹ Oddělení maxilofaciální chirurgie, Stomatologická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

² Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AV ČR, v.v.i., Praha

lucie.vistejnova@lfp.cuni.cz

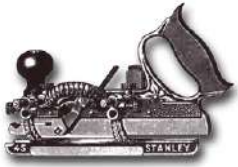
Hepatocyty jsou hlavní buňky jater vykonávající nejen řadu esenciálních metabolických funkcí, ale zároveň umožňují jedincům občas ochutnat různé nápoje obsahující EtOH, tuto nízkomolekulární látku zpracovat a eliminovat její škodlivé působení. Tato schopnost hepatocytů zvaná detoxifikace se vztahuje na všechny přírodní i syntetické sloučeniny, které tělo chtě/nechtě vstřebává a potřebuje se jich zbavit za účelem minimálního poškození vlastních funkcí. Hepatocyty se touto vlastností stávají ideálním modelem pro studium cytotoxických a farmakologických charakteristik látek či pro studium metabolických pochodů těla.

Hepatocyty jsou v jaterní tkáni uspořádány do trámčitého epitelu a spolu s endoteliálními buňkami, buňkami žlučových, mesenchymálními a imunitními buňkami vytvářejí organizovanou, a překvapivě i velmi pevnou tkáň. Pro vytvoření relevantního *in vitro* modelu je tedy nutné hepatocyty ze složitých struktur a četných mezibuněčných spojení vyvázat, izolovat a správně kultivovat.

Díky zkušenostem řady předchůdců mající za cíl experimenty na *in vitro* kulturách hepatocytů již existuje veřejná zkušenost, že hepatocyty na klasickém kultivačním plastu nerostou a neuchovávají požadované funkce po dobu delší než 2-3 dny. Tento problém se zdá řešitelný vhodnou úpravou kultivačního povrchu – pokryvem („*koutováním*“) vybraným proteinem, který je pro hepatocyty přirozený. Pro tyto účely se používá kolagen typu I či IV, laminin nebo fibronectin. Objevují se i práce, kde se hepatocyty a daný protein vrství na sebe a vytváří se tzv. sendvičová struktura.

Příspěvek popíše první zkušenosti s přípravou „*koutovaných*“ plastových povrchů pro dlouhodobé (alespoň 5ti-denní) kultivace hepatocytů kolagenem typu I. Kolagen je izolován z různých živočišných druhů, z různých částí těla, různými metodami, a je také různě aplikován na plastové povrchy. A jak četnost slova „*různé*“ v předcházející větě napovídá, dostáváme především různě úspěšné výsledky, a otázkou k diskusi zůstává, jak kolagen správně izolovat a zpracovat pro účely přípravy vhodného povrchu pro kultivace hepatocytů.

Tato práce je podpořena grantem Národního programu udržitelnosti I (NPU I) č. LO1503 poskytovaného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy.



čtvrtek 10:00 (S)

Rastislav Ballay¹, Ivan Landor¹, František Růžička² a Tomáš Suchý^{3,4}

Aloplastické materiály a jejich citlivost

¹ I. Ortopedická klinika, 1. lékařská fakulta FN v Motole, Univerzita Karlova v Praze

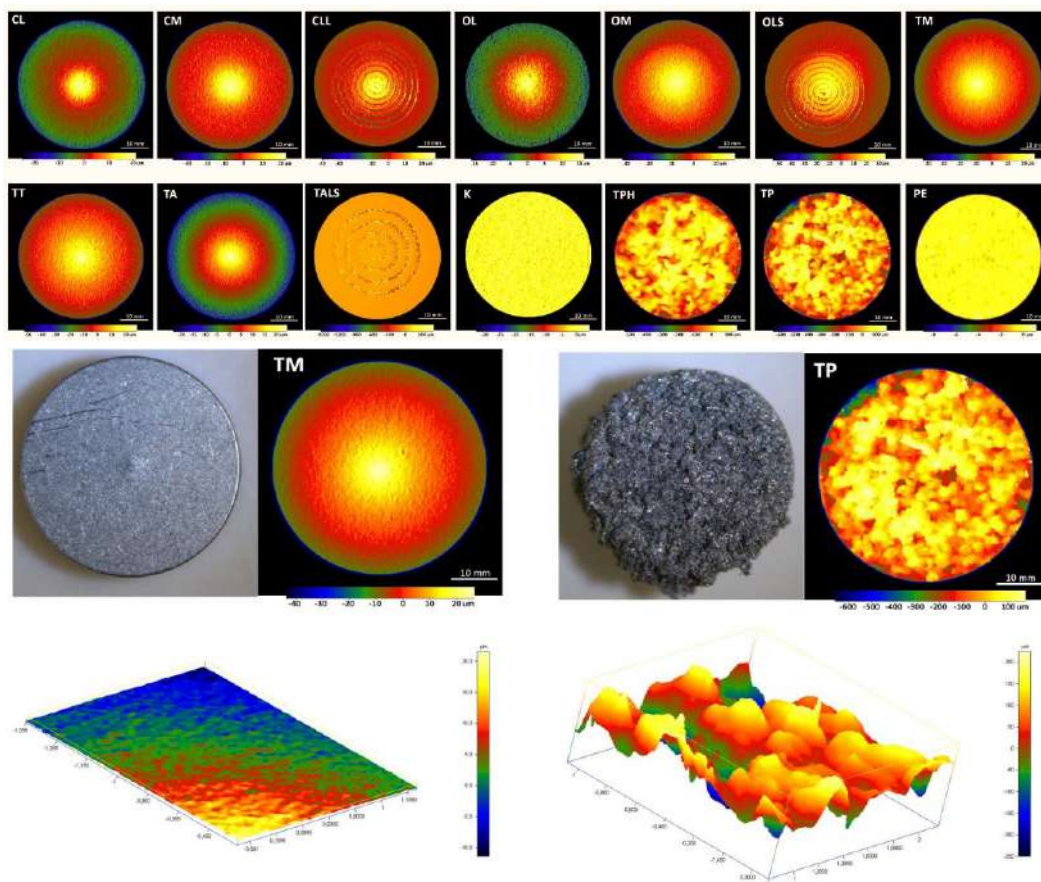
² Masarykova univerzita v Brně, Lékařská fakulta, Fakultní nemocnice u Sv. Anny, Mikrobiologický ústav

³ Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AV ČR, v.v.i., Praha

⁴ Laboratoř biomechaniky člověka, FS ČVUT v Praze

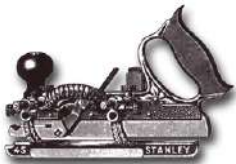
ballayrastislav@gmail.com

V podmínkách mikrobiologické laboratoře byly *in vitro* testovány nejčastěji užívané aloplastické materiály v obvyklých povrchových úpravách cílenou kontaminací mikrobiálními agens nejčastěji se vyskytujícími při hluboké infekci totální náhrady. Hlavní otázkou bylo zjistit, jak jsou aloplastické materiály primárně odolné vůči bakteriální kolonizaci při různých povrchových úpravách. Určitou limitací naší práce je hodnocení porézních povrchů *in vitro*, které vykazují zvýšenou citlivost ke kolonizaci (Obr. 1).



Obr. 1 Ukázka testovaných povrchů s různým chemickým složením a různou topografií povrchu.

Porézní titan a zejména pak jeho hydroxyapatitová vrstva totiž značně akcelerují osídlení povrchu osteoblasty a tak i osteointegraci implantátu do kostního lůžka. Mikrobiální agens nemá prostor tento povrch kolonizovat. Problémem mohou být části porézních povrchů, které zůstávají mimo kontakt s kostí a jejich afinita ke kolonizaci tudíž zůstává trvale vysoká. Materiálem volby



cementovaných implantátů je Vitallium, které má z kovových povrchů nejnižší citlivost ke kolonizaci. Materiálem volby pro konstrukci necementovaných implantátů jsou slitiny titanu. Problémem je osteoaktivní povrch, který není v kontaktu s kostním lůžkem. Jeho hrubost a porozita jsou zásadní pro dobrou osteointegraci, ale zároveň má vysokou afinitu ke kolonizaci bakteriemi. V současné době pracujeme na biokompozitní nanostrukturované vrstvě schopné výrazně zlepšit proces integrace implantátu. Tato vrstva kontrolovaně uvolňuje absorbované antibiotikum, a tím umožní snížit riziko kolonizace povrchu implantátu.

čtvrtek 10:20 (S)

Eva Průchová¹, M. Kosová², L. Joska¹ a V. Filip¹

Vývoj metody pro testování antibakteriální aktivity

¹ Ústav kovových materiálů a korozního inženýrství, VŠCHT v Praze

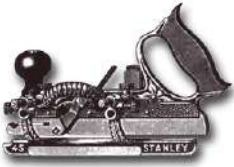
² Ústav mléka, tuků a kosmetiky, VŠCHT v Praze

pruchovv@vscht.cz

Slitina Ti6Al4V je široce využívanou slitinou v ortopedii a stomatologii. Pasivní vrstva TiO₂ zprostředkovává korozní odolnost, bioaktivitu a osseointegraci. Elektrochemicky vytvořená nanostruktura v oxidu základního kovu ještě více podporuje propojení implantát kov, zlepšuje růst kostních buněk, ale také může být využita jako substrát pro kotvení dalších látek. Možný vznik infekce po implantaci náhrady je jednou z významných příčin selhání implantátu. V této práci bylo na nanostrukturu deponováno stříbro, které je známo svými antibakteriálními vlastnostmi proti široké škále mikroorganismů.

Hlavním cílem této studie bylo vyvinout metodu umožňující přesné stanovení antibakteriální aktivity na povrchu plochých vzorků. Stříbro bylo deponováno na povrch nanostrukturovaných vzorků následujícími způsoby - PVD, fotochemické depozice, elektrochemické depozice, metoda sol-gel. Antibakteriální účinnost byla testována s využitím indikátorových kmenů bakterií *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*. Bakteriální kultura byla aplikována na povrch vzorku. Po 5 hodinách byl vzorek se suspenzí přenesen do fyziologického roztoku (desítkové ředění). Po vhodném počtu ředění byla kultura rozprostřena na Petriho misky zalité agarem. Následovala kultivace a poté byly přeživší kolonie kvantitativně vyhodnoceny.

Byly zjištěny odlišné potřebné kultivační časy, aby kolonie na agarových plotnách byly dobře narostlé a počitatelné (Obr. 1). V inkubátoru při 37 °C dostačovalo bakterii *Escherichia coli* 24 h, *Staphylococcus aureus* vyžadoval nejméně 48 h kultivace. Broušený vzorek slitiny Ti6Al4V sloužil jako negativní kontrola, podle kterého byla posuzována inhibice na dalších, modifikovaných vzorcích. Vzorek čistého stříbra byl použit jako pozitivní kontrola, zde se naopak předpokládala maximální možná inhibice bakterií. Numerické vyhodnocení prokázalo, že stříbro svou předpokládanou funkci splnilo. Alespoň částečná inhibice byla potvrzena u všech testovaných vzorků. Překvapivě i nemodifikované nanostruktury vykazovaly do určité míry antibakteriální aktivitu. Kmen *Escherichia coli* byl zlikvidován u všech testovaných vzorků obsahujících stříbro. Z výsledků také vyplynulo, že bakterie *Staphylococcus aureus* je více rezistentní druh a proto bude tento kmen používán i v následujících testech. Metoda pro testování antibakteriálních vlastností plochých vzorků byla vyvinuta a spolehlivě fungovala.



Obr. 1. Petriho misky zalité agarem s narostlými přeživšími koloniemi
a) *Escherichia coli*, b) *Staphylococcus aureus*

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20-SVV/2016).

čtvrtek 11:00

Vítězslav Březina

„Live cell imaging“ v průzkumu interakcí buňky a biomateriálů

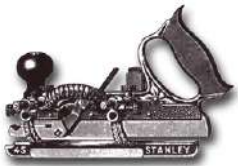
Laboratoř tkáňových kultur, FROV Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích, Nové Hradý

brezinavita@gmail.com

Biokompatibilita je častým termínem se kterým se setkáváme při testování vhodnosti nově vytvořeného materiálu určeného pro lékařské účely. Každý nový materiál určený pro zdravotnictví musí být pečlivě vyzkoušen a tyto zkoušky jsou řízeny státními autoritami. Pro ČR a vlastně celou EU to je norma CSN EN ISO 10992 a ta určuje vše potřebné k provedení testů. Státní autoritou u nás je ČIA, která kontroluje metody, jejich správnost a interpretaci. Až potud jde o komerční práci a zcela samozřejmě existují laboratoře, které služby poskytují.

Mimo to je nezbytné, aby existovaly výzkumné laboratoře, které stojí v čele tvorby nových metod hodnocení oné interakce definované vztahem živé hmoty k umělému materiálu a zejména způsobu jak ke vztahu dochází. Rovněž jaká je dynamika a kinetika skutečného kontaktu, jaké biologické jevy se v místě kontaktu vyskytují, jakou roli hrají změny materiálu, třeba koroze, změny potenciálu, nebo pohyby okolních tkání a jejich růst.

Dobrou metodou jak tyto změny zobrazit a interpretovat je „live cell dynamic imaging“ ve světě užívaná stále častěji. Je to vlastně mikrokineematografie, která zanechává obrazový záznam jevů pro hodnocení více metodami a více osobami.



1. Proč kinematografie

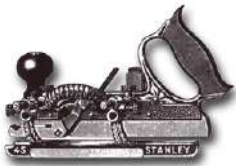
Kinematografie byla původně vynalezena jako výzkumná metoda a fotopuška je její první aplikací. Tehdy byl sledován let ptáků. Brzy se však stává předmětem obchodu s dramatickým zbožím. Jsou vytvářeny příběhy k pobavení obecnostva a původní výzkumná metoda se dostává do pozadí. Ale existuje a je rozvíjena, zejména ve Francii, Anglii, Německu a také v zámoří zejména USA a Japonsku. Aplikace výzkumného charakteru jsou velmi široké a nejenom technické, ale také biologické. Do Československa se dostaly z Německa, a snad první skutečně výzkumnou aplikací byl výzkum ovíjivých pohybů rostlin. Ten uskutečnil prof. Úlehla, krátce po založení Masarykovy univerzity v Brně. Byl to tehdy profilový výzkumný program Ústavu fyziologie rostlin. Možná je dobré vzpomenout ještě aplikaci zoologickou, také z Brna, film Život zabitě žáby prof. Bayera, ten však byl spíše filmem populárně vědeckým, a výukovým. Oba tyto styly, to je film jako výzkumná metoda a film jako prostředek výuky se navzájem prolínají. Osobností těchto směrů byl žák profesora Úlehly, profesor Calábek, působící na Vysoké škole zemědělské a v Akademii věd. Osobností té výzkumné stránky byl v té době doktor Miloš Spurný, zabývající se fyziologií růstu rostlin během velké růstové periody, jeho modelem byl kořen hrachu. Definoval zpětnou vazbu na tomto systému, a vysvětlil podmínky, při kterých vazba funguje. S nástupem další biologické techniky, totiž techniky tkáňových kultur, dochází k rozvoji sběrné mikrokinematografie v medicíně. Vůdčími silami je profesor Půža na Hradecké Lékařské fakultě a jeho žák profesor Červinka. Silnou osobností té doby byl doktor Veselý působící na Akademii věd. Kolem nich se soustřeďovali lidé na pravidelných konferencích, konaných v Hradci Králové. Šlo převážně o výzkum v oblasti medicíny a ten byl rozvíjen osobou doktora Činátla na Ústavu hematologie a krevní transfuze v Praze. Tak se metoda tkáňových kultur a metoda sběrné mikrokinematografie setkávala a přinášela nejenom nové poznatky do dynamiky buněčných dějů, ale také přispěla k výchově nových pracovníků v obou těchto disciplínách. Třebaže se filmové aplikace dostávaly do dalších oborů, biomedicínské aplikace se jeví dodnes jako vůdčí. Zvláště dnes, kdy jsme se odpoutali od filmového nosiče obrazové informace a nové způsoby záznamu dovolují nejenom snadnější uchování ale také snadnější analýzu obrazových dat.

2. Princip sběrné kinematografie

Princip je stejný a od doby vynálezů bratrů Lumierových se nezměnil. Změnilo se jenom technické řešení toho co je před objektivem kamery a toho co je za objektivem kamery. Technika před objektivem je daná zvolenou metodou výzkumné otázky, tedy v našem případě mikroskop, jako další optické zařízení. Technika za objektivem kamery je v našem případě daná způsobem zaznamenání obrazu, jeho uchováním a jeho analýzou. Ale jedno je zcela zásadní – volba snímací a projekční frekvence jednotlivých snímků. Ta musí kopírovat úmysl výzkumníka, totiž zvolit snímací frekvenci podle průběhu pozorovaného děje; je-li obraz nasnímán tak se už frekvence snímání nedá změnit. To neplatí o projekční frekvenci, ta se měnit může a je významnou částí dynamické analýzy obrazu.

3. Co se dá filmovou metodou prokázat

Lépe řečeno na co je metoda dobrá. Zůstaňme u aplikací biologických, i když aplikace filmu do technických disciplín přinášení také mnoho nového (trhací zkoušky, kmitání, krystalizace apod.) Pro biologii, je charakteristická aplikace zkoušející biokompatibilitu, o níž se budeme asi zajímat nejvíce. Stále jsou ovšem aktuální aplikace z fyziologie rostlin, zejména z fyziologie řas a sinic. Platí však pravidlo o analýze kvalitativní a kvantitativní. Snímek je nutno podrobit oběma způsobům analýzy.



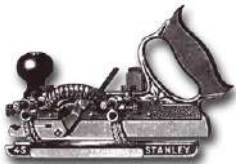
4. Praktické ukázky některých současných řešení

Věnujme se ukázkám z oboru zkoušek biokompatibility. Máme na mysli interakci mezi živou živočišnou buňkou (nebo tkání) a umělým, či přírodním substrátem. A také to, když substrát, nebo tekutina (živné médium) nějak pulzuje. Zda jsou buňky nějak ovlivněny, třeba směrově a zda a jak při tom přenášejí signál ze svého okolí. A pochopitelně jak buňky okupují třírozměrný substrát, dnes aktuální otázka scaffoldů. V podstatě je několik základních technik:

- a. výluh substrátu – výluh obvykle v růstovém médiu je činěn za konstantních podmínek, které určuje výzkumník, nebo norma. Výluh je pak nasazen do kultur v různých ředěních, účelem je zjistit závislost účinku na dávce. Obvykle se určují změny ve specifické růstové rychlosti, stavu cytoskeletu populace metodou dilatace buněk (spreading), lokomoční aktivitou a aktivitou dělení buněk.
- b. přímý kontakt s povrchem rovinného substrátu – buňky jsou naočkovány přímo na rovinný substrát. Je obvykle neprůhledný a tak je nutno zvolit odlišný způsob mikroskopie, totiž mikroskopii v dopadajícím světle, a obvykle s šikmým světlem, není-li k dispozici vhodná zkontastňující technika. Určuje se proliferace buněčné populace, její schopnost kolonizovat substrát její lokomoční a mitotická aktivita. Tyto zkoušky nejsou jenom doménou sběrné mikrokinematografie, zkoušejí se i batchovým způsobem, tedy stav při startu a stav při ukončení. Dává to jednoznačnou informaci o ochotě buněk kolonizovat zkoušený substrát a zejména strukturu jeho povrchu.
- c. přímý kontakt s trojrozměrným substrátem – buňky jsou naočkovány na substrát, jde obvykle o vlákna, mřížku upletenou z vláken různého původu a konečně třírozměrný substrát mající původ v různých organických i anorganických látek. Jeho struktura může být různorodá od pravidelných a opakujících se struktur až po nepravidelné, spíš porézní morfologii. Zde pravidelně sledujeme způsob zarůstání mřížky, či póru, a způsob osidlování vláken. Často mohou být patrné snahy buněčné populace vytvářet jakousi pseudotkáň se základem regulačních mechanismů.
- d. přímý kontakt s pulzujícím substrátem – aplikace kdy jsou buňky naočkovány na pružný substrát, který je, až se buňky přichytí, podroben stahům. Takové stahy, či oscilace, jsou experimentálně měněny podle záměru výzkumníka. Výsledek je očekáván zejména ve směrové orientaci buněk populace a v přenosu informace z buňky do buňky. Obrazově to lze vyhodnotit analýzou kontaktů mezi buňkami a pozorováním struktur, přecházejícím z buňky do buňky sousední. Také undulace buněčných membrán jsou touto oscilací ovlivněny.
- e. kontakt buněk na pevném substrátu, ale s pulzujícím prostředím – tato technika objasňuje základní buněčné jevy vyskytující se v krevním řečišti, tedy pouze modelově, s cílem zachytit zarůstání povrchu umělého substrátu buňkami, jejich orientaci a způsob jejich proliferace.

5. Možné přístrojové vybavení

To je závislé na způsobu, který zvolí výzkumník, jehož cílem je odhalení dynamických či kinetických buněčných jevů. Jednoduchost a účelnost je základním požadavkem. Je rozdíl, stavíme-li metodiku pro několik izolovaných pokusů, anebo pro systematickou práci. Výběr techniky, která naše požadavky může splnit, je dnes široký a není možné, ani správné jednotlivé možnosti a firemní nasazení citovat. Uvažme, že při nových experimentálních přístupech je často



nutné vyrobit spoustu pomocných zařízení, obvykle to jsou kultivační komůrky určené pro mikrokultivaci buněk a tkání, je nutno v nějakých případech uvažovat také o přístupu *ex vivo*. Rovněž pumpy pro dávkování živných médií jsou často předmětem vlastní konstrukce a výroby. Budeme vám prezentovat obraz zařízení a video, které bylo na tomto zařízení snímáno. Výsledné video je pochopitelně podrobeno analýze, jak kvalitativní, tak kvantitativní. Kvantitativní analýza poskytuje čísla, která je možno uzpůsobit do grafů, ke konečné interpretaci probíhajícího děje. Tady je nutno podotknout, že stejný záznam může opakovaně sloužit pro odlišnou obrazovou analýzu. Softwarů pro analýzu je dnes nepřehledné množství a často je také výzkumník tvoří sám.

Metoda sběrné mikrokinematografie je samozřejmě pouze metoda a výzkumník si metody vybírá podle záměru daného úkolu a předpokládaného směru výzkumu. Jednoduchá zobrazovací technika to však není, třebaže se tak tváří. Je však vynikající metodou k určení dynamiky a kinetiky buněčných procesů, tedy funkce, jako protipól k metodám na fixovaných buňkách, kde je studována hlavně morfologie a anatomie, tedy struktura

čtvrtek 11:20

**Zdeňka Kolská¹, Monika Benkocká¹, Nikola Slepíčková Kasálková²,
Kateřina Kolářová² a Václav Švorčík²**

Chemické modifikace povrchů materiálů pro bioaplikace

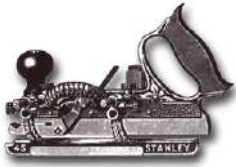
¹ Ústecké materiálové centrum, Přírodovědecká fakulta, Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem

² Ústav inženýrství pevných látek, Fakulta chemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

zdenka.kolska@ujep.cz

Hrajeme si s mnoha materiály tak, abychom upravili jejich povrch, který zpočátku může jevit nevhodné povrchové vlastnosti pro některé aplikace. K těmto hrátkám využíváme různé materiály, polymery, sklo, silikáty. K úpravám povrchů pak využíváme řadu technik zahrnující fyzikální a chemické postupy. Následně tyto povrchy charakterizujeme mnoha technikami před a po jednotlivých krocích modifikací, abychom zjistily, zda tyto kroky vedly k požadovaným změnám povrchových vlastností. Jedním z důvodů, proč měníme povrchy látek, je jejich případné využití v oblastech bio-. Z tohoto důvodu jsou mezi metody testování povrchů zahrnuty též testy na adhezi a růst buněk, či testy na antimikrobiální aktivity.

Tato práce je prováděna za podpory grantů Agentury pro zdravotnický výzkum České republiky č. 15-33018A a Grantové agentury ČR č. 13-06609S.



čtvrtek 11:40 (S)

**Barbora Jakubcová¹, Jana Turňová¹, Ondřej Řehounek¹
a Vladimíra Petráková¹**

Vplyv hrubosti a chemickej úpravy povrchu na rast kortexových neurónov

¹ Katedra přírodovědných oborů, Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT v Praze

barbora.jakubcova@fbmi.cvut.cz

Vlastnosti rozhrania medzi materiálom a živým tkanivom sú zásadné pre reakciu organizmu na implantovaný biomateriál. Zvláštny význam má biorozhranie u konštrukcie implantabilných neuroelektród, kde je dôležité zaistiť čo najlepší kontakt medzi elektródou a neurónom. Ak navrhujeme biomateriál pre interakciu s nervovým tkanivom, jedným z dôležitých kritérií je posilnenie adhézie buniek k povrchom tohoto biomateriálu. Funkcionalizácia povrchov rôznymi štruktúrami alebo topografia povrchu je jednou z možností vylepšenia adhézie buniek k povrchu. Cieľom tejto práce je zistiť vplyv štruktúry povrchu a chemickej funkcionalizácie diamantových tenkých vrstiev na adhéziu neurónov k povrchu diamantových tenkých vrstiev. V našej práci sme porovnali vhodnosť povrchov troch rôznych materiálov (sklo, zlato a nanodiamanty) pre rast kortexových neurónov. Charakterizáciu povrchov sme robili použitím mikroskopie atomárnych síl, skenovacej elektrónovej mikroskopie a Ramanovskej spektroskopie. Následne sme pozorovali vplyv laminínu a porovnali rast kortexových neurónov na povrchoch funkcionalizovaných polyetylénimínom a poly-D-lyzínom s laminínom s bunkovými kultúrami bez laminínu. Nakoniec sme ukázali vplyv molekulovej váhy polyetylenimínu pre kultiváciu buniek. Najvhodnejší z použitých polymérov pre funkcionalizáciu povrchov bol polyetylénimín s $M_w=2000 \text{ g.mol}^{-1}$.

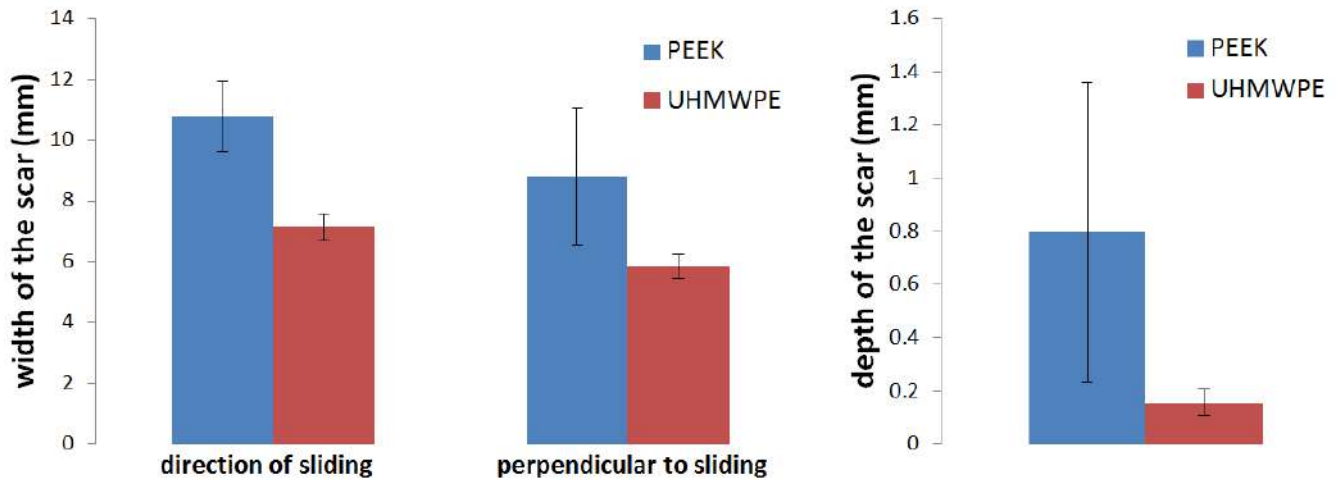
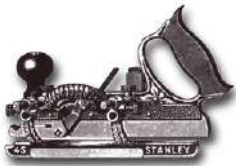
čtvrtek 12:00

Jakub Kronek, Vlastimil Králík a Jan Mervart
Experimentální biotribologie

Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, FS ČVUT v Praze

jakub.kronek@fs.cvut.cz

Na seminári zaměřeném především na biomateriály netřeba opakovaně zdůrazňovat obecně vliv otěru kloubních náhrad na jejich životnost a vůbec vztah materiál-zatížení-otěr-životnost. Zaměříme se na konkrétní experimenty k ohodnocení materiálových dvojic používaných v artikulačních dílech kloubních náhrad. Jak si vede PEEK ve srovnání s běžně používaným UHMWPE? Proč se PEEK zdá být slibným materiálem u kyčelních jamek, ale selhává jako vložka kolenních náhrad? Jak vůbec spolehlivě změřit otěr u *in vitro* experimentů anebo explantovaných náhrad. S čím počítat při úvahách o otěru a otěrových částicích a co s klidem zanedbat? A co by na pozorovaný nárůst hmotnosti vzorků během otěrového experimentu řekl Jan Tleskač?



Obr. 1 Srovnání otěrového poškození PEEK a UHMWPE jamek

čtvrtek 12:20

**Martin Braun¹, Monika Šupová¹, Šárka Rýglová¹, Margit Žaloudková¹,
Martina Křížková¹, Zbyněk Sucharda¹, Eva Klapková², František Denk¹,
Karel Balík¹ a Tomáš Suchý^{1, 3}**

Možnosti HPLC a elektroforézy při charakterizaci kompozitních biomateriálů připravovaných pro klinické aplikace

¹ Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AV ČR, v.v.i.

² Ústav lékařské chemie a klinické biochemie, 2. LF UK a FN v Motole.

³ Laboratoř biomechaniky, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, FS ČVUT v Praze

braun@irms.cas.cz

V tkáňovém inženýrství a regenerativní medicíně jsou stále častěji používány kompozitní, řízeně degradovatelné biomateriály, které nachází uplatnění např. ve formě kostních náhrad, výplní, výztuží a při modifikaci bioaktivních povrchů implantátů.

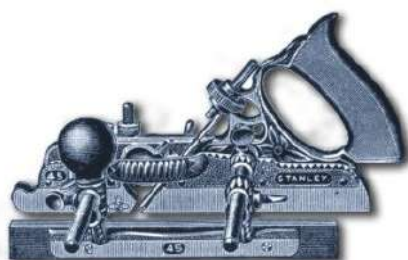
Námi vyvíjené biokompozity jsou založeny zejména na kolagenu, izolovaném z různých živočišných tkání, který je vhodným a tělu vlastním materiálem. Kolagenní nanostrukturované matrice proto umožňují jejich dobré osazení osteoblasty či mezenchymálními kmenovými buňkami. Dalšími významnými složkami jsou pak kalcium-fosfátové nanočástice (bioapatit), plnicí funkci kostního minerálu a antibiotika (vankomycin či gentamicin) umožňující zabránit primární infekci při implantaci.

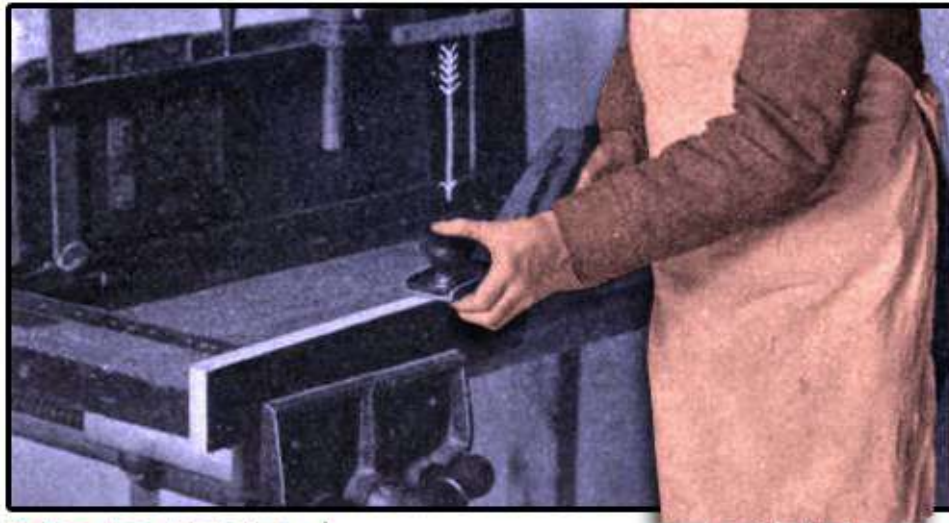
Chemické zesíťení těchto kompozitních materiálů zvyšuje jejich stabilitu, zlepšuje mechanické vlastnosti a navíc lze změnou složení cíleně ovlivnit kinetiku pozvolného uvolňování antibiotik z nosné matrice. Přidávaná antibiotika pak mohou díky dlouhodobému působení *in situ*, eliminovat rizika nepřijetí implantátu organismem, zlepšit inkorporaci do živé tkáně a významně prodloužit životnost implantátů.

Všechny biopolymery však podléhají při působení variabilních fyzikálně-chemických faktorů (pH, teplota, chemická interakce s dalšími komponentami apod.), resp. za simulovaných fyziologických podmínek, řadě chemických reakcí a modifikací, které ovlivňují jejich biologické a mechanické vlastnosti.

Proto je třeba tyto biomateriály určené pro aplikace v implantologii co nejlépe chemicky charakterizovat a průběžně sledovat vliv podmínek působících v prostředí živého organismu na jejich složení, stabilitu a biodegradabilitu. Tento příspěvek má za cíl přiblížit možnosti analytických separačních metod založených na elektroforéze v polyakrylamidovém gelu (SDS-PAGE), využívané především k charakterizaci kolagenu a identifikaci jeho fragmentů elektroforeticky dělených podle svých relativních molekulových hmotností a výsledky metod na bázi vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC), vypracovaných a optimalizovaných pro účely kvantitativní analýzy vankomycinu a gentamicinu uvolňovaných z biodegradabilních kompozitních materiálů připravovaných a testovaných na našem pracovišti.

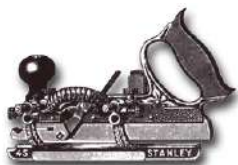
Autoři děkují za finanční podporu této práce AZV MZČR (grantový projekt NV15-25813A), Technologické agentuře České republiky (grantový projekt TA04010330) a ÚSMH AV ČR, v.v.i. (institucionální úkol č. 481).





23.9.2016

PATEK
CALT



pátek 9:00

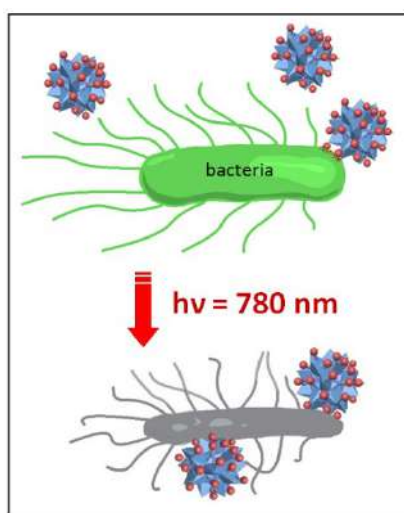
Václav Švorčík¹, P. Slepíčka¹, J. Siegel¹, O. Lyutakov¹ a Z. Kolská²
Kovové nanostruktury a jejich antibakteriální vlastnosti

¹ Ústav inženýrství pevných látek, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

² Ústecké materiálové centrum, Přírodovědecká fakulta, Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem

vaclav.svorcik@vscht.cz

V přednášce jsou shrnuty základní poznatky, které byly získány na našich pracovištích v poslední době zejména v oblasti přípravy a charakterizace kovových nanostruktur na polymerních substrátech a v suspenzích. Je diskutována možnost povrchové modifikace materiálů a následné chemické roubování aktivovaných povrchů použitím kovových nanočástic. Tento výzkum je směřován pro potenciální aplikace výsledků zejména do oblasti tkáňového inženýrství (např. léčba ztráty kožního krytu a cévní protézy) a antibakteriálních povlaků.



Obr. 1 Schéma interakce kovové nanočástice aktivované světlem s bakterií.

Autoři děkují za finanční podporu projektu GAČR č. 108/12/G108.

pátek 9:20 (S)

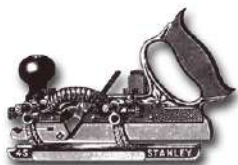
Kamila Moriová¹, Vladimír Starý², Zdeněk Tolde² a Václav Nehasil¹
Stabilita vrstev BaTiO₃ nanosených na Ti a TiNb podložkách

¹ Matematicko-fyzikální fakulta Univerzity Karlovy, Praha

² Ústav materiálového inženýrství, Fakulta strojní ČVUT v Praze

morikam@gmail.com

BaTiO₃ je feroelektrická sloučenina, o které se uvažuje, že by po nanesení na materiál kloubních náhrad a zpolarizování mohla příznivě ovlivnit přirůstání kostních buněk. Vrstva BaTiO₃ byla nanášena metodou pulzní laserové depozice na podložky Ti a TiNb, složení jsme sledovali metodou XPS a porovnávali jsme výsledky získané na vrstvě tak, jak byla připravena a po týdnu



ve fyziologickém roztoku o teplotě 38° C. Cílem naší práce bylo zjistit, zda se v podmínkách podobným těm v lidském těle neuvolňuje baryum, které je toxické. Sledovali jsme i koncentrace a chemický stav ostatních prvků ve vrstvě přítomných a jejich změnu po působení fyziologického roztoku.

Hlavním výsledkem práce je zjištění, že se baryum z povrchu vzorku v malém množství uvolňuje, ale přibližně po jednom týdnu se povrch stabilizuje. Dále měření vedou k hypotéze, že u vzorků připravených na TiNb podložce se působením fyziologického roztoku dostává niob na povrch vzorku. To může vysvětlovat lepší růst buněk na vzorcích s TiNb podložkou.

pátek 9:40

**Ivan Jirka¹, Marta Vandrovcová², Vítězslav Březina³, Jan Plšek¹
a Lucie Bačáková²**

Interakce lidských kostních buněk podobných osteoblastům s povrchy oceli a Si(100) pokrytými silikalitovým filmem

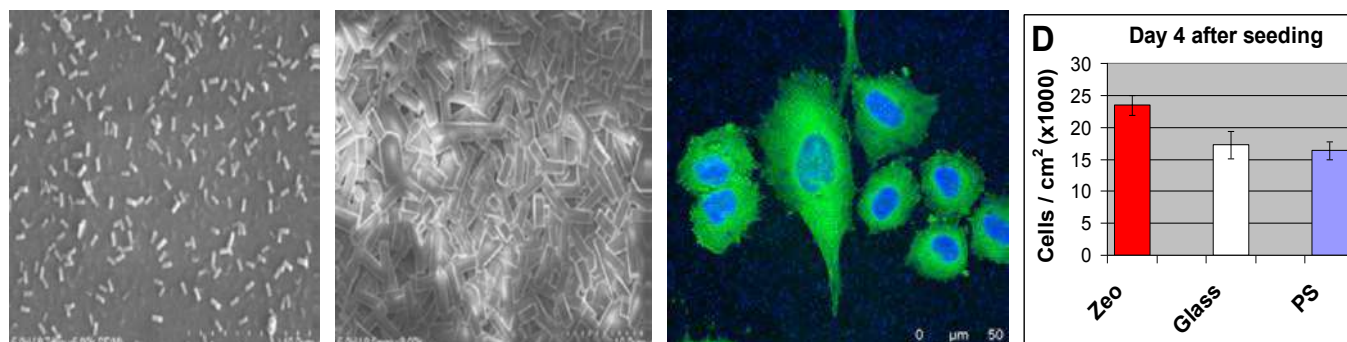
¹ Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského, AV ČR, v.v.i., Praha

² Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha

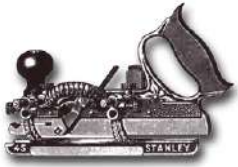
³ Stomatol, Výzkumné centrum LF MU Brno

ivan.jirka@jh-inst.cas.cz

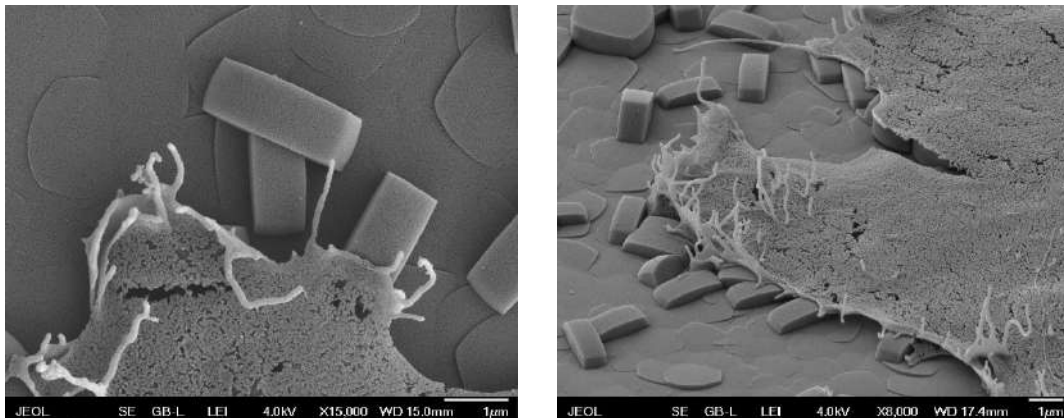
Užití kovových materiálů při výrobě implantátů je komplikováno jejich korozí, při které se do organismu uvolňují často toxické kovy. Korozi lze eliminovat vhodnou povrchovou úpravou materiálu, která může v principu též zvýšit i jeho bioaktivitu. V tomto příspěvku shrnujeme naše současné výsledky *in vitro* studia interakce lidských osteoblastů **MG-63** a **Saos-2** s definovanými antikorozivními silikalitovými filmy na povrchu oceli AISI-316L a na povrchu křemíku Si(100). K charakterisaci vzorků jsme použili fotoelektronovou spektroskopii (**XPS**), skenovací elektronovou mikroskopii (**SEM**) a měření kontaktního úhlu θ . Volbou systémů silikalit/ocel a silikalit/Si(100) spolu s užitím vhodných reakčních podmínek jejich přípravy jsme získali filmy výrazně se lišící topografií, t.j. krystalografickou orientací zeolitových krystalů (**obr. 1a,b**).



Obr. 1 SEM vzorků silikalitových filmů s proměnnou topografií : **(A)** – silikalit/Si(100): kompaktní **b**-orientovaný zeolitový film s izolovanými **a** orientovanými krystaly, **(B)** silikalit/ocel: vysoce defektní film tvořený převážně **a** orientovanými krystaly. Morfologie **(C)** a počet **(D)** lidských kostních buněk linie Saos-2 na povrchu vzorku silikalit/ocel ve srovnání s počtem buněk na povrchu mikroskopického sklíčka a polystyrenové misky.



Vzorek silikalit/Si(100) obsahoval převážně **b** orientované krystaly, vzorek silikalit/ocel krystaly převážně **a** orientované. Vnější povrch filmů byl v důsledku způsobu přípravy pokryt molekulami neutrálních aminů (převážně tripropylamin). Adsorbované aminové molekuly byly z vnějšího povrchu vzorku silikalit/ocel odstraněny termicky (ohřev na 300°C a 500°C), ze vzorku silikalit/Si(100) ozonizací za laboratorní teploty. Tato změna chemického složení vnějšího povrchu silikalitových filmů vedla ke zvýšení jejich smáčivosti. U post-syntheticky nemodifikovaných vzorků byl kontaktní úhel θ vody $\sim 70^\circ$, u vzorků vyhřátých na 300°C (500°C) klesla hodnota θ na $\sim 30^\circ$ ($\sim 40^\circ$). Hodnota θ ozonizovaného vzorku byla $\sim 10^\circ$. Počet buněk (**N**) byl na silikalitových nemodifikovaných filmech vyšší než na mikroskopickém sklíčku či polystyrénové misce (**obr. 1D**). K dalšímu zvýšení **N** došlo v důsledku zvýšené smáčivosti vzorků po eliminaci neutrálních aminů z jejich vnějšího povrchu. Interakce osteoblastům podobných buněk je dále ovlivněna povrchovou topografií silikalitového filmu. Buňky interagují přímo s **a** orientovanými zeolitovými krystaly (**obr. 2**). Získané výsledky potvrzují, že bioaktivitu silikalitového filmu lze zvýšit volbou jeho synthesesních podmínek a post-synthetickou modifikací.



Obr. 2 SEM vzorku silikalit/Si(100) s lidskou kostní buňkou MG-63.

Podporováno Grantovou agenturou České republiky (grant č. 16-026815).

pátek 10:00

**Martina Doubková¹, Lucie Bačáková¹, Martin Pařízek¹, Roman Gabor²
a Jaroslav Marvan³**

**Adheze, růst a osteogenní diferenciacce buněk na kovových materiálech
pro potenciální kostní implantáty**

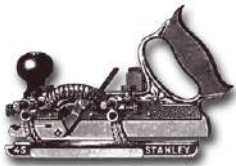
¹ Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha

² Laboratoře a zkušebny VÚHŽ a.s., Laboratoř chemická a radioizotopová – chemické analýzy, Dobrá

³ Medin a.s., Nové Město na Moravě

martina.doubkova@fgu.cas.cz

Kovové materiály, především titan (Ti) a jeho slitiny (Ti6Al4V, Ti6Al7Nb), často ošetřené různými povrchovými modifikacemi, mají dnes v biomedicíně široké využití – od dočasných či trvalých implantátů až k systémům pro řízený transport léčiv do organismu. Díky



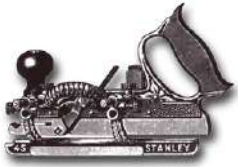
vysoké biokompatibilitě, svým dobrým fyzikálním a mechanickým vlastnostem jsou vhodné pro použití v tvrdých tkáních, a tedy velmi rozšířené především v oblastech ortopedie a stomatologie. Tento příspěvek shrnuje výsledky pokusů sledujících interakci lidských osteoblastů linie SAOS-2 a lidských kmenových buněk kostní dřeně (MSC) se vzorky medicínsky nejčastěji užívané slitiny Ti6Al4V, povrchově upravenými pro zlepšení osteointegrace anodickou oxidací. Vzorky byly testovány ke zjištění jejich vhodnosti pro použití k výrobě trvalých implantátů do kostní tkáně. Byla hodnocena míra iničiální adheze a plochy rozprostření buněk (po jednodenní kultivaci), jejich morfologie a populační hustota (po jednodenní, čtyřdenní a sedmidenní kultivaci), stupeň mineralizace a exprese vybraných markerů osteogeneze, jako je kolagen I nebo osteokalcin (po následné kultivaci ve standardním mediu a mediu s přídatkem osteogenních faktorů). Tyto poznatky byly korelovány s fyzikálními a chemickými vlastnostmi povrchu vzorků, jako je topografie, drsnost, smáčivost a chemické složení povrchových vrstev.

Celkem bylo použito 9 druhů kovových vzorků ve formě disků (průměr 14 mm, tloušťka 2 mm) ve 3 pokusech. Vzorky v prvním pokusu (s5.1, s6.1, s7) byly anodizovány v elektrolytech obsahujících stabilní množství KOH s různou koncentrací Na₂SiO₃. Vzorky druhého pokusu (s5.2, s6.2, s12, s15, s5.2+FAS) prošly anodizací v elektrolytech obsahujících různé koncentrace a kombinace Na₂SiO₃, Na₂CO₃, EDTA a NaOH. Vzorek z pokusu třetího (s2) byl komerčně vyráběný materiál od firmy DOT GmbH, již anodickou oxidací modifikovaný z výroby. Jako referenční materiály pro porovnání sledovaného chování buněk byly vždy použity povrchově nemodifikované kontrolní vzorky slitiny Ti6Al4V (sC), standardní kultivační polystyrenové jamky (PS) a mikroskopická krycí sklíčka.

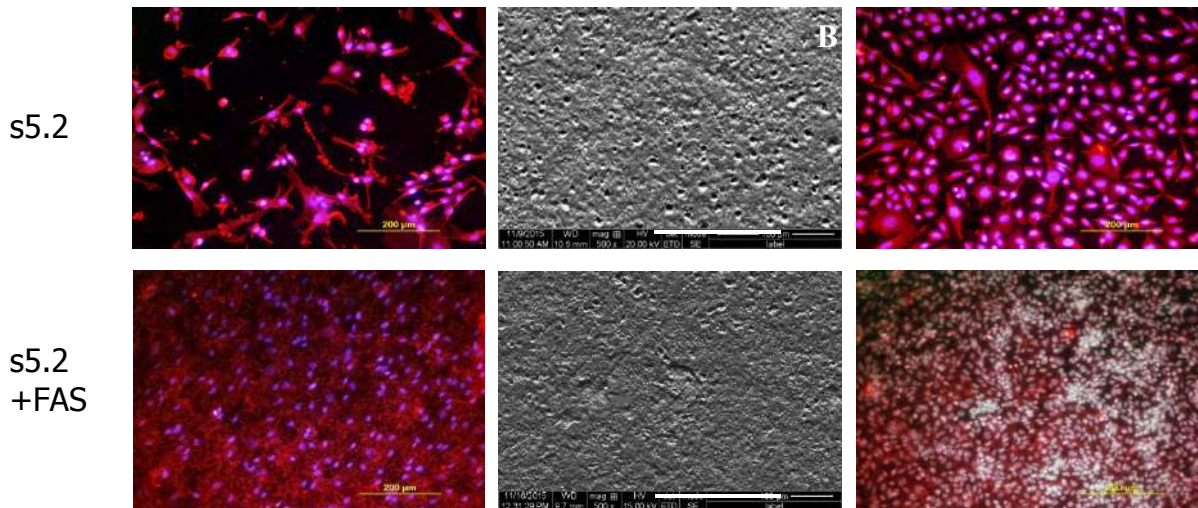
Anodická oxidace vedla na všech vzorcích k vytvoření povrchové vrstvy TiO₂, převážně ve formě anatasu, o různé homogenitě a drsnosti. Buňky byly kultivovány ve standardních kultivačních mediích, vizualizovány fluorescenčními barvivy Texas Red C₂-maleimid (20 ng/ml) a Hoechst # 33258 (5 µg/ml) a prohlíženy ve fluorescenčním mikroskopu Olympus IX 51 (vybaveném digitální kamerou DP 70). Osteogenní diferenciaci buněk byla navíc sledována také na buňkách kultivovaných v mediu s přídatkem osteogenních faktorů – konkrétně kyseliny askorbové (50 µg/ml), β-glycerolfosfátu (10 mM), L-glutaminu (2 mM), dihydroxyvitaminu D₃ (10⁻⁶ M) a dexamethasonu (10⁻⁸ M) – pomocí imunofluorescenčního barvení kolagenu typu I a osteokalcinu, tj. časného a pozdního markeru osteogeneze, produkovaného buňkami, společně s vizualizací jader buněk barvivem Hoechst # 33258. Intenzita fluorescence byla vyhodnocena programem Fluorescent Image Analysis Software (ALICE, verze 1.0) a normalizována na počet jader na snímek zorného pole, přičemž byly odečteny intenzity fluorescence naměřené u buněk na kontrolních vzorcích (PS, sklo) bez přidání primárních protilátek.

Ve všech pokusech bylo možné pozorovat relativně vyšší proliferaci buněk i produkci kolagenu I na materiálech, jejichž průměrná aritmetická odchylka profilu povrchu (Ra) po anodizaci byla nižší než 1,0 µm (vzorek s5.1 z prvního pokusu: Ra[s5.1] = 0,89 µm; všechny vzorky druhého pokusu: Ra[vše.2] náleží intervalu (0,19;0,21) µm). Je známo, že nižší úroveň drsnosti a tedy větší homogenita povrchu přispívá lepšímu uchycení a životaschopnosti buněk.

V rámci samostatných pokusů se jako velmi nadějně ukázalo pokrytí anodizovaných vzorků tridecafluorooctyltriethoxysilanem (vzorek s5.2+FAS), který významně podpořil růst buněk ve srovnání s ostatními úpravami, což naznačuje větší osteointegrační potenciál a vhodnost použití v trvalých implantátech. Při hodnocení produkce kolagenu I však takto upravené vzorky nevykazovaly vyšší hodnoty než ostatní vzorky. Důvody rychlejší proliferace buněk na vzorcích s úpravou FAS je proto vhodné dále zkoumat. Významnou roli zřejmě hrála příliš vysoká smáčivost anodizovaných vzorků nepokrytých FAS, a relativně vysoká polární složka jejich povrchové



energie. Na vzorcích s uvedenými parametry mohou být proteiny zprostředkující adhezi buněk, jako je vitronektin a fibronektin ze séra kultivačního média, adsorbovány slabými silami a nestabilně, což snižuje rozprostření a retenci buněk na povrchu materiálu. Nicméně by tento typ vzorků mohl být vhodný pro krátkodobé implantáty do kostní tkáně, kde je pevná integrace do kosti nežádoucí.



Obr. 1 Rozdílná míra populační hustoty a rozprostření buněk MSC (A) a SAOS-2 (B) sedmý den kultivace na vzorku s5.2 a tomtéž vzorku s úpravou FAS (fluorescenční mikroskop Olympus IX 51, měřítko: 200 µm). Uprostřed snímek topografie anodizovaného povrchu vzorků s5.2 a s5.2+FAS (SEM, měřítko: 100 µm). Materiál vzorků: Ti6AL4V, anodizováno v elektrolytu obsahujícím Na_2SiO_3 a Na_2CO_3 , vzorek s5.2+FAS navíc vystaven roztoku tridecafluorooctyltriethoxysilanu a ethanolu; $Ra[s5.2] = 0,21 \pm 0,03$, $Ra[s5.2+FAS] = 0,21 \pm 0,03$. Buňky barveny Texas Red C₂-maleimidem (červená fluorescence, buněčná membrána a cytoplasma) a Hoechst # 33258 (modrá fluorescence, buněčná jádra).

Studie byla podporována Technologickou agenturou České Republiky (TAČR, grant č. TA04011214)

pátek 10:20 (S)

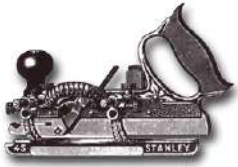
Jan Krčil a Vladimír Mára

Adheze, růst a osteogenní diferenciaci buněk na kovových materiálech pro potenciální kostní implantáty

Ústav materiálového inženýrství, Fakulta strojní, České vysoké učení technické v Praze

jan.krčil@fs.cvut.cz

Tato práce se zabývá problematikou tvorby a charakterizací tenkých oxidických vrstev vznikajících na povrchu povlaku titanu a titanových slitin. Tyto oxidické vrstvy vynikají souborem vlastností. Jedná se zejména o kombinaci korozní odolnosti a biokompatibility. Díky tomuto jsou, tyto vrstvy (a materiály na kterých se oxidické vrstvy nacházejí), velmi vhodné pro užití v lékařství. Ačkoliv oxidické vrstvy vznikají samovolně, je z důvodu případných praktických využití proces



vytváření a růstu urychlit. K přípravě, nanášení, vytváření a růstu oxidických vrstev na slitinách titanu se využívá různých metod. Nejběžněji je možné se setkat s oxidací: anodickou, termickou, jejich kombinacemi apod.

V rámci této práce byla oxidická vrstva připravena pomocí metody termické oxidace na několika různých podkladech. Byly použity celkem čtyři typy základního materiálu: Vzorky z CP Ti grade 2, vzorky z CP Ti grade 2 s povlakem z Ti39Nb o tloušťce cca 2,5 μm , vzorky z CP Ti grade 2 s povlakem z Ti39Nb o tloušťce cca 5 μm a vzorky z z Ti39Nb. Termická oxidace probíhala za stejných podmínek pro všechny vzorky (600 $^{\circ}\text{C}$, 8 hodin doby výdrže na teplotě). Po oxidaci byly pozorovány rozdíly mezi jednotlivými vzorky: změna zbarvení povrchu, změny drsností povrchu, byla měřena tloušťka oxidické vrstvy a byla prováděna analýza na SEM (změny na povrchu, jeho chemické složení a přesnější určování tloušťky vrstvy).

Cíly práce, která je jen prvním předstupněm k širšímu pozorování, bylo zjistit jaká je role základního materiálu a jak je jím ovlivněna vznikající oxidická vrstva. Zejména jaký je vliv tenkého povlaku z Ti39Nb. V dalších fázích práce se přistoupí k jemnějšímu rozdělení vstupních podmínek a dojde k porovnání s dalšími metodami přípravy oxidické vrstvy.

pátek 11:00

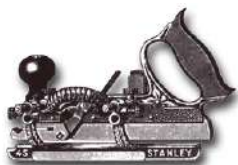
Tomáš Kolegar¹, Martin Matoušek¹, Monika Vilémová² a Vladimír Starý¹ **Adheze biokompatibilního TiNb povlaku**

¹ Ústav materiálového inženýrství, Fakulta strojní, České vysoké učení technické v Praze

² Ústav fyziky plazmatu, Akademie věd ČR, v.v.i., Praha

tomas.kolegar@fs.cvut.cz

Pro přípravu povlaku vysoké kvality, musí být dosaženo velmi dobré přilnavosti k základnímu materiálu. Tyto vysoké požadavky jsou o to vyšší u materiálů bez chemické vazby mezi základním a nanášeným materiálem. Příspěvek se zabývá adhezí biokompatibilního povlaku TiNb na několika různých základních materiálech. Použité základní materiály jsou čistý titan (CP grade 2), titanová slitina Ti6Al4V, Ti39Nb a nerezová ocel AISI 316L. Na vzorky ve formě malých kotoučků byla vytvořena tenká vrstva TiNb povlakovací metodou PVD (magnetronové naprašování). K této vrstvě byl přilepen vysokopevnostním lepidlem E1100S pomocný trn. Pomocný trn s nalepeným vzorkem byl upnut do speciálního přípravku a celá soustava byla podrobena odtrhávací zkoušce (Pull-off test). Hlavními měřenými parametry je morfologie a velikost odtrženého povrchu a síla potřebná k jejímu odtržení. Výsledkem byla měřena závislost drsnosti povrchu základního vzorku na výsledné síle potřebné pro odtržení povlaku. Případné dostačující zvládnutí adheze a způsobů nanášení povlaků na různé materiály bude mít pozitivní dopad na využití pro bioaplikace implantátů tvrdých tkání jako například jsou různé kloubní náhrady a protézy.



pátek 11:20 (S)

Vojtěch Hybášek, Jaroslav Fojt a Luděk Joska

Impedanční odezva nanostrukturovaných povrchů slitin titanu pro biomateriálovou oblast

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta chemické technologie, Ústav kovových materiálů a korozního inženýrství, Praha

hybasekv@vscht.cz

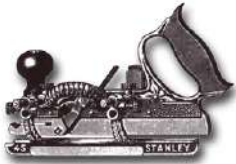
Významným faktorem ovlivňujícím chování implantátů v lidském organismu je stav povrchu. Vhodnými modifikacemi lze podpořit spojení mezi kostí a implantátem a zkrátit dobu srůstu. Jednou z možností je vytvoření nanotubulárního oxidu na povrchu metodou elektrochemické oxidace. Tato modifikace značným způsobem navyšuje reálně exponovaný povrch a může sloužit k podpoře osseointegrace, působit antibakteriálně, či sloužit třeba jako morfologicky vhodný substrát pro kotvení dalších stimulačních látek. U nejpoužívanější slitiny v implantologii, Ti-6Al-4V, je již pozitivní vliv potvrzen *in vivo* testy. Pozornost v oblasti biomateriálů se v dnešní době taktéž upírá k β -slitinám titanu. Tyto slitiny legované vhodnými netoxickými prvky, např. Ta, Nb, Zr, Mo, Sn vykazují vyšší pevnost, lepší tvářitelnost za studena, zvýšenou interakci s tkání, vyšší korozní odolnost a předně modul pružnosti podobnější kosti.

První část této práce byla příprava vrstvy nanotubulárního oxidu na zástupcích všech typů slitin, čistého titanu, α + β -slitiny TiAlV a β -slitiny TiNbTaZrO a následný popis chování čistého titanu a jeho slitin Ti-6Al-4V a Ti-25Nb-13Ta-7Zr-0,6O s modifikovaným povrchem metodou elektrochemické impedanční spektroskopie. Pro detailnější porovnání je takto upravený povrch nejprve srovnáván i s další modifikací a to s anodickou oxidací, která vede k nárůstu tloušťky oxidické vrstvy. Jak ukazují měření provedená v roztoku tetraboritanu sodného, během této modifikace nedochází pouze k nárůstu oxidu, ale i k tvorbě pórů v této vrstvě. Srovnání s nanotubulárním oxidem ovšem ukazuje větší odpor pórů, proto jsou tyto pravděpodobně výrazně menší než cíleně tvořené nanotrubicе v druhé modifikaci.

Měření impedančních spekter v borátovém pufru přímo na nanotubulárním oxidu poukázalo na zásadní časový vývoj systému borátový pufr - nanostrukturovaný materiál, a proto vede k závěru, že tento pufrovaný roztok, který je považován za nejjednodušší expoziční prostředí, je pro měření nanostrukturovaných materiálů nevhodný. Dále bylo proto přistoupeno k měření ve fyziologickém roztoku. Z náhradních schémat použitých pro modelace naměřených impedančních spekter ve fyziologickém roztoku u nanostrukturovaných materiálů vyplynul jednoznačně zásadní vliv vnitřního rozhraní mezi kovem a oxidem tvořícím nanostrukturu. Taktéž byl také stanoven vliv mírně odlišné morfologie na dvofázové slitině TiAlV, u které dochází při nanostrukturování k odleptání β -fáze z povrchu materiálu.

V rámci práce byla také vyvinuta metoda tvorby nanostruktury s různými rozměrovými parametry na vývojové β -slitině TiNbTaZrO a bylo též popsáno její elektrochemické chování metodou impedanční spektroskopie včetně zhodnocení rozdílů chování vůči ostatním nanostrukturovaným slitinám. Výsledky této práce budou sloužit jako základ pro výzkum komplexnějších systémů zahrnujících interakci nanostrukturovaných implantátů se simulovanou tělní tekutinou, nebo minimálními esenciálními médii či přímo s prostředím obsahujícím buňky.

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20-SVV/2016).



pátek 11:40

**Jan Mikšovský^{1,2}, M. Jelínek^{1,2}, P. Písařík^{1,2}, T. Kocourek^{1,2}, J. Remsa^{2,3}
a K. Jurek²**

Studie povrchových vlastností vrstev DLC/Ti připravených hybridní laserovou technologií

¹ Katedra přírodovědných oborů, Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT v Praze

² Fyzikální ústav, AV ČR, v.v.i., Praha

³ Katedra fyzikální elektroniky, Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská, ČVUT v Praze

jan.miksovsky@fbmi.cvut.cz

Materiály z diamantu podobného uhlíku a speciálně tenké vrstvy tohoto materiálu, jsou svými vlastnostmi zajímavé pro různé obory. Pro jejich možné využití v medicíně a příbuzných oborech, jsou studovány jejich biokompatibilní vlastnosti a mechanické vlastnosti. Naše studie se zaměřuje na změny mechanických, biologických a korozních vlastností v závislosti na dopaci těchto vrstev různými koncentracemi titanu. Pro vytvoření vrstev DLC/Ti bylo použito hybridní technologie založené na kombinaci pulsní laserové depozice (excimerový laser, KrF, $\lambda = 248$ nm) s magnetronovým naprašováním. Hustota energie laseru byla 8 J/cm^2 . Výkon magnetronu se pohyboval od 40 W do 300 W. Studovali jsme koncentrace (0; 1; 3; 5; 10 a 25) at.% Ti v DLC. Nosným materiálem byly podložky z Si(100) a slitiny Ti6Al4V. Na připravených vrstvách byly provedeny testy složení pomocí WDX, morfologie pomocí mechanické profilometrie a mikroskopie atomárních sil. Dále byly provedeny testy smáčivosti, opotřebení a tribologické testy. Speciální zaměření bylo na korozní chování v závislosti na zvyšujícím se obsahu titanu ve vrstvách.

pátek 12:00

**Petr Písařík^{1,2,*}, M. Jelínek^{1,2}, J. Remsa^{1,2}, J. Mikšovský^{1,2},
T. Kocourek^{1,2}, J. Zemek², K. Jurek², J. Lukeš³, J. Šepitka³, Z. Tolde⁴,
L. Bačáková⁵, M. Vandrovcová⁵ a E. Filová⁵**

Dopace diamantu podobného uhlíku pro použití v medicíně

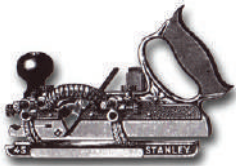
¹ Katedra přírodovědných oborů, Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT v Praze

² Fyzikální ústav, AV ČR, v.v.i., Praha

³ Katedra fyzikální elektroniky, Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská, ČVUT v Praze

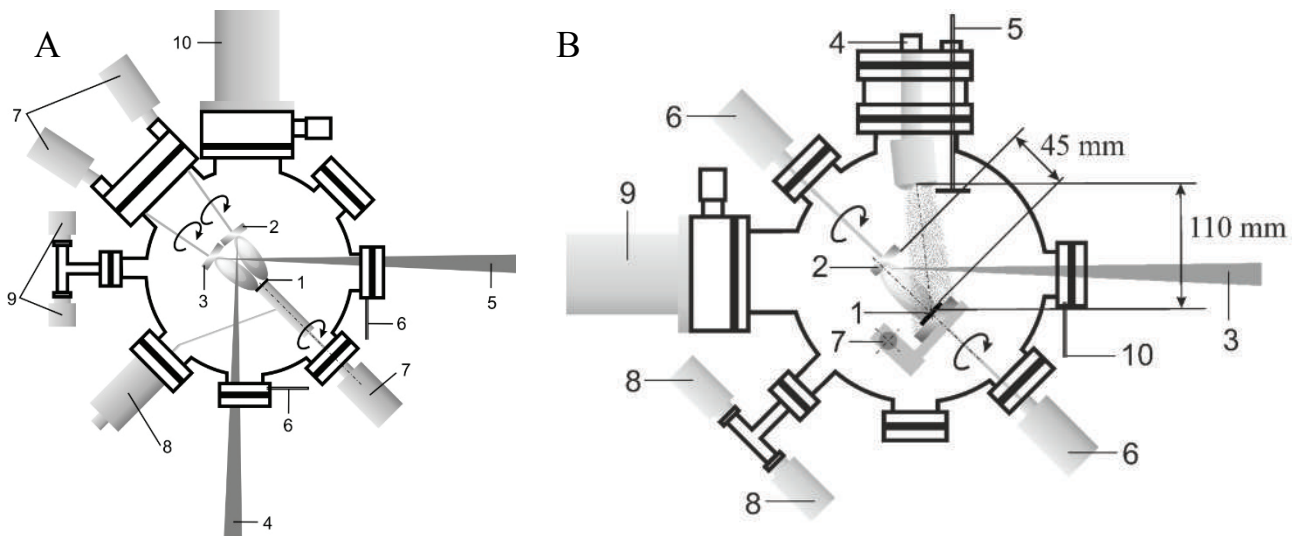
petr.pisarik@fbmi.cvut.cz

V současné době existují materiály, které mají vynikající vlastnosti pro použití v medicíně, jako je například diamantu podobný uhlík (DLC). DLC je metastabilní forma amorfního uhlíku obsahujícího spojení atomů uhlíku za pomoci sp^2 a sp^3 hybridizovaných orbitalů ("vazeb"). DLC vrstvy jsou polovodiče s vysokou mechanickou tvrdostí, chemickou inertností, nízkým koeficientem tření, vysokou tepelnou vodivostí, a mají dobré elektrické a optické vlastnosti, dobrou biokompatibilitu a nejsou cytotoxické.



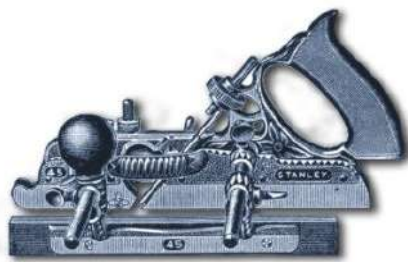
Všechny vlastnosti filmů nejsou vždy úplně ideální, a proto je nutné upravit vrstvu dle dané aplikace. Jedním z příkladů, jak upravit vlastnosti tenkých vrstev, jsou dopocy. Začleněním dopantu do vrstvy může vést k větší multifunkčnosti a ke zlepšení vlastností. Dopanty ve vrstvě umožňují úpravu kontaktního úhlu a povrchové energii, snížení vnitřního prnutí a tím i zvýšení adheze k podkladu, nebo vedou ke snížení drsnosti povrchu, koeficientu tření nebo opotřebení. Co je ale nejdůležitější, že zlepšují biologickou kompatibilitu a hemokompatibilitu nebo zvyšují antibakteriální účinnost.

Na závěr budou představeny výsledky DLC vrstev dopovaných chromem, titanem a stříbrem, které byly připraveny za pomoci hybridních systémů - duální pulzní laserovou depozicí (obr. 1A) a pulzní laserovou depozicí v kombinaci s magnetronovým naprašováním (obr. 1B). U vrstev byly hodnoceny parametry jako je poměr sp^3 a sp^2 vazeb, topologie povrchu, mechanické, optické, biologické a antibakteriální vlastnosti. Vše s cílem upravit DLC vrstvy pro jejich potenciální využití v medicíně.



Obr. 1 Hybridní systémy pro přípravu dopovaných vrstev. A) Schéma duálního PLD depozičního systému: 1 - Substrát, 2 - Grafitický terč, 3 - Chromový nebo stříbrný terč, 4 - Laserový svazek 1, 5 - Laserový svazek 2, 6 - Průtok plynu (Ar), 7 - Rotace, 8 - RF elektroda, 9 - Vakuové měrky, 10 - Turbomolekulární pumpa, B) Schéma depozičního systému PLD s magnetronovým naprašováním: 1 - Substrát, 2 - Grafitický terč, 3 - Laserový svazek, 4 - Magnetron, 5 - Záslepka magnetronu, 6 - Rotace, 7 - RF elektroda, 8 - Vakuová měrky, 9 - Turbomolekulární pumpa, 10 - Průtok plynu (Ar)

Tato práce byla podpořena Grantovou agenturou České republiky - GA15-05864S a grantem Studentské grantové soutěže ČVUT č. SGS16/111/OHK4/1T/17.



Vše pro zkoušení materiálů



Přesné a rozbrušovací pily



Metalografické brusky



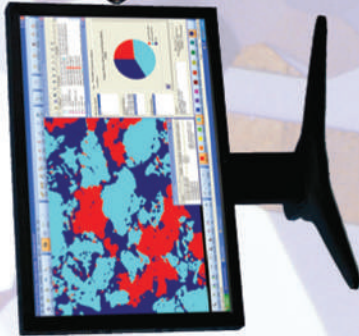
Metalografické leštičky



Lisy a zařízení
pro zapuzdření
vzorků



Tvrdoměry



Optické mikroskopy a programy
pro obrazovou analýzu



Vše pro vybavení laboratoří

● Rozvod médií

● Digestoře

● Laboratorní stoly

● Bezpečnostní skříně

● Havarijní sprchy



Síťovka je...

- chytrý pomocník do kapsy
- reklamní superpředmět
- trhák, pro váš obchod

www.ceskasitovka.cz

Poznámky:



Seminář Biomateriály a jejich povrchy IX. pořádají



Společnost pro kompozitní a uhlíkové materiály, z.s.



Ústav materiálového inženýrství, FS ČVUT v Praze



Ústav struktury a mechaniky hornin, AV ČR, v.v.i.

SEM JAN.
JAN KRČIL

AHOJ, JÁ JSEM EDUARD
EDUARD BRYND

AHOJ, JÁ JSEM IVETA.
IVETA ZÍMOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM LUCIE.
LUCIE HIMMLOVÁ

EM PETR.
PETR VYDRA

AHOJ, JÁ JSEM ŠTEFAN.
ŠTEFAN JUHÁS

AHOJ, JÁ JSEM MARTIN.
MARTIN BARTOŠ

AHOJ, JÁ JSEM KAREL.
KAREL BALÍK

EM ZDEŇKA.
ZDEŇKA KOLSKÁ

AHOJ, JÁ JSEM VIĀA.
VÍTĚZSLAV BŘEZINA

AHOJ, JÁ JSEM MARTINA.
MARTINA VERDÁNOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM IVAN.
IVAN JANDA

SEM PAVEL.
PAVEL MICHAL

AHOJ, JÁ JSEM TEREZA.
TEREZA BĚLINOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM TONDA.
ANTONÍN BROŽ

AHOJ, JÁ JSEM PAVLA.
PAVLA SAUEROVÁ

M TOMÁŠ.
TOMÁŠ KOLEGAR

AHOJ, JÁ JSEM PAVEL.
PAVEL ŠIMEK

AHOJ, JÁ JSEM EVA.
EVA FILOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM KAMILA.
KAMILA MORIOVÁ

EM VLASTA.
VLASTA VOŇKOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM ZDENĚK.
ZDENĚK TOLDE

AHOJ, JÁ JSEM EVA.
EVA FILOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM RADMILA.
RADMILA KUDLÁČKOVÁ

MARIEL AZALIA.
RIEL AZALIA CARRANZA TREJO

AHOJ, JÁ JSEM JANA.
JANA HORÁKOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM PETR.
PETR PÍSAŘÍK

AHOJ, JÁ JSEM IVAN.
IVAN JIRKA

JSEM PETR.
PETR VLČÁK

AHOJ, JÁ JSEM ELENA.
ELENA FILOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM JAROSLAV.
JAROSLAV FOJT

AHOJ, JÁ JSEM LADISLAV.
LADISLAV CVRČEK

M VLADIMÍR.
VLADIMÍR HAVRNEK

AHOJ, JÁ JSEM JAKUB.
JAKUB KRONEK

AHOJ, JÁ JSEM LUCIE.
LUCIE BAČÁKOVÁ

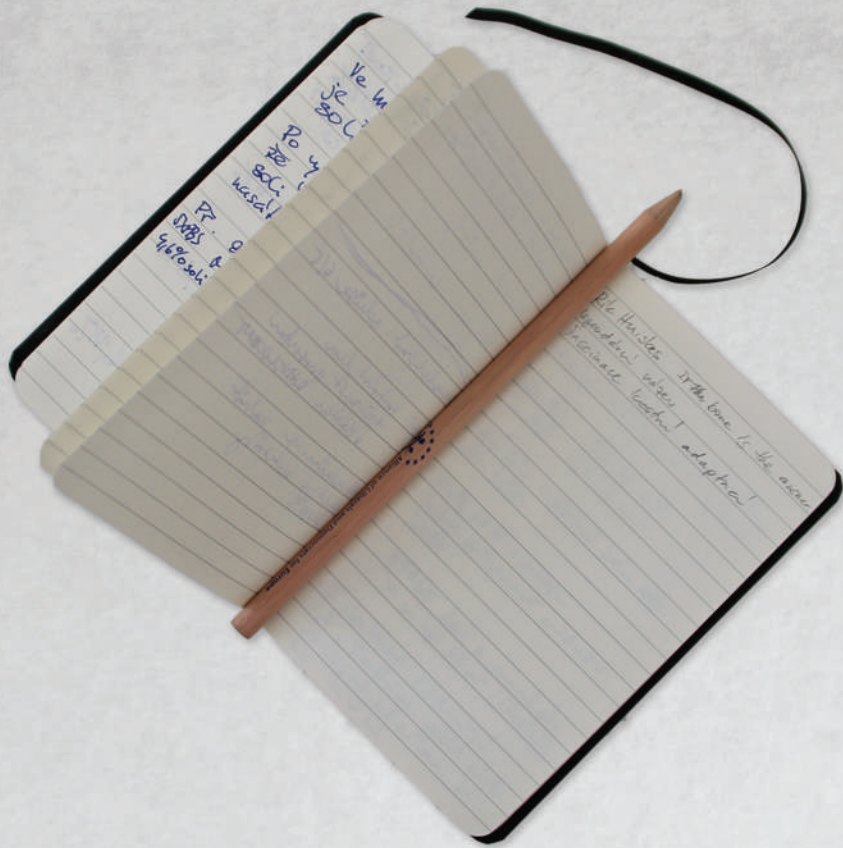
AHOJ, JÁ JSEM MARIE.
MARIE HUBÁLEK KALBAČOVÁ

M LUCIE.
LUCIE VIŠTEJNOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM DAVID.
DAVID CHVÁTIL

AHOJ, JÁ JSEM ANIČKA.
ANNA ZAVAĐÁKOVÁ

AHOJ, JÁ JSEM FRANTIŠEK.
FRANTIŠEK DENK



Herbertov
BIO SINCE 2008

