

BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY V.

Herbertov, Horní Mlýn, 12.-15.9.2012



12.9.2012

STŘEDA

středa 15:00
L. Himlová, D. Kubies, V. Pešáková a kol.
Biologická úprava povrchu implantačních materiálů

středa 16:00
V. Březina, D. Stránská, P. Tláskalová, Š. Beranová
Biokompatibilita nanovlákn

středa 16:20
V. Březina, D. Stránská, P. Tláskalová, Š. Beranová
Kolonizace povrchů buňkami

středa 16:40
Š. Potocký, T. Ižák, O. Babchenko a kol.
Transformation of polymer composite nanofibers to diamond

středa 17:00
J. Fojt, L. Joska
Korozní chování porézní beta slitiny titanu

středa 17:20
I. Jirka, M. Vandrovcová, O. Frank a kol.
On the role of Nb-related sites of an oxidized β -TiNb alloy surface in its interaction with osteoblast-like MG-63 cells

středa 19:00
I. Janda
Proč Cimrman nedokončil výzkum biomateriálů pro cévní transplantáty



13.9.2012

ČTVRTEK

čtvrtek 9:00
L. Bačáková
Bioarteficiální tkáňové náhrady - interakce jejich materiálové a buněčné složky

čtvrtek 9:40
D. Soukup, M. Bačáková, W. Pabst a kol.
Bioaktivní hydroxyapatitová keramika s hierarchickou mikrostrukturou pro inženýrství kostní tkáně

čtvrtek 10:00
A. Brož, M. Verdánová, E. Ukraintsev a kol.
Proces adheze osteoblastů (SAOS-2) na nanokrystalický diamant s rozdílnou povrchovou terminací

čtvrtek 10:20
M. Bačáková, M. Varga, J. Zemek a kol.
Plasmovaná polylaktidová nanovlákn jako nosiče kožních buněk

čtvrtek 10:40
J. Lišková, O. Babchenko, M. Varga a kol.
Adheze a osteogenní diferenciací buněk na vrstvách nanokrystalického diamantu s různou funkcionalizací

čtvrtek 11:00
K. Balázi, J.-Y. Choi, S.-G. Kim a kol.
Development of bioactive nanocomposite hydroxyapatite / TiC thin films

čtvrtek 11:30
E. Brynda, T. Riedel, O. Kaplan, M. Houska
Bioarteficiální cévní protězy a implantáty do krevního oběhu

čtvrtek 14:00
M. Šupová, T. Suchý, Z. Sucharda a kol.
Příprava a testování nanokompozitu jako náhrady kostní tkáně

čtvrtek 14:20
E. Filová, J.N.L.M. der Kinderen, M. Šupová a kol.
Kostné bunky kultivované in vitro s keramickými nanočásticami

čtvrtek 14:40
L. Staněk
Možnosti odvápnění kostního materiálu pro následnou morfologickou, imunohistochemickou a molekulárně-biologickou analýzu

čtvrtek 15:00
M. Pokorný, J. Řebíček, J. Růžičková a kol.
Technologické možnosti elektrostatického zvlákňování ve spol. Contipro

čtvrtek 15:20
J. Růžičková, M. Pokorný, J. Řebíček a kol.
Technologické možnosti elektrostatického zvlákňování ve spol. Contipro - druhá část

čtvrtek 15:40
A. Lerach, M. Kubík, F. Denk
Biomateriály pro výrobu zdravotnických prostředků

čtvrtek 16:20
T. Suchý
Statisticky významně podle Darrella Huffa a další pitomé statistické poznámky

čtvrtek 16:40
O. Benada
Elektronová mikroskopie a analýza biologických vzorků

čtvrtek 17:00
I. Rozkošný
The new confocal system for the surface testings of the light reflecting surfaces



14.9.2012

PÁTEK

pátek 9:00
P. Vaněk, J. Petzelt
Biokompatibilita feroelektrických materiálů

pátek 9:30
Z. Kolská, V. Švorčík
Elektrokinetický potenciál na povrchu pevných látek

pátek 10:00
Z. Kolská, S. Trostová, A. Řezníčková a kol.
Elektrokinetický potenciál a další vlastnosti nanostrukturovaných polymerů

pátek 10:20
V. Švorčík, O. Lyutakov, P. Slepíčka, J. Siegel, Z. Kolská
Příprava a charakterizace 2D nano-struktur

pátek 10:50
L. Joska, J. Fojt, L. Cvrček
Legované DLC vrstvy v medicínských aplikacích

pátek 11:20
V. Jech, T. Horažďovský, Z. Tolde a kol.
Zvýšení povrchové tvrdosti a zlepšení tribologických vlastností titanové slitiny Ti6Al4V využitím iontových a elektronových svazků

pátek 11:40
P. Vlčák, Z. Weiss, S. Daniš a kol.
Vlastnosti vrstev na bázi uhlíku vytvořených metodou IBAD na slitině Ti6Al4V



15.9.2012

SOBOTA

sobota 9:00
D. Fink, J. Vacík
Ion Track Biosensors

sobota 9:30
Š. Kučková, L. Coufalová, M. Crhová a kol.
Hmotnostní spektrometrie a identifikace proteinů v nerozpustných maticích

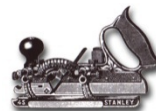
sobota 10:00
T. Plecenik, M. Gregor, M. Truchly a kol.
Modification of surface potential and protein adsorption on hydroxyapatite by focused electron beam

sobota 10:30
P. Jurkiewicz, P. Janda, M. Bouša a kol.
Diffusion of supported phospholipid bilayer membranes on the surface of b-oriented MFI film with controlled surface roughness

sobota 10:50
V. Starý, I. Kunka, M. Vandrovcová a kol.
Poznámka k drsnosti povrchu biomateriálů a jejímu vlivu na biokompatibilitu

sobota 11:20
J. Krčil, J. Sobotová
Vytváření a charakteristika oxidových vrstev na titanu

sobota 11:40
P. Kozák, Z. Tolde
Nanostructured oxide layer of titanium and titanium alloys



středa 15:00

**Lucie Himmllová¹, Dana Kubies², Vlasta Pešáková³, Margita Douděrová⁴
a Tomáš Goldmann⁴****Biologická úprava povrchu implantačních materiálů**¹ Výzkumný ústav stomatologický 1. LF UK a VFN Praha, Karlovo nám. 32, 121 11 Praha 2² Ústav makromolekulární chemie AV ČR, Heyrovského nám., 162 06 Praha 6³ Revmatologický ústav Praha, Na Slupi 4, 128 50 Praha 2⁴ ČVUT v Praze, Technická 4, 166 67 Praha 6himmllova@seznam.cz

Místem prvního kontaktu mezi implantovaným materiálem a živou tkání příjemce je krev. Povrch implantátu je po kontaktu s krví modifikován aktivitou krevních buněk a mechanismem výměny iontů i proteinů. Při interakcích mezi povrchem implantačního materiálu a buňkami v in vitro podmínkách předchází adheze proteinů vždy adhezi buněčné. Stejně tak i interakce povrchu materiálu s krví je regulována fyzikálně-chemickými vlastnostmi implantátu. Proto je viabilita buněk v nejbližším okolí implantátu v přítomnosti různých krevních komponent důležitým krokem k porozumění procesu vhojování. Pro vysvětlení základního celulárního a molekulárního mechanismu integrace implantátů byl použit modelový in vitro systém, ve kterém bylo sledováno chování buněčné kultury vložené přímo na materiálový povrch, pokrytý některou z krevních komponent. Tento model implantátu s biologickou úpravou povrchu názorněji imituje situaci in vivo a lépe umožní odpovědět na otázku, které krevní složky stimulují osteoinduktivní procesy, případně evokují zánětlivý efekt při vhojování implantátů do kosti.

Studie sleduje efekt fyzikálně-chemických vlastností povrchu (drsnost, smáčivost ve vodě (kontaktní úhel) a volná povrchová energie (SFE)) necementovaných implantačních materiálů (TiPS, leptaný Ti, Ti-HA, ZrO₂ keramika, uhlíkový kompozit) a vliv jejich biologického povlaku jednou z krevních komponent (sérum, aktivovaná plasma a plasma bohatá na destičky (PRP)) na časnou odpověď lidských osteoblastů v podmínkách in vitro. Proliferační a syntetická aktivita (BAP, RANKL, IL-8) osteoblastů byla měřena pro implantační materiály s klinicky běžnou povrchovou úpravou a pro každou z biologických úprav. Zároveň byla sledována i adheze a aktivace krevních destiček na nepotažených površích hodnocených implantačních materiálů.

Téměř všechny materiály vykazovaly relativně vysokou proliferační aktivitu osteoblastů díky vysoké drsnosti povrchu (Ti-PS, Ti-HA), dostatečné hydrofililitě (Ti-Etch, ZrO₂), přítomnosti funkčních skupin na povrchu (Ti-Etch) nebo osteokonduktivnímu charakteru (Ti-HA, ZrO₂). Nebylo však možné rozlišit vliv povrchové energie na proliferační aktivitu. Na druhé straně nízká proliferace osteoblastů na povrchu C/C kompozitu má pravděpodobně příčinu v téměř nulové hodnotě polární komponenty γ^p volné povrchové energie a vysokou hydrofobicitou povrchu. Biologické povlaky na povrchu implantačních materiálů zlepšují proliferaci osteoblastů u všech testovaných vzorků, avšak v různém rozsahu. Povlakování aktivovanou plasmou vedl k unifikaci povrchů se srovnatelně vysokou proliferací. Stimulační efekt séra nebo PRP nebyl tak evidentní. Při hodnocení syntetické aktivity byla zjištěna vzrůstající tendence v expresi markeru časně osteoblastické aktivity - kostní kyselý fosfatázy (BAP) a IL-8 v řadě Ti-HA → Ti-Etch → Ti-plasma-spray → ZrO₂ → C/C kompozit u všech vzorků. Stejná produkce cytokinů srovnatelná s TCPS kontrolou, ve shodě s proliferací, byla pozorována na površích potažených plasmou, avšak mimo ZrO₂ a C/C kompozitu.



středa 16:00

V. Březina, D. Stránská, P. Tláskalová, Š. Beranová

Biokompatibilita nanovlákn

Laboratoř tkáňových kultur, Jihočeská Univerzita, Zámek 136, 373 33 Nové Hradce
ELMARCO s.r.o., V Horkách 76/18, 460 07 Liberec

brezinavita@gmail.cz

Nanovlákn se stalo součástí našeho života díky českému vynálezu a výrobním kapacitám. Vyskytuje se v běžných spotřebních i výrobních předmětech, zejména jako různé filtry, tkaniny a aplikace stále přibývá. Jistě výrobci provedli mnoho pokusů, aby byla dokázána biokompatibilita to je, že se nanovlákn slučuje s biosférou a že lidem, ani zvířatům neškodí.

Nás zaujal jiný moment, snad aplikační, snad výzkumný. Nanovlákn může být totiž vhodným modelem trojrozměrných struktur. Takové struktury mohou sloužit například jako nosič, či jako jakési lešení při rekonstrukci tkání třeba z kmenových (pluripotentních) buněk.

Pokusy, které jsme uskutečnili, prokazují, že nanovlákn které jsme užili je biokompatibilní (cytotoxikabilitní). Nevvolává klastogenní efekt na lidských lymfocytech (ISO 10 993) a buňky ve vyluhu nanovláken rostou jako v kontrolách. Dalším experimentálním krokem bylo zjistit, zda zda jsou buňky ochotny růst přímo na vlákně, zda existují překážky jejich inkulace a jaká je jejich lokomoce a dělení při adhezenci přímo na vlákně.

Výsledek je dokumentován pomocí sběrného filmu. Na snímcích je vidět, že buňky adherované přímo na vlákně mají sice zvýšenou lokomoční aktivitu ve srovnání s aktivitou na rovinném substrátu, ale mají schopnost se dělit a dokonce přecházet na vedlejší vlákně. Domníváme se proto, že nanovlákn je vhodným modelem trojrozměrného substrátu a pokud bude vyrobeno jako degradabilní může se stát vhodným substrátem pro rekonstrukci tkání.

středa 16:20

V. Březina, D. Stránská, P. Tláskalová, Š. Beranová

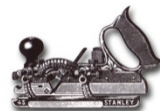
Kolonizace povrchů buňkami

Laboratoř tkáňových kultur, Jihočeská Univerzita, Zámek 136, 373 33 Nové Hradce
ELMARCO s.r.o., V Horkách 76/18, 460 07 Liberec

brezinavita@gmail.cz

Zásadní rozhodnutí o tom, zda jsou materiály biokompatibilní je přímá reakce buněk na zkoušený materiál. Má-li být materiál hodnocen jako „biomateriál“ popřípadě jako biokompatibilní musí být tato interakce zhodnocena. To pochopitelně vylučuje materiály, o nichž víme, že nesmí docházet k růstu buněk, či tkání přímo na materiálu. Zde je třeba zvolit jiný druh zkoušky, obvykle cytotoxicitu a klastogenitu ve vyluhu takového materiálu. Pro dnešní sdělení se přidržme materiálů implantačních do kostí, kdy je dobrá oseointegrace základem dobře fungujícího implantátu.

Oseointegrace je zkoušena vlastním implantačním testem na zvířatech a následnou histologií, kde se prokáže nakolik je materiál do kosti integrován. Tento test je obvykle prováděn v závěru akreditačního řízení pod kontrolou státní autority. Ta potom rozhodne o registraci příslušného materiálu. Ovšem před tím, než materiál projde nákladnějšími zkouškami je nutné, aby byly provedeny primární testy, o jejichž metodikách a výsledcích jsme na tomto fóru referovali několikrát a můžeme poznamenat, že díky pečlivým zkouškám v laboratořích tkáňových kultur se v minulé dekádě podařilo několik materiálů a jejich úprav dovést do stavu obchodní realizace. Dnes bychom rádi referovali o metodě, která podobně jako metoda z loňského roku, bude



předmětem validačních zkoušek několika laboratoří. Jde o metodu nazývanou pracovní KOLONIZACE a tak také myšlenkově chráněnou.

V principu jde o zhodnocení jaká je plocha buněčné populace (tkáně) obsazená buňkami k ploše daného substrátu. Z toho lze pak substráty (materiály) hodnotit vzájemným porovnáním. Je ovšem nutno zdůraznit, že jde o pokus s biologickými objekty a proto je vhodné hodnotit hlavně mezi variantami jednoho experimentu. Významnými metodickými omezeními jsou nutnosti monitorovat růst v mikroskopu s dopadajícím světlem a přizpůsobení se proliferačnímu potenciálu testovací buněčné linie. Z toho plyne řada metodických předpokladů, které určí onen proliferační potenciál a systém negativní a pozitivní kontroly. V zásadě platí, že je třeba, aby proběhly dvě až tři generace což znamená že očekáváme z každé buňky vznik kolonie o 6-8 buňkách. (populace se nedělí synchronně). Je-li dělení pomalejší je index kolonizace menší, je-li rychlejší, je index kolonizace větší.

středa 16:40

Š. Potocký, T. Ižák, O. Babchenko, A. Kromka, B. Rezek, P. Tesárek

Transformation of polymer composite nanofibers to diamond

Fyzikální ústav, AV ČR, Cukrovarnická 10, 162 00 Praha 6

potocky@fzu.cz

Nanocrystalline diamond structures layers were grown by microwave plasma CVD technique on Si substrates. The substrates were pretreated by non-woven composite nanofiber textile composed by poly(vinyl alcohol) matrix and ultra-dispersed diamond (UDD) nanoparticles prepared by needle-less electrospinning method.

Increasing concentration of UDD in polymer matrix lead to formation of diamond fibres due to a combined effect of seeding by UDD particles and GPa pressure difference across the fibers interface. Primary polymer spunbond was governing resulting nanocrystalline diamond structure. Growth of diamond layer was preferred on low porosity areas where high pore volume resulted in growth of diamond fibres. Influence of spundond structure was decreased with lowering of UDD concentration in polymer matrix.

středa 17:00

Jaroslav Fojt, Luděk Joska

Korozní chování porézní beta slitiny titanu

Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 07 Praha 6

fojtj@vscht.cz

U porézních materiálů dochází ke snadnější osteointegraci a ke tvorbě pevnějšího spoje implantátu s kostí. Nicméně, přítomnost pórů v materiálu může vést k mechanickým a korozním problémům. V rámci této práce bylo zkoumáno korozní chování slitiny Ti-39Nb připravené práškovou metalurgií. Porozita materiálu se pohybovala od 0 (referenční vzorek připravený klasickou metalurgií) až po 33%. Vzorky byly exponovány v modelovém tělním prostředí a ve fyziologickém roztoku s fluoridovými ionty. Pro určení náchylnosti k nerovnoměrným formám koroze a hodnocení vlivu fluoridových iontů byl uskutečněn standardní soubor elektrochemických měření doplněný o snímání elektrochemického šumu. Zkoumána byla i náchylnost materiálů k lokálnímu koroznímu napadení v uměle vytvořené štěrbině. Vzorky s nižší porozitou se svým chováním příliš nelišily od kompaktního materiálu. Při nárůstu porozity na 24% a 33% se její vliv



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY V.

Herbertov, Horní Mlýn, 12. – 15. 9. 2012

již projevil. S rostoucí porozitou rostla citlivost vzorků k lokálnímu koroznímu napadení. Po expozici v prostředí fluoridových iontů bylo jasně patrné lokalizování napadení v oblasti pórů, zatímco kompaktnější části vzorku byly bez viditelného korozního poškození. Korozní odolnost porézní slitiny Ti-39Nb byla na srovnatelné úrovni s kompaktním materiálem. Nicméně přítomnost pórů vedla k iniciaci lokálního napadení materiálu. V případě využití porézních materiálů pro výrobu implantátů je nezbytné počítat s možným výskytem lokálního korozního napadení. Výzkum byl realizován v rámci řešení projektu nanostrukturování povrchů (TA 02010409).

středa 17:20

**Ivan Jirka¹, Marta Vandrovcová², Otakar Frank¹, Zdeněk Tolde³, Jan Plšek¹,
Thomas Luxbacher⁴, Lucie Bačáková², Vladimír Starý³**

On the role of Nb-related sites of an oxidized β -TiNb alloy surface in its interaction with osteoblast-like MG-63 cells

¹J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Acad. Sci. CR, v.v.i. Dolejškova 3, 182 23 Prague 8

²Institute of Physiology, Acad. Sci. CR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Prague 4

³Institute of Materials Engineering, Faculty of Mechanical Engineering, CTU in Prague, Karlovo nám. 13, 120 00 Prague 2

⁴Anton Paar GmbH, Anton Paar Str. 20, 8054 Graz, Austria

ivan.jirka@jh-inst.cas.cz

The adhesion, growth and viability of human osteoblast-like MG 63 cells on the oxidized surfaces of β -titanium-niobium (β -TiNb) alloy and Ti samples has been investigated. The role of Nb in the alloy surface and oxidative treatment of the samples in interaction with the osteoblast has been addressed. The observed higher adhesion of osteoblast-like MG 63 cells on the β -TiNb sample than on the Ti sample is correlated with the presence of the surface Nb₂O₅ oxide phase.

Acknowledgement: This work was supported by the Grant Agency of the Czech Rep. (grant No. P108/10/1858).

středa 19:00

Ivan Janda

Proč Cimrman nedokončil výzkum biomateriálů pro cévní transplantáty

Soukromý cimrmanolog, Praha

ivan.janda@gmail.com

Na přelomu roků 1906-1907 se Jára Cimrman věnoval pokusům o výrobu biokompatibilních náhrad sklerotických cév na bázi bakelitu, který vynalezl o 10 let dříve. Slibný projekt bohužel brzdil problém nízké ohebnosti syntetizovaných trubic. V květnu 1907 Cimrmana v Praze navštívil slavný český cestovatel Enrique Stanko Vráz, který roku 1901 pobýval v Mongolsku a doslechl se o četných úmrtích tamějších domorodců, jež v poušti Gobi zabíjeli podivní tvorové. Vráz uprosil Cimrmana, jehož schopností a vědecké erudice si velmi vážil, aby se vypravil do Mongolska a pokusil se tam vraždění nevinných obětí ukončit. Cimrman se do pouště Gobi vydal se dvěma společníky a s velbloudí karavanou konečně dorazil až k osadě Dalaj Sajn Šanda, odkud byly zabijácké nestvůry hlášeny nejčastěji. Tam došlo ke střetnutí, které se málem stalo celé výpravě osudným...

Předložená studie zkoumá jednak události, které Cimrmanově expedici předcházely, a dále detailně popisuje, co se odehrálo po jeho návratu do Prahy. Zvláštní pozornost je věnována úloze Nikolý Tesly, kterého Cimrman nakonec musel požádat o pomoc.



13. 9. 2012

ČTVRTEK



čtvrtek 9:00

Lucie Bačáková

Bioarteficiální tkáňové náhrady - interakce jejich materiálové a buněčné složky

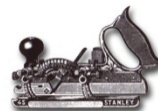
Fyziologický ústav AV ČR, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4-Krč

lucy@biomed.cas.cz

Současná doba klade stále stoupající nároky na kvantitu i kvalitu náhrad tkání a orgánů nevratně poškozených civilizačními chorobami, vrozenými vadami či dopravními a pracovními úrazy. Za „zlatý standard“ tkáňových náhrad jsou stále ještě považovány náhrady autologní, tj. kdy pacient je sám sobě dárce. Tyto náhrady jsou však dostupné v omezeném množství a zatěžují pacienta přídatnou operací. Problémy spojené s náhradami allogenními či xenogenními, tj. odvozenými z dárců stejného či odlišného živočišného druhu ani není třeba rozebírat – imunologické komplikace, nutnost užívání imunosupresiv a riziko přenosu chorob, zejména způsobených viry a priony, jsou obecně známými fakty. Proto se transplantáční medicína stále častěji obrací k uměle konstruovaným tkáňovým náhradám. Starší generace těchto náhrad sice musely být biokompatibilní, tj. prosté cytotoxicity a mutagenicity a s vhodnými mechanickými vlastnostmi, ale přesto byly konstruovány jako bioinertní, tj. nepodporující adhezi, růst a funkce buněk, a byly tudíž pouze pasivně tolerovány tkáněmi organismu. Tyto náhrady byly konstruovány pouze na podkladě umělého materiálu, a dosud se užívají např. pro syntetické polymerní náhrady nitroočních čoček či cév. Moderním trendem pokročilejšího tkáňového inženýrství je však konstruovat náhrady s buněčnou složkou, v nichž složka materiálová slouží jako bioaktivní nosič pro buňky a přebírá funkce přirozené extracelulární matrix (ECM), tj. regulovat adhezi, růst, diferenciaci, fenotypickou naturaci, programovanou buněčnou smrt i specifické diferencované funkce buněk. Takovéto náhrady se nazývají bioarteficiální, a pokud je materiálový nosič buněk degradovatelný, lze tyto náhrady považovat pouze za dočasné struktury navozující plnohodnotnou regeneraci poškozené tkáně.

Jakým způsobem je ovlivněno uchycení buněk k materiálovému nosiči a jejich další chování? Je třeba si uvědomit, že ke klasickým materiálům používaným pro konstrukci tkáňových náhrad, jako jsou syntetické polymery, kovy, keramika či materiály na bázi uhlíku, neadherují buňky přímo, ale prostřednictvím proteinů spontánně adsorbovaných k materiálu z biologických tekutin, jako je krev, tkáňový mok či i kultivační médium pro buňky. Nejznámějšími proteiny zprostředkujícími adhezi buněk jsou fibronectin, vitronectin, kolagen, laminin či fibrin tj. proteiny trvalé či dočasné ECM. K těmto proteinům se buňky vážou svými adhezními receptory, z nichž nejvíce systematicky byly zatím popsány interginy. Existují však i receptory neintegrinové, obvykle cukerné povahy.

Adsorpce proteinů zprostředkujících adhezi buněk je zásadně ovlivněna fyzikálně-chemickými vlastnostmi materiálu, jako je jeho polarita, smáčivost, elektrický náboj a vodivost, povrchová morfologie materiálu včetně jeho drsnosti. Například na materiály příliš hydrofobní, tj. s kontaktním úhlem vodní kapky větším než 90°, se proteiny zprostředkující adhezi buněk adsorbují v rigidních a denaturovaných formách, které ztěžují dosažitelnost specifických vazebných míst v molekulách proteinů (například aminokyselinové sekvence RGD) adhezními receptory buněk. Kromě toho se na hydrofobní materiály přednostně adsorbuje albumin, který je neadhesivní pro buňky. Z hlediska tkáňových náhrad se jako optimální jeví materiály mírně hydrofilní (kontaktní úhel 50-80°), na které se proteiny zprostředkující adhezi buněk adsorbují v geometrických konformacích blízkých fyziologickým. Příliš vysoká hydrofilie materiálu (kontaktní úhel 0-30°), zejména spojená s povrchovou mobilitou materiálu, pak již nedovoluje stabilní adsorpci proteinů, takže buňky buď neadherují vůbec nebo jsou náchylné k odloučení z povrchu materiálu. V poslední době je velká pozornost věnována materiálům nanostrukturovaným, jako jsou povrchy s nerovnostmi o velikosti do 100 nm či materiály nanovláknenné. Tyto materiály totiž napodobují architekturu přirozené ECM, např. různá zakřivení či větvení na molekulách ECM či



strukturu kolagenních vláken. Navíc se na nanostrukturované materiály adsorbují molekuly zprostředkující adhezi buněk v příznivých geometrických konformacích, podobně jako je tomu na materiálech přiměřeně smáčivých. Nanostrukturované materiály rovněž přednostně adsorbují vitronectin, a to díky jeho relativně malé a jednoduché molekule. Vitronectin je díky přítomnosti specifické aminokyselinové sekvence KRSR dobře rozpoznáván a vázán osteoblasty, což činí nanostrukturované materiály zvláště atraktivní pro inženýrství kostní tkáně [1, 2].

Nezanedbatelnou vlastností důležitou pro interakci buňka-materiál je rovněž povrchová tuhost či deformabilita materiálu. Je-li materiál příliš deformabilní, dostatečně nevzdoruje trakčním silám generovaným buňkami při jejich uchycování na materiálu. Buňky se pak nedokážou na materiálu rozprostřít a vytvořit fokální adhezní plaky a cytoskelet, což je nezbytné pro jejich další přežití, růst a funkci. Mechanickými vlastnostmi materiálu lze navodit i směr diferenciaci kmenových buněk. Na materiálech s vyšší deformabilitou diferencovaly mesenchymální kmenové buňky kostní dřevě směrem k neuronálnímu či svalovému fenotypu, zatímco na materiálech tuhých směrem k osteogennímu fenotypu [2, 3].

Moderní směry konstrukce bioarteficiálních tkání a orgánů zahrnují užití dočasných degradovatelných nosičů buněk, „trojrozměrnou“ strukturu těchto nosičů, umožňujících vrůstání buněk do nitra nosiče, užití nosičů funkcionalizovaných nikoli celými molekulami ECM, ale pouze jejich specifickými částmi sloužícími jako ligandy pro adhezní receptory buněk, užití biologických nosičů buněk vytvořených rekombinantními technikami, kultivaci buněk na nosičích v dynamických bioreaktorech, umožňujících lepší látkovou výměnu a adekvátní mechanické namáhání buněk, a rovněž užití buněk kmenových namísto buněk diferencovaných, neboť buňky kmenové mají obvykle vyšší růstový potenciál a udává se u nich i nižší imunogenita při použití buněk z cizích dárců. Celkově směřuje moderní tkáňové inženýrství ne pouze k vytvoření náhrad či „protéz“ poškozené tkáně, ale k plnohodnotné regeneraci této tkáně na podkladě uvedených náhrad.

[1] Webster TJ, Schadler LS, Siegel RW, Bizios R: Tissue Eng 7: 291-301, 2001

[2] Bacakova L, Filova E, Parizek M, Ruml T, Svorcik V: Biotechnol Adv 29: 739-767.

[3] Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Discher DE: Cell 126: 677-689, 2006

Tato souhrnná studie byla vytvořena na základě podpory Grantové agentury České republiky (granty č. P108/10/1858, 106/09/1000, P108/10/1106, P107/11/1856, P108/11/1857, P108/11/0794, P108/12/1168 a P108/12/G108).

čtvrtek 9:40

Dalibor Soukup¹, Markéta Bačáková¹, Willi Pabst², Eva Gregorová², Lucie Bačáková¹

Bioaktivní hydroxyapatitová keramika s hierarchickou mikrostrukturou pro inženýrství kostní tkáně

¹ Fyziologický ústav AV ČR, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4-Krč

² Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 07 Praha 6

soukup@gmail.com

Syntetické materiály nabízí slibné výsledky v oblasti kostního tkáňového inženýrství. Porézní keramika na bázi hydroxyapatitu je obecně považována za jeden z nevhodnějších materiálů pro tuto aplikaci. Proto vhodné metody přípravy jsou v centru zájmu materiálových inženýrů.

V této studii jsme zvolili uniaxiální lisování pro přípravu vzorků z nanokrystalického hydroxyapatitového prášku s použitím sacharózy jako porotvorného činidla, která beze zbytku vyhořívá během výpalu. Vzorky byly vypáleny na teploty od 800 – 1200 °C. Nejvyšší pórovitost



bylo dosaženo u vzorků vypálených na 800 °C (po částečném slinování) v rozpětí 65 – 71%. Pórovitost byla převážně otevřená. Nicméně, vzorky vypálené na 1200 °C byly víceméně úplně slinuté.

Na vzorcích byla provedena biologická studie za použití lidských kostních buněk linie MG 63. V podmínkách buněčných kultur byla hodnocena biokompatibilita materiálu, a to pomocí ukazatelů adheze, proliferace, životaschopnosti, metabolické aktivity a osteogenní diferenciace buněk. Součástí práce byla také studie adsorpce proteinů ovlivňujících adhezi buněk k materiálu. U vzorků vypálených na 800 a 1000 °C byla pozorována cytotoxicita. Důvodem mohou být zvýšené hodnoty pH kultivačního média nebo snížení koncentrace vápenatých iontů v kultivačním médiu za přítomnosti těchto vzorků. Vzorky vypálené na 1200 °C však dobře podporovaly adhezi, růst, životaschopnost, enzymatickou aktivitu a maturaci buněk MG 63 směrem k osteogennímu fenotypu, lze je tudíž považovat za nadějně pro konstrukci bioarteficiálních náhrad kostní tkáně.

Studie byla podporována GAČR (grant č. 106/09/1000) a MPO (Program TIP, grant č. FR-TI3/088).

čtvrtek 10:00

Antonín Brož, Martina Verdánová, Egor Ukraintsev, Bohuslav Rezek a Marie Kalbáčová

Proces adheze osteoblastů (SAOS-2) na nanokrystalický diamant s rozdílnou povrchovou terminací

Ústav dědičných metabolických poruch, 1. LF UK, Praha

abroz@lf1.cuni.cz

Nanokrystalický diamant (NCD) připravený pomocí chemické depozice z plynné fáze je biokompatibilní materiál, který by bylo možné díky jeho vysoké chemické i fyzikální odolnosti využít například pro potahování kostních endoprotéz a zubních náhrad. Pro kontrolu buněčné adheze lze upravovat povrch NCD jeho vystavením kyslíkové nebo vodíkové plazmě, což má za následek navázání daného prvku na povrch materiálu a různou smáčivost daného povrchu. Buňky na takto upravené NCD povrchy nasedají rozdílným způsobem. Na kyslíkem terminovaný smáčivější povrch začínají buňky adherovat dříve a rychleji. Důležitou roli v tomto procesu hraje také fetální bovinní sérum (FBS), které se používá standardně v tkáňových kulturách jako doplněk média, ve kterém jsou buňky kultivovány. Hlavní složkou FBS, která proces adheze ovlivňuje, jsou proteiny, které se na povrch adsorbují ještě před nasednutím samotných buněk. Předpokládáme, že v závislosti na fyzikálně chemických vlastnostech daného povrchu se mění konformace adsorbovaných proteinů a tím se mění i interface, na který buňky následně nasedají.

čtvrtek 10:20

Markéta Bačáková¹, Marián Varga², Josef Zemek², Denisa Stránská³, Lucie Bačáková¹

Plasmovaná polyaktidová nanovláknina jako nosiče kožních buněk

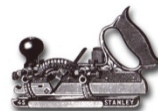
¹ Fyziologický ústav AV ČR, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4-Krč

² Fyzikální ústav AV ČR, Cukrovarnická 10, 16253 Praha 6

³ ELMARCO s.r.o., V Horkách 76/18, 460 07 Liberec

marketa.bacakova@biomed.cas.cz

Nanovláknenné materiály mohou být v kožním tkáňovém inženýrství využity pro konstrukci umělých náhrad kožního krytu, tedy jako dočasné nosiče pro fibroblasty (dermální složka kůže) a keratinocyty (epidermální složka kůže). Jedním z vhodných materiálů může být polymléčná



kyselina (polyaktid, PLA) zejména pro svoje biodegradabilní vlastnosti, neboť při své dočasné funkci jako nosné struktury pro buňky může být z organismu postupně odstraňována a nahrazována plnohodnotnou regenerovanou tkání. Nanovláknenné membrány z PLA mohou být využity pro konstrukci dvouvrstvy fibroblastů a keratinocytů, kde by membrána oddělovala oba buněčné typy, ale přesto by díky svým pórům zajišťovala jejich humorální a fyziologickou komunikaci, takže by vrstva fibroblastů mohla plnit svoji fyziologickou vyživující funkci pro keratinocyty. Adheze a růst buněk na materiálech může být dále podpořena vhodnou fyzikální (ozářením plasmou) nebo chemickou modifikací (potažení vláken molekulami extracelulární matrix – kolagen, hyaluronan, fibrin).

Práce se zabývá sledováním adheze, růstu a metabolické aktivity lidských keratinocytů linie HaCaT na nanovláknenných polyaktidových membránách ozářených kyslíkovou plasmou po dobu 30 až 120 s při výkonu 50 až 100 W. Byly použity nanovláknenné membrány v odlišných hustotách vláken (5 g/m², 9 g/m², 16 g/m², 30 g/m²). Míra poškození vláken po ozáření byla sledována skenovací elektronovou mikroskopií (SEM). Adheze, růst a metabolická aktivita keratinocytů byla hodnocena stanovením množství buněčné DNA a pomocí testu metabolické aktivity XTT ve třech časových intervalech po nasazení.

Výsledky ukazují, že polyaktidové nanovláknenné membrány podporují adhezi a růst kožních buněk, což bylo dále významně podpořeno plasmovou modifikací. Ve stupni adheze a růstu buněk hrála také roli hustota vláken. Buňky spíše lépe adherovaly a diferenciovaly na membránách s nižší hustotou vláken (5 g/m², 9 g/m²). SEM ukázala, že s rostoucí délkou plasmování a použitým výkonem dochází k výraznějšímu poškození vláken.

čtvrtek 10:40

Jana Lišková¹, Oleg Babchenko², Marian Varga², Alexander Kromka², Daniel Hadraba¹, Zdeněk Švindrych¹, Zuzana Burdíková¹ a Lucie Bačáková¹

Adheze a osteogenní diferenciace buněk na vrstvách nanokrystalického diamantu s různou funkcionalizací

¹ Fyziologický ústav AV ČR, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4-Krč

² Fyzikální ústav AV ČR, Cukrovarnická 10, 16253 Praha 6

janefox@biolog.cz

Vrstvy nanokrystalického diamantu jsou cenné materiály pro účely tkáňového inženýrství, zvláště pro pokrývání kostních implantátů, protože nanostruktura a morfologie nanodiamantových vrstev může dostatečně napodobit architekturu přirozených tkání. Smáčivost nanodiamantových vrstev může být určena vazbou různých atomů a chemických skupin (kyslík, vodík, aminová skupina aj.) na povrch nanodiamantů, které ovlivní geometrickou konformaci adsorbovaných proteinů, a tím i adhezi a další chování kultivovaných buněk. V této studii tedy sledujeme adhezi a růst osteoblastů na nanodiamantových vrstvách s různou smáčivostí, které jsou určeny pro pokrývání kostních implantátů.

Nanokrystalické diamantové vrstvy byly připraveny na silikonových substrátech pomocí mikrovlnné plasmové depozice (metoda PECVD). Kvalita těchto vrstev byla ověřena pomocí Ramanovy spektroskopie, skenovací elektronové mikroskopie a mikroskopie atomárních sil. Pro získání hydrofobního nebo hydrofilního charakteru byly nanodiamantové vrstvy modifikovány vodíkovou (H) nebo kyslíkovou (O) plasmou. Výsledná smáčivost vrstev byla charakterizována měřením kontaktního úhlu kapky deionizované vody.

Pro následné biologické testování nanodiamantových vrstev modifikovaných H a O byly použity buněčné kultury primárních lidských osteoblastů a linie lidských osteoblastů SAOS-2. Adheze buněk byla analyzována pomocí zobrazení proteinů fokálních adhezí (talin, paxillin) a aktinových vláken. Expres markerů osteogenní diferenciace (alkalická fosfatáza, osteokalcin, kolagen I) byla hodnocena reverzní transkripcí a metodou real-time PCR, a rovněž pomocí



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY V.

Herbertov, Horní Mlýn, 12. – 15. 9. 2012

imunofluorescenčního barvení příslušných proteinů. Produkce mezibuněčné hmoty (kolagen, osteokalcin, mineralizace) byla kvantifikována i dalšími biochemickými metodami (ELISA, Sircol, stanovení vápníku). Nativní vlákna kolagenu I byla vizualizována pomocí dvoufotonové konfokální mikroskopie a zobrazení technikou "Second harmonic generation", a také fluorescenčně.

Osteoblasty kultivované na nanodiamantových vrstvách modifikovaných kyslíkem vykazovaly lepší adhezi v porovnání s vrstvami terminovanými vodíkem. Také exprese markerů osteogenní diferenciace kolagenu a osteokalcinu byla vyšší na vrstvách modifikovaných kyslíkem. Naše výsledky tedy ukazují, že vyšší smáčivost nanodiamantových vrstev modifikovaných kyslíkem (kontaktní úhel < 20°) je vhodná pro adhezi a růst osteoblastů. Navíc je na tomto povrchu podporována osteogenní diferenciace kultivovaných buněk a produkce mezibuněčné hmoty.

Tato práce vznikla v rámci projektu projektu OP VK Centrum Biomedicínského Výzkumu (CZ.1.07/2.3.00/30.0025). Tento projekt je spolufinancován z Evropského sociálního fondu a státního rozpočtu České republiky. Další podpora byla poskytnuta od Grantové agentury České republiky (grant č. P108/11/0794) a od Akademie věd České republiky (grant č. IAAX00100902).

čtvrtek 11:00

Katalin Balázi¹, Je-Yong Choi², Seong-Gon Kim³, Chang-Hoon Chae⁴, Marta Vandrovcová⁵, István E. Lukács¹, Zoltán May⁶, Jenő Gubica⁷, Péter Szommer⁷, Lucie Bačáková⁵, Csaba Balázi¹

Development of bioactive nanocomposite hydroxyapatite / TiC thin films

¹ Institute for Technical Physics and Materials Science, Research Centre for Natural Sciences, HAS, Konkoly-Thege M. út 29-33, H-1121 Budapest, Hungary

² Department of Biochemistry and Cell Biology, Kyungpook National University, Daegu 700-721, Korea

³ Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Gangneung-Wonju National University, Jibyun-Dong, Gangneung, Gangwondo, 210-702 Korea

⁴ Department of Dentistry, Hallym University, Chuncheon, Gangwon-do, 200-702 Korea

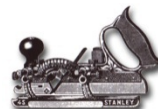
⁵ Institute of Physiology Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Videnska 1083 CZ-14220 Prague 4 – Krc, Czech Republic

⁶ Institute of Materials and Environmental Chemistry, Research Centre for Natural Sciences, HAS, Pusztaszeri út 59-67, 1025 Budapest, Hungary

⁷ Department of Materials Physics, Eötvös Loránd University, Budapest, P.O.B. 32, H-1518, Hungary

balazsi.katalin@ttk.mta.hu

Nanomaterials have wide-ranging implications in a variety of areas, including chemistry, physics, electronics, optics, materials science and biomedical sciences. Hydroxyapatite (HAp) and titanium compounds are found to be the most suitable biomaterials. The major inorganic constituent of bones and teeth is calcium phosphate. This similarity provides HAp based materials excellent bioactivities like bone bonding capability, osteoconductivity, and biocompatibility. The relatively high stiffness of titanium, as compared to surrounding bone, can lead to problems of stress-shielding and subsequent implant loosening. In this work, this problem was resolved by bioactive HAp coating on Ti-based nanocomposite thin film surface. The 300 nm thin TiC/ a:C nanocomposite thin films were prepared by dc magnetron sputtering on silicon (001) substrates at 25°C in argon. HAp powder was prepared from eggshells by attrition milling. The structure of films was studied by atomic force microscopy (AFM), transmission (TEM) and scanning electron microscopy (SEM). The elemental composition was measured by EDS and by Spectro Genesis ICP-OES spectrometer (ICP). Mechanical properties of TiC nanocomposites were measured by



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY V.

Herbertov, Horní Mlýn, 12. – 15. 9. 2012

nanoindentation. MG 63 osteoblast like cells were used for in-vitro test of TiC films. White New Zealand rabbits were used for in-vivo studies of bioactivity of nanosized HAp films. Considering the rapid healing in the bony defects and their easy availability, nano HAp / TiC thin films could be a good new bone substitute for tissue engineering.

Acknowledgements *This study was supported by OTKA 76181, 81360, by the János Bolyai Research Scholarship of the Hungarian Academy of Sciences and OTKA Postdoctoral grant Nr. PD 101453, by BioGreen21 Program (grant no. 200810FTH01 0103002 and 0102001) of Rural Development Administration and by the Grant Agency of the Czech Republic (grant number P108/10/1858).*

čtvrtek 11:30

Eduard Brynda, Tomáš Riedel, Ondřej Kaplan, Milan Houska

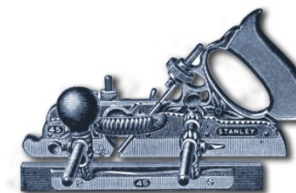
Bioartifciální cévní protězy a implantáty do krevního oběhu

Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v.v.i., Heyrovského nám. 2, 162 06 Praha 6

brynda@imc.cas.cz

Bezprostředně po kontaktu krve s cizím povrchem (povrch odlišný od neporušeného endotelu stěny cévy) dochází k adsorpci plasmatických bílkovin a adhezi, aktivaci a agregaci krevních destiček. Současně je aktivována kaskáda molekulárních reakcí mezi vzájemně se aktivujícími koagulačními faktory, na jejímž konci se u povrchu tvoří síť fibrinových vláken. Při poškození cévy vzniká tímto mechanismem krevní zátka (trombus), která zastaví krvácení. Fibrinový gel pak slouží jako dočasný substrát pro uchycení buněk opravujících poškozenou tkáň. Těmito buňkami jsou hlavně endoteliální progenitorové buňky (EPCs) produkované v kostní dřeni, které jsou zachycovány z krevního oběhu v místě poranění.

Pro přípravu bioartifciálních náhrad poškozených cév nebo chlopní jsme vyvinuli postup spočívající v pokrytí polymerního nosiče umělým fibrinovým gelem, na kterém byl in vitro vypěstován cévní endotel z autologních endoteliálních buněk (VECs). VECs jsou odebrány z tkáně pacienta (zatím pokusná zvířata), osazeny na povrch fibrinového gelu a kultivovány v přítomnosti růstových faktorů (VEGF). Po dosažení konfluentní monovrstvy VECs je náhrada implantována do organismu. V současnosti se výzkum zaměřuje na využití EPCs, které mohou být získány z krve pacienta. Oproti použití autologních VECs by tak odpadl operativní odběr buněk před implantací. Ideální náhradou je nosič, na kterém by docházelo ke spontánní endotelizaci in vivo až po implantaci. Povrchová modifikace syntetického nosiče by v tomto případě měla obsahovat molekulární struktury zachycující EPCs a současně nevyvolávat koagulaci krve před vytvořením přirozeného endotelu.





čtvrtek 14:00

Monika Šupová¹, Tomáš Suchý^{1,2}, Zbyněk Sucharda¹, Karel Balík¹, Denisa Stránská³ a Vítězslav Březina⁴

Příprava a testování nanokompozitu jako náhrady kostní tkáně

¹ Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH, AVČR v.v.i., V Holešovičkách 41, 182 09 Praha 8

² Laboratoř biomechaniky člověka, Fakulta strojní, ČVUT v Praze, Technická 4, 166 07 Praha 6

³ ELMARCO s.r.o., V Horkách 76/18, 460 07 Liberec

⁴ Laboratoř tkáňových kultur, Jihočeská Univerzita, Zámek 136, 373 33 Nové Hradky

supova@irms.cas.cz

Tento příspěvek se zabývá přípravou nanokompozitu pro regeneraci kostní tkáně vyztuženého poly(laktid)ovými nanovláknami (PLA) a kalcium fosfátovým (CaP) nanoplínem v kolagenové (COL) matici a dále přípravou a analýzou jednotlivých složek nanokompozitu. Strukturní a chemická charakterizace nanočástic CaP byla provedena pomocí chemické analýzy, FTIR, TEM a XRD. Cytokompatibilita CaP byla hodnocena pomocí časosběrné kinematografie. Kolagen byl charakterizován pomocí FTIR SEM a DSC. Doby degradace použitého PLA byly 6 a 12 měsíců. Nanokompozity ve formě implantačních válečků byly připraveny lyofilizačním procesem. Takto připravené kompozity byly implantovány do kondylu prasečího femuru s plánovaným odběrem 6 a 12 měsíců. V příspěvku budou prezentovány předběžné výsledky *in vivo* testů po 6 měsících.

čtvrtek 14:20

Elena Filová¹, Job N.L.M. der Kinderen^{1,2}, Monika Šupová³, Tomáš Suchý³, Zbyněk Sucharda³, Karel Balík³, Grażyna Simha Martynková⁴, Vladimír Machovič³ a Lucie Bačáková¹

Kostné bunky kultivované *in vitro* s keramickými nanočásticami

¹ Oddělení biomateriálů a tkanivového inženýrství, Fyziologický ústav AV ČR, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

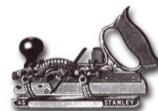
² Fakulta matematiky a přírodních věd, Rijksuniversiteit Groningen, Groningen, Holandsko

³ Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH, AV ČR, V Holešovičkách 41, 182 09 Praha 8

⁴ Centrum nanotechnologií, Vysoká škola banská, Technická univerzita Ostrava, 17. listopadu 15/2172, 708 33 Ostrava-Poruba

filova@biomed.cas.cz

Kost' obsahuje organickou hmotu tvorenú zväzkami kolagénových vlákien so zakotvenými nanokryštálmi anorganického hydroxyapatitu (Hap) a kanálikmi vyplnenými osteoblastami a osteoklastami [1]. Ľudská kosť neobsahuje čistý a stechiometricky definovaný Hap, naopak, tento obsahuje rôzne chemické prvky [2]. Predpokladali sme, že hydroxyapatit rozličného zloženia môže ovplyvniť chovanie buniek. Pripravili sme HAp biologického pôvodu, tj. vyrobený z hovädzích kostí a kalcinovaný pri 500, 600 a 700 °C (bCap500, bCap600 a bCap700) a syntetický HAp, tj. fluorinovaný kalcium fosfát, horčíkom dopovaný brushite (Mg-Cap), hydroxyapatit bez obsahu vápniku (CDHA). Tieto materiály sme porovnali s komerčne dostupným syntetickým hydroxyapatitom (HA), a tricalcium fosfátom (TCP) a polystyrénom pre tkanivovú kultúru (PS). Ľudské osteoblastom podobné kostné bunky MG 63, boli nasadené na apatitové nanočasticové prášky a u buniek bola hodnotená ich adhézia, rozprestrenie, proliferácia, enzymatická aktivita a životaschopnosť, ako aj tvorba diferenciačných markerov. xCelligence systém kontinuálneho monitorovania rozprestrenia a počtu MG 63 buniek preukázal vysokú hodnotu Cell indexu u



všetkých výluhov z práškov okrem Mg-Cap a F-Cap, kde boli naopak nízke. Tieto rozdiely zmizli po 10-násobnom a 100-násobnom nariadení výluhov, čo naznačuje, že toxicitu spôsobila nejaká rozpustená chemická látka. Hoci enzymatická aktivita MG 63 buniek nameraná pomocou XTT eseje bola nižšia u apatitov ako na PS, relatívne vysoká absorbanca bola nameraná na CDHA a bCap700. Podobné výsledky boli zistené počítaním nafarbených buniek v zorných poliach pod mikroskopom. U všetkých apatitových vzoriek životaschopnosť buniek bola nad 78%. Imunocytochemické farbenie preukázalo prítomnosť markerov kostnej diferenciácie osteokalcínu a osteopontínu. Spomedzi hodnotených materiálov ako najvhodnejšie pre tkanivové inženýrstvo kostí sa javia kostný bCap700 a syntetický CDHA.

[1] Rizzi SC, Heath DJ, 2001, Biodegradable polymer/hydroxyapatite composites: surface analysis and initial attachment of human osteoblasts. *Journal of Biomedical Material Research*, 55, 475-486.

[2] Skinner HCW, 2005, Biominerals. *Mineral Magazine*, 69, 621-641.

Pod'akovanie. Táto štúdia bola podporovaná Grantovou Agentúrou Českej Republiky, projekt č. 106/09/1000, a Centrom excelencie č. P108/12/G108. Ďakujeme tiež pani Ivane Zajanovej za pomoc s imunocytochemickým farbením.

čtvrtek 14:40

Libor Staněk

Možnosti odvápnění kostního materiálu pro následnou morfologickou, imunohistochemickou a molekulárně-biologickou analýzu

Ústav patologie, 1. LF a VFN Praha, Studničkova 2, 128 00 Praha 2

stanek.libor@seznam.cz

Morfologická, molekulárně-biologická a v neposlední řadě také cytogenetická analýza kostního materiálu má v dnešní době nezastupitelné místo v celé řadě oblastí výzkumu, hlavně biomedicínského. V biomedicínském výzkumu se analýzy týkají převážně oblasti tkáňového inženýrství, kde klíčovou rolí hraje možnost náhrad v bioimplantologii.

Předpokladem analýz v rámci morfologické, ale i molekulárně biologické analýzy jsou ultratenké řezy, které se dají provést na základě kvalitního odvápnění materiálu. Při použití většiny odvápněvacích technik (K. mravenčí) však dochází ireverzibilnímu poškození DNA a tím znemožnění následné molekulární subtypizace, např. kyselina mravenčí protonuje purinový kruh, a tím zeslabuje glykosidové vazby za vzniku kovalentních vazeb. Dále ve tkáni degraduje DNA na řetězce menší než 650 pb.

Pro odvápnění experimentální tkáně je vhodnější využití protokolu pomocí EDTA (EDTA – ethylenediaminetetraacetic acid $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2$ polyaminokarboxylová kyselina, která váže dvojmocné kationy), kde se jako dekalciфикаční činidlo používá CHELATON III., jehož součástí je EDTA, která má schopnost vázat kalcium a magnezium v podobě vysoce rozpustných komplexních solí a NaOH 10 mol/l (40%).

Takto zpracovaný materiál lze použít na veškerá morfologická barvení, imunohistochemickou detekci a následně lze provést cytogenetické či molekulární analýzy.



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY V.

Herbertov, Horní Mlýn, 12. – 15. 9. 2012

čtvrtek 15:00

Marek Pokorný, Jiří Řebíček, Jana Růžičková, Lada Suková, Jindřich Novák, Vladimír Velebný

Technologické možnosti elektrostatického zvlákňování ve spol. Contipro

ContiproBiotech, s.r.o., Dolní Dobrouč 401, 561 02 Dolní Dobrouč

marek.pokorny@contipro.com

Prezentace je věnována technologickým možnostem přípravy nanovláknenných materiálů ve společnosti Contipro Biotech s.r.o. Budou představeny různé druhy zvlákňovacích emitortů pokrývajících požadavky od laboratorních po produktivní (poloprovozní a výrobní). Zároveň bude představen systém různých sběrných kolektorů pro ukládání nanovláken s náhodnou i precizní anizotropní strukturou. Část prezentace bude věnována dalším procesním podmínkám a zvlákňovacím postupům.

čtvrtek 15:20

Jana Růžičková, Marek Pokorný, Jiří Řebíček, Lada Suková, Jindřich Novák, Vladimír Velebný

Technologické možnosti elektrostatického zvlákňování ve spol. Contipro - druhá část

ContiproBiotech, s.r.o., Dolní Dobrouč 401, 561 02 Dolní Dobrouč

jana.ruzickova@contipro.com

V druhé části této prezentace budou diskutovány možnosti přípravy nanovláknenných materiálů různých tvarů, struktur a forem z rozličných biopolymerů pro účely výzkumu a vývoje v oblasti nanovláknenných konstruktů pro medicínu a tkáňové inženýrství.

čtvrtek 15:40

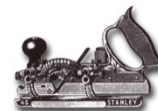
Aleš Lerach, Milan Kubík, František Denk

Biomateriály pro výrobu zdravotnických prostředků

MEDIN Orthopaedics, a.s., Ringhofferova 115/1, 155 21 Praha 5

ales.lerach@medin.cz

Organizace zabývající se výrobou implantátů se musí řídit nařízením vlády č.336/2004 Sb., které stanovuje technické požadavky na zdravotnické prostředky jako je konstrukce, klinické hodnocení, balení, atp. Mezinárodní norma EN ISO 13485:2003 vycházející původně z ISO 9001, stanovuje nároky na systém managementu jakosti, který může být použit pro návrh, vývoj, výrobu a instalaci zdravotnických prostředků. Norma ČSN EN ISO 21534:2007 blíže specifikuje veškeré požadavky na úplné a částečné náhrady kloubů jako je např.: předpokládaná funkce, konstrukční návrh, materiál, hodnocení konstrukce, výroba, sterilizace. V příloze této normy jsou dále uvedeny seznamy materiálů a jejich artikulační dvojice, které byly ověřeným použitím shledány vhodnými pro výrobu implantátů. Pokud materiál není uveden v této normě, musí být dle ISO 14630 jeho přijatelnost prokázána v klinickém použití v podobné aplikaci alespoň v 500 případech s uspokojivými klinickými výsledky za období nejméně pěti let. Poslední dokument, který je třeba zmínit, je norma ČSN EN ISO 10993 – Biologické hodnocení prostředků zdravotnické techniky, konkrétněji její první část týkající se biokompatibility. Jsou zde popsána obecná biologická hodnocení zdravotnických prostředků, zařazení zdravotnických prostředků do kategorií podle povahy a doby trvání jejich styku s lidským tělem a výběr vhodných zkoušek.



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY V.

Herbertov, Horní Mlýn, 12. – 15. 9. 2012

čtvrtek 16:20

Tomáš Suchý

Statisticky významně podle Darrella Huffa a další pitomé statistické poznámky

Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH, AVČR v.v.i., V Holešovičkách 41, 182 09 Praha 8

Laboratoř biomechaniky člověka, Fakulta strojní, ČVUT v Praze, Technická 4, 166 07 Praha 6

suchyt@irsm.cas.cz

Testování stanovených nulových hypotéz a statistická významnost jsou poměrně velmi staré. Přestože si jejich použití v dnešní době klade méně smělé cíle než John Arbuthnott (pravděpodobně původní autor této myšlenky) při prokazování boží prozřetelnosti (1710), je tohoto odkazu, dále rozpracovaného v minulém století, využíváno prakticky ve všech oborech. Dosažení „vhodné“ statistické významnosti bývá silným argumentem při interpretaci získaných dat. Je to ale skutečně správný přístup? Cílem tohoto krátkého pojednání je poukázat na omezení některých statistických přístupů.

čtvrtek 16:40

Oldřich Benada

Elektronová mikroskopie a analýza biologických vzorků

Mikrobiologický ústav AV ČR v.v.i., Praha; Přírodovědecká fakulta UJEP, Katedra biologie, Ústí nad Labem

benada@biomed.cas.cz

čtvrtek 17:00

Ivan Rozkošný

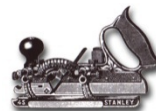
The new confocal system for the surface testings of the light reflecting surfaces

NIKON spol. s r.o., K Radotínu 15, 156 00 Praha 5

rozkosny@nikon.cz

The Nikon Czech Republic, microscopical division has started the cooperation with the Confovis company from Germany in the material confocal imaging. The new confocal system for the 3D imaging and measuring of the light reflected surfaces was introduced by the www.confovis.com to be combined with the light microscopes. The surface images and very exact measurements in the Z-axis are enabled by this system. The system is very user friendly and easy to maintain as it contains special LED structured illumination and in the camera head combined with the illumination no movable parts were used. The potential customers are invited to send their samples us for the testing.

Prezentace firmy NIKON je umístěna na závěr sborníku.

**Přemysl Vaněk a Jan Petzelt****Biokompatibilita feroelektrických materiálů**

Fyzikální ústav AV ČR, Cukrovarnická 10, 16253 Praha 6

vanek@fzu.cz, petzelt@fzu.cz

Feroelektrika jsou látky s necentrosymetrickou krystalovou strukturou vykazující spontánní elektrickou polarizaci, kterou je možno převracet vnějším elektrickým polem. Všechna feroelektrika jsou zároveň i pyroelektrická (při jejich ohřevu vzniká povrchový elektrický náboj) a piezoelektrická (při jejich mechanické deformaci vzniká povrchový elektrický náboj a naopak, při přiložení vnějšího elektrického pole se deformují). Výzkum feroelektrik je intenzivní již po mnoho let, protože lze využívat v mikroelektronice, pyroelektrické vlastnosti se využívají v detektorech infračerveného záření, piezoelektrické vlastnosti lze využívat např. v mikroelektromechanických prvcích (MEMS). Typickými představiteli feroelektrik jsou BaTiO_3 a $\text{PbZr}_{1-x}\text{Ti}_x\text{O}_3$ (PZT). Je snaha nahradit často používané PZT bezolovnatými feroelektriky. Feroelektrika se připravují zejména jako keramiky a tenké vrstvy různými metodami (reakce v pevné fázi z oxidů, metoda sol-gel, hydrotermální metoda, plasmové nanášení, magnetronové naprašování, laserová ablace a další).

Zatímco využití feroelektrik v mikroelektronice se rozvíjí již delší dobu, výzkum využití feroelektrik jako možných biokompatibilních materiálů se širěji rozvíjí teprve v poslední době. Perspektivní je zejména nanášení biokompatibilních feroelektrik na povrchu implantátů pro pevné tkáně – kosti, zuby. Je již dlouho známo, že kosti jsou elektricky aktivní při zatížení díky piezoelektričnosti kolagenu a pohybu iontových kapalin uvnitř struktury kosti. Elektrické potenciály v mechanicky zatížené kosti jsou považovány za příčinu mechanické adaptace kosti v odpovědi na zatížení. To vedlo k myšlence, že přidání elektricky aktivní složky k materiálu implantátu urychlí hojení a adaptaci okolní tkáně.

Dosavadní práce se zabývají zejména studiem biokompatibility polarizovaného hydroxyapatitu, který ale není ani feroelektrický, ani piezoelektrický, a studiem feroelektrického a piezoelektrického BaTiO_3 . Zkoumá se vliv znaménka povrchového náboje na biokompatibilitu, zejména na osteogenezi, růst osteoblastů. Výsledky experimentů in vitro a in vivo nejsou jednoznačné, někdy si i odporují. Důvodem může být i to, že růst osteoblastů může být ovlivněn i řadou jiných faktorů, např. drsností povrchu, zatížením ap., které nejsou v experimentech eliminovány či uvažovány. V pracích rovněž není uvažována existence kompenzační (stínící) vrstvičky opačného náboje u povrchu feroelektrika. Všeobecně však z článků plyne to, že povrchový náboj příznivě ovlivňuje biokompatibilitu. Proto jsme se jako spolunavrhovatelé připojili k návrhu projektu GAČR „Biokompatibilita oxidických a feroelektrických vrstev na substrátech TiNb“ podaného strojní fakultou ČVUT spolu s Fyziologickým ústavem AV ČR a Ústavem fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského AV ČR.

Z. Kolská¹, V. Švorčík²**Elektrokinetický potenciál na povrchu pevných látek**

¹Ústecké materiálové centrum, Přírodovědecká fakulta, Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, České mládeže 8, 400 96 Ústí nad Labem

²Ústav inženýrství pevných látek, Fakulta chemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

zdenka.kolska@ujep.cz

Elektrokinetický potenciál je jedna z mnoha povrchových vlastností, která nám může poskytnout informace o polaritě, smáčivosti, o chemii povrchu a zejména o chování povrchu materiálu ve vodném prostředí. Výsledky tohoto chování mohou být uplatněny v mnoha





oblastech, např. v potravinářském či automobilovém průmyslu, ve stavebnictví, v medicíně, tkáňovém inženýrství, elektronice, optice, atd.

Ve většině heterogenních systémů tvořených pevnou látkou ve vodném prostředí nesou fázová rozhraní elektrický náboj. Ten má velký význam pro stabilitu, vlastnosti a chování takových systémů. Ve styku s roztokem tento nabitý povrch přitahuje ionty opačného znaménka (protiionty), jejichž náboj neutralizuje náboj povrchu a vzniká tak útvar složený ze dvou vrstev opačně nabitých – elektrická dvojvrstva. Mezi nabitým povrchem a objemovou fází roztoku je rozdíl elektrických potenciálů. Znaménko potenciálu povrchu je stejné, jako znaménko náboje povrchu. Potenciál objemové fáze elektrolytu je roven nule. Dochází-li k pohybu roztoku přes pevnou látku, elektrická dvojvrstva se rozdělí na vnitřní (stacionární) a vnější (pohyblivou) část. Potenciál vzniklý na tomto rozhraní se nazývá elektrokinetický potenciál, zeta potenciál.

Zeta potenciál je důležitá charakteristika pro popis povrchové chemie pevných látek. Je to důležitá fyzikálně-chemická vlastnost povrchu polymerů, celulózy, skla, kovů, textilií, membrán, keramiky, přírodních i syntetických vláken, prášků, poskytující informaci o chemii, polaritě, botnavosti, porozitě, hydrofilitě či hydrofobicitě.

Je to také důležitý parametr pro koloidní soustavy a jejich stabilitu, jako např. pigmenty, barvy, náplně do tiskáren a dalších disperzních systémů. Optimální hodnota zeta potenciálu dispergovaných částic zabraňuje jejich koagulaci či sedimentaci. Je to také parametr, který se sleduje v oblasti čištění odpadních vod, zejména průmyslových a domácích čističek vody.

pátek 10:00

Z. Kolská¹, S. Trostová², A. Řezníčková², N. Slepíčková Kasálková², L. Bačáková³ a V. Švorčík²

Elektrokinetický potenciál a další vlastnosti nanostrukturovaných polymerů

¹Ústecké materiálové centrum, Přírodovědecká fakulta, Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, České mládeže 8, 400 96 Ústí nad Labem

²Ústav inženýrství pevných látek, Vysoká škola chemicko-technologická Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

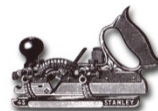
³Oddělení růstu a diferenciací buněčných populací, Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i, Vídeňská 1083, 14220 Praha 4

zdenka.kolska@ujep.cz

Elektrokinetický potenciál je jedna z mnoha povrchových vlastností, která nám může poskytnout informace o povrchu studovaných materiálů, jako jsou polymery, celulóza, sklo, kovy, textilie, membrány, keramika, přírodní i syntetická vlákna, prášky, apod. Je to charakteristika vhodná pro studium změn vlastností povrchově modifikovaných (nanostrukturovaných) polymerů, ale i dalších substrátů, především skla.

Substráty jsou modifikovány buď (i) fyzikálními metodami (působení laseru, plazmatu, UV, atd.), (ii) chemicky (roubováním nových funkčních skupin či kovových nanočástic) nebo (iii) depozicí kovu (naprašování či napařování).

Změny povrchových vlastností před a po modifikacích jsou studovány mnoha analytickými metodami. Kromě zmíněné elektrokinetické analýzy jsou to spektroskopické metody pro určení chemického složení, měření plošného elektrického odporu, stanovení optických vlastností elipsometrií, gravimetrické stanovení ablance materiálu, stanovení drsnosti a morfologie povrchu pomocí spektroskopie atomárních sil, stanovení smáčivosti goniometricky. Tvrdost a elasticita nanosených kovových vrstev je měřena pomocí nanoindentace, velikosti takových struktur pak pomocí rentgenové difrakce. Biokompatibilita nanostrukturovaných materiálů je studována pomocí adheze a růstu živých buněk. Pro některé materiály též využíváme termickou analýzu.



Všechny zmíněné metody a jejich výsledky jsou mezi sebou porovnávány a korelovány k získání co nejvíce informací o studovaných površích s cílem optimalizovat podmínky modifikace tak, abychom vytvářely materiály s co nejhodnějšími vlastnostmi pro požadované aplikace, např. co nejlepší adheze kovových nanostruktur na substrátech pro využití v optice, elektronice, automobilovém průmyslu nebo optimální adheze a proliferace živých buněk pro využití v medicíně, či naopak potlačení adheze a růstu mikroorganismů pro využití v obalových materiálech.

pátek 10:20

V. Švorčík, O. Lyutakov, P. Slepíčka, J. Siegel, Z. Kolská

Příprava a charakterizace 2D nano-struktur

Vysoká škola chemicko-technologická Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

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 2D nanostruktur. Dále je diskutována možnost chemického roubování povrchu modifikovaných substrátů. Tento výzkum je směřován pro potenciální aplikace výsledků do oblasti elektronického (např. struktury kov/polymer, optické mřížky) a tkáňového inženýrství (např. léčba ztráty kožního krytu a cévní protězy).

Modifikace povrchu polymeru polarizovaným laserovým svazkem (KrF a F₂) má významný vliv na následně deponované Au nanovrstvy. Vhodným výběrem excimerového laseru lze připravit nanostruktury o definované šířce a výšce. Parametry periodické nanostruktury lze dále významně ovlivnit úhlem dopadu polarizovaného svazku na povrch polymeru. Povrchová morfologie Au nanostruktur je ovlivněna zvolenou metodou nanostrukturování i metodou depozice Au (napařování nebo naprašování). „Nanodrátkovou“ strukturu lze připravit kombinací expozice KrF laserem a následného naprašování Au. Au nanovrstvy deponované napařováním jsou spojitě a „kopírují“ původní nanostrukturovaný povrch PET oproti „nanodrátkům“, které lze připravit naprašováním Au.

Tyto techniky mohou být použity pro vytváření kompozitů kov-polymer se speciálními elektrickými a optickými vlastnostmi pro aplikace v oblastech přípravy elektronických komponent a nanotechnologie. Nanostrukturovaný polymer lze použít i pro „kontrolovanou“ proliferaci buněčných kultur.

Byly připraveny periodické struktury na povrchu PMMA dotovaného porfyrinem synergetickým efektem laserové expozice a pohybu vzorku. Formování struktur lze v tomto případě vysvětlit lokálním ohřevem polymeru, vytvářením gradientu povrchového napětí a Marangoniho efektem. Perioda a výška struktur může být řízena rychlostí pohybu vzorku. Proceduru lze využít pro snadnou přípravu periodických mřížek, které mohou být využity jako difrakční mřížky a nebo jich lze využít pro „navázání“ optického svazku do světlovodů, tzn. např. v optoelektronice.



pátek 10:50

Luděk Joska, Jaroslav Fojt, Ladislav Cvrček*

Legované DLC vrstvy v medicínských aplikacích

Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, Praha 6

*FEL, ČVUT v Praze

ludek.joska@vscht.cz

Vrstvy typu DLC (diamond-like carbon) nacházejí použití i v oblasti humánní medicíny při úpravě povrchů implantátů. Jejich uplatnění může být v principu dvojitý. Na třecích plochách endoprotéz se uplatní jejich vynikající tribologické vlastnosti, u implantátů vyrobených z materiálů schopných vyvolat negativní reakci organismu (např. slitiny obsahující nikl, slitiny CoCrMo atd.) mohou působit jako bariérová vrstva. DLC povlak vytvoří bioinertní bariéru, která je schopna nežádoucí korozní proces spojený s uvolňováním rozpustných korozních produktů do tělního prostředí výrazně omezit.

V současnosti je jedním z cílů v transplantologii dosažení rychlé osseointegrace. V takovém případě by neměl být implantát pouze pasivně přijímán, ale jeho povrch by měl být alespoň částečně bioaktivní. Jednou z cest jak zvýšit atraktivnost inertního grafitového (DLC) povrchu pro tělní prostředí je legování.

V přednášce bude diskutován vliv legování titanem a zirkoniem na interakci DLC vrstvy s modely tělního prostředí. Výsledky naznačují, že přítomnost titanu na úrovni ~10% at. nevedla k podstatným změnám tribologických vlastností. Porovnání výsledků studie interakce se simulovanou tělní tekutinou (SBF) i testu buněčné kolonizace vzorků DLC a DLC-Ti potvrzuje pozitivní vliv legování. Výsledky pro vrstvy dopované zirkoniem jsou pouze předběžné a naznačují méně výrazný vliv této legury. Práce probíhají v rámci řešení grantu GAČR P108/10/1782.

pátek 11:20

**Vladimír Jech¹, Tomáš Horažďovský¹, Zdeněk Tolde², Josef Šepitka³
a Zdeněk Weiss⁴**

Zvýšení povrchové tvrdosti a zlepšení tribologických vlastností titanové slitiny Ti6Al4V využitím iontových a elektronových svazků

¹ ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav fyziky, Praha 6

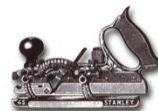
² ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav materiálového inženýrství, Praha 2

³ ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Praha 6

⁴ LECO Czech Republic

ichbinladin@centrum.cz

Titanová slitina Ti6Al4V je pro své jedinečné vlastnosti využívána v mnoha oborech průmyslu a stále je nejpoužívanější titanovou slitinou v medicíně, zejména ortopedii. Její tribologické vlastnosti jsou však obecně špatné. Tento příspěvek pojednává o povrchové modifikaci slitiny Ti6Al4V využitím metod založených na iontových a elektronových svazcích. Za účelem zvýšení povrchové tvrdosti a zlepšení tribologických vlastností byly vzorky z této slitiny povrchově modifikovány metodou IBM (Ion Beam Mixing). Jak vyplývá z principu této metody, na povrchu vzorků byla nejprve vytvořena tenká uhlíková vrstva a posléze byly tyto vzorky implantovány dusíkem o energii 90 keV. Následně byly vyšetřovány hloubkové koncentrační profily (GDOES), tvrdost (nanoindentor Hysitron) a koeficient tření (Pin on Disk).



pátek 11:40

**Petr Vlčák¹, Zdeněk Weiss², Stanislav Daniš³, Ivan Gregora⁴, Zdeněk Tolde⁵
a Josef Šepitka⁶**

Vlastnosti vrstev na bázi uhlíku vytvořených metodou IBAD na slitině Ti6Al4V

¹ ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav fyziky, Technická 4, 166 07 Praha 6

² LECO Czech Republic

³ UK, Matematicko-fyzikální fakulta, Katedra fyziky kondenzovaných látek, Praha 2

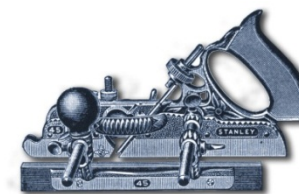
⁴ Fyzikální ústav AV ČR, Sekce fyziky kondenzovaných látek, Praha 8

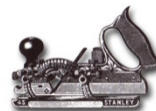
⁵ ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav materiálového inženýrství, Praha 2

⁶ ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Praha 6

petr.vlcak@fs.cvut.cz

Titan a jeho slitiny mají obecně špatné tribologické vlastnosti. Pro jejich zlepšení se aplikují různé povrchové úpravy. Jednou z nich je nanosení kluzné vrstvy. Potenciálně vhodné i s ohledem na biomedicínské aplikace se jeví vrstvy na bázi uhlíku. Tyto vrstvy byly v minulosti intenzivně studovány. Bylo prokázáno, že jejich vlastnosti jsou závislé na různých faktorech, z nichž nejdůležitější vliv mají chemické složení a podmínky depozice. Metoda IBAD na rozdíl od jiných depozičních metod (např. PACVD nebo magnetronové naprašování) umožňuje během procesu povlakování přesné řízení parametrů depozice. To motivuje, jak naznačují četné publikace poslední doby, k výzkumu přípravy vrstev na bázi uhlíku ale i jiných povlaků, multikomponentních a vícevrstevných systémů touto metodou. Na vzorky z titanové slitiny Ti6Al4V byly metodou IBAD nanoseny kluzné vrstvy na bázi uhlíku. U modifikovaných vzorků byly vyšetřovány elementární chemické složení metodou GDOES, fázové složení metodou XRD, mechanické a tribologické vlastnosti nanoindentací a tribometrem Pin-on-disk.



**D. Fink, J. Vacik****Ion Track Biosensors**

Nuclear Physics Institute ASCR, Rez u Prahy

vacik@ujf.cas.cz

Polymeric etched ion tracks immersed in electrolyte are usually covered with surface charges on their walls. However, the effects arising from this vanish if the track surfaces are neutralized. This is used to develop simple ion track-based biosensors which are based on the enrichment of enzymatic reaction products. As their kinetics determines the sensor's sensitivity, a detailed study on this was performed. Metal cladding of the sensor foils may lead to further sensor improvement. Apart from this, a first attempt was made to create future cell sensors by combining micro-structures, fabricated by ion micro probe or focused ion beam, with swift heavy ion tracks.

**15. 9. 2012****SOBOTA****Š. Kučková^{1,2}, L. Coufalová¹, M. Crhová¹, L. Himmlová³, P. Hodačová¹,
L. Nedvědová¹, M. Šmíd⁴, M. Velčovská¹, A. Zeman⁵ a R. Hynek¹****Hmotnostní spektrometrie a identifikace proteinů v nerozpustných maticích**¹ Vysoká škola chemicko-technologická, Ústav biochemie a mikrobiologie, Technická 3, 166 28 Praha 6² Pedagogická fakulta UK, Katedra chemie a didaktiky chemie, M. D. Rettigové 4, 116 39 Praha 1³ Stomatologická klinika, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Kateřinská 32, 128 01 Praha 2⁴ Nemocnice Hořovice, NH Hospital, a.s., K Nemocnici 1106, 268 31 Hořovice⁵ Ústav teoretické a aplikované mechaniky AV ČR, v. v. i., Prosecká 76, 190 00 Praha 9kuckovas@vscht.cz, rubicso@volny.cz

Do nedávné doby bylo velmi obtížné identifikovat proteinové materiály obsažené v nerozpustných maticích. Dříve používané metody využívaly náročnou, jak časově, tak i na množství analytu, úpravu vzorku – kyselou hydrolyzu (v přítomnosti 6 M HCl, 24 h rozklad při teplotě 120 °C v inertní atmosféře), při které dochází k uvolňování aminokyselin z bílkovinných řetězců. Avšak tyto metody, ke kterým patří například plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC-MS), aminokyselinová analýza (AAA), kapalinová chromatografie (HPLC), nedokáží na základě porovnání poměrů zastoupení jednotlivých aminokyselin spolehlivě určit jednotlivé typy proteinů, zvláště pokud se navíc vyskytují ve směsích.

Před několika lety jsme v laboratoři aplikované proteomiky na VŠCHT v Praze upravili stávající postup a komplikovanou přípravu vzorku pomocí hydrolyzy jsme nahradili enzymovým štěpením. Použitý enzym, v našem případě trypsin, přerušuje peptidové vazby pouze za dvěma typy aminokyselin, a tak vznikají krátké úseky původní bílkoviny, neboli peptidy, které jsou pro danou bílkovinu charakteristické. Peptidy mají, stejně jako původní protein, dané pořadí aminokyselin a díky tomu mají svoji charakteristickou hmotnost, čehož se využívá v hmotnostně spektrometrických technikách. Pro identifikaci proteinových pojevů v uměleckých dílech používáme metodu MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation – Time of Flight) a LC-MS/MS (Liquid Chromatography coupled with tandem Mass Spectrometry), která kromě sledování hmotností peptidů dokáže také určit pořadí aminokyselin v peptidovém řetězci, a tak jednoznačně určit jednotlivé proteiny.



Metodu LC-MS/MS jsme úspěšně použili na identifikaci proteinů obsažených v uměleckých dílech a historických maltách, tvrdých zubních a kostních tkáních, biomineralizátech z explantovaných srdečních chlopní a také adhezivních molekul produkovaných fibroblasty na materiálech používaných k výrobě zubních implantátů.

sobota 10:00

T. Plecenik, M. Gregor, M. Truchly, S. Robin, M. Zahoran, S. A. M. Tofail, A. Gandhi, F. Laffir, T. Soulimane, M. Vargova, G. Plesch, P. Kus, A. Plecenik

Modification of surface potential and protein adsorption on hydroxyapatite by focused electron beam

Department of Experimental Physics, Faculty of Mathematics, Physics and Informatics, Comenius University, Mlynska Dolina, 842 48 Bratislava, Slovakia

plecenik@gmail.com

Modifications of biomaterials surfaces in order to influence the adsorption of biological cells play an important role in biological and medical applications. In this work, micrometer and nanometer scale patterns of modified surface potential (SP) have been created on hydroxyapatite coatings by focused electron beam. The SP distribution of the patterns as a function of the electron energy, e-beam current and irradiation time has been studied by Kelvin probe force microscopy. Protein (hen egg white Lysozyme - LSZ) adsorption on the irradiated areas has been examined by laser scanning confocal microscopy. It has been shown that the protein adsorption copies the SP patterns and attaches preferably on negatively charged areas.

sobota 10:30

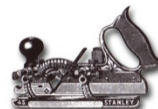
P. Jurkiewicz, P. Janda, M. Bouša, M. Hof, M. Kočířík, I. Jirka

Diffusion of supported phospholipid bilayer membranes on the surface of *b*-oriented MFI film with controlled surface roughness

J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry, ASCR, v.v.i., Dolejskova 3, 182 23 Prague 8, Czech Republic

ivan.jirka@jh-inst.cas.cz

Supported phospholipide bilayer membranes (SPBs) are extensively investigated as models of cell membranes [1]. The effect of interaction of SPB with support surface on SPB diffusion was often addressed. Variety of non-porous supports with smooth surfaces like mica, silica, etc. has been already used. Application of porous supports is rather rare (cf. [2] and references therein). The *b*-oriented MFI film grown on stainless steel (*b*-MFI/SS) with controlled surface roughness is used in present study. The main advantage of this support is its simplicity. Moreover, further modification of the *b*-MFI/SS surface and interface region is rather straightforward, which enables tailoring the properties of the film surface in desired manner. Mixed 1,2-palmitoyl-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (POPC) / 1,2-palmitoyl-oleoyl-sn-glycero-3-phosphoserine (POPS) (4:1 mol:mol) lipid vesicles labeled with Bodipy C₁₂-HPC (2-(4,4-difluoro-5,7-dimethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene-3-dodecanoyl)-1-hexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) were deposited on *b*-MFI/SS. Creation of SPB was confirmed using fluorescence microscopy combined with fluorescence correlation spectroscopy (FCS). Using the synthesis according [3] with modified conditions and post-synthetic treatments the series of *b*-MFI/SS samples with various surface roughness was prepared. The zeolite support prepared by one step hydrothermal treatment is composed mainly from the monolayer of *b*-oriented overgrown crystals with small amounts of



inserted *a*-oriented ones. The *b*-oriented zeolite surface with minimized concentration of the *a*-oriented MFI crystals exhibits roughness typically ≤ 50 nm. The overall support surface roughness is tuned by changing the concentration of the *a*-oriented surface crystals (a ~ 100 nm). Another surface modification of zeolite film is based on alkaline etching in 0.1 M solution of sodium hydroxide (NaOH). Amorphous phase present on the outer surface of the support was thus eliminated. The roughness of etched support remained unaffected. The effect of etching and roughness of support surface on SPBs – *b*-MFI/SS film interaction is investigated using fluorescence. Diffusion of SPB measured with FCS was found to be affected by the both, alkaline etching and surface roughness of *b*-MFI/SS. SPBs lateral diffusion on etched surface with prevailing roughness of 50 nm was about two times faster ($D = 3.5 \mu\text{m}^2/\text{s}$) than the one on the etched (non-etched) surface with 100 nm roughness ($D = 2.4 \mu\text{m}^2/\text{s}$).

[1] R.P. Richter, Thesis, University Bordeaux (2004).

[2] B.A. Nellis, J.H. Satcher, Jr., S.H. Risbud, Acta Biomaterialia 7, 380 (2011).

[3] Z.B. Wang, Y.S. Yang, Chem. Mater. 13, 1101 (2001).

Acknowledgement: This work was supported by the Grant Agency of the Czech Rep. (grant No. P108/10/1858).

sobota 10:50

V. Starý¹, I. Kunka¹, M. Vandrovcová², J. Podaný³, O. Kylian⁴

Poznámka k drsnosti povrchu biomateriálů a jejímu vlivu na biokompatibilitu

¹ ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav materiálového inženýrství, Karlovo náměstí 13, 121 35 Praha 2,

² Fyziologický ústav AV ČR, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4-Krč

³ ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav technologie obrábění, projektování a metrologie, Technická 4, 166 07 Praha 6

⁴ Katedra makromolekulární fyziky, MFF UK v Praze, V Holešovičkách 2, 182 20 Praha 8

stary@fsik.cvut.cz

Povrch biomateriálu, tj. rozhraní mezi živou tkání a materiálem, můžeme charakterizovat především jeho morfologií a jeho chemicko-fyzikálním stavem, dále např. i jeho tvrdostí, modulem pružnosti a případně dalšími inženýrskými a chemicko-fyzikálními charakteristikami. Důležité pro biokompatibilitu je však to, jak "vidí" povrch buňky. Drsnost povrchu, nebo v širším smyslu jeho morfologie, má na adhesi, růst (proliferaci) a specializaci (diferenciaci) buněk velmi významný vliv. Hodnoty parametrů drsnosti však závisí nejen na morfologii konkrétního povrchu, ale i na metodě měření, na měřicím přístroji, a na podmínkách zpracování měřených dat – např. na způsobu filtrování a odstranění vlnitosti přímo v softwaru měřicích přístrojů nebo v doplňujících programech nezávislých na konkrétním zařízení. V naší práci byly drsnosti povrchu – nano, mikro a makro charakterizovány především pomocí parametru Sa (plošný ekvivalent Ra - střední drsnosti při liniovém měření) a dalších méně standardních, ale velice důležitých parametrů, pomocí výpočtových programů SPIP Imagemet a Gwyddion. Odlišení nano, mikro a makrodrsnosti bylo dosaženo nastavením zvolené hodnoty kritické vlnové délky (nazývané též cut-off, lambda_max příp. low-pass filtr), které se volily podle vypracované tabulky závislosti vlnových délek na měřicích polích, nebo filtrování dat pomocí Fourierovy transformace a dalších filtrů.

V práci je studován vliv drsnosti a nanodrsnosti speciálně upravené podložky na růst a životaschopnost kostních MG 63 buněk. Podle pracovní hypotézy u zvoleného typu buněk má nanodrsnost příznivý vliv na adhezi buněk, zatímco makrodrsnost adhezi v podstatě neovlivňuje.



Testy byly provedeny na titanové slitině Ti6Al4V a téže titanové slitině tepelně zpracované a kontrolním vzorku (dno kultivační polystyrénové misky - PS). Povrch podložky byl po vyleštění pokryt vrstvou teflonových nanočástic při různé době napařování (0, 1, a 4 minuty). Tím vznikla vrstva s různou nanodrsností a v podstatě identickou makrodrsností. Takto připravený povrch byl pokryt tenkou vrstvou Ti a PTFE, aby byl potlačen vliv chemického stavu povrchu. Pomocí této metodiky se podařilo výrazně ovlivnit nanodrsnost při nepatrné změně makrodrsnosti. Dále byly sledovány změny parametrů nanodrsnosti během doby napařování na žíhané a nežíhané slitině.

Na takto připraveném a charakterizovaném povrchu byly kultivovány buňky. Vzorky byly sterilizovány v autoklávu a poté byly osazeny kostními buňkami. Z biologických experimentů plyne pozitivní vliv veškerých vrstev s tím, že na povrch PTFE buňky reagovaly odlišně než na polystyren – na počátku se buňky množily rychleji, na konci pomaleji než na polystyrenu. Hustoty buněk na povrchu vyžíhaného materiálu byly obvykle statisticky významně nižší než na žíhaném povrchu. K hodnocení závislosti hustoty buněk na tepelném zpracování materiálu podložky, na čase napařování teflonu (tj. na nanodrsnosti) a na době kultivace (1., 3. a 7. den po nasazení) jsme použili metodu ANOVA programu STATISTICA. Prokázali jsme, že žíhání ani nanášení nanočástic neovlivňuje počáteční adhezi, avšak přítomnost nanočástic (tj. změna nanodrsnosti) ovlivňuje proliferaci kostních MG 63 buněk. Buňky byly na všech testovaných materiálech sedmý den po nasazení životaschopné (viabilita se pohybovala mezi 81-87 %; mírné snížení viability přisuzujeme manipulaci s buňkami, které byly ošetřeny trypsinem. Ten mohl jejich životaschopnost negativně ovlivnit). Doba zdvojení se na všech vzorcích v posledním sledovaném intervalu prodloužila (zvláště markantně na žíhaných vzorcích s nejdéle napařovanou vrstvou nanočástic), z čehož lze usuzovat, že buňky pravděpodobně vstoupily do fáze diferenciacce

V příspěvku uvedeme podrobný popis použitých postupů a výsledky srovnání.

Poděkování. Tato práce byla vypracována díky grantu KAN101120701 grantové agentury AV ČR a grantu P108/10/1858 GAČR.

sobota 11:20

Jan Krčil, Jana Sobotová

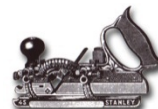
Vytváření a charakteristika oxidových vrstev na titanu

Ústav materiálového inženýrství, FS ČVUT v Praze, Karlovo nám. 13, 121 35 Praha 2

j.sobotova@email.cz

Práce se zabývá problematikou tvorby a charakterizace tenké oxidické vrstvy na povrchu čistého titanu. Oxidická vrstva na povrchu titanu je nositelkou jeho výrazné korozní odolnosti a také biokompatibility v případě, že je použit v lékařství. Vrstva byla nanášena pomocí termické oxidace a to při teplotách 500 °C, 650 °C a 800 °C, jednotná doba oxidace byla 8 hodin. Byl zkoumán vliv teploty na tloušťku vytvořené vrstvy, na změnu jejich vlastností a také bylo sledováno strukturní složení povrchové vrstvy i základního materiálu. K hodnocení uvedených parametrů bylo použito měření drsností, tvrdosti, hmotnosti a metalografická analýza.

Poděkování: Tato práce byla vypracována díky grantu P108/10/1858 GAČR.



sobota 11:40

P. Kozák, Z. Tolde

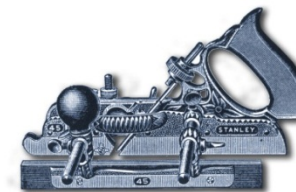
Nanostructured oxide layer of titanium and titanium alloys

Ústav materiálového inženýrství, FS ČVUT v Praze, Karlovo nám. 13, 121 35 Praha 2

tolde.zdenek@gmail.com

In this contribution we studied the creation of nanostructured oxide layer forming on the surface of pure titanium, pure niobium and β - alloys Ti-Nb by anodic oxidation, as these materials are increasingly used for its positive properties in a biological applications. Grinded and polished samples of chosen materials were oxidized in a bath of acid solution consisting of 1M (NH₄)₂ SO₄ + 0.5 wt% NH₄ F at (pH 4.7), oxidation time 120 minutes and set anodic voltage of 10, 20, 30 and 50 V. The surface of the samples was evaluated by scanning electron microscope (SEM) before and after anodic oxidation.

Poděkování: Tato práce byla vypracována díky grantu P108/10/1858 GAČR.



The New Confocal System for the Surface Testings of the Light Reflecting Surfaces

Poznámky

RNDr. Ivan Rozkošný, Ph.D.,
NIKON spol. s r.o., K Radotínu 15, 156 00 Praha 5;
Gábor Szabó,
Confovis GmbH, Hans Knöll Str. 6, D-07745 Jena
Contact: rozkosny@nikon.cz, 00 420 602 363 767

a) Opravit chyby ve sborníku !

The Nikon Czech Republic, microscopical division has started the cooperation with the Confovis company from Germany in the material confocal imaging. The new confocal system for the 3D imaging and measuring of the light reflected surfaces was introduced by the www.confovis.com to be combined with the light microscopes. The surface images and very exact measurements in the Z-axis are enabled by this system. The system is very user friendly and easy to maintain as it contains special LED structured illumination and in the camera head comined with the illumination no movable parts were used. The potential customers are invited to send their samples us for the testing.

