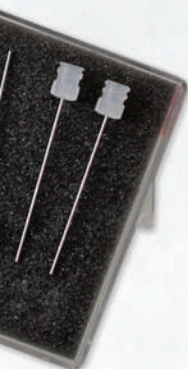


BIOMATERIÁLY A JEJICH POVRCHY XI.

Herbertov, Horní Mlýn, 18.-21.9.2018



AHOJ, JÁ JSEM ANIČKA.
ANIČKA STUNOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM FRANTA.
FRANTIŠEK DENK.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM IVAN.
IVAN JANDA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM JARDA.
JAROSLAV FOJT.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM DAVID.
DAVID CHVÁTIL.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM IVAN.
IVAN JIRKA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM KUBA.
JAKUB KRONEK.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM VÍTA.
VÍTĚZSLAV BŘEZINA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM MARKÉTA.
MARKÉTA KLÍČOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM HONZA.
JAN MIKŠOVSKÝ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM KAREL.
KAREL BALÍK.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM ZUZANKA.
ZUZANKA TROJANOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM RASTA.
RASTA BALLAY.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM JITKA.
JITKA ŘÍHOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM KRISTÝNA.
KRISTÝNA KUBÁŠOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM LUCY.
LUCY VOJTOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM PETRA.
PETRA HÁJKOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM ZDENKA.
ZDENKA ČAPÁKOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM LEOPOLD.
LEOPOLD PLEVA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM MARIE.
MARIE HUBÁLEK KALBACOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM SARAH.
SARAH LEUPEN.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM HONZA.
JAN NĚMEC.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM TOMÁŠ.
TOMÁŠ SUCHÝ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM PETR.
PETR PÍŠARIK.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM TOMÁŠ.
TOMÁŠ KRÍVAN.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM LUCIE.
LUCIE HIMMLOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM LUCKA.
LUCIE VIŠTEJNOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM VERČKA.
VERONIKA GRÉZLOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM PAVLA.
PAVLA SAUEROVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM LUBOŠ.
LUBOŠ ŘEHOUNEK.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM JANA.
JANA JUHÁSOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM ZDENĚK.
ZDENĚK TOLDE.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM KAREL.
RADEK SEDLÁČEK.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM PAVEL.
PAVEL KLEIN.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM PAVLA.
PAVLA GADUŠKOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM PAVLA.
PAVLA GADUŠKOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM ONDRA.
ONDŘEJ SEKÝRKA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM HONZA.
JAN VÍCHA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM PETR.
PETR MIKEŠ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM ZDENĚK.
ZDENĚK DROZD.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM EDA.
EDUARD BRYNDA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM HONZA.
JAN VÍCHA.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM PETRA.
PETRA JAROLÍMOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM PAVLA.
PAVLA GADUŠKOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM FRANTA.
FRANTIŠEK DENK.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM PETR.
PETR BERNARD.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM RADEK.
RADEK DIVÍN.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM VĚRA.
VĚRA SOVKOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM FRANTA.
FRANTIŠEK DENK.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM PETR.
PETR BERNARD.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM RADEK.
RADEK DIVÍN.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

AHOJ, JÁ JSEM VĚRA.
VĚRA SOVKOVÁ.
BIOMATERIÁLY A JEJICH PŮVODY XI.
HERBERTOV, HORNÍ MÝTNĚ, 18.-21.9.2018

Biomateriály a jejich povrchy XI.

Tomáš Suchý, Lucie Vištejnová, Radek Sedláček, Zdeněk Tolde

ISBN 978-80-01-06471-9

Vydalo: České vysoké učení technické v Praze

Zpracovala: Fakulta strojní

Kontaktní adresa:

Tomáš Suchý

Tel.: 266 009 287

Tisk: powerprint s.r.o.

Adresa tiskárny: Brandejsovo nám. 1219/1, 185 00 Praha Suchdol

Počet stran: 96

Náklad: 120

Pořadí vydání: 1.

Praha 2018

ÚTERÝ 18. 9. 2018

ZAHÁJENÍ SEMINÁŘE

úterý 13:30

Zahájení semináře

úterý 13:30

Tomáš Suchý, Radek Sedláček, Zdeněk Tolde a Lucie Vištejnová

Dynamické procesy interakce mezi osobností a prostředím – neanonymní průzkum

9

KALCIUM FOSFÁTY ČTYŘIKRÁT JINAK

úterý 13:50

Monika Šupová, Tomáš Suchý, Zbyněk Sucharda a kol.

The comprehensive in vitro evaluation of eight different calcium phosphates: Significant parameters for cell behaviour

10

úterý 14:20

Lucy Vojtová, Veronika Grézlová, Lenka Michlovská a kol.

Nepředvídatelné vlastnosti antibakteriálního kostního lepidla

11

úterý 14:40 (S)

Petra Hájková a Aleš Jíra

Zhodnocení možnosti determinace lomové houževnatosti skloviny s využitím nanoindentace a metody založené na disipaci energie

13

úterý 15:00

Aleš Jíra, Petra Hájková a Martin Tomanec

Mikromechanické vlastnosti zubní skloviny ovlivněné působením nápojů s hydroxylovými deriváty uhlovodíků

14

COFFEE BREAK (15:20-16:00)

SRDEČNÍ ZÁLEŽITOST

úterý 16:00

Eduard Brynda, Johanka Kučerová, Tomáš Riedel a kol.

Povrchové modifikace biologických nosičů buněk pro kardiovaskulární implantáty

15

úterý 16:20

Hynek Chlup, Tomáš Grus a Mikuláš Mlček

Mechanické testy cév a cévních náhrad

16

úterý 16:40

Elena Filová, Marie Steinerová, Roman Matějka a kol.

Využití fibrinových vrstev uvolňujících růstové faktory pro tkáňové inženýrství chlopní

16

úterý 17:00

Jana Horáková, Andrea Klápšťová, Jan Lukášek a kol.

Heparinizace cévních náhrad aneb „Kam s ním?“

17

úterý 17:20

Roman Matějka, Jana Štěpanovská, Šimon Pražák a kol.

Příprava autologních štěpů na bázi decelularizovaných prasečích perikardů - pilotní studie *in-vivo*

19

VEČEŘE (18:00-19:30)

MOŽNÁ PŘIJEDE I JÁRA

úterý 19:30

Ivan Janda

Cimrman a mexická revoluce

21

POSTEROVÁ SEKCE

úterý 19:50 - 21:00

3

POSTEROVÁ SEKCE

Petr Bernard, Jitka Vondrová, Radek Sedláček, Filip Burget a Michal Mašek Vývoj nové generace prostředků pro dlahovou osteosyntézu dlouhých kostí TH03010418	67
Dagmar Biliková, Anna Stunová, Tomáš Suchý a Lucie Vištejnová Prasečí a potkaní kolageny pro přípravu hydrogelů	68
Veronika Blahnová, Lucy Vojtová, Kateřina Kacvinská a Eva Filová Pěnový scaffold s bFGF pro stimulaci 3T3 fibroblastů	70
Martin Braun, Šárka Rýglová, Monika Šupová a kol. Sledování obsahu vybraných kolagenních a nekolagenních komponent biokompatibilních nanokompozitních materiálů pro tkáňové inženýrství	71
Zdenka Capáková, Věra Kašpárková, Petr Humpolíček a kol. Biological properties of polyaniline films prepared in colloidal dispersion mode	71
Radek Divín, Karolína Vocetková, Robert Srnec a kol. Bioimplantát na bázi peptidového hydrogelu a polymerního nanovláčenného nosiče	73
Jana Dorazilová, Johana Babrnáková, Kristýna Šmerková a kol. Enzymatic Degradation and Bacterial Inhibition of 3D Collagen/Chitosan Scaffolds Doped with Selenium Nanoparticles	74
Veronika Grézlová, Lenka Michlovská, Kristýna Šmerková a kol. Thixotropic polymer-phosphate bone filler modified with antibacterial selenium nanoparticles	75
Tomáš Horažďovský, Petr Vlčák, Zdeněk Tolde a kol. Povrchové modifikace titanu iontovým svazkem pro využití v kloubních náhradách	77
Ivan Jirka, Ivana Kopová a Lucie Bačáková Cytokompatibilita silikalitových povlaků na povrchu kovových materiálů	77
Štefan Juhás, Petra Šmatlíková, Jana Juhásová a kol. Adipogenní diferenciacce mezenchymálních kmenových buněk s mutovaným huntingtinem	78
Jana Juhásová a Štefan Juhás Miniaturní prase – preklinické studie	79
Jan Koutecký, Lukáš Horný, Leopold Pleva a Alexandr Ryppl Vývoj nové generace hřebů pro osteosyntézu dlouhých kostí dolní končetiny FV30348	79
Jakub Kronek a Josef Koláčný Už máš na prstech varhánky? Tak už vylez z té vany aneb od adheze a tření kůže k ergonomii	80
Ján Kužma, Katarína Mendová, Lukáš Horný a Jakub Kronek Možnosti zvýšení poddajnosti cévních náhrad pomocí podélného předpětí	81
Jan Mikšovský, Miroslav Jelínek, Petr Písařík a kol. Mechanické chování tenkých vrstev DLC a DLC/Ti připravených laserovou technologií doplněné o iontové bombardování	84
Petr Písařík, Jan Remsa a Jan Mikšovský Biokompatibilní uhlíkové nanovrstvy pro pokrytí čoček	84
Michala Rampichová, Věra Lukášová, Matej Buzgo a Eva Filová Optimalizace formace osteoklastů z buněčné linie RAW 264.7 a jejich interakce s tkáňovými nosiči	86
Věra Sovková, Andrea Staffa a Karolína Vocetková In vitro stimulace proliferace mezenchymálních kmenových buněk na nanovláčenných nosičích funkcionalizovaných lipozomy s enkapsulovanými růstovými faktory	87
Jana Štěpanovská, Roman Matějka, Jozef Rosina a Lucie Bačáková Dynamická kultivace kmenových buněk na titanové implantáty pro zvýšení osteointegrace	87
Jana Urzová Použití CT zobrazování pro vyhodnocování fotoablačních laser-tkáňových interakcí	89
Kristýna Valová, Lenka Michlovská, Klára Částková a Lucy Vojtová The effect of thermosensitive copolymer addition on rheological properties of CaP bone paste	91

STŘEDA 19. 9. 2018 | DOPOLEDNE

M+S+C (MSC, STEREOLOGY, COLLAGEN)

středa 08:30

Lucie Bačáková, Jana Zárubová, Martina Trávníčková a kol.

Role kmenových buněk dospělých tkání v buněčné terapii a tkáňovém inženýrství

23

středa 9:00 (S)

Martin Bartoš, Tomáš Suchý, Monika Šupová a kol.

Mikro-CT hodnocení vývoje kompozitních nosičů určených pro kostní regeneraci (part 3)

25

středa 9:20 (S)

Anna Stunová, Lucie Vištejnová, Peter R. Mouton a Dagmar Bilíková

Accurate quantification and spatial distribution of fibroblasts in 3-D scaffold

28

středa 9:40 (S)

Jitka Říhová, Tomáš Suchý, Lucie Vištejnová a kol.

Mechanické a strukturní vlastnosti kolagenových nanovláknenných vrstev v simulovaných tělních podmínkách

30

COFFEE BREAK (10:00-10:30)

KOSTI Z RŮZNÝCH ÚHLŮ POHLEDU

středa 10:30

Zbyněk Tonar, Tereza Kubíková, Martin Bartoš a kol.

Volba metod pro kvantitativní hodnocení kostní tkáně - výbrusy, odvápněné histologické řezy nebo mikro-CT?

31

středa 10:50

František Denk ml., Aleš Jíra, František Denk a kol.

Prodlužování dlouhých kostí zevním fixačním aparátem

33

středa 11:10 (S)

Jan Vodička

Predikce remodelačních změn po implantaci krátkého dřívku totální náhrady kyčelního kloubu

34

středa 11:30 (S)

Kristýna Kubášová, Radek Sedláček a Tomáš Suchý

Vliv stabilizace chitosanu na mechanické vlastnosti kompozitních nosičů pro regeneraci kostní tkáně

36

středa 11:40 (F)

Firemní prezentace

Prezentace digitálního mikroskopu firmy KEYENCE s možností nasnímání vlastních vzorků

37

OBĚD (12:30-14:20)

KOVY - TRENDY, ÚPRAVY A ZOBRAZOVÁNÍ

středa 14:20

Zdeněk Drozd a Zuzanka Trojanová
Hoříčkové slitiny a nanokompozity

40

středa 14:50

Luděk Joska, Jaroslav Fojt, Eva Průchová a kol.
Nové trendy využití kovů v medicíně

40

středa 15:10 (S)

Jan Krčil, Vladimír Mára, Stanislav Krum a Václav Nehasil
Anodické oxidace titanových slitin za vyšších napětí

41

středa 15:30 (S)

Petra Jarolímová, Eva Průchová, Vojtěch Hybášek a kol.
Testování bioaktivity modifikovaných slitin titanu

41

COFFEE BREAK (15:50-16:20)

středa 16:20

Jaroslav Fojt, Vojtěch Hybášek, Luděk Joska a kol.
Nanostrukturování vrstevnatých systémů

42

středa 16:40 (S)

Jana Kondratiefová, Tomáš Kocourek, Jan Remsa a Miroslav Jelínek
Improvement of DLC implant coating using hybrid laser technology and germanium dopation

43

středa 17:00 (S)

Ondřej Sekyrka Jan Remsa a Miroslav Jelínek
Ca:DLC laser doped layers for biomedicine

44

středa 17:20 (S)

Matěj Holka, Tomáš Suchý a Radek Sedláček
Analýza adheze kolagenové elektrostaticky zvlákněné nanovrstvy pomocí blister testu

45

středa 17:40

Pavel Krist, Václav Olšanský a David Chvátil
Možnosti využití elektronových urychlovačů při zobrazování biomateriálů

46

SPOLEČENSKÝ VEČER | RAUT | WORKSHOP WARM UP

středa 18:00 - 23:00

středa 20:00

Tomáš Suchý, Lucie Vištejnová a Sarah Leupen
Workshop Warm Up: Death by Powerpoint

ČTVRTEK 20. 9. 2018

WORKSHOP IMPROVE YOUR TALKS

48

čtvrtek 8:30 - 13:30

BUŇKY A JEJICH OKOLÍ

čtvrtek 9:00

Vítězslav Březina a Petr Vlčák

Chování živých buněk na povrchu atypických substrátů

50

čtvrtek 9:30

Eva Filová, Barbora Voltrová, Jaroslav Fojt a kol.

Vplyv nanoštruktúr titánovej zlatiny Ti36Nb6Ta na proliferáciu a diferenciaciu humánných mezenchymálnych kmeňových buniek

50

čtvrtek 9:50 (S)

Vojtěch Hybášek, Jaroslav Fojt, Luděk Joska a kol.

Systém pro monitoring interakce buněk s kovovými materiály

51

COFFEE BREAK (10:10-10:40)

MĚKKÉ A TVRDÉ

čtvrtek 10:40

Jan Žídek, Andrey Milchev a Josef Jančář

Modelování deformačního chování hydrogelů pomocí molekulární dynamiky

52

čtvrtek 11:00

Jan Vícha, Lukáš Münster, Zdenka Capáková a Ivo Kuřitka

Properties of non-toxic dialdehyde cellulose crosslinked poly(vinyl)alcohol hydrogels

53

čtvrtek 11:20 (S)

Luboš Řehounek a Aleš Jíra

Tvarová optimalizace trabekulární struktury

54

čtvrtek 11:40

Karel Balík, Karel Tesař, Zbyněk Sucharda a Margit Žaloudková

Hoříčkový drátek- možná bandáž hrudní kosti

55

OBĚD (12:00-14:30)

VOLNÉ ODPOLEDNE

PÁTEK 21. 9. 2018

MALÉ ROZMĚREM, VELKÉ ÚČINKEM

pátek 9:00

Petr Mikeš, Nikifor Asatiani, Jana Horáková a kol.

Study of diffusion of alaptide from nanofibrous layers

58

pátek 9:20 (S)

Tereza Bělinová, Iva Machová, Pavla Sauerová a kol.

Ultra-small nanoparticles in biological context

59

pátek 9:40 (S)

Markéta Klíčová, Jana Horáková, Lukáš Voleský a kol.

Plazmatická modifikace hydrofilních nanovláknenných povrchů

60

pátek 10:00 (S)

Věra Lukášová, Erna Šljivjak, Veronika Blahnová a kol.

Kultivace mesenchymálních kmenových buněk v dynamických podmínkách

61

COFFEE BREAK (10:20-10:50)

ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITA A HOJENÍ RAN

pátek 10:50

Martin Sojka, Pavel Klein a Lucie Vištejnová

Testovanie antimikrobiálnych aktivít materiálov – možnosti, metódy, úskalía

62

pátek 11:10 (S)

Julia Pajorová, Anne Skogberg, Markéta Bačáková a kol.

Nanocelulóza v kožnom tkanivovom inžinierstve

63

pátek 11:30

Markéta Bačáková, Júlia Pajorová, Antonín Brož a kol.

Biodegradabilní nanovláknenné membrány modifikované fibrinem a kolagenem jako substráty pro kokultivaci fibroblastů a keratinocytů

64

pátek 11:50

Karolína Vocetková, Věra Sovková, Radek Divín a kol.

Nanovláknenné nosiče obohacené o trombocyty ve tkáňovém inženýrství

64

pátek 12:10

Ukončení semináře a vyhlášení výsledků studentské soutěže

OBĚD (12:30-14:30)

ODJEZD



18.9.2018

ÚTERÝ



Tomáš Suchý, Radek Sedláček, Zdeněk Tolde a Lucie Vištejnová
Dynamické procesy interakce mezi osobností a prostředím -
neanonymní průzkum

Společnost pro kompozitní a uhlíkové materiály, z.s.

Fakulta strojní, ČVUT v Praze

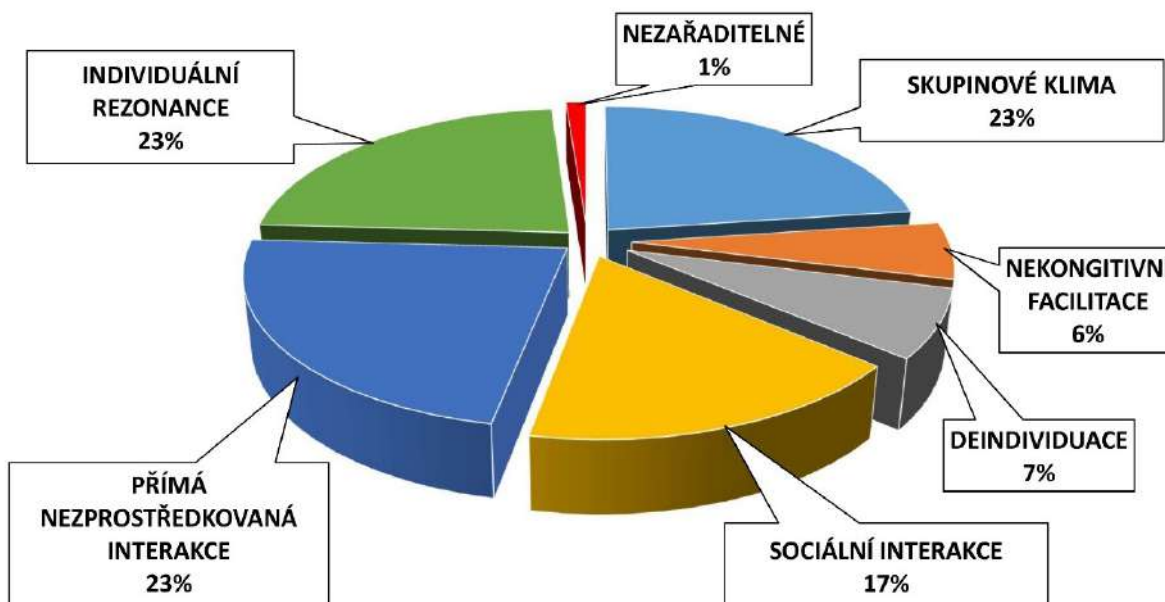
Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i.

Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

QUALITAS - Kvalitní život ve zdraví i nemoci - Strategie AV21

biomaterialy@irms.cas.cz

V naší studii jsme se zaměřili na způsob, jakým uzavřená komunita různých jedinců ($n=96$) prožívá, interpretuje a reaguje na vlivy stejného prostředí. Metodika úlohy (*Sheffield lie test*) byla navržena na základě studie Debey a kol. [1]. Účastníkům průzkumu byla prostřednictvím elektronického formuláře komunikována jednoduchá otázka „*Jaké slovo pro Vás nejlépe vystihuje náš seminář?*“. Pro hodnocení evokativní interakce byly po uzavření studie (duben - červen 2018) výstupy rozděleny do subkategorií podle vnitřních významových parametrů, jmenovitě přímá nezprostředkovaná interakce, individuální rezonance, skupinové klima, nekognitivní facilitace, deindividuace a sociální interakce (Obr. 1).

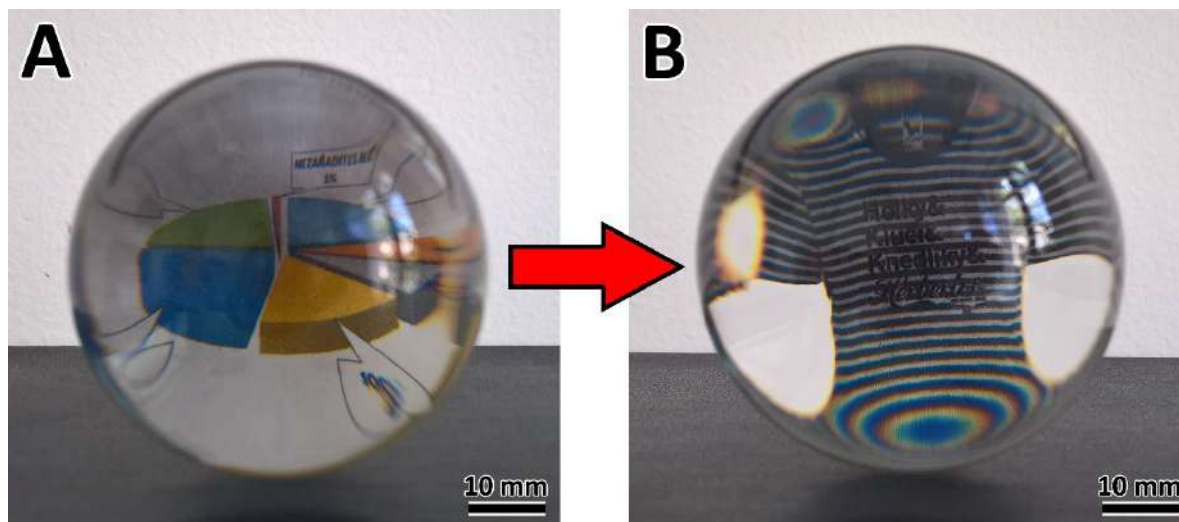


Obr. 1 Kategorie evokativní interakce

Pomocí Grubbsova a Dixonova testu byly ze statistické analýzy nejprve vyloučeny extrémní odchylky neodpovídající zadaným parametrům (např. „*SuchýbezŠlitra&SedláčekbezZábran:P*“, „*Abudemiblbě*“, „*Jedním slovem?*“). Veškerá statistická porovnání mezi jednotlivými skupinami umožnil χ^2 test dobré shody a dobré nálady, v určených případech očekávané četnosti <5 s Yatesovou korekcí. Síla efektu byla vypočtena pomocí Cohenova f . Statistická významnost byla akceptována na hladině spolehlivosti $\alpha = 80\%$ [2]. Komplexní vyhodnocení bylo provedeno



nejprve metodou stratifikovaného výběru, které však nevedlo k výsledku, i z důvodu úvah o (ne)vysvětlitelnosti jevu. Proto bylo přistoupeno k vyhodnocení pomocí křišťálové koule (průměr 55mm, Glass Sphere, Jablonec nad Nisou, ČR), pro ilustraci vizte Obr. 2, podle Duina a Sofaera [3, 4], které výsledek jednoznačně ukázalo.



Obr. 2 Komplexní vyhodnocení experimentu: virtuální vložení dat (A) a výstup z analýzy (B).

- [1] Debey, E., De Schryver, M., Logan, G. D., & Verschuere, B. (2015). From junior to senior Pinocchio: A cross-sectional lifespan investigation of deception. *Acta psychologica*, 160, 58-68.
- [2] Fisher, R. A., & Wishart, J. (1930). *The arrangement of field experiments and the statistical reduction of the results* (No. 10). HM Stationery Office.
- [3] van der Duin, P. (2014). The crystal ball is not a black box: futures research in scientific and organizational perspective. *Journal of Futures Studies*, 19 (2), 125-134.
- [4] Sofaer, J. (2004). The Crystal Ball. *Performance Research*, 9 (2), 118-131.

úterý 13:50

**Monika Šupová¹, Tomáš Suchý^{1,2}, Zbyněk Sucharda¹, Elena Filová³,
Marie Steinerová³, Lucie Bačáková³, Gražyna Simha Martynková⁴
a Vítězslav Březina⁵**

The comprehensive *in vitro* evaluation of eight different calcium phosphates: Significant parameters for cell behaviour

- ¹ Dept. of Composites and Carbon Materials, IRSM, Academy of Sciences, Prague
² Faculty of Mechanical Engineering, Czech Technical University in Prague, Prague
³ Dept. of Biomaterials and Tissue Engineering, Institute of Physiology, CAS, Prague
⁴ Nanotechnology Centre, VŠB-Technical University of Ostrava, Ostrava-Poruba
⁵ Laboratoř tkáňových kultur, Nové Hrady

supova@irmsm.cas.cz

The class of ceramics used for repairing and replacing diseased and damaged parts of musculoskeletal systems are termed bioceramics. The most widely-used bioresorbable ceramics include calcium orthophosphates (CaPs). They are present in bones, teeth, deer antlers and the tendons of mammals, giving these organs hardness and stability. There are eleven known non-



ion-substituted calcium orthophosphates with a Ca/P molar ratio between 0.5 and 2.0. The most widely used member of the family of CaPs is hydroxyapatite (HA). Other well-known biomedical applications of CaPs are as a drug delivery agent and as a gene delivery agent, and as a filler for biocomposites, as a scaffold for seeding stem cells and bioactive coatings on metallic osseous implants. The mineral phase can be obtained from a wide range of natural sources (referred to as bioapatite) as well as via the synthetic apatite preparation process. Nano-sized BAP isolated or prepared from biogenic sources exhibits enhanced resorbability and a much higher degree of bioactivity than micron-sized or synthetic HA. A range of scientific research projects have addressed the issue of "synthetic bioapatites" prepared via substitutions which chemically and structurally mimic real, i.e. natural bioapatite. The substitution level of the precursors enables the preparation of the final product with bespoke properties.

Many research studies have attempted to assess the crucial factors that control cell behaviour on CaPs. This contribution provides a description of the assessment of eight different calcium phosphate nano-powders, namely bovine bone bioapatite calcined at 500°C, 600°C and 700°C, Mg-doped brushite, fluorinated calcium phosphate, Ca-deficient hydroxyapatite, hydroxyapatite and tricalcium phosphate, were characterised using physico-chemical methods. The structural and chemical characterisations of the CaP were conducted by means of X-ray diffraction, transmission electron microscopy and chemical analysis. Their cytocompatibility were evaluated under human osteoblast-like cell line MG-63 culture conditions in elution media and *via* the direct interaction of cells with calcium phosphate nanoparticles. The main objective was to determine the correlation of the cell indices with the parameters of the calcium phosphates.

Chemical composition that contributes towards changes in pH and the calcium ion concentration in the medium appear to make up particularly significant factors; moreover, it was proved that the number of types of material represents a further important aspect. In the case of a large number of types of material, almost no correlation was found between the analysed parameters. However, in the case of a small number of apatite types, several positive correlations were found. It can, therefore, be concluded that it is not possible to identify any monitored parameter that had a major impact on cell behaviour or, at least, such an effect which can be generalised. It appears more likely that cell behaviour is affected by the interplay of various parameters.

úterý 14:20

**Lucy Vojtová¹, Veronika Grézlová¹, Lenka Michlovská¹, Jana Brtníková¹,
Kristýna Šmerková², Silvia Kočiová², Kristýna Valová¹, Pavel Diviš³,
Michala Rampichová⁴ a Vojtěch Adam²**

Nepředvídatelné vlastnosti antibakteriálního kostního lepidla

¹Vysoké učení technické v Brně, CEITEC- Středoevropský technologický institut, skupina Pokročilé polymery a kompozity, Brno

²Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav chemie a biochemie, Brno

³Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Centrum materiálového výzkumu, Brno

⁴Ústav experimentální medicíny, Oddělení tkáňového inženýrství, Praha

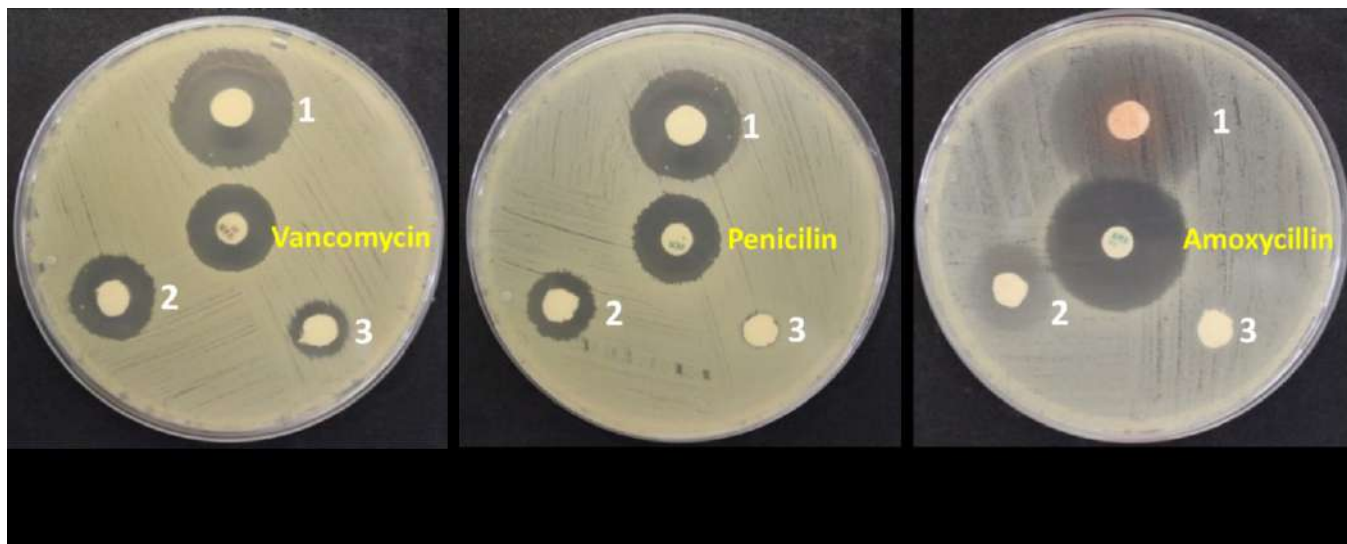
lucy.vojtova@ceitec.vutbr.cz

Injektabilní kostní výplně (cementy) na bázi samotuhnoucího fosforečnanu vápenatého (CaP) se mohou uplatnit v miniinvazivní chirurgii, ortopedii, traumatologii či zubním lékařství. V těchto lékařských oborech bývá významným problémem infekce kostí (osteomyelitida), která se běžně



hojně léčí antibiotiky. Z důvodu zabránění, vzniku či množení nežádoucích bakterií v místě defektu byly v našem případě do kostního adhezivního cementu (neboli lepidla) na bázi termocitlivého polymeru a CaP přidány nanočástice selenu (SeNPs) s cílem jejich postupného uvolňování. Tímto způsobem by mohlo dojít k částečnému zabránění nadužívání antibiotik. Selen je biogenní prvek s antibakteriálními vlastnostmi. Přídavek SeNPs do kostního lepidla vykázal vysokou účinnost (srovnatelnou s běžnými antibiotiky) na grampozitivních baktériích kmene *Staphylococcus aureus* (zlatý stafylokok) i methicilin-rezistentních kmenů tzv. MRSA (viz Obr. 1). Výsledek na gramnegativní bakterii *E-coli* už tak přesvědčivý nebyl. Metodou optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) bylo zjištěno, že během 8 hodin se uvolnily téměř všechny SeNPs (96,5 %), což je velmi slibné, protože tradiční polymerní kostní cementy z polymethylmethakrylátu jsou schopné uvolnit pouze 2 % antibiotik. Kromě očekávatelných antibakteriálních vlastností se přídavkem SeNPs nečekaně zlepšily reologické vlastnosti kostního lepidla a s tím se i zjednodušila injekční aplikace tenkou jehlou. Zrychlilo se i samovytvrzování lepidla a také celková mechanická pevnost v tlaku.

Jediné, co nám „zkazilo“ naši radost byl pokus o in-vitro testy na kmenových buňkách neb se lepidlo ve formě keramických disků při namočení do buněčného kultivačního média (MEM) po pár minutách úplně rozpadlo a vytvořilo tak suspenzi. Teoreticky lze testovat i výluh, ale bohužel byly všechny vzorky rozpuštěny už i s přídavkem buněk a nezbyl další sterilní materiál :-(. Jediným rozumným vysvětlením, proč se disky během testování rozpadly je zřejmě vliv velké koncentrace vápenatých (i jiných) iontů v buněčném kultivačním médiu na nedostatečně vytvrzené lepidlo. Proto byla část letošního horkého léta využita k testování namletého CaP prášku s rychlejší dobou vytvrzení a s výsledkem, že nové disky se již v MEM nerozpouští! Na in-vitro tak budou připraveny nové vzorky a tentokrát se hodnocení biokompatibility snad povede :-)



Obr. 1 Antibakteriální testy difúzní diskovou metodou. Prostřední disk je kontrola (antibiotikum), 3 disky okolo jsou z lepidla s různou koncentrací SeNPs v řádu stovek ppm (1), desítek ppm (2) a jednotek ppm (3).

Tato práce byla podpořena Ministerstvem zdravotnictví v rámci projektu NV18-05-00379 a také projektem CEITEC 2020 (LQ1601) s finanční podporou Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.



Petra Hájková a Aleš Jíra

Zhodnocení možnosti determinace lomové houževnatosti skloviny s využitím nanoindentace a metody založené na disipaci energie

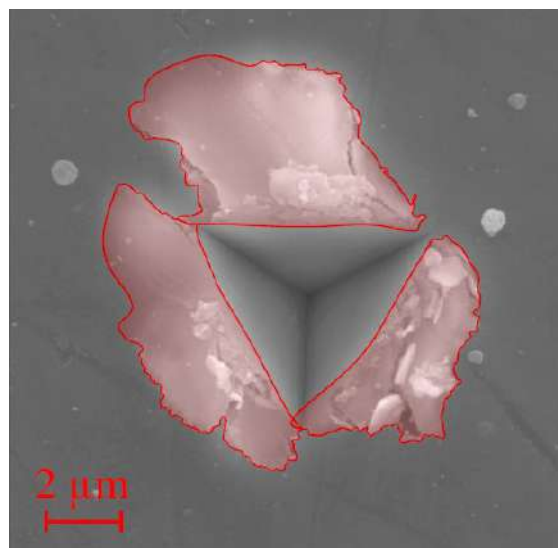
České vysoké učení technické v Praze, Fakulta stavební, Katedra mechaniky, Praha

petra.hajkova@fsv.cvut.cz

Sklovina, jakožto nejtvrdší tkáň v lidském těle, je rovněž materiál velmi křehký. Veličinou vyjadřující míru odolnosti materiálu proti křehkému lomu je lomová houževnatost, resp. kritický faktor intenzity napětí K_c . V minulosti byl pro determinaci lomové houževnatosti skloviny využíván výhradně Vickersův indentační test lomové houževnatosti (VIF), neboť běžné metody není možné z důvodu malého množství materiálu vzorku uplatnit. Při VIF je pro iniciaci trhlin využívána indentace (působící zatížení v jednotkách N). Délka radiálních trhlin vyzařujících od rohů indentačního vpichu společně s velikostí působícího zatížení následně vstupuje do výpočtu K_c dle vzorců odvozených různými autory. Právě velké množství vzorců, které zřídka poskytl stejné výsledky, je zarážející a evokuje nespolehlivost metody VIF.

Metoda založená na disipaci energie oproti VIF umožňuje determinaci lomové houževnatosti na základě elementárních vzorců LELM. Základními veličiny, které je zapotřebí před vlastní determinací K_c určit, jsou energie uvolněná (disipovaná) při vzniku a šíření trhliny a velikost této trhliny. Ačkoliv energie trhliny (U_{frac}) může být poměrně snadno určena z indentační křivky, velikost trhliny (A_{frac}) je kritickým bodem při užití metody založené na disipaci energie. Důvodem je skutečnost, že trhliny zpravidla nejsou pouze na povrchu vzorku (delaminace), ale propagují se od vrcholu indentačního vpichu a mohou nabývat různých tvarů (Palmqvist, half-penny). Bez podrobného snímku oblasti okolo indentačního vpichu z nano CT není tedy možné určit celkovou plochu trhliny. Obr. 1 zobrazuje příklad výpočtu K_c dle metody založené na disipaci energie pro indentační vpich, který byl vytvořen působením zatížení o maximální velikosti 80 mN. Tento indent vykazoval především odstěpování materiálu na povrchu vzorku a nebyly u něj zřetelné žádné trhliny směřující kolmo pod povrch, bylo tudíž možné určit přibližnou plochu trhliny graficky dle snímku z elektronového mikroskopu.

Matice s max. zatížením 80 mN, indent. č. 16		
h_{max} [nm]	2728,08	
h_f [nm]	2419,25	
W_{tot} [pJ]	80859	
W_{el} [pJ]	8971	
W_{ost} [pJ]	4481	
A_{frac} [μm^2]	102,03	
	Lawn, Howes	Cheng, Cheng
W_{pl} [pJ]	63668	65398
U_{frac} [pJ]	3739	2010
G_c [J/m ²]	36,65	19,7
K_c [Mpa/m ^{1/2}]	1,71	1,25

**Obr. 1** Vzor determinace lomové houževnatosti skloviny metodou založenou na disipaci energie.



Cílem této studie je výpočet lomové houževnatosti metodou založenou na disipaci energie s využitím nanoindentace (působící zatížení více než 10x nižší než při VIF) a zhodnocení spolehlivosti této metody. Ačkoliv metoda může odstranit některé nežádoucí aspekty VIF, ukázalo se, že skýtá řadu dalších nejistot, které mohou ovlivnit konečné výsledky. Proto je součástí studie rovněž návrh opatření pro zpřesnění dosažených výsledků a návrh nové metody spojující VIF a metodu založenou na disipaci energie.

Tato studie vznikla za podpory Technologické agentury ČR (TJ01000328) a Fakulty stavební, Českého vysokého učení technického v Praze (SGS projekt No. SGS17/168/OHK1/3T/11).

úterý 15:00

Aleš Jíra, Petra Hájková a Martin Tomanec

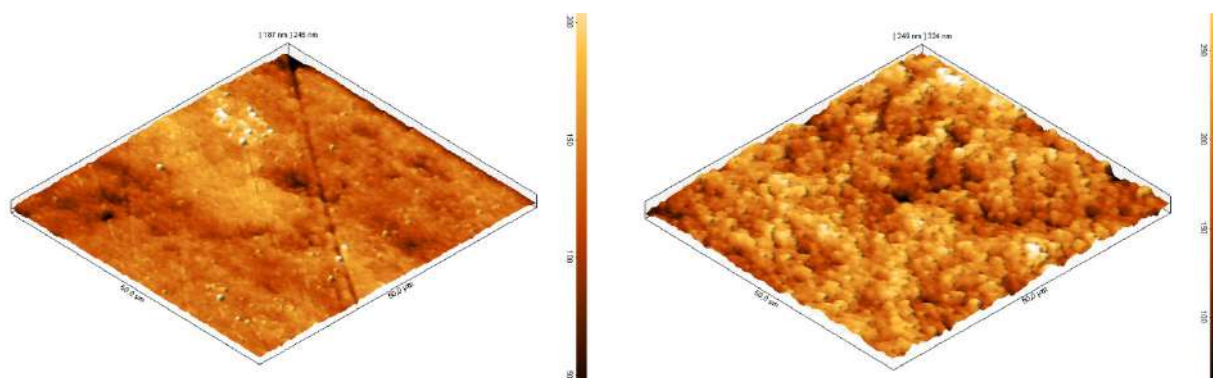
Mikromechanické vlastnosti zubní skloviny ovlivněné působením nápojů s hydroxylovými deriváty uhlovodíků

České vysoké učení technické v Praze, Fakulta stavební, Katedra mechaniky, Praha

jira@fsv.cvut.cz

Zubní sklovina je základní ochranný prvek zubu, který má primární cíl rozměšňovat potravu. Jejím poškozením dochází ke vzniku zubních kazů a v extrémních případech až extrakci zubu. Úbytek minerálních látek a ztráta mechanické pevnosti napomáhá vzniku zubního kazu. Cílem této studie je poukázat na negativní vliv vybraných, běžně konzumovaných nápojů s nízkou hodnotou pH na mikromechanické vlastnosti zubní skloviny a degradaci její tloušťky. Práce se snaží poukázat, že i velmi krátké působení vybraných tekutin dokáže snížit modul pružnosti a tvrdost zubní skloviny na jejím povrchu až o 15%.

Pro naši analýzu jsme vybrali základní nápoje reprezentující příslušnou kategorii podle množství hydroxylových derivátů uhlovodíků. Hodnocení jsme prováděli pomocí nanoindentačního měření s následnou vizuální kontrolou pomocí AFM. Jednotlivá měření probíhala v maticích 5x5, kdy experimentální vzorek, zalitý v epoxidové pryskyřici, byl vždy broušen/leštěn až do kontaktu se sklovinou na okusné plošce zubu. Indenty pak byly provedeny ve směru podélné osy zubu s intenzitou zatížení 15 mN. Metodikou Oliver&Phar byly hodnoceny parametry modul pružnosti a tvrdost skloviny, a to vždy ve dvou fázích: před působením tekutiny a po působení tekutiny po dobu 5 minut. Viditelných změn bylo dosaženo u všech testovaných tekutin, přičemž vliv na změnu tvrdosti byl ve většině případů dominantní.



Obr. 1 Reliéf povrchu skloviny vzorku před (vlevo) a po (vpravo) kontaminaci bílým vínem analyzovaný pomocí AFM



V druhé fázi analýzy bylo snahou zjistit úbytek skloviny po působení tekutiny. Přesné stanovení úbytku povrchu u vzorků zalitých v epoxidové pryskyřici je velmi náročné. Proto jsme pro přesnější odhad úbytku využili opět nanoindentace. Vytvořili jsme sérii indentů s různou intenzitou zatížení a vytvořili tak indenty o různé hloubce (s rozsahem ~ 200 – 600 nm). Následný úbytek skloviny byl analyzován opticky – komparací snímků indentů pořízených před a po kontaminaci. V případě nejagresivnějších tekutin dosahoval úbytek až ~ 400 nm. Využitím AFM (Obr. 1) jsme konfrontovali vyleštěný povrch před a po kontaminaci.

Provedená měření prokázala, že působení tekutin může mít velmi agresivní vliv na zubní sklovinu. Zejména nápoje s nízkou hodnotou pH a vyšším obsahem cukru oslabují tloušťku skloviny a mohou negativně ovlivňovat kvalitu zubů a jejich odolnost proti zubnímu kazu.

Tato studie vznikla za podpory Interní grantové soutěže ČVUT v Praze (SGS17/168/OHK1/3T/11).

úterý 16:00

Eduard Brynda¹, Jahanka Kučerová¹, Tomáš Riedel¹, Andrés de los Santos Pereira, Elena Filová² a Roman Matějka³, Stefanie Krajewski⁴ a Hans P. Wendel⁴

Povrchové modifikace biologických nosičů buněk pro kardiovaskulární implantáty

¹Ústav makromolekulární chemie Akademie věd České republiky v.v.i, Praha

²Fyziologický ústav Akademie věd České republiky, v.v.i., Praha

³České vysoké učení technické v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství, Kladno

⁴Department of Thoracic, Cardiac and Vascular Surgery, Clinical Research Laboratory, University Hospital Tuebingen, Tuebingen, Germany

brynda@imc.cas.cz

Kontakt krve s jakýmkoliv povrchem jiným než neporušený endotel vyvolává srážení krve zahrnující adhesi, aktivaci a agregaci krevních destiček a tvorbu fibrinového gelu, jehož výsledkem je tvorba trombu a zánětlivé reakce určené k odstranění poraněných tkání. Po mnoha letech výzkumu zaměřeného na vývoj syntetických materiálů snášenlivých s krví je evidentní, že žádný umělý materiál nemůže nahradit aktivní funkce živého endotelu. Dlouhodobá činnost umělých kardiovaskulárních implantátů v organismu nemůže být zajištěna, aniž by povrch implantátu přerostl přirozeným endotelem. Ideálním řešením by byl povlak, který dočasně zabraňuje růst trombu po implantaci umělé náhrady a současně povzbuzuje tvorbu přirozeného endotelu na jejím povrchu. Do současné doby jsme vyvinuly povlaky připravené řízeným růstem umělé fibrinové sítě od povrchu náhrady a povlaky z polymerních kartáčů připravované povrchem iniciovanou řízenou polymerací. Tyto povlaky jsou dále modifikovány navázáním antikoagulantu heparinu a různými proteiny povzbuzujícími adhesi a proliferaci buněk cévního endotelu. Modifikované fibrinové sítě byly použity pro povlečení polyesterových cévních protéz, kovových stentů, a decelulativovaného prasečího perikardu určeného pro konstrukci biologických chlopní. Modifikace cévních protéz z expandovaného teflonu polymerními kartáči podstatně zvýšila jejich hemokompatibilitu.

Výzkum je podporován granty GA ČR 18-03435S a AZV ČR 15-29153A.

**úterý 16:20****Hynek Chlup¹, Tomáš Grus² a Mikuláš Miček³****Mechanické testy cév a cévních náhrad**¹ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Praha²Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, II. chirurgická klinika kardiovaskulární chirurgie, Praha³1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Fyziologický ústav, Prahachynek@seznam.cz

Pro udržení fyziologických funkcí kardiovaskulárního systému člověka je třeba vyvinout technologii vhodných cévních náhrad. Vzhledem k tomu, že autologní náhrada je v mnoha případech velmi obtížně dostupná, je řešením příprava arteficiálních náhrad odpovídajících mechanických vlastností. Nejprve je ale třeba stanovit oblast mechanické odezvy cévní stěny pomocí mechanických testů, jako jsou např. jednoosá tahová zkouška, biaxiální tahový test nebo inflačně-extenzní experiment. Jednotlivé typy mechanických zkoušek mají svá opodstatnění, ale také omezení. To se týká reprodukovatelnosti měření, správné konfigurace experimentu, využití měřicí techniky a zejména uvažování parametrů, které vstupují do měření nebo ovlivňují získaná experimentální data.

Cílem mechanických zkoušek je získat materiálové parametry cévní stěny, stěny cévní náhrady nebo jednotlivých komponent. Vyhodnocení materiálových parametrů je prováděno na základě konstitutivních modelů, kde je často využito např. Fungův model nebo model HGO (Holzapfel, Gasser, Ogden), popisující hyperelastický nelineární anizotropní materiál. Tyto modely sloužily ke stanovení konkrétní velikosti elastických parametrů. Z experimentálně získaných závislostí napětí – deformace jsou při daných deformačních stavech určeny hodnoty Youngova modulu pružnosti nebo hustoty deformační energie. Pomocí těchto hodnot je analyzován např. vliv rychlosti zatěžování, dávky radiace nebo dalších úprav stěny vzorku na mechanickou odezvu testovaného materiálu. Materiálové parametry se uplatní při návrhu konstrukce nebo optimalizaci vlastností cévních náhrad. Slouží také jako nezbytné vstupy do výpočetních a simulačních programů. Je tedy důležité mít představu, jak kvalitní data jsou provedenými experimenty získána.

Příspěvek prezentuje některé poznatky získané řešením projektu NV15-27941A.

úterý 16:40**Elena Filová¹, Marie Steinerová¹, Roman Matějka^{1,2}, Šimon Pražák¹, Jana Štěpanovská^{1,2}, Jana Musílková¹, Zuzana Riedelová³, Johanka Kučerová³, Tomáš Riedel³, Adam Eckhardt¹, Miroslav Koňářík⁴, Jan Pirk⁴, Eva Honsová⁴, Alena Lodererová⁴, Eduard Brynda³ a Lucie Bačáková¹****Využití fibrinových vrstev uvolňujících růstové faktory pro tkáňové inženýrství chlopní**¹Fyziologický ústav Akademie věd České republiky, v.v.i., Praha²Fakulta biomedicínského inženýrství, České vysoké učení technické v Praze, Kladno³Ústav makromolekulární chemie, Praha⁴Institut klinické a experimentální medicíny, Praha 4elena.filova@fgu.cas.cz

V současnosti se používají biologické náhrady srdečních chlopní vyrobené z lidského homograftu nebo allograftu. V případě jejich nedostatku se využívají náhrady z prasečí aortální



chlopně nebo z bovinního perikardu. Alogenní a xenogenní materiály vyvolávají imunitní odpověď pacienta a po několika letech degenerují. Proto se vědci zaměřují na vývoj bioarteficiální chlopňové náhrady s využitím autologních buněk, které by xenogenní materiál postupně remodelovaly a přetvořily na novou autologní protézu. Fibrinová vrstva je schopná vázat růstové faktory, např. VEGF a FGF, které se využívají na podporu endotelizace a mohou podpořit osídlení decelularizované perikardiální tkáně kmenovými buňkami z tuku (ASC).

Prasečí perikardiální tkáň byla decelularizovaná, pokryta fibrinem, fibrinem s heparinem, fibrinem s heparinem s navázaným VEGF nebo FGF2 a osídlena ASC buňkami. Následně byly vzorky perikardu kultivovány v diferenciacním médiu pro hladké svalové buňky 2-5 týdnů. Hodnotili jsme prorůstání tkáně buňkami, diferenciaci buněk na hladké svalové buňky a tvorbu mezibuněčné hmoty. Zjistili jsme, že decelularizovaná perikardiální tkáň je netoxická, buňky adherovaly na povrch perikardu a vytvořily souvislou vrstvu. Po 14 dnech začaly ASC buňky prorůstat do tkáně. Nejlépe stimulovala prorůstání dovnitř perikardu vrstva fibrinu s heparinem a vrstva obsahující VEGF. VEGF podporoval i remodelaci perikardu a tvorbu mezibuněčné hmoty. Následně budou tyto materiály hodnoceny *in vitro* pomocí mechanického zatěžování tkáně v bioreaktoru.

Podporováno Ministerstvem zdravotnictví České republiky, grant č. 15-29153A a Grantovou Agenturou České Republiky, Centrum Excelence č. P108/12/G108.

úterý 17:00

**Jana Horáková¹, Andrea Klápšťová¹, Jan Lukášek², Veronika Zajícová²,
Radek Jirkovec¹, Markéta Klíčová¹, Michal Ackermann³, Věra Jenčová¹,
Petr Mikeš¹ a David Lukáš¹**

Heparinizace cévních náhrad aneb „Kam s ním?“

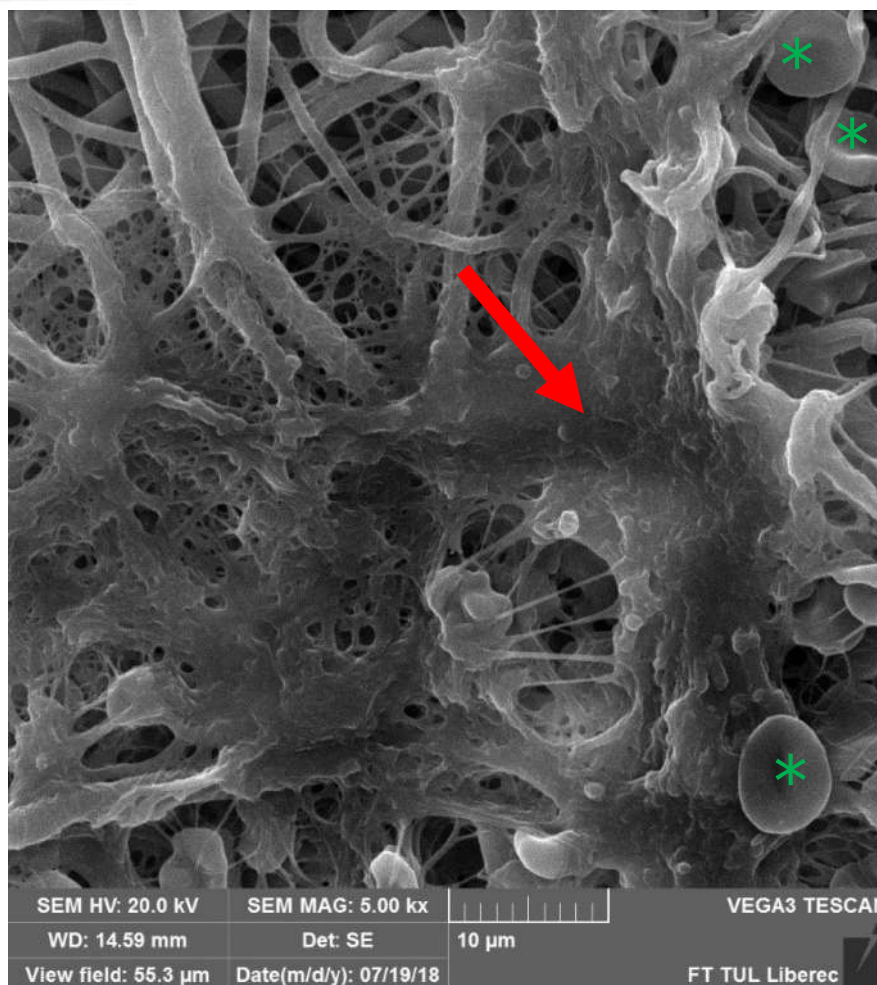
¹Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní, Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů, Liberec

²Technická univerzita v Liberci, Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace, Oddělení nanomateriálů v přírodních vědách, Liberec

³Technická univerzita v Liberci, Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace, Oddělení průmyslových technologií, Liberec

jana.horakova@tul.cz

Naše pracoviště se dlouhodobě zabývá vývojem maloprůměrových cévních náhrad. K výrobě těchto materiálů se využívá technologie jehlového elektrostatického zvlákňování s využitím biodegradabilních polyesterů. Tyto tubulární grafty splňují požadavky na cévní náhrady z hlediska morfologie vláken a mechanických vlastností [1, 2]. Jejich nedostatkem však je vysoká trombogenicita [3]. Tento problém jsme se snažili překonat heparinizací nanovláknenných materiálů, která by měla zabránit vzniku krevních sraženin. Při samotném řešení však vyvstalo několik otázek: Jaký typ heparinu použít? (1), Jakým způsobem heparin do materiálu zabudovat? (2) Jak analyzovat množství a funkčnost heparinu? (3).



Obr. 1 Snímek ze skenovací elektronové mikroskopie nanovlákněného polykaprolaktonu po inkubaci s plnou krví. Na povrchu lze vidět aktivované a agregované krevní destičky (červená šipka) a červené krvinky (zelená hvězdička).

Samotné řešení probíhalo ve spolupráci s mnoha odborníky z nejrůznějších oborů. Na první otázku jsme si odpověděli jednoduše, a to cenovou dostupností. U druhé otázky jsme zkoušeli porovnávat zabudování heparinu přímo do vláken a povrchovou modifikaci pomocí polydopaminu. Kvantifikace inkorporovaného heparinu probíhala pomocí spektrofotometrické metody toluidine blue assay, měření koagulačního času (APTT) a elektronovou spektroskopií (XPS). Dále byla funkčnost heparinu sledována v in vitro podmínkách po inkubaci s plnou krví.

Po dvou letech intenzivní práce ale stále zůstává více otázek než odpovědí. Ve svém příspěvku se tedy zaměřím na některá úskalí dosavadní práce a zhodnocení prozatímních výsledků.

- [1] Yalcin et al. Design of Polycaprolactone Vascular Grafts. J Ind Text 45(5) 2016.
- [2] Horakova et al. The effect of ethylene oxide sterilization on electrospun vascular grafts made from biodegradable polyesters. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 92 2018.
- [3] Horakova et al. Comprehensive assessment of electrospun scaffold hemocompatibility. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 82 2018.

Práce byla podpořena projektem AZV 15-29241A (Nanovlákněná biodegradabilní maloprůměrová cévní náhrada).

**úterý 17:20**

Roman Matějka^{1,2}, Jana Štěpanovská^{1,2}, Šimon Pražák², Miroslav Koňářík³, Robert Novotný³, Jaroslav Chlupáč³, Jozef Rosina¹, Lucie Bačáková² a Jan Pirk³

Příprava autologních štěpů na bázi decelularizovaných prasečích perikardů - pilotní studie *in-vivo*

¹České vysoké učení technické v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství, Katedra biomedicínské techniky, Kladno

² Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Odd. biomateriálů a tkáňového inženýrství, Praha

³ Institut klinické a experimentální medicíny, Kardiocentrum, Praha 4

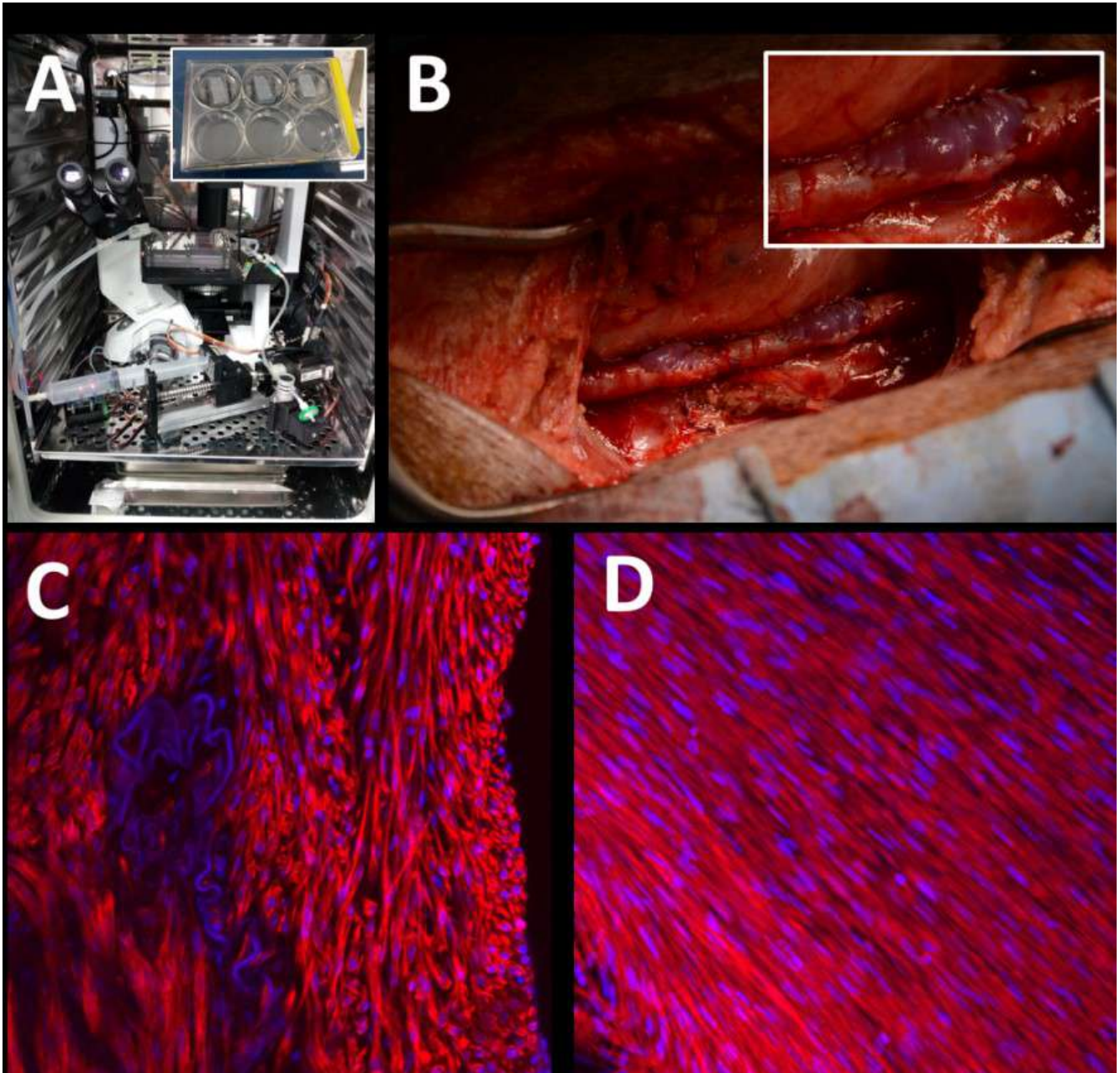
roman.matejka@fbmi.cvut.cz

Využití decelularizovaných nosičů je aktuálním trendem v oblasti regenerativní medicíny a tkáňového inženýrství. Decelularizací tkáně je v případě xenograftů minimalizována negativní imunitní odpověď organismu při zachování vhodné stavební struktury. Cílem práce bylo využití decelularizovaných prasečích perikardů jako cévních záplat, jež byly před operací autologně osídleny kmenovými buňkami a kultivovány v bioreaktoru a následně implantovány do pasete. Příprava decelularizovaných perikardů byla realizována ve speciálním automatizovaném systému pro decelularizaci. Poté byly tyto perikardy upraveny do tvaru vhodného pro použití jako cévní záplata a byly potaženy vrstvou fibrinu s navázaným heparinem. V rámci pilotního pokusu byly zvoleny dvě skupiny – kontrolní pouze potažená fibrinem s heparinem a osídlená autologními buňkami. Samotné *in vivo* ověření zahrnovalo dvě operace v celkové anestézii.

Prvotní operace zahrnovala odebrání podkožního tuku z oblasti krku. Tato odebraná tkáň byla následně homogenizována a enzymaticky kolagenázou I rozštěpena tak aby s ní bylo možné izolovat v maximální míře kmenové buňky z tukové tkáně (ASC – Adipose Derived Stem cells, resp. v toto případě PrASC – PrasečíASC). Izolovaná buněčná kultura byla poté po dobu 7 dní staticky kultivována. Následně byla tato kultura nasazena na připravené decelularizované prasečí perikardy na nichž byla dále kultivována po dobu dalších 7 dní ve speciálním bioreaktoru, jež vytvářel definované mechanické namáhání – stimule tlakem a natahování.

Poté následovala druhá operace zvířete. Obě karotidy byly vypreparovány pro možnost implantace štěpu – záplaty. Po zaklampování karotidy byl ve stěně vytvořen defekt, na nějž byly našity připravené záplaty. Na jedné straně kontrolní skupina bez buněk na druhé straně skupina autologně osídlená předem izolovanými buňkami prasete. Pooperační péče zahrnovala podání antibiotik a anopyrinu. Během 3týdenní fáze nebyly u zvířete pozorovány žádné zdravotní komplikace.

Po této fázi byly štěpy i s karotidami vyjmuty pro další analýzu. Jednak byla hodnocena přítomnost formace trombů, jež byla v obou případech negativní. Dále byly vytvořeny kolmé řezy přes karotidu s našitým štěpem a bylo hodnoceno prorostení buňkami a celková remodelace na úrovni tunicy medii a intimy. V obou případech došlo k postupnému prorostení tkáně vlastními buňkami prasete. V případě štěpu, jež byl před operací kultivován v bioreaktoru byla vrstva hladkých svalových buněk seřazena v protáhlém tvaru po obvodu štěpu podobně jako u nativní cévy. Stejně tak endotelová vrstva byla homogenněji rozprostřená po povrchu. Jednotlivé části přípravy záplaty, implantace a remodelace je znázorněna na obrázku č. 1.



Obr. 1 A – dynamický kultivační systém a připravené cévní záplaty z decelularizovaného perikardu v držácích; B – implantace cévní záplaty na vypreparovanou karotidu; C – fluorescenčně barvený řez přes explantovanou cévní záplatu zobrazující remodelaci tuniky medii hladkými svalovými buňkami, vpravo je vrstva intimy, D – fluorescenčně barvená vnitřní vrstvy cévní záplaty zobrazující remodelaci a endotelizaci tuniky intimy.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 15-29153A.

**úterý 19:30**

Ivan Janda Cimrman a mexická revoluce

Soukromá výzkumná laboratoř, Smotlachova 3, Praha

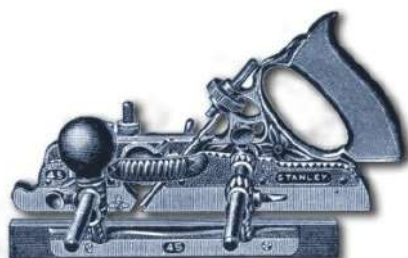
ivan.janda@gmail.com

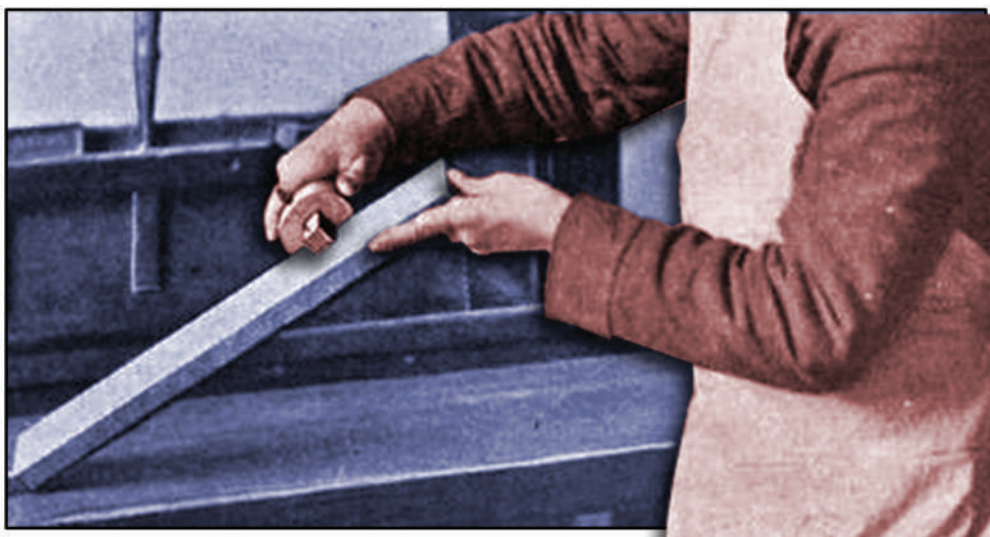
V roce 1892 si Jára Cimrman dal v Mexiku patentovat metodu Elektrosppinnerei pod názvem *hilado electromagnético*. Na patentovém úřadě se náhodou potkal s panem Arango Moralem a jeho synem José Doroteem, kteří jej díky malému nedorozumění pokládali za strýce mladého revolucionáře Franciska Madera. Cimrmanův intelekt a domnělý příbuzenský vztah s Maderem mladému Arangovi tak imponovaly, že si od Cimrmana vyžádal adresu, aby ho v případě potřeby mohl požádat o pomoc.

Cimrman se z Mexika vrátil do Rakouska-Uherska a nedověděl se, že otec Arango dva roky nato zemřel a šestnáctiletý José Doroteo se z donucení dal na dráhu bandity. Změnil si jméno na Francisco (Pancho) Villa po svém dědečkovi a postupem času se z něj stal revolucionář zaměřený na svržení neoblíbeného pravcového prezidenta Porfirio Díaze.

Roku 1910 už měl Pancho Villa hodnost generála, a protože měl se svým vojskem značné organizační potíže, nechal Cimrmana znovu povolát do Mexika. Cimrman kriticky posoudil situaci v povstaleckých bojových oddílech a navrhl mnoho opatření vedoucích k nápravě. O tom detailně pojednává předložená historická studie. V roce 1911 byl Porfirio Díaz konečně svržen, Francisco Madero se stal mexickým prezidentem a Cimrman z ne zcela vyjasněných důvodů svou misi ukončil.

Naše studie sleduje osudy Pancho Villy a jeho vítězství i prohry až do roku 1923, kdy byl patrně na příkaz tehdejšího prezidenta Obregóna úkladně zavražděn.





19.9.2018

STŘEDA



**Lucie Bačáková, Jana Zárubová, Martina Trávníčková, Elena Filová
a Roman Matějka**

**Role kmenových buněk dospělých tkání v buněčné terapii a tkáňovém
inženýrství**

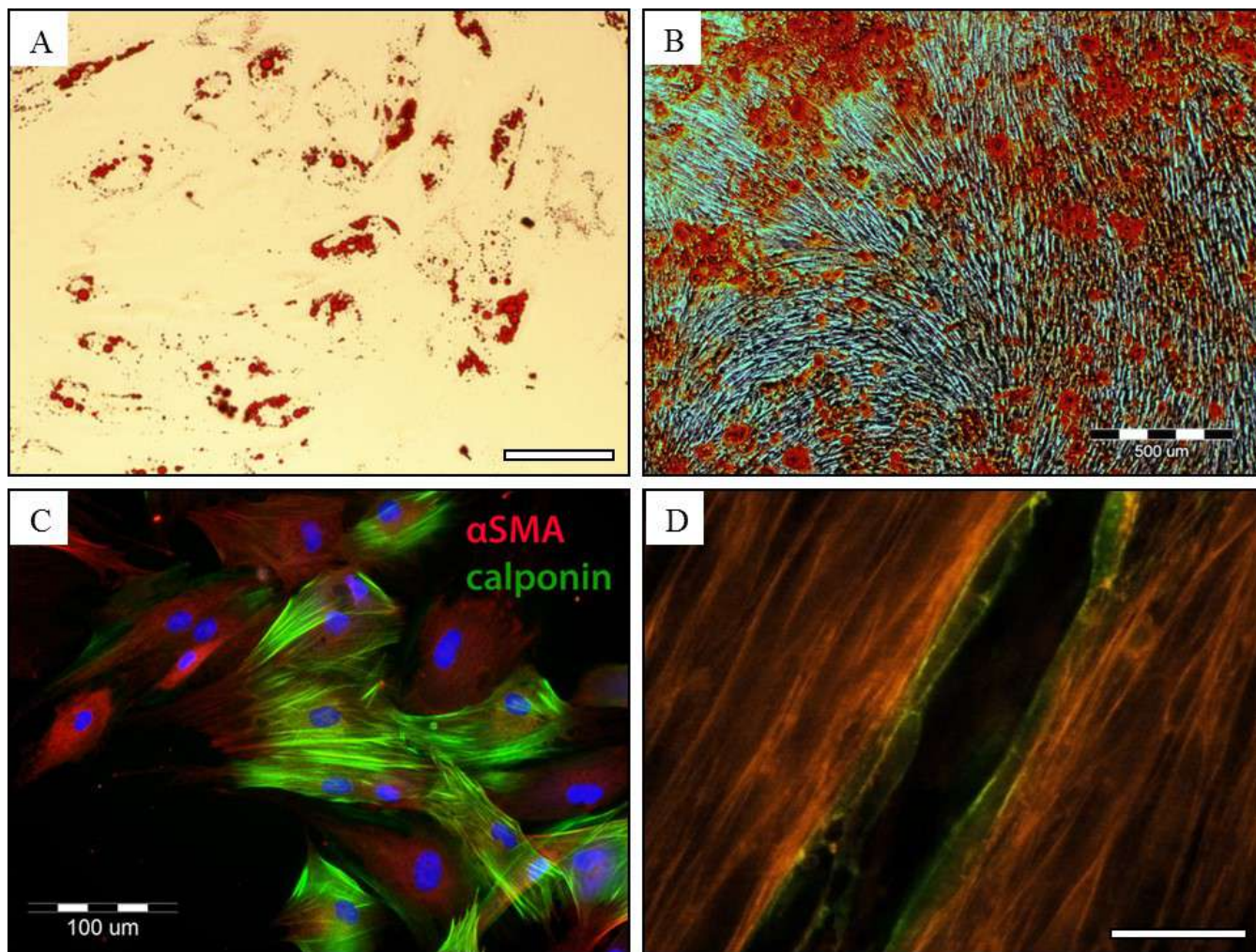
Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Oddělení biomateriálů a tkáňového inženýrství, Praha

Lucie.Bacakova@fgu.cas.cz

Kmenové buňky jsou definovány jako organizační jednotky biologických systémů, zodpovědné za vývoj a regeneraci tkání a orgánů. Jsou dokonce považovány za jednotky evoluce formou přírodního výběru. Jsou to nediferencované buňky schopné vlastní obnovy a diferenciaci do různých buněčných typů [1]. Existují 4 základní zdroje kmenových buněk, a sice embryonální tkáně, fetální a extrafetální tkáně, tkáně dospělého organismu a diferencované somatické buňky uměle přeprogramované do nediferencovaného stádia, tzv. indukované pluripotentní kmenové buňky (induced pluripotent stem cells, iPSC). Kmenové buňky z těchto zdrojů se liší svou potencií, tj. množstvím buněčných typů, do kterých jsou schopny diferencovat. Například kmenové buňky získané z embrya ve stádiu moruly jsou totipotentní, tj. schopné diferencovat do všech buněčných typů přítomných v organismu i do buněk placenty. Kmenové buňky získané z extrafetálních tkání, jako je amnion, amniová tekutina, chorion a pupeční šňůra, jsou pluripotentní, tj. schopné diferencovat do buněk všech tkání kromě placenty. Kmenové buňky z tkání dospělého organismu jsou obvykle multipotentní, tj. schopné diferencovat pouze do omezeného počtu specializovaných buněčných typů. Proto nebyly některými autory považovány za typické kmenové buňky, a byly nazývány buňkami stromálními [2] či buňkami progenitorovými (pro přehled viz [3]). Další návrh na změnu terminologie kmenových buněk dospělého organismu vyšel z poznatku, že při buněčné terapii, čili injekčním podání těchto kmenových buněk do poškozených tkání, tyto buňky prakticky nediferencují do buněk uvedených tkání, ale navozují regeneraci tkání nepřímo parakrinní produkcí širokého spektra biomolekul, zahrnujícího růstové, imunomodulační i antimikrobiální faktory. Proto bylo Arnoldem Caplanem navrženo nazývat tyto buňky nikoli buňkami kmenovými, ale medicínálními signálními buňkami (Medicinal Signaling Cells) [4]. Jelikož tyto buňky jsou v tkáních svého původu často lokalizovány perivaskulárně, jejich původ byl odvozován od pericytů [5]. Přesto však nelze diferenciační schopnost kmenových buněk dospělého organismu podceňovat. Může se dobře uplatnit v tkáňovém inženýrství, tj. při konstrukci dané tkáně in vitro a její následné implantaci in vivo. Naše studie in vitro i studie jiných autorů ukázaly, že např. kmenové buňky tukové tkáně poměrně snadno diferencují do adipocytů, osteoblastů i cévních hladkých svalových buněk vlivem vhodného složení kultivačního média, vhodné mechanické stimulace i vhodné kultivační podložky (obr. 1 A-C). Do jiných buněčných typů, jako např. do buněk endotelových a keratinocytů, je však diferenciaci kmenových buněk tukové tkáně obtížná či zcela nemožná. V těchto případech lze i v tkáňovém inženýrství využít parakrinní a podpůrnou funkci kmenových buněk. Kmenové buňky tukové tkáně kultivované společně s buňkami endotelovými navozovaly organizaci endotelových buněk do tubulárních struktur podobných kapilárám, přičemž se zvnějšku k těmto strukturám přikládaly na způsob pericytů a získávaly i některé markery pericytů, jako je alfa-aktin (obr. 1D) či neurální/gliální antigen 2 (pro přehled viz [3]). Lze tedy uzavřít, že kmenové buňky dospělých tkání plní dvě rovnocenné funkce, a sice



funkci parakrinní a funkci diferenciační, z nichž první se uplatňuje především v buněčné terapii a druhá v tkáňovém inženýrství.



Obr. 1 Diferenciace kmenových buněk tukové tkáně směrem k adipocytům s tukovými kapénkami obarvenými olejovou červení (A), směrem k osteoblastům s minerálními depozity obarvenými červeně (B), směrem k cévním hladkým svalovým buňkám (C) s alfa-aktinem (červeně) a kalponinem (zeleně) a směrem k pericytům (červeně) obklopujícím tubulární struktury z endotelových buněk (zeleně). Měřítka: 100 μm (A), 500 μm (B), 100 μm (C) a 50 μm (D).

- [1] Weissman IL. Cell 100: 157-168, 2000.
- [2] Horwitz EM et al. Curr Opin Hematol 13(6): 419–425, 2006.
- [3] Bačáková L et al. Biotechnol Adv 36(4):1111-1126, 2018.
- [4] Caplan AI. Stem Cells Transl Med 6(6):1445-1451, 2017.
- [5] Caplan AI. J Cell Physiol 231(7):1413-1416, 2016.

Podporováno Agenturou pro zdravotnický výzkum, Ministerstvo zdravotnictví ČR (grant č. 15-33018A).

**středa 9:00 (S)**

**Martin Bartoš^{1,2}, Tomáš Suchý^{3,7}, Monika Šupová³, Rastislav Ballay⁴,
Štefan Juhas⁵, Anna Malečková⁶, Zbyněk Tonar⁶, Pavla Sauerová²
a Marie Hubálek Kalbáčová²**

Mikro-CT hodnocení vývoje kompozitních nosičů určených pro kostní regeneraci (part 3)

¹Stomatologická klinika, 1. LF UK a VFN

²Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK

³Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AV ČR

⁴1. Ortopedická klinika, 1. LF UK a FN Motol

⁵Ústav živočišné fyziologie a genetiky, AV ČR

⁶Ústav histologie a embryologie, LF UK v Plzni

⁷Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, FS ČVUT v Praze

martin.bartos@lf1.cuni.cz

Úvod

Výzkum léčby kostních defektů představuje dynamickou oblast tkáňového inženýrství a regenerativní medicíny s významným klinickým potenciálem. Aplikace vhodného biomateriálu do oblasti defektu zajišťující kostní regeneraci by představovala výhodné řešení. Vliv parametrů nosiče má zásadní vliv na jeho interakci s okolní tkání. Pro vyhodnocení úspěšnosti implantace takového materiálu může být s výhodou použito mikro-CT, které umožní nedestruktivní hodnocení 3D struktury novotvořené kostní tkáně a příp. degradaci původního nosiče. Příspěvek je zaměřen na poslední fázi projektu (*in vivo* experiment) vývoje kompozitních nosičů určených pro kostní regeneraci a navazuje na příspěvky prezentované zde v letech 2016 a 2017. Kromě prezentace mikro-CT charakterizace jsou v příspěvku uvedeny (v souladu s heslem konference: „bavme se o tom, co nám nejde“) i spíše neočekávané technické komplikace, a to zejm. problematická lokalizace místa původního defektu v delších časových intervalech.

Metody

Tkáňové nosiče (kolagen I, polylaktid, hydroxyapatit, hyaluronan sodný) byly připraveny pomocí elektrostatického zvlákňování a lyofilizace. Část nosičů byla osazena kmenovými buňkami pomocí dynamické kultivace (osazování nosičů v průtokovém bioreaktoru) získanými z miniprasete, do kterého byly pak buňky na nosiči zpět implantovány. V proximální části femurů pokusných zvířat (N=6) bylo použito zařízení k lokalizaci defektů kotvené dvěma K-dráty. Kostní frézou byly vytvořeny 4 cylindrické defekty, které byly řešeny rozdílným způsobem: aplikací autologní kostní tkáně získané při preparaci defektů („**B**“-bone), ponecháním prázdného defektu („**E**“-empty), aplikací tkáňového nosiče („**S**“-scaffold), aplikací tkáňového nosiče s autologními kmenovými buňkami („**SM**“- scaffold+MSC). K-dráty byly zkráceny a ponechány pro budoucí lokalizaci defektů. Po 3, 6 a 12 měsících byla zvířata usmrcena a oblast původních defektů byla po explantaci analyzována pomocí mikro-CT a histologického vyšetření. Pokud byl v defektu patrný materiál nosiče, nebyl při hodnocení kostní tkáně uvažován. Jako základní parametry mikro-CT hodnocení byly vybrány následující:

Percent Object Volume (Obj.V.) - podíl kosti (resp. RTG kontrastní tkáně) v daném objemu k celkovému objemu analyzovaného objemu. (Obj.V./Volume Of Interest Volume)

Structure Thickness (St.Th.) – průměrná tloušťka objektu (počítáno ve 3D algoritmem sphere fitting)



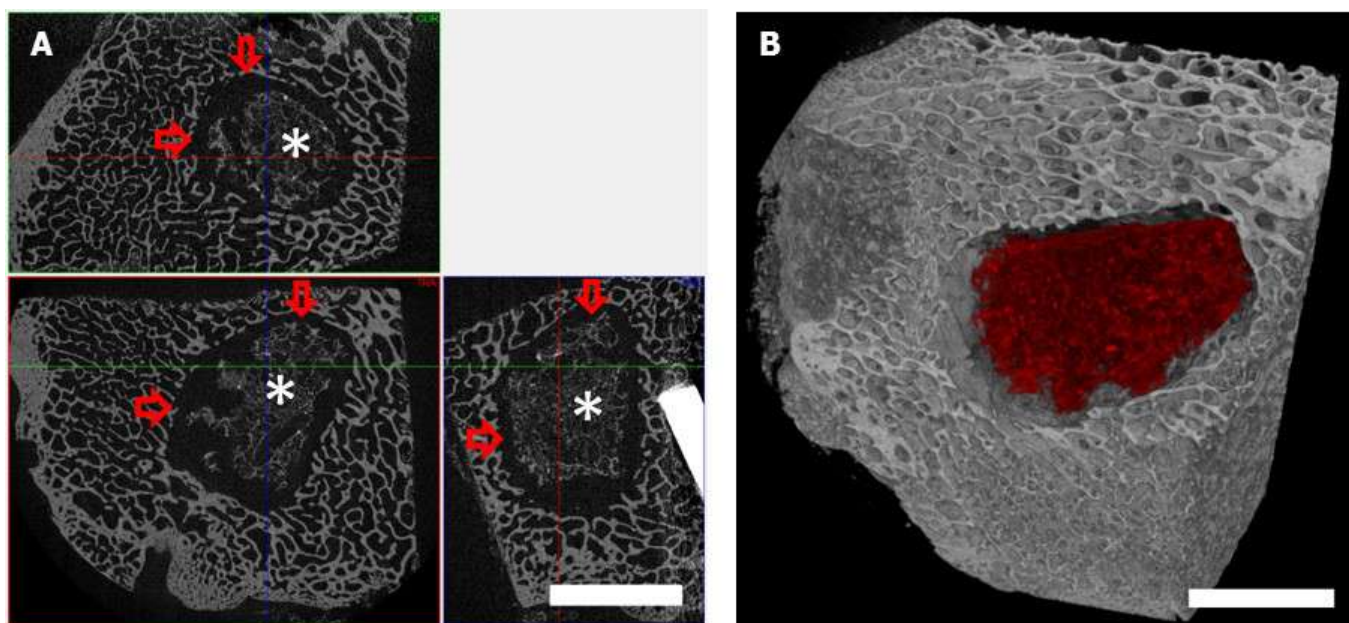
Structure Separation (St.Sp.) – průměrná tloušťka prostoru mezi částmi objektu („structure thickness“ porozity)

Referenční hodnoty byly získány mikro-CT hodnocením 30 vzorků proximálních femurů zdravých miniprasat (Kubikova et al., 2018). Výsledky byly statisticky vyhodnoceny.

Výsledky a diskuse

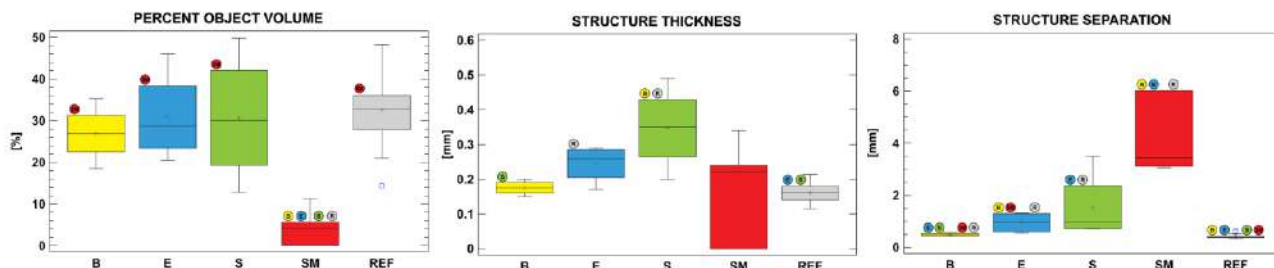
Výsledky po 3 a 6 měsících ukazují významný rozdíl mezi jednotlivými metodami řešení kostního defektu. Jako nejúspěšnější je dosud jeví současný „zlatý standard“ – aplikace autologní kostní tkáně. Použití tkáňového nosiče s kmenovými buňkami se jeví v této časové periodě jako nejméně úspěšné. Obdobné výsledky ukazují i vzorky po 12 měsících (Obr. 1).

Významným problémem se ukázala lokalizace defektů, zejm. po 12 měsících hojení. Umístění lokalizačního zařízení v oblasti proximálního femuru pro možný posun K-drátů není často jednoznačné. Výsledkem je řada vzorků, které zahrnují defekt okrajově / částečně více defektů / bez jasné přítomnosti defektu (např. u S či SM vzorcích). U vzorků 3 a 6 měsíců se tento problém objevuje ojediněle. Vzorky po 12 měsících jsou tedy omezeně hodnotitelné.



Obr. 1 Ukázka vzorků S po 6 měsících hojení: A) průřez ve 3 rovinách, patrný kostní defekt (↴) vyplněný scaffoldem (*) B) 3D vizualizace stejného vzorku. Měřítko=5 mm.

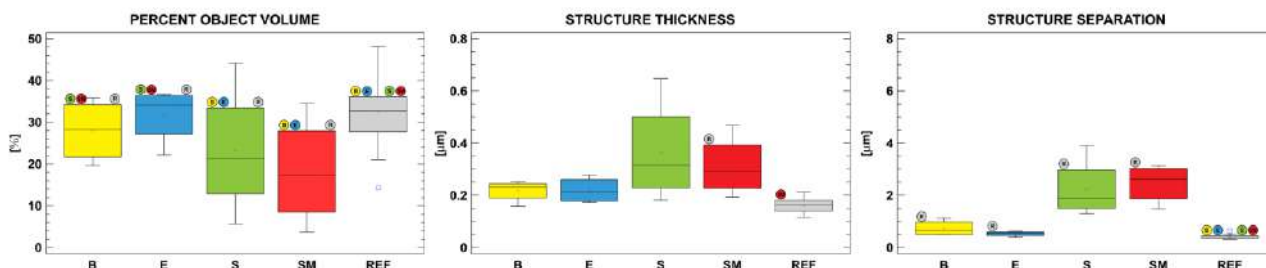
Po 3 měsících (Obr. 2) je patrné zvýšení rozptylu hodnot Obj.V. ve směru B-E-S; SM hodnoty vykazují významně nižších hodnoty. St.Th. narůstá ve směru B-E-S; SM hodnoty vykazují významně nižších hodnoty. St.Sep. narůstají ve směru B-E-S-SM. V této časové periodě se nejvýznamněji liší skupina SM.



Obr. 2. Výsledky vybraných parametrů po 3 měsících hojení; $p=0,05$. REF = referenční hodnoty (Kubikova, 2018).



Po 6 měsících (Obr. 2) lze pozorovat „vytvoření“ 2 skupin (B+E a S+SM), přičemž v rámci skupiny dosahují podobných výsledků a skupiny se liší od sebe navzájem. Působení kmenových buněk lze tedy pozorovat pouze na vzorcích po 3 měsících hojení. Po 6 měsících hojení již S a SM dosahují podobných hodnot (Obr. 3).



Obr. 3. Výsledky vybraných parametrů po 6 měsících hojení; $p=0,05$. REF = referenční hodnoty (Kubikova, 2018).

Efektivní parametr hodnocení je Structure Separation, který dobře popisuje měkkotkáňovou část defektu (zejm. u S a SM skupiny). Percent Obj.V. neuvažuje strukturu kostní tkáně v defektu, např. zda jde o kostní „monoblok“ nebo trabekulární strukturu; v důsledku může atypická struktura dosahovat podobných hodnot jako zdravá kostní tkáň.

U řady defektů S a SM, které jsou tvořeny pouze měkkotkáňovým defektem se zbytky nosiče, je přítomný okrajový lem kostní tkáně, který se částečně dostává do oblasti původního defektu, je tedy započten do hodnocení, což může zkreslovat výsledky, neboť dosažené parametry Obj.V. a St.Th. mohou být podobné normální struktuře.

Závěr

Výsledky způsobu léčby kostního defektu se po 3 a 6 měsících hojení významně liší. Prozatím nejúspěšnější se jeví aplikace autologní kostní tkáně. Aplikace uvedeného tkáňového nosiče (S a SM) nepodporuje tvorbu kostní tkáně. Vliv osazení kmenovými buňkami lze pozorovat pouze po 3 měsících hojení, dále jsou výsledky skupin S a SM podobné. Lokalizace odběrového místa po 12 měsících hojení je obtížná a bude potřebovat úpravu technického řešení do budoucna. Nyní se dokončuje mikro-CT hodnocení vzorků po 12 měsíčním hojení a histologické hodnocení, které by mělo pomoci identifikovat příčinu selhání aplikace tkáňových nosičů.

Tento projekt byl podpořen z programového projektu MZČR (reg. č. 15-25813A) a MŠMT (Progres Q29). Mikro-CT bylo pořízeno za podpory OpVaVpI, ERDF a MŠMT (reg. č. CZ.1.05/4.1.00/16.0346).

Suchý, T. et al.: The effects of different cross-linking conditions on collagen-based nanocomposite scaffolds—an in vitro evaluation using mesenchymal stem cells. *Biomed. Mater.* 10 (2015) 065008.

Suchý, T. et al.: Dry versus hydrated collagen scaffolds: are dry states representative of hydrated states? *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* (2018).

Bartoš, M. et al.: Micro-CT in tissue engineering scaffolds designed for bone regeneration: principles and application. *Ceramics-silikaty* 62, (2) 194 - 199 (2018).

Kubíková, T. et al.: Comparison of ground sections, paraffin sections and micro-CT imaging of bone from the epiphysis of the porcine femur for quantitative histological evaluation. *Annals of Anatomy* (2018).



Billström, G.H.: Application of scaffolds for bone regeneration strategies: Current trends and future directions. *Injury, Int. J. Care Injured* 44 (2013) S1, S28–S33.

Ho, S.T., Hutmacher, D.W.: A comparison of micro CT with other techniques used in the characterization of scaffolds. *Biomaterials*, 2006; 27(8):1362–76.

Sultana, N. et al.: Composite Synthetic Scaffolds for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *SpringerBriefs in Materials*.

středa 9:20 (S)

Anna Stunova¹, Lucie Vistejnova¹, Peter R. Mouton^{2,3}, Dagmar Bilikova¹

Accurate quantification and spatial distribution of fibroblasts in 3-D scaffold

¹Biomedical Center, Medical Faculty in Pilsen, Charles University, Pilsen

²Department of Computer Sciences and Engineering, College of Engineering, University of South Florida, 4202 E Fowler Ave, Tampa, FL, USA

³SRC Biosciences, 1810 W. Kennedy Blvd, Tampa, FL, USA.

Anna.Stunova@lfp.cuni.cz

Background

Three-dimensional (3-D) objects such as fibroblasts distribute in a 3-D volumes such as tissues or artificial scaffolds. Current methods for cell number determination in 2-D (e.g., DNA/protein quantification in cells on plastic, cell counting on surface of 3D objects) suffer from lack of accuracy and descriptions of the spatial distribution of cells. Further, 2-D sampling of 3-D objects suffer from biases associated with cellular size, shape and orientation^{1,2}. These obstacles can be addressed with the application of unbiased (accurate) methods for acquisition of cell numbers and spatial distribution in a defined region of interest.

Aim

The aim of this project is to develop a method for accurate cell number determination and spatial distribution using freely available ImageJ (FIJI) software and stereological principles for cell sampling and quantification. Here we outline an approach that can be broadly applied to quantify cells and their distribution in a 3-D tissue or scaffold volume under normal or experimental conditions.

Methods

Collagen hydrogel scaffolds with incorporated dermal fibroblasts ("cells") were used as representative model of 3-D objects in a defined 3-D volume. About 5 000, 25 000 or 50 000 cells were seeded into scaffolds of total volume of 100 μ l. Cells were stained by calcein AM (1 μ g/ml, 45 min, 37°C). As shown in Figure 1, 9 Z-axis columns were located a systematic-uniform distance apart through the XYZ-axes of each scaffold. The columns included 30 separated Z stacks with 0.02 mm distance between each stack (height of column = 30 • 0.02 mm = 0.6 mm). Each column had an XY area of 0.584 mm², giving a total volume of each column of 0.35 mm³ (0.6 mm • 0.584 mm²) = 0.35 μ l. Thus, the total volume of all 9 columns was 3.15 μ l (0.35 μ l • 9), i. e. 3.15% of total scaffold volume (100 μ l). Cell numbers were counted with columns using FIJI (ImageJ, NIH, Bethesda, Maryland, USA) and cell number in total volume of scaffold was estimated from each column using the optical disector principle². Counting procedure was



performed by 3 independent observers and statistical analysis was performed by Statistica v12 (Tibco, USA).

Results

The variances of cell numbers counted by observers 1-3 were homogenous for 5 000, 25 000 and 50 000 seeded cells (Levene's test, $p < 0.05$). There were no statistical differences between cell numbers counted by 3 independent observers (ANOVA, Fisher LSD test, $p < 0.05$). The variances of cell numbers counted in 3 – 9 columns were homogenous for 5000, 25 000 and 50 000 seeded cells (Levene's test, $p < 0.05$) and there were no statistical differences between cell numbers counted in 3 – 9 columns (ANOVA, Fisher LSD test, $p < 0.05$). Counted cell number for 5 000 seeded cells was $5\,531 \pm 763$ (t-test seeded vs. counted, $p < 0.05$; CV=14%); for 25 000 seeded cells was $38\,369 \pm 3\,502$ (t-test seeded vs. counted $p < 0.05$; CV=9%); and for 50 000 seeded cells was $65\,338 \pm 634$ (t-test seeded vs. counted $p < 0.05$; CV=1%).

Discussion and Conclusion

There is no difference between cell numbers counted by 3 independent observers; thus, the cell number can be determined by 1 observer. There is no difference between cell numbers counted in 3 – 9 columns and it can be concluded there is no matter if cell number is determined in 3 or 9 columns. However, based on 95% confidential interval (CI_{95}) we concluded the cell number determination can be performed from 5-9 columns, i.e. from 1.75% - 3.15% of total scaffold volume reaching the similar accuracy (data not shown, more in lecture). Importantly, the counted cell numbers differ from seeded cell numbers in case of 25 000 and 50 000 seeded cells. Possible explanation is the insufficient accuracy of cell counting method before scaffold seeding (Bürker chamber) or variance in total scaffold volume. The issues for further examinations include the determination of accuracy of cell counting method before scaffold seeding, exact verification of the total scaffold volume, the revision of sampling procedure for scaffolds with homogenous cell distribution, and the definition of sampling procedure for scaffolds with heterogeneous cell distribution.

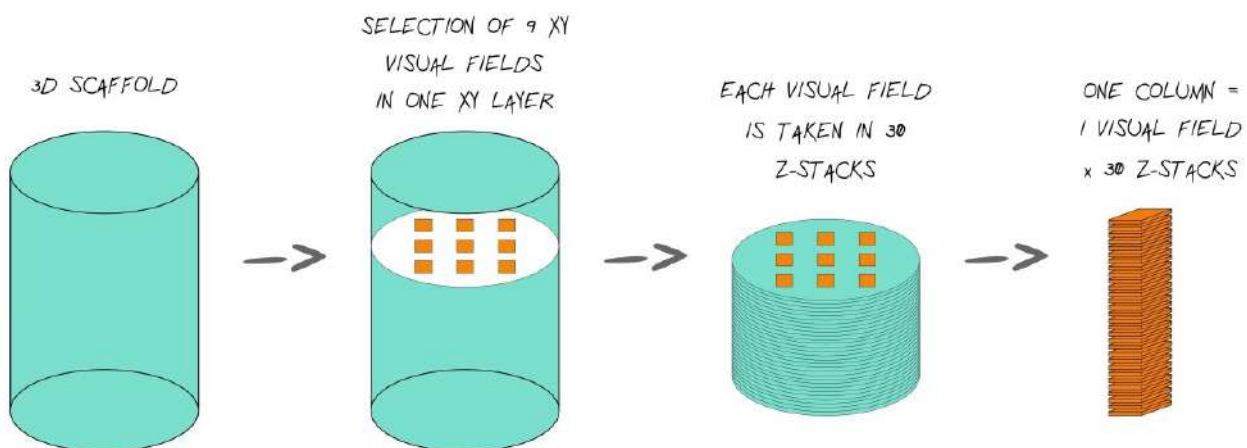


Fig. 1 SAMPLING PROCEDURE. 3-D scaffold sampled into 9 XY visual fields and 30 Z-stacks. Cell number is counted for each column ($0.35 \mu\text{l} = 0.35\%$ of total volume). Our question is "What is the minimal number of columns for accurate cell number determination in total sample volume and what should be the distribution of these columns within total volume considering cell distribution heterogeneity?"

1. Wicksell S.D. The corpuscle problem: a mathematical study of a biometric problem. *Biometrika*. 1925:84–99.



2. Mouton PR. Principles And Practices Of Unbiased Stereology: An Introduction For Bioscientists (2002). The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.

This study was supported by project No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000787 „Fighting Infectious Diseases”, awarded by the MEYS CR, financed from EFRR; by Specific University Research Grant No. 260392 provided by Charles University; and by Grant Agency of Charles University, No. 128417.

středa 9:40 (S)

**Jitka Říhová¹, Tomáš Suchý^{1,2,3}, Lucie Vištejnová²
Monika Šupová^{2,3} a Lukáš Horný^{2,3}**

Mechanické a strukturní vlastnosti kolagenových nanovláknenných vrstev v simulovaných tělních podmínkách

¹ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Praha

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

³Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň

Jitka.Rihova@fs.cvut.cz

Aplikace biodegradabilních polymerů v medicíně zahrnují resorbovatelné šicí materiály, matrice pro kontrolované uvolňování léčiv, nosiče pro tkáňové inženýrství nebo resorbovatelné ortopedické aplikace jako jsou kostní cementy, hřeby, šrouby a dlahy. Pro vývoj polymerních degradabilních systémů je pochopení faktorů, které ovlivňují jejich degradaci naprosto klíčové, zejména z pohledu degradační kinetiky, změny mechanických vlastností a identifikace degradačních produktů [1]. Pro degradace probíhající v biologickém prostředí se vžil termín biodegradace. V kontextu biomedicínských aplikací můžeme biodegradaci definovat jako postupný rozpad materiálu řízený specifickou biologickou aktivitou [2]. Změny fyzikálně-chemických vlastností materiálů, které jsou vystavené tělním tekutinám, jsou pak výsledkem chemických, fyzikálních, mechanických a biologických interakcí mezi materiálem a okolním prostředím [1].

Tento příspěvek pojednává o analýze mechanických a strukturních vlastností nanovláknenných kolagenových vrstev za podmínek simulujících tělní prostředí a při kontaktu s kostními buňkami a buňkami vaziva. Kolagenové vrstvy byly připraveny elektrostatickým zvlákněním 8 %hm. roztoku kolagenu (typ I) ve fosfátovém pufru a ethanolu (1/1 obj.), jejich stabilita byla zvýšena zesíťováním pomocí chemického činidla na bázi karboimidu [3]. Na připravených vrstvách byly po dobu 21 dní kultivovány lidské dermální fibroblasty nebo osteoblasty lidské linie SAOS-2. Buňky byly kultivovány ve standardním kultivačním médiu obsahující 10 % fetálního bovinního séra, při 37°C a v atmosféře obsahující 5 % CO₂. Stejně médium a podmínky byly použity pro vrstvy vystavené pouze kultivačnímu médiu bez buněk. Úspěšnost kultivace obou typů buněk byla sledována měřením metabolické aktivity buněk v časech 1, 7, 14 a 21 dní a pomocí barvení živých buněk a fluorescenční mikroskopie. Mechanické vlastnosti (Youngův modul, mez pevnosti v tahu) byly stanoveny pomocí jednoosé tahové zkoušky. Vliv činnosti buněk na sekundární strukturu kolagenu byl ověřován pomocí infračervené spektroskopie. Kolagenové vrstvy byly dále hodnoceny pomocí obrazové analýzy (elektronová mikroskopie).

[1] Azevedo H.S. and Reis R.L., "Understanding the Enzymatic Degradation of Biodegradable Polymers and Strategies to Control their Degradation Rate", *Biodegradable Systems in Tissue*



Engineering and Regenerative Medicine, CRC Press, Boca Raton, pp. 177-201, 2005.

[2] Williams, D.F. and Zhong, S.P., Biodeterioration/biodegradation of polymeric medical devices in situ, *Int. Biodeter. Biodegrad.*, 95, 1994.

[3] Suchý T. et al., The release kinetics, antimicrobial activity and cytocompatibility of differently prepared collagen/hydroxyapatite/vancomycin layers: Microstructure vs. Nanostructure, *Eur. Pharma. Sci.* 100, 2017.

Podpořeno projektem CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000787, Centrum výzkumu infekčních onemocnění, uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR, financovaného z Evropského Fondu pro Regionální Rozvoj.

středa 10:30

**Zbyněk Tonar¹, Tereza Kubíková¹, Martin Bartoš², Štefan Juhas³,
Tomáš Suchý⁴, Pavla Sauerová⁵ a Marie Hubálek Kalbáčová⁵**

**Volba metod pro kvantitativní hodnocení kostní tkáně - výbrusy,
odvápňené histologické řezy nebo mikro-CT?**

¹Ústav histologie a embryologie a Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Plzni, Plzeň

²Stomatologická klinika, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Praha

³Laboratoř buněčné regenerace a plasticity, Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i, Liběchov

⁴Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i, Praha

⁵Ústav patologické fyziologie 1. LF UK, Praha

zbynek.tonar@lfp.cuni.cz

Motivace a cíle práce

Morfometrie je poměrně častým nástrojem pro kvantitativní popis normálního stavu, remodelace a hojení kostní tkáně. Data dostupná v literatuře jsou založena na třech různých metodických postupech zpracování a hodnocení kosti: (i) odvápňení minerální složky kosti a zpracování na histologické parafinové řezy, (ii) řezání a krájení průsvitných výbrusů bez předchozí demineralizace, (iii) nedestruktivní výpočetní tomografie s vysokým rozlišením (mikro-CT) trojrozměrných vzorků kosti. Každý z těchto postupů má své výhody i omezení. Cílem naší studie bylo vyhodnotit vzájemnou porovnatelnost výsledků získaných u kostních vzorků zpracování rozdílnými postupy.

Materiál a metody

Vzorky z velkého trochanteru proximální epifýzy femuru prasete (n=15; stáří 24-39 měsíců, hmotnost 59±8 kg) byly rozděleny na dva sousedící kostní bločky (proximální označení jako A, distální označené jako B), každý o rozměru přibližně 1×1×1 cm. U každého bločku byly pomocí mikro-CT změřeny čtyři parametry: celkový objem kosti, objem kortikální kompaktní kosti, objem trámčité kosti a tloušťka kortikální kompakty. Poté byly bločky A odvápňeny a zpracovány na parafinové řezy barvené hematoxylinem-eosinem. Vzorky B byly zpracovány na výbrusy o tloušťce 70-90 μm. Pomocí stereologické bodové testovací mřížky a pomocí lineárního měřítka byly



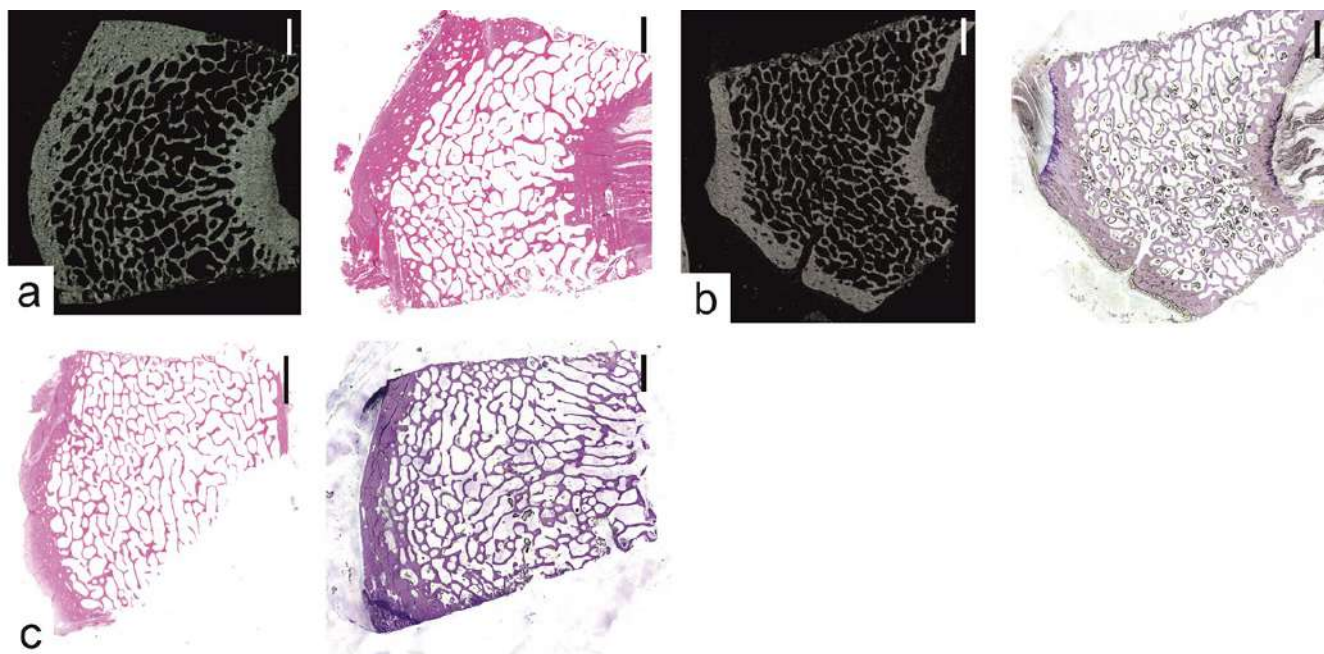
vyhodnoceny stejné kvantitativní parametry jako při předchozích mikro-CT. Hodnocení vzorků A bylo založeno na třech řezech, hodnocení vzorků B na dvou výbrusech.

Výsledky

Párové testy neprokázaly význačné rozdíly u morfometrických dat naměřených u týchž vzorků pomocí mikro-CT a pomocí stereologického hodnocení odvápněných řezů (bločky A). Párové testy neprokázaly význačné rozdíly ani u morfometrických dat naměřených u týchž vzorků pomocí mikro-CT a pomocí stereologického hodnocení výbrusů (bločky B).

Závěr

Histomorfometrie založená na poměrně malém počtu odvápněných řezů a nedemineralizovaných výbrusů poskytuje průměrné údaje o objemu kompaktní i trámčité kosti a tloušťce povrchové kompakty jako nativně trojrozměrné mikro-CT vyšetření. Otázka ekvivalence dat získaných z odvápněných řezů vs. z výbrusů zůstává nerozhodnuta kvůli destruktivitě obou metod a nemožnosti vyhodnotit zcela totožné oblasti oběma metodami.



Obr. 1 Příklady vzájemně si odpovídajících vzorků zpracovaných různými metodami: **a** – porovnání mikro-CT (vlevo) vs. odvápněný řez (vpravo); **b** – porovnání mikro-CT (vlevo) a výbrusu (vpravo); **c** – porovnání odvápněného řezu (vlevo) a výbrusu (vpravo). Měřítko 2000 μm .

Projekt byl podpořen grantem AZV 15-25813A a projektem NPU LO1503 poskytovaným MŠMT.



**František Denk ml.¹, Aleš Jíra¹, František Denk², Tomáš Goldmann³
a Zdeněk Čejka⁴**

Prodlužování dlouhých kostí zevním fixačním aparátem

¹České vysoké učení technické v Praze, Fakulta stavební, Katedra mechaniky, Praha

²České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Ústav materiálového inženýrství, Praha

³České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Praha

⁴Prospon, spol. s r. o. Kladno

frantisek.denk@fsv.cvut.cz

Prodlužování dlouhých kostí se využívá zejména k vyrovnání nestejných délek dolních končetin u dětí a dospívajících. Kortikotomie s maximální úsporou periostu, endosteu a kostní dřeni podporuje tvorbu kostního regenerátu v interfragmentálním prostoru přerušovaných diafýz, což je patrné během celé distrakční fáze. K prodlužování diafýz dlouhých kostí je v této souvislosti vyvíjen a experimentálně verifikován prototyp nového zevního fixačního aparátu, který by měl eliminovat nevýhody dosud používaných prolongátorů. Jedná se zejména o urychlení léčebného procesu, tj. biomechanickou stimulaci tvorby a formace svalku s následnou konsolidací a osifikací. Předmětný nový typ zevního fixátoru s elektronicky řízenou prolongací a regulací napěťových stavů mezi kostními fragmenty by měl podporovat urychlení formace tkáně, bezbolestnou prolongaci prováděnou pozvolným krokovým prodlužováním a zajistit dostatečnou tuhost pro přenos silových účinků vyplývajících z biomechanického zatěžování. Zkrácení doby léčení s podporou tvorby svalku je řešeno navrženým časovým plánem prolongace, který kromě častějších a menších distrakčních kroků zahrnuje také fáze dynamického buzení a biomechanického klidu potřebného k efektivní a kvalitní tvorbě svalku. Navržený zevní fixační aparát, jehož stimulační účinky jsou kontrolovány řídicí jednotkou a softwarem, současně umožňuje dostatečnou mobilitu pacienta a zmírňuje bolesti během samotné distrakce. Součástí aparátu je integrovaný systém pro sledování stavu interfragmentální tkáně v reálném čase. V rámci vývoje jsou experimentálně a numericky ověřovány základní funkce, stabilita a tuhost nového fixačního aparátu během distrakčního procesu a fyziologického zatěžování. Paralelně se práce zaměřuje na podrobnou numerickou 2D a 3D MKP analýzu simulující homogenní a nehomogenní vývoj interfragmentální tkáně, kinetické procesy formace a osifikace v průběhu celého průběhu prodlužování femorální diafýzy dolní končetiny metodou distrakční osteogeneze. Numerické výpočty jsou optimalizovány a porovnávány s radiografickou analýzou vývoje konkrétních kostních regenerátů z klinické praxe.

Tento příspěvek vznikl na základě podpory grantu TAČR TH02020199.

**Jan Vodička****Predikce remodelačních změn po implantaci krátkého dřívku totální náhrady kyčelního kloubu**

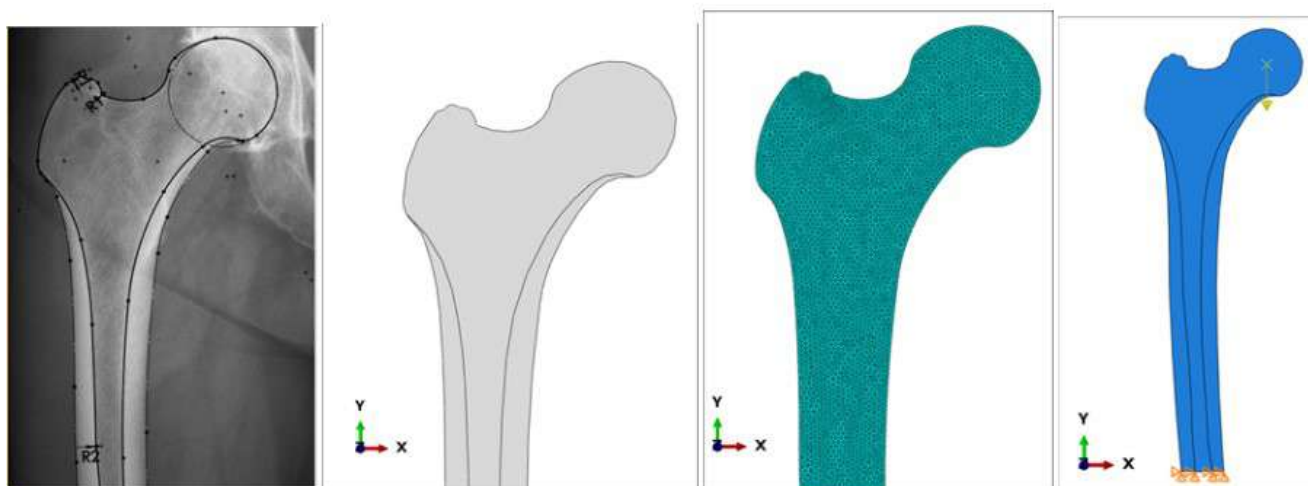
České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Praha

jan.vodicka@cvut.cz

Implantace kyčelní náhrady se v posledních letech stala jednou z nejfrekventovanějších operací ve všech zemích vyspělého světa. V Evropské unii se operuje zhruba 0,75 milionu kyčelních náhrad ročně, v České republice kolem 10 000. S rostoucím věkem obyvatelstva a počtem mladých pacientů s osteoporózou roste i tlak na prodlužování životnosti implantátů stejně jako na vhodné řešení revizních endoprotéz.

Selhání kloubních náhrad je často spojeno s tzv. Stress shieldingovým efektem. Tento jev je nejčastěji pozorován u kyčelních náhrad a je způsoben řádovým nepoměrem velikosti modulů pružnosti dřívku a kostní tkáně. Konvenční dřívky využívají pro svou fixaci kotvení ve své distální části, díky čemuž dochází i k výrazným změnám v rozložení napjatosti v okolí implantátu. Napětí se koncentruje v distální části náhrady, a tak dochází k výraznému poklesu napjatosti v proximální části femuru. Tyto nefyziologické stavy mají za následek úbytek kostní tkáně v trochanterické oblasti, následné uvolnění náhrady a často i hypertrofické změny spojené s „uzamčením“ implantátu v jeho distální části.³

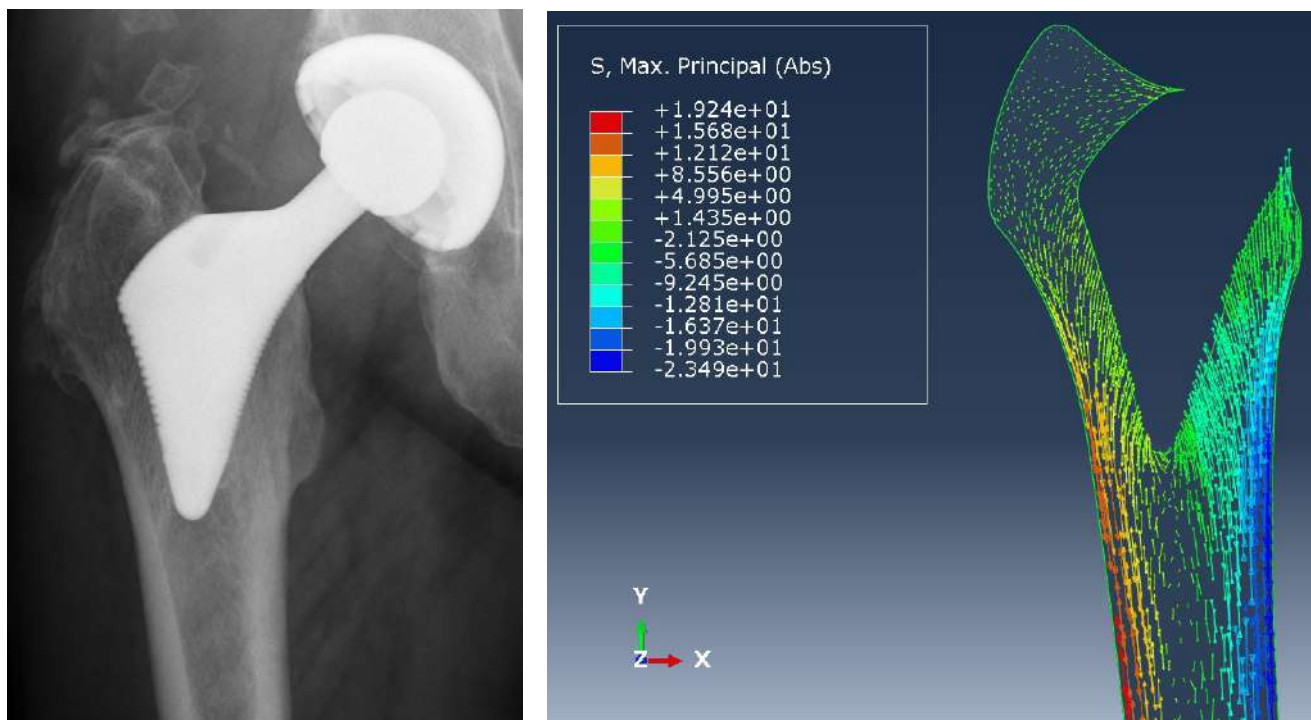
Krátké dřívky kyčelních náhrad byly vyvinuty mimo jiné za účelem redukce zmíněných remodelačních změn, které jsou s daným typem endoprotézy spojeny. Mezi jejich další výhody spadá například zachování většího množství kostní tkáně, snížení doby rekonvalescence pacienta, méně invazivní operační postupy či snížení celkové bolesti v okolí kyčelního kloubu. Krátké dřívky pro své kotvení využívají oproti dřívkům konvenčním značnou část proximálního femuru (převážnou část metafýzy a epifýzy) a díky tomu zlepšují i celkový přenos sil do proximální oblasti.^{1, 4, 5}



Obr. 1 Příklad tvorby výpočetního modelu (femur bez implantátu).



Wolfův zákon nám definuje, že orientace kostních trámčů je shodná s orientací hlavních napětí.² Cílem mé práce je tvorba geometrických, potažmo výpočetních modelů z různých RTG snímků pacientů, kterým byly v minulosti implantovány krátké dříčky kyčelních náhrad. Výsledky z MKP výpočtů v podobě vektorového pole hlavních napětí porovnávám s orientací trámčů spongiózní kosti. Výsledky z pooperačních snímků často predikují chování kosti v pooperačním období a mohou tak sloužit k návrhu geometrie, vnitřní struktury či metodiky implantace kyčelního implantátu vyvíjeného ve firmě ProSpon spol. s r.o.



Obr. 2 Vizuální porovnání RTG snímku a výsledků z MKP výpočtů

1. ALBERS, Anthony, et al. Favorable results of a short, tapered, highly porous, proximally coated cementless femoral stem at a minimum 4-Year follow-up. *The Journal of Arthroplasty*, 2016, 31.4: 824-829.
2. COWIN, S.C., Mechanical modelling of the stress adaptation process in bone, *Calcif. Tissue int.*, 36 (Suppl. 1), S19-24,1984.
3. GRONEWOLD, Jens, et al. Changes in strain patterns after implantation of a short stem with metaphyseal anchorage compared to a standard stem: an experimental study in synthetic bone. *Orthopedic reviews*, 2014, 6.1
4. GUSTKE, Kenneth. Use of Short Stems for Total Hip Arthroplasty: Is It a Napoleonic Solution?. In: *Seminars in Arthroplasty*. WB Saunders, 2012. p. 159-162.
5. MCTIGHE, Timothy, et al. Total Hip Stem Classification System. *Reconstructive Review*, 2014, 4.2.

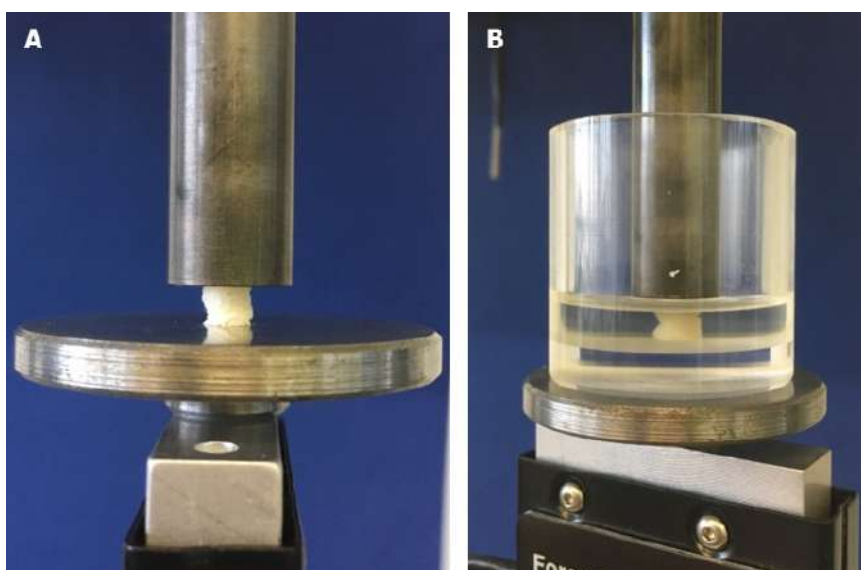
**středa 11:30 (S)****Kristýna Kubášová¹, Radek Sedláček^{1,2} a Tomáš Suchý^{1,2}****Vliv stabilizace chitosanu na mechanické vlastnosti kompozitních nosičů pro regeneraci kostní tkáně**

¹České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Praha

²Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Plzeň

Kristyna.Kubasova@fs.cvut.cz

Cílem experimentu bylo určit mechanické vlastnosti kompozitního chitosan – bioapatitového nosiče s antibakteriálním potenciálem, v závislosti na jeho stabilizaci, která byla provedena pomocí dvou různých chemických činidel. Dalším srovnávacím kritériem byl vliv hydratace v podmínkách, které simulují osazování nosičů kmenovými buňkami a vnitřní prostředí organismu. Zkoušené vzorky byly zatěžovány ve 3 stavech – ve stavu suchém (Obr. 1A) a stavech hydratovaných (Obr. 1B) po dobu 24 h a 48 h při 37 °C a v 5% CO₂ atmosféře. Z tlakové zkoušky navržené pro porézní materiály byly zpracovány pracovní diagramy a z nich posléze vyhodnocovány tři hlavní parametry – stabilní hladina napětí, elastický gradient a smluvní mez kluzu. Cílem prováděných experimentů bylo posoudit vliv různých způsobů stabilizace porézních chitosan – bioapatitových kompozitů a potenciální změny jejich chování během hydratace, která je pro jejich aplikaci v podobě nosičů buněk zásadní.



Obr. 1 Zatěžování suchého (a) a hydratovaného (b) vzorku.

Podpořeno projektem CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000787, Centrum výzkumu infekčních onemocnění, uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR, financovaného z Evropského Fondu pro Regionální Rozvoj.

středa 11:40 (F)**Firemní prezentace****Prezentace digitálního mikroskopu firmy KEYENCE s možností nasnímání vlastních vzorků**

KEYENCE Microscopes and 3D Surface Profilers For Exact Analysis.

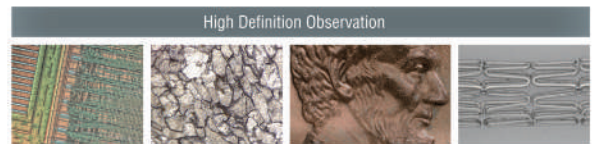
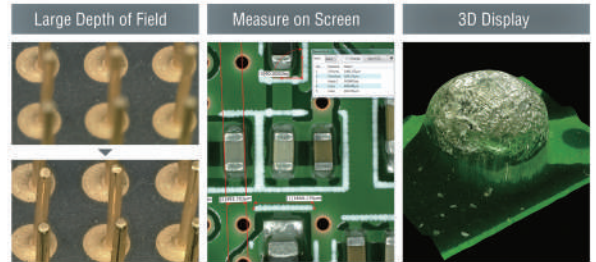
Each microscope can be adjusted to your needs.

MICRO-ANALYSIS

VHX Series Digital Microscope



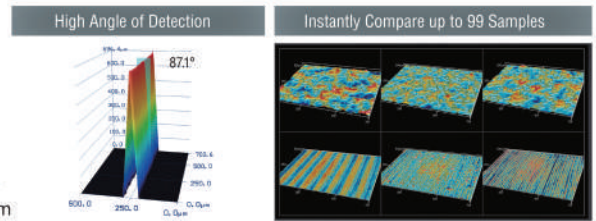
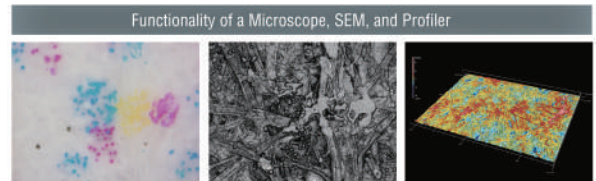
- 250 nm Feature Resolution
- 0.1x to 5000x Magnification
- Fully Focused Observation
- View from Any Angle



VK-X Series Laser Scanning Confocal Microscope



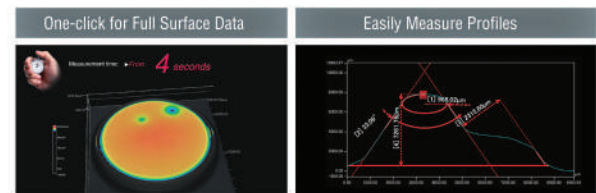
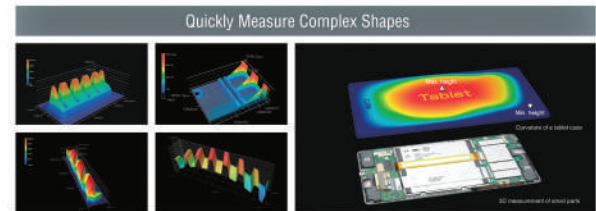
- Profile, Roughness, Film Thickness
- Measure on Any Material
- Analyze 42 Roughness Parameters
- Nanometer Resolution Over 50 mm



VR Series Wide-Area 3D Measurement System



- Instant 3D Measurement
- Analyze Form and Contour
- Compare Directly to CAD
- Measure up to 100 mm x 200 mm



For free demonstration please contact us at microscopy@keyence.eu

The Art of Technical Surgery



ProSpon Kladno:

vývoj a výroba nástrojů
a implantátů pro ortopedii,
chirurgii a traumatologii



náhrada kyčelní jamky „Corona“
3D tisk z Ti6Al4V

Ortopedické náhrady kloubů - koleno, kyčel, rameno, hallux
Onkologické implantáty - individuální náhrady všech kloubů i částí kostí
Zevní fixátory, páteřní fixátory TL
Implantáty a nástroje pro ACL
3D tisk z čistého titanu a z Ti6Al4V

ProSpon, spol. s r.o., Jiřího Voskovce 3206, 272 01 Kladno, ČR
T +420 312 247 763, F +420 312 248 927, prospon@prospon.cz

www.prospon.cz



Jelikož současná technická úroveň komerčně dodávaných XPS zařízení dle našeho názoru plně nereflektuje extrémně rychlý technologický vývoj posledního desetiletí, zabývá se společnost Vacuum Systems Ltd. posouváním hranic těchto zařízení, a propojováním jednotlivých analyzačních technik do jednoho kompaktního zařízení. Lze očekávat, že požadavky výzkumných pracovníků nejen na samotnou přesnost a citlivost těchto zařízení, ale i na komplexnost získaných informací, budou neustále narůstat. Jelikož analýza složení materiálu XPS systémy tvoří samotnou kostru materiálového výzkumu a vývoje, věříme, že se může Česká republika posunout na samotnou špičku tohoto oboru.

Společnost Vacuum System Ltd. navrhuje a vyrábí nejmodernější spektrometry a mikroskopy XPS / XPEEM, včetně elektronové optiky zlepšující klíčové analytické parametry systému pro spektroskopii a mikroskopii. Zpřesňujeme systém detekce částic pracující ve spektroskopickém a zobrazovacím režimu s podporou vlastních vysoce přesných napájecích zdrojů a zesilovačů. Naš software s intuitivním a flexibilním uživatelským rozhraním a standardizovaným přenosem je integrovatelný do většiny stávajících komerčních systémů. Unikátní design stanice XPS / XPEEM je konstruován s ohledem na plánované budoucí spojení s experimenty prováděnými v přípravné komoře, což umožňuje okamžitou charakterizaci materiálu. Stanice je stavěna tak, aby umožňovala charakterizaci nových materiálů v tuhém stavu, biologických a lékařských vzorků, otevřela nové možnosti výzkumu a vývoje, pokryla maximální okruh stávajících aplikací, umožňovala kontrolu kvality či pronikla do netradičních oborů, jako forenzní analýza či virologie. Díky všem inovacím popsaným výše se tak z našeho instrumentu stává široce zaměřený analytický přístroj, který nalézá uplatnění v oborech, ve kterých to donedávna bylo téměř nemyslitelné. V současné době lze tento inovativní XPS použít ve většině technologicko-výrobních firmách k analýze moderních technologických procesů. Z těchto důvodů se zaměřujeme taktéž na poskytování služeb v oblasti technologického auditu těchto procesů, neboť investiční nároky pořízení nejmodernějšího zařízení by byly pro jednotlivé společnosti neadekvátní.

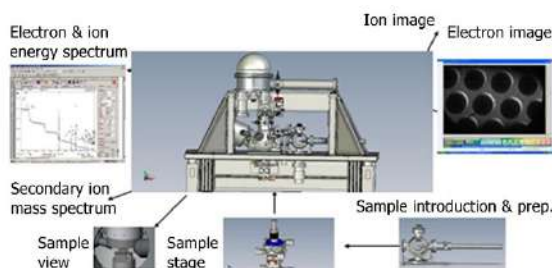


Vacuum Systems Ltd.

11, Lexden Lodge Ind. Est
Crowborough
East Sussex, TN62NQ
Drs Jiri & Hana Krizkovi
krizek@vacsys.co.uk
www.vacsys.com.uk

Průmyslové sektory:

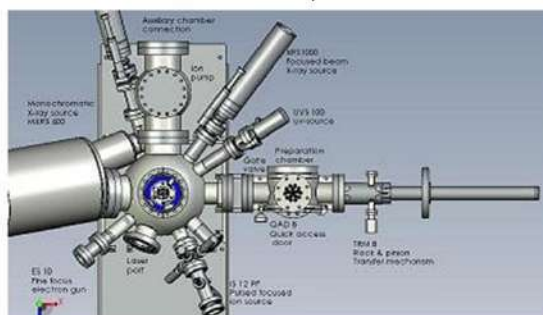
- Instrumentace
- Detektory a analytické systémy
- Ovládání, měření a regulace
- Výpočetní technika (hardware a software)



The most comprehensive chemical microscopy under development with resolution 200nm for iXPS 50nm for XPEEM

XPEEM SIMS

Multi-method operation



- X-ray photoemission spectrum (XPS)
- Focused & mono-chromated X-ray
- Ion surface scattering spectrum (ISS)
- Chemical bond maps (iXPS)
- Low energy electron microscopy (LEEM)
- UV-photoemission electron microscopy (PEEM)
- Secondary ion mass spectrometry (SIMS)
- SIMS microscopy (SIMS_M)
- Provision for laser assisted PEEM, SIMS, SIMS_M
- Provision for powder samples

Naše zakázková laboratoř poskytuje našim partnerům kompletní přístrojové a vědomostní zázemí a umožňuje jim nastoupit cestu analýzy nových výrobních postupů či závad za pomoci té nejmodernější techniky. Vyvinuli jsme metodiku analýzy vodních nečistot zcela novým způsobem, disponujeme velikou zkušeností v XPS analýze chemicky agresivních materiálů. Poskytujeme XPS analýzy velkých vzorků <100mm a obrazy detailů v micro- a submicro-scale.

**středa 14:20****Zdeněk Drozd a Zuzanka Trojanová
Hořčíkové slitiny a nanokompozity**

Matematicko-fyzikální fakulta University Karlovy, Praha

zdenek.drozd@mff.cuni.cz

Hořčík je třetí nejčastěji používaný kov používaný pro průmyslové aplikace po železe a hliníku. Dobrá biokompatibilita hořčíkových slitin a modul pružnosti, který se blíží k modulu lidských kostí, vzbudily zájem lékařů o Mg slitiny, které se začaly zkoumat s ohledem i na biomedicínské aplikace. Hořčíkové slitiny a v poslední době i kompozity se intenzívně studují s cílem nalézt nejvhodnější materiál pro konkrétní použití k řešení zdravotních problémů. Jsou důležité mechanické vlastnosti těchto materiálů, elastický modul, únavové vlastnosti a rychlost koroze v tělních tekutinách. Z uvedeného vyplývá, že se jedná o komplexní problematiku, ze které jsme si vybrali oblast mechanických a fyzikálních vlastností materiálů, které by připadaly v úvahu pro použití v medicíně.

Hořčíková slitina AX52 (nominální složení Mg-5Al-2Ca ve váh.%) byla připravena metodou úhlového protlačování s konstantním průřezem (ECAP) (1-8 průchodů) použitím cesty A. Mikrostruktura a textura vzorků byla zjištěna pomocí skenovacího elektronového mikroskopu. Vzorky byly testovány v tahu pomocí miniaturizované techniky při pokojové teplotě a různých deformačních rychlostech z intervalu 1×10^{-3} and 50 s^{-1} . Výsledky odhalily výraznou citlivost protlačovaného materiálu. Nestabilní plastická deformace byla pozorována při vyšších rychlostech deformace. Tepelná vodivost specifické teplo byly měřeny v teplotním intervalu od pokojové teploty do $300 \text{ }^\circ\text{C}$.

Vliv keramických částic BN na mechanické a fyzikální vlastnosti hořčíku byl studován při zvýšených teplotách. Nanokompozit (nc) tvořený ultrajemným hořčíkem s 3 obj.% nanočástic nitridu bóru byl připraven kulovým mletím a vysokoteplotním protlačováním. Mikrostruktura a textura materiálu byla studována pomocí SEM. Vzorky nanokompozitu byly deformovány v tahu a tlaku při zvýšených teplotách mezi pokojovou teplotou a $300 \text{ }^\circ\text{C}$. Byla nalezena výrazná anizotropie mezi výsledky deformačních zkoušek v tahu a tlaku. Koeficient teplotní roztažnosti byl měřen v teplotním intervalu od pokojové teploty do $400 \text{ }^\circ\text{C}$. Předdeformace v tahu a tlaku má rozdílný vliv na teplotní závislost koeficientu teplotní roztažnosti.

středa 14:50**Luděk Joska, Jaroslav Fojt, Eva Průchová, Petra Jarolímová
a Vojtěch Hybášek****Nové trendy využití kovů v medicíně**

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

joskal@vscht.cz

Cílem přednášky je shrnout současný stav využití kovových materiálů v medicíně a to jak z hlediska materiálového tak jejich interakce s tělním prostředím. V návaznosti budou diskutovány antibakteriální a biodegradovatelné kovy/slitiny. Detailněji bude dokumentována variabilita



chování antibakteriálního stříbra. Pozornost bude věnována v organismu probíhajícím korozním procesům a jejich negativním i pozitivním důsledkům.

Práce byla podpořena Agenturou pro zdravotnický výzkum Ministerstva zdravotnictví ČR v rámci projektu č. 15-27726A.

středa 15:10 (S)

Jan Krčil¹, Vladimír Mára¹, Stanislav Krum¹ a Václav Nehasil²

Anodické oxidace titanových slitin za vyšších napětí

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

²Karlova univerzita, Matematicko-Fyzikální fakulta, Katedra fyziky povrchů a plazmatu, Praha

jan.krčil@fs.cvut.cz

Biokompatibilita je jedním z určujících faktorů pro implantáty, kostní náhrady a biomedicínské pomůcky. V případě titanových slitin je oxidická vrstva na jejich povrchu tím, co značně ovlivňuje především korozní odolnost a biokompatibilitu. Pozorování výsledků oxidačních procesů může přispět výraznému zlepšení těchto vlastností. Zkoumány jsou rozdíly v růstu, vlastnostech a vlivu oxidických vrstev připravených pomocí různých metod na rozdílných substrátech.

V současné době se již v jisté míře využívá možností strukturování povrchu, ať již ve výrobě implantátů - možnosti aditivních technologií/3D tisku, nebo jiných metod; či možností úprav povrchu (pískování, leptání, strukturování laserem, oxidace atd.). Výhodou anodické oxidace titanových slitin, resp. nanostrukturování, pomocí anodické oxidace je vytváření oxidické vrstvy (která již sama o sobě zaručuje biokompatibilitu) s porézním povrchem. Porézní povrch zaručuje lepší interakci, adhezivitu a diferenciaci buněk, zlepšuje osseointegraci a růst kostí.

V této práci byly porovnávány vzorky několika titanových slitin. Jednalo se o CP titan grade 2 a Ti-6Al-4V, 3D tištěná Ti-6Al-4V ELI, Ti-39hm.%Nb (Ti39Nb), Ti-Nb-Ta-Sn a Ti-Nb-Zr. Byly také připraveny tenké vrstvy Ti39Nb nanosené na polymerní vzorky (PEEK). Na vzorcích z těchto materiálů byla následně připravena anodická (1 M H₂SO₄, s napětím okolo 100 V po dobu 1 hodiny) oxidická vrstva. Připravené vrstvy byly následně hodnoceny a porovnávány.

Byla pozorována změna zabarvení povrchu a byla měřena změna drsnosti povrchu. Morfologie povrchu oxidovaných vzorků byla pozorována a hodnocena pomocí řádkovacího elektronového mikroskopu. Dále byla pomocí elektronové mikroskopie v příčném řezu měřena tloušťka oxidických vrstev. K detailnějším analýzám, přesné chemické složení, povrchu oxidovaných vzorků bylo užito rentgenové fotoelektronové spektroskopie.

středa 15:30 (S)

**Petra Jarolímová, Eva Průchová, Vojtěch Hybášek, Jaroslav Fojt
a Luděk Joska**

Testování bioaktivity modifikovaných slitin titanu

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

jarolime@vscht.cz

Slitiny titanu patří mezi nejmodernější kovové biomateriály, používají se především v ortopedii a dentální implantologii. Jejich největšími přednostmi jsou nízká měrná hmotnost, nízký modul pružnosti, vysoká pevnost a únavová životnost, biokompatibilita a vynikající korozní odolnost.



Podle převládající struktury, která vzniká při ochlazování z teploty žhání, lze slitiny titanu rozdělit na slitiny typu α , $\alpha+\beta$ a β . Titanové slitiny jsou klasifikovány jako bioinertní materiály. Pro dosažení bioaktivity je využívána řada povrchových modifikací, od organických povlaků, přes plazmové nastříkávání hydroxyapatitu, až po tvorbu uspořádaných nanostruktur na povrchu materiálu. Zvýšení bioaktivity nanostrukturovaného povrchu lze docílit také vhodnými chemickými a tepelnými úpravami, popřípadě jejich kombinací.

Cílem práce bylo testování bioaktivity modifikovaných slitin titanu v optimalizovaném komplexním prostředí, které simuluje lidskou krevní plazmu. Dalším cílem bylo studium vlivu krystalografické struktury na precipitaci hydroxyapatitu. Porovnávány byly slitina typu β , která má BCC strukturu a je proto daleko tvárnější než HCP struktura α fáze, a dvoufázová slitinu typu $\alpha+\beta$. U slitin typu β byla zjištěna nejkratší indukční perioda vzniku vrstvy a nejvyšší obsah vápníku a fosforu. Mimoto byl pozorován účinek různých povrchových, které zlepšují bioaktivitu materiálů, na množství a poměr vápníku a fosforu ve vzniklé vrstvě a na rychlost jejího růstu.

Práce proběhly v rámci řešení grantu IGA VŠCHT Praha č. 106 88 1805.

středa 16:20

Jaroslav Fojt¹, Vojtěch Hybášek¹, Luděk Joska¹, Eva Průchová¹, Petra Jarolímová¹ a Ladislav Cvrček²

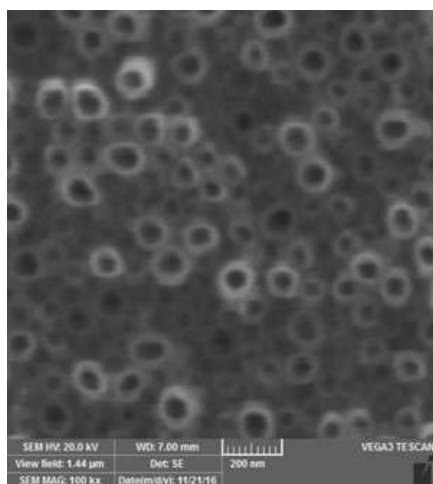
Nanostrukturování vrstevnatých systémů

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

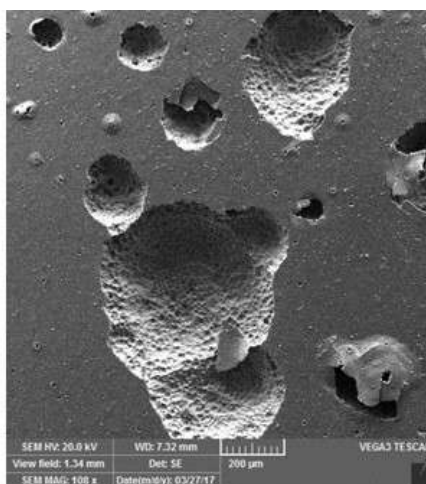
²České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Ústav materiálového inženýrství, Praha

fojtj@vscht.cz

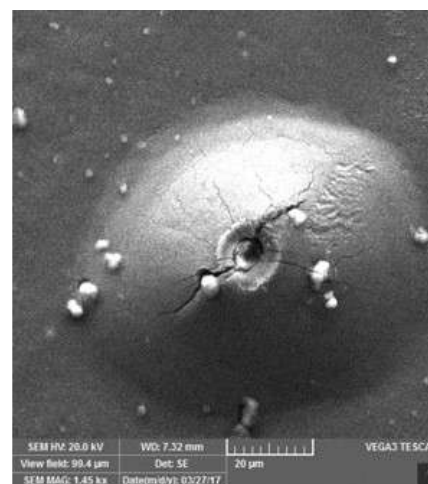
Pro eliminaci nežádoucích povrchových vlastností materiálu lze tento opatřit kovovým povlakem. Interakce s tělním prostředím je pak záležitostí vrstvy, která může být dále upravena. V současné době patří mezi často zkoumané úpravy nanostrukturování. Takto upravený povrch vede k urychlení osseointegrace a může sloužit jako vhodný podklad pro kotvení dalších biologicky aktivních látek.



NANOSTRUKURA



DŮLKY



PUCHÝŘ



V rámci příspěvku budou prezentovány a diskutovány problémy nanostrukturování vrstev TiNb na ocelovém substrátu. V průběhu nanostrukturování dochází ke kontaktu vysoce agresivního elektrolytu s podkladovým materiálem. To vede ke vzniku puchýřů a důlků v povlaku a ke ztrátě jeho soudržnosti se substrátem. V rámci příspěvku budou prezentovány postupy vedoucí k eliminaci těchto nežádoucích efektů.

Práce byla podpořena Agenturou pro zdravotnický výzkum Ministerstva zdravotnictví ČR v rámci projektu č. 15-27726A.

středa 16:40 (S)

Jana Kondratievdová, Tomáš Kocourek, Jan Remsa, Miroslav Jelínek
Improvement of DLC implant coating using hybrid laser technology and germanium dopation

Czech Technical University in Prague, Faculty of Biomedical Engineering, Kladno

kondrja1@fbmi.cvut.cz

Diamond-like carbon layers doped with germanium are able to improve biocompatibility of perspective biomedical applications, including implants covering. Advantages and present state of art and experiences with Ge-DLC layers are summarized and discussed. The system of combination of two laser beams (KrF laser) for coating of implants was developed. System is able of fine tuning of dopands concentration Deposition arrangement and deposition conditions using one pulsed laser ablation with KrF excimer lasers and one targets (germanium) is presented. We prepared 5 samples. The Ge layers were deposited on silicon substrate by pulsed laser deposition (PLD). The 5 samples surfaces were analysed by mechanical profilometer (Alphastep IQ – KLATencor) with 5 μm tip radius under the angle of 60° and atomic force microscopy (AFM) (Solver NEXT –NT-MDT) combined with optical microscope.

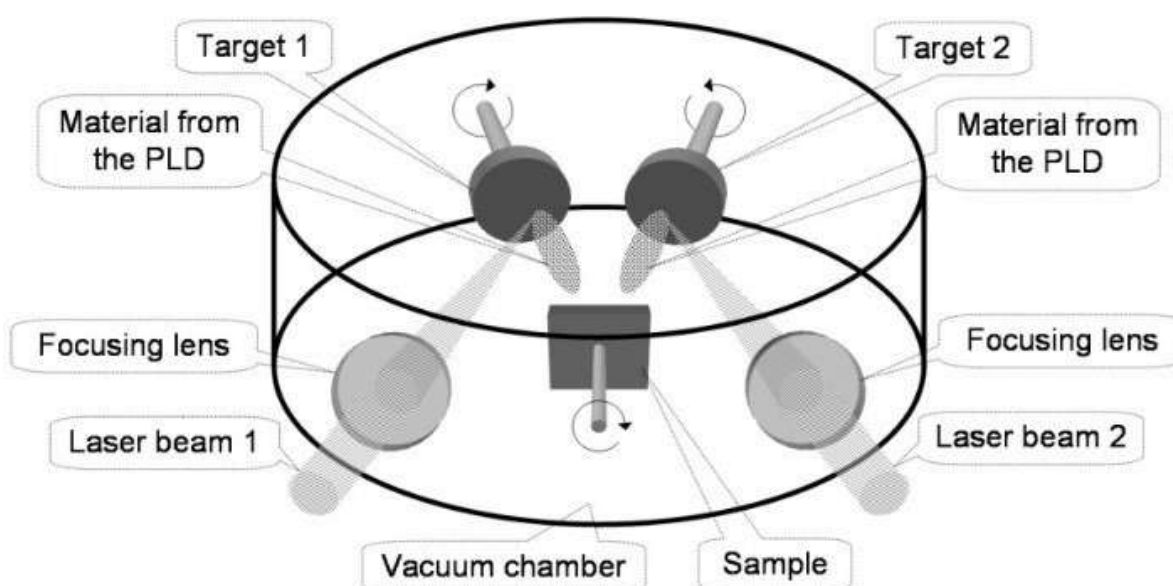


Fig. 1 Deposition arrangement for Ge-DLC synthesis using two KrF excimer lasers.



Ondřej Sekyrka, Jan Remsa, Miroslav Jelínek

Ca:DLC laser doped layers for biomedicine

Czech Technical University in Prague, Faculty of Biomedical Engineering, Kladno

sekyrond@fbmi.cvut.cz

This work was initiated to study the benefits of Ca doped DLC layers prepared by Kr:F laser for future application as coating for implants. At first, we have gathered data from previous research done in this field. Yet we have performed an experiment using PLD method to prepare five Ca layers on silicon based substrates under various deposition conditions (ambient pressure, energy density), 4 different energy densities were used. Thickness of deposited films varied from 79nm to 1460nm. We have taken pictures of deposited layers using optical microscope to evaluate the surface homogeneity. Then we have conducted the surface morphology and roughness tests using Alphastep IQ with 5 μm tip radius under the angle of 60°. After that the atomic force microscope (AFM) was used for surface characterization. Based on this experiment and data for previous deposition of DLC layers we have calculated conditions for the dual pulsed laser deposition (Fig. 1) of Calcium doped DLC for various calcium concentrations.

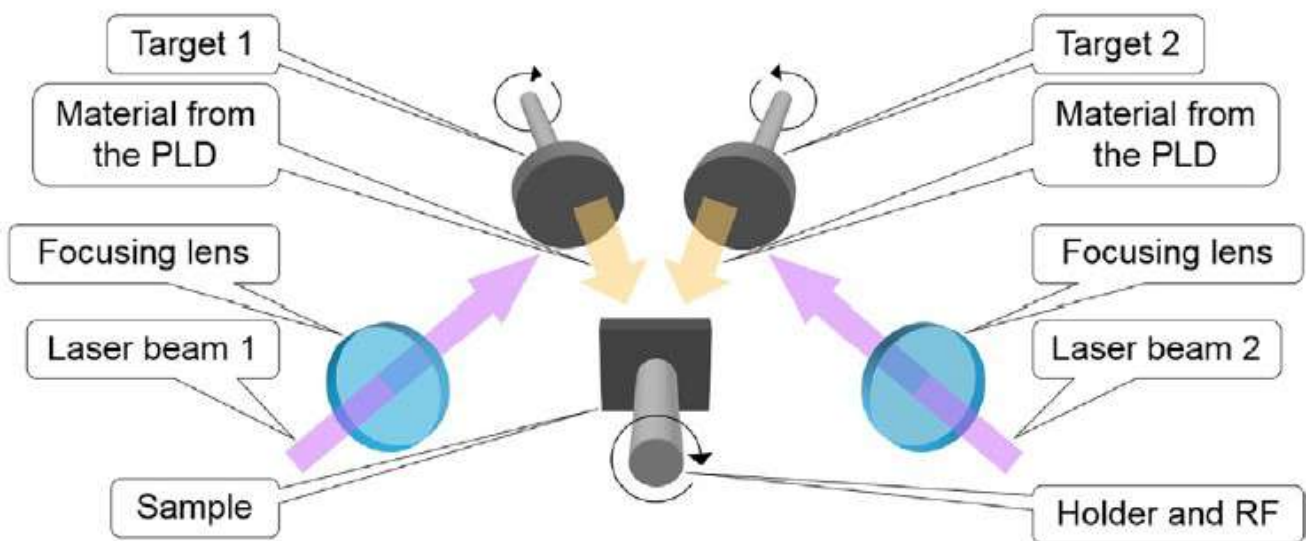


Fig. 1 Dual pulsed laser deposition, Calcium as Target 1, Carbon as Target 2.

**středa 17:20 (S)****Matěj Holka¹, Tomáš Suchý^{1,2,3} a Radek Sedláček^{1,3}****Analýza adheze kolagenové elektrostaticky zvlákněné nanovrstvy pomocí blister testu**¹ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Praha²Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AVČR, v.v.i. Praha³Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeňmatti.holka@gmail.com

S implantací jakéhokoliv materiálu do těla jsou spojena různá rizika, jedním z nich je předoperační kontaminace, která se může rozvinout v zánět zabraňující přijetí implantátu. Léčba zánětu, který vznikne po implantaci náhrady, je poměrně náročná a nákladná a vede k další zátěži pacienta. Ačkoliv existují způsoby, jak tomu předejít, nepodařilo se doposud najít ideální řešení. V našem projektu je vyvíjena nanostrukturovaná vrstva, která imituje složení a strukturu lidské kosti, a měla by sloužit jako nosič antibiotik v podobě povlaku implantátu z kovových slitin s cílem zamezit komplikacím především z hlediska rozšíření infekce a tvorby zánětu, osteomyelitidy. Individuálním cílem této práce bylo řešit jeden z důležitých parametrů pro správnou funkci – přilnavost kolagen-hydroxyapatitové nanovrstvy k titanovému podkladu. Pro mechanické testování adheze na rozhraní dvou materiálů (organický-kovový) byl zvolen blister test (Obr. 1), u kterého však nebyl doposud navrhnout optimální postup při použití kolagenového povlaku na titanový podklad. Snahou bylo metodiku postupně optimalizovat tak, aby se dosáhlo požadovaného odlepení kolagenové vrstvy od titanového substrátu, namísto jiné nežádoucí deformace vedoucí k protržení vrstvy. Dalším faktorem pro funkčnost mechanické zkoušky bylo navrhnout vyhovující kompozitní nanovrstvu z hlediska tloušťky, pevnosti a koncentrace jejích složek a metodu její aplikace na kovový substrát. Pro zvýšení adheze prošly vzorky různou chemickou úpravou povrchu se záměrem data porovnat, a optimalizovat nejvhodnější postup vedoucí k dosažení určených cílů.



Obr. 1 Schéma uspořádání blister testu (vlevo nahoře) a přípravek pro uchycení testovaných vzorků (vlevo dole a zcela vpravo). Na snímcích uprostřed je zachycen postupný elektrostatický pokryv modelových vzorků a uspořádání při zatěžování na zkušební zařízení.

Podpořeno projektem CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000787, Centrum výzkumu infekčních onemocnění, uděleného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR, financovaného z Evropského Fondu pro Regionální Rozvoj, a Technologickou agenturou České republiky (projekt TA04010330).



Pavel Krist, Václav Olšanský a David Chvátíl
Možnosti využití elektronových urychlovačů při zobrazování biomateriálů

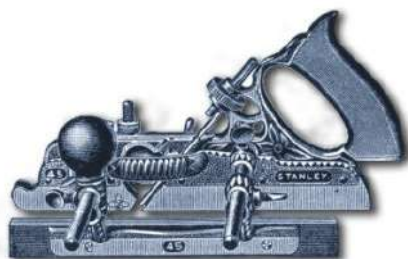
Ústav jaderné fyziky AV ČR, v.v.i., Hlavní 130, 25068 Husinec - Řež, Česká republika

krist@ujf.cas.cz

Příspěvek se zabývá souhrnem zobrazovacích metod využívajících ionizující záření. Představeny jsou metody zobrazování pomocí fotonů, neutronů a také nabitých částic. Kladen je důraz na využití elektronových urychlovačů, zvláště pak na využití pražského mikrotronu MT25 (Obr. 1). Zobrazovací metody mají široké uplatnění jak v medicíně (až submikroskopické rozměry zkoumaných vzorků) tak v průmyslu, kde zobrazované „vzorky“ mohou dosahovat desítek metrů. Zmíněna bude také možnost využití laseru na volných elektronech získaných pomocí urychlovače či využití difrakčních metod.




Obr. 1 Vakuová komora elektronového relativistického urychlovače elektronů - mikrotronu MT25.





20.9.2018

ČTVRTEK
Č. s. De. H.



IMPROVE YOUR TALKS

WORKSHOP HERBERTOV

THURSDAY | 8:30 - 13:30 | GARDEN MARQUEE

8:30 - 10:00 PART I.

I. INTRODUCTION

goals, problems and solutions

II. TELLING THE STORY

principles, audience interaction and practicing the design of talk

10:20 - 11:45 PART II.

III. VISUALS

death by Powerpoint and how to fix it, practice on improving slide design

12:00 - 13:30 PART III.

IV. FINAL ACTIVITY / PRACTICE

lightning talks





IMPROVE YOUR TALKS

WORKSHOP HERBERTOV

About Sarah

Sarah Leupen is a senior lecturer in the Department of Biological Sciences and at the University of Maryland Baltimore County (UMBC), where she teaches physiology, nutrition, and seminars on such topics as reproductive physiology and circadian biology. She also co-coordinates the Biology Teaching Circle, and is active in faculty development at UMBC and around the country. She recently completed a year-long Fulbright Fellowship in Pilsen, Czech Republic (2016-2017), where she trained medical teachers in evidence-based teaching practices and taught physiology mini-courses, and gave teaching workshops around central Europe.



She is a certified trainer-consultant in Team-Based Learning (TBL), and uses that pedagogical strategy for all of her large classes, as well as training faculty members to use TBL and other active-learning, group-based techniques in their own courses. Sarah is also involved in several projects to increase the amount and level of quantitative thinking in undergraduate biology education.

Sarah is the recipient of the 2014 Carl Weber Excellence in Teaching Award at UMBC. She also received the award for the Honors College Faculty Fellow of the Year, as chosen by graduating seniors in the Honors College, in both 2013 and 2016.

**čtvrtek 9:00****Vítězslav Březina¹ a Petr Vlčák²
Chování živých buněk na povrchu atypických substrátů**

¹Pracoviště tkáňových kultur, Fakulta rybářství a ochrany vod, Ústav komplexních systémů, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

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

brezina@iem.cas.cz

Za atypické substráty, považujeme povrchy, které jsou nějakým způsobem modifikovány, anebo jsou třírozměrné. Naším úkolem je popsat interakce buněk s takovými substráty a srovnat je s interakcemi na typickém substrátu, což je dno plastické lahve, nebo misky. Atypickým substrátem může být považován i povrch živých tkání, aktuálně třeba po zranění, při tvorbě jizvy.

Výzkum se zatím soustředí na několik kvantifikovatelných parametrů, přičemž dáváme přednost záznamu chování buněk za živa, pomocí sběrné mikrokinematografie. Pochopitelně se nevyhýbáme ani vyhodnocení fixovaných buněk v nějakých časových intervalech. (SEM, fluorescenční techniky, AMF). Jedním z vděčných parametrů jak vyjádřit interakci se substrátem je lokomoce buněk a z toho vycházející migrace a rychlost, či způsob jak je kolonizován povrch. V minulých sděleních na tomto fóru, jsme ukázali, jak je kolonizován různě zvrásněný a upravovaný povrch vzorků slitin, určených pro implantáty. Ukázalo se, že vliv zvrásnění není podstatný pro rychlost kolonizace povrchu buňkami, že podstatnějším vlivem je složení slitiny a některé sekundární povrchové vlastnosti (např. smáčivost).

Aktuálním povrchem je povrch vláknitý, který jsme s libereckými kolegy na tomto fóru rovněž charakterizovali. Jenomže vláknový substrát a buněčné interakce je stále plný záhad. Zejména, je-li z vláken vytvořena síť a nás zajímá jakým způsobem a jak rychle zarůstá oko takové sítě. A také, vliv použitého materiálu (obvykle PCL). Studium interakce buněk s povrchem PCL ukázala jednoznačný výsledek, totiž, že na povrchu PCL je lokomoce buněk (vyjádřená například hodinovou rychlostí) mnohem větší než na povrchu typického substrátu (dno misky). Pro pevné (kovové) substráty (například titan) je zásadním vlivem počáteční hustota populace buněk, na povrch aplikovaná. Ukazuje se, že zvýšená hustota inokula zachovává do značné míry kolonizaci povrchu zjištěnou v nižším inokulu. Znamená to, že eventuální inhibiční efekt substrátu, popřípadě úpravy povrchu je konstantní.

čtvrtek 9:30**Eva Filová¹, Barbora Voltrová¹, Jaroslav Fojt², Petra Jarolímová²,
Veronika Blahnová¹, Roman Matějka³, Luděk Joska² a Matej Daniel⁴****Vplyv nanoštruktúr titánovej zliatiny Ti36Nb6Ta na proliferáciu a
diferenciáciu humánných mezenchymálnych kmeňových buniek**

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

²Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Fakulta chemické technologie, Praha

³České vysoké učení technické v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství, Kladno

⁴České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Praha

eva.filova@iem.cas.cz

Anodickou oxidáciou titánovej beta zliatiny Ti36Nb6Ta pri 10V, 15V a 20V sme pripravili nanoštrukturované povrchy s rôznym priemerom nanotrubíček. Povrchy boli hodnotené pomocou



SEM a XPS. Biokompatibilitu nemodifikovaného materiálu aj materiálu upravovaného anodickou oxidáciou sme hodnotili pomocou humánných mezenchymálnych kmeňových buniek. Metabolická aktivita bola hodnotená MTS testom. Proliferáciu buniek na rôznych povrchoch a na skle sme vyhodnocovali z mikrofotografií pomocou programu Image J. Hodnotili sme kostnú diferenciaciu hMSC na základe expresie mRNA kolagénu I, osteokalcínu a RunX pomocou qPCR a fluorescenčne sme hodnotili syntézu kolagénu typu I. Výsledky boli štatisticky vyhodnotené pomocou One-way ANOVA a Student-Newman-Keuls metódou.

So zvyšujúcim sa napätím sa zvyšoval priemer nanotrubičiek - z 18 nm (10V), na 36 nm (20V) a na 46 nm (30V). Metabolická aktivita hMSC bola vyššia u čistých Ti vzoriek ako u 30V, u skla a nemodifikovaného Ti bola vyššia ako 20V a 30V Ti 7. deň. Podobne bola vyššia hustota buniek 14. deň po nasadení na skle ako na ostatných Ti36Nb6Ta. 21. deň bola na skle a 10V vyššia hustota buniek ako na 20V. Expresia mRNA RunX2, kolagénu I a osteokalcínu sa u testovaných Ti36Nb6Ta nelíšili po celú dobu kultivácie. Tvorba kolagénu I 14. deň kultivácie štatisticky významne stúpala so zvyšujúcim sa napätím a priemerom pórov. 21. deň bolo najvyššie množstvo kolagénu I u 20V Ti36Nb6Ta a najnižšie množstvo bolo namerané u skla.

Nanoštrukturované Ti36Nb6Ta podporovali rast a predovšetkým diferenciaciu hMSC. Tvorba nanotrubičiek pozitívne ovplyvnila tvorbu kolagénu I, čo sa najviac prejavilo u 20V Ti36Nb6Ta. Nanoštrukturovaná zliatina Ti36Nb6Ta má potenciál pre použitie ako materiál pre kostné implantáty.

Projekt bol podporený grantom GAČR č. 16-14758S a projektom MŠMT NPU I: LO1508.

čtvrtek 9:50 (S)

**Vojtěch Hybášek¹, Jaroslav Fojt¹, Luděk Joska¹, Eva Průchová¹
a Petra Jarolímová¹**

System pro monitoring interakce buněk s kovovými materiály

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

hybasekv@vscht.cz

K vývoji nových funkčních povrchových vrstev či přímo nových biomateriálů je nutná znalost jejich interakce s aplikačním prostředím - tkání. V současnosti je v první fázi materiálového vývoje tato interakce zkoumána ze dvou oddělených pohledů, vliv prostředí na materiál a vliv materiálu na prostředí. Z materiálového pohledu je z hlediska interakce primárně hodnocena korozní odolnost materiálu, obecněji jeho schopnost odolávat degradaci. Z pohledu prostředí je primárně hodnocena toxicita materiálu, respektive jeho schopnost prostředí ovlivňovat, navíc, hodnocení je v tomto případě realizováno pouze v relativně řídkých časových intervalech. Celkově v této fázi vývoje dochází pouze k nepřímému hodnocení interakce a to v podmínkách různě komplexních simulací. K přímému a komplexnímu hodnocení vzájemného působení tkáně a materiálu dochází až při testech *in-vivo*. Tyto testy však mají řadu nevýhod od etiky, přes jejich cenu a náročnost, až opět po vyhodnocení pouze v pevně daných časových intervalech.

Pro předcházení neúspěšných *in-vivo* testů je vhodné použít predikční metodu zkoumající přímou interakci materiálu a co nejkompaktnější simulace tkáně a v ideálním případě umožňující zkoumat tuto interakci v závislosti na čase a s dostatečným rozlišením. Pro takovouto metodu se v současnosti jako ideální prostředí jeví systém obsahující kultivační medium a buňky, který



komplexností chemických i biologických procesů dostatečně simuluje reálnou tkáň a jehož chování je dostatečně známé. Při hledání techniky analýzy se nabízí řešení v podobě elektrochemické impedanční spektroskopie. Variace této metody se již úspěšně používají jak v oblasti biologické (ECIS, xCELLingence®), tak i materiálové (EIS) a jsou tedy k dispozici data pro srovnání.

Tématem této práce je spojení obou přístupů, biologického i materiálového, do zařízení umožňujícího přímé studium interakce materiálů s buněčným prostředím, a které umožní studium vývoje takovýchto interakcí v čase.

Práce vznikla jako část řešení projektu "Vliv nanotopografie povrchu na bioaktivní vlastnosti titanové slitiny s nízkým modulem pružnosti" (GAČR 16-14758S).

čtvrtek 10:40

Jan Žídek¹, Andrey Milchev² a Josef Jančář^{1,3}

Modelování deformačního chování hydrogelů pomocí molekulární dynamiky

¹Vysoké učení technické v Brně, Středoevropský Technologický Institut (CEITEC), Brno

²Bulharská Akademie Věd, Ústav Fyzikální Chemie. Sofia, Bulharsko

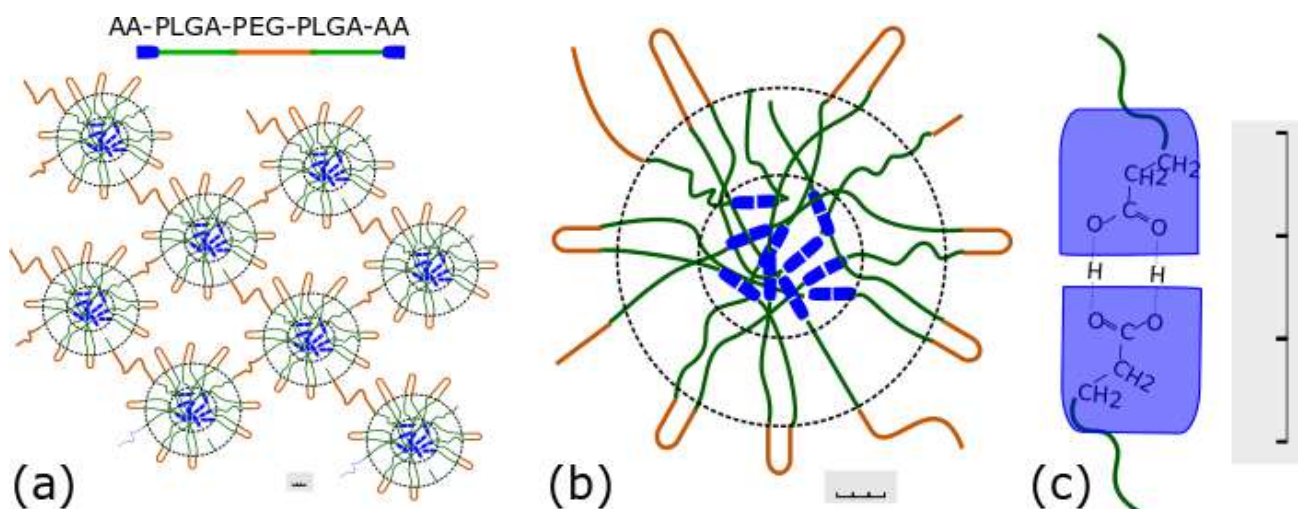
³SCITEG, Brno, Česká republika.

jan.zidek@ceitec.vutbr.cz

Deformační chování reálných hydrogelů má několik zajímavých aspektů. Jejich deformační odpověď je dynamická a navíc se v přírodě pozoruje tzv. responsivní chování na určitý stimul, kde deformace reaguje na změnu vnějších podmínek (nejčastěji pH a teplota). V příspěvku je prezentován molekulární model hydrogelu. Struktura modelu odpovídá blokovému kopolyméru kyselina akrylová polyetylen glykol-poly-laktid/glykolid-kyselina-poly-laktid/glykolid-akrylová (AA-PLGA-PEG-PLGA-AA). Kyselina akrylová interaguje pomocí vodíkových můstků a tvoří jádra micel (vizte Obr. 1). Makromolekulární řetězce jsou seskupeny do micel a jednotlivé micely jsou organizovány do sítě.

K vysvětlení deformačního chování se využívá modelu, který popisuje strukturu na molekulární úrovni. Model napodobuje přírodní proces samouspořádání. Všechny modelové konfigurace makromolekulárních řetězců vycházejí z neuspořádané sítě zapletených řetězců. Vlivem rozpouštědla dojde k uspořádání do organizované micelární sítě. V další fázi se vlivem deformace micely transformují na fibrily o nanometrové velikosti. Tyto fibrily vznikají v reálných materiálech například v pavoučích vláknech a fibroinu. Všechny transformace jsou podmíněny vnějšími podmínkami, čímž lze proces regulovat. Konkrétně transformace na vlákna probíhá při určité rychlosti deformace. Tímto způsobem mohou vznikat organizované struktury v přírodních systémech.

V nedávné době jsme zjistili, že na toto samouspořádání má vliv také primární struktura. Shodou okolností polymery, které se v reálných hydrogelech často používají (PEG, poly glycin, poly alanin), se snadno uspořádávají také v našem modelu. Naopak pokud PEG nahradíme i velmi podobným polymerem (poly oxymethylen), efekt se ztratí. Dosud se předpokládalo, že polymery typu PEG musí být pouze hydrofilní. My jsme zjistili, že existují ještě další faktory, které mají vliv na to, že polymer se samo uspořádává. Pomocí modelu můžeme detekovat a analyzovat tyto faktory.



Obr. 1 Hierarchická struktura hydrogelu a. síť micel, b. detail jedné micely, c. vodíková vazba

Výzkum byl finančně podpořen Grantovou Agenturou České republiky v rámci projektu 18/17540S, a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR v rámci projektu CEITEC 2020 (LQ1601).

čtvrtek 11:00

Jan Vícha¹, Lukáš Münster¹, Zdenka Capáková¹ a Ivo Kuřitka¹

Properties od non-toxic dialdehyde cellulose crosslinked poly(vinyl)alcohol hydrogels

¹Centrum Polymerních systémů, Univerzita T. Bati ve Zlíně, Zlín

jvicha@utb.cz

Dialdehyde cellulose (DAC) derived from α -cellulose by periodate oxidation was utilized as a crosslinking agent for poly(vinyl alcohol) (PVA) to prepare PVA/DAC hydrogels. The crosslinking potential of DAC was investigated on broad concentration range and found to be considerably better than that of common crosslinking agent glutaraldehyde. Properties of resulting hydrogels depends beside the concentration of crosslinking agent also on its number average molecular weight, which was investigated using solid-state CP-MAS ^{13}C NMR spectroscopy, GPC and XRD analysis and in the terms of network parameters and mechanical properties. This opens interesting possibilities for "tuning" hydrogel properties, as the DAC with required molecular weight can be cost-effectively obtained by optimization of the DAC solubilisation conditions.

Cytotoxicity of prepared hydrogels was evaluated according to ISO standard 10993-5 against mouse embryonic fibroblast cell line (NIH/3T3, Fig. 1), human keratinocyte cell line (HaCaT) and adenocarcinomic human alveolar basal epithelial cells (A549). Hydrogels prepared using 0.5% (w/w) of crosslinker showed no observable cytotoxicity, while hydrogels prepared using higher tested concentrations show no or only mild cytotoxicity up to 1.5% (w/w). Potential application of hydrogels as drug delivery systems is currently under investigation. Better effectivity of crosslinking and low toxicity of DAC prepared hydrogels provide interesting alternative to highly



toxic low-molecular weight crosslinkers such as glutaraldehyde, particularly for pharmaceutical and biological applications.

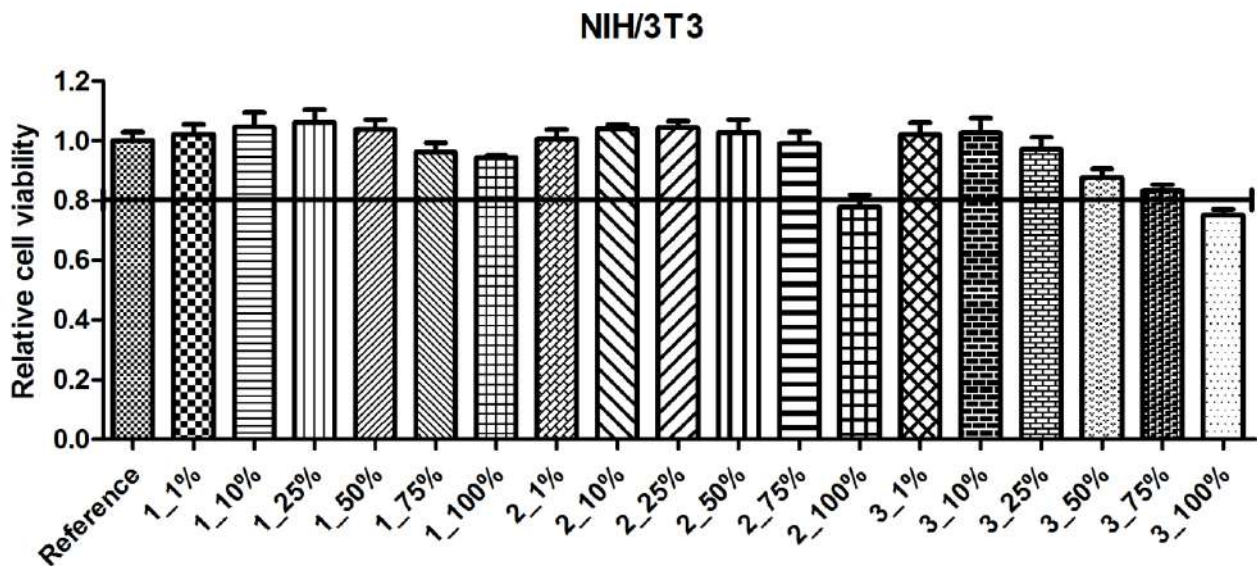


Fig. 1 Cytotoxicity of extracts from hydrogels prepared using 0.5% (1), 1% (2) and 1.5% (3) of DAC using mouse embryonic fibroblast NIH cell line.

L. Münster, J. Vícha, J. Klofáč, M. Masař, P. Kucharczyk, I. Kuřitka, *Cellulose* **2017**, *24*, 2753-66.
L. Münster, J. Vícha, J. Klofáč, M. Masař, A. Hurajová, I. Kuřitka, *Carbohydrate Polymers* **2018**, *198*, 181-90.

This work for supported by the Czech Science Foundation grant 16-05961S, and the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic, Program NPU I (LO1504).

čtvrtek 11:20 (S)

Luboš Řehounek a Aleš Jíra

Tvarová optimalizace trabekulární struktury

České vysoké učení technické v Praze, Fakulta stavební, Katedra mechaniky. Thákurova 7, 166 29 Praha 6, Česká republika

lubos.rehounek@fsv.cvut.cz

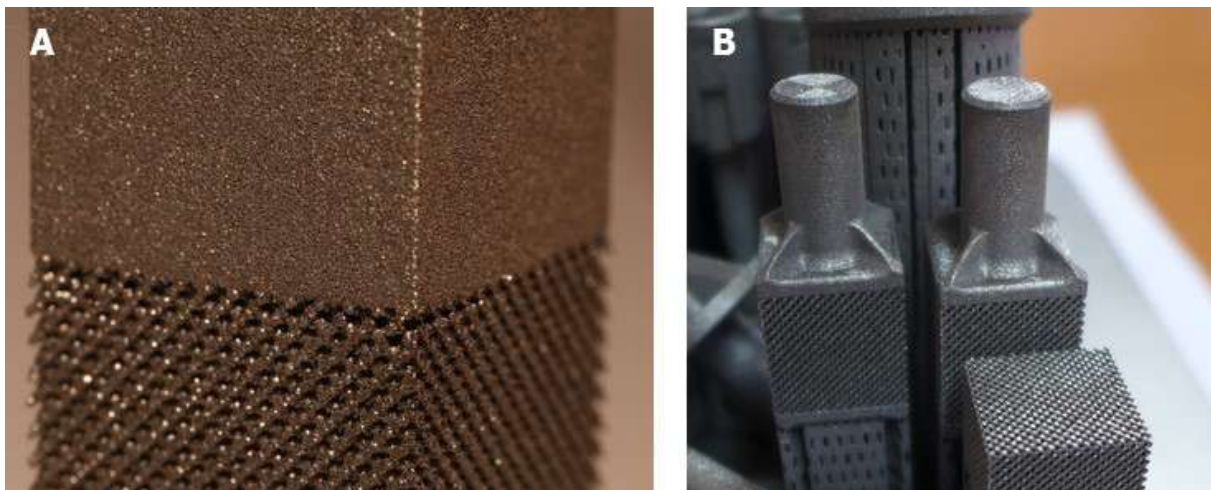
Hlavním cílem tohoto výzkumu je prozkoumat vliv teplotních úprav 3D tištěných implantátů na jejich mikromechanické vlastnosti a dále také zhodnotit geometrii implantátů z hlediska distribuce tepla při výrobě. Jelikož při procesu 3D tisku vznikají nežádoucí pnutí a materiálové nehomogenity, je vhodné výrobky či vzorky po vytištění vyžít. Hodnoty základních mikromechanických vlastností 3D tištěného, nežíhaného materiálu Ti-6Al-4V zjištěné z literatury se pohybují okolo $E_r = 118$ GPa a $H_{it} = 3,580$ GPa [Wu, S. et al., 2016. *Microstructural evolution and microhardness of a selective-laser-melted Ti-6Al-4V alloy after post heat treatments*].

Hodnoty z literatury byly porovnány s námi vyrobenými vzorky, které byly žíhány a bylo zjištěno, že se tvrdost žíhaných vzorků zvýšila. S procesem žíhání můžeme sledovat poměrně významný vývoj tvrdosti H_{it} , zatímco redukovaný modul pružnosti E_r zůstává téměř konstantní.



Hodnota tvrdosti vzrostla na hodnotu $H_{it} = 5,200$ GPa. Tento nárůst se může projevit z hlediska osteointegrace implantátu s kostí nežádoucí. Žíhání vyrobených vzorků je ale u 3D tištěných implantátů v nějaké podobě žádoucí kvůli eliminaci nehomogenit a pnutí a tak zůstává otázkou, jak k teplotnímu ošetřování při budoucí výrobě přistoupit.

Dále byly prozkoumány varianty geometrického řešení trabekulárních dentálních implantátů a již při výrobě zkušebních tělísek byla zjištěna úskalí procesu 3D tisku komplexních struktur. Při výrobě zkušebních tělísek pro zkoušku v jednoosém tahu (Obr. 1A) bylo zjištěno, že vlivem nerovnoměrného chladnutí jednotlivých částí na rozhraní homogenní a trabekulární části dochází ke vzniku napětí, které trabekulární strukturu na rozhraní těchto 2 průřezů roztrhalo. Z tohoto důvodu počítáme do budoucna s numerickým modelováním teplotních procesů při výrobě. Pro vyřešení tohoto problému byla zredukována homogenní část průřezu na tenkou destičku s žebry a úzkou tyčkou pro uchycení do čelistí zkušebního přístroje (Obr. 1B). Při tisku této struktury již k teplotním problémům nedošlo a zkušební tělesa byla vytištěna správně. Metoda 3D tisku se jeví jako excelentní varianta k obrábění, která přináší výhody v produkci morfologicky komplexních těles, ale není ještě zcela optimalizována pro konkrétní úlohy a tak je třeba při produkci dbát na její nedostatky.



Obr. 1: 3D tištěný zkušební vzorek pro zkoušku v jednoosém tahu (potřáhaný teplotními diferencemi při chladnutí) (A); vylepšené geometrické řešení, již bez nežádoucích defektů (B).

čtvrtek 11:40

Karel Balík¹, Karel Tesař^{2,3}, Margit Žaloudková¹ a Zbyněk Sucharda¹ Hořčíkový drátek- možná bandáž hrudní kosti

¹Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i., Praha

²Katedra Materiálů, Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská, ČVUT v Praze, Praha

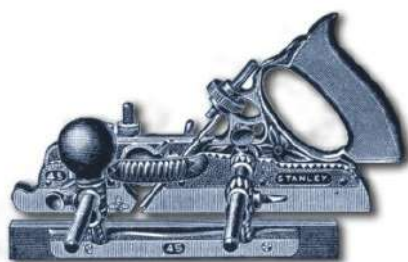
³Fyzikální ústav AVČR, v.v.i., Praha

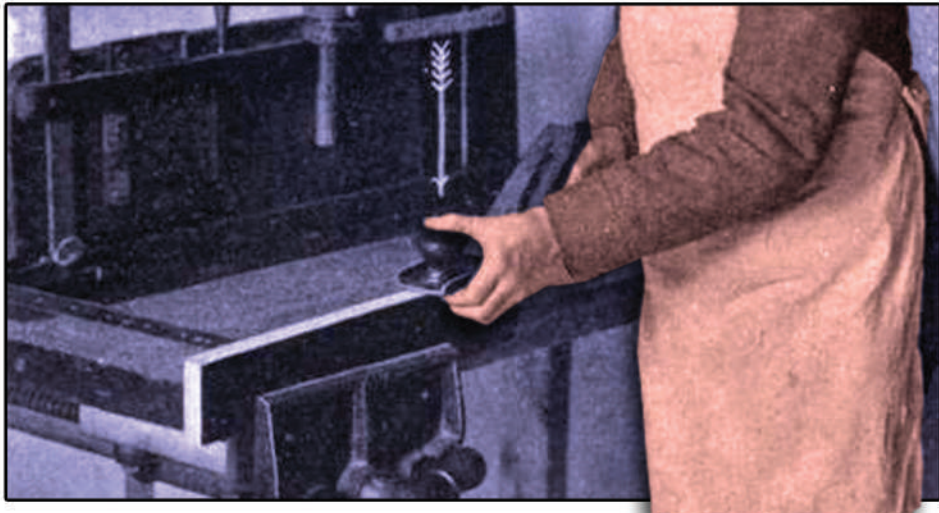
balik@irms.cas.cz

Z obou aplikací hořčíkového drátku a to bandáž plicnice malých dětí a bandáž hrudní kosti jsme opustili prvou, neboť nám bylo sděleno lékaři, že bandáž plicnice je velmi řídkou operací. Bandáž hrudní kosti se současně provádí po operaci srdce chirurgickými dráty, které je však nutno po 2-3 měsících po operaci odstranit. Tyto dráty mají pevnost v tahu okolo 600 MPa na rozdíl od



biodegradabilních hořčkových drátků, které vykazují 200 MPa. Hořčkové drátky typu „L“ byly pokryty polymerem PURASORB PLC 7015 a bylo z nich spleteno lanko o 6 drátkách a toto lanko bylo vloženo do roztoku Minimum Essential Medium- Alpha Modifikace (α MEM) s přidáním fetálního bovinního séra a antibiotik a biodegradace lanka byla sledována po dobu 75 dní tj. dva a půl měsíce. Výsledky ukazují, že povrv vhodným polymerem může zpomalit biodegradaci hořčkových drátků.





21.9.2018

PATEK
CAL

**pátek 9:00****Petr Mikeš, Nikifor Asatiani, Jana Horáková, Věra Jenčová
a David Lukáš****Study of diffusion of alaptide from nanofibrous layers**

Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní, Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů, Liberec

petr.mikes@tul.cz

Nowadays there is a great demand in a searching of new methods of drug delivery, which involves modification of existing methods and as well as development of new devices. Increasing amount of controlled-release systems have been developed and designed lately to enhance drug therapy. A controlled-delivery system allows to reduce the frequency of dosing, to minimize the fluctuation of drug concentration in plasma and to generally increase effectiveness of the drug by a) targeting the site of action, b) maintaining drug level within a desired range, i.e. high enough to have a therapeutic effect and low enough to be non-toxic (Siepmann, Siegel and Rathbone, 2012). Despite the fact, there are hundreds of commercially successful products based on the controlled release rate of the drug, there are only a few main mechanisms by which a release rate is controlled, e.g. diffusion, osmosis, erosion (Hillery, Lloyd and Swarbrick, 2001). Individual mechanisms are dependent on particular application and design of drug releasing systems, however usually more than one mechanism operate at the same time during delivery process (Siepmann, Siegel and Rathbone, 2012). Indeed, diffusion is a dominant process within most of controlled-release systems. In case of diffusion-controlled release system, drug must diffuse through a polymer matrix or a membrane in order to be released. Such devices do not usually perform zero-order release profile as the particles on the surface release fast involving a *burst release*, whereas for the particles close to the center of fiber it takes longer to migrate towards the surface. This delay leads to decreasing rate of drug release over time (Hillery, Lloyd and Swarbrick, 2001).

The choice of a sterilization technique of biodegradable scaffolds or drug-delivery devices is, undoubtedly, a key issue, as biodegradable polymers, such as polycaprolactone, used in tissue engineering have specific properties, e.g. low melting point, and cannot be proceeded as conventional polymers, e.g. sterilization by autoclaving (Horakova *et al.*, 2017). Although no perfect sterilization technique exists, ethylene oxide (EtO) sterilization is suitable for most low melting polymers. Sterilization using ethanol (EtOH), despite it involves biochemical and morphological changes of a scaffold, is also often used due to its low cost, quickness and low temperature required for this technique (Dai *et al.*, 2016).

Unfortunately, there is a lack of studies related to drug release kinetics from electrospun nanofibrous structures. Indeed, even less studies today try to verify and to compare experimentally obtained data with mathematical models. As note M. Grassi and G. Grassi (2014) in their review on mathematical model's application in DDS, the initial problem concerning the ability of mathematical modeling to accurately describe the experimental data was replaced with the issue of reliable prediction of drug releases on the basis of an adequate number of experimental data. These predictions of drug release, on the basis of initial parameters, e.g. diffusion coefficient, drug loading, etc., are necessary in development of a field of "personalized medicine" (Grassi and Grassi, 2014), which could provide each patient an unique therapy.

Generally, the aim of this study was to investigate drug release kinetics from a monolith diffusion-controlled device, represented by particles of alaptide homogeneously distributed within polycaprolactone nanofibrous layer. Particularly, an effect of three different initial drug loading



was examined. Moreover, an effect of sterilization by ethylene oxide on release kinetics of alaptide and on morphology of nanofibrous layers was studied; an effect of sterilization with ethanol on morphology of electrospun nanofibrous structures was investigated as well. Finally, an attempt to establish a mathematical model for prediction of release kinetics of examined drug delivery system, proceeding from experimentally obtained data and on the basis of the solution of the diffusion equation, was made.

Siepmann, J., Siegel, R. A. and Rathbone, M. J. (2012) *Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery*. Springer US (Advances in Delivery Science and Technology).

Hillery, A. M., Lloyd, A. W. and Swarbrick, J. (2001) *Drug delivery and targeting for pharmacists and pharmaceutical scientists*. London: Taylor & Francis.

Horakova, J. *et al.* (2017) 'Effect of ethylene oxide sterilization on electrospun vascular grafts made from biodegradable polyesters', submitted to: *Materials Science and Engineering: C*.

Dai, Z. *et al.* (2016) 'Sterilization techniques for biodegradable scaffolds in tissue engineering applications.', *Journal of tissue engineering*. SAGE Publications, 7, p. 2041731416648810.

Grassi, M. and Grassi, G. (2014) 'Application of mathematical modeling in sustained release delivery systems.', *Expert opinion on drug delivery*, 11(8), pp. 1299–321.

Práce byla podpořena projektem AZV 15-29241A (Nanovlákná biodegradabilní maloprůměrová cévní náhrada).

pátek 9:20 (S)

**Tereza Bělinová¹, Iva Machová¹, Pavla Sauerová^{1,2}, Marie Hubálek
Kalbáčová^{1,2}, Jan Valenta³, Adam Gali⁴ a David Beke⁴**

Ultra-small nanoparticles in biological context

¹Biomedical Center, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen

²Institute of Pathological Physiology, 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague

³Department of Chemical Physics and Optics, Faculty of Mathematics and Physics, Prague

⁴Institute for Solid State Physics and Optics, Hungarian Academy of Sciences, Hungary

tereza.belinova@lfp.cuni.cz

All particles entering biological systems are firstly exposed to body fluids (blood or cultivation medium) that initiate the formation of so-called biomolecular corona defying particle identity. The formation of this biomolecular layer can be altered by particles properties such as size, shape, zeta potential or surface termination. In case of ultra-small nanoparticles (diameter of approximately 4 nm), no such a thing as a common protein corona can be envisioned, as most proteins are bigger than the particles themselves. In this case, the surface termination and zeta potential play a key role in respect to reaction of any biological system. Keeping in mind the potential use of nanoparticles in human medicine, we have tested the response of human immune cells (monocytes – cells freely circulating in blood and macrophages – tissue specific immune cells) to silicon carbide ultra- small nanoparticles with different surface terminations (COOH terminated, terminated or NH₂ terminated silicon carbide). Our results showed significant differences among the particles with different surface modification that can point out the direction of their potential application.

**pátek 9:40 (S)**

**Markéta Klíčová¹, Jana Horáková¹, Lukáš Voleský², Václav Liška^{3,4},
Jáchym Rosendorf^{3,4}, Richard Pálek^{3,4}, Andrea Klápšťová¹
a Radek Jirkovec¹**

Plazmatická modifikace hydrofilních nanovláknenných povrchů

¹Technická univerzita v Liberci, Fakulta textilní, Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů, Liberec

²Technická univerzita v Liberci, Fakulta strojní, Katedra materiálů, Liberec

³Biomedicínské centrum Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Plzeň

⁴Chirurgická klinika Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni, Plzeň

marketa.klicova@tul.cz

Anastomotický leak je jednou z nejobávanějších komplikací gastrointestinálních anastomóz. [1]. Překrytí chirurgické anastomózy nanovláknenným materiálem je zcela inovativní způsob fortifikace takových anastomóz. Pro tyto účely byly vyrobeny dvouvrstvé nanovláknenné tkáňové nosiče, skládající se z vláknenné vrstvy polykaprolaktonu (PCL) a ultrajemné nanovláknenné vrstvy kyseliny hyaluronové (HA). Nanovláknena HA se těší stále větší pozornosti v oblasti regenerativní medicíny a tkáňového inženýrství. Kyselina hyaluronová se přirozeně nachází v lidském těle a je biodegradabilní [2], nicméně vykazuje vysokou rozpustnost ve vodném prostředí, což značně limituje použití nanovláken HA pro tkáňové nosiče vyžadující dlouhodobou stabilitu. Stejně tak při aplikaci, kdy bude vláknenná dvouvrstva přiložena k čerstvě vytvořené chirurgické anastomóze, dojde k okamžitému a nežádoucímu rozpuštění vláknenné vrstvy HA. Vodorozpustnost HA lze upravovat pomocí běžných síťovacích technik. Jedná se například o síťování pomocí glutaraldehydu, divinyl sulfonu či glyoxalu [3]. Avšak použití takových síťovacích činidel vede k nárůstu cytotoxicity a všeobecně síťování polymerů při zachování biokompatibility je velice obtížné.

V této práci byla zvolena nová cesta, a to sice úprava elektrostaticky zvlákněných nanovláken HA methanovým plazmatem metodou RF PACVD (Radio Frequency Plasma Assisted Chemical Vapor Deposition). Takto připravené vrstvy byly charakterizovány pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM), infračerveného spektrometru s Fourierovou transformací s technikou zeslabeného úplného odrazu (ATR-FTIR) a *in vitro* testů.

Výsledky prokázaly potenciál úpravy nanovláken HA methanovým plazmatem. Podařilo se zachovat ultrajemnou nanovláknennou strukturu i po týdenní inkubaci v plném médiu a modifikovaná struktura podporovala buněčnou adhezi a proliferaci myších 3T3 fibroblastů.

[1] LI, Yi-Wei, Peng LIAN, Ben HUANG, Hong-Tu ZHENG, Ming-He WANG, Wei-Lie GU, Xin-Xiang LI, Ye XU a San-Jun CAI, 2017. Very Early Colorectal Anastomotic Leakage within 5 Post-operative Days: a More Severe Subtype Needs Relaparatomy. *Scientific Reports*, 7, 39936.

[2] HUANG, Gangliang a Hualiang HUANG, 2018. Application of hyaluronic acid as carriers in drug delivery. *Drug Delivery*. 25(1), 766–772.

[3] KHUNMANEE, Sureerat, Younghyen JEONG a Hansoo PARK, 2017. Crosslinking method of hyaluronic-based hydrogel for biomedical applications. *Journal of Tissue Engineering*. 8.

**pátek 10:00 (S)****Věra Lukášová^{1,2}, Erna Šljivnjak¹, Veronika Blahnová^{1,2}, Věra Sovková^{1,2},
Michala Rampichová¹ a Eva Filová^{1,3}****Kultivace mesenchymálních kmenových buněk v dynamických podmínkách**¹Akademie věd České republiky, Ústav experimentální medicíny, Praha²Univerzitní centrum energeticky efektivních budov ČVUT v Praze, Buštěhrad³2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Prahavera.lukasova@iem.cas.cz

Tkáňové inženýrství s využitím nosičů se v první řadě zaměřuje na vlastnosti nosičů, jako jsou biodegradabilita a biokompatibilita. Nosiče by měly vykazovat vhodné povrchové vlastnosti, aby buňky na povrch adherovaly a následně proliferovaly. Dále by nosiče měly vykazovat odpovídající mechanické vlastnosti, porozitu a míru degradace s ohledem na typ regenerované tkáně. Póry by měly být propojené, což umožňuje výměnu živin, odpadních látek a migraci buněk do středu nosiče, zejména v případě 3D nosičů. Po vyvinutí vhodného nosiče je třeba jejich *in vitro* či *in vivo* testování. *In vitro* testování probíhá nejčastěji při statických kultivačních podmínkách. Hlavní nevýhodou statických kultivačních podmínek je nedostatečná difuze živin do středu nosiče, což spěje k vyšší koncentraci živin na jeho povrchu. Zároveň není zajištěn dostatečný transport kyslíku a odvod odpadních látek. Výsledkem je nedostatečná stimulace buněk k migraci do středu nosiče a jejich nerovnoměrné rozložení. Buňky jsou ve vysoké koncentraci přítomny hlavně na povrchu nosiče. Z výše zmíněných negativ plyne limitace velikosti nosiče při statickém testování. *In vitro* testování nosičů v dynamických kultivačních podmínkách je alternativou, která se snaží obejít nedostatky statických kultivačních podmínek. Zároveň, při vhodném nastavení parametrů, může do jisté míry nahradit *in vivo* testování nosičů a tedy snížit počet laboratorních zvířat nutných pro prováděné experimenty.

Tato studie byla zaměřena na porovnání *in vitro* dynamických a statických kultivačních podmínek s cílem navození osteogenní diferenciaci lidských mesenchymálních kmenových buněk (hMSC). Sledován byl vliv na adhezi, proliferaci, metabolickou aktivitu a diferenciaci hMSC nasazených na nosiče a kultivovaných po dobu 14 dnů v osteogenním diferenciacním médiu. Cílem práce bylo testování různých rychlostí průtoků média pro navození osteogenní diferenciaci kultivovaných hMSC v perfuzním bioreaktoru.

Ráda bych poděkovala pracovnímu kolektivu z Fakulty textilní Technické univerzity v Liberci za poskytnuté 3D nosiče pro buněčné testování v této studii.

Studie byla finančně podpořena z grantů Agentury pro zdravotnický výzkum České republiky číslo NV18-05-00379 a 16-28637A, z grantu Grantové agentury České republiky číslo 18-09306S a z grantu Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy České republiky číslo NPU I:LO1309.

**Martin Sojka^{1,2}, Pavel Klein¹ a Lucie Vištejnová¹****Testovanie antimikróbnych aktivít materiálov – možnosti, metódy, úskalia**¹Biomedicínske centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň²Ústav mikrobiológie, Lekárska fakulta, Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava, Slovenská republikamartin.sojka@szu.sk

Antimikróbna aktivita je jednou z dôležitých charakteristík materiálov s potenciálom použitia v terapii a prevencii humánnych a veterinárnych infekčných ochorení. V prvej fáze testovania sa zvyčajne používajú testy *in vitro*, čo umožňuje znížiť počet testovaných materiálov a teda počet použitých experimentálnych zvierat v druhej fáze testovania s použitím *in vivo* modelov.

V súčasnosti klasické *in vitro* metódy kvalitatívneho testovania antibakteriálnej a antifungálnej aktivity rozpustných alebo suspendovateľných materiálov – agarové a agarózne difúzne metódy, stanovenia minimálnych inhibičných a baktericídnych koncentrácií, sú nepoužiteľné na testovanie pevných vzoriek materiálov (plochy a povrchy). V týchto prípadoch je potom najjednoduchšie použitie tenkej vrstvy agarovej suspenzie mikroorganizmov na pevnom kultivačnom médiu, ktoré je možné hodnotiť kvantitatívne.

Inou kapitolou je testovanie antibiofilmovej aktivity látok. Biofilmy sú mono- alebo polymikróbne komunity mikroorganizmov adherovaných k povrchom alebo k sebe navzájom, ktoré vykazujú násobne vyššie rezistencie voči pôsobeniu fyzikálnych aj chemických atakov. Na základe klasických testov antimikrobiálnej aktivity nie je možné usudzovať na antibiofilmovú aktivitu. V prípade materiálov, u ktorých je predpokladané použitie v terapii biofilmových infekcií, by testovania mali byť doplnené o testy antibiofilmových aktivít – stanovenie minimálnej biofilm inhibujúcej a minimálnej biofilm eradikujúcej koncentrácie, prípadne vplyv na eradikáciu polymikróbneho biofilmu, napríklad v Lubbockom modeli biofilmu z chronickej rany (LCWB), ktorý sme v našom laboratóriu modifikovali aj na testovanie pevných plochých vzoriek.

LCWB sme tiež použili pre modelovanie biofilmovej infekcie rany miniprasaťa a nami vyvinutý model je možné použiť pre testovanie antibiofilmovej aktivity rôznych materiálov a ich vplyvu na hojenie infikovanej rany.

Pre testovanie antivírusovej aktivity materiálov *in vitro* máme k dispozícii dva klasické testy v rozličných modifikáciách – test redukcie plakov a test redukcie titra vírusu (TCID₅₀). V týchto testoch môžeme používať rozličné modelové vírusy i klinické izoláty vírusov a nemusíme sa spoliehať na extrapoláciu výsledkov testovania na fágoch, ktorá sa používa štandardne na sledovanie účinnosti dezinficiencií.

V dnešnej dobe máme k dispozícii celú batériu *in vitro* a *in vivo* testov pre sledovanie antimikróbnych aktivít látok. Táto prednáška zhrnie ich prednosti a limity, ktorých poznanie je dôležité pri výbere najvhodnejších testovacích metód pre daný účel a konkrétny materiál.

Podpořeno projektem CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000787, Centrum výzkumu infekčních onemocnění, uděleného MŠMT ČR, financovaného z EFRR, projektem Specifického vysokoškolského výzkumu č. 260392 a projektem GAUK č. 128417 poskytnutými Karlovo Univerzitou.

**pátek 11:10 (S)****Julia Pajorová¹, Anne Skogberg², Markéta Bačáková¹, Pasi Kallio²
a Lucie Bačáková¹****Nanocelulóza v kožnom tkanivovom inžinierstve**¹Odd. biomateriálů a tkáňového inženýrství, Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha²Micro and Nanosystems Research Group, Tampere University of Technology, Tampere, Finlandjulia.pajorova@fgu.cas.cz

V súčasnej dobe sa na liečbu kožných poranení používajú a rôzne kožné kryty alebo priamo kožné náhrady. Náš výskum sa zaoberá rozvojom oboch možných spôsobov liečby. Za účelom vývoja vhodnej kožnej náhrady testujeme nanovláknité materiály s biodegradabilnými vlastnosťami, zatiaľ čo za účelom zlepšenia kožných krytov študujeme netkanú textíliu z celulózy v kombinácii s rozličnými typmi buniek. Celulózová textília je síce materiál vhodný pre odsávanie prebytočnej tekutiny z rany, ale jej vlastnosti priamo nepodporujú hojenie, tj. samotnú proliferáciu buniek v rane. Nevhodne chemické a fyzikálne vlastnosti celulózovej textílie sa však dajú zlepšiť modifikovaním materiálu biomolekulami (fibrín, kolagén) alebo nanocelulózu. Vzhľadom na to, že fibrín a kolagén sú molekuly telu vlastné, bunky ich môžu dobre remodelovať, migrovať do vnútra a tým materiál kolonizovať, čo v prípade kožných krytov nie je žiadúce, pretože materiál musí byť po čase odstránený. V súčasnosti sa preto zaoberáme modifikáciami celulózovej textílie nanocelulózu (cellulose nanofibers – CNF) s kladným (cationic – c) a so záporným nábojom (anionic – a). Na modifikovanej textílii sledujeme adhéziu a rast primárnych ľudských fibroblastov a kmeňových buniek izolovaných z tuku. Výsledky skenovacej elektrónovej mikroskopie ukázali, že celulózové nanovlákná obalujú vlákna textílie v rôznej miere v závislosti na náboji a zároveň vyplňajú póry medzi vláknami. Viskóznjšia c-CNF vytvára na povrchu tenký film, zatiaľ čo menej viskózna a-CNF vlákna obaluje rovnomerne a vyplňa póry medzi vláknami. Obe formy nanocelulózy, v porovnaní s nemoifikovanou kontrolou, podporujú rast buniek, avšak podľa výsledkov metabolickej aktivity buniek sa zdá, že záporne nabitá nanocelulóza je pre bunky vhodnejšia, ako kladne nabitá nanocelulóza. Na základe doteraz dosiahnutých výsledkov sa domnievame, že nanocelulózu modifikovaná celulózová textília by mohla slúžiť ako vhodný kryt kožný rán.

Podporované Grantovou agentúrou České republiky (GAČR č. 17-00885S).

**pátek 11:30****Markéta Bačáková¹, Júlia Pajorová^{1,2}, Antonín Brož¹, Jana Musílková¹,
Anna Stunová³, Petr Mikeš⁴, Věra Jenčová⁴ a Lucie Bačáková¹****Biodegradabilní nanovláknenné membrány modifikované fibrinem a kolagenem jako substráty pro kokultivaci fibroblastů a keratinocytů**¹Oddělení biomateriálů a tkáňového inženýrství, Fyziologický ústav AV ČR, Praha²2. lékařská fakulta Karlovy Univerzity v Praze, Praha³Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Plzeň⁴Technická univerzita. Liberec, Česká republikamarketa.bacakova@fgu.cas.cz

Pro hojení hlubokých ran kůže zasahujících epidermis i dermis je nejvhodnější použití nosičů, které obsahují oba typy kožních buněk - fibroblasty i keratinocyty. Nanovláknenné materiály z biodegradabilních materiálů nacházejí stále větší uplatnění ve vývoji kožních náhrad. V naší studii jsme jako nosič kožních buněk použili biodegradabilní nanovláknennou membránu z poly-L-laktidu (PLLA), kterou jsme modifikovali fibrinovou nanovláknennou sítí a posléze kolagenovým gelem pro zlepšení podmínek pro adhesi a růst buněk. Nejprve jsme membránu modifikovanou fibrinovou sítí osadili lidskými dermálními fibroblasty. Fibrinová síť podpořila adhesi buněk, jejich následnou proliferaci a syntézu extracelulárních proteinů kolagenu a fibronektinu. Poté jsme na fibroblasty osazené membráně vytvořili kolagenový gel, který umožnil fibroblastům jejich migraci do gelu. Membrána a kolagenový gel s migrovanými fibroblasty simulovala kožní dermis. Povrch kolagenového gelu byl následně osazen lidskými kožními keratinocyty. Povrch kolagenového gelu s adherovanými keratinocyty tvořil náhradu epidermis. Kolagenový gel umožnil keratinocytům adherovat, proliferovat, dělit se a migrovat. Navíc byly pozorovány známky jejich stratifikace. Konstrukt vytvořený z biodegradabilní nanovláknenné membrány z PLLA modifikované fibrinem, kolagenem a osazené fibroblasty a keratinocyty může sloužit jako kožní náhrada podporující hojení ran nebo jako model pro studium vzájemné interakce fibroblastů a keratinocytů.

Práce je podporovaná Grantovou agenturou České republiky (GAČR 17-02448S) a Grantovou agenturou Karlovy univerzity v Praze (GAUK 756218).

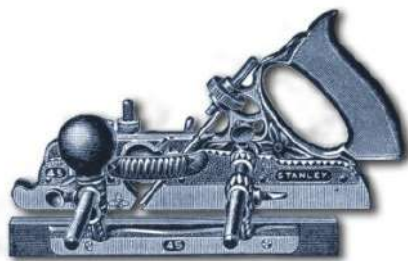
pátek 11:50**Karolína Vocetková^{1,2}, Věra Sovková^{1,2}, Radek Divín^{1,2}, Matěj Buzgo¹,
Evžen Amler² a Eva Filová^{1,3}****Nanovláknenné nosiče obohacené o trombocyty ve tkáňovém inženýrství**¹Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i., Laboratoř tkáňového inženýrství, Praha²ČVUT v Praze, Univerzitní centrum energeticky efektivních budov, Buštěhrad³ČVUT v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství, Buštěhradkarolina.vocetkova@cvut.cz

Hojení ran je komplexní biologický proces sestávající ze souhry signálních molekul, buněk a extracelulární matrix. Jeho narušením může dojít ke vzniku chronických ran. Péče o ně je celosvětovým problémem a je tedy nutné hledat nová řešení léčby. Polymerní nanovláknna mohou



sloužit jako vhodné krytí. Svou strukturou napodobují extracelulární matrix a je možné je obohatit o rozličné bioaktivní látky. Krevní destičky představují vhodný zdroj růstových faktorů a cytokinů, neboť jich obsahují široké spektrum ve fyziologických poměrech. Cílem této práce bylo vyvinout a charakterizovat polymerní nanovláknenné nosiče obohacené o trombocyty, které podporují metabolickou aktivitu a proliferaci kožních buněk.

Tato práce byla podpořena následujícími granty: MŠMT (NPU LO1508 a LO1309) a OPPK CZ.2.16/3.1.00/21528, AZV ČR (17-32285A).





POSTERY
GALT



úterý 19:50-21:00

**Petr Bernard¹, Jitka Vondrová¹, Radek Sedláček², Filip Burget³
a Michal Mašek⁴****Vývoj nové generace prostředků pro dlahovou osteosyntézu dlouhých
kostí TH03010418**¹ MEDIN, a.s., Nové Město na Moravě² ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Praha³ Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Praha⁴ Fakultní nemocnice Brno, Brnopetr.bernard@medin.cz

Projekt je charakteristický aplikovaným výzkumem a experimentálním vývojem dlahové osteosyntézy dlouhých kostí horní a dolní končetiny mimo oblast femorální kosti. Nosným pilířem vývoje nových implantátů i instrumentárií je funkční hodnota, využití anatomických poznatků, bezpečnost pro pacienta, rychlejší průběh operace, nižší riziko pooperačních komplikací a včasný návrat pacientů do běžného života. Činnosti v letošním roce vycházejí i z možného využití biodegradabilních či biokompozitních materiálů. Celou problematikou se zabývá interdisciplinární tým složený z odborníků výrobní sféry, univerzitní sféry a lékařského prostředí – výstupy projektu tak budou výsledkem znalostí a zkušeností z klinické praxe, provedených testování a výrobních možností.

**Obr. 1** Nový návrh humerální dlahy

Projekt (TH03010418, Vývoj nové generace prostředků pro dlahovou osteosyntézu dlouhých kostí) je řešen s finanční podporou TA ČR.



úterý 19:50-21:00

Dagmar Biliková, Anna Stunová, Tomáš Suchý a Lucie Vištejnová**Prasečí a potkaní kolageny pro přípravu hydrogelů**

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

dadkabilikova@gmail.com

Úvod práce: Předpokladem spolehlivého studia buněk a jejich chování *in vitro* je nabídka optimálního kultivačního biotopu, které dokáže imitovat přirozené prostředí studovaných buněk. Takovým prostředím jsou v mnoha případech hydrogelové 3-D scaffoldy, které mohou být připraveny ze živočišných kolagenů. Kolagen je bílkovina vynikající svou biokompatibilitou a nízkou imunogenicitou, což z něj dělá vhodný materiál pro přípravu hydrogelových scaffoldů pro *in vitro* studie. Kolagen lze získat z mnoha živočišných tkání, jako jsou šlachy a kůže savců (potkan, prase, kráva, kůň), kůže ryb či těla mořských hub a medúz¹. Některé studie ukazují, že kolageny izolované z různých živočišných druhů, mohou vykazovat odlišné fyzikální, strukturní a biologické vlastnosti^{2,3}.

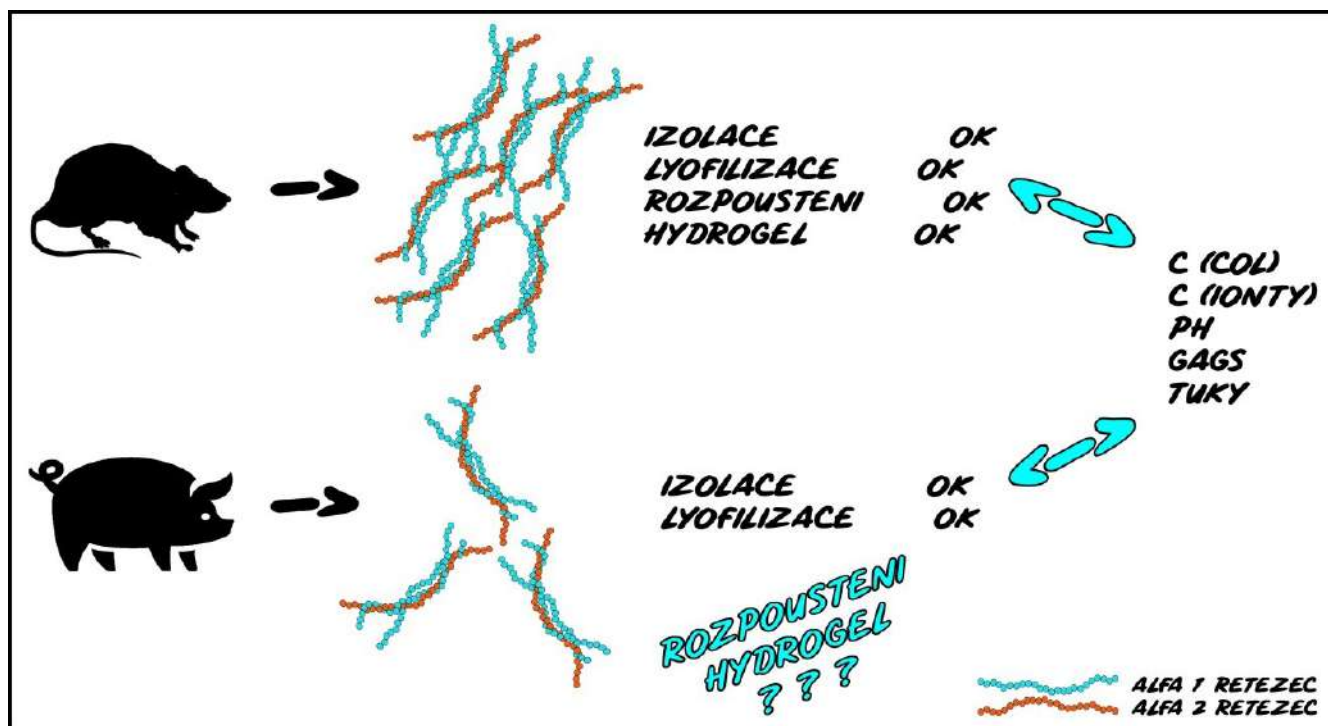
Cíl práce: Cílem práce bylo definovat rozdíly v přípravě hydrogelových scaffoldů z potkaních a prasečích kolagenů izolovaných různými způsoby ze šlach a kůží.

Metodika: Kolageny byly izolovány ze šlach a kůží potkanů a prasat a) metodou extrakce ve fosfátovém a citrátovém pufru a kyselině octové; b) metodou extrakce v kyselině octové s následnou neutralizací v NaOH. Obě varianty byly dále modifikovány formou prodloužené extrakce kolagenu v kyselině octové. Izolované a lyofilizované kolageny byly rozpouštěny v 0.1% (v/v) kyselině octové (5 mg/ml) po dobu 4 dnů při teplotách 4°C a 37°C. Poté byly roztoky centrifugovány (5 min, 4000 rpm). Supernatanty byly použity pro přípravu hydrogelového scaffoldu, pelety byly vysušeny a zváženy pro zjištění hmotnostních ztrát. Izolované kolageny byly kvalitativně zhodnoceny pomocí neredukující SDS-PAGE elektroforézy. Z izolovaných kolagenů byly připraveny hydrogelové scaffoldy. Pro 500 µl hydrogelu bylo smícháno 195 µl kultivačního média (DMEM, FBS, Pen/Strept, NE AMK, L-glut) a 5 µl NaHCO₃ (7.5%, HyClone), ke kterým bylo následně přidáno 300 µl kolagenu (5 mg/ml, 0.1% (v/v) kyselina octová, vše chlazeno na 4°C). Takto připravený hydrogel byl pipetován do 24-jamkového panelu a vložen do 37°C 5 % CO₂, kde došlo k vytvoření gelové formy (tzv. fibrilogenezi). Pro přibližnou kontrolu vhodných kultivačních a gelujících podmínek bylo měřeno pH kolagenových supernatantů i hydrogelů.

Výsledky: Hydrogelové scaffoldy vytvořily gelovou formu v případě kolagenu izolovaného z potkaní šlachy a kůže metodou extrakce ve fosfátovém a citrátovém pufru a kyselině octové, a z lyofilizátu rozpouštěném při 4°C. Pokud byly všechny lyofilizované kolageny rozpouštěny při 37°C, gelová forma vytvořena nebyla. Při rozpouštění potkaních kolagenů vznikly hmotnostní ztráty 1.9 ± 1.4 %. Při rozpouštění prasečích kolagenů vznikly hmotnostní ztráty 23.0 ± 3.0 % v případě kolagenů izolovaných metodou extrakce ve fosfátovém a citrátovém pufru a kyselině octové. V případě izolace kolagenů metodou extrakce v kyselině octové s následnou neutralizací v NaOH byly ztráty 65 – 100 %. Prodloužená doba extrakce neměla na tvorbu gelové formy hydrogelu vliv. SDS-PAGE ukázala, že kolageny izolované ze všech zdrojů, všemi metodami, avšak rozpouštěné pouze při 4°C obsahují α, β i γ řetězce. Kolageny rozpouštěné při 37°C byly částečně denaturovány, pravděpodobně porušením kovalentních vazeb (peptidových, esterových) během hydrolytické degradace. pH supernatantů u všech rozpouštěných kolagenů v supernatantu bylo ~ 7.0 a na povrchu hydrogelových scaffoldů mezi 8 – 9.



Diskuse a závěr: Gelová forma hydrogelových scaffoldů vznikla pouze v případě kolagenu pocházejícího z potkana, z prasečích kolagenů gelové formy nevznikaly. Nejpravděpodobnější vysvětlení spočívá v nedostatečném rozpuštění lyofilizovaných prasečích kolagenů (0.1% (v/v) kyselina octová, 4 dny, 4°C nebo 37°C, což ukazuje také bilance hmotnostních ztrát. Důvodem nízké rozpustnosti prasečích kolagenů může být míra tzv. síťovacích (cross-link) vazeb mezi vlákny tropokolagenu, kterých s věkem v organismu přibývá⁴. Potkani v tomto experimentu nedosahovali dospělosti (3 týdny) a prasata byla starší 16 měsíců, tedy v dospělém věku. Prasečí kolageny, které netvořily hydrogel, dle SDS-PAGE analýzy obsahují α (monomery $\alpha 1, \alpha 2$), β (dimer $\alpha 1 + \alpha 1$ nebo dimer $\alpha 1 + \alpha 2$) i γ řetězce (trimer $2 \times \alpha 1 + 1 \times \alpha 2$)⁵, nejsou denaturované, avšak fibrilogenezi může bránit nízká koncentrace řetězců, nevhodná koncentrace iontů (I), vyšší pH (tj. $\text{pH} > 3$)⁶ nebo příměsi pocházející ze zdrojové tkáně (tuky, glykosaminoglykany)⁵ (**Obr. 1**). Z důvodu jednoduchosti a definovatelnosti postupu přípravy hydrogelových scaffoldů budou pro další experimenty vyžadující 3-D kultivační prostředí používány potkaní kolageny izolované ze šlach metodou extrakce ve fosfátovém a citrátovém pufru a kyselině octové a rozpouštěné při teplotě 4°C po dobu 4 dnů v 0.1% (v/v) kyselině octové.



Obr. 1 Příprava hydrogelových scaffoldů z potkaního a prasečího kolagenu. Za našich experimentálních podmínek (rozpuštění v 0.1% (v/v) kyselině octové, 4 dny, 4°C) z potkaního kolagenu hydrogel připravit lze, z prasečího nikoliv. Důvodů může být mnoho, např. nízká rozpustnost a nevhodné podmínky rozpouštění prasečího kolagenu (pH, I) či nekolagenové příměsi bránící fibrilogenezi.

Reference:

1. Parenteau-Bareil R *et al.* Collagen-Based Biomaterials for Tissue Engineering Applications. *Materials*. 2010, 3, 1863-1887.
2. Lin YK *et al.* Comparison of physical-chemical properties of type I collagen from different species. *Food Chemistry*. 2006, 99, 244-251.
3. Bohm S *et al.* Impact of Source and Manufacturing of Collagen Matrices on Fibroblast Cell Growth and Platelet Aggregation. *Materials*. 2017, 10, 1086.
4. Wilson SL *et al.* The effect of collagen-ageing on its structure and cellular behaviour. *Proc. Of SPIE*. 2012, 8222, 822210.



5. Pacak CA *et al.* Ultrarapid Purification of Collagen Type I for Tissue Engineering Applications. *Tissue Engineering: PART C*. 2011, 17, 879 – 885.
6. Koth FW, Raines RT. Self-assembly of synthetic collagen triple helices. *PNAS*. 2006, 103, 3028 – 3033.

Podpořeno projektem CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000787, Centrum výzkumu infekčních onemocnění, uděleného MŠMT ČR, financovaného z EFRR, projekty Specifického vysokoškolského výzkumu č. 260392 a GAUK č. 128417 poskytnutými Karlovo Univerzitou.

úterý 19:50-21:00

Veronika Blahnová¹, Lucy Vojtová², Kateřina Kacvinská² a Eva Filová¹

Pěnový scaffold s bFGF pro stimulaci 3T3 fibroblastů

¹ Ústav experimentální medicíny Akademie věd České republiky, Praha

² Vysoké učení technické v Brně, Středoevropský technologický institut, Brno

veronika.blahnova@iem.cas.cz

Kůže je největším tělním orgánem a její hlavní úloha je tvorba mechanické bariéry mezi vnitřním a vnějším prostředím. Její integrita je zásadní pro udržení homeostáze, termoregulaci, zabránění vypařování vody a především ochranu před infekcemi. Regenerace kůže je vzhledem k její struktuře o několika vrstvách komplexním procesem, v jehož průběhu je nutná souhra mnoha biologických faktorů. Vlastní regenerační kapacita organismu je za standardních podmínek dostatečná, nicméně za určitých okolností je třeba ji podpořit alternativními terapeutickými přístupy. Pokud totiž nedojde ke zhojení rány v určitém časovém horizontu, přejde akutní zánět do chronické fáze a po té je spontánní regenerace poměrně obtížná, ne-li nemožná. Tkáňové inženýrství využívá znalostí z několika odlišných vědeckých oborů a propojuje je v nových postupech zaměřených na podporu přirozených procesů v těle vedoucích k uzdravení poškozené tkáně.

V naší studii jsme se zabývaly hodnocením vlivu bFGF na proliferaci a produkci mRNA pro kolagen typu I u myších 3T3 fibroblastů. Buňky byly nasazeny v denzitě 60000 buněk/nosič na scaffoldy připravené z kolagenu typu I lyofilizací a obohacené o různé koncentrace bFGF ve dvojí modifikaci – stabilizován a wild type. V průběhu 21 dní trvajících experimentu byla sledována metabolická aktivita buněk MTS testem, relativní exprese mRNA pro kolagen typu I – protein specifický pro kožní tkáň a rovněž byla vizualizována buněčná jádra a cytoplazma pro fluorescenční mikroskopii.

Signifikantně nižších hladin metabolické aktivity 3T3 fibroblastů bylo dosaženo v experimentální skupině, kde byl nosič obohacen 0,5% wild type bFGF. V této skupině rovněž byly buňky přítomny v agregátech, zatímco ve zbývajících rovnoměrně pokryly celý povrch nosiče. Ve skupinách, kde byl nosič obohacen wild type bFGF (0,5% a 1%) první experimentální den statisticky významně stoupla relativní exprese mRNA pro kolagen typu I. Naopak v závěru experimentu byly hodnoty signifikantně nejnižší. Data naznačují, že wild type bFGF se z nosiče uvolňuje spíše v počátcích aplikace, kdy silně stimuluje buňky k produkci extracelulárního proteinu a později je štěpen. Zatímco pokud byl růstový faktor stabilizován, jeho štěpení bylo opožděné a mohl tudíž ovlivňovat buňky spíše v pozdějších fázích kultivace.

Tato práce byla podpořena granty: Ministerstvo školství mládeže a tělovýchovy RP NPU I:LO1309 a RP NPU I:LO1508.

**úterý 19:50-21:00****Martin Braun¹, Šárka Rýglová¹, Monika Šupová¹, Margit Žaloudková¹,
Martina Křížková¹, Zbyněk Sucharda¹, Karel Balík¹ a Tomáš Suchý^{1,2}****Sledování obsahu vybraných kolagenních a nekolagenních komponent
biokompatibilních nanokompozitních materiálů pro tkáňové inženýrství**¹ Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AV ČR, v.v.i, Praha² ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Prahabraun@irms.cas.cz

Biokompatibilní nanokompozity v současnosti představují perspektivní biomateriály s velkým potenciálem v oblasti kostních náhrad a výplní a scaffolds založené na biodegradabilních polymerních matricích jsou stále častěji vyhledávaným řešením pro rychlejší a efektivnější regeneraci postižených tkání a hojení ran.

Tyto buněčné 3D nosiče bývají voleny tak, aby svým chemickým složením, biologickými a mechanickými vlastnostmi co nejlépe odpovídaly přirozeným lidským tkáním. Kromě nezbytné anorganické složky (bioapatitu) jsou proto velmi často na bázi přírodních látek, jako je kolagen, který je nejvýznamnějším strukturním proteinem v těle obratlovců a doplněny jsou dalšími, tělu přirozené látky, vyskytující se v pojivových tkáních jako např. polysacharidy typu glykosaminoglykany, proteoglykany apod.

Vzhledem k tomu, že složení biokompozitů má zásadní vliv na funkčnost a bioaktivitu příslušné náhrady je vhodné věnovat pozornost jak komplexnímu složení vyvíjených biomateriálů, tak za pomoci citlivých analytických metod monitorovat příp. změny ve složení v důsledku degradace a působení řady fyzikálních a chemických faktorů během jejich zpracování.

Hlavním cílem této práce je proto přehled vhodných analytických metod (HPLC, SDS-PAGE, FTIR) a shrnutí jimi naměřených výsledků, které mohou ozřejmit četné rozdíly mezi zpracovávanými biologickými surovinami využívanými pro přípravu kompozitů a přispět k optimalizaci jejich zpracování, lepší charakterizaci a využitelnosti těchto vyvíjených, pokročilých biomateriálů nové generace.

Práce byla finančně podpořena AZV MZČR (projekt NV15-25813A) a ÚSMH AV ČR, v.v.i. (institucionální úkoly č. 481, 482).

úterý 19:50-21:00**Zdenka Capáková¹, Věra Kašpárková¹, Petr Humpolíček¹, Patrycja
Bober², Jaroslav Stejskal², Miroslava Trchová² a Marián Lehocký¹****Biological properties of polyaniline films prepared in colloidal dispersion
mode**¹ Tomas Bata University in Zlin, Zlin² Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Praguecapakova@utb.cz

The combination of intrinsic electrical conductivity with easy preparation opens the door for the promising application of conducting polymers in engineering of excitable tissues. Although a wide variety of conducting polymers are available, polyaniline (PANI) is still on the rise as it can



be prepared and simply modified using several procedures. The modifications of surface properties are crucial with respect to the possible applications of PANI in tissue engineering. One of possible approaches of surface modifications is to synthesize PANI by oxidation of aniline with ammonium persulfate in presence of suitable stabilizer. Therefore, innovative technique for preparing PANI films with advanced biological properties via *in-situ* polymerization in colloidal dispersion mode using four different stabilizers were investigated. Poly-N-vinylpyrrolidone, sodium dodecylsulfate, Tween 20 and Pluronic F108 were used as stabilizers. They were dissolved either in water or in 1 mol L⁻¹ hydrochloric acid before the synthesis. The surface properties were characterized using contact-angle measurement, the van der Pauw method and Fourier-transform infrared spectroscopy. Moreover, the cell compatibility and skin irritation tests were also performed. Cytocompatibility was determined using mouse embryonic fibroblasts (NIH/3T3, ATCC; US). Cell adhesion, proliferation (Fig. 1), morphology and migration were studied.

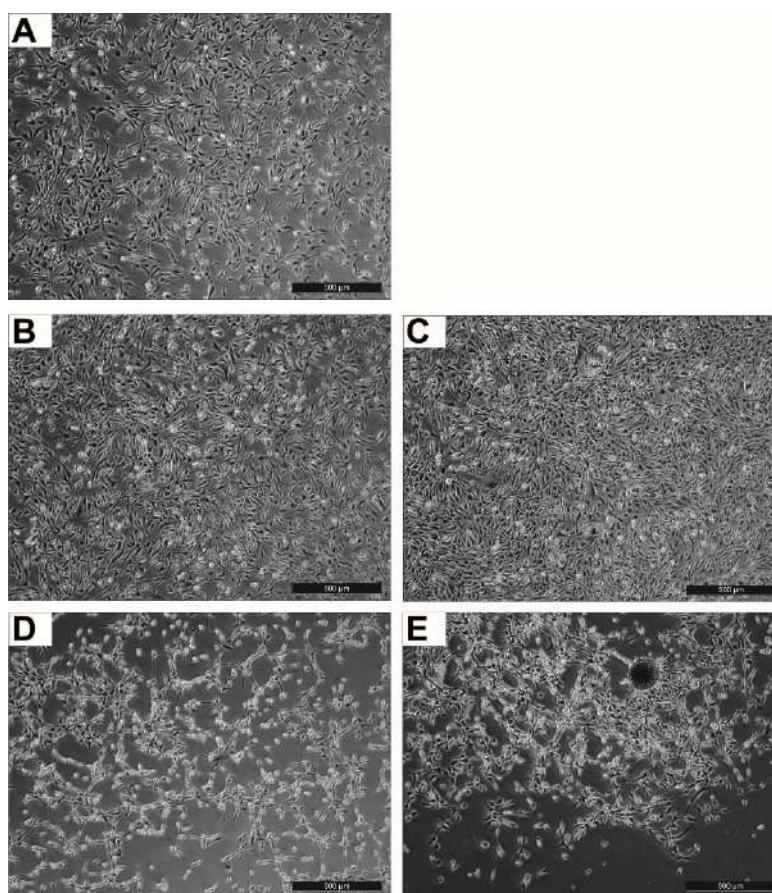


Fig. 1 Proliferation of NIH/3T3 cells on surfaces of PANI films prepared in the presence of different stabilizers evaluated after 72 h incubation. A) reference; B) PANI-SDS-H₂O; C) PANI-SDS-HCl; D) PANI-PVP-H₂O; E) PANI-PVP-HCl.

The stabilizers significantly influence cytocompatibility as well as the surface and electrical properties of the films. The highest conductivity and best cytocompatibility was obtained using sodium dodecylsulfate as a stabilizer dissolved in 1 M HCl. Moreover, these films are non-irritating and display no harmful effects on human skin, which was confirmed by their in-vitro exposure to the 3D-reconstructed human tissue model. It can be concluded that the preparation of PANI films using a colloidal dispersion mode can lead to a significant improvement in the biological properties of PANI. This significantly enhances the applicability of PANI in tissue engineering and, more generally, in biomedicine. In particular, its use in biosensors capable of conductometric monitoring of ongoing changes on the skin surface should be of particular interest.



Acknowledgments: *This work was supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Program NPU I, LO1504) and Czech Science Foundation (17-05095S).*

References:

- Bhadra S, Khastgir D, Singha NK, Lee JH. Progress in preparation, processing and applications of polyaniline. Prog. Polym. Sci. 34, 783, 2009.
- Stejskal J, Gilbert RG. Polyaniline, Preparation of a conducting polymer(IUPAC technical report), Pure Appl. Chem. 74, 857, 2002.
- Stejskal J, I. Sapurina I. Polyaniline: thin films and colloidal dispersions (IUPAC technical report), Pure Appl. Chem. 77 (2005) 815–826.
- K.G. Alves, E.F. de Melo, C.A. Andrade, C.P. de Melo, Preparation of fluorescent polyaniline nanoparticles in aqueous solutions, J. Nanopart. Res. 15 (2013)1–11.
- Z. Kucekova, P. Humpolicek, V. Kasparkova, T. Perecko, M. Lehocky, I.Hauerlandová, P. Saha, J. Stejskal, Colloidal polyaniline dispersions: antibacterial activity, cytotoxicity and neutrophil oxidative burst, Colloids Surf. B 116 (2014) 411–417.

úterý 19:50-21:00

**Radek Divín^{1,2,3}, Karolína Vocetková^{1,2,3}, Robert Srnec⁵, Evžen Amler^{1,2},
Alois Nečas⁵, Miša Škorič⁴, Tereza Kubíková⁴, Milena Králíčková⁴
a Zbyněk Tonar⁴**

**Bioimplantát na bázi peptidového hydrogelu a polymerního
nanovláčenného nosiče**

¹ Univerzita Karlova, 2. Lékařská fakulta, Praha

² ČVUT v Praze, Univerzitní centrum energeticky efektivních budov, Buštěhrad

³ Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i., Laboratoř tkáňového inženýrství, Praha

⁴ Univerzita Karlova, Lékařská fakulta Plzeň, Plzeň

⁵ Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta veterinárního lékařství, Brno

divin.r@seznam.cz

Traumata či jiné patologické procesy mohou způsobit i velmi rozsáhlé defekty kostní tkáně. S výhodou ušetření pacienta odběru autologní tkáně lze využít syntetické kostní náhrady, které mohou sloužit také jako nosiče bioaktivních látek a stimulovat tak hojení kosti. Pro klinické využití bioimplantátů je důležitá jejich snadná a minimálně invazivní aplikace, což splňují injekčně aplikované gelové formy preparátů.

Gelový implantát se vpraví do místa defektu, kde vlivem fyzikálně-chemických vlastností změni svou tuhost a v místě poškození tkáně poskytne jak mechanickou ochranu, tak i bioaktivní podporu hojení defektu.

V rámci studie byla vytvořena suspenze sestávající z modifikovaného peptidového hydrogelu PDG-AlphaProA (PeptigelDesign Technologies) a nanovláčenných mikročástic připravených metodou kryomletí. Daná suspenze byla injikována do defektu diafýzy pravého femuru pokusného zvířete (potkan), defekt na levé končetině zvířete byl ponechán jako kontrola ke spontánnímu zhojení. Zhojení bylo posouzeno na základě rentgenového a histologického vyšetření potkanů jeden, dva, čtyři a šest týdnů po operaci. Výsledky ukázaly příznivý vliv přítomnosti bioimplantátu



v časných fázích hojení, kdy byla pozorována mírně vyšší angiogeneze a celularita s nárůstem novotvorby kostní tkáně v porovnání s kontrolami. V pozdějších fázích hojení (4. a 6. týden studie) nebyl pozorován vliv bioimplantátu na modelaci kosti ani další průběh hojení. Gelové bioimplantáty mají tedy potenciál stát se novým systémem podporujícím hojení defektů kostní tkáně.

Práce byla podpořena Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (512216), MŠMT ČR NPU granty č. LO1508, LO1309, CZ.2.16/3.1.00/24006, a AZV ČR granty č. 16-28637A, 17-32285A a IGA VFU Brno (140/2016/FVL).

úterý 19:50-21:00

Jana Dorazilová¹, Johana Babrnáková¹, Kristýna Šmerková², Pavel Kopel², Silvia Kočiová², Pavel Diviš³, Vojtěch Adam² a Lucy Vojtová¹

Enzymatic Degradation and Bacterial Inhibition of 3D Collagen/Chitosan Scaffolds Doped with Selenium Nanoparticles

¹ Brno University of Technology, CEITEC – Central European Institute of Technology, Advanced polymers and composites, Brno

² Mendel University in Brno, Faculty of AgriSciences, Dept. of chemistry and biochemistry, Brno

³ Brno University of Technology, Faculty of Chemistry, Materials Research Centre, Brno

jana.dorazilova@ceitec.vutbr.cz

In recent years various collagen-based materials have found its use in the field of tissue regeneration. The reasons behind using these materials are: (1) relatively easy preparation procedure, (2) easily accessible material (collagen is one the most abundant biopolymeric substance in nature) and (3) can be fabricated into various design, e.g. 3D porous matrix, injectable hydrogels, films. 3D porous matrix belongs between the most used design of collagen-based scaffolds. The main advantage of such a design is an interconnected porous structure, that promotes cell growth, proliferation and differentiation. There is also a disadvantage in having a material with porous structure – it is an easy target for bacteria, which are most likely to occupy 3D porous matrices as well. Thus, it is essential to add antibacterial agents.

In this study, we have prepared 3D porous collagen material containing two types of substances holding antibacterial properties – biopolymeric chitosan fibres and selenium nanoparticles. The 3D porous structure has been achieved via method of freeze-drying and the stability of the scaffold was enhanced by chemical crosslinking. Furthermore, these samples were evaluated for stability in an enzymatic environment of collagenase and lysozyme and tested for their bacterial inhibition on selected gram-positive and gram-negative bacteria strains.

Degradation in both enzymes was visibly affected by the existence of chitosan and selenium nanoparticles in collagenous matrices. Chitosan enhanced the stability of collagenous samples and selenium nanoparticles sped up the process of degradation. Although result can be distorted since every sample has its own porosity and degraded at a slightly different pace. Bacterial inhibition has been tested by agar disc diffusion method and macrodilution broth method. In the prior method, the samples containing only selenium nanoparticles showed measurable inhibition zones with the respect to their concentration. However, in the latter method, all samples showed



some of the antibacterial activity towards gram-positive bacteria strains. Overall bacterial inhibition towards gram-negative strains was less satisfied no matter what method we have used.

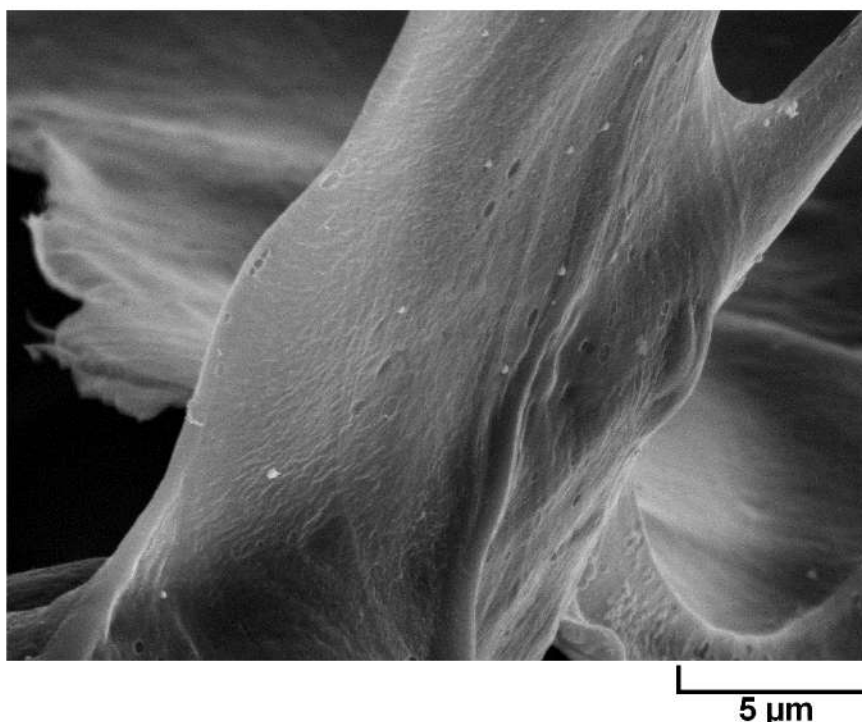


Fig. 1 SEM image of homogeneous selenium nanoparticles coating on 3D porous collagenous matrix.

This work was supported by the CEITEC 2020 (LQ1601) with financial support from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic under the National Sustainability Programme II and by the Ministry of Health under the project no. 17-29874A.

úterý 19:50-21:00

Veronika Grézlová¹, Lenka Michlovská¹, Kristýna Šmerková², Pavel Kopel², Vojtěch Adam^{2,3}, Silvia Kočiová², Petr Bábor³, Pavel Diviš⁴ and Lucy Vojtová¹

Thixotropic polymer-phosphate bone filler modified with antibacterial selenium nanoparticles

¹ Brno University of Technology, CEITEC – Central European Institute of Technology, Advanced polymers and composites, Brno

² Mendel University in Brno, Faculty of AgriSciences, Dept. of chemistry and biochemistry, Brno

³ Brno University of Technology, CEITEC – Central European Institute of Technology, Preparation and characterization of nanostructures, Brno

⁴ Brno University of Technology, Faculty of chemistry, Materials Research Centre, Brno

Veronika.Grezlova@ceitec.vutbr.cz

Calcium phosphate (CaP) ceramics, like as hydroxyapatite and tricalcium phosphate (TCP) are very similar as the inorganic component of natural bone tissue with extraordinary biological compatibility. Synthetic bone cements are used in reconstruction and repair surgery. However,



infection around bone implants (osteomyelitis) is the main problem of modern reconstructive surgery. We tried polymer-calcium phosphate cement (pCPC) modified by selenium nanoparticles (SeNPs). Selenium is also a biogenic element and exhibits antibacterial properties. As a result, SeNPs improved injectability of bone cement and increased setting reaction rate with the positive effect on cement mechanical properties. Addition of SeNPs into pCPC made the material more thixotropic thus improving the injectability and flowability of the material important for mini-invasive surgery (Figure 1). Moreover, SeNPs accelerated the self-setting pCPC reaction as proved by XRD analysis and affected positively the mechanical strength of the bone filler samples. Morphology showed transformation of amorphous TCP to flower-like crystals. Distribution of SeNPs in pCPC was evaluated by secondary ion mass spectrometry imaging.

Prepared antibacterial cement were very effective on a gram-positive bacteria proved by disc diffusion method on *Staphylococcus aureus* and even methicillin resistant *Staphylococcus aureus* bacterial strains. Due to the positive effect of SeNPs on rheological, mechanical and antibacterial properties, the novel polymer-phosphate bone cement can be possibly applied in mini-invasive surgery as bone filler for the treatment of osteomyelitis. However, we would like to incorporate antibiotics into the bone filler and compare antibacterial efficiency with those having SeNPs on both G+ and G- strains.

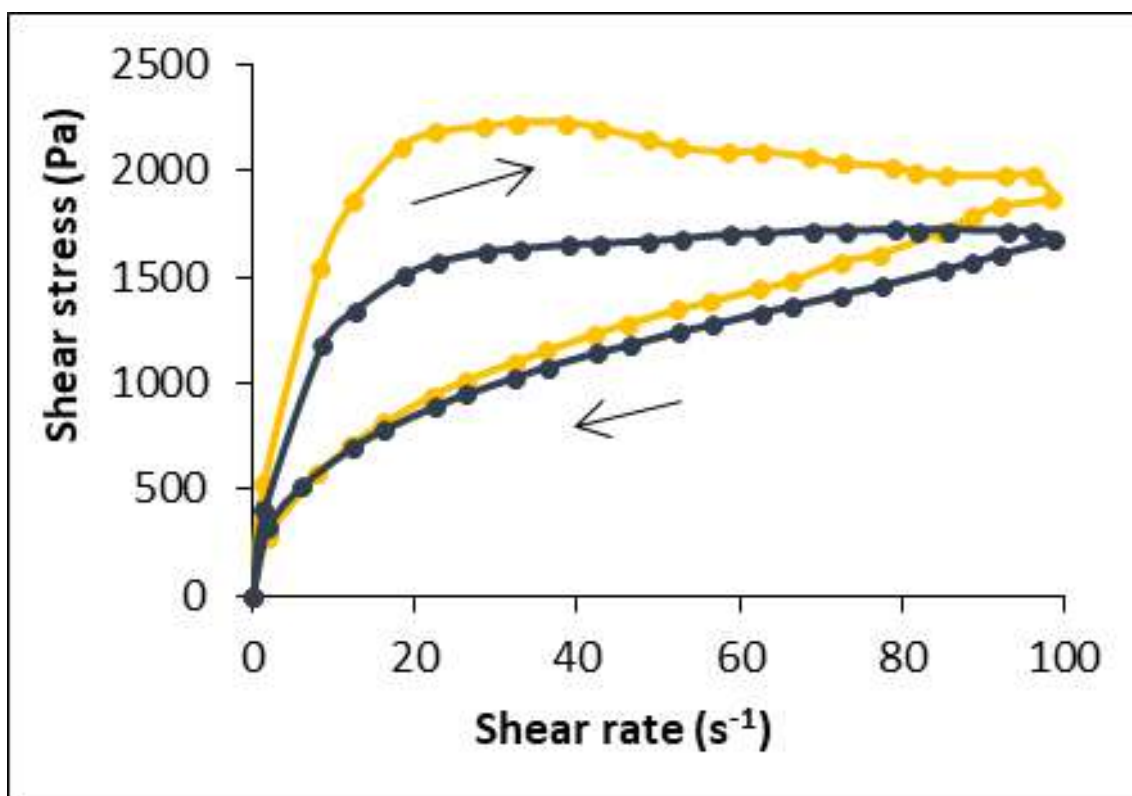


Fig. 1 Thixotropy of original pCPC (black) and SeNPs-modified pCPC (yellow) measured at 23°C by steady-state method using rheometer (AR-G2 TA instrument).

This work was supported by the CEITEC 2020 (LQ1601) with financial support from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic under the National Sustainability Programme II and by the Ministry of Health under the project no. NV18-05-00379.

**úterý 19:50-21:00****Tomáš Horažďovský¹, Petr Vlčák¹, Zdeněk Tolde², Radka Vrbová³
a Lucie Himmlová³****Povrchové modifikace titanu iontovým svazkem pro využití v kloubních náhradách**¹ České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Ústav fyziky, Praha 6² České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Ústav materiálového inženýrství, Praha³ Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Stomatologická klinika 1. LF UK a VFN, PrahaTomas.Horazdovsky@fs.cvut.cz

Titan a jeho slitiny jsou perspektivními materiály v mnoha průmyslových oblastech. Díky výborné biokompatibilitě, relativně nízkému modulu pružnosti a dobré korozní odolnosti našli své široké uplatnění také v biomedicíně inženýrství. Jejich nevýhodou je však nižší odolnost proti otěru. Uvolněné titanové částice mohou v těle pacienta způsobit nežádoucí reakce imunitního systému, zvyšující riziko selhání implantátu, především pak u populace s diagnostikovanou polyvalentní alergií, astmatem, autoimunitami nebo prokázanou hypersenzitivitou na kovy. Modifikace povrchu prostřednictvím dopování vhodným prvkem vytvoří v povrchu bariérovou vrstvu integrovanou v titanové matici. Vytvořené sloučeniny mění vlastnosti povrchu a mohou zcela potlačit nežádoucí vlastnosti titanu. Příspěvek prezentuje fyzikální a užité vlastnosti modifikovaného titanu dusíkovým iontovým svazkem pro potenciální využití v kloubních náhradách.

úterý 19:50-21:00**Ivan Jirka¹, Ivana Kopová² a Lucie Bačáková²****Cytokompatibilita silikalitových povlaků na povrchu kovových materiálů**¹ Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského, AV ČR, v.v.i., Praha² Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., PrahaIvan.Jirka@h-inst.cas.cz

Silikalitové povlaky (**SP**) na povrchu oceli nebo slitiny TiAl6V4 zvyšují jejich cytocompatibilitu a jsou tak perspektivní při vývoji nových materiálů vhodných jako náhrada kostí. Cytocompatibilitu **SP** lze ovlivnit volbou podmínek jejich syntézy a post-syntetického opracování. Podmínkami syntézy **SP**, které vedou k vyšší mikroporositě vnějšího povrchu povlaku, lze cytocompatibilitu povlaku zvýšit^{1,2}. Ke zvýšení cytocompatibility **SP** dochází rovněž jeho post-syntetickou nízkoteplotní termickou kalcinací (300°C)³. Vysokoteplotní post-syntetická kalcinace **SP** (500°C) však cytocompatibilitu snižuje⁴. V tomto příspěvku shrnujeme výsledky studia příčin tohoto efektu. Diskutujeme možné vlivy (i) vzniku extra-celulárních a intra-celulárních reaktivních kyslíkových specií (Reactive Oxygen Species—ROS), (ii) vzniku sub-nanometrové porosity a (iii) genotoxicity vnějšího povrchu **SP**.



1. Ivan Jirka, Marta Vandrovcová, Jan Plšek, Lucie Bačáková, The interaction of human osteoblast-like Saos-2 cells with stainless steel and Si(100) coated by silicalite-1 films, **Acta Polytechnica CTU Proceedings 8**:1–4, 2017.
2. Ivan Jirka, Marta Vandrovcová, Jan Plšek, Milan Bouša, Lucie Bačáková, Interaction of silicalite-1 film with human osteoblast-like Saos-2 cells: The role of micro-morphology, **Materials Letters 190**: 229-231 (2017).
3. Ivan Jirka, Marta Vandrovcová, Jan Plšek, Milan Bouša, Libor Brabec, Helena Dragounová, Lucie Bačáková, Interaction of human osteoblast-like Saos-2 cells with stainless steel coated by silicalite-1 films, **Materials Science and Engineering C 76**: 775 – 781 (2017).
4. Ivan Jirka, Pavel Kubát, Ivana Kopová, Edyta Tabor, Lucie Bačáková, Milan Bouša, Petr Sajdl, Influence of Carbonaceous Residua on the Properties of Heat Treated Silicalite-1 Film. Calcined silicalite-1 film as a prospective prosthetic material, **Materials Science and Engineering C**, zasláno do tisku (2018).

Tato práce byla podpořena Grantovou agenturou České republiky (grant číslo. GA16-02681S).

úterý 19:50-21:00

**Štefan Juhás¹, Petra Šmatlíková^{1,2}, Jana Juhásová¹, Tomáš Suchý^{3,4},
Marie Hubálek Kalbáčová^{5,6}, Zdenka Ellederová¹, Jan Motlík¹ a Jiří Klíma¹**

Adipogenní diferenciacie mezenchymálních kmenových buněk s mutovaným huntingtinem

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

² Katedra Buněčné Biologie, Přírodovědecká Fakulta UK v Praze, Praha

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

⁴ Fakulta Strojní, České Vysoké Učení Technické v Praze, Praha

⁵ Lékařská fakulta v Plzni, Biomedicínské centrum, Plzeň

⁶ Ústav patologické fyziologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze, Praha

juhas@iapg.cas.cz

Lidský mutovaný huntingtin, příčina smrtelné neurodegenerativní Huntingtonovy nemoci, negativně ovlivňuje buněčné procesy ve všech buňkách lidského organismu. V roce 2009 jsme v Ústavu Živočišné Fyziologie a Genetiky AV ČR vytvořili transgenní model Huntingtonovy nemoci u miniprasat. Tato miniprasata expresují ve všech svých buňkách lidský mutovaný huntingtin a proto jsou vhodným modelem pro studium jeho patologického vlivu. Cílem naší studie byla charakterizace povrchových CD markerů mezenchymálních kmenových buněk (MSC) izolovaných z kostní dřeni transgenních a netransgenních miniprasat a následně kvantifikace adipogenní diferenciacie těchto MSC. Výsledky experimentů poukazují na negativní efekt lidského mutovaného huntingtinu na proces adipogeneze v *in vitro* podmínkách.

Poděkování: Projekt NV15-25813A (AZV) - Vývoj a komplexní preklinické testování nových kompozitních materiálů pro kostní chirurgii, CHDI Foundation (A-11609, A-12913), projekt Univerzity Karlovy - PROGRES Q26, Národní program udržitelnosti I – projekt LO1609, LO1503 (MŠMT) a Institucionální podpora RVO: 67985904.

**úterý 19:50-21:00****Jana Juhásová a Štefan Juhás****Miniaturní prase – preklinické studie**

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

juhasova@iapg.cas.cz

V současné době představuje miniaturní prase z ekonomického a etického hlediska pro biomedicínský výzkum jedinečný velký zvířecí model. Podobně jako člověk, prase patří mezi všežravce, a jeho gastrointestinální trakt, kůže, nervový systém a smyslové orgány vykazují mnohé fyziologické a anatomické podobnosti s lidmi. Tento fakt umožňuje u miniaturních prasat simulovat rozličné fyziologické nebo patologické procesy probíhající v lidském organismu. V roce 2009 jsme na půdě Ústavu Živočišné Fyziologie a Genetiky AV ČR, v.v.i. vytvořili transgenní model Huntingtonovy nemoci, který byl a je úspěšně využíván pro preklinické testování genové terapie. Pokroky molekulární biologie a genového inženýrství umožnili vytvoření tzv. *knock-in* modelů nemocí u prasat (miniaturních prasat) s přesně cílenou mutací [1]. Centrum PIGMOD v Liběchově disponuje chovným a experimentálním stádem transgenních (Huntingtonova nemoc – transgen vs. *knock-in*) a netransgenních (bílá a melanomová MeLiM linie) miniprasat a moderně vybavenými laboratořemi a operačními sály pro provádění preklinických experimentů.

[1] Perleberg C, Kind A, Schnieke A. Genetically engineered pigs as models for human disease. *Dis Model Mech.* 2018 Jan 22;11(1). pii: dmm030783. doi: 10.1242/dmm.030783.

Poděkování: Projekt NV15-25813A (AZV) - Vývoj a komplexní preklinické testování nových kompozitních materiálů pro kostní chirurgii, Projekt NV16-27653A (AZV) - Prevence vzniku jícnových stenóz po endoskopické resekci nebo disekci časných neoplazií jícnu - experimentální studie, Projekt NV16-31806A (AZV) - Nové metody in vivo monitorace a ošetření dehiscence střevní anastomózy na experimentálním modelu, Sponsored Research Agreement No: #101103656 – S9001940, Národní program udržitelnosti I – projekt LO1609 (MŠMT) a Institucionální podpora RVO: 67985904.

úterý 19:50-21:00**Jan Koutecký¹, Lukáš Horný², Leopold Pleva³ a Alexandr Rypí⁴****Vývoj nové generace hřebů pro osteosyntézu dlouhých kostí dolní končetiny FV30348**

¹ MEDIN, a.s., Nové Město na Moravě

² ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Praha

³ Fakultní nemocnice Ostrava, Ostrava Poruba

⁴ Nemocnice České Budějovice, a.s., České Budějovice

Jan.Koutecky@medin.cz

Projekt se zabývá průmyslovým výzkumem a experimentálním vývojem hřbové osteosyntézy dlouhých kostí dolní končetiny s řešením extraartikulárních zlomenin proximální tibie. Interdisciplinární vývoj v projektu je členěn do dvou směrů: vývoj anterográdních hřebů a vývoj



retrográdních hřebů. V rámci letošního roku se řešitelé zaměřují na implantát z anterográdního směru, na vyvrtávací instrumentárium a suprapatelární přístup. Důraz je při vývoji kladen na aspekt miniinvazivity operace, rychlejší léčbu, nižší riziko komplikací, rehabilitace a včasný návrat do běžného života.



Obr. 1 Tibiální hřeb firmy Medin a.s.

Projekt „FV30348 - Vývoj nové generace hřebů pro osteosyntézu dlouhých kostí dolní končetiny“ je realizován za finanční podpory z prostředků státního rozpočtu prostřednictvím Ministerstva průmyslu a obchodu v programu TRIO.

úterý 19:50-21:00

Jakub Kronek a Josef Koláčný

**Už máš na prstech varhánky? Tak už vylez z té vany....
aneb od adheze a tření kůže k ergonomii**

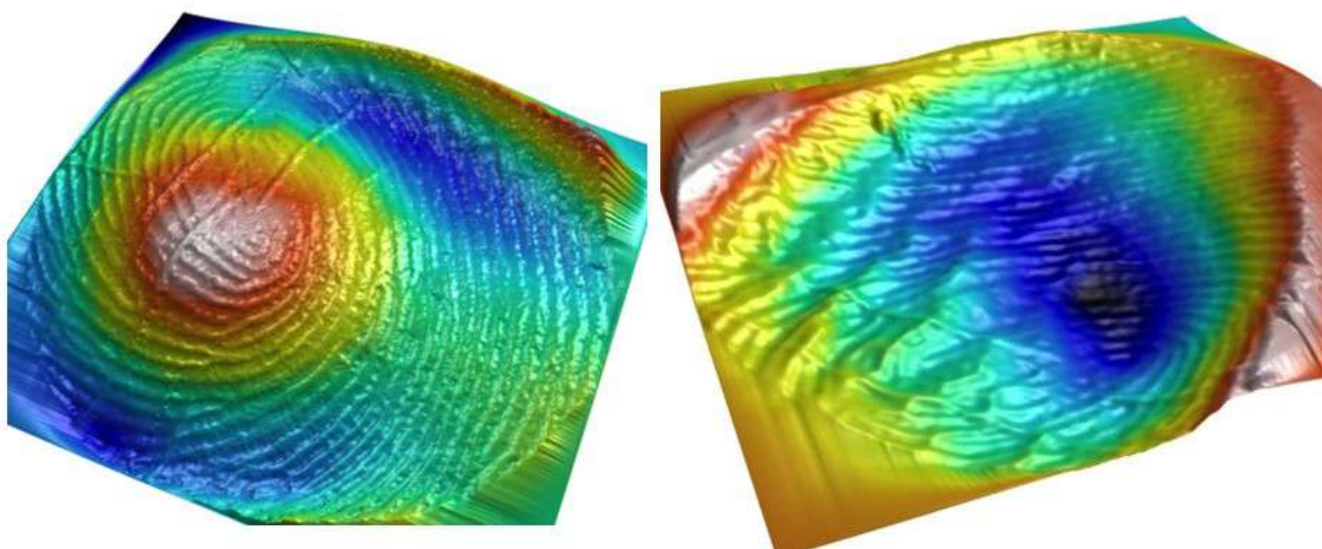
ČVUT v Praze, Fakulta strojní, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Praha

jakub.kronek@cvut.cz

Všichni známe efekt zvrásnění (zvarhánkovatění) polštářků prstů způsobený déle trvajícím kontaktem s vodou (anglicky water-induced finger wrinkles). Smysl této reakce těla na vodu zatím však není věrohodně vysvětlený. Před pěti lety se rozhořel spor mezi vědeckými týmy z Velké Británie a Německa, kdy prvně zmiňovaní publikovali studii, jež měla prokázat pozitivní vliv varhánků na schopnost uchopovat a manipulovat s mokřými předměty. Tato teze se zdála být logická a provedený experiment ji potvrzoval. O rok později však přišli němečtí vědci s podobnou



studií, která takovýto vliv varhánků zamítá a nepřímo obvinili britské kolegy z toho, že jejich subjekty byly přehnaně motivovaní k tomu, aby experiment vyšel tak, jak si představovali. Provedli jsme proto vlastní objektivní experiment, kde jsme pomocí dvouosého silového snímače porovnávali vliv varhánků na součinitel tření (poměr normálové a smykové síly) při tření prstu o dřevěnou/kamennou deskou za sucha a za mokra s různě velkým přtlakem a smykovou rychlostí. Kromě toho, že varhánky výrazně zhoršují tření (snižují součinitel tření) se suchými povrchy, nepozorovali jsme statisticky významný vliv na tření s mokřými povrchy. Jestli varhánky mají být jakousi evoluční výhodou, jejich smyslem pravděpodobně není zvýšení tření nebo adheze kůže s mokřými předměty, ať už formou lepšího odvodu tekutiny (efekt dezénu u pneumatik), změnou drsnosti (R_a , R_z , S_a ,...) kůže, změnou viskoelastických vlastností kůže, nebo změnou velikosti kontaktní plochy. Pojdme využít letošního setkání na Herbertově a s menší modifikací zopakovat experiment britských vědců a jednou pro vždy rozhodnout o vlivu varhánků na schopnost manipulace s mokřými předměty. Detaily budou vysvětleny během konference.



Obr. 1 3D skeny obtisků prstu. Vlevo bez varhánků, vpravo s varhánky

úterý 19:50-21:00

Ján Kužma, Katarína Mendová, Lukáš Horný a Jakub Kronek
Možnosti zvýšení poddajnosti cévních náhrad pomocí podélného předpětí

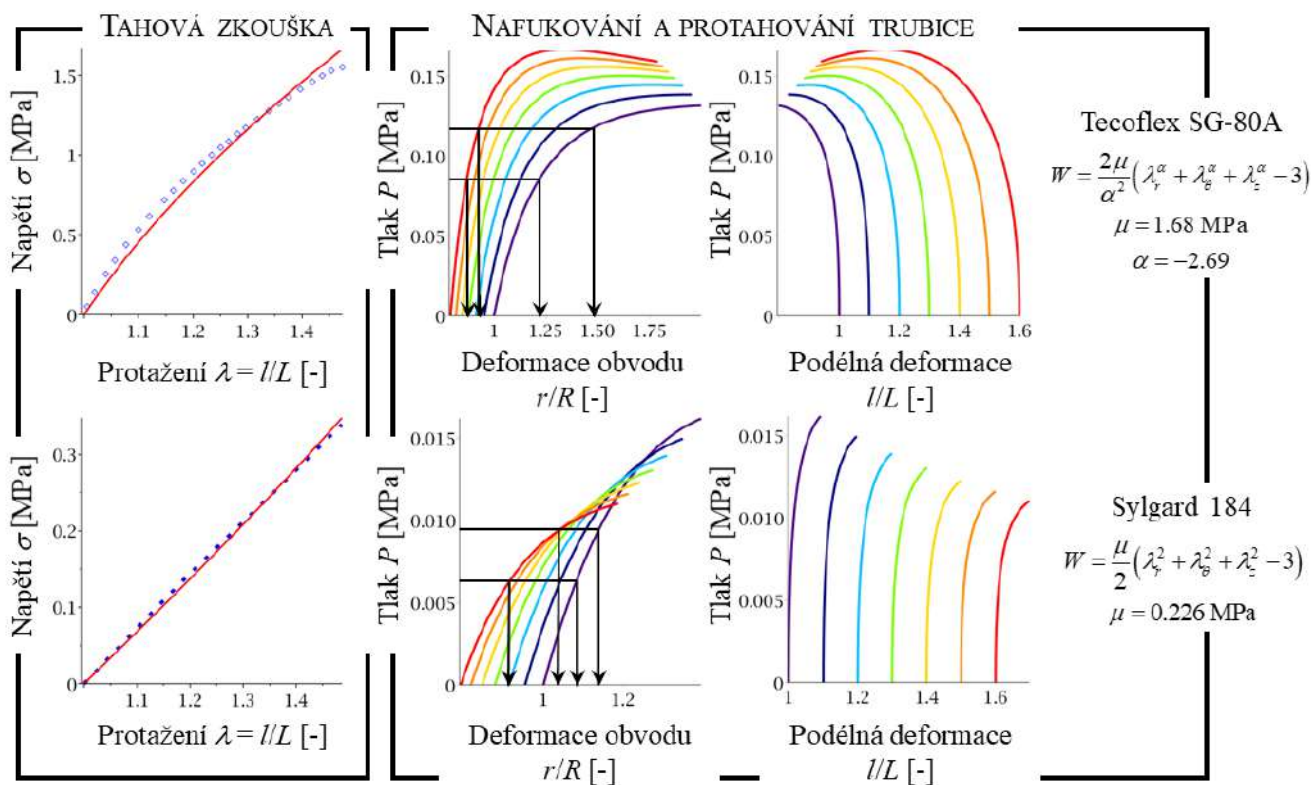
České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní, Praha

jan.kuzma@fs.cvut.cz

Je známo, že lidské tepny, zejména ty s podstatným podílem elastických membrán ve své stěně jako jsou aorta, krční tepny, kyčelní, stehenní anebo třeba podkolenní, jsou ve svém pracovním stavu *in vivo* podélně předepjaty (Horný a kol., 2017). Hodnotu předpětí *in situ* můžeme zjistit například při pitvě, když na tepně vytvoříme značky a změříme jejich vzdálenost před vyjmutím a po něm. Jako podélný streč (protažení nebo též předepnutí) definujeme podíl těchto hodnot. Z biomechanických výpočtových simulací a experimentů vyplývá, že toto předpětí



má významnou fyziologickou funkci. U zdravé tepny vede k tomu, že fyziologický tlakový puls přenáší ve stavu, kdy (1) se již podélně téměř nedeformuje a (2) kdy, jak ilustrujeme i níže, je ve skutečnosti obvodově poddajnější (Horný a kol., 2014; Horný a Netušil 2016). To znamená, že daný přírůstek tlaku ΔP deformuje tepnu do vyššího ΔV , tj. při stejném tlakovém pulsu tepna více zvětší svůj objem, než kdyby nebyla předepjatá.



Obrázek 1. Panely vlevo: záznamy tahových zkoušek se vzorky Sylgardu 184 (horní) a Tecoflexu SG-80A (dolní). Hyperelastické materiálové modely použité v regresní analýze (spojitá červená křivka) jsou číselně charakterizovány parametry uvedenými zcela vpravo. Panely vpravo a uprostřed: výsledky simulace nafukování axiálně předepjatých tenkých trubíc. Barvy křivek odpovídají počátečnímu předpětí $\lambda_z = 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5$ a 1.6 . Všimněme si, že u Sylgardu 184 např. červená křivka $P - r/R$ (tj. pro $\lambda_z = 1.6$) pro vymezený interval ΔP dává delší interval $\Delta(r/R)$ než fialová křivka, která odpovídá axiálně nepředepjaté trubici ($\lambda_z = 1$). Naopak pro Tecoflex prodloužení intervalu $\Delta(r/R)$ s nárůstem počátečního předpětí λ_z nepozorujeme.

Přestože je skutečnost, že jsou tepny předepjaty, známa, není velké povědomí o tom, jak mechanicky výhodný tento fenomén je. Navíc tento fenomén není všeobecně znám ani v průmyslu, kde by se dal využít při optimalizované konstrukci např. objemových čerpadel ve tvaru válcových trubíc. Podle názoru autorů by mohlo být zajímavé zvážit i důsledky aplikace podélného předpětí v biomedicínské technice a zdravotnictví, například při implantaci cévních náhrad. Stále totiž hledáme optimální náhradu pro tepny středního kalibru (např. povrchově uložené věnčité tepny). Klademe si tedy otázku, jsou současné cévní náhrady vyráběny z materiálů, které by pomocí podélného předepnutí bylo možno učinit poddajnějšími v obvodovém směru? Čímž prostě rozvíjíme naše výzkumné snažení zaměřené na obecné zjištění, při jakých materiálových vlastnostech lze zvýšení poddajnosti předepnutím dosáhnout.

Za tímto účelem jsme z komerčně dostupného silikonového elastomeru Sylgard 184 připravili proužky pro tahovou zkoušku. V jednoosé tahové zkoušce jsme zjistili mechanické chování, které



jsme v regresní analýze charakterizovali neo-hookeovským modelem hustoty deformační energie (materiál je tedy modelován jako nelineárně pružný). Neo-hookeovský model materiálového chování jsme pak použili v analytické výpočetní simulaci nafukování a protahování tenkostěnné trubice vyrobené ze Sylgardu 184, abychom zjistili, jaká bude její inflační charakteristika při podélném předpětí. Ve výpočtu jsme kromě trubice ze Sylgard 184 uvažovali i trubici vyrobenou z Tecoflex SG-80A, což je obchodní název pro termoplastický polyuretan používaný k výrobě zdravotnických prostředků jako jsou např. cévní náhrady. Materiálová data pro Tecoflex SG-80A získaná při jednoosé tahové zkoušce jsme přejali z Castillo-Cruz a kol. (2018). Data jsme podrobili regresní analýze, ve které jsme odhadli parametry funkce hustoty deformační energie použité ve formě Ogdenova modelu.

Výsledky předpovědí výpočtového modelu pro nafukování a protahování tenkostěnné trubice Sylgard 184 a Tecoflex SG-80A jsou spolu s daty z jednoosé tahové zkoušky na obrázku 1. Z výsledků je zřejmé, že podélné předpětí má pro nafukování trubice Sylgard 184 zcela jiné důsledky než pro nafukování trubice Tecoflex SG-80A. Zatímco u Sylgardu pozorujeme pro zvolené ΔP (vyznačený interval na svislé ose) nárůst variace obvodové deformace (tj. $\Delta(r/R)$) s nárůstem podélného předpětí λ_z – což je důsledek zvýšení poddajnosti trubice –, u trubice Tecoflex je to přesně naopak. S podélným předpětím odezva tuhne, což znamená, že pro zvolené ΔP se variace obvodové deformace snižuje.

Výsledky nám dokládají, že (1) vliv podélného předepnutí na inflační odezvu válcové trubice je závislý na materiálových vlastnostech a že (2) pro trubice vyrobené ze silikonového polymeru Sylgard má smysl uvažovat o podélném předepnutí jako konstrukčním zásahu umožňujícím snazší nafukování trubice (cévní náhrady), zatímco u trubice vyrobené termoplastického polyuretanu o takovém konstrukčním řešení smysl uvažovat nemá. Domníváme se, že výsledky dokumentují, že v budoucnu by si podélné předpětí elastomerních trubic zasloužilo větší pozornost i s ohledem na hledání praktických aplikací tohoto fenoménu.

Literatura

Castillo-Cruz, O., Pérez-Aranda, C., Gamboa, F., Cauch-Rodríguez, J. V., Mantovani, D., & Avilés, F. (2018). Prediction of circumferential compliance and burst strength of polymeric vascular grafts. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 79, 332-340.

Horný, L., Netušil, M., & Voňavková, T. (2014). Axial prestretch and circumferential distensibility in biomechanics of abdominal aorta. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 13(4), 783-799.

Horný, L., & Netušil, M. (2016). How does axial prestretching change the mechanical response of nonlinearly elastic incompressible thin-walled tubes. *International Journal of Mechanical Sciences*, 106, 95-106.

Horný, L., Adámek, T., & Kulvajtová, M. (2017). A comparison of age-related changes in axial prestretch in human carotid arteries and in human abdominal aorta. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 16(1), 375-383.

Poděkování. Tato publikace vznikla v rámci řešení grantového úkolu GA18-26041S Vliv podélného předepnutí na mechanickou odezvu nelineárních elastických a viskoelastických trubic financovaného Grantovou agenturou České republiky.

**úterý 19:50-21:00****Jan Mikšovský^{1,2}, Miroslav Jelínek^{1,2}, Petr Písařík^{1,2}, Tomáš Kocourek^{1,2},
Jan Remsa^{2,3}, Karel Jurek² a Jan Zemek²****Mechanické chování tenkých vrstev DLC a DLC/Ti připravených
laserovou technologií doplněné o iontové bombardování**

¹ České vysoké učení technické v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství, Katedra přírodovědných oborů, Kladno

² Fyzikální ústav AV ČR, Praha

³ České vysoké učení technické v Praze, Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská, Katedra fyzikální elektroniky, Praha

jan.miksovsky@fbmi.cvut.cz

V rámci výzkumu tenkých vrstev diamantu podobného uhlíku (DLC) připravovaných pomocí hybridní laserové technologie, jsme se zaměřili na modifikaci povrchu pomocí iontového bombardování. Testovali jsme bombardování ionty dusíku N⁺ a v případě vrstev dopovaných titanem také na ionty Ar⁺. Testované energie iontů byly 0; 30; 40; 50 a 70 eV. Pro přípravu vrstev DLC bylo použito kombinace pulsní laserové depozice - PLD (excimerový laser, KrF, $\lambda = 248$ nm, hustota energie laseru byla 10 J/cm²) s iontovým zdrojem (proud výboje 0,15 A). Byly otestovány dvě vzdálenosti iontového děla od vzorku (130 a 260) mm a tři různé celkové tlaky v komoře 0,15; 0,25 a 0,4 Pa. Pro vytvoření vrstev DLC/Ti bylo použito hybridní technologie založené na kombinaci PLD s magnetronovým naprašováním. Výkon magnetronu byl 40 W resp. 100 W. Podkladovým materiálem byl křemíkový wafer Si(111) a titanová slitina Ti6Al4V. Dosažené výsledky jsou srovnány s dřívějšími čistými vrstvami DLC, vrstvami bombardovanými jinými ionty, Ti/DLC vrstvami a základním materiálem Ti6Al4V. Vzorky vrstev byly podrobeny analýzám složení a vazeb WDX, XPS. Byla studována morfologie povrchu mechanickou profilometrií a pomocí mikroskopie atomárních sil. Hlavní zaměření bylo na sledování změn v mechanických vlastnostech a to adhezi, opotřebení a tření vrstev.

úterý 19:50-21:00**Petr Písařík^{1,2}, Jan Remsa^{1,2} a Jan Mikšovský^{1,2}****Biokompatibilní uhlíkové nanovrstvy pro pokrytí čoček**

¹ České vysoké učení technické v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství, Katedra přírodovědných oborů, Kladno

² Fyzikální ústav AV ČR v.v.i., Oddělení optických a biofyzikálních systémů, Praha

petr.pisarik@fbmi.cvut.cz

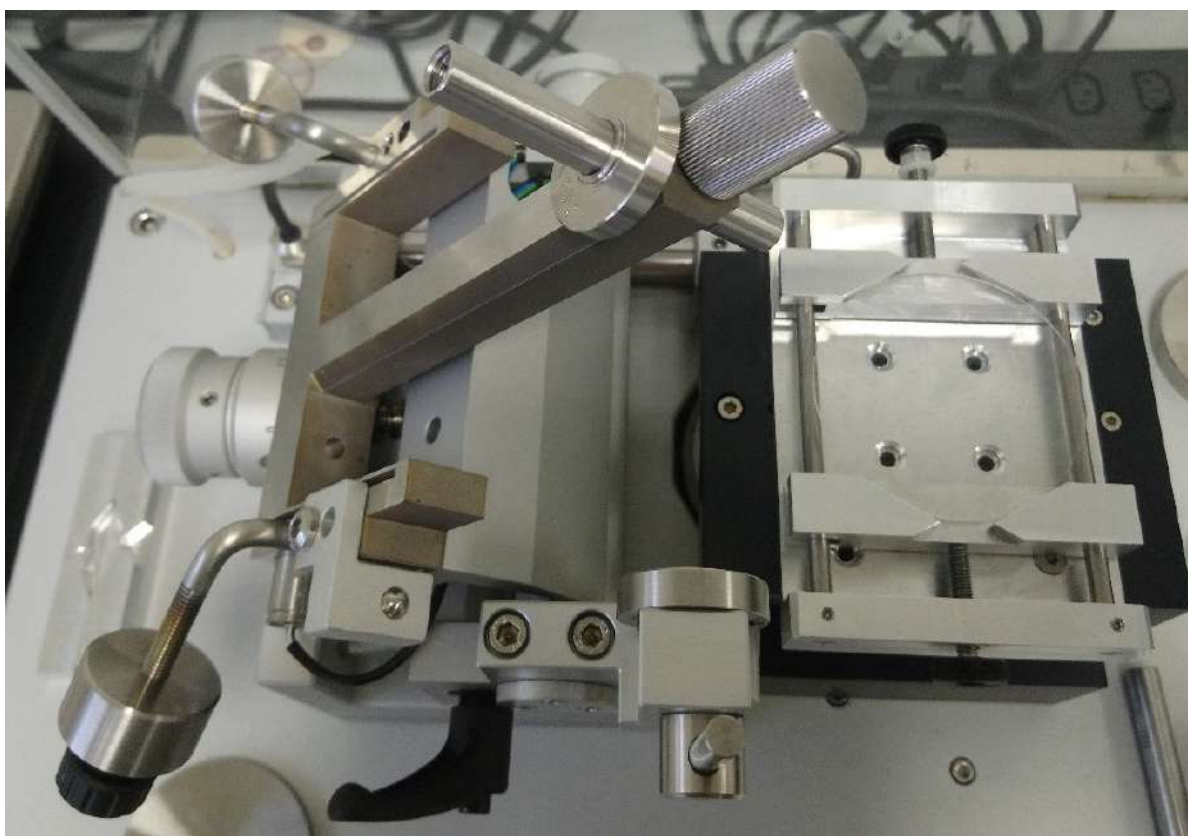
Nitrooční čočka (IOL) a kontaktní čočky jsou tzv. „cizí těleso v oku“, a proto je na ně kladeno z hlediska biologické snášenlivosti neboli biokompatibility mnoho požadavků. Biokompatibilitu určují biofyzikální a chemické vlastnosti materiálu. Je to jedna z nejdůležitějších vlastností čočky, z důvodu možného vzniku patologických změn po aplikaci.

Materiály použité na čočky můžeme rozdělit na anorganické látky (sklo) a organické látky, které tvoří převážně polymery - jako například polymethylmetakrylát (PMMA), akryláty, silikony a mnohé další.



I přes jejich biokompatibilní vlastnosti tyto materiály nejsou ideální. Jeden ze způsobů jak čočky vylepšit je potáhnout základní materiál čočky tenkou vrstvou materiálu, které má lepší biokompatibilní i jiné vlastnosti. Mezi dnes zkoumané materiály patří diamantu podobný uhlík (DLC). DLC vrstvy jsou polovodiče s vysokou mechanickou tvrdostí, chemickou inertností, nízkým koeficientem tření, vysokou tepelnou vodivostí, a mají dobré elektrické a optické vlastnosti, dobrou biokompatibilitu a nejsou cytotoxické. A proto DLC může sloužit jako ochranná (otěruvzdorná) vrstva, antireflexní vrstva, vrstva proti UV záření, navíc lze použít příměs stříbra nebo křemíku pro vytvoření antibakteriálního efektu, který brání vzniku infekce a slouží i proti vzniku kalcifikace.

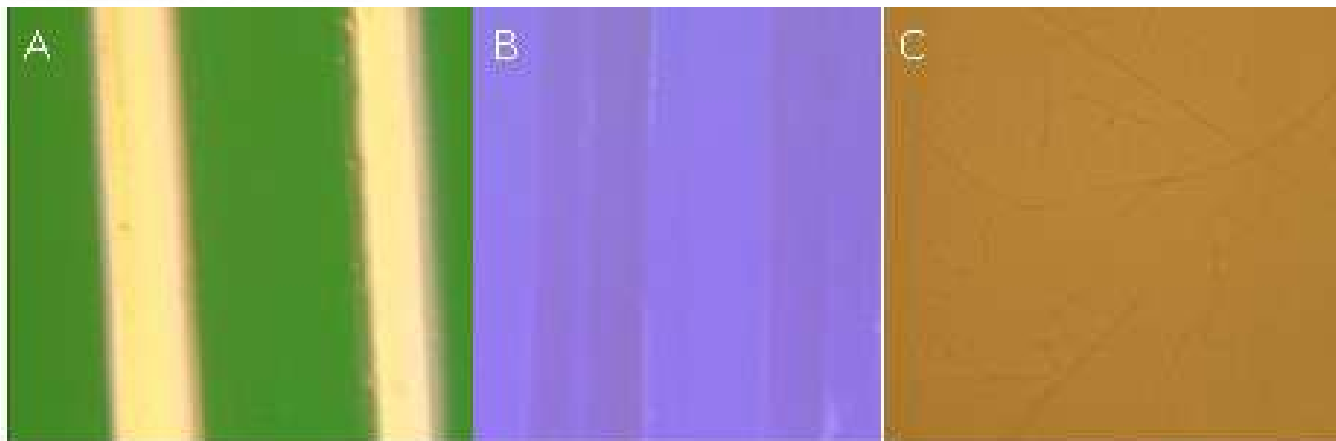
V tomto příspěvku se budu zabývat dnes používanými vrstvami na brýlových čočkách a jejich porovnání s vyrobenými vrstvami DLC. Zaměřím se na dva základní parametry transmisivitu (ochranu proti UV měřenou na UV-VIS vláknovém spektrometru USB2000+ od firmy Ocean optics) a opotřebení (otěruvzdornosti měřenou na tribometru od firmy Anton Paar s vyrobeným speciálním držákem čoček – Obrázek 1).



Obr. 1 Tribometr se speciálním držákem pro brýlové čočky.

Měření otěruvzdornosti prokázalo závislost odolnosti čočky na povrchové úpravě čočky. U tvrzených čoček a čoček s běžnou antireflexní úpravou bylo poškození znatelné téměř okamžitě (Obrázek 2a). U speciálních čoček byla pak odolnost proti poškození vyšší (Obrázek 2b). DLC vrstvy v porovnání se speciálními vrstvami měly velmi podobnou odolnost proti opotřebení nebo mírně vyšší, ale jejich nespornou výhodou byla lepší biokompatibilita (Obrázek 2c).

Měření propustnosti prokázalo silnou závislost transmisivity ve VIS a v UV oblasti na základním materiálu čočky. Povrchové úpravy pouze mírně ovlivňovaly oblast, kde čočka začala propouštět světlo. DLC vrstvy snížily značně propustnost samotné čočky v UV oblasti, ale i mírně ve viditelné oblasti.



Obr. 2 Ukázka opotřebení (A – tvrzená čočka, B – speciální čočka, C – DLC vrstva)

Další výzkum DLC vrstvy by tedy mohly do budoucna vést k výrobě nových odolných brýlových čoček a díky svým biokompatibilním vlastnostem i k použití na IOL a kontaktních čočkách, a tím posunout tento obor dopředu.

Poděkování: Tato práce byla podpořena grantem MŠMT číslo LO1409 a grantem Studentské grantové soutěže ČVUT číslo SGS17/156/OHK4/2T/17.

úterý 19:50-21:00

Michala Rampichová¹, Věra Lukášová^{1,2}, Matej Buzgo¹ a Eva Filová^{1,3}

Optimalizace formace osteoklastů z buněčné linie RAW 264.7 a jejich interakce s tkáňovými nosiči

¹ Akademie věd České republiky, Ústav experimentální medicíny, Praha

² Přírodovědecká fakulta UK, Katedra buněčné biologie, Praha

³ 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

michala.rampichova@iem.cas.cz

Tkáňové nosiče určené pro regeneraci kostní tkáně je třeba řádně otestovat. Před přistoupením k testování na zvířecích modelech je vhodné nosič co nejlépe otestovat in vitro. Snižuje se tak počet zvířat potřebných k in vivo testování. Při testování nosičů in vitro je třeba vzít v úvahu všechny vlastnosti a fungování kostní tkáně. Za fyziologických podmínek podléhá kost remodelaci, při které je kostní tkáň resorbovaná osteoklasty, které uvolňují místo pro syntézu nové tkáně, syntetizované osteoblasty. Z tohoto důvodu je vhodné testovat tkáňové nosiče pomocí kombinace obou těchto buněk. Osteoklasty jsou mnohoaderné buňky vznikající fúzí makrofágů za přítomnosti RANKL (angl. receptor activator of nuclear factor kappa B ligand) a M-CSF (angl. macrophage colony-stimulating factor).

V této studii jsme jako prekurzorové buňky pro osteoklasty použili linii RAW 264.7. Jedná se o linii myších makrofágů s periferní krve. Ke stimulaci jejich fúze do osteoklastů jsme použili kombinaci různých koncentrací RANKL a M-CSF a kultivačních protokolů. Formace osteoklastů byla ověřena pomocí detekce aktivity TRAP (tartrate-resistant alkaline phosphatase) a karbonické anhydrázy II (CA2). Sledovali jsme rovněž viabilitu a proliferaci buněk pomocí MTS testu a kvantifikace buněčné DNA.



V dalším kroku bude sledována interakce osteoklastů s různými buněčnými nosiči. Budou testovány buněčné nosiče, které jsme v minulosti úspěšně testovali v naší laboratoři pomocí diferencovaných MSC (mezenchymálních kmenových buněk) a dalších buněčných linií (MG-63, SaOS2). Interakce buněk s nosiči bude sledována pomocí konfokální mikroskopie.

Poděkování: Studie byla finančně podpořena z grantu Grantové agentury České republiky číslo 18-09306S a z grantu Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy České republiky číslo NPU I:LO1309.

úterý 19:50-21:00**Věra Sovková^{2,3,4}, Andrea Staffa¹ a Karolína Vocetková^{2,3,4}*****In vitro* stimulace proliferace mezenchymálních kmenových buněk na nanovláknenných nosičích funkcionalizovaných lipozomy s enkapsulovanými růstovými faktory**

¹ Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Brno

² Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i., Praha

³ Univerzitní centrum energeticky efektivních budov ČVUT v Praze, Buštěhrad

⁴ 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

vera.sovkova@iem.cas.cz

Cílem studie bylo vyvinout nanovláknenný nosič funkcionalizovaný bioaktivními látkami, který by mohl sloužit jako potenciální systém řízeného uvolňování látek v aplikacích tkáňového inženýrství. Byly připraveny tři koncentrace lipozomů s enkapsulovanými růstovými faktory (TGF- β , IGF, bFGF) pro funkcionalizaci nanovláken z poly- ϵ -kaprolaktonu připravených hladinovým elektrostatickým zvlákněním. Čtyřnásobně zředěné lipozomy s růstovými faktory vykazovaly největší účinek na metabolickou aktivitu a proliferaci lidských mezenchymálních kmenových buněk v důsledku prodlouženého uvolňování růstových faktorů. Tento kompozitní systém by mohl urychlit proces hojení a regenerace v místě defektu.

Tato práce byla podpořena následujícími granty: AZV grant č.17-32285A, NPU I:LO1508, NPU I:LO1309 CZ.2.16/3.1.00/21528, GAUK č. 512216

úterý 19:50-21:00**Jana Štěpanovská^{1,2}, Roman Matějka^{1,2}, Jozef Rosina¹
a Lucie Bačáková²****Dynamická kultivace kmenových buněk na titanové implantáty pro zvýšení osteointegrace**

¹ ČVUT v Praze, Fakulta Biomedicínského inženýrství, Katedra biomedicínské techniky, Kladno

² Odd. biomateriálů a tkáňového inženýrství, Fyziologický ústav, Akademie věd ČR, v.v.i., Praha

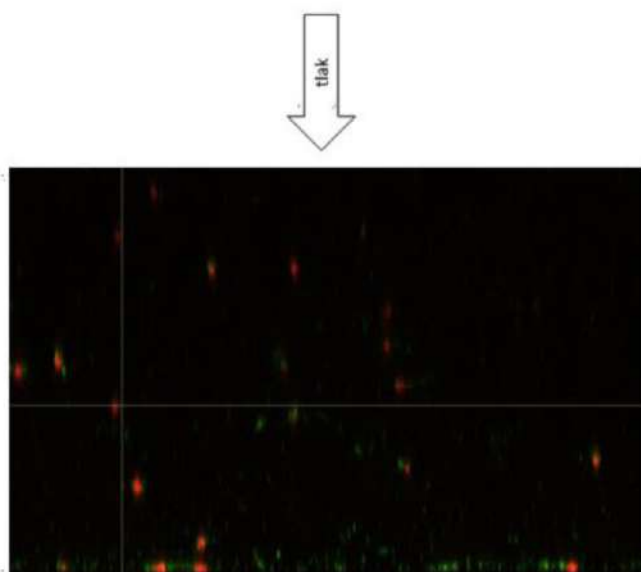
jana.stepanovska@fbmi.cvut.cz

Jednou z metod používaných při léčbě defektů kostní hmoty je nahrazení tkáně syntetickým implantátem, vyrobeným obvykle z kovu, keramiky nebo jejich kombinace. Po implantaci dochází k reakci organismu, která závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech materiálu, vyvolávajících



buněčnou odezvu a ovlivňujících tak adhezi buněk. Nezřídka dochází k odmítnutí a nevhodění implantátu, k vytvoření pojivové tkáně snižující pevnost materiálu ve tkáni apod. Vhodnou úpravou povrchu lze upravit rozhraní implantát – kost, což vede ke zvýšení osteointegrace, snížení doby hojení a umožnění předčasného namáhání implantátu. Další zvýšení biokompatibility lze docílit pokrytím implantátu autologními kmenovými buňkami pacienta a jejich diferenciací na osteoblasty před implantací do kostní tkáně pacienta. Cílem práce je kultivace kmenových buněk a jejich diferenciaci k osteoblastům na titanovém povrchu.

Diferenciaci kmenových buněk do osteoblastů je podpořena dynamickou kultivací buněk v bioreaktoru za působení tlakového namáhání. Primární markery diferenciaci do osteoblastů jsou u dynamické kultury detekovány již po třech dnech kultivace. Stimulací buněk v 3D gelech dochází k simulaci podmínek podobných v kostní tkáni a dochází k vytvoření vícevrstvé buněčné kultury. Pro zvýšení adheze buněk a gelu byl povrch substrátů oplazmován 20 minut v kyslíkové atmosféře. Fibrinové gely o koncentraci 5 mg fibrinu na ml gelu a tloušťce 1,5 mm simulovaly prostředí spongiózy kosti. Buňky byly kultivovány v diferenciacním osteogenním médiu DMEM. Tlaková zátěž měla sinusový průběh s amplitudou 16 kPa. Při tlakové zátěži došlo k orientaci buněk paralelně ke směru působící tlakové síly, což bylo patrné již třetí den kultivace, viz obr. 1. Již po 7 dnech kultivace na základě analýzy osteogenních markerů vykazovala dynamická kultivace lepší výsledky oproti statické.



Obr. 1 Ortogonální pohled na 3D kulturu po 70 hodinách zátěže. Šipka naznačuje směr tlakové zátěže. Jádra znázorněna červeně, cytoskelet zeleně.



Obr. 2 Systém pro dynamickou kultivaci s tlakovým namáháním

Práce byla podpořena grantem AZV 15-29153A Vývoj aortální chlopně na bázi perikardu pomocí primárních a kmenových buněk a mechanického zatěžování v bioreaktoru.

**Jana Urzová****Použití CT zobrazování pro vyhodnocování fotoablačních laser-tkáňových interakcí**

České vysoké učení technické v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství, Kladno

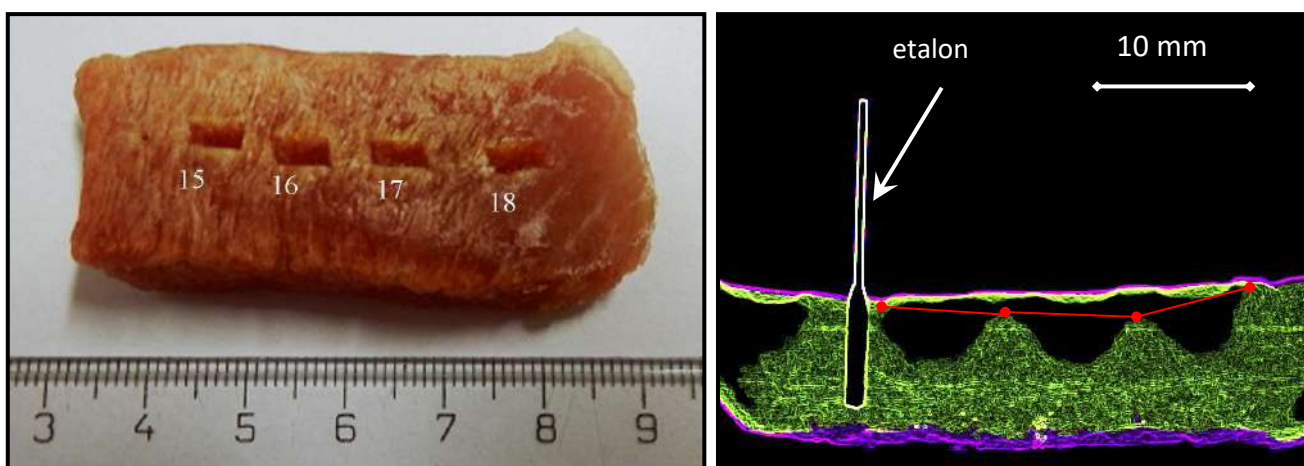
jana.urzova@fbmi.cvut.cz

Typ interakce laserového paprsku s tkáněmi závisí na parametrech laseru (vlnová délka, hustota energie, trvání pulsu) a parametrech cílové tkáně. Z biomedicínského hlediska jsou nejzajímavějšími fotoablační interakce, které účinně odstraňují cílovou tkáň přímo rozbitím molekulárních vazeb bez nadměrného tepelného zatížení okolí. Excimerové lasery pracující v pulsním režimu mají energii dostačující k rozbití vazeb. Pro analýzu profilu kráterů ablace a jejich hloubky byla vyvinuta a ověřena nová metoda využívající CT zobrazování.

Tloušťka materiálu extrahovaného jedním pulsem se nazývá ablační hloubka, její znalost je klíčová při plánování konkrétních lékařských postupů. Ablací práh je nejnižší hustota energie, při které dochází k ablaci. Tu lze určit na základě znalosti závislosti mezi ablační hloubkou a hustotou energie.

Ablací krátery byly vytvořeny pomocí pulzního excimerového KrF laser COMPLEX F 205 Pro, Lambda Physik, který generuje záření o vlnové délce 248 nm. Maximální energie jednoho pulsu je 700 mJ s trváním 25 ns, maximální opakovací frekvence je 50 Hz. Během našich experimentů byly použity hustoty energie od 760 do 2170 mJ · cm⁻² a různé počty pulsů (50 - 500). Při pokusech byly ozařovány tkáně domácího prasete (*lat. Suscrofa f. Domestica*) vzhledem k jejich podobnosti s lidskou tkání. Bylo použito několik různých druhů tkáně: tuk, kosterní a srdeční svalovina, játra a kost (žebra).

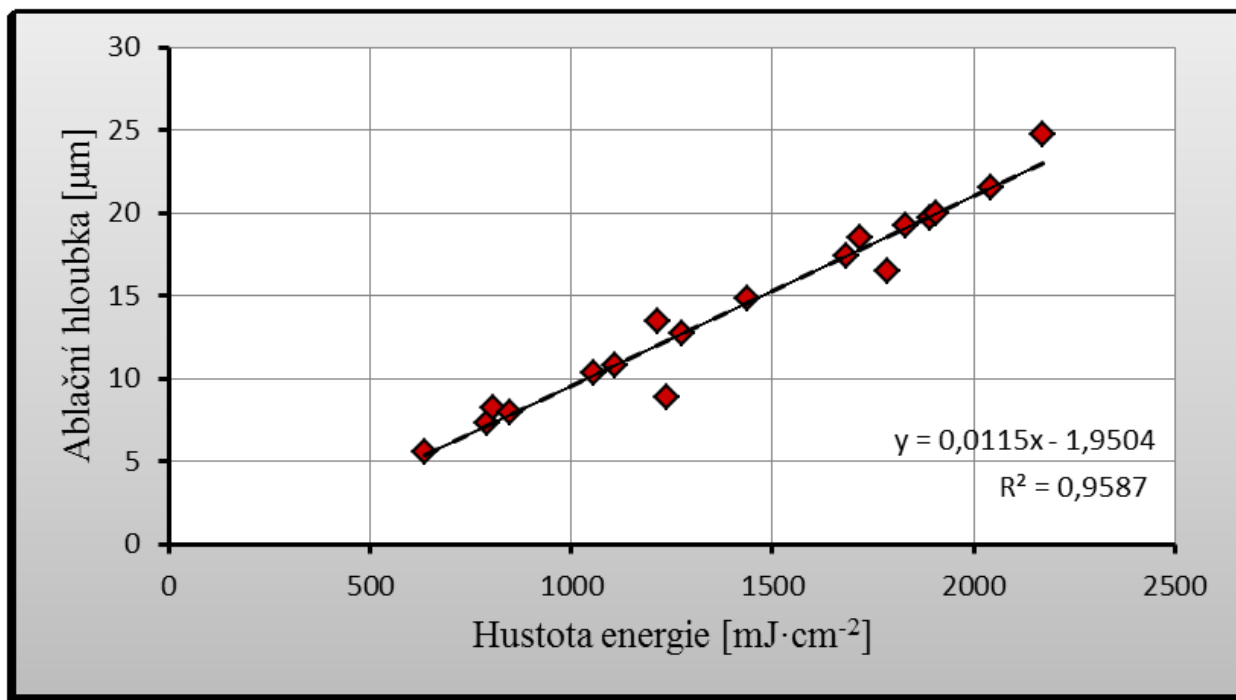
Pro vytvoření CT snímků byla použita rentgenová jednotka XR 4.0, PHYWE. Maximální urychlovací napětí rentgenové trubice lze nastavit na 35 kV a maximální anodový proud až na 1 mA. Rozdíl mezi absorbancí vzduchu a vzorku tkáně (tukové, svalové) je poměrně malý a okraj kráterového dna je obtížně rozpoznatelný. To lze vyřešit aplikací kontrastního činidla - roztoku jodidu draselného (KI). Přesná hloubka kráteru byla stanovena pomocí etalonu se známou délkou (Obr. 1).



Obr. 1 Ablací krátery ve vepřové kosterní svalovině (769 mJ·cm⁻², 5 Hz, 1600 - 2200 pulsů). Vzorek připravený pro vytvoření CT snímku (vlevo) a graficky upravený CT snímek téhož vzorku (vpravo).



Ablační hloubka závisí na hustotě energie přímo úměrně, jak je patrné z grafu (obr. 2). Průsečík regresní přímky s vodorovnou osou odpovídá hodnotě ablačního prahu. Měřili jsme hloubky ablace při různých hodnotách hustoty energie a stanovili jsme hodnotu ablačního prahu pro pět různých typů tkání. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1. Tyto hodnoty jsou ve velmi dobré shodě s minulými experimenty a publikovanými hodnotami.



Obr. 2 Závislost ablační hloubky na hustotě energie pro srdeční svalovinu, ablační práh 170 mJ·cm⁻²

Tab 1 Hodnoty experimentálně určených ablačních prahů pro vybrané typy tkání

Typ tkáně	Hodnota ablačního prahu [mJ·cm ⁻²]
Srdeční svalovina	170 ± 23
Bílá tuková tkáň	182 ± 29
Jaterní tkáň	191 ± 22
Kosterní svalovina	112 ± 15
Kost (žebra)	131 ± 17

Ráda bych poděkovala doc. J. Hozmanovi z FBMI ČVUT za možnost využití rentgenové jednotky a za pomoc při vytvoření snímků ablačních kráterů a dále pak Grantové komisi ČVUT za umožnění práce prostřednictvím grantu: SGS18 / 157 / OHK4 / 2T / 17.



úterý 19:50-21:00

Kristýna Valová¹, Lenka Michlovská¹, Klára Částková² a Lucy Vojtová¹**The effect of thermosensitive copolymer addition on rheological properties of calcium phosphates bone paste**

¹ Brno University of Technology, CEITEC – Central European Institute of Technology, Advanced polymers and composites, Brno

² Brno University of Technology, CEITEC – Central European Institute of Technology, Advanced Ceramic Materials, Brno

Kristyna.Valova@ceitec.vutbr.cz

Calcium phosphate cement (CPC) has been a subject of interest in bone tissue engineering for over 30 years. It is hydraulic cement composed of calcium orthophosphate, which forms a mouldable paste after mixing with the liquid phase. The paste is capable of self-setting in vivo at physiological conditions (ionic and enzymatic environment, 100% humidity and 37 °C). One of the main positive of CPC is its injectability, which predisposes the cement to application via mini-invasive surgical procedures. For this reason, they have a great potential in the field of orthopaedics, traumatology (fracture fixation) or dentistry. Each of these applications needs different requirements in particular for biomechanics. The advantage of CPC is the ability to tailor its properties (rheological, structural, mechanical or bioactive) to meet specific application. In order of mini-invasive surgery application, the bone cements need to exhibit the best rheological properties such as injectability, cohesion, or setting time. There are several ways to reach these features. One of the possibility is to modify the CPC by a thixotropic polymer affecting the above mentioned properties. The work was focused on comparison of rheological properties of commonly used water-based CPC with CPC modified by thixotropic thermosensitive copolymer using both dynamic and steady state rheological analysis. The great finding was that the thermosensitive copolymer significantly influenced thixotropic behaviour of the cement resulting in its very good injectability important for mini-invasive surgery. However, when water has been used instead of copolymer for CPC preparation, poor consistency of the paste was found after high shear stress applying, where the cement tended to form a very dense cluster. In comparison, cement containing polymer solution of the copolymer remained homogeneous throughout the shear rate range experiment (see Figure 1).

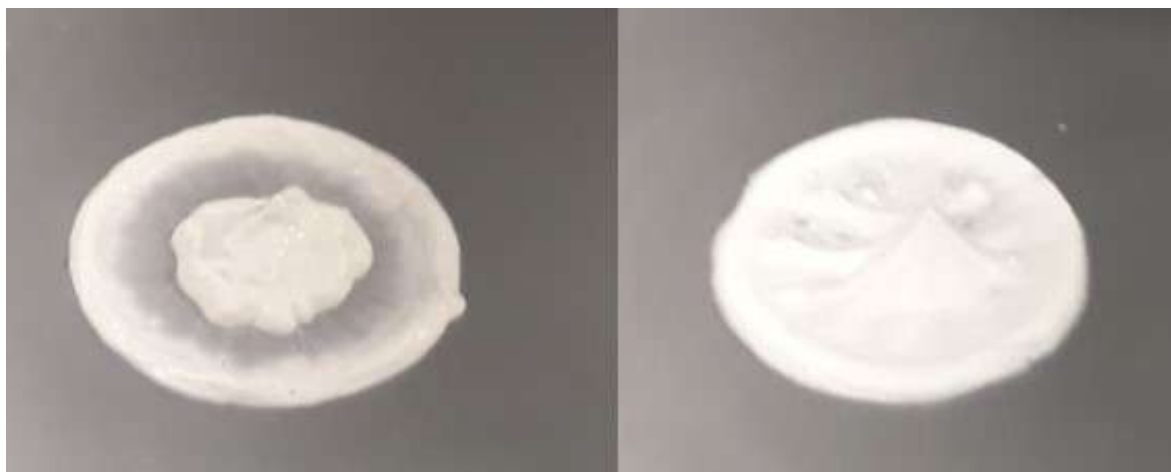


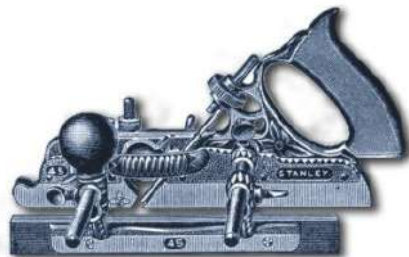
Figure 1: CPC samples after steady state rheological measurement. Water + CPC (left), polymer + CPC (right).



Moreover, thermosensitive copolymer improve CPC cohesion keeping the cement at the certain position after the CPC injection into the bone defect place at 37°C. The CPC self-setting process is therefore tuneable by copolymer concentration, affecting both starting setting time (processability) and setting speed. Based on the results, copolymer-modified CPC seems to be useful as injectable bone cements for mini-invasive surgery.

The only problem with rheological analysis was the sample dosing. This analysis requires the exact amount to be dosed at the same time, which means that the methodology requires very precise timing. It is also not easy to ensure that the exact quantity of sample is dosed so that there is no slight overflow around the rheometer's moving geometry. There are two ways to solve this pain. Either adjust the gap size when using a parallel plate geometry, or replace the geometry and use the cone plate type. The cone plate requires a larger amount of sample (better dosage), but the disadvantage is that it depends very much on the particle size of the used ceramics in the paste. We believe that we can manage this problem successfully in autumn. ☺

This work was supported by the CEITEC 2020 (LQ1601) with financial support from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic under the National Sustainability Programme II and by the Ministry of Health under the project no. NV18-05-00379.





ČESKÁ
SÍŤOVKA

ČESKÁ
SÍŤOVKA
JAKO SKVĚLÝ
FIREMNÍ DÁREK



www.ceskasisitovka.cz

**Holky&
Kluci&
Knedliky&
*Herbertov***

BIO SINCE 2008



Poznámky



Seminář Biomateriály a jejich povrchy XI. pořádají



Společnost pro kompozitní a uhlíkové materiály, z.s.



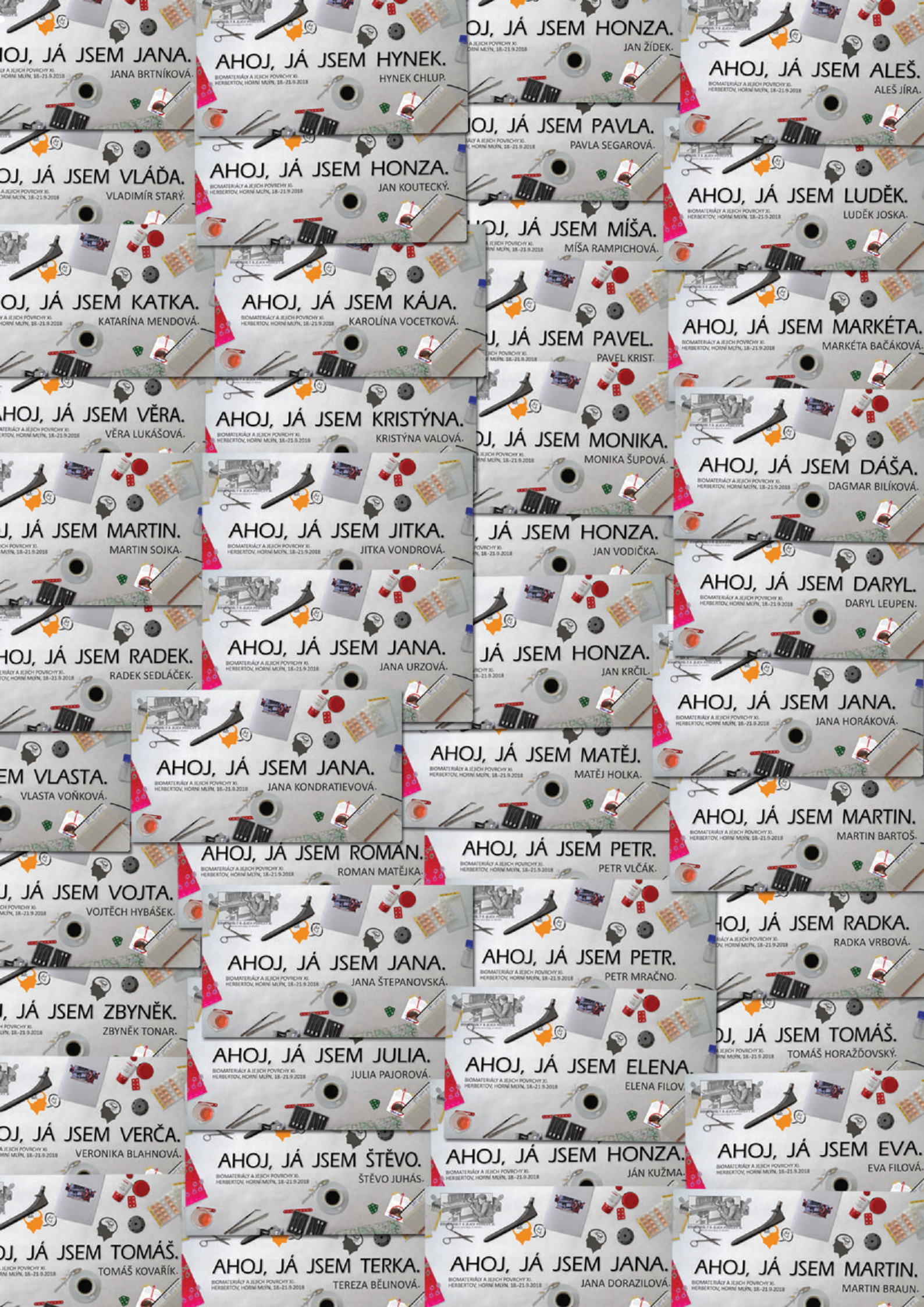
Fakulta strojní, ČVUT v Praze



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



Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, UK





Herbertov

BIO SINCE 2008

