

MEZIOBOROVÁ KONFERENCE

LABORATORNÍ A KLINICKÉ ASPEKTY REGENERATIVNÍ MEDICÍNY

8. – 9. prosince 2022
Mikulov, hotel Galant

ODBORNÝ PROGRAM

Iceland 
Liechtenstein
Norway grants

T A
Č R

Nízkoteplotní 3D tisk biofunkcionalizovaných keramických kostních implantátů s nastavitelnými mechanickými vlastnostmi

Cílem projektu je navázat úzkou mezioborovou spoluprací mezi českými a islandskými partnery za účelem vývoje biofunkčního polymer-keramického inkoustu pro nízkoteplotní 3D tisk kostních implantátů specifických pro pacienta.

Řešiteli projektu jsou:

Vysoké učení technické v Brně - CEITEC

Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni

Tæknisetur, IceTec, Reykjavík, Island

Genis hf., Siglufjörður, Island

Projekt profiBONE (TO01000309) je financován částkou € 1.433.000 z fondů EHP za přispění Islandu, Lichtenštejnska a Norska a Technologické agentury České republiky.


CZECH-ICELANDIC PROJECT
FOR PERSONALIZED IMPLANTS

Středoevropský technologický institut,
Skupina pokročilých biomateriálů VUT v Brně
pořádá

mezioborovou konferenci

LABORATORNÍ A KLINICKÉ ASPEKTY REGENERATIVNÍ MEDICÍNY

8. – 9. prosince 2022
Mikulov, hotel Galant

Hlavní partner



Partneři



Autor (editor): doc. Ing. Lucy Vojtová, Ph.D.,
doc. MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D., MBA, LL.M.,
doc. Ing. Tomáš Suchý, Ph.D.,
Ing. Lucie Vištejnová, Ph.D.,
Ing. Hana Studenovská, Ph.D.,
Mgr. Michala Rampichová, Ph.D.

Název díla: **Laboratorní a klinické aspekty regenerativní medicíny**

Vydalo: České vysoké učení technické v Praze

Zpracovala: Fakulta strojní

Kontaktní adresa: Tomáš Suchý

Tel.: 266 009 287

Tisk: pouze online

Počet stran: 79

Pořadí vydání: 1.

ISBN 978-80-01-07052-9

Programový výbor konference

doc. Ing. Lucy Vojtová, Ph.D.

CEITEC - Středoevropský technologický institut,
Skupina pokročilé biomateriály VUT v Brně

doc. MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D., MBA, LL.M.

Klinika popálenin a plastické chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno

doc. Ing. Tomáš Suchý, Ph.D.

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

Ing. Lucie Vištejnová, Ph.D.

Biomedicínské centrum Lékařské fakulty UK v Plzni

Ing. Hana Studenovská, Ph.D.

Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v.v. i

Mgr. Michala Rampichová, Ph.D.

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

Tematické zaměření konference

Pokročilé (bio/nano)materiály

3D/4D (bio)tisk

Bioimaging/modeling

Biosenzory

Biomechanika

Biotribologie

Pokročilé in vitro/in vivo modely

Regenerace tkání a orgánů

Klinické aplikace/aspekty regenerativní medicíny

Organizační garant konference

SYMMA, spol. s r.o.

Aleš Martinek

Bohunická 133/50

619 00 Brno

Mobil: +420 607 650 654

E-mail: a.martinek@symma.cz

www.symma.cz

8.00 – 12.30 hod Registrace účastníků

10.00 – 10.10 hod Zahájení konference

doc. Ing. Lucy Vojtová, Ph.D. & spol.

**10.10 – 12.10 hod Přednáškový blok I.
Regenerace tkání a 3D (bio)tisk**

*Předsednictvo: doc. Ing. Lucy Vojtová, Ph.D.,
Ing. Hana Studenovská, Ph.D.*

10.10 – 10.30 hod Současné klinické aspekty kranioplastiky

doc. MUDr. Jan Mraček, Ph.D.

Fakultní nemocnice Plzeň

10.40 – 11.00 hod Projekt ProfiBone: 3D tisk a aplikace bioaktivního kostního cementu

doc. Ing. Lucy Vojtová, Ph.D.

*CEITEC – Středoevropský technologický institut, Pokročilé biomateriály,
Vysoké učení technické v Brně*

11.10 – 11.30 hod Naše zkušenosti s využitím 3D tisku v traumatologii

doc. MUDr. Milan Krtička, Ph.D.

Klinika úrazové chirurgie LF MU a TC Fakultní nemocnice Brno

11.40 – 12.00 hod Možnosti využití 3D biotisku v přípravě kardiovaskulárních náhrad

Ing. Roman Matějka, Ph.D.

ČVUT v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství

12.10 – 13.30 hod Oběd

**13.30 – 15.40 hod Přednáškový blok II.
Tkáňové inženýrství a nanomateriály**

*Předsednictvo: Mgr. Michala Rampichová, Ph.D.,
MUDr. et. MDDr. Martin Bartoš, Ph.D.*

13.30 – 13.50 hod Nativní biomateriály: Role decelularizace v tkáňovém inženýrství

RNDr. Vladimíra Moulisová, Ph.D.

Lékařská fakulta v Plzni, Biomedicínské centrum

14.00 – 14.20 hod Řešení defektu alveolu a náhrady zubu: implantace, augmentace, autotransplantace

MUDr. et. MDDr. Martin Bartoš, Ph.D.

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

14.30 – 15.00 hod Liečba diabetu enkapsulovanými pankreatickými ostrovcami

Ing. Igor Lacík, DrSc.

Ústav polymérov SAV, v. v. i.

15.10 – 15.30 hod Léčba retinoblastomu

RNDr. Jakub Širc, Ph.D.

Ústav makromolekulární chemie AV ČR

15.40 – 16.30 hod Coffee break

**16.30 – 18.40 hod Přednáškový blok III.
Biomechanika tkání v praxi**

*Předsednictvo: doc. Ing. Tomáš Suchý, Ph.D.
Ing. Lucie Vištejnová, Ph.D.*

**16.30 – 16.55 hod Využití biomechanického hodnocení rizika ruptury aneurysmat
břišní aorty během pandemie covidu**

doc. Ing. Stanislav Polzer, Ph.D.

VŠB – TU Ostrava, Fakulta strojní, Katedra aplikované mechaniky

**17.05 – 17.30 hod S věkem spojené změny delaminační pevnosti aorty jako
ukazatel rizika disekce**

doc. Ing. Lukáš Horný, Ph.D.

ČVUT v Praze

17.40 – 18.00 hod Nové metody v kardiovaskulární chirurgii

prof. MUDr. Tomáš Grus, Ph.D.

II. chirurgická klinika – klinika kardiovaskulární chirurgie, VFN v Praze

18.10 – 18.40 hod Satelitní sympozium společnosti Contipro a.s.

Hyaluronan, to nejlepší pro regeneraci

Mgr. Kristina Nešporová, Ph.D.

18.40 – 18.45 hod Závěr prvního dne konference

20.00 – 24.00 hod Společenský večer v hotelu Galant

9.00 – 11.00 hod Přednáškový blok IV.**Biosenzory, bioimaging, biotribologie**

*Předsednictvo: Ing. Radek Sedláček, Ph.D.,
doc. Ing. et. Ing. Vilém Neděla, Ph.D.*

9.00 – 9.20 hod Organické polovodiče a jejich využití pro biologické aplikace
Mgr. Jan Víteček, Ph.D.

Akademie věd České republiky, v.v.i., Biofyzikální ústav

9.30 – 9.50 hod Pokročilá environmentální rastrovací elektronová mikroskopie
doc. Ing. et. Ing. Vilém Neděla, Ph.D.

Ústav přístrojové techniky Akademie věd České republiky, v. v. i.

10.00 – 10.20 hod 3D strukturální a morfologické analýzy při výzkumu regenerace mloků

Ing. Tomáš Zikmund, Ph.D.

CEITEC – Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně

10.30 – 10.50 hod Biotribologie pro medicínské aplikace

doc. Ing. Martin Vrbka, Ph.D.

Fakulta strojního inženýrství, Odbor tribologie, VUT v Brně

11.00 – 11.30 hod Coffee break**11.30 – 13.20 hod Přednáškový blok V.****Klinické aspekty regenerace tkání**

*Předsednictvo: doc. MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D., MBA,
doc. MUDr. Vladimír Přibáň, Ph.D.*

11.30 – 11.50 hod Akutní revaskularizace a regenerace mozku u mozkového iktu
doc. MUDr. Vladimír Přibáň, Ph.D.

Neurochirurgická klinika Fakultní nemocnice Plzeň

12.00 – 12.20 hod Kmenové buňky a regenerace CNS

MUDr. Serhiy Forostyak, Ph.D.

Klinika popálenin a plastické chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno

12.30 – 12.50 hod Vliv růstového faktoru VEGF-C a ADSCs na transfer lymfatických uzlin

MUDr. Filip Jonáš

13.00 – 13.20 hod Od regenerace dermis k regeneraci kůže

doc. MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D., MBA

Klinika popálenin a plastické chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno

13.30 – 13.40 hod Závěr konference**13.40 – 14.00 hod Výdej certifikátů**



REGENERACE S KYSELINOU HYALURONOVOU

Výzkum a vývoj v oblasti farmacie, kosmetiky a výživy.

Contipro je ryze česká farmaceutická společnost s obratem přes 1 mld. Kč, která věnuje většinu svého úsilí výzkumu a vývoji inovativních materiálů a produktů založených především na kyselině hyaluronové a jejích derivátech. Contipro patří mezi největší výrobce kyseliny hyaluronové na světě. Tato přirozená multifunkční látka skrývá obrovský potenciál. Ve špičkově vybavených laboratořích Contipra ho objevuje více než 120 pracovníků.

- ✦ Vyvíjíme inovace pro **medicínu, farmacii a kosmetiku**
- ✦ Patříme mezi **největší výrobce kyseliny hyaluronové** na světě
- ✦ Provozujeme **špičkově vybavené výzkumné centrum**
- ✦ Podporujeme **mladé vědce** a čerstvé absolventy

Přijďte si nás poslechnout ve čtvrtek
8. 12. na naše satelitní sympozium.



Integrative miRNA-mRNA and miRNA-protein analysis of spinal cord injury in rat

Arzhanov I.^{1,2}, Klassen R.^{3,4}, Zucha D.^{3,5}, Benesova S.^{3,5}, Rohlova E.^{3,6}, Androvic P.¹, Urdzikova-Machova L.¹, Valihrach L.³, Romanyuk N.¹

Department of Neuroregeneration, Institute of Experimental Medicine of the Czech Academy of Sciences, Prague¹

Department of Neuroscience, 2nd Medical Faculty, Charles University, Prague, Czech Republic²

Laboratory of Gene Express³

Autovakcíny vyrobené na mieru pacienta ich význam v súčasnej medicíne a možnosti v terapii recidivujúcich infekcií a chronických defektov

Bartková J.^{1,2}, Hrušovská R.², Lipový B.^{1,2}

Klinika popálenin a plastické chirurgie Fakultní nemocnice Brno¹

Lékařská fakulta, Masarykova univerzita v Brně²

Vysoce sorpční hemostatika na bázi biopolymerů

Brtníková J.¹, Sedlář M.¹, Suchý P.², Sopuch T.³, Vojtová L.¹

Vysoké učení technické v Brně, CEITEC, Pokročilé polymerní materiály¹

Ústav farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Masarykova univerzita²

Holzbecher, spol. s r.o. barevna a bělidlo Zlíc³

Autologní dentin – regenerativní materiál dentální implantologie

Bumba J., Beranová Š., Tláskalová P., Keisler J., Březina V.

Ústav komplexních systémů, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Pokročilé metody přípravy porézních fosforečnanů vápenatých a jejich kompozitů pro regenerativní medicínu pevných tkání

Částková K.^{1,2}, Drdlík D.^{1,2}, Šťastný P.¹, Novotná L.¹, Šťastná E.¹, Pejchalová L.¹, Šárfy P.¹, Virágová E.¹, Cihlář J.^{1,2}

Středoevropský technologický institut (CEITEC VUT), VUT v Brně¹

Odbor keramiky a polymerů, Ústav materiálových věd a inženýrství,

Fakulta strojního inženýrství, VUT v Brně²

Kompozitní nitě s nanovláknky

Hauzerová Š., Péréz Aquilera J.P., Valtera J., Lisnenko M., Lukáš D., Kuželová Košťáková E.

Fakulta přírodovědně humanitní a pedagogická, Katedra chemie, oddělení Bioinženýrství

První zkušenosti s aplikací dermální náhrady Nevelia® u pacienta s kritickým popálením

Hladík M.¹, Lipový B.^{1,2}, Raška F.¹, Kocmanová I.³, Hanslianová M.⁴, Holoubek J.¹, Bezdíček M.⁵, Macháček C.⁶

Klinika popálenin a plastické chirurgie Fakultní nemocnice Brno a LF MU¹

CEITEC Vysoké učení technické v Brně²

Oddělení klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Brno³

Oddělení klinické mikrobiologie, Nemocnice Vyškov⁴

*Centrum molekulární biologie a génové terapie, Interní hematologická a onkologická klinika
Fakultní nemocnice a LF MU⁵*

Ústav patologie Fakultní nemocnice Brno a LF MU⁶

Použití dermální náhrady matriderm v rekonstrukci hlubokého kožního defektu způsobeného termickým traumatem

Horálková E., Lipový B., Raška F., Suchánek I., Kaloudová Y.

Klinika popálenin a plastické chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno

Thermally stable Fgf10 variant supports differentiation of distal epithelial progenitors during morphogenesis

Hrubá E., Fafílek B., Czyrek A. A., Zakrzewska M., Killinger M., Chaloupkova R., Krejci P., Buchtova M.

IAPG, Brno

Hodnocení hemokompatibility polyesterových nanovláknenných materiálů pro kardiovaskulární aplikace

Jenčová V., Hauzerová Š., Havlíčková K., Lisnenko M., Lukáš D., Procházková R., Jakůbková Š., Hadinec T., Heczková B., Kuželová Košťáková E.

Technická univerzita v Liberci, Fakulta přírodovědně-humanitní a pedagogická

Odstředivé zvláknování PHA materiálů

Kecíková A.^{1,2}, Gregušková Z.^{1,2}, Pospíšilová A.¹, Vojtová L.^{1,2}, Hedvičáková V.³, Rampichová M.³, Přikryl R.^{1,2}

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie materiálů¹

CEITEC – Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně,

Pokročilé biomateriály²

Ústav experimentální medicíny Akademie věd ČR, oddělení tkáňového inženýrství³

Vliv vzdušné vlhkosti na elektricky zvlákněné nanovláknenné materiály z biodegradabilních polyesterů

Kuželová Košťáková E., Homuta V., Mášek P., Běhálek L., Novotný V., Lisnenko M., Havlíčková K., Jenčová V., Lukáš D.

Technická univerzita v Liberci

Vodivý hydrogel na bázi nového materiálu PEDOT:DBSA pro bioelektronické aplikace

Malečková R., Tumová Š., Smíšitel P., Kubáč L., Akrman J., Pešková M., Víteček J., Hubálek J., Vala M., Weiter M.

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická

3D tisk keramických cementů pro aplikace v kostní regenerativní medicíně – klíčové parametry úspěšného tisku

Menčík P.^{1,2}, Hlíňáková K.¹, Lysáková K.¹, Přikryl R.², Vojtová L.¹

CEITEC Vysoké učení technické v Brně¹

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická²

Vliv přípravy biopolymerních 3D porézních pěn na rychlost a množství uvolněného antibakteriálního enzymu

Michlovská L.¹, Brtníková J.¹, Sobolichová L.², Kacvinská K.¹, Lipový B.^{1,3}, Kobzová Š.⁴, Raška F.³, Janda L.⁴, Vojtová L.¹

Středoevropský technologický institut (CEITEC), Pokročilé biomateriály, Vysoké učení technické v Brně¹

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie²

Klinika popálenin a plastické chirurgie Lékařské fakulty, Masarykova univerzita a Fakultní nemocnice Brno³

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno⁴

Index biokompatibility antiseptik (cytotoxicita a antimikrobiální efektivita)

Pavlík V., Štěpánová M., Rusnáková K., Vágnerová H., Nešporová K., Velebný V.

Contipro, a.s.

Kryoprezervační médium pro klinické aplikace

Prát T., Nešporová K., Velebný V.

Contipro a.s.

Vývoj in vitro modelu osteoporotické kosti

Rampichová M.¹, Hedvičáková V.¹, Žižková R.¹, Vištějnová L.², Klein P.^{2,3}, Šebová E.¹, Wolfová L.¹, Filová E.¹

Akademie věd České republiky, Ústav experimentální medicíny¹

Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova²

Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova³

Využití femtosekundového laseru pro přípravu nanovláknenných nosičů pro tkáňové inženýrství sítnice

Studenovská H., Nováčková J., Machová L., Janoušková O., Thottappali M., Proks V.

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

Mechanické a strukturní vlastnosti vstřebatelných materiálů v simulovaných tělních podmínkách: in vitro vs. in vivo

Suchý T.^{1,2}, Karbánová V.², Vištějnová L.³, Šupová M.¹, Horný L.², Chlup H.², Kronek J.², Žaloudková M.¹

Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH, AV ČR, v.v.i., Praha¹

Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Fakulta strojní ČVUT v Praze²

Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň³

THP-1 a SaOS-2 kokultúra - in vitro model na testovanie anti-osteoporotických liečiv

Šebová E., Hedvičáková V., Sovková V., Filová E.

Ústav experimentálnej medicíny AV ČR, v.v.i.

Využití LC-MS pro studium farmakokinetiky materiálů na bázi hyaluronanu

Šimek M., Brtková B., Šulc P., Foglová T., Hermannová M.

Contipro a.s.

Antiapoptotic effect of small extracellular vesicles isolated from cultured medium from neural stem cells on spinal cord injury in vitro

Šprinc V., Šintáková K., Arzhanov I., Romanyuk N.

2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy; Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i.

Correlative Light-Environmental Scanning Electron Microscopy and Freeze fracture replica immunogold TEM to study auxin carriers organization within the plasma membrane

Tihlarikova E., Stelate A., Neděla V., Vlčák E., Philimonenko V., Petrášek J., Martínek F.

Institute of Scientific Instruments, Academy of Sciences of the Czech Republic; Department of Experimental Plant Biology, Faculty of Science, Charles University

Nové organické materiály na bázi PEDOT pro bioelektronické aplikace

Tumová Š., Malečková R., Kubáč L., Akerman J., Enev V., Kalina L., Vojtková E., Víteček J., Vala M., Weiter M.

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická

3D modely arteriálních stenóz a aneurysmat pro studium distribuce léčiv

Vítečková Wünschová A.^{1,2}, Trdlíková J.³, Hejčí A.^{4,5,6}, Hron J.³, Víteček J.^{5,7,8}

Oddělení farmakologie a toxikologie, Výzkumný ústav veterinárního lékařství¹

Ústav anatomie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita²

Matematický ústav, Matematicko-fyzikální fakulta, Karlova univerzita³

Biodegradabilní kompozitní materiály pro prevenci peritoneálních adhezí

Klíčová M.¹, Puchrik M.¹, Rosendorf J.², Liška V.², Horáková J.¹

Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů, Fakulta textilní, Technická univerzita v Liberci, Česká republika¹

Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika²

Degradace a mineralizace porézních scaffoldů na bázi silk fibroinu v simulovaných tělních podmínkách

Poláková D.^{1,2}, Jablonská E.³, Kulhánková J.¹, Víchová I.¹, Rysová M.¹, Martinová L.¹, Ševců A.¹

Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace, Technická univerzita v Liberci¹

Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií, Technická univerzita v Liberci²

Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze³

Antibakteriálne anorganické nanočastice v biopolymérnych krytoch rán pre liečbu infikovaných rán

Poláková V.¹, Dorazilová J.¹, Brtníková J.¹, Šmerkova K.², Fialová T.², Košarišťanová L.², Vojtová L.¹

CEITEC – Středoevropský technologický institut, Pokročilé biomateriály, Vysoké učení technické, Brno¹

Ústav chemie a biochemie, Mendelova univerzita, Brno²

3D tisk a buněčná odezva kompozitů na bázi poly(3-hydroxybutyrátu)

Melčová V.¹, Příkryl R.¹, Krobot Š.¹, Kontárová S.¹, Chaloupková K.¹, Rampichová M.², Hedvičáková V.², Vojtová L.³

Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně, Purkyňova 464/118, CZ-612 00 Brno¹

Institut experimentální medicíny AV ČR, Vídeňská 1083, CZ-142 20 Praha 4²

CEITEC, Vysokého učení technického v Brně, Purkyňova 656/123, CZ-612 00 Brno³

Uvolňovanie a charakterizácia biologicky aktívneho proteínu z 3D kolagénových a celulózových pien

Izsák D.¹, Kacvinská K.¹, Židek J.¹, Kutálková K.², Vojtová L.¹

CEITEC – Stredoeurópsky technologický inštitút, Vysoké učení technické v Brně¹

Enantis s.r.o., Brno²

Místo konání

Hotel Galant, Mlýnská 2, 692 01 Mikulov

Registrační poplatky

Platba převodem KČ 2 990,- vč. DPH

Platba na místě KČ 3 490,- vč. DPH

V registračním poplatku je zahrnuto vstupné na konferenci, oběd, občerstvení v průběhu konference, materiály, společenský večer a DPH.

Registrace účastníků

8. prosince 2022 8.00 – 13.00 hod

9. prosince 2022 8.30 – 10.00 hod

Registrující osoby Vám rádi zodpoví Vaše event. dotazy.

Materiály

Při registraci obdržíte jmenovku, konferenční set a program konference.

Oběd

Menu 8. prosince 2022

Zeleninová polévka

Kuřecí supreme

Dušená rýže

Karafy s vodou

Menu 8. prosince 2022 - bezmasé

Zeleninová polévka

Houbové rizoto

Karafy s vodou

Obědy se vydávají od 12.00 do 13.30 hod oproti stravenkám, které obdržíte při registraci účastníků. Zájemce o bezmasou stravu žádáme, aby svůj požadavek sdělili registrujícím osobám. Cena za oběd je zahrnuta v registračním poplatku.

Společenský večer

Společenský večer formou rautu se koná dne 8. prosince 2022 v sále AURELIUS hotelu Galant. Vstupenka na společenský večer je zahrnuta v registračním poplatku. Oblečení neformální.

Informace pro přednášející

Audiovizuální technika

- dataprojektor
- notebook
- bezdrátová myš včetně laserpointu
- náhledový monitor
- technická obsluha

Prezentace

Prezentace, které od Vás převezme technická obsluha v přednáškovém sále, prosíme dodat na USB Flash disku.

E-posterová sekce

E-posterová sekce bude probíhat v prostorách doprovodné výstavy firem.

Multiskan-Varioskan

univerzální
mikrodestičkové
spektrofotometry,
absorbance, fluorescence,
luminiscence měření
malých objemů od 2 μ l,
klasických mikrodestiček
i kyvet



Herasafe 2025

nový model unikátní
řady biohazard-
laminárních
boxů pro ochranu obsluhy
i produktu splňující
nejpřísnější normy



Heracell Vios 160i

inkubátory s řízenou
atmosférou CO_2 a N_2 ,
kontinuální HEPA
filtrace vnitřní
atmosféry, individuální
kultivační komůrky
Cell Locker™



Multifuge X1/X4 Pro

nová řada multifunkčních
centrifug pro výzkumné
účely i rutinu
unikátní nové funkce
usnadňující obsluhu



ThermoFisher
SCIENTIFIC

Phileas Devea

dekontaminační systém
 H_2O_2 pro inkubátory,
lyofilizátory, izolátory,
laminární boxy i prostory
a místnosti od 1 do 600 m^3



InvivoO₂

hypoxické boxy
pro snadnou kultivaci
a práci se vzorky
v atmosféře s řízenými
parametry CO_2 , O_2 ,
teploty, vlhkosti a tředě
čistoty A



PhO₂X Box

nový flexibilní koncept
hypoxické kultivace
řízená atmosféra CO_2 a O_2
několik variant komor
až pro 18 lahví



Thermo TDE -86 °C

hlubokomrazič boxy
splňující vysoké nároky
na bezpečnost vzorků
i ekonomiku, velká
kapacita až 60000x2 ml



SBORNÍK ABSTRAKT

MEZIOBOROVÁ KONFERENCE

LABORATORNÍ A KLINICKÉ ASPEKTY

REGENERATIVNÍ MEDICÍNY

Abstrakta neprošla jazykovou úpravou.

Obsah SBORNÍK ABSTRAKT

Současné klinické aspekty kranioplastiky	21
Projekt ProfiBone: 3D tisk a aplikace bioaktivního kostního cementu	22
Naše zkušenosti s využitím 3D tisku v traumatologii	23
Možnosti využití 3D biotisku v přípravě kardiovaskulárních náhrad	24
Nativní biomateriály: Role decelularizace v tkáňovém inženýrství	25
Řešení defektu alveolu a náhrady zubu: implantace, augmentace, autotransplantace	27
Liečba diabetu enkapsulovanými pankreatickými ostrovcami	28
Hydrogelové implantáty pro transsklerální aplikaci cytostatik v léčbě retinoblastomu	30
Využití biomechanického hodnocení rizika ruptury aneurysmat břišní aorty během pandemie covidu	31
S věkem spojené změny delaminační pevnosti aorty jako ukazatel rizika disekce	32
Nové metody v kardiovaskulární chirurgii	33
Organické polovodiče a jejich využití pro biologické aplikace	34
Pokročilá environmentální rastrovací elektronová mikroskopie	35
3D strukturální a morfologické analýzy při výzkumu regenerace mloků	37
Biotribologie pro medicínské aplikace	38
Akutní revaskularizace a regenerace mozku u mozkového iktu	40
Kmenové buňky a regenerace CNS	41
Vliv růstového faktoru VEGF-C a ADSCs na transfer lymfatických uzlin	42
Od regenerace dermis k regeneraci kůže	43

Obsah POSTEROVÁ SEKCE

Integrative miRNA-mRNA and miRNA-protein analysis of spinal cord injury in rat	46
Autovakcíny vyrobené na mieru pacienta ich význam v súčasnej medicíne a možnosti v terapii recidivujúcich infekcií a chronických defektov	47
Vysoce sorpční hemostatika na bázi biopolymerů	48
Autologní dentin – regenerativní materiál dentální implantologie	49
Pokročilé metody přípravy porézních fosforečnanů vápenatých a jejich kompozitů pro regenerativní medicínu pevných tkání	50
Kompozitní nitě s nanovlákný	52
První zkušenosti s aplikací dermální náhrady Nevelia® u pacienta s kritickým popálením	53
Použití dermální náhrady matriderm v rekonstrukci hlubokého kožního defektu způsobeného termickým traumatem	54
Thermally stable Fgf10 variant supports differentiation of distal epithelial progenitors during morphogenesis	55
Hodnocení hemokompatibility polyesterových nanovláknenných materiálů pro kardiovaskulární aplikace	56
Odstředivé zvláknňování PHA materiálů	57
Vliv vzdušné vlhkosti na elektricky zvlákněné nanovláknenné materiály z biodegradabilních polyesterů	58
Vodivý hydrogel na bázi nového materiálu PEDOT:DBSA pro bioelektronické aplikace	59
3D tisk keramických cementů pro aplikace v kostní regenerativní medicíně – klíčové parametry úspěšného tisku	60
Vliv přípravy biopolymerních 3D porézních pěn na rychlost a množství uvolněného antibakteriálního enzymu	61
Index biokompatibility antiseptik (cytotoxicita a antimikrobiální efektivita)	62
Kryoprezervační médium pro klinické aplikace	63
Vývoj in vitro modelu osteoporotické kosti	64
Využití femtosekundového laseru pro přípravu nanovláknenných nosičů pro tkáňové inženýrství sítnice	65
Mechanické a strukturní vlastnosti vstřebatelných materiálů v simulovaných tělních podmínkách: in vitro vs. in vivo	66
THP-1 a SaOS-2 kokultúra - in vitro model na testovanie anti-osteoporotických liečiv	67
Využití LC-MS pro studium farmakokinetiky materiálů na bázi hyaluronanu	68

Antiapoptotic effect of small extracellular vesicles isolated from cultured medium from neural stem cells on spinal cord injury in vitro	69
Correlative Light-Environmental Scanning Electron Microscopy and Freeze fracture replica immunogold TEM to study auxin carriers organization within the plasma membrane.....	70
Nové organické materiály na bázi PEDOT pro bioelektronické aplikace	71
3D modely arteriálních stenóz a aneurysmat pro studium distribuce léčiv	72
Biodegradabilní kompozitní materiály pro prevenci peritoneálních adhezí.....	73
Degradace a mineralizace porézních scaffoldů na bázi silk fibroinu v simulovaných tělních podmínkách	76
Antibakteriálne anorganické nanočastice v biopolymérnych krytoch rán pre liečbu infikovaných rán	77
3D tisk a buněčná odezva kompozitů na bázi poly(3-hydroxybutyrátu).....	78
Uvoľňovanie a charakterizácia biologicky aktívneho proteínu z 3D kolagénových a celulózových pien	79

Současné klinické aspekty kranioplastiky

Mraček J.¹, Seidl M.¹, Kolečák R.¹, Klein P.², Vištejnová L.², Příbáň V.¹

Neurochirurgická klinika LF v Plzni UK, Fakultní nemocnice Plzeň¹

Biomedicínské centrum LF v Plzni UK²

Reparace kostního defektu lebeční klenby – kranioplastika je indikována z důvodů kurativních, protektivních a kosmetických. Ke kranioplastice lze použít autologní kostní ploténku odstraněnou při původní operaci nebo různé alogenní materiály.

Přestože kranioplastika je poměrně jednoduchá operace, je zatížena vysokým výskytem komplikací (12-50%). Mezi nejzávažnější komplikace patří infekce a resorpce kostní ploténky.

Z důvodů nedostatku kvalitních dat dosud nebyla na poli kranioplastiky vytvořena evidence-based guidelines. Ani v provedených metaanalýzách nebyla zjištěna superiorita některého z typů použitého materiálu. Nicméně z důvodů signifikantní resorpce je patrný určitý odklon od kranioplastiky autologní kostní ploténkou, která byla dosud považována za zlatý standard.

Mezi diskutované faktory související s morbiditou kranioplastiky patří indikace a technické provedení operace, použitý materiál, timing kranioplastiky, typ primární patologie, velikost kostního defektu, rizikový terén, způsob uchovávání autologní kostní ploténky, hydrocefalus a věk nemocných.

Autoři dokumentují současné klinické aspekty kranioplastiky na vlastním klinickém materiálu.

Projekt ProfiBone: 3D tisk a aplikace bioaktivního kostního cementu

Vojtová L.¹, Hlináková K.¹, Lysáková K.¹, Žídek J.¹, Menčík P.^{1,2}, Raszková A.¹, Příkrýl R.^{1,2}, Sedláček R.³, Vltavský M.^{3,4}, Suchý M.^{3,4}, Klein P.⁵, Kindermann M.⁵ a Vištejnová L.⁵

CEITEC - Vysoké učení technické v Brně, Pokročilé biomateriály, Brno¹

Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně, Brno²

Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Fakulta strojní, ČVUT v Praze, Praha³

Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AVČR, Praha⁴

Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň⁵

Úvod: Projekt profiBONE si klade za cíl vyvinout plně resorbovatelný kompozitní inkoust ve formě pasty na bázi termocitlivého polymeru a fosforečnanu vápenatého. Inkoust by byl metodou přímého tisku (extruzí) vytlačován při laboratorní teplotě vrstvu po vrstvě pohyblivou tryskou do formy personalizované 3D náhrady kostní tkáně. Takto na míru pacientovi připravené kostní náhrady představují slibné řešení pro úspěšnou léčbu velkých, nepravidelných či špatně dostupných kostních defektů nejen v oblasti ortopedie, ale i například v obličejové a lebeční rekonstrukci.

Metodika: Nejprve byl vytvořen CAD (Computer-Aided Design) model s definovanou porozitou a byly optimalizovány parametry tiskárny a složení a způsob přípravy kompozitní pasty pro přímý 3D tisk vzorečků. Byly provedeny fyzikálně-chemické (XRD, ATR-FTIR), mechanické (mez pevnosti v tlaku, elastický gradient, absorbovaná energie, účinnost absorbování energie), strukturní (mikro-CT, SEMstatické i dynamické mikro-CT) a biologické (biokompatibilita *in vitro*, osseointegrace *in vivo*) analýzy připravených vzorků.

Výsledky: Analýzy prvních připravených vzorků prokázaly velký význam morfologie – vnitřní struktury vzorečků – na výsledné vlastnosti. Proto jsme se zaměřili na klíčové architektonické parametry při navrhování a přípravě 3D tištěných kostních náhrad včetně určení nejvhodnějšího tvaru. Byly vyvinuty vlastní G-kódy pro návrhy a tisk modelů s pravidelnou, gyroidní či šestiúhelníkovou „honeycomb“ strukturou. Testy ukázaly, že z použitých vnitřních struktur jsou z hlediska mechanických vlastností nejlepší iterace struktury „honeycomb“. Navíc, morfologie vzorečků byla velice důležitá pro osazování buňkami a realizaci *in vitro* testování, kde původní pravidelná struktura byla nevhodná, kvůli propadávání buněk skrz materiál. Upravená struktura s „plným dnem“ zabránila propadávání buněk a zajistila rovnoměrné osazení materiálů buňkami SAOS-2 u všech typů vzorků s různou vnitřní porozitou a iteracemi. Provedení *in vivo* testů si vyžádalo rozsáhlou optimalizaci procesu tisku a přípravy výsledných vzorečků, které musely mít požadované velikosti a tvary přesně podle naplňovaných kostních defektů na modelu femuru potkana. Prvotní *in vivo* testy ukázaly bezproblémovou implantabilitu vzorků a následně histologické a mikro-CT vyšetření naznačuje vynikající osseointegrační vlastnosti připravených 3D tištěných vzorečků.

Závěr: I přes řadu počátečních komplikací se podařilo optimalizovat nejen přípravu kompozitního inkoustu pro nativní 3D tisk kostních náhrad, ale byl zaveden proces 3D tisku velmi malých kostních implantátů (2-3 mm) s přesně definovanou vnitřní mikrometrovou strukturou. Biologické testy naznačují vyhovující osseointegrační vlastnosti vytisknutých vzorečků. Díky nativnímu prostředí tisku bude zajímavou možností obohacování kompozitního inkoustu o bioaktivní molekuly podporující biokompatibilitu 3D tištěných vzorečků, případně zajišťující prevenci kostních zánětů.

Poděkování: Projekt profiBONE (TO01000309) je spolufinancován se státní podporou Technologické agentury ČR a fondů EHP z Islandu, Lichtenštejska a Norska.

Naše zkušenosti s využitím 3D tisku v traumatologii

Krtička M.

Klinika úrazové chirurgie LF MU a TC Fakultní nemocnice Brno

Možnosti využití 3D biotisku v přípravě kardiovaskulárních náhrad

Matějka R.

ČVUT v Praze, Fakulta biomedicínského inženýrství

Nativní biomateriály: Role decelularizace v tkáňovém inženýrství

Moulisová, V.¹, Massaro M. S.¹, Červenková L.¹, Jiřík M.¹, Singh R.K.¹, Pálek R.^{1,2},
Rosendorf J.^{1,2}, Ševčík J.¹, Šarčević S.^{1,2}, Dahmen U.³, Versteegen M.M.A.⁴, Liška V.^{1,2}

Biomedicínské centrum, LFP UK, Plzeň¹

Chirurgická klinika, FN Plzeň²

Universitätsklinikum Jena³

Erasmus Medical Centre, Rotterdam⁴

Úvod: Decelularizované tkáně poskytují velmi nadějný zdroj biokompatibilního materiálu využitelný v tkáňovém inženýrství [1]. Složení extracelulární matrix je tkáňově specifické, a poskytuje tudíž unikátní prostředí pro nově osidlující buňky při procesu recelularizace, až už k němu dochází in vitro nebo při spontánní buněčné repopulaci in vivo. Standardizovaná příprava vysoce kvalitních ECM skeletů je však stále přes velký pokrok v této oblasti hubdou budoucnosti. Problém nedostatku vhodné tkáně od lidských dárců může pomoci vyřešit použití xenogenních materiálů od geneticky blízkých druhů, kde je imunogenicita ECM proteinů na velmi nízké úrovni. Na našem pracovišti se zabýváme optimalizací přípravy decelularizovaných skeletů z prasete domácího včetně studia možností repopulace lidskými primárními buňkami.

Metodika: Tkáně k decelularizaci jsou velmi šetrně explantovány z těla prasete domácího v celkové anestezii, a následně buď okamžitě zpracovány nebo zamrazeny pro pozdější použití. Jedná se především o jaterní tkáň, za účelem decelularizace jsou ale explantovány některé cévy (karotidy, kavální a portální žíly) a žlučovod. Jako decelularizační média jsou používány roztoky Tritonu X-100 a sulfododecylsulfátu (SDS), způsob a doba decelularizace se liší podle použité tkáně. Po odstranění buněk je tkáň promývána fyziologickým roztokem a charakterizována například pomocí mikroskopické analýzy či testováním mechanických vlastností. Následně je tkáň ihned využita k recelularizačním experimentům, případně uchována pro další použití. Recelularizace probíhá ve speciálně k tomu určených bioreaktorech, a výsledná již repopulovaná tkáň je opět charakterizována (histologie, imunofluorescence, konfokální mikroskopie).

Výsledky: Po optimalizaci perfuzní decelularizace celých prasečích jater bylo dosaženo velmi krátké doby procesu za účelem zamezení poškození ECM prostřednictvím detergentů (necelé 3 hodiny). Ve skeletu byla ověřena přítomnost klíčových proteinů jako je například kolagen, fibronectin a laminin. Stanovili jsme soubor kritérií pro hodnocení morfologické kvality jaterních skeletů zahrnující i kvantitativní parametry získané z námi vytvořeného softwaru ScaffAn [2]. V současné chvíli tuto analýzu dat validujeme ve spolupráci s Erasmus MC v Rotterdamu. Kompletní decelularizace prasečích karotid stejně jako kaválních žil bylo dosaženo za 5 hodin, a následná charakterizace skeletů a porovnání s nativní tkání prokázaly velmi dobré zachování jak ECM proteinů, tak mechanických vlastností decelularizované tkáně [3]. Recelularizační experimenty probíhají jak na úrovni jater, tak na úrovni cévních skeletů, kdy testujeme námi vyvinuté perfúzní bioreaktory.

Závěr: V rámci našich studií i dalších vědeckých prací se decelularizované xenogenní tkáně (prasečí játra a cévy) se jeví jako velmi vhodné materiály pro následnou přípravu humanizovaných tkání in vitro. V případě použití buněk samotného pacienta by bylo

s ohledem na remodelaci tkání po implantaci navíc možné minimalizovat a následně zcela vysadit imunosupresivní léčbu.

Literatura:

- [1] Massaro M. S. et al., Mater. Sci. Eng. C, 127 (2021).
- [2] Moulisová V. et al., J. Tissue Eng., 11 (2020).
- [3] Massaro M. S. et al., Front. Bioeng. Biotech., 10, 833244 (2022).

Řešení defektu alveolu a náhrady zubu: implantace, augmentace, autotransplantace

Bartoš M.

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

Náhrada zubu pomocí dentálního implantátu představuje v dnešní době standardní ošetření, které může významně zvyšovat kvalitu života pacientů. V této oblasti stomatologie dochází k trvalému vývoji, který umožňuje řešit i anatomicky nepříznivé situace a zrychlovat proces od zahájení ošetření po rekonstrukci, ať už provizorní či definitivní.

Po ztrátě zubu je alveolární výběžek často defektní, tedy nezajišťuje vhodné podmínky pro zavedení dentálního implantátu a následného protetického ošetření. Pomocí různých postupů je však možné do určité míry alveolární výběžek prediktabilně rekonstruovat, a to v rámci běžné ambulantní praxe. Mezi základní postupy patří využití kombinace biomateriálů (nejčastěji xenograft) s autologní kostní tkání, či využití pouze autologní kostní tkáně. Následná implantace a její úspěšnost spoléhá na osseointegraci implantátu, tedy jeho pevné spojení s kostní tkání.

Jako alternativa je v některých situacích vhodná autotransplantace, tedy využití vlastního zubu pacienta. Jedná se o postup, který zatím není příliš často využíván. Nejvýhodnější je jeho použití u dětských pacientů, např. při úrazové ztrátě předního zubu, kde jsou jiná ošetření problematická (snímatelná náhrada) a implantace či fixní řešení s ohledem na růst čelistí nevhodná. Jako příklad lze uvést autotransplantaci premoláru do místa horního středního řezáku. Po přenesení je možné zub dostavět kompozitním materiálem či proteticky ošetřit (např. korunka), standardně v kombinaci s ortodontickou léčbou. Přenesením zubu je v případech úspěšného zhojení znovuvytvořen závěsný aparát, tedy i kostní tkáň alveolárního výběžku.

Liečba diabetu enkapsulovanými pankreatickými ostrovčkami

Lacík I.

Ústav polymérov SAV, v.v.i.

Úvod: 100 rokov po objavení inzulínu cukrovka stále nie je pod kontrolou a globálne predstavuje najrýchlejšie rastúcu zdravotnú hrozbu 21. storočia [1]. V roku 2021 bolo vo svete 537 miliónov diabetikov, z nich na následky zomrelo 6.7 milióna a predpoveď na rok 2045 je 783 miliónov [1]. Negatívne dôsledky cukrovky týkajúce sa zdravotného stavu pacientov, ich kvality života a taktiež záťaž na zdravotnícky systém sú vysoké. Preto sa nemálo prostriedkov venuje identifikácii efektívnejšej kontroly hladiny cukru. Jednou z možností je transplantácia funkčných pankreatických ostrovčiek, ktoré sú chránené pred imunitným systémom enkapsuláciou v polopriepustnej membráne a ktoré dokážu produkovať inzulín podľa okamžitej hladiny cukru [2].

Metodika: V našom prístupe sú funkčné pankreatické ostrovčeky enkapsulované v hydrogélových mikrokapsulách. Mikrokapsuly sú tvorené elektrostatickými interakciami s využitím vlastností alginátu sodného vytvárať vo fyziologickom prostredí hydrogél interakciou s dvojmocnými kovmi a taktiež s využitím polyelektrolytov vytvárať polyelektrolytový komplex. Tento prístup umožňuje nastaviť vlastnosti mikrokapsúl tak, aby boli stabilné v in vivo prostredí, vykazovali dostatočnú biokompatibilitu a dokázali dlhodobo ochrániť enkapsulované pankreatické ostrovčeky pred imunitným systémom a tak zabezpečiť ich funkčnosť.

Výsledky: Komplexný prístup k dizajnu mikrokapsúl predstavuje modulárne riešenie zahrňujúce syntézu a charakterizáciu polymérov, enkapsulačný proces, charakterizáciu mikrokapsúl a in vivo testovanie. Multikomponentné polymérne mikrokapsuly testované v in vivo prostredí v diabetických myšiach vykazujú schopnosť kontrolovať hladinu cukru po dobu niekoľkých mesiacov. Predbežné výsledky s týmito mikrokapsulami v predklinickom modeli v primátoch poskytlo nádejné výsledky z pohľadu biokompatibility [3] a aj ochrany transplantovaných ostrovčiek [4]. Následné testy v primátoch viedli k nekonzistentným výsledkom, ktoré poukazujú na nutnosť ďalšej práce z pohľadu stability a biokompatibility mikrokapsúl.

Záver: Transplantácia funkčných ostrovčiek chránených pred imunitným systémom enkapsuláciou predstavuje riešenie využiteľné pre kontrolu hladiny cukru. V súčasnosti mnohé akademické a komerčné pracoviská sa intenzívne zaoberajú vývojom biomateriálov vhodných pre klinické riešenie [2]. Na našom pracovisku súčasné aktivity sú smerované na optimalizáciu stability a biokompatibility polyelektrolytových mikrokapsúl a alginátových mikrosfér.

1. IDF, International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 10th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation. 2021.
2. Dolgin, E., Diabetes cell therapies take evasive action. *Nature Biotechnology*, 2022. 40(3): p. 291-295.
3. Qi, M., et al., A recommended laparoscopic procedure for implantation of microcapsules in the peritoneal cavity of non-human primates. *J Surg Res*, 2011. 168(1): p. e117-23.

4. Qi, M., et al., Transplantation of Pancreatic Islets Immobilized in Alginate-Based Microcapsules: From Animal Studies to Clinical Trials. *Micro and Nanosystems*, 2013. 5(3): p. 186-193.

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0480, projektami JDRF 2-SRA-2014-288-Q-R a 2-SRA-2018-521-S-B a The Chicago Diabetes Project.

Hydrogelové implantáty pro transsklerální aplikaci cytostatik v léčbě retinoblastomu

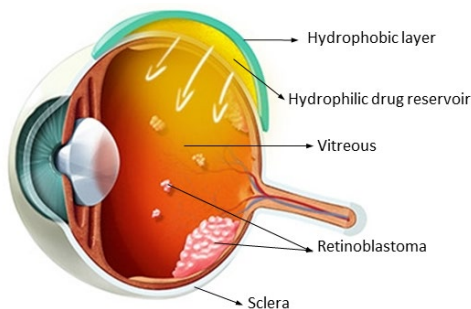
Širc J.¹, Hobzová R.¹, Cocarta A.-I.¹, Shrestha K.¹, Švojgr K.², Pochop P.², Kodetová M.²

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

2. LF UK v Praze a Fakultní nemocnice Motol²

Úvod: Chemoterapie je nedílnou součástí léčby retinoblastomu, nejčastějšího primárně nitroočního zhoubného nádoru v dětství. Systémová chemoterapie je však spojena s poměrně velkou celkově podanou dávkou cytostatik potřebnou k dosažení jejich požadované koncentrace v cílových nádorových buňkách. V současné praxi používané lokální aplikace léčiv, tj. intravitreální a intraarteriální apl., jsou relativně invazivní a jsou spojeny se značnými riziky. Tématem studie je vývoj méně invazivní lokální aplikace cytostatik pomocí hydrogelového implantátu.

Metodika: Vývoj a testování hydrogelových implantátů pro transsklerální difúzní aplikaci nízkomolekulárních hydrofilních cytostatik do zadního očního segmentu - implantáty na bázi metakrylátů jsou tvořeny dvěma vrstvami, vnitřní hydrofilní vrstvou uvolňující cytostatikum a vnější nepropustnou vrstvou chránící okolní vaskularizovanou tkáň a zabraňující distribuci léčiva do systémového oběhu.



Výsledky: Implantát ve tvaru čočky je tvořený z vnitřní vrstvy z poly(2-hydroxyethylmethakrylátu) (pHEMA), uvolňující cytostatikum topotekan (TPT). Vnější nepropustná vrstva je tvořena z poly(2-ethoxyethylmethakrylátu) (pEOEMA). *In vitro* i *in vivo* experimenty prokázaly biokompatibilitu obou materiálů a dostatečnou sorpční/desorpční kapacitu vnitřní vrstvy pro TPT. *In vitro* experimenty na buněčné línii Y79 Rb prokázaly dlouhodobou cytotoxicitu pHEMA vrstvy uvolňující TPT. Dále byly implantáty TPT-pHEMA/pEOEMA ve tvaru čočky úspěšně implantovány do zadního segmentu oka králíka, byla prokázána minimální makroskopická a mikroskopická toxicita. Ke zvýšení transsklerální difuze TPT byla použita transkonjunktivální kryoterapie. Střední sklivcová celková TPT expozice (AUC) byla 455,6 ng.h/ml, střední plazmatická AUC byla 50,3 ng.h/ml, plazmatická expozice představuje jen 11-12 % sklivcové expozice.

Závěr: Pilotní studie potvrdila potenciál dvouvrstvých hydrogelových implantátů dopravit nízkomolekulární cytostatika do zadního očního segmentu. Na zvířecím modelu bylo dosaženo významných koncentrací ve sklivci při výrazně nižší koncentraci cytostatik v krevní plasmě, oproti systémové aplikaci léčiva.

Využití biomechanického hodnocení rizika ruptury aneurysmat břišní aorty během pandemie covidu

Polzer S.

VŠB – TU Ostrava, Fakulta strojní, Katedra aplikované mechaniky

S věkem spojené změny delaminační pevnosti aorty jako ukazatel rizika disekce

Horný L.

ČVUT v Praze

Nové metody v kardiovaskulární chirurgii**Grus T.***II. chirurgická klinika VFN – klinika kardiovaskulární chirurgie VFN a 1. LF UK*

V současné době je téměř nemožné si představit lékařské zákroky, jak diagnostické, tak terapeutické bez použití nových metod a technologií. Jsou to právě oni, které posouvají lékařské vědy a běžnou praxi mílovými kroky kupředu. V posledních letech umožňují tyto nové metody a technologie především minimalizovat operační trauma a tím významně snížit frekvenci a riziko pooperačních komplikací pro pacienta. Otázkou však zůstává celkový benefit pro pacienta, protože tyto nové metody s sebou přináší i nová rizika a potenciální perioperační komplikace.

Prezentace shrnuje použití některých nových operačních metod a technologií v kardiovaskulární medicíně.

Organické polovodiče a jejich využití pro biologické aplikace

Víteček J.^{1,2}, Vojtková E.¹, Ehlich J.³, Střítecký S.³, Pacherník J.⁴, Vala M.³, Weiter M.³, Salyk O.³, Kubala L.^{1,2}

Oddělení biofyziky imunitního systému, Biofyzikální ústav AVČR¹

Mezinárodní centrum klinického výzkumu Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně²

Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně³

Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova Univerzita⁴

Organické polovodiče našly své uplatnění v řadě aplikací, co se týká elektroniky. Jejich vlastnosti jako je možnost kombinované iontové a elektronové vodivosti, možnost upravit mechanické vlastnosti, v principu dobrá biokompatibilita a relativně snadná a nízkonákladová depozice v tenkých vrstvách je činí zajímavými pro biologické aplikace. Sada organických polovodičů (triisopropylsilyethynyl pentacen, diketopyrrolopyrrol, poly(3-hexylthiophene-2,5-diyl) a poly(3,4-ethylenedioxythiophene):poly(styrenesulfonate) - PEDOT:PSS) byla podrobena základním testům biokompatibility vůči buněčným kulturám. U všech těchto polovodičů bylo možné s využitím potažení tenkou vrstvou kolagenu IV dosáhnout biokompatibility na úrovni standardního kultivačního plastiku. Vzhledem k dobré vodivosti byl pro další experimentální práci zvolen PEDOT:PSS. Vhodnou depozicí tohoto materiálu bylo možné dosáhnout stability po dobu více jak 10 dnů. Na základě tohoto materiálu byly konstruovány a ověřovány biosenzory pro základní monitoring buněčných kultur a tepání kardiomyocytů in vitro. Dále byla s využitím PEDOT:PSS sestavena platforma pro testování kombinované materiálové a elektrické stimulace embryonálních kmenových buněk. Tato platforma byla schopná navýšit kardiomyogenezi a potenciálně inhibovat neurogenezi přičemž dominantní byl efekt materiálu.

Tato práce byla podpořena granty GAČR 17-24707S, 18-18235S, 21-01057S a projektem INBIO č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_026/0008451 z Evropského regionálního rozvojového fondu.

Pokročilá environmentální rastrovací elektronová mikroskopie

Neděla V., Tihlaříková E., Olbert M. Martínek F.

Ústav přístrojové techniky AVČR, v. v. i., Skupina environmentální elektronové mikroskopie

Úvod: Pokročilá environmentální rastrovací elektronová mikroskopie (A-EREM) byla jako nová elektronově mikroskopická metoda představena v roce 2021 [1]. Je novou generací klasické environmentální rastrovací elektronové mikroskopie (EREM) s řadou vylepšení a ještě širším aplikačním potenciálem ve vědě i průmyslové praxi.

Metodika: A-EREM staví na řadě již realizovaných, nebo doposud testovaných instrumentálních vylepšení klasického EREM, nových metodách [2] pro velmi šetrné low-dose statické pozorování na radiační poškození citlivých, často vlhkých, elektricky nevodivých vzorků v nativním stavu [3] a unikátních možnostech dynamického in-situ studia fyzikálně-chemických procesů [4] a řízených morfologických změn vzorků. Díky výsledkům matematicko-fyzikálních simulací interakcí nabitých částic s plynem, vodou a pevnou látkou a simulací proudění plynů a přestupů tepla v A-EREM [4] byly vyvinuty vysoce účinné detektory signálních elektronů [5], zvýšeno rozlišení mikroskopu a přesně popsány termodynamické podmínky v A-EREM [4].

Výsledky: S rozlišením v řádu jednotek nm lze proto zobrazovat vybrané biologické, v případě potřeby i imunologicky značené vzorky a biopolymerní vzorky [6], to vše v environmentálně kompatibilních podmínkách relativně vysokého tlaku plynů (desítky až tisíce Pa) a vlhkosti (jednotky až 100%). Insitu v komoře vzorku A-EREM lze se vzorky manipulovat, případně narušit jejich povrch a zobrazit jejich vnitřní strukturu, měřit vybrané fyzikální a elektrické veličiny nebo korelovat obraz z A-ESEM se snímky jiných zobrazovacích metod. V podmínkách blízkých termodynamické rovnováze lze na vzorky in-situ přidávat kapaliny nebo je ofukovat různými plyny. Nový chlazený držák vzorku a programy obsahující algoritmy pro hluboké učení umožnily podmínky v komoře vzorku A-EREM předvídat a řídit.

Závěr: AEREM vznikla díky know-how skupiny Environmentální elektronová mikroskopie ÚPT AV ČR s více než třicetiletou tradicí v oboru.

Reference:

1. Stelate, A., Tihlaříková, E., Schwarzerová, K., Neděla, V., Petrášek J. **Correlative Light-Environmental Scanning Electron Microscopy of Plasma Membrane Efflux Carriers of Plant Hormone Auxin.** *Biomolecules*. 2021, 11(10), 1407. doi: 10.3390/biom11101407
2. Neděla, V., Tihlaříková, E., Hřib, J. The Low-Temperature Method for Study of Coniferous Tissues in the Environmental Scanning Electron Microscope. *Microscopy Research and Technique*. 2015, 78(1), 13-21. doi: 10.1002/jemt.22439
3. Michaloudi, E., Papakostas, S., Stamou, G., Neděla, V., Tihlaříková, E., Zhang, W., Declerck, S. A. J. Reverse taxonomy applied to the *Brachionus calyciflorus* cryptic species complex: Morphometric analysis confirms species delimitations revealed by molecular phylogenetic analysis and allows the (re) description of four species. *PLoS ONE*. 2018, 13(9), e0203168. doi: 10.1371/journal.pone.0203168
4. Neděla, V., Tihlaříková, E., Maxa, J., Imrichová, K., Bučko, M., Gemeiner, P. Simulation-based optimisation of thermodynamic conditions in the ESEM for dynamical in-situ study of spherical polyelectrolyte complex particles in their native state. *Ultramicroscopy*. 2020, 211, 112954. doi: 10.1016/j.ultramic.2020.112954.

5. Neděla, V., Tihlaříková, E., Runštuk, J., Hudec, J. High-efficiency detector of secondary and backscattered electrons for low-dose imaging in the ESEM. *Ultramicroscopy*. 2018, 184A(JAN), 1-11. doi: 10.1016/j.ultramic.2017.08.003.
6. Bučko, M., Vikartovska, A., Schenk Mayerová, A., Tkáč, J., Filip, J., Chorvát, D., Neděla, V., Ansorge-Schumacher, M. B., Gemeiner, P. Progress in emerging techniques for characterization of immobilized viable whole-cell biocatalysts. *Chemical Papers*. 2017, 71(11), 2309-2324. doi: 10.1007/s11696-017-0243-3.

Poděkování: Tento příspěvek byl podpořen Grantovou agenturou České republiky (22-25799S).

3D strukturální a morfologické analýzy při výzkumu regenerace mloků

Zikmund T.

CEITEC – Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně

Biotribologie pro medicínské aplikace

Vrbka M.

Výzkumná skupina biotribologie, Odbor tribologie

Ústav konstruování, Fakulta strojního inženýrství, VUT v Brně

Úvod: Mnoho činností našeho každodenního života je řízeno tribologickými procesy, které určují výkonnost a provozní životnost většiny strojních součástí a mechanismů od ložisek, ozubených kol, pneumatik, brzd až po pevné disky a umělé náhrady kyčlí a kolen. Právě biotribologie je jednou z nejrychleji se rozvíjejících a nejvíce citovaných oblastí, která se zaměřuje na výzkum tribologických mechanismů vyskytujících se v živých organismech a na rozhraní mezi biologickými a umělými (inženýrskými) povrchy. Dá se říct, že všechny organismy čelí tribologickým výzvám. Povrchy v relativním pohybu se vyskytují nejen v kloubech, ale také při mrknutí oka nebo při pohybu plodu v matčině lůně. Zatímco lidé zkoumají tribologii již několik tisíc let, příroda vyrábí maziva a optimalizuje materiály a jejich vzájemné spojení již miliony let.

Cílem tohoto sdělení na mezioborové konferenci Laboratorní a klinické aspekty regenerativní medicíny je představit současné výzvy v oblasti biotribologie, kterými se zabývá Výzkumná skupina biotribologie na Ústavu konstruování, Fakultě strojního inženýrství, VUT v Brně.

Metodika: Biotribologie si prošla sice jen padesátiletým historickým vývojem (vymezení pojmu biotribologie proběhlo v roce 1973), přesto je její současný rozsah výzkumných aktivit velmi široký a většina řešených problémů souvisí se zdravím člověka. Etablování výzkumu v oblasti biotribologie na FSI VUT v Brně proběhlo přibližně před dvanácti lety. Současné portfolio výzkumné činnosti skupiny je relativně široké a pojímá tato experimentálně řešená témata: Mazání, tření a opotřebení umělých kyčelních a kolenních kloubů (endoprotéz), Tření a mazání kloubní chrupavky a jejich náhrad, Tření a mazání oka, Tření a mazání fascií, Tření a mazání náhrad malých kloubů vyráběných aditivními technologiemi 3D tisku kovových prášků, Tření a opotřebení dentálních výplní.

Výsledky: Zkušenosti a soustavná práce při řešení stále složitějších biotribologických problémů vedly k vybudování vlastní laboratoře a k vývoji celé řady unikátních simulátorů a experimentálních metod, které snesou srovnání s prestižními zahraničními pracovišti. S postupným rozvojem výzkumné skupiny jsou získávány rozmanité vědecké projekty, navazovány mezinárodní spolupráce a do výzkumu jsou začleňováni partneři z aplikační sféry. Nezbytným předpokladem pro zdravé fungování výzkumné skupiny je vlastní a životaschopný vědecký tým, do jehož aktivit jsou zapojováni stále noví studenti doktorského, navazujícího magisterského i bakalářského studia, přičemž jejich kvalifikační práce se běžně zásadní měrou podílejí na řešení získaných výzkumných projektů.

Závěr: A jaká bude budoucnost biotribologie? Zjistěte velmi perspektivní. Zhruba před padesáti lety již zesnulý prof. Duncan Dowson (1928-2020) vymezil pojem biotribologie a přesně předpověděl, že tento vznikající obor bude mít stále větší význam pro lidský život a zdraví. Biotribologie totiž každý den ovlivňuje život každého z nás, ať už si to uvědomujeme nebo ne – od holení, aplikace hydratačního krému na obličej, nošení kontaktních čoček, čištění zubů pomocí zubní pasty a kartáčku až po haptické ovládání displejů mobilních zařízení a tvorbu puchýřů. Zejména nezastavitelný proces stárnutí lidské populace a její touha po aktivním stáří přinese řadu problémů, kterým bude muset biotribologie čelit. Ať už se bude jednat o vývoj

daleko trvanlivějších ortopedických implantátů či o vývoj nových generací zdravotnických prostředků ve formě viskosuplementů na zmírnění příznaků artrózy nebo ve formě očních kapek na léčbu syndromu suchého oka.

Každopádně musíme počítat s tím, že experimentální modelování stále složitějších biologických rozhraní a daleko náročnější pochopení jejich tribologických procesů a mechanismů nutně povede k multioborové spolupráci, která bude stále potřebnější a vzájemně tak propojí tribologii, biologii, biochemii, materiálové vědy a klinickou medicínu.

Akutní revaskularizace a regenerace mozku u mozkového iktu

Příbář V.

Neurochirurgická klinika Fakultní nemocnice v Plzni

Kmenové buňky a regenerace CNS

Forostyak S.

Klinika popálenin a plastické chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno

Úvod: Degenerativní onemocnění a traumatická poranění centrálního nervového systému (CNS), kvůli omezené neuroplasticitě a regeneraci, zůstávají mezi největšími výzvami. Postižený CNS obvykle má porušenou homeostázu extracelulární matrix (ECM) a způsobují reaktivitu neuroglií. Kmenové buňky mohou usnadnit regeneraci postiženého CNS.

Metodika: Studovali jsme změny míšní ECM (perineuronální síť, PNN) během normálního průběhu onemocnění a po léčbě lidskými kmenovými buňkami (mezenchymálními stromálními buňky (MSC); neurální prekursor z indukovaných pluripotentních kmenových buněk, NP-iPS). Role perineuronálních sítí (PNN) byla sledovaná během typického průběhu onemocnění v potkaním modelu ALS (mutace superoxiddismutázy1, SOD1). Motorické funkce byly testovány behaviorálně. Vizualizace spinálních PNN, chondroitin sulfátových proteoglykanů (CSPG) a transplantátu bylo provedeno pomocí imunohistochemie. Metodika western blot byla použita k detekci a měření CSPG v presymptomatických, symptomatických a terminálních stádiích onemocnění a taky u zdravých sourozenců. Expres mRNA (CSPG, růstových faktorů a genů souvisejících s apoptózou) byla analyzována pomocí RT-qPCR.

Výsledky: Transplantace jak MSC, tak NP-iPS zpomalila progresi onemocnění, prodloužila přežití zvířat a signifikantně zachovala počet míšních motoneuronů. V terminálním stádiu onemocnění (SOD1^{G93A}) byly pozorované poruchy spinálních chondroitin sulfátových proteoglykanů. Aplikace NP-iPS způsobila normalizaci exprese hostitelských genů (versican, has-1, tenascin-R, ngf, igf-1, bdnf, bax, bcl-2 a casp-3) a ochranu perineuronálních sítí kolem zachovaných motorických neuronu.

Závěr: Lidské kmenové buňky mají neuroprotektivní vlastnosti. Po transplantaci do míchy, kmenové buňky ovlivňují lokální exprese některých klíčových genů extracelulární matrix, které jsou zodpovědné za regulaci neuroplasticity.

Vliv růstového faktoru VEGF-C a ADSCs na transfer lymfatických uzlin

*Jonas F.^{1,2}, Kesa P.³, Paral P.³, Pankrac J.³, Kalbacova M. H.⁴, Miletin J.²,
Sukop A.², Molitor M.¹, Stanek K.¹, Sefc L.³, Mestak O.¹*

Department of Plastic Surgery, Charles University First Faculty of Medicine, Praha¹

Department of Plastic Surgery, Charles University Third Faculty of Medicine, Praha²

Center for Advanced Preclinical Imaging (CAPI), Charles University First Faculty of Medicine, Praha³

Institute of Pathological Physiology, Charles University First Faculty of Medicine, Praha⁴

Mikrochirurgie představuje novou naději pro pacienty trpící lymfedémem. Hlavními metodami jsou lymfovenózní anastomózy (LVA) a vaskularizovaný transfer lymfatických uzlin (VLNT), ze kterého benefitují zejména pacienti v pokročilých stádiích lymfedému, kdy již není technicky možné LVA založit. Společným cílem mikrochirurgických metod je zlepšení lymfatické drenáže a tím redukce objemu postižené části těla. Jedná se tak o metody fyziologické, čímž se liší od dříve užívaných redukčních výkonů. S rozvíjejícími se technikami a pochopením patofyziologie lymfedému dochází k hledání dalších možností, jak dále podpořit efekt mikrochirurgických technik. Jednu z nadějných molekul představuje růstový faktor VEGF-C, který stimuluje lymfatickou regeneraci.

V naší experimentální studii, která je předmětem přednášky, jsme studovali na animálním modelu (potkani rodu Lewis) vliv VEGF-C a kmenových buněk (ADSCs) na regeneraci a funkci stopkovaných tříselných lymfatických laloků za užití cutting-edge vysokofrekvenčního ultrazvuku s fotoakustickou sondou. Toto multimodální zobrazení nám v čase umožnilo detekovat signál ICG v lymfatických lalocích, a sledovat tak vliv VEGF-C a ADSCs na drenážní funkci laloků.

Přednáška seznamuje s novými mikrochirurgickými technikami a současným výzkumem v lymfatické regeneraci.

Od regenerace dermis k regeneraci kůže*Lipový B.^{1,2}, Holoubek J.¹, Knöz M.³, Horálková E.¹, Hladík M.¹, Koutná I.⁴, Vojtová L.²**Klinika popálenin a plastické chirurgie FN Brno a LF MU¹**Středoevropský technologický institut, CEITEC VUT Brno²**Klinika plastické a estetické chirurgie FN u sv. Anny a LF MU³**Ústav histologie a embryologie LF MU⁴*

V 21. století se začíná stále významněji uplatňovat relativně nový pohled na hodnocení výsledku terapie pacientů s termickým traumatem. Samotný atribut přežití je jistě důležitým parametrem, nicméně návrat pacientů do základních socioekonomických interakcí a zajištění kvalitního života po úrazu je naprosto esenciální v pohledu na úspěch léčby. Cílem našeho současného klinického přístupu by mělo být zajištění procesu regenerace (náhrady ztracené tkáně tkání morfologicky a funkčně plnohodnotnou) v maximálním možném rozsahu. Bohužel nejsme schopni tento proces navodit ve všech tkáních a zejména u tkání s významným podílem termické destrukce mnohdy jen sledujeme alternativní možnost hojení a uzávěru rány, tedy reparaci. Reparace znamená náhradu destruované tkáně, tkání méně hodnotnou, vytváří se jizevnatá deformita s jednoznačnými konsekvencemi z funkčního a estetického pohledu. V rámci snahy o odvrácení procesu reparace se do lokálního přístupu stále častěji implementuje aplikace dermálních náhrad (resorbovatelné biomateriály), které ve výsledku zlepšují visko-elastické vlastnosti kůže. I jejich aplikace ale není bez limitací a rizik.

Použitím „pouhých“ bezbuněčných biomateriálů obohacených např. o růstové faktory nedokážeme plnohodnotně nahradit jak anatomickou, tak také funkční část kožního mikroprostředí. Proto se do popředí dostává studium vzájemné interakce mezi nosičem a buněčnou populací připravovanou v definovaných laboratorních podmínkách s jednoznačným cílem vytvoření umělé kožní náhrady v plné tloušťce respektující klíčové aspekty nativní lidské kůže.

V příspěvku představíme náš koncept vývoje jednotlivých generací biomateriálů pro regeneraci v oblasti kůže a budeme diskutovat také „konkureční“ cesty vývoje.

Poděkování

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s registračním číslem NU22-08-00454. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

POSTEROVÁ SEKCE

MEZIOBOROVÁ KONFERENCE LABORATORNÍ A KLINICKÉ ASPEKTY REGENERATIVNÍ MEDICÍNY

Příspěvky neprošly jazykovou úpravou.

Integrative miRNA-mRNA and miRNA-protein analysis of spinal cord injury in rat

**Arzhanov I.^{1,2}, Klassen R.^{3,4}, Zucha D.^{3,5}, Benesova S.^{3,5}, Rohlova E.^{3,6}, Androvic P.¹,
Urdzikova-Machova L.¹, Valihrach L.³, Romanyuk N.¹**

Department of Neuroregeneration, Institute of Experimental Medicine of the Czech Academy of Sciences, Prague¹

Department of Neuroscience, 2nd Medical Faculty, Charles University, Prague, Czech Republic²

Laboratory of Gene Expres³

Traumatic spinal cord injury (SCI) is usually caused by external physical injury and contributes to irreversible neurological damage. It triggers a multitude of pathophysiological events that are tightly regulated by expression of specific genes. Recent studies show that microRNAs (miRNAs) are dysregulated after SCI and are emerging as potential therapeutic targets. Our aim is to identify the miRNA-mRNA-protein regulatory network involved in tissue damage and regeneration after SCI. To achieve this goal, we performed a comprehensive multi-omic analysis of spinal cord tissue injury in an experimental compression lesion model in rats. We collected RNA-seq, small RNA-seq and proteomics data on *Rattus norvegicus* with experimental SCI at different time intervals (3, 12, 24 hours and 3, 7 days after injury) and compared them with sham operated controls. To analyze genome wide expression changes, we applied DEA, WGCNA, GSEA, multimodal network analysis, as well as analysis of the cell type proportion. We revealed that SCI is manifested by massive changes in gene expression, resulting in over 9000 differentially expressed (DE) genes. The total number of DE genes is increasing over the time post injury, but there is also a trend towards an increase in the number of genes shared between subsequent time points, with a decrease in the number of unique genes for a specific time point, except for 7 dpi. Among cellular processes, metabolic pathways, extracellular matrix remodeling, cell cycle activation, and immune response-related processes such as cytokine production have been identified as the most activated. Most downregulated genes were associated with transmembrane ion channel transport, synaptic activity and electron transport channel. Deconvolution analysis showed that SCI is accompanied by marked proliferation of microglia and dividing myeloid cells along with death of neurons and oligodendrocytes. Integrated analysis of the miRNA-mRNA and miRNA-proteins interaction allowed identifying specific miRNAs common to both of these networks: miR-21-3p, miR-214-3p, miR-130-3p, miR-130-5p, miR-142-3p, miR-146b-5p, miR-147, miR-155-5p, which have become possible therapeutic targets for the treatment of SCI. Further, we plan to validate named miRNAs on in vitro and in vivo SCI models.

Supported by GACR 18-21942S and NU21-08-00286.

Autovakcíny vyrobené na mieru pacienta ich význam v súčasnej medicíne a možnosti v terapii recidivujúcich infekcií a chronických defektov

Bartková J.^{1,2}, Hrušovská R.², Lipový B.^{1,2}

Klinika popálenin a plastické chirurgie Fakultní nemocnice Brno¹

Lékařská fakulta, Masarykova univerzita v Brně²

Autovakcíny zaradujeme medzi jeden z najprirodzenejších imunomodulátorov ľudského imunitného systému. Ide o bakteriálne imunomodulátory, ktoré sú pripravené priamo z kmeňov patogénov vykultivovaných z ohniska infekcie u pacientov. Odobraté mikróby sa následne rozmnožia vo vhodných médiách, usmrtia sa a pripraví sa z nich samotná vakcína. Princíp týchto autovakcín je v navodení zvýšenej imunity voči určitému patogénu, ktorý je zodpovedný za vznik infekčného ochorenia u daného pacienta. Po aplikácii autovakcíny dôjde k stimulácii nešpecifickej imunity, ktorá u pacienta reaguje tvorbou imunitnej odpovede na daný antigén. So stúpajúcou rezistenciou baktérií na antibiotiká je esenciálne hľadať aj iné spôsoby liečby. Vďaka neustálemu pokroku v imunológii sa tieto biologické prípravky dostávajú neustále do popredia ako vhodná doplnková alternatíva v liečbe pacientov s opakovanými chronickými infekciami, hnisajúcimi ložiskami, píšťalami, bércovými vredmi ďalej tiež u infekcií respiračného a urogenitálneho traktu, infekcií kože a mäkkých tkanív a na liečbu alergických ochorení. Tieto biologické imunomodulátory je možné vyrobiť v špecializovaných laboratóriách vo forme injekčných roztokov, roztokov na perorálnu aplikáciu alebo na výrobu sušiny bakteriálnych extraktov na prípravu kapsúl alebo tabliet. Aj keď prevláda názor, že najviac úspešné sú autovakcíny v liečbe chronických a recidivujúcich bakteriálnych infekcií, existujú len málo validných klinických štúdií, ktorými je možné ich účinnosť doložiť. V súčasnosti stále aj napriek ich pomerne dobrej dostupnosti výroby, liečba autovakcínami vyrobenými priamo na mieru pacientov, nepatrí medzi príliš rozšírenú. Dôvodom môže byť práve aj nedostatok informácií. Dominantne sa budeme zameriavať na ich účinnosť v terapii recidivujúcich infekcií a chronických defektov.

Vysoce sorpční hemostatika na bázi biopolymerů

Brtníková J.¹, Sedlář M.¹, Suchý P.², Sopuch T.³, Vojtová L.¹

Vysoké učení technické v Brně, CEITEC, Pokročilé polymerní materiály¹

Ústav farmakologie a toxikologie, Farmaceutická fakulta, Masarykova univerzita²

Holzbecher, spol. s r.o. barevna a bělidlo Zlín³

Vzhledem k tomu, že ročně umírá v důsledků ztráty krve více než 2 miliony lidí, a to zejména v běžných traumatologických centech, kde je velká ztráta krve nejčastější příčinou úmrtí, vývoj vhodných hemostatických materiálů, které by byly schopny krvácení účinně zastavit, stále více nabývá na významu.

Lidský organismus má svůj vlastní hemostatický systém, který jej chrání před krvácením. Zástava krvácení neboli hemostáza, je založena na vzájemné souhře reakcí cév v místě poranění (vazokonstrikce), činnosti krevních destiček a samotného procesu srážení krve tzv. koagulační kaskády. Aktivaci koagulační kaskády při srážení krve je možné akcelarovat pomocí tzv. aktivních hemostatik, která se vyrábí ze vstřebatelných biopolymerů na bázi derivátů celulózy, kolagenu, želatiny, chitosanu, škrobu, trombinu, fibrinu atd. Většina hemostatik je ve formě prášku nebo 3D porézních pěn. Výjimkou je oxidovaná celulóza, která se používá jako textilie a dále také nové typy hemostatik ve formě nano/mikro vláken. Kolagen (zejména bovinní) se využívá u tradičních kolagenových chirurgických hemostatik a nověji jako součást tzv. kombinovaných hemostatik s dalšími biologicky aktivními látkami. Nabídka těchto kombinovaných produktů je však v současné době velmi omezená, a navíc finančně velmi nákladná.

Cílem této práce tedy bylo připravit směsi derivátů celulózy s kolagenem v různých poměrech, kdy by vzájemné kombinace těchto dvou běžně používaných biopolymerů umožnily připravit nové typy materiálů s lepšími nejen hemostatickými vlastnostmi, ale kromě jiného, aby byly i finančně dostupnější. Celulózová vlákna mohou pozitivně ovlivnit mechanické vlastnosti díky fyzikálním interakcím s kolagenem, udržet optimální vlhkost a prostředí v ráně (absorpce toxinů, regulace aktivit proteolytických enzymů) atd. Jednou z dalších výhod jsou antibakteriální vlastnosti výsledného materiálu získané právě díky antibakteriální účinnosti celulózy, což umožňuje eliminovat přídavek stříbra, které se jinak běžně používá.

V práci byla testována 3D porézní pěnová hemostatika jak samotných různých druhů kolagenu, tak i celulózy včetně jejich vzájemných kombinací. Kromě stanovení fyzikálních vlastností (sorpční kapacity dle ISO normy, morfologie) a in vitro testování (čas srážení, test na srážení krve, příkladací metoda) byla testována i hemostáza in vivo na ledvinách laboratorních potkanů. Pro každý typ materiálu bylo použito 10 potkanů pro ověření reprodukovatelnosti výsledků. Jednoznačným závěrem byla výborná synergická účinnost kombinovaných hemostatik z kolagenu a celulózy nejenom ve smyslu akcelarované hemostázy, ale i v minimálním množství spotřebovaného materiálu včetně vylepšení celkových mechanických vlastností finálního hemostatika jak v suchém, tak i vlhkém stavu oproti jednodruhovým materiálům. Takto nově navržené typy aktivních hemostatik mají velký aplikační potenciál nejen v chirurgii, ale i v regenerativní medicíně a dermatologii. Díky přijatelné ceně pak také v traumatologii a ve vojenské medicíně včetně možnosti použití i pro tzv. stagnující neboli obtížně hojitelné rány.

Poděkování: Tato práce byla podpořena Technologickou agenturou České republiky v rámci projektu TH04020540.

Autologní dentin – regenerativní materiál dentální implantologie

Bumba J., Beranová Š., Tláškalová P., Keisler J., Březina V.

Ústav komplexních systémů, Fakulta rybářství a ochrany vod, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Jedním z nejčastěji prováděných zákroků v zubním lékařství je extrakce zubu. Extrahované zuby jsou stále velmi často považovány za biologický odpad, ačkoliv mohou být zdrojem autologního dentinu, materiálu, který mírou své mineralizace, obsahem růstových faktorů, kolagenu a řadou dalších parametrů odpovídá kostní tkáni. Relativně novou a inovativní metodou v dentální implantologii je užití autologního dentinu k augmentaci kostních tkání. Metoda spočívá v regeneraci zubního oblouku augmentací čelistní kosti. Princip metody je založen na získání dentinu z očištěného extrahovaného zubu pomletím ve speciálním mlýnku a výběrem vhodné zrnitosti (asi 300 µm) na sítech. Tuto metodu aplikuje již několik českých a slovenských zubních lékařů, z nichž nám někteří poskytli nejen vhodné extrahované zuby, ale rovněž rentgenové snímky z dentálních kazuistik. Naši úlohou v Laboratoři tkáňových kultur bylo zjistit, jakým způsobem reagují živé buňky na dentinový substrát v podmínkách „in vitro“. Na základě statistických dat získaných z obrazové analýzy snímků pořízených metodou časosběrné mikrokinematografie byl kvantifikován vzájemný vztah buněk s dentinem, který potvrdil hypotézu o stimulaci růstu a migrace buněk (linie MG63), jež vede k dynamické augmentaci kosti a dobré osifikaci implantátu.

Literatura:

- 1 Yeomans JD, Urist MR. Bone induction by decalcified dentine implanted into oral, osseous and muscle tissues. Arch Oral Biol. 1967; 12(8):999-1008.
- 2 Kim YK, Kim SG, Yun PY, Yeo IS, Jin SC, Oh JS, Kim HJ, Yu SK, Lee SY, Kim JS, Um IW, Jeong MA, Kim GW. Autogenous teeth used for bone grafting: a comparison with traditional grafting materials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2014; 117(1):39-45.
- 3 Minetti E, Palermo A. Comparison between the bone regeneration using tooth graft with or without tooth transformer in sheep. BAOJ Dentistry. 2019; 5(1) S:054.
- 4 Binderman I, Hallel G, Nardy C, Yaffe A, Sapoznikov L. A novel procedure to process extracted teeth for immediate grafting of autogenous dentin. J Interdiscipl Med Dent Sci. 2014; 7(1):57-63.
- 5 Bono N, Tarsini P, Candiani G. Demineralized dentin and enamel matrices as suitable substrates for bone regeneration. J Appl Biomater Funct Mater. 2017; 15(3):236-243.

Pokročilé metody přípravy porézních fosforečnanů vápenatých a jejich kompozitů pro regenerativní medicínu pevných tkání

Částková K.^{1,2}, Drdlík D.^{1,2}, Šťastný P.¹, Novotná L.¹, Šťastná E.¹, Pejchalová L.¹, Šárfy P.¹, Virágová E.¹, Cihlár J.^{1,2}

Středoevropský technologický institut (CEITEC VUT), VUT v Brně¹

Odbor keramiky a polymerů, Ústav materiálových věd a inženýrství, Fakulta strojního inženýrství, VUT v Brně²

Biokeramika na bázi fosforečnanů vápenatých, cementů nebo bioskla se široce využívá jako součást implantátů pro regenerativní medicínu. Její význam v chirurgické nebo ortopedické praxi stoupá nejen s rostoucí úrovní lékařské péče, ale také se stárnutím lidské populace.

Významnou charakteristikou materiálů na bázi fosforečnanů vápenatých je jejich biologická aktivita, která závisí nejen na chemickém složení, ale především na jejich porézní struktuře. Porézní struktura poskytuje vhodný povrch pro proliferaci a růst buněk, které jsou infiltrovány z okolních tkání. Do pórů prorůstá nová kost a napomáhá tak fixaci implantátu. Chemické složení umožňuje postupnou resorpci implantátu a v konečném důsledku opětovné nahrazení implantátu novou kostní tkání. Takové implantáty mohou být použity při léčbě zlomenin a jiných mechanických porušení kostí nebo při léčbě poškození kostní tkáně způsobené tumory a cystami. Kombinace znalostí z oblasti materiálových věd a biochemie společně s uplatněním pokročilých metod přípravy implantátů umožňují začleňování léčiv do porézní struktury biokeramiky nebo funkcionalizaci jejího povrchu. Takový implantát potom působí nejenom jako mechanická opora, ale i jako nosič potřebných léčiv a aktivních látek přímo v místě kostního defektu.

Slabinou biokeramiky na bázi fosforečnanů vápenatých jsou však mechanické vlastnosti, které jsou výrazně horší, než mechanické vlastnosti kortikální i trabekulární lidské kosti. Velikost pórů, distribuce velikosti, tvar pórů, celková porozita a zejména architektura porézních kanálů určují mechanické vlastnosti a interakci biokeramiky s kostními buňkami. Pokročilé přístupy k přípravě porézních materiálů tak kombinují optimalizaci těchto strukturních parametrů a chemického složení k získání ideálně mechanicky pevné a bioaktivní struktury.

Prezentace demonstruje návrh a výrobu personalizovaných porézních materiálů pomocí pokročilých metod vyvinutých na pracovišti CEITEC VUT skupiny Pokročilých keramických materiálů [1-6]. Rozdílné přístupy umožňují širokou variabilitu jak v návrhu architektury pórů, tak v chemickém a fázovém složení s cílem optimalizovat biologické a fyzikální vlastnosti pro zamýšlenou aplikaci. Příkladem mohou být metody přímého pění a templátová metoda poskytující porézní struktury s propojenými kulovitými póry a řízenou biodegradací díky vícefázovému složení, nebo metoda „digital light processing“ (3D tisk) umožňující výrobu implantátů s komplikovanou a personalizovanou geometrií. Dalšími prezentovanými metodami jsou příprava porézních materiálů vymrazováním („freeze casting“) nebo elektrostatickým zvlákňováním („electrospinning“).

1. Novotná, L., et al., Macroporous bioceramic scaffolds based on tricalcium phosphates reinforced with silica: microstructural, mechanical, and biological evaluation. *Journal of Asian Ceramic Societies*, 2022. 10(2): p. 356-369.

2. Šťastná, E., K. Částková, and J. Rahel, Influence of Hydroxyapatite Nanoparticles and Surface Plasma Treatment on Bioactivity of Polycaprolactone Nanofibers. *Polymers*, 2020. 12(9).

3. Novotná, L., et al., Biphasic calcium phosphate scaffolds with controlled pore size distribution prepared by in-situ foaming. *Materials Science and Engineering: C*, 2019. 95: p. 363-370.
4. Stastný, P., et al., Structure degradation and strength changes of sintered calcium phosphate bone scaffolds with different phase structures during simulated biodegradation in vitro. *Materials Science and Engineering C-Materials for Biological Applications*, 2019. 100: p. 544-553.
5. Stastný, P., et al., Epoxy-based gelcasting of machinable hydroxyapatite foams for medical applications. *Journal of the American Ceramic Society*, 2018. 101(8): p. 3317-3327.
6. Roleček, J., et al., Bioceramic scaffolds fabrication: Indirect 3D printing combined with ice-templating vs. robocasting. *Journal of the European Ceramic Society*, 2019. 39(4): p. 1595-1602.

Kompozitní nitě s nanovláknny

Hauzerová Š., Pérez Aquilera J.P., Valtera J., Lisnenko M., Lukáš D., Kuželová Košťáková E.

Fakulta přírodovědně humanitní a pedagogická, Katedra chemie, oddělení Bioinženýrství

Kompozitní nitě s nanovláknny vytvořené pomocí střídavého elektrického zvlákňování (AC electrospinning) jsou zajímavými lineárními útvary, které mohou sloužit například jako speciální zubní nitě či chirurgické nitě. Tvorba takovýchto kompozitních nití je ovlivňována řadou parametrů. Jedním z nejdůležitějších parametrů výroby je odtahová rychlost středové mikrovláknenné nitě, která ovlivňuje finální lineární hmotnost nanovláknenného obalu. V příspěvku budou představeny různé kompozitní nitě, splétané kompozitní nitě a dále kompozitní nitě s inkorporovanými aktivními látkami. Výhodou nanovláken je možnost inkorporace aktivních látek jak do vnitřní struktury tak i zachycení těchto látek na povrchu vláken dle cílené aplikace.

Tato práce byla podpořena projektem TAČR Trend - FW02020042 – Využití nanovláken k aplikaci bioaktivních látek pomocí zubní nitě (2020-2023, TA0/FW)

První zkušenosti s aplikací dermální náhrady Nevelia® u pacienta s kritickým popálením

Hladík M.¹, Lipový B.^{1,2}, Raška F.¹, Kocmanová I.³, Hanslianová M.⁴, Holoubek J.¹, Bezdiček M.⁵, Macháček C.⁶

Klinika popálenin a plastické chirurgie Fakultní nemocnice Brno a LF MU¹

CEITEC Vysoké učení technické v Brně²

Oddělení klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Brno³

Oddělení klinické mikrobiologie, Nemocnice Vyškov⁴

Centrum molekulární biologie a génové terapie, Interní hematologická a onkologická klinika

Fakultní nemocnice a LF MU⁵

Ústav patologie Fakultní nemocnice Brno a LF MU⁶

Recentně dochází k markantnímu zlepšení péče o kriticky popálené pacienty. Léčba je nyní orientována nejen na přežití pacienta ale také kvalitu života po ukončení hospitalizace. Jedním z klíčových aspektů zlepšujících kvalitu života u pacientů s hlubokými popáleninami je využití dermálních náhrad. Jejich využití s následnou autotransplantací dermo-epidermálními štěpy zabezpečuje zachování viskoelastivity kůže a přináší lepší estetický výsledek jizvy. Prezентujeme zkušenosti s prvním využitím dermální náhrady Nevelia® (Symatase Aesthetic, Chaponost, France) v oblasti předloktí bilaterálně s cílem zachovat funkci horních končetin u pacienta s popálením na 88% TBSA (Total Body Surface Area). Nevelia® se skládá z 3 D porózní matrix z bovinního kolagenu typu I a silikonové vrstvy s polyesterem simulující pseudoepidermis. Po třech týdnech od primární aplikace proběhlo odstranění silikonové vrchní vrstvy a následně autotransplantace dermo-epidermálními štěpy komplikována mykotickou infekcí. Sekundárně po přeléčení infekce byla autotransplantace dermo-epidermálními štěpy úspěšná a rána uzavřena.

Použití dermální náhrady matriderm v rekonstrukci hlubokého kožního defektu způsobeného termickým traumatem

Horálková E., Lipový B., Raška F., Suchánek I., Kaloudová Y.

Klinika popálenin a plastické chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno

S rostoucím pokrokem moderní medicíny dochází k poklesu letality pacientů s rozsáhlým termickým traumatem a zároveň je více kladen důraz na rychlost návratu do běžného života a jeho následnou kvalitu. Zlatým standardem v léčbě hlubokých popálenin je dodnes autotransplantace dermo-epidermálními štěpy, která však může vést k tvorbě patologických typů jizev a kontraktur s neuspokojivým estetickým i funkčním výsledkem. Do běžné klinické praxe je tak zaváděna celá řada dermálních náhrad. V příspěvku budeme prezentovat výsledky z aplikace dermální náhrady Matriderm® na konkrétních pacientech v různých klinických scénářích a indikacích.

I přes základní limitaci v současném použití dermálních náhrad, kterou je cena, samotná regenerace dermis jednoznačně vede ke zlepšení estetických a visko-elastických vlastností recipientní oblasti, což má jednoznačný dopad na poúrazovou kvalitu života pacientů. Tento atribut je zcela klíčový pro komplexní hodnocení výsledné léčby.

Thermally stable Fgf10 variant supports differentiation of distal epithelial progenitors during morphogenesis

Hrubá E., Fafílek B., Czyrek A. A., Zakrzewska M., Killinger M., Chaloupkova R., Krejci P., Buchtova M.

IAPG, Brno

Fibroblast growth factors (FGFs) serve numerous regulatory functions in complex organisms and their corresponding therapeutic potential becomes of growing interest. However, applications of these proteins are limited due to their low stability.

Here we focus on a modified hrFGF10 protein „FGF10STAB“ engineered to display higher thermal stability and hence more robust biological function. In vitro, FGF10STAB was demonstrated to normally engage FGFR downstream signaling pathways when compared with the wild-type FGF10 (FGF10WT) and to activate exclusively receptor FGFR2-IIIb.

FGF10 and its receptor FGFR2b are one of the key regulators of airway branching and branching morphogenesis in general. Therefore, we tested FGF10STAB in ex vivo murine explant embryonic tissue cultures to characterize its biological activity. At morphological level, in lung and salivary glands, FGF10STAB induced dilation of the epithelium compared to control and FGF10WT. To determine FGF10STAB effect on FGF signaling pathway and lung proximo-distal tissue differentiation during branching stage of lung development, gene expression analysis in whole lung lysates and whole mount IHC was employed. We observed higher expression of FGF10 target genes and lower expression of proximal progenitor markers in FGF10STAB treated lungs. The data indicates that extended activation of FGF signaling pathway supports differentiation of distal epithelial progenitors.

As FGF10 plays crucial role in limb formation, we studied effect of FGF10STAB on chicken limbs development and murine embryonic tibial cultures. In contrast to FGF10WT, FGF10STAB significantly affected bone development and growth in all analyzed models.

In conclusion, our data indicate that engineered FGF10STAB molecule is significantly more stable than its WT counterpart and has a potential in therapeutic applications, which needs to be further tested in animal models.

Supported by MEYS (CZ.02.1.01/0.0/0.0/15_003/0000460) and CSF (GA21-04178S).

Hodnocení hemokompatibility polyesterových nanovláknenných materiálů pro kardiovaskulární aplikace

Jenčová V., Hauzerová Š., Havlíčková K., Lisnenko M., Lukáš D., Procházková R., Jakůbková Š., Hadinec T., Heczková B., Kuželová Košťáková E.

Technická univerzita v Liberci, Fakulta přírodovědně-humanitní a pedagogická

V rámci vývoje nanovláknenných materiálů pro kardiovaskulární aplikace (např. u materiálů vyvíjených jako cévní bandáže a cévní náhrady) je vhodné hodnocení těchto materiálů z hlediska jejich hemokompatibility. Tyto testy by jednak měly pomoci vyloučit nevhodné materiály před případnými in-vivo testy a zároveň pomoci dále porozumět interakci materiálů se složkami lidské krve. Konkrétně se jedná o testy hemolýzy, trombogenicity a koagulace. Hemolýza erytrocytů je analyzována z důvodu možného poškození membrány červených krvinek vlivem kontaktu s materiálem. Trombogenicita je schopnost materiálu vyvolat aktivaci trombocytů. Ta je vyvolána kontaktem trombocytů s materiálem, kdy dochází k jejich více či méně akcelerované aktivaci. V rámci testů koagulace je sledováno ovlivnění rychlosti koagulace při kontaktu materiálu s krevní plazmou. V této práci byla hodnocena hemokompatibilita vláknenných materiálů vyrobených z degradabilních polyesterů pomocí elektrického zvlákňování. Materiály byly dále sterilizovány dvěma metodami – pomocí ethylen oxidu a gama záření. U materiálů byl sledován vliv různých materiálových, procesních a technologických parametrů a následná metodika sterilizace materiálů na jejich hemokompatibilitu.

Poděkování: *Tato práce byla provedena díky finanční podpoře MZ ČR, projekt číslo NU20-02-00368*

Odstředivé zvlákňování PHA materiálů

Kecíková A.^{1,2}, Gregušková Z.^{1,2}, Pospíšilová A.¹, Vojtová L.^{1,2}, Hedvičáková V.³, Rampichová M.³, Příkryl R.^{1,2}

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie materiálů¹

CEITEC – Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně, Pokročilé biomateriály²

Ústav experimentální medicíny Akademie věd ČR, oddělení tkáňového inženýrství³

Odstředivé zvlákňování polymerů z roztoku nabízí zajímavou možnost vytvářet vláknenné materiály v podobě netkané textilie. Přidavek vhodných účinných látek do zvlákňovaného polymerního roztoku pak vede k modifikaci vláken a vytvoření materiálu na míru aplikaci. Tuto technologii je možné využít v průmyslovém měřítku. A proto ji využíváme a optimalizujeme i v projektu Technologie na zpracování odpadní biomasy lesního průmyslu pro pokročilé polymerní kompozity (TECHBIKOM). Projekt podporuje přeshraniční spolupráci Rakouska a České republiky ve výzkumu a vývoji zpracování biodegradovatelných polymerů a bioaktivních aditiv do formy nových materiálů. Rakouská strana zde zpracovává odpadní biomasu z lesního průmyslu. Extrakci této biomasy se získávají bioaktivní látky s antibakteriálními a antivirotickými vlastnostmi, které jsou následně na české straně využity při přípravě submikronových vláken z biodegradovatelných materiálů. Ty jsou na bázi polyhydroxyalkanoátů – skupiny bakteriálních polymerů vyráběných biotechnologicky z přírodních obnovitelných zdrojů.

Pro účinné zvlákňování materiálů na bázi poly(hydroxyalkanoátů) (PHA), jakým je nejen poly(3-hydroxybutyrát) (P3HB) z komerční výroby, ale taktéž P3HB získaný novou extrakcí bez organických rozpouštědel, bylo potřebné najít vhodné procesní podmínky. Byly optimalizovány nejvýznamnější faktory ovlivňující proces odstředivého zvlákňování a to: typ rozpouštědla, koncentrace polymerního roztoku a jeho viskozita, molekulová hmotnost polymeru, rychlost otáčení zvlákňovací hlavy a průměr zvlákňovacích jehel. Připravená vlákna jsou charakterizovaná jak s ohledem na chemicko-fyzikální vlastnosti, tak z hlediska biodegradace v různých prostředích. Sledována je rovněž biokompatibilita referenčních materiálů a antibakteriální a antivirotická účinnost, kterou vlákna získávají díky přidavku fenolických extraktů z kůry stromů. Fyzikální vlastnosti základních P3HB vláken je možné variovat přidavkem elastického kopolymeru P3,4HB, dalších biopolymerů nebo plastifikátorů. Submikronová vlákna připravená odstředivým zvlákňováním za laboratorních podmínek mají objemnou strukturu podobnou vatě s porozitou až 95 %. V průmyslném měřítku je možné připravit vlákna odstředivým zvlákňováním do formy planárních tenkovrstvých netkaných textilií vhodných pro konstrukci roušek či respirátorů. Dosažené výsledky ukazují, že takto připravený vláknenný materiál je taktéž možné využít i v regenerativní medicíně, tkáňovém inženýrství, v systémech s řízeným uvolňováním léčiv či v mikrobiologii jako 3D substrát pro růst buněk.

Poděkování: Tato práce byla podpořena EFRR Programem INTERREG V-A Rakousko – Česká republika projektem „Technologie na zpracování odpadní biomasy lesního průmyslu pro pokročilé polymerní kompozity“ (Techbikom č. ATCZ287).

Vliv vzdušné vlhkosti na elektricky zvlákněné nanovláknenné materiály z biodegradabilních polyesterů

Kuželová Košťáková E., Homuta V., Mášek P., Běhálek L., Novotný V., Lisnenko M., Havlíčková K., Jenčová V., Lukáš D.

Technická univerzita v Liberci

Vzdušná vlhkost je velmi důležitý parametr při elektrickém zvláknování biodegradabilních polymerních materiálů určených pro medicínské aplikace. Vliv vzdušné vlhkosti může být významný a to zejména s ohledem na vypařování zvoleného rozpouštědla či rozpouštědlového systému vedoucí k podstatným změnám morfologie vytvářené nanovláknenné vrstvy. Pro alifatické polyester jako je polykaprolakton (PCL) či kopolymer kaprolaktonu a kyseliny mléčné (PLCL) se ukazují při bezjehlovém elektrickém zvláknování významné rozdíly a to zejména ve vnitřní struktuře. Zatímco na kopolymer PLCL je vliv vzdušné vlhkosti velmi významný na nanovláknenný materiál ze základního PCL se vliv vzdušné vlhkosti téměř neprojevil. Jednalo se zejména o hodnocení pomocí SEM a DSC, doplněné pro PLCL také o GPC. Byla testována série pěti různých rozpouštědlových systémů při dvou limitních vzdušných vlhkostech. Hodnoceny byly také průměry vláken a výrobnost při daných procesních a materiálových podmínkách.

Tato práce byla podpořena projektem Ministerstva zdravotnictví České republiky Agenturou pro zdravotnický výzkum České republiky s číslem NU20-02-00368.

Vodivý hydrogel na bázi nového materiálu PEDOT:DBSA pro bioelektronické aplikace

Malečková R., Tumová Š., Smíšitel P., Kubáč L., Akerman J., Pešková M., Víteček J., Hubálek J., Vala M., Weiter M.

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická

Organické vodivé materiály ve formě tenkých vrstev se již poměrně běžně využívají v různých bioelektronických zařízeních k pokročilé diagnostice či stimulaci, jako jsou biosenzory, neurální sondy a elektrodová pole nebo iontové pumpy pro cílenou distribuci léčiv. To je možné hlavně díky unikátním vlastnostem těchto materiálů, především relativně dobré biokompatibilitě a schopnosti vést kromě elektronů také ionty. Díky tomu jsou tyto materiály schopné velmi dobrého přenosu signálu mezi biologickým prostředím a elektrickým zřízením ve srovnání s konvenčně používanými materiály. Jeden z hlavních faktorů ovlivňující tento přenos je i struktura a mechanická pevnost materiálu, který je v kontaktu s biologickým prostředím. Tenké vrstvy, které se v bioelektronických zařízeních používají nejčastěji, jsou však od biologického prostředí diametrálně odlišné. Především kvůli úplné absenci (nebo jen minimálnímu množství) vody v tenkých vrstvách jsou tyto materiály vzhledem k živé tkáni tvrdé a rigidní a na rozhraní zařízení a tkáně tak snadno dochází k zánětlivé reakci nebo zjizvení tkáně, což může negativně ovlivnit i přenos signálu a snižovat tak účinnost celého zařízení.

Odpovědi na tyto problémy mohou být vodivé hydrogely na bázi organických vodivých materiálů. Takové hydrogely mají díky vysokému obsahu vody ve své struktuře mechanické vlastnosti velmi podobné živým tkáním, na rozdíl od běžně používaných hydrogelů jako je želatina nebo agaróza jsou však i elektricky a iontově vodivé a představují tak ideální materiál pro tvorbu rozhraní mezi biologickým prostředím a elektronickým zařízením.

V této práci jsme připravili vodivý hydrogel pro použití v regenerativní medicíně na bázi zcela nového vodivého kompozitu, PEDOT:DBSA. Reologické testy ukázaly, že mechanickou sílu a pevnost hydrogelu stejně jako čas gelace je možné upravit na míru požadované aplikace změnou množství síťovacího činidla. LDH test biokompatibility xerogelů prokázal velmi dobrou biokompatibilitu tohoto materiálu v porovnání se standardní plastovou kultivační miskou. Struktura hydrogelu byla zkoumána pomocí skenovací elektronové mikroskopie a bylo zjištěno, že je členitého, houbovitého charakteru. Všechny tyto výsledky naznačují, že tento hydrogel má velký potenciál pro využití v různých oblastech regenerativní medicíny.

3D tisk keramických cementů pro aplikace v kostní regenerativní medicíně – klíčové parametry úspěšného tisku

Menčík P.^{1,2}, Hlíňáková K.¹, Lysáková K.¹, Příkryl R.², Vojtová L.¹

CEITEC Vysoké učení technické v Brně¹

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická²

Úvod: Fosfátové kostní cementy jsou známy od 80. let minulého století, nicméně jejich velmi pomalá bioresorpce, velice nízká porozita, křehkost a špatná injektovatelnost limituje jejich použití pro 3D tisk. Cementy, které jsme pro kostní náhrady vyvinuli, jsou směsí tixotropního gelu a keramického prášku na bázi fosforečnanu vápenatého. Takový materiál je citlivý na změnu teploty a zároveň v čase mění své reologické vlastnosti, kdy dochází k jeho samovytvrzování. Z toho důvodu je velmi specifické také jeho zpracování 3D tiskem.

Metodika: V této předkládané práci jsme porovnávali dva principy přímého 3D tisku na základě principu extruze cementu, kdy je tlak na materiál vyvíjený buď mechanicky nebo pneumaticky. Tiskové metody byly porovnávány z pohledu vybraných 3D tiskových parametrů. Pozorování je zaměřeno na množství extrudovaného materiálu, extruzní koeficient, rychlost tisku, průměr tiskové trysky a rozlišení tisku z pohledu malých tištěných objektů. Dále jsme hodnotili vzájemné souvislosti jednotlivých parametrů.

Výsledky: Mechanicky působený tlak na extrudovaný materiál je působen krokovým motorem, umožňující stabilní dávkování, které není odvislé od viskozity materiálu, případně změn viskozity. Působící tlak je limitován pouze silou použitého motoru. U tlakem řízené extruze je možné rychle obrátit směr působícího tlaku. To umožňuje retrakci při tisku a s tím spojenou vyšší přesnost výtisku. Tlak je možné nastavit na konkrétní průtok při konkrétní viskozitě tištěného materiálu. Limitní tlaky jsou zpravidla nižší než při použití mechanicky vyvolaného tlaku na tištěnou pastu.

Závěr: Z porovnání obou metod plyne mechanicky řízený systém extruze jako vhodnější pro tisk časově nestabilních cementových materiálů, zatímco tlakově řízený systém je vhodný pro tisk gelů a nízko plněných stabilních past.

Poděkování: Projekt profiBONE (TO01000309) je spolufinancován se státní podporou Technologické agentury ČR v rámci Programu KAPPA a fondů EHP z Islandu, Lichtenštejnska a Norska.

Vliv přípravy biopolymerních 3D porézních pěn na rychlost a množství uvolněného antibakteriálního enzymu

Michlovská L.¹, Brtníková J.¹, Sobolíčková L.², Kacvinská K.¹, Lipový B.^{1,3}, Kobzová Š.⁴, Raška F.³, Janda L.⁴, Vojtová L.¹

Středoevropský technologický institut (CEITEC), Pokročilé biomateriály, Vysoké učení technické v Brně¹

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie²

Klinika popálenin a plastické chirurgie Lékařské fakulty, Masarykova univerzita a Fakultní nemocnice Brno³

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno⁴

V důsledku zvyšující se rezistence některých bakteriálních kmenů vůči běžným antibiotikům se léčba bakteriálních infekcí stala celosvětovým problémem. Z tohoto důvodu je více než kdy jindy na pořadu dne hledání a vývoj alternativ k nadměru používaným antibiotikům. Jako jedna z vhodných náhrad se nabízí antibakteriální proteiny, enzymy a peptidy, oproti kterým nevzniká odolnost vůči bakteriím. V kombinaci s vhodnou antibakteriální vstřebatelnou biopolymerní maticí použitou jako jejich nosič tak vznikne elegantní, jednoduché a účinné řešení, především pro dlouhodobou léčbu infikovaných kožních ran. Důležitým faktorem při výběru vhodného antibakteriálního materiálu je rychlost uvolňování a způsob kterým se antibakteriální terapeutikum uvolňuje v místě bakteriální infekce. Z tohoto důvodu byl sledován vliv přípravy matrice a inkorporace antibakteriálních aktivních látek na jejich následné uvolňování. Cílem této práce bylo připravit antibakteriální, degradovatelný materiál s řízeným uvolňováním bioaktivních látek. Matrice založená na směsi kolagenu a různých derivátů celulózy byla připravena ve formě 3D porézních pěn metodou lyofilizace. V závislosti na formě celulózy (prášková, vláknitá), chemické modifikaci (zda byl nebo nebyl materiál chemicky síťovaný) a koncentraci antibakteriálního aditiva jsme připravili materiál pro krátkodobé i dlouhodobé uvolňování. Množství uvolněného antibakteriálního aditiva bylo stanoveno pomocí SDS-PAGE elektroforézy a

UV-vis spektrofotometrem s použitím Bradfordova činidla. 3D porézní pěny byly charakterizovány také z fyzikálního hlediska, kdy se kromě uvolňování sledovala i jejich absorpční kapacita, hydrolytická stabilita, morfologie a porozita.

Poděkování: Tato práce byla podpořena Ministerstvem zdravotnictví České republiky v rámci projektu č. NV19-05-00214.

Index biokompatibility antiseptik (cytotoxicita a antimikrobiální efektivita)

Pavlík V., Štěpánová M., Rusnáková K., Vágnerová H., Nešporová K., Velebný V.

Contipro, a.s.

Antiseptika jsou široce používána v prevenci a léčbě infekce, obzvláště u chronických ran. Jsou to širokospektré a neselektivní antimikrobiální látky. Nicméně ideální antiseptikum by mělo být toxičtější vůči bakteriím než proti eukaryotickým buňkám. Sledovali jsme proto antimikrobiální aktivitu a cytotoxicitu u oktenidinu dihydrochloridu, polyhexanidu (PHMB), PVP jódu, triklosanu, chlornanu sodného, iontového stříbra a manukového medu.

Byla použita mikrodiluční metoda (CLSI M07) ke zjištění minimální inhibiční koncentrace (MIC) antiseptik vůči bakteriím *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*. Inhibiční zóna antiseptik byla určena pomocí přímé kontaktní metody. Cytotoxicita byla změřena pomocí MTT testu na HaCaT keratinocytech a 3T3 fibroblastech a byla určena IC50. Poměrem IC50 pro 3T3 fibroblasty a MIC byl získán index biokompatibility (Müller and Kramer, 2008).

Všechna testovaná antiseptika vyvolala inhibiční zóny po aplikaci na bakteriální kultury. Antiseptika nejméně toxická ke kožním buňkám a přitom nejvíce antimikrobiálně účinná byla v pořadí od nejvyššího indexu biokompatibility: oktenidin > PHMB > PVP jód > triklosan >> stříbro > med > chlornan sodný. Müller a Kramer (2008), Hirsch et al. (2010), van Meurs et al. (2014) a Reddersen et al. (2019) také testovali antimikrobiální aktivitu antiseptik a cytotoxicitu pomocí jiných buněčných typů nebo metod. Výsledky těchto studií potvrzují, že oktenidin a PHMB jsou nejméně toxické, ale přesto účinné látky.

Toxicita antiseptik závisí na koncentraci. Nicméně, antimikrobiálně účinné koncentrace oktenidinu dihydrochloridu a polyhexanidu byly účinné proti bakteriím a méně toxické vůči kožním buňkám. Naopak stříbro, med a chlornan byly za antimikrobiálně účinných koncentrací také velmi toxické ke kožním buňkám.

Kryoprezervační médium pro klinické aplikace

Prát T., Nešporová K., Velebný V.

Contipro a.s.

Kryoprezervace patří mezi důležité nástroje pro uchovávání buněk a tkání pro další využití ve výzkumu a vývoji a také v klinické praxi při buněčných terapiích. Právě klinické aplikace kladou vysoké nároky na chemicky definované složení kryoprezervačního média, to např. vylučuje použití fetálního bovinního séra (FBS) jako součásti kryoprezervačního média v procesu přípravy buněčných léčivých přípravků.

Kryoprezervační médium také nesmí ovlivňovat vlastnosti buněk. Bohužel nejčastěji současně používané metody kryoprezervace se opírají o použití kryoprotektivní látky (CPA) dimethyl sulfoxidu (DMSO), která však může mít i cytotoxický efekt a je biologicky neinertní, tzn. mění jejich vlastnosti např. ovlivňuje expresi a epigenetiku buněk a negativně ovlivňuje i pluripotentnost kmenových buněk. Z těchto důvodů je žádoucí nahradit takovou CPA za látky, jejichž kryoprotektivní vlastnosti nejsou spojeny s nežádoucími účinky na buněčné kultury.

Na základě výsledků našeho výzkumu jsme identifikovali kyselinu hyaluronovou (HA), přirozenou součást extracelulární matrix buněk, jako látku s kryoprotektivním charakterem pro MSC. Proto jsme připravili kryoprezervační médium vyrobené ve farmakologicky čisté biotechnologické podobě. Toto médium neobsahuje žádné nedefinovatelné komponenty zvířecího původu (FBS-free) a umožňuje snížení potenciálně škodlivého DMSO na nejnižší možnou úroveň. Kryoprezervační médium obsahující HA je tak bezpečné, univerzální pro buněčné kultury různého původu a umožňuje dlouhodobé skladování buněk kryoprezervací.

Vývoj in vitro modelu osteoporotické kosti

Rampichová M.¹, Hedvičáková V.¹, Žižková R.¹, Vištějnová L.², Klein P.^{2,3}, Šebová E.¹, Wolfová L.¹, Filová E.¹

Akademie věd České republiky, Ústav experimentální medicíny¹

Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova²

Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova³

Používání laboratorních zvířat je v současné době velký etický problém a je kladen tlak na snižování jejich počtu. Z tohoto důvodu vzniká potřeba vytvoření pokročilých in vitro modelů, které by dobře odrážely pochody odehrávající se v organismu. Nejčastěji používaným in vitro modelem pro zkoumání kosti je monokultura primárních osteoblastů, nebo buněčných linií (jako např. buňky lidského osteosarkomu Saos-2, MG-63). V kosti však přirozeně probíhá neustálá remodelace její hmoty, která má za cíl opravu mikrotrhlin a udržuje tak kost pevnou a zdravou. Vedle osteoblastů, které tvoří kostní hmotu jsou tu tedy také klíčovými hráči osteoklasty – buňky resorbující kost.

V naší studii jsme chtěli zohlednit funkci obou těchto buněčných typů. Osteoblasty byly izolovány z kosti dospělých potkanů s indukovanou osteoporózou (indukce oboustrannou ovariektomií) a ze zdravých jedinců explantační metodou za účinku enzymů. Osteoklasty byly indukovány z periferních mononukleárních buněk izolovaných z krve. Pro oboje buňky bylo optimalizováno médium a poměr počtu potřebného k jejich nasazení do kokultury. Byla sledována metabolická aktivita, proliferace a dále markery typické pro osteoblasty (ALP) a osteoklasty (TRAP, CA II).

Metabolická aktivita byla srovnatelná pro buňky izolované ze zdravých i osteoporotických jedinců. Buňky z osteoporotických jedinců však vykazovaly nižší míru proliferace. Aktivita ALP byla vyšší u osteoporotických jedinců. Naopak nižší byla aktivita TRAP. Hodnota karbanické anhydrázy (CA II) byla srovnatelná u obou ko-kultur.

V rámci studie se nám podařilo optimalizovat ko-kulturu primárních osteoblastů a osteoklastů izolovaných z dospělých potkanů. Ko-kultury izolované ze zdravých a osteoporotických jedinců vykazovaly rozdíly zejména v aktivitě enzymů typických pro osteoblasty a osteoklasty. Vytvořený model se jeví jako zajímavá alternativa pro in vivo testování, nicméně je ještě potřeba další optimalizace, včetně přenosu ko-kultur do 3D prostředí tkáňového nosiče.

Poděkování:

Studie byla finančně podpořena z grantu Grantové agentury České republiky č. 18-09306S a v rámci programu „Research and Innovation Staff Exchange Program“, projekt iP-OSTEO “Induced pluripotent stem cell for bone and cartilage defects”, pod číslem 824007.

Využití femtosekundového laseru pro přípravu nanovláknenných nosičů pro tkáňové inženýrství sítnice

Studenovská H., Nováčková J., Machová L., Janoušková O., Thottappali M., Proks V.

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

Práce je zaměřena na přípravu nanovláknenných nosičů pro kultivaci buněk sítnicového epitelu. Nanovláknenné membrány byly připraveny elektrostatickým zvlákněním z roztoku poly(L-laktidu-DL-laktidu) v pyridinu. Pro zpevnění struktury pro snadnější manipulace během vysekávání nosiče a následné chirurgické aplikace byla jemná nanovláknenná membrána vyztužena rámečkem. Rámeček z PET folie je vyřezán pomocí femtosekundové laserové mikrořezací stanice s ultrakrátkými laserovými pulsy 800 nm generovanými v laserovém zesilovači LASER-USP (Coherent, Inc.) s opakující se rychlostí 1 kHz, má tloušťku 36 μm a šířka řezací stopy je 30 μm . Technika vyřezávání laserem umožňuje měnit tvar rámečku s ohledem na následné aplikace. Zároveň lze přidat kontrolní značky pro pozdější kontrolu orientace vzorku s ohledem na zachování správné apikobazální orientace nakultivovaných buněk pro implantaci do subretinálního prostoru. Mikrořezání pomocí laseru bylo aplikováno i na samotné vyřezání vzorků z kultivačního inzertu v přítomnosti kultivačního média, a to za plně sterilních podmínek. Viabilita osazených sítnicových buněk ARPE-19 na povrchu nanovláknenné membrány byla monitorována během různých částí přípravy vzorku. Byla srovnána technika vysekávání vzorku pomocí modifikovaného vysekávače a mikrořezání laserem. Životaschopnost buněk byla také vyhodnocena po protažení vyseknutého vzorku speciálním chirurgickým injektorem. Ultratenké nanovláknenné membrány s vysokou porozitou, jejichž součástí je nosný rámeček, splňují na rozdíl od komerčních membrán požadavky pro náročné chirurgické aplikace v oblasti tkáňového inženýrství sítnice.

Poděkování: Projekt je finančně podporován agenturou TAČR (the Norway Grants and Technology Agency of the Czech Republic, KAPPA project TO01000107).

Mechanické a strukturní vlastnosti vstřebatelných materiálů v simulovaných tělních podmínkách: in vitro vs. in vivo

Suchý T.^{1,2}, Karbáňová V.², Vištejnová L.³, Šupová M.¹, Horný L.², Chlup H.², Kronek J.², Žaloudková M.¹

Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH, AV ČR, v.v.i., Praha¹

Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Fakulta strojní ČVUT v Praze²

Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň³

Cílem in vitro pokusů je co možná nejlépe napodobit tělní podmínky, pro které je materiál určen a v nichž by měl plnit svou funkci. Důležitým aspektem pro jejich správné použití je potřeba dosáhnout vysokého stupně spolehlivosti při přenosu výsledků do prostředí nebo hraničních podmínek, které napodobují. Jinými slovy, spolehlivá interpretace výsledků. Hlavním problémem in vitro testů je tedy často špatná korelace s výsledky in vivo, jak na to upozornili například Hulsart-Billström a kol. v rozsáhlé studii, ve které srovnával výsledky 36 in vivo a 47 in vitro studií na 93 různých materiálech [1]. Dalším problémem studií in vitro je míra zjednodušení, neúplnost a nedostatek studií porovnávajících výsledky z obou prostředí na materiálech s podobným složením nebo vlastnostmi a nedostatečná standardizace experimentálních systémů a jejich parametrů [2].

V naší studii jsme porovnávali sedm různých prostředí, které jsou běžně využívány pro simulaci tělních podmínek. Kompozitní materiály na bázi kopolymerní nanovláknenné výztuže a kolagenové matrice byly po dobu čtyř týdnů exponovány ve fosfátovém pufru, Kokubově SBF, kultivačním roztoku bez a s lidskými dermálními fibroblasty, krevní plazmě a v enzymatických roztocích obsahujících kolagenázu nebo proteinázu K. Stejně materiály byly současně implantovány do peritonea pokusných potkanů. Cílem naší studie bylo posoudit vliv jednotlivých prostředí na mechanické a strukturní vlastnosti kompozitních materiálů a vybrat takové, které svým vlivem co možná nejvíce napodobuje skutečné tělní prostředí. Na základě tohoto výběru bylo možné provést rozsáhlou studii, ve které byla posuzována míra degradace několika typů analogických kompozitních materiálů určených pro přípravu bandáží využívaných v kardiovaskulární chirurgii. Výsledky naší srovnávací studie mohou dále napomoci ke snížení počtu pokusů na zvířatech s obecně uznávanými zásadami 3R, které formulovali W. Russell a R. Burch [3].

[1] Hulsart-Billström G. et al. Eur. Cells Mater. 2016, 31, 312-322, doi:10.22203/eCM.v031a20.

[2] Kruppke B. et al. J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater. 2020, 108, 3124-3133, doi:10.1002/jbm.b.34638.

[3] Russell W.M.S. et al. The principles of humane experimental technique, Methuen London, 1959.

Autoři děkují za finanční podporu této práce poskytnutou prostřednictvím projektu č. NU20-02-00368 AZV MZČR.

THP-1 a SaOS-2 kokultúra - in vitro model na testovanie anti-osteoporotických liečiv*Šebová E., Hedvičáková V., Sovková V., Filová E.**Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i.*

Osteoporóza je celosvetovo rozšírené ochorenie s vyšším rizikom u žien po menopauze a starších jedincov. Odanacatib (ODA), inhibítor katepsínu K (CTSK) bol skúmaný ako potenciálne antiosteoporotické liečivo inhibíciou resorpcie osteoklastov. Vývoj a ďalší výskum sa však zastavili v dôsledku zlyhania vo fáze III. klinických skúšok. U pacientov sa objavovali mŕtvice a krvné zrazeniny. Hlavnou myšlienkou tejto štúdie je nová stratégia liečby osteoporózy. Zameriavame sa na lokálny efekt nanočastíc s enkapsulovaným ODA so systematickým uvoľňovaním. Enkapsulované liečivo bude inkorporované do nosiča na vyplnenie kostného defektu alebo zlomeniny. Cieľom tejto štúdie bolo určiť najvhodnejšiu koncentráciu ODA. Tri koncentrácie – nízka (L), stredná (M), vysoká (H), boli testované in vitro na kostnom modeli a kontrola bez pridania ODA (C). Sledovaný bol špecifický účinok na osteoklasty a osteoblasty zapojené do prestavby kosti. Osteoklasty sú bunky resorbujúce kosť svojimi typickými enzýmami, tartrát-rezistentnou kyslou fosfatázou (TRAP) a CTSK. Inhibícia CTSK vedie k zníženej kostnej resorpcii a tým zvyšuje tvorbu novej kosti osteoblastmi. Ako in vitro model kosti sme použili kokultúru bunkových línií THP-1 a SaOS-2. ODA bol do kokultúry pridaný po vytvorení osteoklastov.

Parametre metabolickej a enzymatickej aktivity osteoklastov a osteoblastov boli stanovené v dni 1 (D1), 6 (D6) a 8 (D8). Metabolická aktivita buniek bola meraná MTS testom. Počas experimentu bola meraná osteoblastická aktivita alkalické fosfatázy (ALP) a osteoklastická aktivita karbonickej anhydrázy (CA II), TRAP a CTSK príslušnými testami enzymatickej aktivity. Metabolická aktivita s pridaním ODA bola signifikantne vyššia v D1 a D6 oproti kontrole. Aktivita CTSK bola efektívne znížená v D6. Pozorovali sme pozitívny vplyv ODA na aktivitu ALP v D1. ODA však ovplyvňuje aktivitu všetkých osteoklastických enzýmov, nielen aktivitu CTSK. Pozorovali sme mierny vplyv ODA aj na TRAP a CA II. Ďalšie experimenty nám pomôžu určiť koncentráciu ODA, ktorá inhibuje aktivitu CTSK, bez účinku na iné enzýmy. Znalosť pozitívnych aj negatívnych účinkov by mohla pomôcť aj pri testovaní nanočastíc s enkapsulovaným liečivom, čo je ďalšou súčasťou projektu. Zamedzenie negatívnym vedľajším účinkom a vyvinutie kostného modelu in vitro môže pomôcť vyhnúť sa komplikáciám in vivo, utrpeniu pokusných zvierat a zlepšiť prístup k preklinickým skúškam liečiv.

Podakovanie: Práca bola podporená grantom Technologickej agentúry ČR – FW01010662.

Využití LC-MS pro studium farmakokinetiky materiálů na bázi hyaluronanu

Šímek M., Brtková B., Šulc P., Foglová T., Hermannová M.

Contipro a.s.

Úvod: Polymerní materiály jako hyaluronan, dextran, polyethylenglykol a další představují zajímavé materiály pro medicínské a kosmetické aplikace, což zahrnuje produkty pro injekční aplikaci, implantáty nebo nosiče léčiv. Pro zlepšení fyzikálně-chemických vlastností nativních polymerů mohou být polymery chemicky modifikovány, což však může vést ke ztrátě biokompatibility a biologické rozložitelnosti. Před použitím těchto materiálů v klinické praxi je tak nutné otestovat jejich farmakokinetiku, metabolizaci a potenciální toxicitu jejich degradačních produktů. V minulosti byly farmakokinetické vlastnosti polymerních materiálů zkoumány technikami využívajícími radioaktivní nebo fluorescenční značení, avšak tento typ značení může ovlivnit in vivo chování materiálu. Navíc použití těchto metod přináší vždy sporné výsledky v tom smyslu, že není jasné, zda je detekována biodistribuce biodistribuce polymeru nebo samotné značky. Abychom překonali nevýhody těchto konvenčních postupů, zavedli jsme pro studium materiálů založených na hyaluronové kyselině citlivou a specifickou LC-MS analýzu a techniku značení ¹³C nezářivými izotopy.

Materiál a metody: ¹³C-hyaluronan a acylovaný hyaluronan byl v biologickém materiálu kvantifikován pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí. Příprava vzorků zahrnovala štěpení proteázou a degradaci hyaluronan lyázou ze *Streptococcus pneumoniae*. Enzymatickou degradací byly produkovány nenasycené acylované, ¹³C-značené a nemodifikované disacharidy, které byly následně kvantifikovány vysoce citlivými hmotnostními spektrometry typu trojitý kvadrupól (Waters Xevo TQ-XS, Agilent TQ 6495 nebo Thermo TSQ Altis Plus). Distribuce *M_w* aplikovaného materiálu v biologických vzorcích pak byla stanovena pomocí frakcionace SEC a následnou analýzou LC-MS. Pro metabolomické studie byly použity hmotnostní spektrometry s vysokým rozlišením (Waters Synapt G2-Si a Thermo Exploris 240).

Výsledky: Pro rozlišení exogenního hyaluronanu od endogenního byl pokusným zvířatům aplikován ¹³C značený hyaluronan, který byl biotechnologicky připraven z ¹³C-glukózy. Využití LC-MS a ¹³C značení umožňovalo jednak odlišit exogenní a endogenní hyaluronan, ale také identifikovat metabolity hyaluronanu a jeho derivátů.

Uvedená metodika byla úspěšně použita ke stanovení farmakokinetiky intraperitoneálně aplikovaných filmů z nativního a z lauroyl-modifikovaného hyaluronanu. Uvedené materiály byly postupně degradovány v peritoneální tekutině, absorbovány do lymfy, metabolizovány v játrech a eliminovány bez jakékoli akumulace v těle. Bezpečnost acylovaných derivátů hyaluronanu byla potvrzena metabolickou studií, která odhalila jeho degradaci na netoxické metabolity, tj. nativní hyaluronan a volnou mastnou kyselinu. LC-MS analýza navíc umožňuje simultánní stanovení řady sloučenin, např. polymeru a léčiva čehož bylo s úspěchem využito ke studiu micelárního nosiče z hyaluronanu, jeho účinnosti a stability in vivo.

Závěr: LC-MS analýza derivátů hyaluronanu a hyaluronanu značeného stabilními izotopy představuje unikátní přístup pro studium degradability a metabolizace biologicky rozložitelných materiálů na bázi hyaluronanu.

Antiapoptotic effect of small extracellular vesicles isolated from cultured medium from neural stem cells on spinal cord injury in vitro

Šprinc V., Šintáková K., Arzhanov I., Romanyuk N.

2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy; Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i.

Spinal cord injury (SCI) is a severe injury with lifelong consequences. Despite recent advances, it's complicated pathology leaves SCI without any effective treatment. One of the promising approaches is transplantation of neural stem cells (NSCs), which has been shown to have neuroprotective and immunomodulatory effects in SCI. One of the ways in which NSCs communicate with damaged tissue is through small extracellular vesicles (sEVs), which are thought to have regenerative potential. sEVs contain miRNA which we believe based on published works and our previous research is the main reason of positive effect of NSCs in SCI. We used sucrose cushion ultracentrifugation to isolate sEVs from cultured medium from NSCs (NSC-sEVs). Then we characterised NSC-sEVs based on their size, expressed exosomal markers and miRNA content.

Using MADLS measurements we determined that the size of isolated NSC-sEVs was between 30-150 nm. Immunoblotting method showed the presence of exosomal markers such as Alix, TSG101, CD9, CD63 and CD81 on the surface of isolated NSC-sEVs. We also demonstrated that NSC-sEVs cargo contained several potentially neuroprotective miRNA, such as miR-20a5-p, miR-320a-5p, miR-24-3p and miR-21a-5p.

To evaluate therapeutic potential of NSC-sEVs, we applied their suspension on the injured spinal cord tissue in vitro. We show that treatment with NSC-sEVs led to a decrease in the expression of GFAP, pSTAT3, cleaved PARP, cleaved Caspase -3 and -7, compared to injured tissue.

Our results suggest that NSC-sEVs have anti-apoptotic and neuroprotective effects when applied on in vitro model of SCI.

Correlative Light-Environmental Scanning Electron Microscopy and Freeze fracture replica immunogold TEM to study auxin carriers organization within the plasma membrane

Tihlarikova E., Stelate A., Neděla V., Vlček E., Philimonenko V., Petrášek J., Martínek F.

Institute of Scientific Instruments, Academy of Sciences of the Czech Republic; Department of Experimental Plant Biology, Faculty of Science, Charles University

The PIN-FORMED (PIN) are integral plasma membrane proteins that mediate the transport of the plant hormone auxin across membranes. The structure of the PIN proteins consists of two transmembrane bundles with five α -helices connected by a cytosolic loop. A detailed understanding of the nano-organization of these proteins within the plasma membrane (PM) requires high-resolution and planar views of the PM. Total internal reflection fluorescence microscopy (TIRFM) provides us with the desired view, but resolution remains an obstacle. To overcome this limitation, we have developed a novel correlative light electron microscopy method (CLEM) using total internal reflection fluorescence microscopy (TIRFM) and advanced environmental scanning electron microscopy (A-ESEM). Using this technique, we determined the number of auxin efflux carriers from the PINFORMED (PIN) family (NtPIN11-GFP, NtPIN2-GFP, NtPIN3-GFP) within the PM nanodomains of tobacco cell PM ghosts. Although this method allows us to study details of auxin carrier organization, for this technique the removal of cell wall is necessary, which might influence the native physiological state of PM and proteins. As a complementary approach, we have introduced whole cell freeze-fracture replica GFP immunolabeling. For this purpose, we used tobacco BY-2 cells carrying an β -estradiol-inducible versions of NtPIN11-GFP, NtPIN2-GFP, and NtPIN3-GFP tagged with GFP inserted within their cytosolic loops. The comparison between these two techniques allows us to evaluate the nano-organization of NtPINs in the replicas of “native state” (BY-2 cells) and in the PM ghost representing isolated plasma membrane without cell wall context. Interestingly, these two approaches allowed us to conclude that the spatial distribution of all PINs is similar in isolated PM ghosts and replicas from whole cells, pointing to the importance of protein-phospholipid composition of PM, while cell wall interaction is rather instructive for the mobility of individual PINs within the PM.

Nové organické materiály na bázi PEDOT pro bioelektronické aplikace

Tumová Š., Malečková R., Kubáč L., Akerman J., Enev V., Kalina L., Vojtková E., Víteček J., Vala M., Weiter M.

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická

Jednou z velkých výzev v oblasti bioelektroniky je příprava aktivního materiálu s ideálními vlastnostmi. Mezi ty patří zejména vhodná kombinace iontové a elektrické vodivosti, výborná biokompatibilita a stabilita ve vodném prostředí a mechanické vlastnosti podobné tkáním. Organický polovodič poly(3,4-etylendioxythiofen):poly(styrensulfonát) (PEDOT:PSS) je jedním z nejčastěji využívaných materiálů v bioelektronice, nicméně se ukazuje, že biokompatibilita tohoto materiálu není dostatečná. Tato práce je tak zaměřena na materiálový výzkum a cílí na přípravu organického polovodiče s lepšími vlastnostmi v porovnání s PEDOT:PSS, se zvláštním důrazem na biokompatibilitu.

PEDOT:PSS nabízí v porovnání s ostatními organickými polymery unikátní vlastnosti, proto byla snaha zvýšit biokompatibilitu tohoto materiálu modifikací jeho povrchu RGD peptidem. Ten byl na tenkou vrstvu polymeru vázán pomocí fotochemické metody využívající linker Sulfo-SANPAH. Úspěšné navázání peptidu bylo potvrzeno několika metodami a bylo zjištěno, že vedlo ke zvýšení relativní životaschopnosti kultivovaných buněk o přibližně 25 % v porovnání s čistým PEDOT:PSS.

Nedostatečná biokompatibilita PEDOT:PSS je přisuzována zejména jeho protiiontu PSS, který je mírně cytotoxický a brání správné adhezi buněk. Byl tedy syntetizován PEDOT dopovaný dodecylbenzensulfonovou kyselinou, PEDOT:DBSA. Byly studovány základní vlastnosti tohoto materiálu, které byly následně optimalizovány s ohledem na aplikace v bioelektronických zařízeních. Biokompatibilita tohoto materiálu je bezmála dvojnásobná v porovnání s polymerem PEDOT:PSS. Síťováním za využití (3-glycidyloxypropyl)trimetoxysilanu (GOPS) bylo dosaženo kompletní stabilizace tenkých vrstev PEDOT:DBSA ve vodném prostředí, zcela odolávající delaminaci i redisperzi po dobu minimálně 21 dní. Ošetřením tenkých vrstev kyselinou sírovou pak bylo dosaženo vodivosti na úrovni materiálu PEDOT:PSS. Tímto způsobem tak byl připraven materiál vykazující vylepšené vlastnosti v porovnání s PEDOT:PSS.

Aktivní materiál většiny bioelektronických zařízení je ve formě tenké vrstvy, která ale není vhodná pro kontakt s živými tkáněmi, zejména kvůli rozdílným fyzikálním a mechanickým vlastnostem. Tenká vrstva je na rozdíl od měkkých tkání rigidní a obsahuje pouze minimální množství vody. Tyto rozdíly negativně ovlivňují vytváření vhodného rozhraní tkáň-bioelektronika, což výrazně snižuje efektivitu bioelektronického zařízení, a mohou také vyvolávat nežádoucí reakce organismu. Naproti tomu hydrogely mají tkáni podobné vlastnosti a jsou tak považovány za ideální prostředí pro živé buňky. Tato práce se tak zaměřuje také na přípravu vodivého PEDOT:PSS a PEDOT:DBSA hydrogelu. Hydrogel vzniká spontánně po dopování polymerní suspenze povrchově aktivní látkou. Bylo zjištěno, že oba typy hydrogelů vykazují biokompatibilitu srovnatelnou s kulturačním plastikem a jejich mechanické vlastnosti, stejně jako dobu gelace, je možné jednoduše upravit, což umožňuje přípravu struktur optimalizovaných pro konkrétní aplikace.

3D modely arteriálních stenóz a aneurysmat pro studium distribuce léčiv

Vítečková Wünschová A.^{1,2}, Trdlicová J.³, Hejčl A.^{4,5,6}, Hron J.³, Víteček J.^{5,7,8}

Oddělení farmakologie a toxikologie, Výzkumný ústav veterinárního lékařství¹

Ústav anatomie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita²

Matematický ústav, Matematicko-fyzikální fakulta, Karlova univerzita³

Úvod: Cévní patologie jako jsou arteriální stenózy a aneurysmata představují významné riziko. Jejich vývoj je velmi individuální a obecně aplikovatelná léčba dosud nebyla uspokojivě rozvinuta. Cílená distribuce farmak pro léčbu pacientů s těmito cévními patologiemi je stále nedostatečně prozkoumána. Cílem práce bylo zjistit, zda 3D realistické modely arteriálních stenóz a aneurysmat mohou sloužit pro predikci distribuce potenciálních nosičů léčiv.

Metodika: Základem pro 3D modely byla data z CT snímků pacientů (stenóza v místě bifurkace vnitřní karotidy a aneurysma střední mozkové tepny). Modely arteriální stenózy byly připraveny ze silikonu s využitím 3D tisku (technologie depozice taveniny) negativu lumenu této stenózy. Zatímco modely arteriálního aneurysmatu byly vytištěny přímo prostřednictvím stereolitografie. Přesnost modelů byla vyhodnocena pomocí CT s následnou 3D rekonstrukcí a registrací získaných dat. Modely byly zapojeny do průtokového systému. Jako protékající medium byla využita směs glycerinu a vody napodobující chování krve. V modelech byla sledována agregace mikročástic - potenciálních nosičů léčiv v závislosti na charakteru proudění.

Výsledky: Obě technologie tisku poskytly velmi přesné cévní modely v porovnání s výchozími CT daty: Střední vzdálenost mezi odpovídajícími částmi modelu stenózy činila 0,3 – 0,5 mm. Tento parametr se pro modely aneurysmatu pohyboval v rozmezí 0,2 – 0,3 mm. Agregace mikročástic probíhala přednostně v oblastech s radikálně sníženou rychlostí průtoku tj. v bifurkaci cév ve stenóze a v koncové části výdutě aneurysmatu.

Závěr: 3D tisk může poskytnout velmi přesné cévní modely arteriálních stenóz a aneurysmat. Tyto modely je možné využít pro predikci distribuce potenciálních nosičů léčiv.

Výzkum byl podpořen projekty AZV NV19-04-00270 a NU22-08-00124.

Biodegradabilní kompozitní materiály pro prevenci peritoneálních adhezí*Klíčová M.¹; Puchřík M.¹; Rosendorf J.²; Liška V.²; Horáková J.¹**Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů, Fakulta textilní, Technická univerzita v Liberci, Česká republika¹**Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň, Česká republika²*

Úvod: Tvorba peritoneálních adhezí po operacích gastrointestinálního traktu představuje závažnou pooperační komplikaci. Peritoneální adheze neboli srůsty vznikají v důsledku poranění peritonea a častou vedou k reoperaci, poruchám peristaltiky, založení stomie a značnému snížení kvality života pacienta. I přes závažnou následků se stále nepodařilo vyvinout materiál, který by vedl ke snížení incidence této komplikace. V prezentovaném výzkumu bude popsána metoda přípravy dvouvrstvého biodegradabilního materiálu pro krytí střev po operacích. Vyvíjený materiál má cílit na efektivní snížení buněčné adheze a prevence pooperačních srůstů. Na druhou stranu je zásadní, aby materiál z jedné strany přilnul k vytvořenému střevnímu spoji (anastomóze). Z tohoto důvodu je materiál tvořen dvěma vrstvami: biodegradabilní strukturovanou polymerní fólií (1) a polymerními nanovláknny (2). Řízeně strukturovaná polymerní fólie výrazně snížila buněčnou adhezi a bude tak sloužit jako vnější strana materiálu; naopak vnitřní strana na bázi nanovláken podpořila adhezi myších fibroblastů na materiál. Kompozitní materiál je plně rozložitelný, vyrobený na bázi medicínsky schválených biodegradabilních polyesterů a jeho hierarchie umožňuje širokou škálu funkcionalizací pro dosažení žádoucích vlastností.

Metodika:***Příprava vrstvy na bázi polymerní fólie***

Bylo připraveno 25 g roztoku PDX v TFE o hmotnostní koncentraci 3 %, a to rozpuštěním cca 0,75 g PDX ve formě krátkých ústřížků vlákna pro výrobu stentů (výrobce ELLA-CS s. r. o., šarže M20000153) v 24,25 g TFE (výrobce TCI). Do lahvičky s roztokem bylo přidáno magnetické míchadlo a roztok byl míchán při laboratorní teplotě po dobu 24 hodin, aby se PDX zcela rozpustil v TFE. Tři předem vyčištěná sklíčka byla umístěna do klimatizované komory, ve které byly předem nastaveny následující podmínky: teplota 23 °C, relativní vlhkost 55 %. Pomocí injekční stříkačky bylo na každé sklíčko naneseno cca 2 ml roztoku PDX v TFE. Sklíčka s tenkou vrstvou roztoku byla ponechána v klimatizační komoře po dobu 24 hodin, během kterých došlo k odpaření rozpouštědla a vytvoření PDX fólií. Vzorky byly odebrány a pozorovány pod elektronovým mikroskopem.

Příprava nanovláknenné vrstvy

Ke zvláknování bylo připraveno 100 g (přibližně) 10% roztoku PDX v TFE rozpuštěním 10,08 g krátkých ústřížků PDX vlákna pro výrobu stentů (výrobce ELLA-CS s. r. o., šarže M20000153) v 90,71 g TFE (výrobce TCI). Roztok byl míchán 24 hodin při pokojové teplotě, aby došlo k úplnému rozpuštění PDX v TFE. Povláknovány byly tenké fólie PDX o rozměru přibližně 4,5 × 7 cm, připravené v rámci předchozích experimentů nanesením 3% roztoku PDX v TFE na předem očištěná sklíčka a ponechání po dobu 24 hodin za definovaných podmínek, aby došlo k odpaření rozpouštědla.

Ke tvorbě nanovláken bylo použito zařízení Nanospider NS 1WS500U (Výrobce: Elmarco). Před

zvlákněním byla vždy dvojice PDX fólií připevněna ke spunbondové textilií, která procházela komorou zvláknovacího zařízení jako podklad pro zachytávání nanovláken.

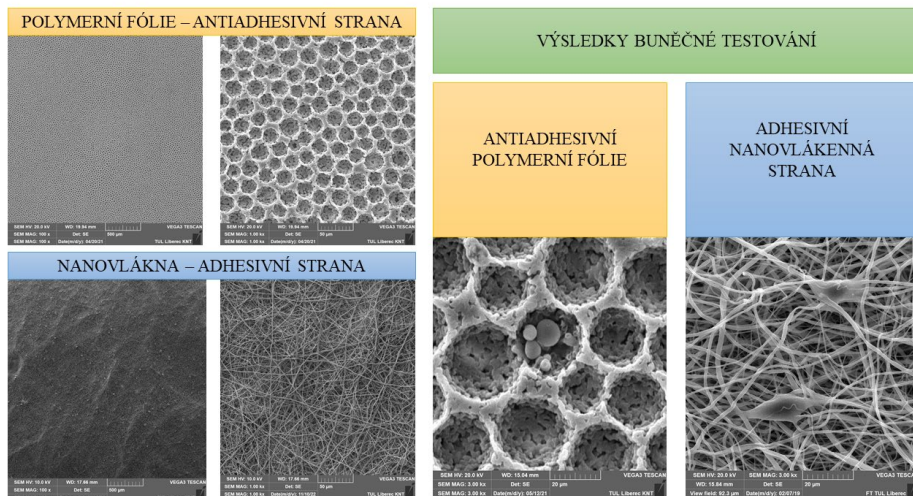
Charakterizace připravených kompozitních materiálů

Připravený materiál byl pozorován pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM) typu Vega 3SB Easy Probe (TESCAN, CZE) pro ověření struktury obou stran materiálu.

Testy buněčné adheze byly provedeny na vysterilizovaných (ethylen-oxid, pokojová teplota, Anprolene, USA) samostatných materiálech (nikoli na obou stranách kompozitu) pomocí buněčné linie 3T3 myších fibroblastů (ATCC, USA). V tomto příspěvku jsou uvedeny výsledky morfologie fibroblastů po sedmi denní kultivaci.

Výsledky:

Na přiložených SEM snímcích na Obrázku 1 jsou ukázány obě strany kompozitního materiálu. Ze snímků lze vidět, že došlo k vytvoření strukturované fólie. Fólie byla strukturována pravidelně; nanovláknenná adhezivní strana byla homogenní, neobsahovala žádné defekty. Na Obrázku 1 lze vidět i výsledky buněčné adheze. Struktura polymerní fólie preventovala adhezi fibroblastů, buňky se vyskytovaly pouze ojediněle, měly zakulacený tvar a nedocházelo k jejich rozptýlení po celém povrchu fólie. Nanovláknenná vrstva naopak podporovala buněčnou adhezi, buňky se nacházely po celém materiálu v přirozeném tvaru. Bude provedeno další testování vlastností připraveného kompozitního materiálu a bude ověřena schopnost anti/adhezivního chování *in vivo* na zvířecích modelech.



Obrázek 1: SEM snímky obou stran (anti/adhezivní) připraveného kompozitu (vlevo). Morfologie 3T3 fibroblastů na připravených materiálech po týdenní kultivaci.

Závěr: V předkládaném příspěvku byl popsány základní vlastnosti nově vyvíjeného kompozitního materiálu pro prevenci pooperačních komplikací. V prvotní fázi vývoje se podařilo homogenně a opakovatelně připravit kompozitní dvou-vrstvu na bázi biodegradabilního polymeru ve formě nanovláken a fólie. Počáteční testování prokázalo potenciál anti/adhezivního charakteru, pro další ověření bude pokračováno v charakterizaci a testování na velkém zvířecím modelu.

Práce byla podpořena projektem MZ ČRAZVNU20J-08-00009 Prevence střevního anastomotického leaku a pooperačních adhezí pomocí nanovlákných biodegradabilních materiálů.

Degradace a mineralizace porézních scaffoldů na bázi silk fibroinu v simulovaných tělních podmínkách

Poláková D.^{1,2}, Jablonská E.³, Kulhánková J.¹, Víchová I.¹, Rysová M.¹, Martinová L.¹, Ševců A.¹

Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace, Technická univerzita v Liberci¹

Fakulta mechatroniky, informatiky a mezioborových studií, Technická univerzita v Liberci²

Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze³

Úvod: Silk fibroin (SF) je přírodní polymer izolovaný z kokonů bource morušového a je tradičně využíván především v textilním průmyslu jako přírodní hedvábí. Díky své biokompatibilitě a nízké imunogenicitě je však studován i pro aplikaci v regenerativní medicíně.

Metodika: Porézní scaffoldy na bázi SF byly připraveny lyofilizací a následně stabilizovány. Po radiační sterilizaci byly scaffoldy inkubovány v simulované tělní tekutině a zároveň byly identicky připravené materiály inkubovány i v přítomnosti linie lidských kostních buněk v kultivačním médiu. Byla sledována degradace materiálů a tvorba mineralizované extracelulární hmoty kostních buněk.

Výsledky: Ve srovnání samotné simulované tělní tekutiny a média s kostními buňkami probíhala degradace scaffoldů SF výrazně rychleji v přítomnosti kostních buněk. Zároveň přítomnost materiálu na bázi SF měla na buňky linie Saos-2 protektivní účinek. Tvorbu mineralizované extracelulární hmoty přímo na scaffoldech nebylo možné z důvodu silné absorpce alizarinové červeně na testované materiály vyhodnotit.

Závěr: Porézní scaffoldy na bázi silk fibroinu jsou v přítomnosti kostních buněk v simulovaných tělních podmínkách degradovatelné. Zároveň testované scaffoldy vykazují protektivní účinek na linii lidských kostních buněk a jsou proto vhodným kandidátem pro aplikaci v oblasti regenerace kostní tkáně.

Antibakteriálne anorganické nanočastice v biopolymérnych krytoch rán pre liečbu infikovaných rán

Poláková V.¹, Dorazilová J.¹, Brtníková J.¹, Šmerková K.², Fialová T.², Košarišťanová L.², Vojtová L.¹

CEITEC – Středoevropský technologický institut, Pokročilé biomateriály, Vysoké učení technické, Brno¹

Ústav chemie a biochemie, Mendelova univerzita, Brno²

Úvod: V rámci tejto práce je prezentovaný inovatívny prístup k príprave kolagénových krytov rán obohatených o antibakteriálne medené nanočastice pre liečbu infikovaných rán.

Metodika: Boli navrhnuté dve metódy prípravy kolagénových krytov rán s inkorporovanými antibakteriálnymi medenými nanočasticami: povrchová a objemová. V oboch prípadoch bola vykonaná optimalizácia metódy, pre zaistenie postupného uvoľňovania medi do prostredia infikovanej rany. Na pripravených vzorkách bola vykonaná morfológická analýza pomocou skenovacej elektrónovej mikroskopie, testy stability, testy antibakteriálnej aktivity a bolo pozorované postupné uvoľňovanie medi zo vzoriek.

Výsledky: Výsledkom tejto práce je povrchová a objemová metóda prípravy poréznych krytov rán obohatených o medené nanočastice pre hojenie infikovaných rán. Kryty rán boli pripravené lyofilizáciou z kolagénu v kombinácii s karboxymetylcelulózou, ktorá vďaka svojej hydrofilnej povahe napomáha rovnomernej inkorporácii medených nanočastíc a podporuje mokré hojenie rany. Boli využité medené nanočastice, ktoré majú preukázané antibakteriálne účinky a med', ako biogénny prvok, v ľudskom tele podporuje tvorbu priečných väzieb v kolagéne a elastíne. Častice boli enkapsulované do polymérnych kapsúl, pre zvýšenie ich stability, zníženie cytotoxicity a zaistenie postupného uvoľňovania medi. Z výsledkov morfológickej analýzy bolo zistené, že enkapsulované nanočastice boli rozptýlené v celom objeme vzoriek. Testy antibakteriálnej aktivity preukázali, že vzorky boli účinné najmä voči Gram-pozitívnym baktériám, ako *Staphylococcus aureus* a multirezistentným druhom akým je meticilín-rezistentný *Staphylococcus aureus*. Z testov stability bolo zistené, že prítomnosť medi výrazne ovplyvňuje stabilitu niektorých vzoriek.

Záver: Obohatením kolagén-karboxymetylcelulóзовých krytov rán o enkapsulované antibakteriálne nanočastice sa zvýši hojaci potenciál materiálu a umožní tak efektívnejšie hojenie infikovaných rán.

Podakovanie: Táto práca bola podporená Ministerstvom zdravotníctví České republiky v rámci projektu č. NV19-05-00214 a bola vypracovaná s podporou výskumnej infraštruktúry CzechNanoLab (ID LM2018110, MŠMT, 2020-2022), CEITEC Vysoké učení technické v Brně.

3D tisk a buněčná odezva kompozitů na bázi poly(3-hydroxybutyrátu)

Melčová V.¹, Příkryl R.¹, Krobot Š.¹, Kontárová S.¹, Chaloupková K.¹, Rampichová M.², Hedvičáková V.², Vojtová L.³

Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně, Purkyňova 464/118, CZ-612 00 Brno¹

Institut experimentální medicíny AV ČR, Vídeňská 1083, CZ-142 20 Praha 4²

CEITEC, Vysokého učení technického v Brně, Purkyňova 656/123, CZ-612 00 Brno³

Úvod: Autoři prezentují výsledky zpracování, materiálové a biologické charakterizace připravených směsí dvou biodegradabilních polymerů poly(3-hydroxybutyrátu) a polylaktidu, změkčovadla Syncroflex 3114 a bioaktivního fosfátového plniva s obsahem hydroxyapatitu a trikalciium fosfátu.

Metodika: Pro charakterizaci co nejširšího rozsahu složení byla zvolena metoda plánovaného experimentu. Aby byla ve směsi majorita PHB a s ohledem na zpracovatelnost byl poměr polymerů PHB/PLA v testovaných směsích od 50/50 do 95/5. Testovaný rozsah množství změkčovadla je 6-12 hm% a plniva 5-28 hm%. U všech směsí byla charakterizovaná tisknutelnost pomocí míry warpingu a zjištěny termické a mechanické vlastnosti, a to v ohybu a tlaku. Dále byly u 7 vzorků s extrémy ve složení provedeny testy viability a proliferace (vizualizace, MTS test a kvantifikace DNA) a osteogenní diferenciaci (aktivita ALP a mineralizace)

Výsledky: Ze všech testovaných receptur byla úspěšně připravena 3D tisková struna a charakterizovaná jejich tisknutelnost. Vzorky s nejvyšším plněním HAP/TCP vykazovaly vysokou křehkost a vzorek s nejvyšším obsahem PHB značnou míru warpingu, složení těchto receptur je tedy bráno jako limitní pro použití. Nejnižší míra warpingu byla naopak pozorována pro střední obsahy PHB a nízké obsahy změkčovadla v testovaném rozsahu. Největší vliv na mechanické vlastnosti, konkrétně moduly v ohybu a v tlaku a pevnost v ohybu, má množství přidaného změkčovadla, které tyto hodnoty snižuje. Naopak zvýšení těchto mechanických charakteristik dosáhneme přidávkou plniva a zvýšením obsahu PLA v polymerní směsi. Nejvyšší metabolická aktivita a proliferace byla naměřena u vzorku s obsahem 50% PHB, 26% PLA, 18% plniva a 6% změkčovadla, a dále u vzorku s obsahem 42% PHB, 22% PLA, 27% plniva a 9% změkčovadla. Nejnižší metabolická aktivita naopak u vzorku obsahující nejvyšší množství změkčovadla. Míra osteogenní diferenciaci byla vyrovnaná u všech vzorků, 21. den již nedocházelo k nárůstu aktivity ALP, po 14. a 21 dnech testu byla na nosičích detekována mineralizace. Pomocí matematického modelu byla zjištěna teoretická receptura, která by měla dosahovat ideálních vlastností pro přípravu scaffoldu - minimální warping, maximální ohybová pevnost a maximální tlakový modul.

Závěr: Všechny testované směsi jsou biokompatibilní, nejvyšší metabolická aktivita, proliferace i míra osteogenní diferenciaci byla u vzorku s 50% poly(3-hydroxybutyrátu), 26% polylaktidu, 18% plniva HAP/TCP a 6% změkčovadla

Uvoľňovanie a charakterizácia biologicky aktívneho proteínu z 3D kolagénových a celulózových pien

Ízsák D.¹, Kacvinská K.¹, Židek J.¹, Kutálková K.², Vojtová L.¹

CEITEC – Stredoeurópsky technologický inštitút, Vysoké učení technické v Brně¹

Enantis s.r.o., Brno²

Úvod: V tejto práci je uvedená analýza a charakterizácia 3D poréznych pien na báze kolagénu a karboxymetylcelulózy ako nosiče biologicky aktívneho proteínu (FGF2-STAB®) pre akcelerované hojenie a regeneráciu kostí.

Metodika: Pomocou lyofilizácie boli pripravené jedno- a dvojzložkové porézne peny. Biomateriály použité na výrobu nosičov boli boviný kolagén, a prášková/vláknitá karboxymetylcelulóza. Dvojzložkové nosiče pozostávali zo vzájomných kombinácií týchto biomateriálov. Pre overenie vplyvu sieťovania a prostredia prípravy na uvoľňovanie rastového faktoru niektoré typy nosičov boli sieťované v EDC/NHS, alebo pripravené namiesto ultračistej vody v PBS. Do pien bol pridaný stabilizovaný FGF-STAB® a bolo sledované jeho uvoľňovanie pomocou PAGE-SDS. Morfológia pien sa analyzovala pomocou SEM, a ďalšia charakterizácia bola realizovaná pomocou botnania, hydrolytického rozpadu a enzymatickej degradácie.

Výsledky: Výsledky ukázali, že najvyššiu absorpčnú kapacitu po 1 hodine mali peny sieťované pomocou EDC/NHS. V porovnaní so sieťovanými mali jednozložkové nesieťované nosiče približne dvakrát nižšiu absorpčnú kapacitu, ale stále podstatne vyššiu ako nesieťované peny pripravené v PBS. Čo sa týka hydrolytickej stability sieťované peny vykazovali najvyšší čas rozpadu (21 dní). Nesieťované nosiče sa rozpadli po 3 dňoch analýzy. Bola potrebná optimalizácia metódy na sledovanie uvoľňovania rastového faktoru. Uvoľňovanie sa sledovalo v intervaloch 15; 30; 60 min. a vyhodnocovala sa pomocou PAGE-SDS. Sieťované nosiče vykazovali postupnejšie uvoľňovanie aktívnej látky v porovnaní s ostatnými penami. Po 60 minútach stále obsahovali približne 30% pridaného proteínu. Nesieťované peny a peny pripravené v PBS uvoľnili 100% inkorporovaného proteínu po 60 minútach. Na testoch biologickej aktivity FGF2-STAB® uspeli všetky výluhy z analýzy uvoľňovania.

Záver: Najvhodnejšími materiálmi pre regeneráciu a hojenie kostí sú sieťované peny z čistého boviného kolagénu a boviného kolagénu s práškovou karboxymetylcelulózou, ktoré vykazovali vyššiu stabilitu a postupnejšie uvoľňovanie aktívnej látky pre akcelerované hojenie.

Podakovanie: Táto práca bola podporená Technologickou agentúrou Českej republiky v rámci projektu č. TO01000309 a bola vypracovaná s podporou výskumnej infraštruktúry CzechNanoLab (ID LM2018110, MŠMT, 2020-2022), CEITEC Vysoké učení technické v Brně. FGF2-STAB® bol dodávaný spoločnosťou Enantis s.r.o.