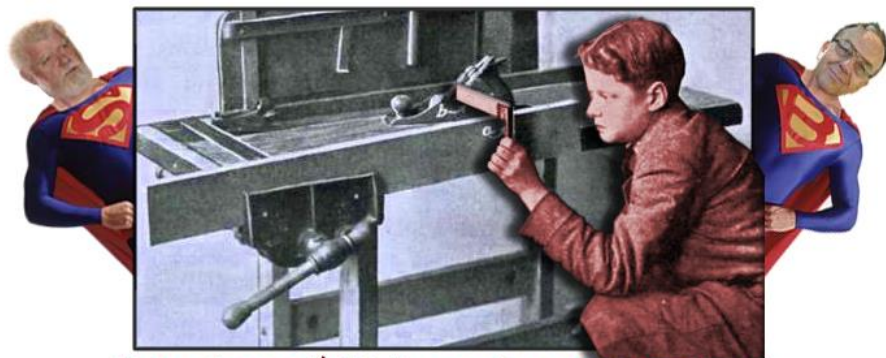




BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16.-19.9.2014

Biomateriály a jejich povrchy VII.

Karel Balík, Vladimír Starý, Tomáš Suchý

ISBN 978-80-01-05579-3

Vydalo: České vysoké učení technické v Praze

Zpracovala: Fakulta strojní

Kontaktní adresa:

Tomáš Suchý

Tel.: 266 009 287

Tisk: ÚSMH AV ČR, v.v.i.

Adresa tiskárny: V Holešovičkách 41, 182 09 Praha 8

Počet stran: 28

Náklad: 70

Pořadí vydání: 1.

Praha 2014



16.9.2014

ÚTERY

úterý 14:00

M. Hof

Lipid organization in model membranes: what are nanodomains, clusters or even rafts?

úterý 14:50

J. Fojt, L. Joska

Korozní odolnost biomateriálů

úterý 15:30

L. Joska, J. Fencel, J. Fojt, H. Moravec, E. Filová

Využití nanostrukturovaných povrchů kovových materiálů v medicíně

úterý 16:00

E. Jablonská, J. Fojt, L. Joska, J. Lipov, T. Ruml

Titanové slitiny s nanotubulární povrchovou úpravou pro ortopedické aplikace

úterý 16:20

Z. Tolde

Tribologické metody testování povrchu biomateriálů

úterý 16:40

J. Kronek

Otěrové zkoušky kloubních náhrad a jiné zajímavosti

úterý 19:00

I. Janda

Vliv jevů v zemské atmosféře na vlastnosti biomateriálů: neobvyklé změny v porostech obilnin



17.9.2014

STŘEDA

středa 9:00

E. Filová

Interakce buňka - materiál

středa 9:40

T. Kubíková, E. Filová, E. Prosecká a kol.

Přínos histologie při posuzování in vivo hojení ran při aplikaci tkáňových nosičů

středa 10:00

J. Lišková, D. E. Discher, L. Bačáková

Jak tuhost podkladu ovlivňuje diferenciaci buněk?

středa 10:20

E. Brynda, T. Riedel, O. Kaplan, M. Houska

Bioaktivní povlaky stentů a dalších implantátů do krevního oběhu

středa 11:00

H. Dragounová, E. Filová, M. Krýsllová a kol.

Růst kostních buněk na titanu modifikovaném alginátem

středa 11:20

P. Vaněk

Technologie přípravy dielektrik pro bioaplikace

středa 14:00

V. Březina, M. Homolková

Biokompatibilita hodnocená výluhem z materiálů a přímým kontaktem buněk na povrchu substrátu

středa 14:30

L. Himmlová, J. Bártová, M. Vandrovcová a kol.

Porovnání produkce cytokinů imunokompetentními buňkami z buffy coat a mesenchymálními kmenovými buňkami HMSC-bm kultivovanými na povrchu titanu

středa 15:00

P. Mikeš, V. Jenčová, J. Chvojka a kol.

Funkcionalizované 3D nanovlákněné kompozitní materiály pro tkáňové inženýrství

středa 15:30

P. Exnar, I. Lovětinová-Šlamborová

Speciální hybridní vrstvy připravené metodou sol-gel a jejich biomedicínské aplikace

středa 16:00

I. Lovětinová-Šlamborová, P. Exnar

Biomedicínské aplikace anorganických nanovláken na bázi oxidu křemičitého

středa 16:20

M. Bačáková, T. Riedel, M. Houska a kol.

Modifikované nanovlákněné membrány pro kožní tkáňové inženýrství

středa 16:40

J. Musílková, K. Novotná, V. Proks a kol.

Indukované zrání kontaktů buňka-matrix a buňka-buňka ve statickém a dynamickém systému



18.9.2014

ČTVRTEK

čtvrtek 9:00

J. Gallo

Komplikace endoprotéz kyčlí a kolen: podíl biomateriálů

čtvrtek 9:40

L. Recman, I. Pohl

Vývoj degradabilního potahu degradabilního jícnového stentu

čtvrtek 10:00

V. Švorčík, J. Siegel, Z. Kolská a kol.

Příprava a charakterizace nanostrukturovaných biomateriálů na bázi polymerů

čtvrtek 10:40

Z. Kolská, V. Švorčík, M. Nagyová, A. Řezníčková

Zvýšení cytokompatibility roubováním cysteaminu na plazmatem upravené povrchy polymerů

čtvrtek 11:00

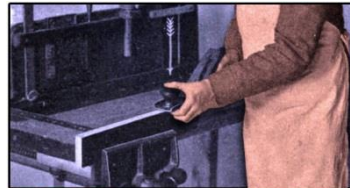
D. Pokorný

Problematika životnosti povrchu artikulacních náhrad

čtvrtek 11:40

F. Jakubec

Použití digitálního mikroskopu v oblasti materiálů a povrchů



19.9.2014

PÁTEK

pátek 9:00

K. Balík, T. Suchý, Z. Sucharda

Jak ubytovat buňky aneb úprava povrchu biokompozitu

pátek 9:40

M. Šupová, V. Andrie, Š. Hrdličková Kučková

Mapování a identifikace proteinů v bioapatitech používaných ve tkáňovém inženýrství

pátek 10:00

T. Suchý, M. Pokorný, D. Hadraba a kol.

FT-IR, CD, NMR, SHG, FLIM vs. kolagen, nekonečný příběh

pátek 10:30

P. Sauerová, M. Verdánová, B. Bílková a kol.

Kyselina hyaluronová a její různé využití v biomedicínských aplikacích

pátek 11:00

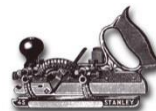
A. Kromka a kol.

Použití diamantových vrstev v bio-vědách

pátek 11:40

A. Brož, L. Ostrovská, P. Sauerová a kol.

Výzvy práce s nanokrystaly v buněčné biologii



úterý 14:00

Martin Hof

Lipid organization in model membranes: what are nanodomains, clusters or even rafts?

J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic,
Dolejškova 3, 182 23 Prague 8

hof@jh-inst.cas.cz

Lipid rafts in eukaryotic cells are sphingolipid and cholesterol-rich, ordered membrane regions that have been postulated to play roles. However, it has been difficult to characterize rafts due to their small (nanometer?) size and dynamic properties, and their existence remains controversial. A popular way to learn more on those domains is to use lipid model systems. Specifically, it has been shown that mixtures of sphingolipid, cholesterol, and phosphatidylcholine form systems of coexistence of micrometer sized ordered domains (sphingolipid and cholesterol-rich) and fluid domains. By decreasing the sphingolipid and cholesterol contents the domain size can be reduced down to several nanometers. In the lecture we will use fluorescence techniques developed in our lab to study the dynamic and sizes of such nanodomains or clusters.

úterý 14:50

Jaroslav Fojt, Luděk Joska

Korozní odolnost biomateriálů

Ústav kovových materiálů a korozního inženýrství, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
Technická 5, 166 28 Praha 6

fojtj@vscht.cz

Cílem příspěvku je seznámit posluchače s negativními dopady korozního děje biomateriálů a to jak z hlediska materiálu samotného, tak z hlediska interakce korozních produktů s organismem. Dále pak bude prezentován soubor možností in vitro studia korozní odolnosti materiálů pro bioaplikace. Diskutovány budou možnosti elektrochemických technik i expozičních testů.

úterý 15:30

Luděk Joska¹, Jaroslav Fenc², Jaroslav Fojt¹, Hynek Moravec¹, Elena Filová³

Využití nanostrukturovaných povrchů kovových materiálů v medicíně

¹ Ústav kovových materiálů a korozního inženýrství, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
Technická 5, 166 28 Praha 6

² Beznoska s.r.o., Kladno

³ Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4- Krč

ludek.joska@vscht.cz

Nanostrukturování povrchu titanu a případně jeho slitin bylo a je předmětem stovek studií. Nanostrukturováním je míněno vytváření trubkovitých útvarů s průměrem regulovatelným v rozsahu desítek až stovek nanometrů a v délkách limitovaných v podstatě pouze požadavkem uvažované aplikace. Velice často se vyskytují úvahy o využití v biomateriálové oblasti, důraz je většinou kladen na možné dosažení rychlé osseointegrace modulací nanostruktury. Informace o aplikacích jsou však již méně než sporadické.



16.9.2014

ÚTERÝ



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

V přednášce bude diskutováno nanostrukturování slitiny Ti6Al4V realizované s cílem aplikace na reálných implantátech. Bude popsán stav po-vrchu a hodnocení jeho vlastností jak *in vitro*, tak *in vivo* testy. Výsledky naznačují, že i „surový“ nanostrukturovaný povrch je schopen pozitivně ovlivnit interakci slitiny s „živým“ prostředím.

Poděkování: Práce probíhají v rámci řešení grantu TAČR TA 02010409.

úterý 16:00

Eva Jablonská¹, Jaroslav Fojt², Luděk Joska², Jan Lipov¹, Tomáš Ruml¹

Titanové slitiny s nanotubulární povrchovou úpravou pro ortopedické aplikace

¹ Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6

² Ústav kovových materiálů a korozního inženýrství, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6

eva.jablonska@vscht.cz

Titan a jeho slitiny určené zejména pro ortopedické a dentální aplikace se vyznačují dobrými mechanickými vlastnostmi a jsou v těle velmi dobře snášeny. Jedná se však o bioinertní materiály, které nejsou schopny aktivně stimulovat tvorbu kostní hmoty. Jednou z možností úpravy titanu a jeho slitin je příprava povrchových nanotubulárních struktur, neboť nanoskopická drsnost je považována za pozitivní z hlediska adheze a růstu buněk. Nanostrukturovaný povrch navíc přednostně podporuje adhezi osteoblastů. Tyto nanotubičky mohou být připraveny anodickou oxidací v přítomnosti fluoridových iontů. Morfologie tubulárních struktur je závislá na elektrochemických parametrech a na složení roztoku. Zatím není zcela jednoznačné, jaké rozměry nanotrubíček jsou pro podporu osteokonduktivních vlastností nejvhodnější. Další směr vývoje v této oblasti spočívá také v chemickém a tepelném ošetření a v přípravě nanostrukturovaných povrchů na nových titanových slitinách.

Práce se zabývá *in vitro* testováním slitiny Ti-6Al-4V s nanotubulární povrchovou úpravou (průměr trubiček 50 a 100 nm) s použitím buněčné linie Saos-2. Byla sledována kolonizace materiálu buňkami po jednou, dvou a pěti dnech po vizualizaci jader (DAPI) a F-aktinu (faloidin-TRITC) a hodnocena morfologie a počet buněk. Dále byla stanovována aktivita alkalické fosfatasy po sedmi dnech inkubace po lýzi buněk pomocí chromogenního substrátu (p-nitrofenylfosfát). Buňky se morfologicky výrazně nelišily a také počet buněk byl srovnatelný na vzorcích s a bez nanostruktury. Také se nám nepodařilo detekovat žádné rozdíly v aktivitě alkalické fosfatasy mezi vzorky. Do budoucna plánujeme pro detekci osteokonduktivních vlastností materiálů použití dalších metod (imunofluorescenční a imunochemická detekce talinu a vinkulinu a sledování ex-prese osteokalcinu na úrovni mRNA).

Poděkování: Podporováno Technickou agenturou České republiky (grant č. TE01020390) a MŠMT ČR (č. 20/2014).

úterý 16:20

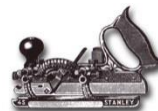
Zdeněk Tolde, Ladislav Cvrček, Vladimír Starý

Tribologické metody testování povrchu biomateriálů

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

tolde.zdenek@gmail.com

Prezentace je zaměřena na vysvětlení pojmu tribologie a popisu principu základních metod, které lze použít pro stanovení tribologických vlastností. Tření a především jeho důsledky se vyskytují u většiny implantátů, u nichž dochází ke vzájemnému pohybu, např. pohyblivá kloubní



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

spojení nebo pohyb povrchu implantátu s měkkými tkáněmi (svaly, šlachy). Otěrové částice, které vznikají v důsledku tohoto pohybu, mají zásadní vliv na proces aseptického uvolnění implantátu. Proto se studium otěrových částic dostává do popředí zájmu a je nezbytné při vývoji nových materiálů nebo povrchových úprav, které zaručí zvýšenou odolnost implantátů vůči otěru. V práci budou prezentovány metody vyhodnocování tribologických vlastností a otěrových částic, spolu se současným stavem řešení na našem pracovišti.

úterý 16:40

Jakub Kronek

Otěrové zkoušky kloubních náhrad a jiné zajímavosti

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

kronek.jakub@seznam.cz

K selhávání endoprotéz a nutnosti jejich reoperací dochází u většiny pacientů v důsledku otěru artikulujících ploch. To platí jak pro kyčelní, tak pro kolenní náhrady. Není proto třeba extra zdůrazňovat význam znalosti otěrového chování náhrad se všemi svými lékařskými, ekonomickými a společenskými aspekty. Simulování reálných otěrových podmínek kloubních náhrad je nákladné a zdlouhavé. Zvláště, když jde o proces návrhu nové náhrady, kdy se teprve ladí materiály nebo technologické (povrchové) úpravy. Klasické tribologické testy jsou naproti tomu levné a relativně rychlé, často ale nepostihnou právě ten fyzikální fenomén, který je pro otěr dané součásti zásadní. U polymerů může jít například o kombinaci smyku a odvalování nebo často skloňovaný cross-shear. U DLC vrstev (a jejich mezivrstev) zase nedávno objevený mechanobiologický vliv prostředí v těle. Tento příspěvek popisuje metodiku navrženou jako kompromis mezi oběma přístupy. Jde o testování otěru kontaktních dvojic inspirované skutečnými podmínkami, ale stále dostatečně rychlé a levné, aby bylo možné testovat vzorky v řádu desítek kusů. Součástí vyhodnocení otěru je měření pomocí bezkontaktního 3D souřadnicového profilometru.

úterý 19:00

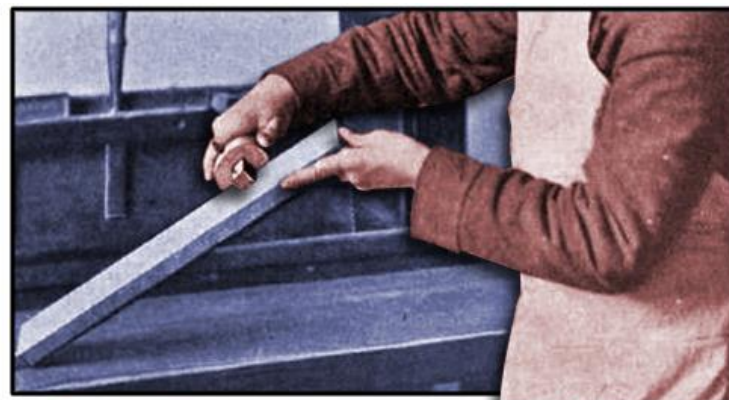
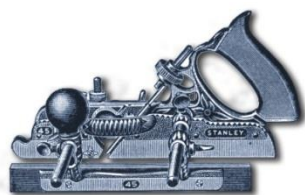
Ivan Janda

Vliv jevů v zemské atmosféře na vlastnosti biomateriálů: neobvyklé změny v porostech obilnin

soukromý címrmanolog, Praha

ivan.janda@gmail.com

V porostech obilnin na šesti lokalitách v okolí Prahy byly pozorovány zvláštní lineární agroglyfy. Půdní podloží bylo zkoumáno běžnými pedologickými metodami a nebyly nalezeny prakticky žádné rozdíly mezi agroglyfy a nenarušenými oblastmi. Naproti tomu biomateriály z polehlých stébel vykazovaly změněný obsah alkalických kovů a zvýšenou hladinu záření beta. Při biotrickém průzkumu jsme zaznamenali abnormální náhlé vyhasínání odezvy a podobný efekt jsme pozorovali i při měření *solid-state* elektrometrem. Zjistili jsme, že v agroglyfech došlo ke vzniku agregovaných spinových micel. Slabé magnetické pole micel jsme proměřili přístrojem založeným na spin *exchange relaxation-free* (SERF) magnetometru a získané digitální signály následně podrobili počítačové analýze. Jejich interpretace je hlavním předmětem této přednášky.



17.9.2014

STREDA



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

středa 9:00

Elena Filová

Interakce buňka-materiál

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

filova@biomed.cas.cz

Interakce buněk s přírodními nebo umělými materiály začíná adsorpcí proteinů na povrch a pokračuje adhezí buněk na materiál. Specifická adheze buněk je zprostředkována integrinovými receptory, které jsou součástí mnohých signálních drah. Dobrá adheze buněk k povrchu materiálu je předpokladem jejich přežití, proliferace, migrace, maturace a diferenciace. Adheze buněk je ovlivněna tvrdostí, mikrodrsností a nanodrsností, velikostí pórů, chemickým složením povrchu, jeho smáčivostí, nábojem, povrchovou energií, nebo přítomností peptidů umožňujících přímou specifickou adhezi buněk. Materiály často nemají vhodné vlastnosti, ale je možné je modifikovat. Cílem je často zlepšit bioaktivní vlastnosti povrchu, např. cíleně zlepšit diferenciaci buněk. Antiadhezivní povrchy naopak nesmí umožnit buněčnou adhezi. Každý buněčný typ preferuje mírně odlišné vlastnosti materiálů, přičemž jako optimální se často jeví ten, který se nejvíce podobá původní tkáni složením, strukturou a biomechanickými vlastnostmi.

Poděkování: Podpořeno granty: GAČR - projekty č. P108/12/G108, P107/12/1025 a P108/11/1857 a TAČR - projekt č. TA04011345.

středa 9:40

Tereza Kubíková¹, Eva Filová², Eva Prosecká², Martin Plencner², Zbyněk Tonar¹

Přínos histologie při posuzování in vivo hojení ran při aplikaci tkáňových nosičů

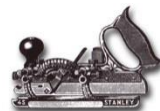
¹ Ústav histologie a embryologie a Biomedicínské centrum, LFUK v Plzni

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

terez.kubikova@lfp.cuni.cz

Při *in vivo* hodnocení hojení ran je výhodné použít histologické metody vyšetřování, které odhalí přítomnost a kvantitu jednotlivých tkáňových komponent. Cílem práce je představit možnosti a omezení histopatologických metod při hodnocení in vivo hojení ran. Frakce kolagenu typu I ve tkáni přispívá k mechanické odolnosti tkáně. Rostoucí poměr kolagenu typu I/III ve tkáni znamená maturaci mechanicky pevného kolagenu z prekurzorového typu III. Histologicky lze kolagen typu I a III rozlišit při přehledném barvení pikrosiriovou červení a za použití polarizovaného světla při mikroskopickém vyšetřování. Vysoký plošný podíl vláken elastinu ve tkáni přispívá k její pružnosti. Elastin zviditelníme např. metodou modifikovaného zeleného trichromu s Verhoeffovým hematoxylinem. Přítomnost myofibroblastů ve tkáni přispívají ke kontrakci rány. Myofibroblasty obsahují ve své cytoplazmě aktin, jež je možné detekovat pomocí protilátky proti α -hladkosvalovému aktinu. Vysoká hustota mikrocév přispívá k regeneraci a růstu tkáně. Endotel cév zviditelníme reakcí s protilátkou např. anti-von Willebrandovým faktorem, anti-CD31 nebo anti-CD34. Zánětlivé buňky v defektu se podílí na imunitní odpovědi organismu na poranění. Neutrofilní granulocyty reagují s protilátkou anti-myeloperoxidasou, T-lymfocyty s anti-CD3, B-lymfocyty s anti-CD20 a makrofágy s protilátkou anti-MAC387. Vysoký plošný podíl glykosaminoglykanů ve tkáni přispívá k její regeneraci. Glykosaminoglykany zviditelní přehledné histologické barvení alcianovou modří (+ PAS Periodic Acid Schiff). Osteoblasty a novotvořenou kostní matrix, podílející se na výstavbě kostí a zubů, lze detekovat pomocí protilátky anti-osteokalcin.

Po detekci a vizualizaci je vhodné jednotlivé tkáňové komponenty kvantifikovat pomocí nevychýlených stereologických metod včetně orientování a patřičného víceúrovňového vzorkování



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

tkáňových bločků, histologických řezů a zorných polí mikroskopu. Výsledkem kvantitativní histologické analýzy jsou obvykle spojitě proměnné, které lze využít k standardnímu testování statistických hypotéz.

Poděkování: Podporováno projektem ED2.1.00/03.0076 Evropského fondu pro regionální rozvoj.

středa 10:00

Jana Lišková¹, Dennis E. Discher², Lucie Bačáková¹

Jak tuhost podkladu ovlivňuje diferenciaci buněk?

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

² Molecular and Cell Biophysics Lab, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA

janefox@biolog.cz

Různé tkáně se vyznačují různou tuhostí, což je způsobeno složením mezibuněčné hmoty. Poslední dobou se ukazuje, že buňky míru tuhosti podkladu nějakým způsobem vnímají, jsou tedy mechanosenzitivní, a navíc reagují na tuhost podkladu diferenciací. Bylo ukázáno, že měkký podklad podporuje diferenciaci kmenových buněk směrem k měkkým tkáním, například tuku, zatímco tuhý podklad podporuje diferenciaci směrem k tuhým tkáním, například kosti. Molekulární pozadí této mechanosenzitivity zatím detailně známo není, ale ukazuje se, že klíčovou roli ve zprostředkování mechanosenzitivity hraje protein jaderné laminu lamin A. Množství laminu A v buňkách se zvyšuje se zvyšující se tuhostí tkáně a zároveň umělé snížení hladiny laminu A v kmenových buňkách znesnadní osteogenní diferenciaci těchto buněk. Lamin A spolu s laminem B patří do rodiny intermediárních filament. Mutace genu pro lamin A způsobují mnoho vrozených chorob, například progerii nebo různé muskulární dystrofie. Geneze těchto chorob je neznámá, může ale rovněž souviset s mechanosenzitivitou buněk. Diferenciace buněk v důsledku jejich mechanosenzitivity je rovněž důležitým aspektem při vytváření biomateriálů pro tkáňové inženýrství.

Poděkování: 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.

středa 10:20

Eduard Brynda, Tomáš Riedel, Ondřej Kaplan, Milan Houska
Bioaktivní povlaky stentů a dalších implantátů do krevního oběhu

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

brynda@imc.cas.cz

Při kontaktu krve s cizím povrchem dochází k adsorpci plasmatických bílkovin a adhezí, aktivaci a agregaci krevních destiček a současně je aktivována kaskáda molekulárních reakcí mezi koagulačními faktory vedoucí k přeměně fibrinogenu z periferní krve na fibrin. Výsledkem je krevní sraženina (trombus) tvořená sítí fibrinových vláken obsahující agregáty destiček a zachycené krevní buňky. Cizím je pro krev každý povrch odlišný od neporušeného cévního endotelu-monovstvy cévních endoteliálních buněk (VECs). „Tunica intima“ tvořená endotelem uchyceným na ultratenké bazální membráně vystylá vnitřní povrch cév a srdce. Při poranění cévy je krvácení zastaveno vznikem trombu v místě poškozeného endotelu a fibrinový gel pak slouží jako dočasný substrát pro uchycení buněk opravujících poškozenou tkáň. Těmito buňkami jsou hlavně endoteliální

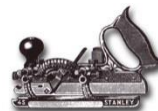


progenitorové buňky (EPCs) produkované v kostní dřeni, které jsou zachycovány z periferní krve. Cizím je pro krev i povrch jakéhokoliv umělého materiálu. Tvorba trombů bývá častou komplikací při aplikaci umělých kardiovaskulárních implantátů. Trombogenicita povrchu syntetických cévních protéz o velkém průměru (>8 mm) je překonávána velkým průtokem krve. Problémy vznikají u protéz o průměru (6–8 mm). Zarůstání trombem prakticky znemožňuje používání syntetických protéz o menším průměru. Životu nebezpečný je vznik trombu uvnitř nebo v blízkosti umělé srdeční chlopně. Po půlstoletí výzkumu je zřejmé, že se nepodaří vyvinout biomateriál, který by nahradil funkci živého cévního endotelu spočívající v aktivním potlačování koagulačních a zánětlivých procesů. Nadějně řešení nabízí bioartifciální protězy, ve kterých je syntetický skeletosídlen buňkami vytvářejícími živou tkáň. Podle idealizované, a dosud nenaplněné představy, tkáňového inženýrství by při použití biodegradabilního materiálu mohla být taková protéza po implantaci do organismu přeměněna v přirozený orgán.

Pro přípravu náhrad poškozených cév nebo chlopní jsme vyvinuli postup napodobující procesy vedoucí k regeneraci poškozené cévy. Povrch polymerního skeletu je pokryt umělým fibrinovým gelem, na kterém je in vitro vypěstována konfluentní monovrstva cévních endoteliálních buněk napodobující cévní endotel. Předpokládá se, že pro implantaci bude použita protéza pokrytá edotelem připraveným in vitro kultivací buněk odebraných z tkáně pacienta (zatím pokusná zvířata). 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. Nejlepší náhradou by byl nosič, na kterém dojde 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. V současnosti vyvíjíme fibrinové povlaky uvolňující vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF) pro podporu endotelizace a povlaky s kovalentně navázaným heparinem potlačující koagulaci krve.

U stentu zavedeného do cévy dochází k akutní tvorbě trombů během prvních několika měsíců asi u 2% pacientů. Mnohem častější komplikací způsobuje opět zúžení koronární tepny (restenóza) vlivem ztlustění cévní stěny v okolí stentu způsobeném množением cévních hladkých svalových buněk a jejich migrací ze střední vrstvy cévy „tunica media“ do „tunica intima“ (neointimální hyperplasie). Na rozdíl od přirozené „tunica intima“, s monovrstvou endoteliálních buněk na povrchu, obsahuje nově vytvořená „neointima“ 3D tkáň z hladkých svalových a endoteliálních buněk a kolagenové mezibuněčné hmoty. Příčinou je pravděpodobně zánětlivá reakce na přítomnost stentu. Neointimální hyperplasi, ke které obvykle dochází během 3 až 6 měsíců, může s následně vyvolanou aktivací opožděné trombózy vést až k uzavření cévy. Z tohoto důvodu jsou v současné době kromě holých kovových stentů používány stenty povlečené polymerní vrstvou uvolňující sirolimus nebo paclitaxel potlačující proliferaci hladkých svalových buněk. Jedna z patentovaných metod pokrytí kovových stentů biodegradabilním polyaktidem uvolňujícím sirolimus byla vyvinuta v našem ústavu ÚMCH AVČR. Nevýhodou použití těchto stentů je dlouhodobě zvýšená pravděpodobnost opožděné trombózy. Spekuluje se, že uvolňované látky potlačují nejen proliferaci hladkých svalových buněk, ale i proliferaci endoteliálních buněk při regeneraci přirozeného endotelu. V první fázi vývoje jsou resorbovatelné stenty z hořčíkových slitin nebo z degradovatelného polyaktidu uvolňujícího antiprolifativní látky.

Náš tým v současnosti pracuje na povlání stentů fibrinovými strukturami, které by podporovaly jeho přirozenou endotelizaci po zavedení do cévy.



středa 11:00

**Helena Dragounová¹, Elena Filova¹, Markéta Krýslová¹, Dana Kubies²,
Ognen Pop-Georgievski², Lud'ka Machová, Eliška Mázl-Chánová²,
Milan Houska², František Rypáček², Lucie Bačáková¹**

Růst kostních buněk na titanu modifikovaném alginátem

¹ Fyziologický ústav, AV ČR, v.v. i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4 – Krč

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

nejsemevzen@gmail.com

Titan je materiál široce používaný pro výrobu kostních náhrad. Pro zlepšení jeho biomimetických, a především osteoinduktivních vlastností je možné ho modifikovat keramikou, například hydroxyapatitem nebo fosforečnanem vápenatým. Alginát je biokompatibilní polysacharid studovaný pro dopravu léčiv, enkapsulaci buněk a tkáňové inženýrství. V tomto projektu jsme připravili titan modifikovaný alginátovou vrstvou s obsahem HA anebo TCP a hodnotili jsme adhezi, rozprostření, růst a diferenciaci lidských osteoblastů Saos-2 na vzorcích na těchto materiálech: titan (Ti), titan + alginát (Alg), titan + alginát + hydroxyapatit (HA), titan + alginát + fosforečnan vápenatý (TCP) a sklo. Buňky jsme nasadili na materiály v hustotě 17 000/cm² a 1., 4 a 7. den jsme je barvili pomocí @LIVE/DEAD Viability/Cytotoxicity kitu. Plochu rozprostření jsme měřili pomocí software Tescan Atlas. Markery adheze a diferenciaci jsme kvantifikovali po imunocytochemickém nabarvení, měřením intenzity buněk na mikrofotografiích. Iničiální adheze osteoblastu byla nejvyšší na Ti, přičemž byla asi o 40% větší než na ostatních materiálech. Nejlepší růst jsme pozorovali na Ti, nejslabší na Alg ve všech časových intervalech. Výrazně nižší plocha rozprostření v porovnání se sklem byla na vzorcích Alg, HA a TCP. Ve dnu čtvrtém se začal projevovat efekt vrstvy alginátu, buňky byli schopné přes vrstvu migrovat až na spodní vrstvu titanu. Tato tendence se dále prohloubila ve dni sedmém. Osteogenní diferenciaci buněk měřená jako intenzita signálu alkalické fosfatázy, kolagenu a osteokalcinu byla nejvyšší na TCP, a trochu na HA a Alg. Na skle a Ti byly intenzity velice nízké.

Poděkování: Supported by the Grant Agency of the CR, a project No. P108/10/1106, and by the Internal Grant Agency of Ministry of Health of the Czech Republic, the project No. IGA, NT13297-4/2012.

středa 11:20

Přemysl Vaněk

Biokompatibilita hodnocená výluhem z materiálů a přímým kontaktem buněk na povrchu substrátu

Fyzikální ústav AV ČR, v.v.i., Na Slovance 2, 182 21 Praha 8

vanek@fzu.cz

Na loňském semináři jsem informoval o možnosti využití elektricky aktivních (piezoelektrických či feroelektrických) povlaků na povrchu implantátů pro pevné tkáně, jak jsou např. kyčelní implantáty či zubní implantáty. Elektrická aktivita těchto povlaků by měla interagovat s elektrickou aktivitou kostí (danou piezoelektricitou kolagenu a potenciálně proudění) a urychlit tak hojení a zlepšit biokompatibilitu.

Takovéto povlaky lze připravit různými technologickými procesy. V přehledném referátu podrobněji popíšu ty, které bychom jako spoluřešitelské pracoviště chtěli využít v navrhovaném projektu GAČR. Jedná se o řadu metod typu sol-gel (pro nanášení vrstev se též používá termín chemical solution deposition), hydrotermální metodu, laserovou ablaci, plasmové nanášení. Dále popíši některé keramické technologie. Budou zmíněny výhody a nevýhody těchto metod. Jako konkrétní biomateriál bude uveden feroelektrický (a tedy i piezoelektrický) oxid titaničito-barnatý BaTiO₃.



středa 14:00

Vítězslav Březina, Monika Homolková

Biokompatibilita hodnocená výluhem z materiálů a přímým kontaktem buněk na povrchu substrátu

Laboratoř tkáňových kultur, Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích

brezinavita@gmail.cz

Biokompatibilita v primárních testech je normovaná a standardní pracovní postupy jsou každoročně kontrolovány státní autoritou. Obvykle jde o vyhodnocení koncové reakce fixovaných buněk, nebo jejich produktů, měřením zabarvení, nebo studiem fluorescenčních zobrazení buněčných struktur. Tyto metody nevyjádří, jak se chovají buňky během pokusu, jde vždy o výsledný efekt. Přinášíme k diskusi dvě metody, které užívají obě techniky. První testuje chování buněk ovlivněných výluhem, anebo rozpuštěných chemických látek. Druhá sleduje interakci buněk s povrchem. Má dvě varianty, jednak technikou vyhodnocení koncového bodu, jednak záznamem růstové aktivity živých buněk na tkáňovém povrchu.

Reakce živých buněk v podmínkách in vitro je modelovým ukazatelem biokompatibilitu zkoušeného materiálu v primárních testech. Princip modelu je založen na zobrazení chování buněk během zkoušky pomocí sběrné mikrokinematografie. Buňky, nebo biologické substráty jsou kultivovány v klasickém kompartmentu kultivačního mikroskopu, to je při 37°C a 5% oxidu uhličitého v 95% vlhkosti prostředí. Populace buněk je filmována po tři dny, intervaly mezi snímky jsou volitelné. Délka pokusu je určena tak, aby kontrolní varianta vykazala alespoň tři generace buněk, a většinou to jsou právě tři dny. Jsou však případy, kdy reakce buněk je tak extrémní, že vyžaduje delší, až týdenní kultivaci. Naopak, někdy je reakce tak výrazná, že postačuje kultivace jeden den, nebo kratší.

Ke zhodnocení chování buněk je k dispozici obrazový záznam pokusu. Ten je vyhodnocován dvěma způsoby, kvalitativní a kvantitativní analýzou filmového snímku. Obě mají svoji validitu, běžná projekce ukáže dynamické změny morfologie, atypie dělení, fúze buněk a mnoho jiných jevů hodných pozornosti. Okénková projekce umožní měření zobrazených jevů, při ní získáme data, vhodná pro statistickou analýzu a umožní interpretaci.

Popsané metody prošly mezilaboratorními zkouškami, které ukázaly meze jejich užití, a přesnost výsledků. Byly takto zkoušeny jak výluhy biomasy, či implantátů, tak i kolonizace buněk na pevných kovových, nebo nekovových substrátech, v současné době věnujeme své úsilí technice, která zobrazuje chování implantovaných mezenchymových kmenových buněk na explantovaný biologický substrát.

středa 14:30

Lucie Himmllová¹, Jiřina Bártová¹, Marta Vandrovcová², Štěpán Podzimek¹

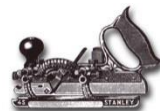
Porovnání produkce cytokinů imunokompetentními buňkami z buffy coat a mesenchymálními kmenovými buňkami HMSC-bm kultivovanými na povrchu titanu

¹ Ústav klinické a experimentální stomatologie 1. LF UK a VFN Praha, Karlovo nám. 32, 121 11 Praha 2

² Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

himmllova@seznam.cz

Biomateriály pro implantaci do kosti jsou testovány nejčastěji na buňkách pojivového aparátu, které reprezentují přijímající tkáň. Nicméně za rejekci implantátu jsou zodpovědné buňky imunitního systému. Titanové povrchy aktivují mononukleární buňky izolované z buffy coatu zdravých dárců krve k tvorbě celé škály cytokinů, které hrají úlohu jak v aktivaci, tak regulaci



imunitní odpovědi. Mesenchymální kmenové buňky HMSC-bm jsou zástupci buněk pojivové tkáně a na rozdíl od buněčných linií jsou schopny produkovat některé interleukiny konstitutivně bez předešlé stimulace.

Cílem studie bylo zjistit, jak může povrchová úprava titanu ovlivnit tvorbu cytokinů mononukleárními buňkami a porovnat ji s produkcí cytokinů HMSC-bm kultivovanými na stejných površích. Studie byla prováděna na terčích o průměru 20 mm a tloušťce 2 mm z titanu grade 2. Mononukleární buňky byly kultivovány na 3 typech povrchů: hladký (Ra - 0,15 µm), s plasmatickým nástřikem titanu - TPS (obojí Beznoska, Kladno) a leptaný směsí kyselin (Fopos, Praha), kmenové buňky byly kultivovány na povrchu s plasmatickým nástřikem titanu.

Mononukleární buňky byly získány z buffy coat zdravých dárců krve gradientovou centrifugací při 600g. Po promytí médiem X-Vivo byly naředěny na koncentraci 10⁸/ml. Na předem připravené sterilní terčičky byly nanášeny 2 ml buněčné suspenze a kultivovány po dobu 5ti dnů v termostatu při 37°C a 5% atmosféře CO₂. V případě kmenových buněk byly vzorky překryty buněčnou suspenzí HMSC-bm buněk o koncentraci 5.000 buněk/cm² v MSC médiu (obojí ScienCell Research Laboratories) s přidavkem růstových faktorů, antibiotik a antimitotik, a 5% fetálního séra. HMSC-bm byly kultivovány po dobu 3, 7 a 11 dnů při 37°C v termostatu s vlhčenou atmosférou s 5% CO₂. Kontrolou byla kultivace obou typů buněk na TCPS, supernatant mononukleárních buněk kultivovaných pouze v médiu sloužil jako kontrola pozadí. Po kultivaci byly cytokiny v médiu stanoveny multiplexovou analýzou RayBio Human Inflammatory Array 3. Získaná data byla digitalizována a intenzita reakce měřena pomocí obrazové analýzy.

Během experimentu došlo k výraznému poklesu počtu HMSC-bm buněk v porovnání s kontrolním materiálem (TCPS). Nižší proliferace ale neovlivňuje produkci cytokinů a chemokinů do supernatantu. HMSC-bm oproti imunokompetentním buňkám buffy coat produkují jiné spektrum cytokinů a chemokinů a často v nižší dávce. U HMSC-bm byla detekována vyšší tvorba chemokinů, které aktivují chemotaxi a aktivaci monocytů, granulocytů, neutrofilů. Oba typy buněk produkovaly cytokiny IL-10, IL-16, MIP-1b, RANTES a TIMP-2. Významná je produkce IL-10, který tlumí projev zánětu - tlumí syntézu ostatních cytokinů v buňkách. Hodnoty cytokinů produkovaných mononukleárními buňkami na jednotlivých typech povrchů jsou srovnatelné, nižších hodnot dosahuje častěji povrch s plasmatickým nástřikem titanu (TPS).

Poděkování: Příspěvek vznikl za podpory projektu Interní Grantové Agentury Ministerstva zdravotnictví ČR č. NT 13297 – 4.

středa 15:00

Petr Mikeš, Věra Jenčová, Jiří Chvojka, Aleš Šaman, Kateřina Pilařová, David Lukáš

Funkcionalizované 3D nanovláknenné kompozitní materiály pro tkáňové inženýrství

Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů, Technická univerzita v Liberci

p.mikes@seznam.cz

Nanovláknenné materiály jsou dobře známé pro svou dobrou buněčnou adhezi a porozitu. Nevýhodou těchto materiálů jsou jejich mechanické vlastnosti a malá velikost mezi-vláknenných pórů. Mechanické vlastnosti se však dramaticky mění po vaskularizaci vyrobeného scaffoldu. Pro dobrou vaskularizaci je však nutné, aby buňky měly dostatek prostoru pro proliferaci vertikálním směrem do vnitřních vrstev nosiče.

Tento problém je možné řešit buď kombinací nanovláken s mikrovláknem, hydrogely, částicemi apod. Druhý způsob je řízená degradace nanovláknenné vrstvy v závislosti na rychlosti buněčné proliferace. Pro zajištění dobré buněčné proliferace je nutné neustále dodávat růstové či proliferační



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

faktory. Toho je možné dosáhnout buď koaxiálními nanovláknými nebo enkapsulací aktivních látek. Obě zmíněné metody mají své výhody i nevýhody.

Pro každý konkrétní případ je nutné specifikovat konkrétní materiál a technologii, kterou budou dané tkáňové náhrady vyráběny. Během prezentace budou postupně představeny jednotlivé technologie pro výrobu nanovláken a jejich možných modifikací. Dále budou představeny tkáňové náhrady prvních malo-průměrových cév, na nichž bude demonstrován celkový komplexní přístup tkáňového inženýrství.

středa 15:30

Petr Exnar¹, Irena Lovětinská-Šlamborová^{1,2}

Speciální hybridní vrstvy připravené metodou sol-gel a jejich biomedicínské aplikace

Katedra chemie¹, Ústav zdravotnických studií², Technická univerzita v Liberci

petr.exnar@tul.cz

Metoda sol-gel je jednou z progresivních metod přípravy speciálních oxidických materiálů. Vedle čistě anorganických materiálů lze touto metodou syntetizovat i řadu speciálních anorganicko-organických hybridních nebo kompozitních materiálů, které nelze připravit jinou cestou. V současné době má metoda sol-gel největší význam pro přípravu speciálních nanovrstev, nanovláken a nanoprášek.

Jednou z velmi perspektivních aplikací nanovrstev jsou antimikrobiální nanovrstvy na bázi TMSPM (3-(trimethoxysilyl) propylmethakrylátu) obsahující iontově vázané kationty stříbra, mědi a zinku. Antimikrobiální vrstvy s dlouhodobou účinností mohou být aplikovány na povrchy prakticky všech materiálů (kovy, sklo, keramika, textilie, plasty mimo teflonu). Potenciálně mohou být nanovrstvy podobného typu použity i pro jiné účely, například pro imobilizaci organických agens (léčiv, enzymů apod.) nebo jako inertní nebo naopak aktivní mezivrstvy v biomedicině.

středa 16:00

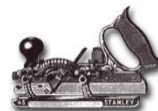
Irena Lovětinská-Šlamborová^{1,2}, Petr Exnar¹

Biomedicínské aplikace anorganických nanovláken na bázi oxidu křemičitého

Katedra chemie¹, Ústav zdravotnických studií², Technická univerzita v Liberci

irena.slamborova@tul.cz

Textilní krytí ran jako jsou obvazy a náplasti jsou historicky známé a široce používané v medicínských aplikacích. Současná textilní krytí v sobě skýtají řadu terapeutických problémů např. špatné přilnutí k ráně, přisychání obvazu k ráně, vysoká nasákavost a tím zatížení rány. Tyto problémy řeší nanovláknenné substráty na bázi oxidu křemičitého, které mají kromě vysokého měrného povrchu další řadu terapeutických výhod kopírování povrchu rány, biodegradabilita, dobrá snášenlivost a další. Křemičitá nanovláknna se připravují pomocí sol-gel metody a následně jsou elektrostaticky zvlákněna. Po jejich tepelné stabilizaci je možné na jejich povrch imobilizovat různé typy biomolekul antibiotika, enzymy, dezinfekční látky), které se uplatňují při léčbě těžce se hojících ran. Velkou výhodou křemičitých nanovláken je jejich postupná rozpustnost a tím postupné uvolňování imobilizovaných biomolekul v různých tělních tekutinách.



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

středa 16:20

**Markéta Bačáková^{1,2}, Tomáš Riedel³, Milan Houska³, Denisa Stránská⁴,
Eduard Brynda³, Lucie Bačáková¹**

Modifikované nanovláknenné membrány pro kožní tkáňové inženýrství

¹ Odd. biomateriálů a tkáňového inženýrství, Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 14220 Praha 4 – Krč

² 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze, V Úvalu 84, 15006, Praha 5

³ Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v.v.i., Heyrovského nám. 2, 16206 Praha 6

⁴ Elmarco Ltd., V Horkách 76/18, 460 07 Liberec

marketa.bacakova@biomed.cas.cz

V posledních letech jsou nanovláknenné materiály velmi atraktivní v tkáňovém inženýrství. Oproti konvenčně používaným planárním nebo mikrostrukturovaným materiálům lépe napodobují strukturu vláknitých složek extracelulární matrix. Díky tomu jsou nanostrukturované materiály schopny z okolního prostředí lépe adsorbovat proteiny zprostředkující adhezi a růst buněk ve vhodných prostorových orientacích, které jsou dobře přístupné pro buněčné adhesní receptory - integriny. Většina modelů pro konstrukci kožních náhrad obsahuje umělý či biologický materiál sloužící k uchycení fibroblastů (dermální složka) a následné kultivaci keratinocytů (epidermální složka). Klinicky používané kožní náhrady většinou obsahují neresorbovatelný materiál nebo živočišnou složku, a tudíž plní svoji funkci jen dočasně a postupně dochází k jejich odhojování. Slibným přístupem se jeví vytvořit nosič, který by byl tvořen nanovláknennou membránou z biodegradabilního polymeru, který by mohl být organismem postupně resorbován a nakonec nahrazen nově vytvořenou kožní tkání. Pro zlepšení adheze a růstu kožních buněk může být biodegradabilní membrána potažena biomolekulami přítomnými v přirozené kožní tkáni (např. kolagen, hyaluronan) nebo vyskytujícími se při hojení ran (fibrin).

Práce se zabývá sledováním adheze a růstu lidských primárních dermálních fibroblastů a keratinocytů linie HaCaT na polyaktidových nanovláknenných membránách potažených fibrinovou sítí, kolagenem, fibronectinem a kyselinou hyaluronovou (mol. hm. 90-130 kDa). Výsledky ukázaly, že lidské dermální fibroblasty preferenčně adherovaly na membránách s fibrinem, fibrinem s fibronectinem a kolagenem s fibronectinem. Na membránách potažených fibrinem a fibrinem s fibronectinem byla naměřena nejvyšší metabolická aktivita fibroblastů. Navíc fibrin stimuloval fibroblasty ke zvýšené produkci kolagenu. Lidské keratinocyty linie HaCaT preferenčně adherovaly na membránách potažených kolagenem a kolagenem s fibronectinem. Kyselina hyaluronová také podpořila adhezi a růst lidských dermálních fibroblastů.

Poděkování: Podporováno Grantovou agenturou Univerzity Karlovy v Praze GA UK, (č. 38214) a Grantovou agenturou České republiky grant (č. P108/12/G108).

středa 16:40

**Jana Musílková¹, Katarina Novotná¹, Vladimír Proks², František Rypáček²,
Lucie Bačáková¹**

Indukované zrání kontaktů buňka-matrix a buňka-buňka ve statickém a dynamickém systému

¹ Odd. biomateriálů a tkáňového inženýrství, Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

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

musilkova@biomed.cas.cz

Při vývoji moderních bioarteficiálních cévních náhrad metodami tkáňového inženýrství hraje zásadní úlohu optimalizace podmínek pro vytváření specializovaných buněčných spojení mezi buňkou



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

a extracelulární matrix a mezi buňkami navzájem. Většina buněk v mnohobuněčném organismu je organizována do kooperujících uskupení, tkání. Proto vytvářejí buněčná spojení, která jsou nezbytná pro životaschopnost, růst, diferenciaci a funkci buněk, a která slouží jednak k jejich zachycení k podkladu (adhezi), jednak k přenosu signálu mezi bunkami a jejich vzájemné komunikaci. Buněčné adheze je realizována pomocí membránových proteinových receptorů, tzv. integrinů. Integriny se mohou vázat ke specifickým doménám, lokalizovaným na proteinech ECM, jako je kolagen, fibronektin, vitronektin, laminin apod. Navázání integrinu k povrchovému ligandu působí shlukování integrinů a formaci fokálních adhezí, které se pak váží na cytoskeleton buňky přes proteiny talin a vinkulin.

V přednášce budou prezentovány výsledky měření adheze buněk k biomateriálu, zprostředkované fokálními adhezními plaky (FAP) a mezibuněčné komunikace pomocí vodivých spojů (gap junctions), získaných na buňkách endotelu z cévy pupečníku (CPAE) a buňkách hladkého svalu srdeční aorty potkana (HSB)

V prvním systému, ve který jsme sledovali adhezi a růst endotlových buněk (CPAE), byl k eliminaci nebo alespoň minimalizaci nespecifické adheze buněk použit jako podklad protein-repulzivní povrch PEO (poly(ethylene oxide)). Ten byl modifikován krátkými oligopeptidickými sekvencemi, např. oligopeptidem nesoucím od fibronektinu odvozenou RGD sekvenci, její variace, oligopeptidickou sekvencí odvozenou od kolagenu, která je zodpovědná za interakci kolagenu a fibronektinu buď samostatně, nebo kolagenovou sekvenci v kombinaci s RGD sekvencí. Sledovali jsme růst buněk a expresi genů adhezních proteinů talin a vinkulin metodou RT PCR.

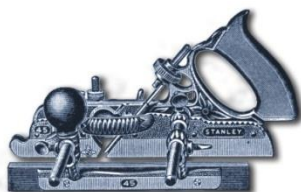
Dále jsme sledovali tvorbu mezibuněčných vodivých spojení, umožňujících mezibuněčnou komunikaci (gap junction). Tento typ pokusů jsme prováděli na buňkách hladkého svalu za podmínek dynamické zátěže uniaxiálního natahování. Byla měřena exprese GJA1, (gap junction proteinu), který je stavební jednotkou mezibuněčného spoje.

Poděkování: Podporováno GAČR (grant č. P108/11/1857).



18.9.2014

ČTVRTEK





BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

čtvrtek 9:00

Jiří Gallo

Komplikace endoprotéz kyčlí a kolen: podíl biomateriálů

Ortopedická klinika LF UP a FN Olomouc

jiri.gallo@fnol.cz

Obávanou časnou komplikací je **infekce kloubní náhrady**, která může postihnout 0,4 až 2% pacientů po primární endoprotéze. Na vzniku této komplikace se biomateriál podílí tím, že „nabízí“ bakteriím povrch vhodný k jejich adhezi a následně tvorbě biofilmu. Kromě toho tlumí lokální imunitní odpověď. V souboji s bakteriální zátěží by mohly u rizikových pacientů a u vícenásobných reoperací pomoci implantáty s antibakteriálními povrchy.

Nejčastějšími pozdními komplikacemi primárních TEP kyčle a kolena jsou **aseptické uvolnění a periprotetická osteolýza**. Z experimentálních a klinických studií vyplývá, že otěrové a korozivní částice uvolňující se z povrchů kloubních náhrad indukují zánětlivou reakci okolní tkáně a narušují rovnováhu v kostní multicelulární jednotce, čímž dochází k resorpci kosti v okolí implantátu. Jakmile se kost kolem části endoprotézy vstřebá, oslabí se fixační spoj mezi TEP a kostním lůžkem a následně dojde k uvolnění endoprotézy. Z dosavadního výzkumu vyplývá, že k zabránění vzniku aseptického uvolnění a periprotetické osteolýzy je třeba v první řadě snížit přívod otěrových a korozivních částic, které se do okolí kloubu uvolňují. Do praxe již byly zavedeny implantáty se zvýšenou odolností vůči otěru. Tento přístup však bude vhodné doplnit o povrchy udržující v dobré kondici nejen kost v okolí fixačního povrchu endoprotézy, ale také měkké tkáně. S poruchami lokální homeostázy těsně souvisí **alergické reakce**. Hledají se vhodné diagnostické testy, které by nám umožnily určit konkrétní typ alergické reakce. Již nyní jsou v klinické praxi používány tzv. antialergické implantáty, které reagují na obavy z alergických reakcí. Využívají se biomateriály, které neobsahují rizikové alergeny anebo se na povrchy konvenčních materiálů nanášejí speciální „izolační“ vrstvy bránící uvolňování potenciálních alergenů do okolí biomateriálu.

Předmětem odborných diskuzí a dlouhodobých klinických sledování je potenciálně **škodlivý vliv částic kovů** uvolňujících se z povrchů TEP, zejména korozi. *In vitro* se sice prokázal jejich **nepříznivý vliv na DNA, resp. na chromozomy**. Avšak ani u kloubního páru kov-kov se nepodařilo doložit, že by expozice trvající až 10 roků zvyšovala riziko vzniku nádorů. Navzdory tomu existuje přirozená poptávka po „bezpečnějších“ technologiích.

čtvrtek 9:40

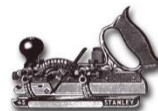
Lukáš Recman, Ivan Pohl

Vývoj degradabilního potahu degradabilního jícnového stentu

ELLA-CS s.r.o., Hradec Králové

lukas.recman@ellacs.eu

Firma ELLA-CS s.r.o. vyvinula degradabilní, samoexpandibilní jícnový stent z polydioxanonového monofilu, který od r. 2008 vyrábí a dodává na trh jako standardní zdravotnický prostředek s CE značkou. Tento stent je určen zejména k uvolnění rekurentních nezhoubných jícnových stenóz. Na základě požadavků trhu firma začala vyvíjet degradabilní potah na zmíněný stent, který by umožnil jeho klinické použití u pacientů s lézí, která penetruje stěnu jícnu a následně dochází k průsaku obsahu jícnu nebo žaludku mimo lumen zmíněných orgánů. Nejprve bylo nutné vybrat degradabilní polymer, který by vyhověl následujícím základním požadavkům:



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

- 1) Materiál by měl být rozpustný v běžném rozpustidle tak, aby umožnil vytváření kontinuálního a homogenního potahu na stentu metodou rotačního odlévání.
- 2) Mechanické vlastnosti materiálu v suchém stavu by měly být: Youngův modul <100 MPa, minimální mez kluzu, vratná deformace 90%, deformace při přetržení > 200%.
- 3) Degradace by měla probíhat tak, aby membrána neztratila odolnost vůči protřetí dříve než za 2 měsíce. Zmíněný požadavek souvisí s maximální předpokládanou dobou hojení jícnových ruptur a průsaků. Potah však nesmí degradovat později než polydioxanon, což souvisí s eliminační rizika vzniku obstrukce střeva nedostatečně degradovaným stentem, na kterém by zůstal nedegradovaný potah.
- 4) Potah stárnoucí při skladování nesmí negativně ovlivňovat funkčnost stentu (narušení integrity, podstatná změna expanzní síly).
- 5) Materiál musí být biokompatibilní podle ČSN EN ISO 10993. Degradací produkty nesmějí vést k poškození pacienta.
- 6) Cena materiálu musí umožňovat ekonomickou výrobu finálního produktu.

Firma ELLA se na základě rešerše degradabilních polymerů rozhodla, že zmíněným požadavkům by mohly vyhovět degradabilní polyuretany. Při vývoji polymeru se spojila s klatovskou firmou Wilens (ing. Novák, ing. Wirthová), která zajistila syntézu a základní testování. Byla zajištěna patentová ochrana a provedeno testování biokompatibility materiálu. Nyní je vývoj ve stadiu přípravy klinické zkoušky.

čtvrtek 10:00

**Václav Švorčík¹, Jakub Siegel¹, Zdeňka Kolská², Alena Řezníčková¹,
Nikola Slepíčková Kasálková¹, Petr Slepíčka¹**

Příprava a charakterizace nanostrukturovaných biomateriálů na bázi polymerů

¹ Ústav inženýrství pevných látek, Vysoká škola chemicko-technologická Praha, 166 28 Praha

² Ústecké materiálové centrum, Přírodovědecká fakulta, Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, 400 96 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 2D nanostruktur především na polymerních substrátech. Je diskutována možnost povrchové modifikace materiálů a následné chemické roubování aktivovaných povrchů použitím kovových nebo uhlíkových nanočástic. Tento výzkum je směřován pro potenciální aplikace výsledků zejména do oblasti tkáňového inženýrství (např. léčba ztráty kožního krytu a cévní protězy).

Adheze a proliferace buněk bývá často spojována i s chemickým složením povrchu substrátu. Modifikací polymerního materiálu dochází k tvorbě různých „nových“ funkčních skupin na povrchu a to ovlivňuje míru adheze buněk. V literatuře se uvádí, že na polárních a kladně nabitých površích (např. obsahujících skupiny jako jsou –OH, –NH₂), je prostorová konformace adsorbovaného fibronektinu pro vazbu s osteoblasty prostřednictvím jejich integrinových receptorů výhodnější než na nepolárních a negativně nabitých (tj. na površích obsahujících –CH₃ a –COOH skupiny). Morfologie povrchu je další důležitou vlastností materiálu, která může podstatně měnit míru interakce buňka-materiál. Nanostruktura povrchu může významně ovlivnit adhezi lidských osteoblastů. Povrchy polymerů přirozeně nevyhovují speciálním požadavkům pro jejich aplikace, nesplňují nároky na smáčivost, biokompatibilitu, adhezi, tření, aj. Pro dosažení požadovaných vlastností je proto nezbytná úprava povrchu, ale tak, aby celkové objemové vlastnosti daného materiálu byly nezměněny. Obecně lze povrchové úpravy materiálů rozdělit na chemické a fyzikální. Modifikační procesy používané k úpravě chemického složení povrchů polymerů zahrnují dvě kategorie:



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

(i) modifikace přímou chemickou reakcí s daným roztokem (mokrá modifikace); (ii) tvorba kovalentní vazby vhodných makromolekulárních řetězců k povrchu materiálu (roubování). Principy založené na fyzikálních metodách modifikace polymerních povrchů lze také kategorizovat do dvou skupin: (i) zahrnuje modifikaci povrchové vrstvy materiálu; (ii) týká se depozice jiné vrstvy na povrch stávajícího materiálu. První skupina vyžaduje tvorbu vysoké energetických částic, např. radikálů, iontů nebo molekul v excitovaných elektronických stavech. Ve druhém případě, tj. depozice vrstvy na povrch polymeru, je využíváno plazmatických technik (naprašování, plazmová polymerace) nebo tepelně či elektronovým svazkem indukovaného napařování.

Poděkování: Tato práce vznikla za podpory grantů GAČR P108/10/1106 a 13-06609S.

čtvrtek 10:40

Zdeňka Kolská¹, Václav Švorčík², Michaela Nagyová², Alena Řezníčková²

Zvýšení cytokompatibiliti roubováním cysteaminu na plazmatem upravené povrchy polymerů

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

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

zdenka.kolska@ujep.cz

Polymery jsou materiály velmi oblíbené pro své excelentní vlastnosti v mnoha oblastech průmyslu, výzkumu či běžného života. Při některých aplikacích, např. v oblastech tkáňového inženýrství, je však inertní povrch polymerů mnohdy nevhodný a je třeba povrchové vlastnosti změnit tak, aby lépe vyhovovaly plánovanému využití. Mezi důležité povrchové vlastnosti, které mají klíčový vliv na adhezi a proliferaci buněk, patří povrchová chemie, náboj, polarita, smáčivost, drsnost a morfologie povrchu. V literatuře je popsáno mnoho technik a postupů, fyzikálních, chemických, fyzikálně-chemických, vedoucí ke změnám povrchových vlastností za současného zachování objemových vlastností.

Jedním z postupů, které jsme testovali, je roubování thiolů na plazmatem upravené povrchy polymerů. Velmi zajímavé výsledky jsme získali při roubování cysteaminu. Cysteamin byl vázán na polymerní folie různé polarity (PLLA, PS, LDPE, HDPE, PET, PTFE, PVF a PVDF), které byly předtím modifikovány plazmatem (Ar plasma, 8W, 120s). Povrchové vlastnosti polymerů před a po jednotlivých krocích modifikace byly sledovány několika metodami: XPS, elektrokinetická analýza, goniometrie, AFM. Některé z testovaných folií byly dále testovány na adhezi a proliferaci VSMCs *in vitro* testy.

Výsledky těchto studií ukazují, že jak působení plazmatu, tak následné roubování cysteaminu významně ovlivňují testované povrchové vlastnosti a mají významný vliv na adhezi a proliferaci buněk (VSMCs).

Poděkování: Tato práce vznikla za podpory grantů GAČR P108/10/1106 a 13-06609S.

čtvrtek 11:00

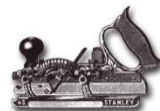
David Pokorný

Problematika životnosti povrchu artikulacních náhrad

1. ortopedická klinika, 1. LF UK v Praze a FN Motol

david.pokorny@lf1.cuni.cz

Kloubní náhrady umožňují řešit některá kloubní onemocnění, odstraňují pacientům bolest a navrací jim možnost pohybu. Jen v České republice se provede ročně přes 20 tisíc operací. Kloubní náhrada dnes již zdaleka není výkonem pouze pro biologicky staré a méně aktivní pacienty.



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

Běžně jsou operováni lidé ve 4 decéniu i mladší, často i velmi aktivní. Proto nároky na životnost a kvalitu kluzných - artikulacních povrchů těchto komponent zásadně narostly. S větším zatížením artikulacních povrchů a jejich opotřebením se ale neudržitelně zvyšuje pravděpodobnost nutných reoperací.

Zásadní skutečností pro pacienta je skutečnost, že po celou dobu funkce se z artikulacního povrchu uvolňují otěrové částice - a to u každého materiálu. Tyto částice se totiž šíří do všech okolních tkání a tím je nastartována kaskáda procesů mající za následek destrukci kosti - tedy i kostního lůžka implantátu - endoprotézy. Tento fakt pak zásadně komplikuje všechny reoperace. Při revizní operaci pak nelze pouze vyměnit kluzný povrch. Je nezbytné řešit i vzniklý defekt kostního lůžka a tím zhoršenou možnost fixace celého nového implantátu. U některých pacientů defekty skeletu pánve či stehenní kosti jsou tak rozsáhlé, že implantace umělé kloubní náhrady již není možná.

O optimální funkci kloubních náhrad rozhodují dva hlavní parametry: 1) jak je řešeno spojení implantátu s kostí a 2) jak je řešen kluzný povrch komponent, resp. jaké a jak upravené materiály zajišťují pohyb kloubu. Rozbor druhého parametru je předmětem prezentace.

Obecně se v kloubních náhradách užívá tzv. párování - tedy kombinace dvou různých povrchu (v anglické terminologii): hard-on-hard a hard-on-soft. Jako tvrdé materiály slouží různé kovové materiály nebo speciální keramika.

Nejčastějším měkkým materiálem (téměř výhradně), který v kloubních náhradách slouží jako kluzný povrch, je tzv. ultravysokomolekulární polyethylen (UHMWPE). Zmíněný polymer snese velkou zátěž a jeho otěr je zdánlivě velmi malý. Vzhledem k extrémní expozici při jeho použití jako artikulacního povrchu je i tak jednoznačným je limitujícím faktorem životnosti náhrad. Proto se struktura polymeru cíleně modifikuje, a to zpravidla pomocí ozařování, tepelných úprav a stabilizace biokompatibilními antioxidanty. Modifikace UHMWPE jsou předmětem intenzivního celosvětového výzkumu.

V kyčelních náhradách se postupně prosazují dražší keramické materiály. Zejména párování keramika-keramika. Materiálem je zde nejlépe novější kompozitní keramika zirkonio-korundová BioloX Delta®. Druhou možností je párování keramika-UHMWPE, případně kov-UHMWPE.

V případě kolenního kloubu, ale i kloubu ramenního či hlezenního se užívá prakticky vždy párování kov-UHMWPE.

Současnými trendy ve výzkumu je výzkum zušlechťení struktury UHMWPE a úpravy povrchu - např. změny charakteru z hydrofobního na hydrofilní. Dále se hledají nové - odlišné materiály, které se užívají v jiných oblastech. Jejich průnik do klinické praxe je ale značně ztížen schvalovacími procesy. Probíhá testování materiálů na bázi polymerů PEEK a PCU. Současně nepochybně ještě dále bude optimalizována struktura keramických materiálů.

Výsledky, které primární výzkumné týmy získávají při sofistikovaném testování materiálů v laboratoři, v tomto případě zdaleka nejsou abstraktními čísly. V praxi totiž kvalita párování povrchů rozhodne, zda pacient bude muset prodělat mimořádně náročnou a drahou reoperaci po 15, 30 či 50 letech.

Poděkování: Program je řešen s podporou těchto grantů: IGA MZ ČR NT12229-4/2011, Výzkumný program UK P25/LF1/2 a Projekt MZ ČR 00064203.

čtvrtek 11:40

František Jakubec

Použití digitálního mikroskopu v oblasti materiálů a povrchů

Keyence International Belgium

f.jakubec@keyence.eu

Nový měřicí digitální mikroskop VHX od firmy KEYENCE představuje spojení vysoce výkonné digitální mikroskopie a přesného odměřování. V oboru měřících digitálních mikroskopů se i pro

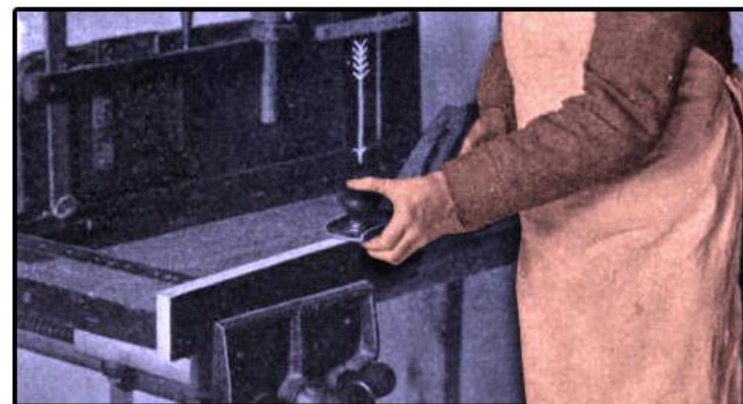
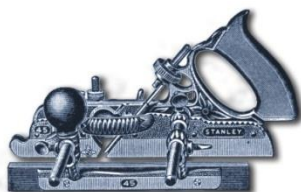


BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

nejnáročnější úlohy rychle stává zcela běžným požadavkem přesné odměřování a rychlé vyhodnocení obrazu. Integrace nejmodernější techniky do výkonné zobrazovací a vyhodnocovací jednotky mikroskopu **VHX-5000** otevřela dveře nové generaci mikroskopů. Hloubka ostrosti optické soustavy mikroskopu VHX je extrémně velká, dvacetkrát větší než u běžných mikroskopů. V kombinaci s funkcí Accurate DFD (Depth from Defocus) to znamená, že mikroskopy VHX poskytují ostrý obraz v podstatě jakéhokoliv vzorku.

Prezentace firmy KEYENCE je umístěna na závěr sborníku.



19.9.2014

PÁTEK



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

pátek 9:00

Karel Balík¹, Tomáš Suchý^{1,2}, Zbyněk Sucharda¹

Jak ubytovat buňky aneb úprava povrchu biokompozitu

¹ Odd. kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH, AV ČR, v.v.i., V Holešovičkách 41, Praha 8

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

balik@irsm.cas.cz

Kompozity na bázi skelné tkaniny (R-sko, Vetrotex, Saint Gobain, Francie) a polysiloxanové matrice (M-130, Lučební závody, Kolín, ČR) byly vytvrzeny a pokryty vrstvou polysiloxanu, do které byly vytvořeny otevřené póry o velikosti: i) 200–400μ, ii) 400–600μ a iii) ≥ 600μ. Vliv velikosti otevřených pórů na osseointegraci byl ověřován testy in vitro, in vivo a mechanickými testy.

pátek 9:40

Monika Šupová¹, Vojtěch Andrlé², Štěpánka Hrdličková Kučková²

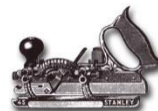
Mapování a identifikace proteinů v bioapatitech používaných ve tkáňovém inženýrství

¹ Odd. kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH, AV ČR, v.v.i., V Holešovičkách 41, Praha 8

² Fakulta potravinářské a chemické biotechnologie, Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT v Praze

supova@irsm.cas.cz

V této práci byla zkoumaná přítomnost proteinů v termicky ošetřených kostech hospodářských zvířat a to prasete domácího, kura domácího, ovce domácí a kapra obecného pomocí hmotnostní spektrometrie. Vzorky kostního prášku byly nejprve štěpeny trypsinem. Následovalo přečištění peptidů na mikrokolonkách s reverzní fází, hmotnostně-spektrometrická analýza a identifikace proteinů dle vhodné proteinové databáze. Cílem práce bylo stanovit závislost obsahu proteinů na použité teplotě žhání (500–1000°C) v hovězích kostech, dále pak také na druhu organismu, ze kterého byla kost odebrána a kvantifikace nalezených proteinů. Dalším cílem bylo srovnání dvou technik hmotnostní spektrometrie a to hmotnostní spektrometrie s analyzátozem doby letu a laserovou desorpci/ionizací za účasti matrice (MALDI-TOF/TOF) a kapalinová chromatografie s ionizací elektrosprejem a tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-ESI-Q-TOF). Metoda MALDI-TOF/TOF se ukázala jako nepoužitelná vzhledem k masivní kontaminaci vzorku, která znehodnocuje výsledné hmotnostní spektrum. Pomocí kapalinové chromatografie s ionizací elektrosprejem a tandemovou hmotnostní spektrometrií bylo identifikováno minoritní množství peptidových řetězců kolagenových sekvencí ve všech vzorcích kromě kuřecí kosti, přičemž není patrná závislost množství nalezených peptidů na teplotě kalcinace. Relativní kvantifikace proteinů ve vzorcích byla stanovena pomocí label-free metod TOP 3 a MeanInt.



BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY VII.

Herbertov, Horní Mlýn, 16. – 19. 9. 2014

pátek 10:00

Tomáš Suchý^{1,2}, Marek Pokorný³, Dan Hadraba⁴, Šárka Rýglová¹, Zbyněk Sucharda¹

FT-IR, CD, NMR, SHG, FLIM vs. kolagen, nekonečný příběh

¹ Odd. kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH, AV ČR, v.v.i., V Holešovičkách 41, Praha 8

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

³ Contipro Biotech, s.r.o., Dolní Dobruč 401, 561 02 Dolní Dobruč

⁴ Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

suchyt@irsm.cas.cz

Kolagenová nanovláknina jsou součástí scaffoldů imitujících extracelulární matrix. Samotné zpracování kolagenu je pro úspěšný scaffold klíčové. Elektrostatické zvláknění je v současnosti považováno za nejperspektivnější metodu pro přípravu kolagenových vláken. Otázkou je, do jaké míry elektrosponing zachová nebo změní přirozenou strukturu kolagenu. Tento příspěvek shrnuje současné postupy pro přípravu kolagenových vláken a vliv některých parametrů přípravy na jejich strukturu a vlastnosti.

pátek 10:30

Pavla Sauerová¹, Martina Verdánová^{2,3}, Blanka Bílková³, Filip Mravec⁴, Tereza Halasová⁴, Miloslav Pekař⁴, Monika Šupová⁵, Zbyněk Sucharda⁵, Šárka Rýglová⁵, Karel Balík⁵, Tomáš Suchý^{5,6}, Marie Hubálek Kalbáčová^{1,3,7}

Kyselina hyaluronová a její různé využití v biomedicínských aplikacích

¹ Biomedicínské centrum LF v Plzni, UK v Praze

² Katedra genetiky a mikrobiologie PŘF UK v Praze

³ ÚDMP 1.LF UK v Praze

⁴ Centrum materiálového výzkumu, Fakulta chemická, VUT v Brně

⁵ Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH, AV ČR, v.v.i.

⁶ Laboratoř biomechaniky, Fakulta strojní, ČVUT v Praze

⁷ Ústav histologie a embryologie LF v Plzni, UK v Praze

pavla.sauerova@gmail.com

Kyselina hyaluronová (HyA) je díky svému širokému spektru biologických funkcí (biokompatibilita, biodegradabilita, možnost chemických modifikací) velmi slibným biomateriálem blízké budoucnosti. Proto bylo použití HyA navrženo pro dvě aplikace – jako nosič léčiv a jako součást nanokompozitních nosičů pro kostní chirurgii.

HyA byla použita v kombinaci s kladně nabitými surfaktanty – CTAB (cetyltrimethylammoniumbromid) a Septonex (carbethopendeciniumbromid) k vytvoření komplexů využitelných pro transport léčiv, DNA či využití v kosmetickém průmyslu. V první fázi výzkumu byla testována cytotoxicita vytvořených komplexů po 24 h kultivace s lidskými osteoblasty. HyA v komplexu s CTAB či Septonexem snížila cytotoxicitu samotných surfaktantů a to v různé míře v závislosti na použitých koncentracích testovaných látek. Dále bylo zjištěno, že pozitivní vliv HyA v komplexu se surfaktanty na přežívání buněk je výraznější v primární (4 h) nepřítomnosti fetálního bovinního séra. Naše dosavadní výsledky ukazují potenciál využití HyA jako užitečného nástroje pro zmírnění cytotoxického vlivu CTAB či Septonexu na lidské buňky.

HyA byla také použita jako jedna ze složek pro vytvoření nanokompozitních nosičů určených pro kostní chirurgii. Cílem tohoto projektu je získat nosič dobře „osaditelný“ mezenchymálními kmenovými buňkami (MSC), na kterém by MSC diferencovaly do buněk kostní tkáně. Nosiče jsou složeny z hyaluronanu sodného, nanovláken alifatických polyesterů, přírodního kolagenu jako matrice a nanočástic přírodního kalcium fosfátu. Materiály jsou zpevňovány různou koncentrací



síťovadla (např. nordihydroguajaretová kyselina - NDGA). Pilotní studie ukázala, že NDGA je jako síťovalo velmi cytotoxická pro lidské osteoblasty. Primární lidské fibroblasty byly vůči NDGA odolnější než osteosarkomová linie buněk. Dále jsme zaznamenali vedlejší cytotoxický účinek sterilizačního činidla plazmové sterilizace (STERRAD®, peroxid vodíku) uvolňujícího se z čerstvě sterilizovaných vzorků do kultivačního média a okolí. V další fázi se zaměříme na testování nových vzorků s jiným typem síťovadla. V současné době jsou ve vývoji vzorky síťované genipinem, glukózou nebo EDC/NHS (1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid/N-hydroxysulfosuccinimide).

pátek 11:00

Alexander Kromka a kolektiv Použití diamantových vrstev v bio-vědách

Fyzikální ústav AV ČR, v.v.i., Cukrovarnická 10, 162 00 Praha 6

kromka@fzu.cz

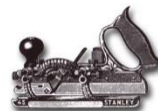
V posledních letech syntetický diamant vykazuje „comeback“ díky novým multi-disciplinárně orientovaným směrům jako je nanoelektronika, senzorka, spintronika, farmacie, cílení transport léčiv, molekulární zobrazování, tkáňové inženýrství nebo regenerativní medicína [1–5]. V rámci uvedených směrů se jedná zejména o diamantové tenké vrstvy a diamantové nanočástice. Syntetické diamantové vrstvy jsou známy nejen unikátní kombinací fyzikálních, mechanických, chemických a elektronických vlastností ale také díky jejich biokompatibilnímu charakteru.

Naše experimentální studie potvrdily, že cílená volba procesních podmínek tvorby diamantových vrstev vede k růstu vrstev požadovaných vlastností, jako jsou morfologie, velikost zrn, chemická čistota nebo elektrická vodivost. Dokážeme tak změnit jednu vlastnost diamantové vrstvy přičemž zachováme jejich zbývající vlastnosti, např. změníme elektrickou vodivost a velikost zrn je konstantní, a podobně. Uvedený fakt předurčuje použití diamantových vrstev jako referenčního materiálu pro základní výzkum interakce bio-objektů s povrchy různých podložek.

Prezentace se věnuje technologii růstu diamantových vrstev specifických vlastností, jako jsou mikro/nano strukturovaný povrch, geometrické uspořádání povrchových struktur (sloupky, ostrůvky), snášivost a povrchový náboj. Cíleně vytvořené diamantové vrstvy byly použity jako substráty pro experimentální biologické studie, které proběhly v úzké spolupráci s externími pracovišti (zejména Fyzikální ústav AVČR, 1. Lékařská fakulta UK a Ústav experimentální medicíny AVČR). Dosažené výsledky v rámci uvedených studií budou korelovány s vlastnostmi diamantových vrstev a bude prezentován model interakce buněk s povrchem diamantu.

- [1] C.-Y. Fang, V. Vijayanthimala, C.-A. Cheng, S.-H. Yeh, C.-F. Chang, C.-L. Li, H.-C. Chang, *Small* 7, 23 (2011).
- [2] K.-M.C. Fu, C. Santori, P.E. Barclay, R.G. Beausoleil, *Appl. Phys. Lett.* 96, 12 (2010).
- [3] L. Bacakova, L. Grausova, J. Vacík, A. Fraczek, S. Blazewicz, A. Kromka, M. Vanecek, V. Svorcik, *Diam. Relat. Mater.* 16, 12 (2007).
- [4] M. Kalbacova, L. Michalikova, V. Baresova, A. Kromka, B. Rezek, S. Knoch, *Phys. Status Solidi B* 245, 10 (2008).
- [5] B. Rezek, M. Krátká, A. Kromka, M. Kalbacova, *Biosens. Bioelectron.* 26, 4 (2010).

Poděkování: Tato studie byla vypracována v rámci podpory Grantové agentury České republiky (P108/12/G108).



pátek 11:40

Antonín Brož^{1,2}, Lucie Ostrovská^{1,6}, Pavla Sauerová^{2,6}, Ľubica Staňková², Štěpán Potocký³, Hiroshi Sugimoto⁴, Minoru Fujii⁴, Jan Valenta⁵, Marie Hubálek Kalbáčová^{1,6}

Výzvy práce s nanokrystaly v buněčné biologii

¹ ÚDMP, 1. LF UK, Praha

² Fyziologický ústav AVČR, Praha-Krč

³ Fyzikální ústav AVČR, Praha

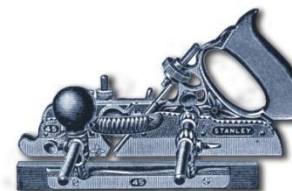
⁴ Department of Electrical and Electronic Engineering, Graduate School of Engineering, Kobe University, Kobe – Japan

⁵ Matematicko-fyzikální fakulta UK, Praha

⁶ Biomedicínské centrum – LF UK, Plzeň

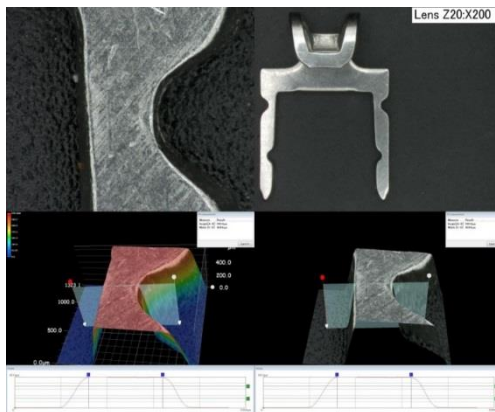
abroz@lf1.cuni.cz

Nanočástice se v posledních několika letech dostaly do středu zájmu v několika vědních oborech. V závislosti na jejich složení či potenciálním využití lze nanočástice rozdělit do několika skupin. Jednou z nejznámějších skupin nanočástic jsou tzv. quantum dots (QD). Jedná se o luminiscenční krystaly z polovodičových materiálů s možností modifikace emisního spektra na základě velikosti nanokrystalů. Tyto nanočástice je možné využít např. v buněčné biologii jako fluorescenčních markerů. Jejich výhodou je chemická stabilita i stabilita fluorescence, naopak nevýhodou z hlediska biologie je jejich potenciální toxicita vzhledem k tomu, že jsou QD vyráběny ze sloučenin např. na bázi kadmia, olova či arsenu. V rámci našeho studia jsme se zaměřili na dvě potenciálně méně toxické alternativy - křemíkové nanokrystaly a nanodiamanty. Při práci s těmito materiály je třeba překonat několik praktických překážek, na které bude tato přednáška zaměřena. Primárním problémem při přípravě nanočástic pro biologické pokusy je dobrá definovatelnost materiálu. Jak v sušině nebo v koloidu totiž může docházet k nekontrolované agregaci nanokrystalů ať už záhy po přípravě nebo v kultivačních roztocích, které jsou používány v biologických experimentech. V souvislosti s agregací je důležité také zmínit médium, ve kterém jsou koloidní nanočástice uchovávány a přepravovány. Často je užíván metanol, který by měl také zabránit bakteriální kontaminaci, ale zároveň není vhodný z hlediska následného použití v biologických pokusech. Dalším důležitým problémem je dostatečně silná luminiscence pro použití v prostředí biologických pokusů. V tomto ohledu mohou být organické fluorofory vysokým kvantovým výtěžkem silnou konkurencí. Luminiscence nanočástic může být zásadně ovlivněna mnoha faktory, mezi které může patřit i složitá kompozice kultivačního média. Pro práci s těmito nanokrystaly v biologii je tedy třeba připravit detailní protokoly pro kvalitní přípravu a uchovávání nanokrystalů, což klade nemalé nároky na mezioborovou spolupráci.



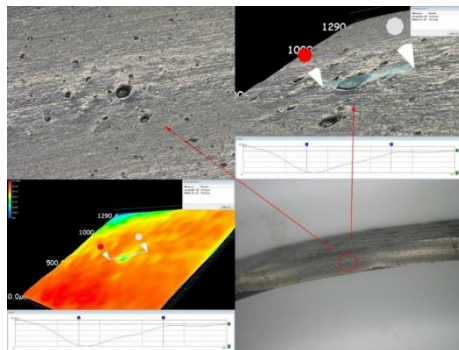
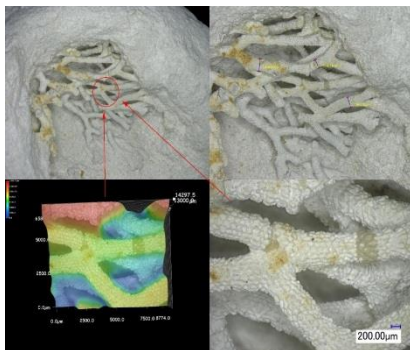
Použití Digitálního mikroskopu v oblasti materiálů a povrchů

Nový měřicí digitální mikroskop VHX od firmy KEYENCE představuje spojení vysoce výkonné digitální mikroskopie a přesného odměřování. V oboru měřících digitálních mikroskopů se i pro nejnáročnější úlohy rychle stává zcela běžným požadavkem přesné odměřování a rychlé vyhodnocení obrazu. Integrace nejmodernější techniky do výkonné zobrazovací a vyhodnocovací jednotky mikroskopu **VHX-5000** otevřela dveře nové generaci mikroskopů. Hloubka ostrosti optické soustavy mikroskopu VHX je extrémně velká, dvacetkrát větší než u běžných mikroskopů. V kombinaci s funkcí Accurate DFD (Depth from Defocus) to znamená, že mikroskopy VHX poskytují ostrý obraz v podstatě jakéhokoliv vzorku.



Živá prezentace mikroskopu bude obsahovat:

- Kamera s optikou pozoruje objekty volně v ruce nebo namontovanou do speciálního stojanu, který umožňuje pozorování z různých úhlů bez změny pozice objektu.
- Přímou na kontroléru lze odměřovat vzdálenosti, poloměry, úhly a plochy.
- Je-li třeba zkoumat větší objekty, je možné použít funkci skládání obrazů.
- Obrazy se skládají v reálném čase, ve 2D nebo 3D zobrazení
- Zvětšení od 0 – 5000X
- Světově unikátní funkce HDR (High Dynamic Range)
- A mnoho dalšího



Seminář Biomateriály a jejich povrchy VII. pořádají Česká společnost pro kompozitní a uhlíkové materiály, Ústav materiálového inženýrství, Fakulta strojní, ČVUT v Praze, Ústav struktury a mechaniky hornin, AV ČR, v.v.i.