



X. mezinárodní konference

BIO

2018

IMPLANTOLOGIE



26. – 27. dubna 2018

PROGRAM KONFERENCE / SBORNÍK ABSTRAKT



SYMMA

KONFERENCE / KONGRESY / SYMPOZIA

VÁŠ OSVĚDČENÝ PARTNER PŘI REALIZACI

- ◆ KONGRESŮ
 - ◆ KONFERENCÍ
 - ◆ SYMPOZIÍ
 - ◆ FIREMNÍCH PREZENTACÍ
 - ◆ SPOLEČENSKÝCH AKCÍ
 - ◆ DOPROVODNÝCH PROGRAMŮ
 - ◆ VZDĚLÁVACÍCH KURZŮ
 - ◆ PR SLUŽEB

WWW.SYMMA.CZ

Společnost pro bioimplantologii ČLS JEP
Fakulta chemická, Ústav chemie materiálů VUT v Brně
Central European Institute of Technology (CEITEC)
a
Biomedicínské centrum Lékařské fakulty UK v Plzni
pořádají
jubilejní
X. mezinárodní konferenci

BIOIMPLANTOLOGIE 2018

26. – 27. dubna 2018,
Brno, hotel Myslivna

Generální partner konference



Předsedkyně programového výboru

MUDr. Barbara Kubešová

předsedkyně Společnosti pro bioimplantologii ČLS JEP

Členové programového výboru

doc. MUDr. Daniel Lysák, Ph.D.

Hematologicko-onkologické oddělení, Fakultní nemocnice Plzeň

Ing. Tomáš Suchý, Ph.D.

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

MUDr. Petr Vališ, Ph.D.

Ortopedická klinika LF MU a Fakultní nemocnice Brno

Ing. Lucie Vištejnová, Ph.D.

Biomedicínské centrum Lékařské fakulty UK v Plzni

doc. Ing. Lucy Vojtová, Ph.D.

Pokročilé polymerní materiály a kompozity, CEITEC VUT v Brně

Hlavní témata konference

- **kultivace buněk, jejich růst a transformace**
 - **kmenové buňky**
 - **klinické aplikace tkání a buněk**
 - **preklinická testování**
- **mechanické aspekty biomplantologie a tkáňového inženýrství**
 - **nové materiály, technologie a zobrazovací metody pro bioimplantologii a tkáňové inženýrství**
 - **trendy a vize v biomplantologii**

Organizační garant konference

SYMMA, spol. s r.o.

Aleš Martinek

Olomoucká 797/80

618 00 Brno

Mobil: +420 607 650 654

E-mail: a.martinek@symma.cz

www.symma.cz

8.00 – 13.00 hod Registrace účastníků

9.00 – 9.15 hod Zahájení konference

9.15 – 10.30 hod Přednáškový blok I.

**Předsednictvo: MUDr. J. Holoubek,
Mgr. E. Filová**

Deset let s konferencí Bioimplantologie

Kubešová B.

Společnost pro bioimplantologii ČLS JEP

Vplyv nanoštrukturovanej zliatiny titánu Ti39Nb na rast a diferenciaciu mezenchymálních kmeňových buniek

Filová E.¹, Voltrová B.¹, Fojt J.², Jarolímová P.², Blahnová V.¹, Matějka R.³, Joska L.², Daniel M.⁴

Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i., Praha¹

Fakulta chemické technologie VŠCHT v Praze²

Fakulta biomedicínského inženýrství ČVUT v Praze, Buštěhrad³

Fakulta strojní ČVUT v Praze⁴

Recellularization of chemically modified porcine pericardium with adipose tissue-derived stem cells using pressure loading

Filová E.¹, Pražák Š.¹, Matějka R.^{1,2}, Štěpanovská J.^{1,2}, Musilková J.¹, Riedelová Z.³, Kučerová J.³, Koňářík M.⁴, Pirk J.⁴, Honsová E.⁴, Brynda E.³, Bačáková L.¹

Institute of Physiology, CAS, Prague¹

Faculty of Biomedical Engineering, Czech Technical University in Prague, Kladno²

Institute of Macromolecular Chemistry, CAS, Prague³

Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague⁴

První aplikace dermální náhrady Matriderm® v lokální terapii rozsáhlé popáleného chlapce

Holoubek J.^{1,2}, Lipový B.^{1,2}, Suchánek I.¹, Knoz M.^{2,3}, Vojtová L.⁴, Říhová H.¹, Brychta P.^{1,2}

Klinika popálenin a plastické chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno¹

Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno²

Klinika plastické a estetické chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně³

CEITEC – Středoevropský technologický institut, VUT, Brno⁴

Diskuze

10.30 – 11.00 hod Cofee break

11.00 – 12.30 hod Přednáškový blok II.

**Předsednictvo: MUDr. B. Kubešová,
doc. MUDr. T. Grus, Ph.D.**

Využití rybího kolagenu při konstrukci implantátů a jako nosiče léků

Grus T.¹, Mlček M.², Chlup H.³, Suchý T.⁴

Klinika kardiovaskulární chirurgie VFN a 1. LF UK Praha¹

Fyziologický ústav 1. LF UK Praha²

Laboratoř biomechaniky, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, FS ČVUT Praha³

Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH, AV ČR⁴

Praktické rady regulátora pro výzkum v oblasti bioimplantologie

Palán O.

Státní ústav pro kontrolu léčiv

Etika biobankingu

Kuře J.

Ústav lékařské etiky LF MU

Diskuze

12.30 – 13.30 hod Oběd

13.30 – 15.00 hod Přednáškový blok III.

Předsednictvo: MUDr. M. Kaláb,

MUDr. P. Ženčica, Ph.D.

Experimentální příprava korozivních preparátů orgánů velkého zvířete

Pálek R.^{1,2}, Liška V.^{1,2}, Eberlová L.³, Mírka H.⁴, Svoboda M.⁵,

Haviar S.^{6,7}, Rosendorf J.¹, Eminger M.¹, Brzoň O.², Mik P.³, Třeška V.¹

Chirurgická klinika Lékařské fakulty UK v Plzni¹

Biomedicínské centrum Lékařské fakulty UK v Plzni²

Ústav anatomie Lékařské fakulty UK v Plzni³

Klinika zobrazovacích metod Lékařské fakulty UK v Plzni⁴

Centrum nových technologií a materiálů, Západočeská univerzita v Plzni⁵

Katedra fyziky, Fakulta aplikovaných věd, Západočeská univerzita v Plzni⁶

Nové technologie pro informační společnost (NTIS), Fakulta aplikovaných věd, Západočeská univerzita v Plzni⁷

Význam aplikace kostních štěpů při řešení periprotetických zlomenin TEP kyčelních kloubů typu VANCOUVER B2 a B3

Ženčica P., Motyčka J., Heger J., Burda J.

Ortopedická klinika LF MU a Fakultní nemocnice Brno

Role kostního allograftu při řešení post-sternotomických defektů hrudní stěny aneb dokážeme po 13 letech zkušeností konečně zkrotit „Zlou sudičku“ kardiochirurgie?

Kaláb M.¹, Karkoška J.², Kamínek M.³, Lonský V.¹

Kardiochirurgická klinika LF UP a Fakultní nemocnice Olomouc¹

Národní centrum tkání a buněk, Brno²

Klinika nukleární medicíny LF UP a Fakultní nemocnice Olomouc³

Využití kadaverózních ligamentózních štěpů v ortopedii

Dlábeček R., Vališ P., Novák J., Maršálek M., Hořák J.

Ortopedická klinika LF MU a Fakultní nemocnice Brno

Diskuze

15.00 – 15.30 hod Cofee break

15.30 – 17.00 hod Přednáškový blok IV.

*Předsednictvo: doc. MUDr. D. Lysák, Ph.D.,
MUDr. I. Fales*

Banka pupečníkové krve ČR – od úsvitu až po současnost

Fales I., Rahmatová Š., Kobylka P.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Stem cells for treatment of Amyotrophic lateral sclerosis. Preclinical and clinical studies

Syková E.

Institute of Neuroimmunology SAV, Bratislava, Slovakia and Scimed Biotechnologies s.r.o.

Možnosti využití NK buněk v protinádorové imunoterapii

Lysák D.

Hematologicko-onkologické oddělení, Fakultní nemocnice Plzeň

Transplantace limfálních buněk

Studený P., Netuková M., Klimešová Y. M.

Oční klinika, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady a 3. LF UK Praha

Diskuze

18.00 – 19.00 hod Schůze společnosti pro bioimplantologii ČLS JEP

20.00 – 24.00 hod Společenský večer

9.00 – 10.30 hod Přednáškový blok V.

*Předsednictvo: Ing. T. Suchý, Ph.D.,
Ing. A. Stunová*

Resorbovatelná kolagen-kalcium fosfátová nanostrukturovaná vrstva s řízenou elucí antibiotik pro zvýšení životnosti implantátů: oseointegrace vs. antibiotická profylaxe

Suchý T.^{1,2}, Šupová M.¹, Horný L.², Klapková E.³, Denk F.¹, Pokorný M.⁴, Bartoš M.⁵, Vištejnová L.⁶, Klein P.⁶, Tonar Z.⁷, Kubíková T.⁷, Kolínko Y.⁷, Sucharda Z.¹, Žaloudková M.¹, Sedláček R.³, Sauerová P.⁵, Hubálek Kalbáčová M.^{5,7}, Ballay R.⁸, Čejka Z.⁹

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

Laboratoř biomechaniky, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, FS ČVUT v Praze²

Ústav lékařské chemie a klinické biochemie, 2. LF UK a Fakultní nemocnice v Motole, Praha³

Contipro, a.s., Dolní Dobruč⁴

Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK v Praze⁵

Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova⁶

Ústav histologie a embryologie, LF v Plzni, Univerzita Karlova⁷

I. ortopedická klinika, 1. LF UK a Fakultní nemocnice v Motole, Praha⁸

ProSpon, s.r.o., Kladno⁹

Vývoj biopolymerní nanostrukturované dermální náhrady: Ex ovo a in vivo studie

Knoz M., Vojtová L., Lipový B., Holoubek J., Babrňáková J., Pavlíňáková V., Vištejnová L., Štěpánková V., Filová E., Pavlovský Z., Faldyna M., Göpfert E., Damborský J., Hearnden V.

Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno

Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita, Brno

CEITEC – Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně

Klinika plastické a estetické chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Česká Republika

Simulace zánětlivého prostředí chronických ran in vitro

Stunová A., Vištejnová L., Hošek P., Hrabák J.

Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

In vitro modeling of (c9)FTD/ALS by direct trans-differentiation of skin fibroblasts into induced neurons

Bauer P. O.

Bioinova, s.r.o., Praha

Mayo Clinic, Jacksonville, FL, USA

Vliv tlakové zátěže v bioreaktoru na diferenciaci kmenových buněk z tukové tkáně směrem k hladkému svalu a produkci extracelulárního kolagenu

Matějka R., Štěpanovská J., Filová E., Rosina J., Koňářík M., Bačáková L.

Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT v Praze, Fyziologický ústav AV ČR, v. v. i.

Institut klinické a experimentální medicíny

Diskuze

10.30 – 11.00 hod Cofee break

11.00 – 12.30 hod Přednáškový blok VI.

*Předsednictvo: doc. Ing. L. Vojtová, Ph.D.,
Ing. J. Babrnáková*

3D stereoskopie jako metoda pro získání detailní informace o objektu

Židek J., Vojtová L., Pavliňáková V., Kalasová D., Šalplachta J., Zikmund T., Kaiser J.

CEITEC, Vysoké učení technické v Brně

Vliv biokeramických částic na morfologické, biomechanické a biologické vlastnosti 3D kolagen-kompozitních nosičů pro tkáňové inženýrství kostí

Vojtová L.¹, Pavliňáková V.¹, Brtníková J.¹, Klieštková N.², Šťastný P.¹, Trunec M.¹, Poláček P.¹, Blahnová V.³, Filová E.³

CEITEC – Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně¹

Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně²

Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i., Praha³

Specifika mechanického testování měkkých tkání a jejich náhrad

Horný L.

České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní

In-vitro a ex-ovo testování bioaktivních vlastností 3D porézních kolagenových materiálů obohacených biologicky aktivními látkami pro dermální náhrady

Babrnáková J., Hearnden V., Štěpánková V., Damborský J., Švachová V., Vištejnová L., Blahnová V., Filová E., Adam V., Kopel P., Šmerková K., Vojtová L.

VUT v Brně, Středoevropský technologický institut

Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

Nová generace přístrojů Beckman Coulter pro práci s buněčnými kulturami

Máša M.

Beckman Coulter Česká republika s.r.o.

Diskuze

12.30 – 12.40 hod Závěr konference

12.40 – 13.00 hod Výdej certifikátů

12.40 – 13.45 hod Oběd

1. Aplikace mikro-CT k analýze průběhu novotvorby kosti po implantaci kolagenových tkáňových nosičů do kostních defektů

Bartoš M., Suchý T., Šupová M., Vrbová R., Ballay R., Juhas Š., Tonar Z., Hubálek Kalbáčová M.

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

Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK

Ústav struktury a mechanicky hornin, AV ČR

1. ortopedická klinika, 1. LF UK a Fakultní nemocnice v Motole

Ústav živočišné fyziologie a genetiky, AV ČR, v.v.i.

Ústav histologie a embryologie, LF UK v Plzni

2. Kolagenový scaffold pro navození osteogeneze lidských mezenchymálních kmenových buněk

Blahnová V., Vojtová L., Klieštiková N., Filová E.

2. LF UK, ÚEM AV ČR, CEITEC, UCEEB

3. Bioimplantát na bázi peptidového hydrogelu a polymerního nanovláčenného nosiče

Divín R., Vocetková K., Srnec R., Amler E., Nečas A., Škorič M., Kubíková T., Králíčková M., Tonar Z.

Ústav biofyziky, 2. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Univerzitní centrum energeticky efektivních budov, ČVUT, Praha

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

Ústav histologie a embryologie Lékařská fakulta, Plzeň

4. Stabilitní studie nanovláčenných materiálů z PCL

Havlíčková K., Hauzerová Š., Kopřivová B., Erben J., Chvojka J., Jenčová V.

Technická univerzita v Liberci

5. Inkorporace L-Argininu do nanovláčenné vrstvy

Horáková J., Oulehlová Z., Novotný V., Havlíčková K., Jenčová V., Mikeš P.

Technická univerzita v Liberci

6. Testování porézních keramik pro kostní tkáňové inženýrství

Lukášová V.^{1,2}, Rampichová M.², Štastný P.³, Sedláček R.⁴, Vojtová L.³, Trunec M.³

Univerzitní centrum energeticky efektivních budov ČVUT v Praze¹

Ústav experimentální medicíny, Akademie věd České republiky²

Středoevropský technologický institut - Vysoké učení technické v Brně³

České vysoké učení technické v Praze⁴

7. Antimicrobial peptides for topical treatment of osteomyelitis and prevention of implant related infections in orthopedics

Melicherčík P.¹, Landor I.¹, Nešuta O.², Ballay R.¹, Fulín P.¹, Jahoda D.¹, Čeřovský V.²

Department of Orthopedics, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and University Hospital in Motol¹

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic²

8. Fluorovaný ethylen propylen: adheze primárních a kmenových buněk

Peterková L.¹, Rimpelová S.¹, Slepíčka P.², Slepíčková Kasálková N.², Švorčík V.², Ruml T.¹

Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha¹

Ústav inženýrství pevných látek, VŠCHT Praha²

9. Biodegradabilní porézní nosič na bázi silk fibroinu pro ortopedické aplikace

Poláková D., Víchová I., Kejzlar P., Martinová L.

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

10. Vlákenný 3D nosič připravený metodou odstředivého zvlákňování s inkorporovaným systémem uvolňování látek pro osteogenní diferenciaci mezenchymálních kmenových buněk

Rampichová M.¹, Lukášová V.^{1,2}, Buzgo M.¹, Vocetková K.¹, Sovková V.¹, Blahnová V.¹, Filová E.¹

Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i., Oddělení tkáňového inženýrství, Praha¹

Přírodovědecká fakulta UK²

11. Mechanické vlastnosti porézních keramických materiálů – mez pevnosti v tlaku

Sedláček R.¹, Suchý T.¹, Vondrová J.¹, Lukášová V.², Rampichová M.², Trunc M.³, Šťastný P.³, Vojtová L.³, Krtička M.⁴

Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Fakulta strojní, ČVUT v Praze¹

Univerzitní centrum energeticky efektivních budov, ČVUT v Praze²

CEITEC – Středoevropský technologický institut, VUT v Brně³

Klinika úrazové chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno⁴

12. Impact of novel UQCRC2 mutation on bioenergetics and mitochondrial morphology in cultured skin fibroblasts

Sládková J., Burská D., Křížová J., Rodinová M., Šonský I., Kostková O., Hansíková H., Zeman J., Tesařová M.

Laboratory for Study of Mitochondrial Disorders, Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague

13. Vliv jednotlivých složek trombocytárního lyzátu na proliferaci a viabilitu buněk

Sovková V., Vocetková K., Amler E.

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

2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

Univerzitní centrum energeticky efektivních budov ČVUT v Praze

14. Suché vs. hydratované kolagenové nosiče buněk: je suchý stav reprezentativní?

Suchý T.^{1,2}, Šupová M.¹, Sauerová P.⁴, Sucharda Z.¹, Sedláček R.², Žaloudková M.¹, Hubálek Kalbáčková M.^{3,4}

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

Laboratoř biomechaniky, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, FS ČVUT v Praze²

Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK v Praze³

Biomedicínské centrum LF v Plzni, UK v Praze⁴

15. Simulace podmínek v bioreaktoru pro osteogenezi mezenchymálních kmenových buněk

Štěpanovská J., Matějka R., Bačáková L., Rosina J.

Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT v Praze

Fyziologický ústav AV ČR v.v.i.

Místo konání

Hotel Myslivna, Nad Pisárkami 276/1, 623 00 Brno

Registrační poplatky

		do 16. dubna 2018	na místě
Lékaři	člen společnosti	Kč 1 650,-	Kč 1 850,-
	nečlen	Kč 1 850,-	Kč 2 050,-
NLZP	člen společnosti	Kč 1 450,-	Kč 1 650,-
	nečlen	Kč 1 650,-	Kč 1 850,-

/V registračním poplatku je zahrnuto vstupné na konferenci, občerstvení v průběhu akce, vstupenka na společenský večer, sborník přednášek, konferenční materiály a DPH./

Registrace účastníků

26. dubna 2018 08.00 – 13.00 hod

27. dubna 2018 09.00 – 10.00 hod

Registrující osoby Vám rádi sdělí Vaše event. dotazy.

Oběd

Menu 26. dubna 2018, cena a' Kč 120,-

Hovězí polévka s játrovou rýží

120 g Smažený kuřecí řízek

Štuchané brambory s cibulkou

Nealkoholický nápoj nebo malé pivo

Menu 27. dubna 2018, cena a' Kč 120,-

Zeleninová polévka

120 g Přírodní vepřový závitok

Dušená rýže

Nealkoholický nápoj nebo malé pivo

Zájemce o bezmasou / bezlepkovou stravu žádáme, aby svůj požadavek sdělili registrujícím osobám.

Obědy se vydávají oproti stravenkám, které obdržíte při registraci účastníků.

Společenský večer

Společenský večer formou rautu se koná dne 26. dubna 2018 od 20.00 hod v restauraci Brno v hotelu Myslivna. Cena vstupenky je zahrnuta v registračním poplatku.

Informace pro přednášející

Audiovizuální technika

- Dataprojektor
- PC
- Bezdrátová myš vč. laserpointu

Techniku je možné si vyzkoušet před zahájením konference nebo v průběhu přestávek.

Prezentace

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

Posterová sekce

Bude umístěna v prostorách doprovodné výstavy a foyer. Poster formát A0.

**SBORNÍK ABSTRAKT
BIOIMPLANTOLOGIE 2018**

Abstrakta neprošla jazykovou úpravou.

Obsah:

Vplyv nanoštrukturovanej zliatiny titánu Ti39Nb na rast a diferenciáciu mezenchymálních kmeňových buniek	17
Recellularization of chemically modified porcine pericardium with adipose tissue-derived stem cells using pressure loading.....	18
První aplikace dermální náhrady Matriderm® v lokální terapii rozsáhle popáleného chlapce.....	19
Využití rybího kolagenu při konstrukci implantátů a jako nosiče léků	20
Praktické rady regulátora pro výzkum v oblasti bioimplantologie	21
Etika biobankingu	22
Experimentální příprava korozivních preparátů orgánů velkého zvířete	23
Význam aplikace kostních štěpů při řešení kostních defektů u periprotetických fraktur TEP kyčelních kloubů.....	24
Role kostního allograftu při řešení post-sternotomických defektů hrudní stěny aneb dokážeme po 13 letech zkušeností konečně zkrotit „Zlou sudičku“ kardiochirurgie?.....	25
Využití kadaverózních ligamentózních štěpů v ortopedii	26
Banka pupečnickové krve ČR – od úsvitu až po současnost	27
Stem cells for treatment of Amyotrophic lateral sclerosis. Preclinical and clinical studies.....	28
Možnosti využití NK buněk v protinádorové imunoterapii.....	29
Transplantace limbálních buněk.....	30
Simulace zánětlivého prostředí chronických ran in vitro.....	31
Resorbovatelná kolagen-kalcium fosfátová nanoštrukturovaná vrstva s řízenou elucí antibiotik pro zvýšení životnosti implantátů: oseointegrace vs. antibiotická profylaxe	32
Vývoj biopolymerní nanoštrukturované dermální náhrady: Ex ovo a in vivo studie.....	33
In vitro modeling of (c9)FTD/ALS by direct trans-differentiation of skin fibroblasts into induced neurons	34
Vliv tlakové zátěže v bioreaktoru na diferenciaci kmenových buněk z tukové tkáně směrem hladkému svalu a produkci extracelulárního kolagenu	35
3D stereoskopie jako metoda pro získání detailní informace o objektu.....	36
Vliv biokeramických částic na morfologické, biomechanické a biologické vlastnosti 3D kolagen-kompozitních nosičů pro tkáňové inženýrství kostí.....	37
Specifika mechanického testování měkkých tkání a jejich náhrad.....	38
In-vitro a ex-ovo testování bioaktivních vlastností 3D porézních kolagenových materiálů obohatených biologicky aktivními látkami pro dermální náhrady	39
Nová generace přístrojů Beckman Coulter pro práci s buněčnými kulturami	40

Obsah – POSTEROVÁ SEKCE:

Aplikace mikro-CT k analýze průběhu novotvorby kosti po implantaci kolagenových tkáňových nosičů do kostních defektů	41
Kolagenový scaffold pro navození osteogeneze lidských mezenchymálních kmenových buněk	42
Bioimplantát na bázi peptidového hydrogelu a polymerního nanovláčenného nosiče	43
Stabilitní studie nanovláčenných materiálů z PCL	44
Inkorporace L-Argininu do nanovláčenné vrstvy	45
Testování porézních keramik pro kostní tkáňové inženýrství	46
Antimicrobial peptides for topical treatment of osteomyelitis and prevention of implant related infections in orthopedics.....	47
Fluorovaný ethylen propylen: adheze primárních a kmenových buněk	48
Biodegradabilní porézní nosič na bázi silk fibroinu pro ortopedické aplikace	49
Vláčenný 3D nosič připravený metodou odstředivého zvláčňování s inkorporovaným systémem uvolňování látek pro osteogenní diferenciaci mezenchymálních kmenových buněk.50	
Mechanické vlastnosti porézních keramických materiálů – mez pevnosti v tlaku.....	51
Impact of novel UQCRC2 mutation on bioenergetics and mitochondrial morphology in cultured skin fibroblasts.....	52
Vliv jednotlivých složek trombocytárního lyzátu na proliferaci a viabilitu buněk.....	53
Suché vs. hydratované kolagenové nosiče buněk: je suchý stav reprezentativní?	54
Simulace podmínek v bioreaktoru pro osteogenezi mezenchymálních kmenových buněk.....	55
Metody přípravy nanovláčenných nosičů obohacených o trombocyty	56
Nanostructured titanium alloys (Ti6Al4V) modified by incubation with simulated body fluid as an alternative material for bone implants	57

Vplyv nanoštrukturovanej zliatiny titánu Ti39Nb na rast a diferenciáciu mezenchymálních kmeňových buniek

Filová E.¹, Voltrová B.¹, Fojt J.², Jarolímová P.², Blahnová V.¹, Matějka R.³, Joska L.², Daniel M.⁴

Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i., Praha¹

Fakulta chemické technologie VŠCHT v Praze²

Fakulta biomedicínského inženýrství ČVUT v Praze, Buštěhrad³

Fakulta strojní ČVUT v Praze⁴

Nanoštrukturované povrchy ovplyvňujú adhéziu, rast a diferenciáciu buniek. Vytvorenie kostného tkaniva na povrchu implantátu je dôležité pre jeho dobrú osteointegráciu (1,2). Na beta titánovej zliatine Ti39Nb sme vytvorili nanotrubičky pomocou anodickej oxidácie a testovali ich vplyv na adhéziu, rast a diferenciáciu ľudských mezenchymálních kmeňových buniek (hMSC).

Anodicnou oxidáciou beta titánovej zliatiny Ti39Nb pri 10V, 15V a 20V sme pripravili nanoštrukturované povrchy s rôznym priemerom nanotrubičiek. Boli stanovené priemery nanotrubičiek pomocou SEM a zloženie zliatiny pomocou XPS. Hodnotili sme metabolickú aktivitu, proliferáciu a diferenciáciu hMSC. Ako kontroly sme použili nemodifikovaný Ti39Nb a sklo. Adhéziu sme hodnotili pomocou konfokálneho mikroskopu vizualizáciou vinkulínu. Hustotu buniek na materiáloch sme počítali z 10 mikrofotografií na skupinu pomocou programu Image J. Na sledovanie kostnej diferenciácie hMSC sme hodnotili expresiu mRNA kolagénu I, osteokalcínu a RunX 1., 7., 14., a 21. deň po nasadení pomocou qPCR z 3 vzoriek a fluorescenčne sme hodnotili prítomnosť kolagénu typu I 7. a 14. deň u 3 vzoriek/ 10 mikrofotografií na skupinu. Výsledky boli štatisticky vyhodnotené pomocou One-way ANOVA a Student-Newman-Keuls metódou.

So zvyšujúcim sa napätím vzrástol priemer nanotrubičiek z 18 nm (10V), na 36 nm (20V) a na 46 nm (30V). Hustota buniek 14. deň po nasadení bola vyššia na skle ako na ostatných Ti39Nb. 21. deň bola na skle a 10V Ti39Nb vyššia hustota buniek ako na 20V Ti39Nb. Expresia mRNA RunX2, kolagénu I a osteokalcínu sa nelíšili u testovaných zliatin po celú dobu kultivácie. Tvorba kolagénu I 14. deň kultivácie štatisticky významne stúpala so zvyšujúcim sa napätím a priemerom pórov. 21. deň bolo najvyššie množstvo kolagénu I u 20V Ti39Nb a najnižšie množstvo bolo namerané u skla.

Nanoštrukturované Ti39Nb podporovali adhéziu, rast a diferenciáciu hMSC. Tvorba nanotrubičiek pozitívne ovplyvnila tvorbu kolagénu I, čo sa najviac prejavilo u 20V Ti39Nb. Nanoštrukturovaná zliatina Ti39Nb má potenciál pre použitie ako materiál pre kostné implantáty.

Citácie

1. Filova E et al. *Int J Nanomedicine*. 2015;10:7145-63.
2. Somsanith N, et al. *Materials (Basel)*. 2018;11:E61.

Projekt bol podporený grantom GAČR č. 16-14758S.

Recellularization of chemically modified porcine pericardium with adipose tissue-derived stem cells using pressure loading

Filová E.¹, Pražák Š.¹, Matějka R.^{1,2}, Štěpanovská J.^{1,2}, Musilková J.¹, Riedelová Z.³, Kučerová J.³, Koňářík M.⁴, Pirk J.⁴, Honsová E.⁴, Brynda E.³, Bačáková L.¹

Institute of Physiology, CAS, Prague¹

Faculty of Biomedical Engineering, Czech Technical University in Prague, Kladno²

Institute of Macromolecular Chemistry, CAS, Prague³

Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague⁴

Currently used biological heart valve prostheses are made of crosslinked bovine pericardium, porcine heart valves or allogeneic cryopreserved valves. Their usage is associated with a risk of infection, calcification, degeneration or thrombus formation. Decellularized porcine pericardium that is subsequently repopulated with autologous cells represents a promising material for biological heart valve prostheses with improved properties and prolonged lifetime. Autologous adipose tissue-derived stem cells (ASCs) can be easily obtained from the patient and they are able to differentiate into various cell types, for example into vascular smooth muscle cells (VSMC), which are phenotypically similar to valve interstitial cells. In addition, the ASCs support the phenotypic maturation of endothelial cells, which create an antithrombotic layer on the valve surface. The aim of the study was to support recellularization of pericardium with human ASCs using pulsed pressure loading. Decellularized porcine pericardium was coated inside and outside with thin fibrin layer and some of the samples were additionally coated outside with thick fibrin gel. Human ASCs were seeded on the thin fibrin or resuspended in fibrin gel at a density of 50 000 cells/cm² in DMEM supplemented with 2% FS, TGFβ1, BMP4, and ascorbic acid for 3 and 7 days. The cells were exposed to pressure of 110-130/70-80 Torr, 1Hz; static samples were used as a control. The cells were stained for alpha-actin, calponin, and type I collagen and visualized by confocal microscopy. In fibrin gel the cells showed multi-layered growth and were less spread than on thin fibrin. Pressure loading supported cell spreading and the expression of calponin, an intermediate marker of VSMC differentiation. The production of type I collagen seemed to be similar on static and dynamic samples. Cell migration into the tissue and expression of desmin in ASCs will be assessed using a longer time interval. Therefore, it can be concluded that the growth of ASCs and their differentiation towards VSMC can be regulated by the structure of fibrin coating and by application of mechanical loading.

Supported by the Ministry of Health of the Czech Republic, grant No. 15-29153A.

První aplikace dermální náhrady Matriderm® v lokální terapii rozsáhle popáleného chlapce

Holoubek J.^{1,2}, Lipový B.^{1,2}, Suchánek I.¹, Knoz M.^{2,3}, Vojtová L.⁴, Říhová H.¹, Brychta P.^{1,2}

Klinika popálenin a plastické chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno¹

Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno²

Klinika plastické a estetické chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně³

CEITEC – Středoevropský technologický institut, VUT, Brno⁴

Úvod

Následky hlubokých popálenin v oblasti ruky a obličeje patří k tomu nejnáročnějšímu s čím se v moderní rekonstrukční chirurgii můžeme setkat. Náhrada ztráty kožního krytu prostým dermo-epidermální štěpem se dnes v mnoha případech považuje za nedostatečnou a překonanou. Z toho, a řady dalších důvodů, je dnes využití dermálních náhrad na vzestupu. Využití adekvátní dermální náhrady přináší zlepšený kosmetický efekt, lepší kožní poddajnost, snižuje její kontraktilitu a výrazně přibližuje histologický obraz obrazu normální zdravé kůže. Pro účel tohoto příspěvku prezentujeme využití dermální substitute produktem Matriderm® v případě rozsáhlého termického traumatu u 6-letého chlapce.

Kazuistika

V kazuistice prezentujeme případ 6-letého chlapce, který prodělal extenzivní popáleniny III. stupně na 55 % celkového tělesného povrchu. Celkový stav byl komplikován přítomností inhalačního traumatu a rozsáhlým popáleninovým šokem vedoucí až k nutnosti kardio-pulmonární resuscitace. Nejzávažnější popáleniny byly přítomny v oblasti obličeje, trupu, krku a levé horní končetiny. S přihlédnutím k věku pacienta a lokalitě postižených ploch bylo po provedení kombinované nekrektomie přistoupeno k využití dermální náhrady v oblasti dorsa levé ruky, spolu s přílehlou částí předloktí a oblasti vnitřní strany lokte. Časný chirurgický uzávěr všech postižených ploch spolu s efektivní systémovou a antimikrobiální terapií vedly k úspěšné léčbě a přežití pacienta. Vzhledem k použití inovativního materiálu v inkriminovaných lokalitách byly vlastnosti nově vytvořené kůže evaluovány za pomoci přístroje cutometer® MPA-580, a to s odstupem 4 a 12 týdnů od primárního uzávěru.

Závěr

Časná nekrektomie a použití dermální substitute v kombinaci s dermo-epidermálními štěpy přinesl zajímavý a uspokojivý výsledek. Z výsledků kutometrického měření je jasně patrná zlepšená elasticita a poddajnost zhojené plochy v porovnání s prostým dermo-epidermálním štěpem. Využití dermálních náhrad má dnes bezesporu své místo v moderní rekonstrukční chirurgii a jejich další vývoj představuje nadějnou a slibnou cestu do budoucích let.

Využití rybího kolagenu při konstrukci implantátů a jako nosiče léků*Grus T.¹, Mlček M.², Chlup H.³, Suchý T.⁴**II. Chirurgická klinika kardiiovaskulární chirurgie VFN a 1. LF UK Praha¹**Fyziologický ústav 1. LF UK Praha²**Laboratoř biomechaniky, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, FS ČVUT Praha³**Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH, AV ČR⁴*

Kolagen je v medicíně používán už po celá desetiletí. Nejpoužívanější je kolagen bovinní, který má však známé nedostatky, jako antigenicitu, alergicitu a přenos zoonóz. Podle publikovaných informací se zdá být slibnou alternativou rybí kolagen. Předpokládá se, že je nízce antigenní, nealergenní a biologicky bezpečnější. Tento typ kolagenu ze sladkovodních ryb má dobrou schopnost depotizace léčiv s možností kontrolovaného uvolňování léčiva.

V naší práci jsme se zaměřili na vyvinutí postupu získávání a úpravy rybího kolagenu ze sladkovodních ryb a jeho následné úpravy, což umožní jeho použití při výrobě především hemostatických pěn a cévních implantátů.

Na základě znalostí a rozsáhlých zkušeností expertního interdisciplinárního výzkumného týmu, stanoveného pro návrhy v oblasti výroby cévních protéz byl vyvinut prototyp hypoalergenní kolagenové cévní protézy s možností kontrolovaného uvolňování léčiva.

Přednáška zahrnuje, jak experimentální, tak i preklinické testování nové cévní protézy a kolagenových hemostatických pěn.

Tato studie byla podpořena: Agenturou pro zdravotnický výzkum České republiky (15-27941A)

Praktické rady regulátora pro výzkum v oblasti bioimplantologie*Palán O.**Státní ústav pro kontrolu léčiv*

Praktické rady regulátora pro výzkum v oblasti bioimplantologie

Klíčová slova: moderní terapie, SÚKL, nanomateriály, zdravotnický prostředek, lidské tkáně a buňky, léčivý přípravek

Výzkum v oblasti biomateriálů, nanotechnologií a jejich kombinace s lidskými tkáněmi a buňkami se v dnešní době neobejde bez znalostí právních předpisů. Problematika v této oblasti je velmi složitá, zahrnuje národní i evropskou legislativu týkající se lidských tkání a buněk, zdravotnických prostředků i léčivých přípravků.

Cílem této prezentace je na praktických příkladech ukázat, jak se v této regulaci neztratit.

Etika biobankingu*Kuře J.**Ústav lékařské etiky, Lékařská fakulta Masarykova univerzita*

Enormní pokrok zejména v oblasti biologie, nové možnosti tkáňového inženýrství a následné uplatnění výsledků rozvoje vědy i technologií skýtají dříve netušené možnosti pro klinické aplikace a pro léčbu nemocných. Nepostradatelnou součástí tohoto procesu jsou biobanky. Ty představují průnik nezištného altruismu, veřejného zájmu (zdraví, veřejné finance) a soukromého (podnikatelského) zájmu. Společenský diskurs této problematiky je v různých kontextech různě pokročilý. V některých jurisdikcích existují jako výsledky tohoto diskursu regulace upravující zmíněné pronikání různých zájmů a relevantních hodnot. Příspěvek přináší přehled etické reflexe biobanku, zřetel je přitom věnován specifikám této problematiky v České republice

Experimentální příprava korozivních preparátů orgánů velkého zvířete

Pálek R.^{1,2}, Liška V.^{1,2}, Eberlová L.³, Mírka H.⁴, Svoboda M.⁵, Haviar S.^{6,7}, Rosendorf J.¹, Eminger M.¹, Brzoň O.², Mik P.³, Třeška V.¹

Chirurgická klinika Lékařské fakulty UK v Plzni¹

Biomedicínské centrum Lékařské fakulty UK v Plzni²

Ústav anatomie Lékařské fakulty UK v Plzni³

Klinika zobrazovacích metod Lékařské fakulty UK v Plzni⁴

Centrum nových technologií a materiálů, Západočeská univerzita v Plzni⁵

Katedra fyziky, Fakulta aplikovaných věd, Západočeská univerzita v Plzni⁶

Nové technologie pro informační společnost (NTIS), Fakulta aplikovaných věd, Západočeská univerzita v Plzni⁷

Cíle

Korozivní preparáty (KP) slouží k vizualizaci a hodnocení morfologie dutých struktur. Cílem této studie bylo optimalizovat protokoly přípravy KP různých orgánů prasete domácího, a to vzhledem k dostupnosti těchto orgánů a významu prasete domácího v experimentální medicíně.

Metodika

Byly použity orgány (játra, slezina, ledviny a tenké střevo) zdravého prasete domácího, celkem 10 prasat (6 samic). Po vypreparování a propláchnutí orgánů byla do cévního řečiště aplikována pryskyřice Biodur E20® (Heidelberg, Německo). Po jejím ztuhnutí byly odstraněny okolní tkáně pomocí 15% roztoku KOH. Hotové KP byly zkoumány pomocí stereomikroskopu, běžné výpočetní tomografie (CT), mikro-CT, řádkovací elektronové mikroskopie (SEM) nebo vysokorozlišovacího digitálního mikroskopu.

Výsledky

Podářilo se získat kvalitní KP orgánů prasete domácího. Běžné CT, Mikro-CT, SEM a vysokorozlišovací digitální mikroskopie se osvědčily jako vhodné metody zkoumání těchto KP. Mikro-CT dále umožnilo získání dat o prostorovém uspořádání řečiště.

Závěr

Získaná data mohou být využita pro přípravu matematických modelů orgánové perfuze využitelných např. pro optimalizaci orgánových resekcí.

Význam aplikace kostních štěpů při řešení kostních defektů u periprotetických fraktur TEP kyčelních kloubů

Ženčica P., Motyčka J., Heger J., Burda J.

Ortopedická klinika LF MU a Fakultní nemocnice Brno

Úvod

Počet periprotetických femorálních fraktur (PFF) po TEP kyčelních kloubů vzhledem k současně s rostoucím počtem primární implantací u mladších pacientů a jejich současné incidence se udává v rozmezí 0,4-2,1%. Souvisí to s rozvojem endoprotetiky a prodlužující se délkou života populace. Dochází k nim většinou za 2-4 roky po primární implantaci, počet PFF je výrazně vyšší při revizních operacích. Závažnost těchto zlomenin spočívá v náročnosti operačního výkonu, nutnosti řešení kostních defektů, ve vyšším věku a polymorbiditě pacientů, což vede k vysokému procentu pooperačních komplikací.

Cíl

Zhodnocení souboru pacientů s pooperační PFF po TEP kyčelního kloubu v letech 1996-2016 z hlediska věku, typu zlomeniny, použitého implantátu u revizní operace a počtu reoperací.

Materiál a metoda. Retrospektivně jsme zhodnotili soubor 93 pacientů (54 žen a 39 mužů) léčených na naší klinice od 11/1996 – 12/2016 otevřenou repozicí a vnitřní fixací resp. reimplantací femorální komponenty. Konzervativně léčený se zlomeninou typu A byl jeden pacient. Primární cementovanou endoprotézu mělo 72, necementovanou 13 a hybridní 11 pacientů. Fraktury jsme hodnotili podle Vancouverké klasifikace (Duncan a Masri, 1995), způsob ošetření jsme indikovali podle úrazového rtg snímku, event. CT a peroperačního nálezu. Funkční výsledek jsme hodnotili podle Harris Hip Score (HHS). U všech pacientů s defektem kostní tkáně jsme primárně aplikovali spongioplastiku aloštěpy z tkáňové banky ke stimulaci kostního růstu a pevnému zhojení PFF. Průměrná doba sledování byla 47 měsíců.

Výsledky

Zhodnotili jsme 96 (1,4%) PFF, tři pacientky utrpěly PFF oboustranně. Průměrný věk pacientů byl 69,9 let (56-86), průměrný interval od primární implantace byl 133 měsíců. Typ A se vyskytl 2x, typ B1 – 21x, typ B2 – 33x, typ B3 – 19x a typ C – 21x. Dlahovou osteosyntézou samotnou nebo v kombinaci s lanky jsme provedli 42x, reimplantaci necementovaného revizního dřívku v kombinaci s lankou 29x, revizní cementovaný dřív s lankou 10x, osteosyntézou s lankou 9x, kombinaci reimplantace revizního dřívku a dlahové osteosyntézy 6x, současnou replantací uvolněné jamky 4x. Primární spongioplastika byla použita u 18 pacientů, sekundární spongioplastika při prodlouženém hojení nebo při reoperacích rovněž u 18 pacientů. Extrakce femorální komponenty byla ve dvou případech, z toho jednou pro infekci. Průměrný operační čas byl 190 min., průměrná krevní ztráta 1630 ml. Průměrná doba radiologického zhojení byla 8 měsíců. Hodnota HHS pro skupinu ošetřenou dlahovou osteosyntézou byla 80,8, pro skupinu s revizním dřívkem 87,6. Reoperace pro selhání dlahové osteosyntézy s přidávnou spongioplastikou byla provedena u 18 pacientů (B1-4x, B3-5x, C-9x), k opakované luxaci po revizní operaci došlo u 9 pacientů 3x s nutností další reoperace. Infekt po revizní operaci mělo 7 pacientů, u jednoho přetrvává chronická píštěl s nálezem MRSA.

Závěr

Komplexní terapie PFF je náročná jak z hlediska indikačního tak technického provedení a je ovlivněna řadou faktorů: typem zlomeniny, volbou implantátu, kvalitou kostní tkáně a celkovým stavem pacienta. V léčbě převažuje otevřená repozice s dlahovou osteosyntézou nebo použitím revizního necementovaného dřívku v kombinaci s lankou a aplikací kostních štěpů resp. spongioplastikou. Aplikaci kostních štěpů považujeme za nezbytnou součást ošetření zvláště tříštivých a defektních zlomenin, jako spongioplastiku při prodlouženém hojení nebo u pseudoartroz se selháním implantátu a nutností reoperace.

Role kostního allograftu při řešení post-sternotomických defektů hrudní stěny aneb dokážeme po 13 letech zkušeností konečně zkrátit „Zlou soudičku“ kardiochirurgie?

Kaláb M.¹, Karkoška J.², Kamínek M.³, Lonský V.¹

Kardiochirurgická klinika LF UP a Fakultní nemocnice Olomouc¹

Národní centrum tkání a buněk, a.s.²

Klinika nukleární medicíny LF UP a Fakultní nemocnice Olomouc³

Úvod

Poruchy hojení sternotomie představují závažnou, někdy až život ohrožující, komplikaci původně úspěšného kardiochirurgického výkonu. Stabilita hrudní stěny hraje klíčovou roli v úspěšném zhojení nejen primární sternotomie, ale také při řešení její dehiscence, zvláště pak u ztrátových defektů hrudního skeletu.

Materiál a metody

V práci bylo provedeno komplexní retrospektivní srovnání technik re-cerkláže (n=69) a AO osteosyntézy (n=42) při řešení hlubokých poruch hojení sternotomie. Především pak byla zhodnocena hodnocena efektivita nového způsobu léčby závažných post-sternotomických defektů hrudní stěny pomocí transplantace allogenního kostního štěpu a AO osteosyntézy za období 13 let od zavedení této nekonvenční léčebné metody.

Výsledky

U pacientů s AO osteosyntézou, respektive s použitím kostního štěpu sternu, byly zjištěny následující, statisticky významné, výsledky: nižší nemocniční mortalita, nižší výskyt selhání prvního pokusu o uzavěr hrudníku, nižší výskyt selhání první resutury měkkých tkání, nižší průměrný počet pokusů o re-osteosyntézu, nižší průměrný počet pokusů o resuturu měkkých tkání, nižší výskyt reziduální nestability hrudní stěny.

Závěr

Použitím AO dlahové osteosyntézy s transplantací kostního štěpu u ztrátových defektů skeletu hrudníku, lze dosáhnout vysoké stability hrudní stěny, což se odráží především ve snížení mortality i počtu dalších komplikací.

Klíčová slova

sternotomie, poruchy hojení, AO osteosyntéza, allogenní kostní štěp

Využití kadaverózních ligamentózních štěpů v ortopedii*Dlábek R., Vališ P., Novák J., Maršálek M., Hořák J.**Ortopedická klinika LF MU a Fakultní nemocnice Brno*

Autoři v přednášce přehledně shrnují možnosti využití ligamentózních kadaverózních štěpů při operacích vícero různých kloubů v ortopedii. Přednáška obsahuje jak část teoretickou, tak názorné videoukázky.

Banka pupečnickové krve ČR – od úsvitu až po současnost*Fales I., Rahmatová Š., Kobylka P.**Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha*

Vznik Banky pupečnickové krve ČR (BPK ČR) v roce 1996 byl důsledkem vzrůstající poptávky po štěpech krevetvorné tkáně z pupečnickových krví, jako alternativě ke kostní dřeni a periferním kmenovým buňkám. A to převážně pro pacienty, pro které nebyl nalezen shodný dárce, nebo byla transplantace krevetvorné tkáně urgentní. BPK ČR byla první bankou v postkomunistických zemích a byla v první desítce bank, které posílaly informace o svých štěpech do mezinárodního registru. Kvalitou svých štěpů patřila po dlouhou dobu také do první desítky. Její význam ale překročil „pouhé“ uchovávání štěpů k transplantaci. Jako viditelný projekt pomohla svým dílem k propagaci dárcovství krevetvorné tkáně obecně a ke zvýšení povědomí o této problematice. To se odrazilo v počtu uchovávaných štěpů na počet obyvatel ve srovnání s ostatními bankami. I zde patřila svého času BPK ČR do první desítky. Svým malým dílem přispěla i k pozitivnímu vnímání programu transplantací krevetvorné tkáně v naší zemi ze strany uznávaných autorit. Se svými více než 4000 štěpy v registru patří BPK ČR mezi středně velké banky. Šanci na život dala téměř devadesáti lidem po celém světě. A ačkoliv zájem o štěpy pupečnickové krve opadá v důsledku rozvíjejících se haploidických transplantací mezi rodinnými příslušníky, svou funkci plní BPK ČR dodnes.

Stem cells for treatment of Amyotrophic lateral sclerosis. Preclinical and clinical studies.**Syková E.***Institute of Neuroimmunology SAV, Bratislava, Slovakia and Scimed Biotechnologies s.r.o.*

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive neurodegenerative disorder leading to the death of upper and lower motoneurons (MN). Its clinical diagnosis is primarily based on the symptoms presented, and until now there has been no known way to prevent, cure or even block its development. Cell therapy may present a new possibility to cure ALS by providing neurotrophic support to host MN, dysfunctional glial cells and by influencing immune system. In our preclinical study human mesenchymal stem cells (hMSCs), were delivered intrathecally into symptomatic SOD1 G93A transgenic rats (n=11). Survival in the hMSC-treated group was prolonged by 13.6 days compared with the sham-treated group (n=9). We found that the cell-treated rats showed significantly better motility and grip strength. Quantitative analyses of wisteria floribunda (WFA) fluorescence intensity measured in the ventral horns of the cervical and lumbar levels of the spinal cord, revealed significantly greater numbers of perineuronal nets (PNNs) in the hMSCs-treated animals. The clinical study was designed as a prospective, non-randomized, open-label study (phase I/IIa, EudraCT No. 2011-000362-35) to assess the safety and efficacy of autologous multipotent BM-MSC in the treatment of ALS. $15 \pm 4.5 \times 10^6$ of autologous BM-MSC (Bioinova, Ltd) was applied via lumbar puncture into the cerebrospinal fluid. During the 18 month follow-up period potential adverse reactions were assessed by clinical, laboratory and MR examination. The clinical outcome was evaluated by a ALS functional rating scale (ALSFERS), Norris spinal and bulbar scale (NSS and NSB), forced vital capacity (FVC) and weakness scale (WS). To date, 26 patients were enrolled in the study. After intrathecal BM-MSC application, 30% of the patients experienced mild/moderate headache resembling headache after standard lumbar puncture. No suspected serious adverse reactions (SUSAR) or new cerebrospinal pathology on MR examinations were observed. Data from 19 patients were analyzed for efficacy (last 3 patients are still in the follow-up and 4 patients had no sufficient long-term follow-up data). In almost 80% of these patients FVC values remained above 60% for a time period of 12 months. A group of 14 patients, with remarkable pretreatment decline in functional scales (ALSFERS + NSS), had significant reduction/stabilization in their total functional score decline at 3 months after application ($p < 0.001$ in ALSFERS, $p < 0.05$ in NSS), which was less pronounced at 6 months ($p < 0.01$ in ALSFERS) and 9 months ($p < 0.05$ in ALSFERS + NSS). In this group we also observed stable WS values for a time period of 3 months after application. Our results demonstrate that the intrathecal application of BM-MSC in ALS patients is a safe procedure and that it can, at least temporarily, slow down progression of the disease.

Možnosti využití NK buněk v protinádorové imunoterapii

Lysák D.

Hematologicko-onkologické oddělení, Fakultní nemocnice Plzeň

Úvod

NK buňky představují slibnou metodu protinádorové imunoterapie a jsou předmětem výzkumu v hemato-onkologii i v léčbě solidních nádorů.

Metody

Přednáška sumarizuje biologii NK buněk, jejich roli v protinádorové imunitě a možnosti jejich využití v rámci adoptivní imunoterapie.

Výsledky

NK buňky vykazují cytotoxickou a regulační aktivitu a hrají klíčovou roli v protinádorové imunitě. Jejich funkce je dána rovnováhou mezi inhibičními a aktivačními signály. Inhibiční KIR receptory brzdí jejich aktivitu interakcí s HLA-I molekulami, aktivační receptory mají své ligandy na nádorově či virově změněných buňkách. NK buňky mají přímý cytotoxický potenciál proti nádorovým buňkám a jejich působení vede k uvolnění nádorových antigenů a také k produkci pro-zánětlivých cytokinů, které dále zapojují celý imunitní systém. Mechanismus eliminace cílových buněk zahrnuje jednak apoptotickou cestu a jednak cestu cytotoxických granul s obsahem proteáz a perforinů.

NK buňky se jako první lymfocytární subpopulace reparaují časně po transplantaci hemopoetických kmenových buněk a mají význam v ochraně proti relapsu onemocnění. Zajímavých výsledků s využitím protinádorových vlastností NK buněk bylo dosaženo u haploidentických transplantací u pacientů s akutními leukémiemi. Transplantované aloreaktivní NK buňky exprimují inhibiční KIR receptory specifické pro HLA-I molekuly, které nejsou u pacienta exprimovány (KIS mismatch). Uplatňuje se efekt reakce štěpu proti leukémii (GVL), naopak riziko GVHD není zvýšené.

Adoptivní terapie pomocí NK buněk představuje atraktivní metodu protinádorové imunoterapie. Výborné výsledky zaznamenala zejména jako konsolidační terapie u pacientů s akutní leukémií. NK buňky je možné produkovat v klinicky relevantních množstvích a jejich použití má výborný bezpečnostní profil. Vhodným kandidátem pro imunoterapii jsou také invariantní NKT buňky, které představují zvláštní podskupinu T-lymfocytů a mají významnou roli v regulaci protinádorové imunity.

Nádorové buňky mají bohužel schopnost unikat účinku NK buněk různými mechanismy, a proto se využívají metody, které mají protinádorový potenciál NK buněk udržet. Nejjednodušší možností je aplikace cytokinů (IL-2, IL-15) zvyšujících míru expanze a přežití NK buněk. V úvahu připadá také imunomodulace s odstraněním T- regulačních lymfocytů nebo ovlivněním kontrolních bodů imunitního systému („immune checkpoints“). Další z cest jsou protilátky blokující inhibiční či KIR receptory nebo bispecifické protilátky (BiKE) přímo spojující NK a nádorové buňky. Jako velmi efektivní se ukazují geneticky modifikované NK buňky (CAR NK), u nichž použití arteficiálního receptoru nabízí další mechanismus NK aktivace, a to zejména u pacientů s down-regulací aktivačních ligandů.

Závěry

Z dostupných studií vyplývá, že infuze (aloreaktivních) NK buněk je bezpečnou metodou adoptivní imunoterapie, která může být zvažována u myeloidních leukémií i jiných nádorových onemocnění. Jejich klinický benefit je limitován řadou okolností daných interakcí s nádorem a jeho mikroprostředím. Rozvíjejí se nové přístupy, které pravděpodobně umožní optimalizovat a zvýšit efektivitu této terapie.

Práce byla podpořena grantem Ministerstva zdravotnictví číslo 15-30661A.

Transplantace limbálních buněk*Studený P., Netuková M., Klimešová Y. M.**Oční klinika Fakultní nemocnice Královské Vinohrady a 3. LF UK Praha*

Deficit limbálních kmenových buněk rohovky je relativně častou příčinou zkalení rohovky a s tím související ztráty zraku. Transplantace těchto buněk je z dlouhodobého hlediska jediným možným řešením. V případě, že druhé oko není postiženo, je možné použít přenos části tkáně z párového orgánu (autologní transplantace), při poškození obou očí je nutné využít dárcovské tkáně, ať už od zemřelých dárců, nebo od žijících příbuzných dárců (alogenní transplantace). Operace je prováděna jako samostatný zákrok, často vedoucí k překvapivě dobré pooperační zrakové ostrosti, nebo předchází transplantaci rohovky. Autoři ve svém sdělení na několika kazuistikách prezentují chirurgický postup a klinické výsledky transplantace limbálních buněk, jak autologních, tak alogenních.

Simulace zánětlivého prostředí chronických ran in vitro

Stunová A., Vištejnová L., Hošek P., Hrabák J.

Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

Dlouhodobá přítomnost bakterií rezistentních vůči obranyschopnosti člověka a vůči antibakteriální terapii je jednou z příčin vzniku kožních chronických ran. Rozpuštěné faktory produkované bakteriemi do rány, například proteázy, exotoxiny, glykolipidy a pigmenty, mohou podporovat zánět a zpomalovat proces hojení. Mezi narušené procesy patří i činnost dermálních fibroblastů, buněk odpovědných za obnovu poškozené dermis. Bakteriální rozpustné faktory mohou ovlivňovat proliferaci a migraci dermálních fibroblastů či produkci extracelulárních proteinů a signálních molekul těmito buňkami.

Existuje několik in vitro modelů dermálních fibroblastů v infekčním či zánětlivém prostředí. Tím nejčastěji používaným je přidavek bakteriálního lipopolysacharidu (LPS) nebo pro-zánětlivých cytokinů a chemokinů, například IL6, TNF α nebo IL8, do kultivačního média buněk. Tyto modely jsou však značně vzdálené od komplikované situace ve skutečné ráně. Modernější přístupy zohledňují přítomnost bakterií planktonických (rozptýlených), nebo ve formě bakteriálního biofilmu (společenstva). Některé studie využívají exsudát reálných ran pacientů přidávaný do kultivačního média jako zdroj signálních molekul a bakteriálních rozpustných faktorů.

Cílem této studie je pomocí planktonických bakterií simulovat zánětlivé a infekční prostředí rány a sledovat odpověď dermálních fibroblastů. Příprava planktonických bakterií se liší nejen použitím konkrétního bakteriálního druhu a kmene, v tomto případě *S. aureus*, *P. aeruginosa* (či jejich kombinací), ale i v postupech přípravy bakteriálního inokula pro účely inkubace s buňkami kůže. Při hodnocení vlivu planktonických bakterií jsou analyzovány základní fyziologické projevy dermálních fibroblastů – metabolická aktivita, proliferace a morfologie.

Rozdíly v účinku bakterií na viabilitu a proliferaci dermálních fibroblastů byly pozorovány u obou studovaných bakteriálních druhů a šesti různých kmenů *P. aeruginosa*. Významný vliv na účinek bakterií měl postup přípravy bakteriálních inokul. Během této práce se podařilo vybrat vhodný způsob přípravy bakteriálních inokul, který bude použit pro další testování vlivu patogenů ran na činnost dermálních fibroblastů.

Tento projekt byl podpořen z Národního programu udržitelnosti I (NPU I) č. LO1503 poskytovaného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy, programem Specifického vysokoškolského výzkumu (SVV) č. 260392 a projektem Grantové agentury Univerzity Karlovy č. 128417.

Resorbovatelná kolagen-kalcium fosfátová nanostrukturovaná vrstva s řízenou elucí antibiotik pro zvýšení životnosti implantátů: oseointegrace vs. antibiotická profylaxe

Suchý T.^{1,2}, Šupová M.¹, Horný L.², Klappková E.³, Denk F.¹, Pokorný M.⁴, Bartoš M.⁵, Vištejnová L.⁶, Klein P.⁶, Tonar Z.⁷, Kubíková T.⁷, Kolinko Y.⁷, Sucharda Z.¹, Žaloudková M.¹, Sedláček R.⁵, Sauerová P.⁵, Hubálek Kalbáčová M.^{5,7}, Ballay R.⁸, Čejka Z.⁹

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

Laboratoř biomechaniky, Ústav mechaniky a mechatroniky, FS ČVUT v Praze²

Ústav lékařské chemie a klinické biochemie, 2. LF UK a FN v Motole, Praha³

Contipro, a.s., Dolní Dobruč⁴

Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK v Praze⁵

Biomedicínské centrum LF v Plzni, Univerzita Karlova⁶

Ústav histologie a embryologie, LF v Plzni, Univerzita Karlova⁷

I. ortopedická klinika, 1. LF UK a FN v Motole, Praha⁸

ProSpon, s.r.o., Kladno⁹

Koncem 20. století se v lékařské literatuře začal objevovat sportovní termín „závod o povrch“, který popisuje nerovný soubor o správné přijetí jakéhokoliv implantátu organismem. Účastníky tohoto závodu jsou vedle různé favorizovaných buněk a baterií i lokální nosiče léčiv připravované z různých materiálů. Tato přednáška shrnuje poznatky o cestě nanostrukturovaných kolagen-kalcium fosfátových nosičů antibiotik na „startovní čáru“. Kolagenové kompozitní nosiče antibiotik jsou pomocí elektrostatického zvláknování nanášeny přímo na povrch kovových implantátů, kde by měly urychlit vhojení do kosti a současně působit jako antibiotická prevence v profylaxi infekce. S tímto cílem bylo navrženo a odzkoušeno několik materiálových variant vrstev a současně byl řešen způsob depozice antibiotik a jejich navázání na jednotlivé složky kompozitu. Byla hodnocena kinetika uvolňování antibiotik a míra degradace, jejich účinnost vůči vybraným klinickým izolátům a cytocompatibilita v in vitro podmínkách. Biologické hodnocení v in vivo podmínkách bylo provedeno na modelu potkana se způsobeným zánětem a na velkém zvířecím modelu. Součástí vývoje vrstev bylo také hodnocení technologických parametrů přípravy jako adheze vrstev na porézních kovových substrátech nebo vliv sterilizačních metod na dlouhodobou stabilitu a účinnost.

Autoři děkují za finanční podporu této práce poskytnutou prostřednictvím projektu TAČR TA04010330.

Vývoj biopolymerní nanostrukturované dermální náhrady: Ex ovo a in vivo studie

Knoz M.^{1,2,4}, Vojtová L.³, Lipový B.^{1,2}, Holoubek J.^{1,2}, Babrňáková J.³, Pavlíňáková V.³, Vištejnová L.⁵, Štěpánková V.⁶, Filová E.⁷, Pavlovský Z.⁸, Faldyna M.⁹, Göpfert E.⁹, Damborský J.¹⁰, Hearnden V.¹¹

Klinika popálenin a rekonstrukční chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno¹

Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita, Brno²

CEITEC – Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně³

Klinika plastické a estetické chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně⁴

Úvod

21. století se stalo dobou progresivního výzkumu a vývoje na poli nanotechnologií. Spolu se zvyšujícími se nároky na kvalitu léčby v oboru popáleninové a plastické chirurgie, nastává příležitost uplatnění nových technologických řešení v léčbě defektů při plné ztrátě tloušťky kůže. Cílem současné léčby není již jen přežití pacienta, ale i zachování či zvýšení kvality života po devastujícím poranění, optimalizace akutní léčby a následné rehabilitace. Arteficiální kožní náhrady skýtají vlastnosti zlepšení řízené maturace jizev při zachování viskoelastických vlastností nově tvořené kůže.

Metody

Resorbovatelná kožní náhrada se skládá ze dvou vrstev. Spodní vrstva (substituce dermis) byla připravena z biopolymerní nanostrukturované porézní pěny vysoce stabilním FGF2. Horní tenčí vrstvu (substituci bazální membrány) tvoří amfifilní polymerní nanovlákná zajišťující optimální adhezi dermoepidermálního štěpu. Kožní náhrada a její biologická aktivita byla testována v několika krocích: 1) in vitro testováním biokompatibility kolonizací 3T3 liniemi myších fibroblastů, 2) ex-ovo testováním neovaskularizace pomocí CAM (Chick Chorioallantoic Membrane) assay, 3) in vivo experimentem na zvířecím modelu prasete domácího včetně histologické, biomolekulární analýzy a kutometrie.

Výsledky

In-vitro testy vyhotovené při sledování na myších 3T3 fibroblastech neprokázaly cytotoxicitu bilaminární kožní náhrady. Kolagenové pěny s obsahem chitosanu vykazovaly zvýšenou viabilitu a množství DNA na rozdíl od nemodifikovaných pěn. Ex ovo CAM assay potvrdila výraznou neovaskularizaci jak u nemodifikovaných tak u FGF2 modifikovaných 3D kolagenových pěn. Byla potvrzena biokompatibilita a výrazná neovaskularizace dvouvrstvého kolagen-chitosanového implantátu s FGF2 pomocí in vivo experimentu, kdy byl implantát vložen do vytvořeného plošného defektu při ztrátě plné tloušťky kůže experimentálního prasete domácího a překryt tenkým aseptickým dermoepidermálním štěpem.

Závěry

Histologické a imunohistologické vzorky odebrány 14. pooperační den potvrdily resorpci kožní dvouvrstvé biopolymerní náhrady při tvorbě neodermis a zhojení rány v celém defektu zvláště pak u vzorků s obsahem FGF2. Vzorky vykazovaly novotvorbu vaziva, bez přítomnosti buněk z cizích těles. Testovaný 3D dvojvrstvý biomateriál tak prokázal optimální vlastnosti aplikace do kožních defektů, odolnost proti infekci a biokompatibilitu. Zvýšená elasticita neodermis byla prokázána kutometrickými měřeními.

Související projekty a granty

Tento výzkum byl finančně podpořen Ministerstvem zdravotnictví ČR v rámci projektu s reg. č. 17-29874A, Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR v projektu CEITEC 2020 (LQ1601) a OP VaVpl – AdmireVet (LO1218).

In vitro modeling of (c9)FTD/ALS by direct trans-differentiation of skin fibroblasts into induced neurons*Bauer P. O.**Bioinova, s.r.o., Praha**Mayo Clinic, Jacksonville, FL, USA*

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and frontotemporal dementia (FTD) are incurable neurodegenerative conditions. A non-coding hexanucleotide (GGGGCC) repeat expansion in the *c9orf72* gene is the most common genetic cause c9FTD/ALS. A cellular model of c9FTD/ALS where induced neurons (iNeurons) are generated within two weeks by direct conversion of patients' dermal fibroblasts through down-regulation of polypyrimidine-tract-binding protein 1 (PTB1) is presented. While sense (S) and anti-sense (AS) intranuclear RNA foci were observed in both fibroblasts and iNeurons, the accumulation of (S) and (AS) repeat-associated non-ATG translation (RANT) products were detected only in iNeurons. Importantly, anti-sense oligonucleotides (ASOs) against the (S) repeat transcript lead to reduced (S) RNA foci and the corresponding RANT products without affecting its (AS) counterparts. ASO treatment also rescued the cell viability upon stressful stimulus. Moreover, a bioactive small molecule targeting r(GGGGCC)exp was designed and found to significantly inhibit RAN translation and foci formation in neurons transdifferentiated from fibroblasts of repeat expansion carriers. The results indicate that iNeurons is an advantageous model that not only recapitulates c9FTD/ALS hallmark features but can also help uncover promising therapeutics.

Vliv tlakové zátěže v bioreaktoru na diferenciaci kmenových buněk z tukové tkáně směrem hladkému svalu a produkci extracelulárního kolagenu

Štěpanovská J., Filová E., Rosina J., Koňářik M., Bačáková L.

Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT v Praze

Fyziologický ústav AV ČR, v. v. i.

Institut klinické a experimentální medicíny

Vystavení buněčné kultury mechanickým stimulům podobným in-vivo podmínkám v kombinaci s vhodným médiem urychluje proces diferenciaci a fenotypické maturace a produkci extracelulární hmoty. Získání kmenových buněk z tukové tkáně představuje relativně jednoduchou a miniinvazivní metodu. V kombinaci s vhodným substrátem je tak možné v in-vitro podmínkách připravit autologní implantát který tak může nalézt uplatnění např. v kardiovaskulární chirurgii v situacích kdy není možné použití štěpu přímo od pacienta.

Pro tyto účely byl vytvořen speciální systém bioreaktoru skládající se z kultivační komory umožňující uchycení rozličných substrátů a vytvářející několik definovaných kultivačních kompartmentů a systému pro generování tlakové zátěže formou cyklických pulzů. Substráty zahrnují jednak plazmou modifikovaná skla nebo silikon, což umožňuje vytvořit tuhý nebo elastický modelový substrát s možností živého snímání kultury. Dále je možné využití substrátu s aplikačním potenciálem jako jsou nanovlákná, nebo decelularizovaná tkáň. Generovaná tlakové zátěže je plně nastavitelná se zpětnovazebním řízením zahrnující fyziologické hodnoty tlaku a frekvence pulzů krevního řečiště, včetně možnosti vytváření hypo-, hypertenze při různé frekvenci.

Při experimentech byly použity kmenové buňky získané z tukové tkáně ve 2 pasáži. Tyto buňky byly nasazeny do kultivačních komor v hustotě 120 tis.b./cm² aby bylo docíleno konfluentní vrstvy. Po 30minutové adhezi byly komory připojeny k systému tlakové stimulace. Pro statickou kontrolu byly ještě další komory bioreaktoru osazeny buňkami ovšem bez připojení k systému tlakové stimulace. Tlaková stimulace byla nastavena na fyziologické hodnoty tlaku 120/80 mmHg (16/9,3 kPa) s frekvencí 60 tepů za minutu (1 Hz). Kultivace běžela v definovaných intervalech 1, 3, 7 a 14 dní. Poté byly komory odpojeny a provedena analýza, jež zahrnovala fluorescenční barvení diferenciálních markerů na hladký sval (α -actin, caplonin, caldesmon a myosin) a extracelulární kolagen I. Dále byly stanoveny počty buněk v kultivační kompartmentech, stanovena celková úroveň proteinu BCA esejí a Western blot markeru s normalizací na buňku.

Buňky v dynamické zátěži vykazovaly jinou tvarovou morfologii oproti statickým buňkám. Již ve 3denním intervalu byl signifikantní nárůst ranných markerů u dynamické kultury. Při 7denní kultivaci byly u dynamické kultury patrné formace extracelulárních kolagenních vláken. Celkový nárůst proteinů byl u 3denního intervalu u dynamické kultury o 50% vyšší než u statické, 7 den ca. 80% a u 14 denního experimentu 140%. Tyto výsledky dokazují pozitivní vliv tlakové zátěže na diferenciaci a tvorbu extracelulárního kolagenu.

Dalším plánem je využití systému bioreaktoru pro urychlenou maturaci buněk na decelularizovaném nosiči z perikardu a vytvoření autologní kardiovaskulární záplaty pro in-vivo studii.

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

3D stereoskopie jako metoda pro získání detailní informace o objektu

Žídek J., Vojtová L., Pavlišnáková V., Kalasová D., Šalplachta J., Zikmund T., Kaiser J.

CEITEC, Vysoké učení technické v Brně

Príspevek se zabývá zobrazením 3D objektu nasnímaného pomocí rentgenové počítačové tomografie. Technika spočívá ve vytvoření detailního snímku z renderovaného objektu. Renderování je projekce reálného povrchu vzorku na základě 3D počítačového modelu získaného z rentgenové počítačové tomografie.

Pokud pořídíme jednotlivý snímek, jeho nevýhodou je nízké rozlišení. Ze snímku lze získat určitý objem informací (bitů) o zobrazeném objektu. Ve 2D bitmapě jsou pouze informace, které byly zaznamenány při pořízení fotografie. Z fotografie již další úpravou nelze získat další informace.

Vylepšení lze dosáhnout pomocí stereoskopického snímání objektu ve 3D při nízkých paralaxních úhlech. Paralaxní úhel je úhel ve kterém se na 3D objekt díváme z pohledů dvou očí. Nízký paralaxní úhel simuluje situaci, jako bychom se na objekt dívali z velké vzdálenosti. Obě oči zdánlivě vidí stejný obraz, nicméně ve skutečnosti jsou oba obrazy mírně rozdílné v závislosti na zakřivení povrchu objektu a průhlednosti. Pokud známe polohu obou očí, lze pomocí projekce zpětně sestavit obraz s vyšším rozlišením.

Na konferenci bude prezentována metoda, kdy se výsledný obraz skládá z pohledu 100 „očí“. Rozdíly nerozeznáme vizuálně, ale můžeme provést rekonstrukci pomocí matematického a počítačového zpracování. Získáme takto vylepšený obrázek s detailní informací. Informace navíc se získá z třetího rozměru. Zpracování bylo inspirováno prací profesora Druckmüllera, který vyvinul matematickou metodu pro sledování korony při zatmění Slunce. Výsledkem jeho práce je velmi působivý obrázek sluneční korony.

Prezentovaná metoda potenciálně umožňuje získat detailnější obraz povrchu materiálu. Z tohoto obrazu můžeme přesněji identifikovat, které domény ve 3D modelu obsahují heterogenity, jako například póry nebo buňky.

Vliv biokeramických částic na morfologické, biomechanické a biologické vlastnosti 3D kolagen-kompozitních nosičů pro tkáňové inženýrství kostí

Vojtová L.¹, Pavlíňáková V.¹, Brtníková J.¹, Klieštíkova N.², Štátný P.¹, Trunc M.¹, Poláček P.¹, Blahnová V.³, Filová E.³

CEITEC – Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně¹

Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně²

Ústav experimentální medicíny AVČR, v.v.i., Praha³

Metodou lyofilizace byly připraveny 3D porézní kolagenové nosiče v kombinaci s různými druhy biokeramiky pro potenciální aplikaci v regenerativní medicíně kostí. Byl sledován vliv chemického složení samotné biokeramiky (hydroxyapatit - HAP, beta-fosforečnan vápenatý - β -TCP, alfa-fosforečnan vápenatý - α -TCP, polyfosforečnan vápenatý - polyP), vliv tepelné úpravy (kalcinace), vliv velikosti částic (nano/mikro) a vliv směsí jednotlivých biokeramik na strukturální, fyzikální, degradabilní, biomechanické a biologické vlastnosti výsledných kompozitních nosičů.

Morfologické vlastnosti sledované pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) prokázaly shodnou porozitu všech vzorků (cca 97 %), velikost pórů byla největší u čistého bovinního kolagenu typu I ($471 \pm 127 \mu\text{m}$). S přidavkem keramiky se velikost pórů snížila průměrně o 100 μm (zhruba o 20 %), nejnižší byla u vzorku obsahující směsnou keramiku HAP/ α -TCP/ β -TCP. Velikost pórů odpovídá i schopnosti nosiče absorbovat vodu, kdy nejvyšší stupeň obsahu vody vykazoval samotný kolagenový nosič (60 %), nejnižší naopak vzorek se směsnou keramikou (40 %). Keramika je na rozdíl od kolagenu hydrofobní, obzvláště s vyšším obsahem HAP, proto tyto vzorky vykazují nižší stupeň botnání.

Biomechanické vlastnosti kolagen-kompozitních nosičů byly testovány jak v suchém tak i v mokřem stavu ve fyziologických podmínkách při 37 °C. V obou případech byl sledován trend, kdy nejvyšší pevnost v kompresi vykázal vzorek samotného bovinního kolagenu, kterému se nejvíce přiblížil vzorek směsné keramiky s vyšším obsahem β -TCP. Z výsledků je patrné, že keramika způsobem samouspořádávání interaguje s kolagenem a jednotlivá vlákna postupně obalí aglomerovanými mikročásticemi a zabrání tak kolagenu v chemickém síťování. Na druhé straně, přidavek biokeramiky tímto způsobem stabilizuje kolagenové vzorky a zpomaluje jeho biodegradaci sledovanou ve fyziologických podmínkách pomocí kolagenázy.

V průběhu in-vitro experimentů byla testována jak cytotoxicita výluhů z jednotlivých vzorků, tak i schopnost nosiče podporovat proliferaci a osteogenní diferenciaci lidských mezenchymálních kmenových buněk (hMSC) izolovaných z kostní dřevě. Metabolická aktivita buněk byla stanovena MTS testem 1., 3. a 7. experimentální den z jednotýdenních výluhů nosičů. hMSC měly nejvyšší úroveň buněčného metabolismu na nosičích obsahující více rozpustnou biokeramiku (TCP), nejnižší vykazovaly vzorky se stabilním hydroxyapatitem. Schopnost nosičů podporovat proliferaci a osteogenní diferenciaci buněk byla sledována 1., 7., 14. a 21. den testem MTS a PicoGreen esejí byl kvantifikován obsah buněčné DNA ve vzorcích. V rámci RTqPCR byla hodnocena exprese mRNA osteogenních markerů RunX2, OCN a kolagenu typu I. Nejlépe byly hodnoceny vzorky obsahující směsný nanometrický kalcinovaný hydroxyapatit s přidavkem beta- i alfa-fosforečnanu vápenatého (HAP/ α -TCP/ β -TCP). Tyto vzorky budou následně ověřeny in-vivo na animálním modelu prasete v rámci regenerace velkého kostního defektu.

Tento výzkum byl finančně podpořen Ministerstvem zdravotnictví ČR v rámci projektu s reg. č. 17-31276A, Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR v projektu CEITEC 2020 (LQ1601), NPU I (LO1309), LO1508 a CZ.2.16/3.1.00/24006.

Specifika mechanického testování měkkých tkání a jejich náhrad

Horný L.

České vysoké učení technické v Praze, Fakulta strojní

Měkké tkáně, na rozdíl od tradičních inženýrských materiálů a vlastně i tvrdých tkání, vykazují významně nelineární mechanické chování. Nelinearita je zde přítomna již od začátku zatěžování, obdobně jako je tomu například u kaučuků. Slabě zesíťované makromolekulární látky, elastomery, se dokonce staly inspirací při hledání vhodného teoretického aparátu pro popis mechanického chování krevních cév, srdce, chlopní, šlach, vazů, kůže, mozkové kůry nebo třeba stěny jícnu či střeva.

Během svojí deformace zakoušejí nelineární materiály velké změny tvaru a objemu. To si vynucuje použití poněkud odlišného aparátu, než se kterým vystačíme při vyjadřování deformace kovů nebo třeba kostí. Hovoříme o takzvané geometrické nelinearitě, protože popis deformace obsahuje kvadratické členy. Významné změny tvaru také vedou k důslednému odlišování mezi smluvním a skutečným napětím. Je tedy třeba vědět k jakému průřezu – původnímu nebo zdeformovanému – je intenzita vnitřních sil, tedy mechanické napětí, vztahována.

Materiálová nelinearita, na rozdíl od geometrické, která se týká pouze matematického vyjádření deformace jako takové, znamená nelineární vztah mezi napětím a deformací. Typické tahové křivky, ať už zobrazují smluvní nebo skutečné napětí, mají konvexní charakter a se zvětšující se deformací progresivně rostou. Kombinace geometrické a materiálové nelinearity může vést k tomu, že číselné hodnoty skutečného a smluvního napětí se významně liší a záměna těchto veličin může vést k nesprávnému závěru o odlišném chování. Informace o číselné hodnotě modulu pružnosti jakožto směrnice tečny ke grafu napětí – deformace je pak zcela nedostatečná, není-li doplněna o údaj, o jaké jde napětí, jak je vyjádřena deformace a v jakém bodě tahové křivky jsme tečnu zkonstruovali.

Mechanická odezva měkkých tkání navíc vždy vykazuje projevy nevratných procesů, jako jsou relaxace napětí, tečení (neboli plastická deformace) a závislost na historii deformace. Mikroskopické procesy v deformujícím se makromolekulárním materiálu vedou k tomu, že se řetězce vůči sobě smýkají, vazby se ustavují do rovnovážných poloh, popřípadě se porušují při zachování makroskopické spojitosti experimentálních vzorků. Zejména cyklická ustálenost mechanické odezvy zajištěná opakovaným vykonáním vybrané historie deformace – preconditioningem – může být velmi podstatná pro zjištění provozního stavu, hledáme-li vhodný tkáňový analogon nebo substituent.

Tato studie byla podpořena Ministerstvem zdravotnictví České republiky v projektu NV15-27941A.

In-vitro a ex-ovo testování bioaktivních vlastností 3D porézních kolagenových materiálů obohacených biologicky aktivními látkami pro dermální náhrady

Babrnáková J., Hearnden V., Štěpánková V., Damborský J., Švachová V., Vištejnová L., Blahnová V., Filová E., Adam V., Kopel P., Šmerková K., Vojtová L.

Vysoké učení technické v Brně, Středoevropský technologický institut

Nové porézní kolagenové pěny obohacené o antibakteriální polysacharidovou složku i biokompatibilní antibakteriální nekovové nanočástice byly dodatečně modifikovány hojivými růstovými proteiny fibroblastů FGF2 s cílem vytvořit jak antibakteriální, tak i hojivou vstřebatelnou dermální náhradu. Kromě morfologické charakterizace byly materiály podrobeny in-vitro testům na lidských dermálních fibroblastech (Alamar Blue, PicoGreen a MTT), které ukázaly překvapivý synergický účinek antibakteriálních nanočástic s hojivými proteiny. Důležitým parametrem byla koncentrace obou látek, která byla experimentálně vyhodnocena tak, aby nebyly materiály cytotoxické, ale přesto účinné jak na bakterie (především *S. Aureus* a MRSA) tak i na neovaskularizaci. Vaskularizační index biomateriálů pro regenerativní medicínu je velmi důležitým faktorem, především pro dermální aplikace. Tvorba vaskularizace byla sledována experimenty ex-ovo pomocí testu CAM - Chick Chorioallantoic Membrane assay.

Nově připravené kolagen-polysacharidové pěny obohacené hyperstabilními FGF2 proteiny a antibakteriálními nekovovými nanočásticemi mohou být použity jako tkáňové náhrady pro podporu růstu buněk v systémech nízkým mechanickým napětím.

Tento výzkum byl finančně podpořen Ministerstvem zdravotnictví ČR v rámci projektu s reg. č. 17-29874A, Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR v projektu CEITEC 2020 (LQ1601), NPU I (LO1309) a STI-J-18-5146.

Nová generace přístrojů Beckman Coulter pro práci s buněčnými kulturami*Máša M.**Beckman Coulter Česká republika s.r.o.*

Společnost Beckman Coulter vyvíjí a vyrábí více než 90. let analytické a preparativní přístroje pro diagnostické a vědecko-výzkumné použití. V současnosti jsou v nabídce nové generace přístrojů:

Vi-CELL BLU určený pro automatickou analýzu koncentrace, viability a růstových křivek buněčných kultur.

Vi-CELL MetaFlex slouží pro rychlou analýzu koncentrací metabolitů, plynů, iontů a pH v médiu buněčných kultur.

Avanti J15 je nová generace stolních centrifug s širokým použitím s možností sklizení buněčných kultur v kultivačních lahvích, falkonech, destičkách nebo litrových objemech.

CytoFlex, průtokový cytometr pro analýzu apoptózy, buněčného cyklu a fenotypu buněk.

Aplikace mikro-CT k analýze průběhu novotvorby kosti po implantaci kolagenových tkáňových nosičů do kostních defektů

Bartoš M., Suchý T., Šupová M., Vrbová R., Ballay R., Juhas Š., Tonar Z., Hubálek Kalbáčová M.

Stomatologická klinika, 1. LF UK a VFN

Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK

Ústav struktury a mechanicky hornin, AV ČR

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

Ústav živočišné fyziologie a genetiky, AV ČR

Ústav histologie a embryologie, LF UK v Plzni

Úvod

Výzkum léčby kostních defektů představuje dynamickou oblast tkáňového inženýrství a regenerativní medicíny s významným klinickým potenciálem. Aplikace vhodného biomateriálu do oblasti defektu zajišťující kostní regeneraci by představovala výhodné řešení. Vliv parametrů nosiče (např. chemické složení, prostorové uspořádání, přítomnost bioaktivních látek, osazení kmenovými buňkami) na kostní regeneraci je předmětem výzkumu. Pro vyhodnocení úspěšnosti implantace takového materiálu může být mj. užito mikro-CT, které umožní nedestruktivní hodnocení 3D struktury novotvořené kostní tkáně a příp. degradaci původního nosiče.

Metody

Tkáňové nosiče (kolagen I, polylaktid, hydroxyapatit, hyaluronan sodný) byly připraveny pomocí elektrostatického zvlákňování a lyofilizace. Část nosičů byla osazena kmenovými buňkami pomocí dynamické kultivace (osazování nosičů v průtokovém bioreaktoru) získanými z miniprasete, do kterého byly pak buňky na nosiči zpět implantovány. V proximální části femurů pokusných zvířat byly vytvořeny vždy 4 cylindrické defekty, které byly řešeny rozdílným způsobem: ponecháním prázdného defektu, aplikací tkáňového nosiče, aplikací tkáňového nosiče s autologními kmenovými buňkami a aplikací autologní kostní tkáně získané při preparaci defektů. Po 3 měsících byla zvířata usmrcena a oblast původních defektů byla po explantaci analyzována pomocí mikro-CT a histologického vyšetření.

Výsledky

Výsledky po 3 měsících demonstrují významný rozdíl mezi jednotlivými metodami řešení kostního defektu. Jako nejúspěšnější je dosud jeví současný „zlatý standard“ – aplikace autologní kosti. Použití tkáňového nosiče s kmenovými buňkami se jeví v této časové periodě jako nejméně úspěšné.

Závěr

Výsledky způsobu léčby kostního defektu se po 3 měsících hojení významně liší. Prozatím nejúspěšnější se jeví aplikace autologní kostní tkáně. Mikro-CT je výhodná metoda k 3D hodnocení hojení kostního defektu.

Tento projekt byl podpořen z programového projektu MZČR (reg. č. 15-25813A) a MŠMT (Progres Q29).

Mikro-CT bylo pořízeno za podpory OpVaVpl, ERDF a MŠMT (reg. č. CZ.1.05/4.1.00/16.0346).

Kolagenový scaffold pro navození osteogeneze lidských mezenchymálních kmenových buněk

Blahnová V., Vojtová L., Klieštiková N., Filová E.

2. LF UK, ÚEM AV ČR, CEITEC, UCEE

Zlatým standardem terapie kostních defektů kritické velikosti jsou kostní štěpy, v naprosté většině případů autologní. Kromě řady výhod s sebou však v rámci odběru přináší také další poškození zdravé kostní tkáně, což není bez rizika. Nalezení biokompatibilního a bioaktivního implantátu, který by stimuloval pacientovi vlastní kmenové buňky k osteogenezi by podpořilo regenerační kapacitu organismu a značně tak urychlilo rekonvalescenci.

V průběhu studie jsme hodnotili schopnost pěnového nosiče indukovat in vitro osteogenní diferenciaci lidských mezenchymálních kmenových buněk z kostní dřeně. Všechny nosiče byly na bázi kolagenu typu I, který byl kombinován s biokeramikami hydroxyapatitem a trikalciemfosfátem v poměrech 1:1, 2:3 a 3:2. Sledovali jsme buněčnou viabilitu MTS testem a počet živých a mrtvých buněk pomocí fluorescenční mikroskopie. Rovněž jsme sledovali, do jaké hloubky nosiče buňky během kultivace penetrovaly. Míra navození osteogenní diferenciaci byla hodnocena relativní expresí mRNA specifických osteogenních markerů a také imunofluorescenčním barvením kostního extracelulárního proteinu osteokalcinu.

Žádný z testovaných nosičů na buňky nepůsobil cytotoxicky. Buňky ve všech skupinách po celou dobu experimentu proliferovaly. Osteogenní diferenciaci byla dle dat z qPCR navozena ve statisticky nejvyšší míře scaffoldem tvořeným kolagenem typu I a HAP/TCP v poměru 3:2 a to 21. i 35. den kultivace.

Tato práce byla podpořena následujícími granty: MŠMT ČRRP NPU I: LO1309, MŠMT ČR: 17-31276A, MŠMT ČR: LQ1601, MŠMT ČR: LO1508, MŠMT ČR: CZ.2.16/3.1.00/21528, MŠMT ČR: CZ.2.16/3.1.00/24006.

Bioimplantát na bázi peptidového hydrogelu a polymerního nanovláčenného nosiče

Divín R., Vocetková K., Srnec R., Amler E., Nečas A., Škorič M., Kubíková T., Králíčková M., Tonar Z.

Ústav biofyziky, 2. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Univerzitní centrum energeticky efektivních budov, ČVUT, Praha

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

Ústav histologie a embryologie Lékařská fakulta, Plzeň

Úvod

V důsledku traumatických poranění kostí nebo následkem patologických procesů mohou vznikat velmi rozsáhlé defekty kostní tkáně. Syntetické kostní náhrady mohou být využity bez dalšího zatížení pacienta odběrem autogenních tkání a mohou být zároveň využity jako nosiče bioaktivních molekul/léčiv pro stimulaci hojení tkáně. Pro klinické využití bioimplantátů je nezanedbatelným požadavkem jejich snadná a minimálně invazivní aplikace.

Gelové formy bioimplantátů, jež jsou schopny měnit své viskoelastické vlastnosti v závislosti na prostředí, je možné injekčně vpravit do místa defektu, kde se zvýší jejich rigidita. Navíc obohacením takového gelu o fragmentované biodegradabilní nanovláčena, jakožto nosiče bioaktivních molekul, je možné vytvořit systém, jež svými fyzikálně-chemickými vlastnostmi poskytne v místě poškození jak mechanickou ochranu a vhodné prostředí pro proliferaci buněk, tak i dlouhodobé pozvolné uvolňování bioaktivních látek s pozitivním vlivem na proces hojení.

Materiály a metody

Bioimplantát vznikl vytvořením suspenze z modifikovaného peptidového hydrogelu PGD-AlphaProA dodaném firmou PeptigelDesign Technologies a mikročástic nanovláčenné povahy připravené kryomletím nanovláčenného nosiče. Samotný nanovláčenný nosič byl připraven metodou elektrostatického zvlákňování 24% (v/v) polymerního roztoku polycaprolactonu (PCL) na přístroji Nanospider™ NS 1S500U společnosti Elmarco s.r.o.

V celé šířce distální diafýzy femuru, totožně na obou pánevních končetinách skupiny pokusných zvířat (potkani), byly vytvořeny iatrogenní defekty. Bioimplantát byl injekčně vpraven vždy do defektu na pravé končetině zvířete a defekt na levé končetině byl ponechán ke spontánnímu vyhojení.

Závěry hojení ošetřených i neošetřených iatrogenních defektů byly posuzovány na základě histologického vyšetření nově vytvořené kostní tkáně na skupinách potkanů uspaných jeden, dva, čtyři a šest týdnů od operace.

Výsledky

Výsledky histologického vyšetření ukázaly pozitivní vliv přítomnosti bioimplantátu v časných fázích procesu hojení. V době jeden až dva týdny od operace defekty obsahující bioimplantát vykazovaly oproti spontánně vyhojeným defektům mírně vyšší angiogenezi, celularitu s nárůstem novotvořené kostní tkáně a rychlejší osídlování lamelárních kostních struktur buňkami kostní dřevě. V pozdějších fázích hojení, čtyři až šest týdnů od operace, nebyl v místě defektu pozorován vliv bioimplantátu na modelaci kosti ani na morfologický vzhled dalšího procesu hojení.

Závěr

Výsledky prokázaly příznivý vliv přítomnosti bioimplantátu na hojení defektu kosti a to zejména v časných fázích hojení. Gelové bioimplantáty mají tedy potenciál stát se novým systémem podporujícím hojení defektů kostní tkáně.

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

Stabilitní studie nanovláknenných materiálů z PCL

Havlíčková K., Hauzerová Š., Kopřivová B., Erben J., Chvojka J., Jenčová V.

Technická univerzita v Liberci

Úvod

Nanovláknenné materiály poskytují vhodné vlastnosti, jakožto kožní kryty využívané pro hojení kožních poranění. Konkrétně elektrostaticky zvlákněné materiály z polykaprolaktonu jsou pro řadu svých vlastností, podporujících hojení ran slibným kandidátem pro výrobu planárních vrstev, kožních krytů pozitivně ovlivňujících proces hojení ran. Důležitým faktorem pro stabilní funkčnost kožních krytů je stabilita a degradační chování materiálu za různých podmínek, tedy skladování materiálů před aplikací, během implantace na poraněnou tkáň a v průběhu hojení poškozené tkáně. Studie byla zaměřena na vliv parametrů materiálu (plošná hmotnost, použitý rozpouštědlový systém při výrobě nanovláknenných vrstev) na degradační chování sterilních i nesterilních materiálů po dobu 6 měsíců při různých okolních podmínkách.

Metody

Materiály byly zhotoveny elektrostatickým zvlákněním polykaprolaktonu o molekulové hmotnosti 43 000 (Sigma Aldrich). Jednalo se o tři typy planárních vrstev lišící se složením zvlákněvacího roztoku (8/1/1 chloroform:ethanol/kyselina octová; 8/2 chloroform/ethanol) a dále plošnou hmotností (průměrná plošná hmotnost 10 a 25 gxm⁻²). Materiály byly rozděleny do dvou sad, přičemž jedna byla sterilizována ethylen oxidem. Následně byly od obou sad materiálů připraveny tři sady vzorků (navážka materiálů činila 50 ± 5 mg) pro dané prostředí (suchý vzorek – pokojová teplota, 4°C; mokry vzorek – 37°C v PBS), ve kterém byly po dobu stabilitní studie sledovány. Odběry vzorků a jejich následná analýza probíhala v měsíčním intervalu. Morfologie zhotovených materiálů byla charakterizována pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM). Degradační chování vybraných materiálů bylo hodnoceno na základě hmotnostních úbytků daných materiálů, změně molekulové hmotnosti (gelová permeační chromatografie - GPC analýza), změně krystalinity (diferenciální skenovací kalorimetrie - DSC analýza), a též na základě změny morfologie (SEM).

Výsledky

V rámci experimentu byly elektrostaticky zhotoveny planární nanovláknenné materiály. Analýza váhových úbytků ukazuje, že k nejvýraznějšímu úbytku dochází u vzorků inkubovaných v pufu při 37°C oproti suchým vzorkům. Důvodem je zřejmě fakt, že dochází k disociaci makromolekul degradovaných na rozpustnou velikost. U sterilizovaných materiálů nebylo prokázáno odlišného chování od vzorků nesterilních. Nebyl prokázán ani vliv rozpouštědlového systému. Nejrychleji docházelo k degradaci u materiálů o nižší plošné hmotnosti. Ze SEM snímků nebyla změna morfologie po dobu 6 měsíců pozorována. Z výsledků GPC analýzy je patrné, že u žádného materiálu se molekulová hmotnost nemění. Výsledky DSC analýzy dokládají, že vyšších hodnot krystalinity dosahuje materiál inkubovaný v pufu při teplotě 37°C, což je způsobeno větší mobilitou segmentů makromolekul, které zaujímají uspořádanější, tedy více krystalickou strukturu oproti materiálům inkubovaných v odlišných prostředích.

Závěr

Z výsledků stabilitní studie v průběhu 6 měsíců je patrné, že dochází k mírnému úbytku hmotnosti, přičemž nejrychleji dochází k hmotnostnímu úbytku u materiálů s nižší plošnou hmotností, vliv rozpouštědlového systému není patrný. U vzorků nebyla pozorována změna morfologie (změna průměru vláken, defekty) ani změna molekulové hmotnosti polymeru, a to u sterilních i nesterilních materiálů, není tedy patrný vliv aplikované sterilizace na stabilitu materiálu. Na základě výsledků studie po 6 měsících lze tedy říci, že materiál se chová stabilně a nedochází k degradaci, která by výrazným způsobem ovlivnila morfologii vláken a molekulovou hmotnost polymeru. Hmotnostní úbytek je též minimální.

Inkorporace L-Argininu do nanovláknenné vrstvy

Horáková J., Oulehlová Z., Novotný V., Havlíčková K., Jenčová V., Mikeš P.

Technická univerzita v Liberci

Klíčová slova: L-Arginin, kožní kryty, polykaprolaton, elektrostatické zvláknění

Úvod

Využití nanovláknenných vrstev pro hojení kožních poranění je velmi slibné. Elektrostaticky zvlákněné materiály z polykaprolaktonu vykazují vhodné vlastnosti jako např. adheze ke spodině rány, postupná degradace bez známek zánětu během hojení, udržení vhodných podmínek v ráně díky dostupnosti plynů apod. Proces hojení může být podpořen bioaktivními látkami např. na bázi krátkých peptidů či aminokyselin. L-Arginin je bazická aminokyselina schopná generovat oxid dusnatý za přítomnosti příslušných enzymů. Inkorporace L-Argininu do nanovláknenné vrstvy polykaprolaktonu byla provedena za účelem optimalizace výrobního procesu a studia uvolňování této bioaktivní látky. Další studie pak budou zaměřeny na vliv L-Argininu na hojení ran v podmínkách in vitro a in vivo.

Metody

Materiály byly vyrobeny elektrostatickým zvlákněním polykaprolaktonu s přidávkou L-Argininu o koncentracích 5 hm% a 10 hm%. Výsledné materiály byly charakterizovány morfologicky pomocí skenovací elektronové mikroskopie. Dále bylo testováno uvolňování L-Argininu z nanovláknenných vrstev po dobu 14 dnů po inkubaci v pufru. Kvantifikace L-Argininu byla provedena vysoceúčinnou kapalinovou chromatografií. V experimentu byl také hodnocen vliv předúpravy vzorku na množství uvolněné aktivní pátky (sterilizace etylen oxidem, oplach etanolem, oplach puftrem).

Výsledky

Pro experiment byly vyrobeny 3 nanovláknenné vrstvy z polykaprolaktonu obsahující 0%, 5% a 10% L-Argininu ve zvlákněvacím roztoku. Průměr vláken se pohyboval v rozmezí 150-250 nm a nelišil se u vrstev s přidávkou L-Argininu. Uvolňování L-Argininu probíhalo v průběhu 14denního experimentu. Největší podíl L-Argininu se uvolnil do pufru během první hodiny, poté probíhalo uvolňování v menších dávkách. Výrazný vliv měla také předúprava vzorků – oplach puftrem a etanolem výrazně snížila celkové množství uvolněné aminokyseliny. Sterilizace etylen oxidem neměla na množství L-Argininu ve vzorcích žádný vliv.

Závěry

Elektrostaticky zvlákněné vrstvy na bázi polykaprolaktonu je možné modifikovat přidávkou bioaktivních látek přímo do zvlákněvacího roztoku. Uvolňování je výrazně ovlivněno předúpravou vzorků. Vrstvy pro další použití jsou sterilizovány etylen oxidem, kdy nedochází k poklesu aktivní látky. Postupné uvolňování L-Argininu bylo pozorováno po dobu 2 týdnů.

Poděkování

Práce byla podpořena projektem GAČR 17-02448S (Zvýšený růst lidských kožních buněk na biomimetických nanovláknenných maticích pro aktivní hojení ran).

Testování porézních keramik pro kostní tkáňové inženýrství*Lukášová V.^{1,2}, Rampichová M.², Šťastný P.³, Sedláček R.⁴, Vojtová L.³, Trunec M.³**Univerzitní centrum energeticky efektivních budov ČVUT v Praze¹**Ústav experimentální medicíny, Akademie věd ČR²**Středoevropský technologický institut - Vysoké učení technické v Brně³**České vysoké učení technické v Praze⁴*

Vhodný bezbuněčný nosič pro použití v tkáňovém inženýrství by měl podporovat buněčnou migraci do místa defektu a následnou buněčnou adhezi na nosič. Keramické nosiče složené z hydroxyapatitu (HA) nebo z trikalcium fosfátu (TCP) jsou biokompatibilní s tvrdou kostní tkání. Navíc jsou tyto nosiče osteokonduktivní, bioaktivní a nejsou cytotoxické. Kontrolovaná degradace keramických nosičů nabízí dočasnou podporu, dokud se v místě defektu nevytvoří nová tkáň. Nosiče vyrobené z HA jsou materiály běžně užívané při regeneraci kosti, jelikož jsou zdrojem iontů vápníku a fosfátu, které jsou důležité v procesu mineralizace kosti.

Tato studie byla zaměřena na in vitro testování keramických nosičů s cílem navození osteogenní diferenciaci lidských mesenchymálních kmenových buněk (hMSC). Nejprve byly porovnány čtyři typy keramických nosičů a jejich vliv na adhezi, proliferaci a metabolickou aktivitu hMSC nasazených na tyto nosiče a kultivovaných po dobu 14 dnů v růstovém médiu. Na základě obdržení výsledků byla vybrána keramika HA/TCP, která byla následně obohacena o polyfosfát, kolagen či fibroblastový růstový faktor 2 (FGF2, Enantis s.r.o. Brno), s cílem vylepšit osetoinduktivní vlastnost keramického nosiče. Na nosiče byly nasazeny hMSC a kultivovány po dobu 35 dní v osteogenním médiu.

Metabolická aktivita buněk byla měřena MTS testem, buněčná proliferace PicoGreen testem, adheze a proliferace byla sledována konfokální mikroskopií a skenovací elektronovou mikroskopií, buněčná diferenciaci byla ověřena metodou RT-PCR.

Z provedených experimentů je patrné, že povrchem nejméně vhodným, zejména pro iniciální adhezi hMSC, je keramika z HA. Nejlepších výsledků bylo dosaženo na keramice HA/TCP, která byla následně modifikována a dále testována. Bylo prokázáno, že modifikované vzorky, s výjimkou vzorku HA/TCP+polyfosfát, kde po nasazení buněk došlo ke změně pH kultivačního média, jsou plně biokompatibilní. Z testů buněčné diferenciaci vyplynulo, že vzorek HA/TCP a dále pak vzorky HA/TCP+kolagen a HA/TCP+kolagen+FGF2, měly pozitivní vliv na navození osteogenní diferenciaci nasazených hMSC.

Poděkování: Studie byla finančně podpořena z grantu Agentury pro zdravotnický výzkum České republiky číslo 17-31276A.

Antimicrobial peptides for topical treatment of osteomyelitis and prevention of implant related infections in orthopedics

Melicherčík P.¹, Landor I.¹, Nešuta O.², Jahoda D.¹, Ballay R., Fulín P., Čeřovský V.²

Department of Orthopedics, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and University Hospital in Motol¹

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic²

Bone infection is one of the most serious complications in orthopedics and traumatology affecting 150 million people worldwide a year. It requires years of antibiotic therapy, multiple surgical interventions, may lead to joint arthroplasty, osteosynthesis failure and sometimes amputations. One of the ways of increasing the therapeutic potential is filling the infected cavity in the bone with local carriers loaded with antibiotics, or as we suggest, carriers loaded with antimicrobial peptides (AMPs). AMPs can be also utilized for the prevention of the microbial biofilm formation on the surfaces of the artificial materials used in orthopedics. We studied the efficacy of AMPs invented in our laboratory in the models of induced osteomyelitis utilizing human hip joints obtained after their replacement with an artificial prosthesis. The bones were infected by selected type of bacteria or *Candida* inside the holes bored into their spongy part. Microbes were grown within the holes and then the holes were filled with the various AMPs or antibiotics mixed with a local carrier used in orthopedics such as calcium phosphate (Fig. 1). The focus of the infection in the bone treated with AMP mixed with carrier was eradicated much more effectively than the focus treated with antibiotics such as vancomycin or gentamicin mixed with the same carrier. Furthermore, AMPs incorporated into model implant made from poly-methylmethacrylate based bone cement prevented the formation of the bacterial biofilm on its surface after the implant was inserted inside the infected bone.

Fig. 1. Infected spongy part of the bone sample filled with a peptide mixed with local carrier (a, b), local carrier alone (c), and local carrier loaded with antibiotic (d).

This work was supported by AZV ČR č.16-27726A, Internal grant of Motol Modern Therapy no 9777 and Internal grant of Motol Motol 6010.

Fluorovaný ethylen propylen: adheze primárních a kmenových buněk*Peterková L.¹, Rimpelová S.¹, Slepíčka P.², Slepíčková Kasálková N.², Švorčík V.², Ruml T.¹**Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha¹**Ústav inženýrství pevných látek, VŠCHT Praha²*

Fluorovaný ethylen propylen (FEP) je bioinertní termostabilní polymer podobný Teflonu®. Pro umožnění adheze buněk na FEP jsme použili modifikaci argonovým plazmatem, která umožňuje změnu povrchových vlastností (smáčivost, drsnost) aniž by byly změněny vlastnosti mechanické. Jako modelové linie pro testování biokompatibility FEP sloužily immortalizované lidské dermální keratinocyty HaCaT, primární dermální fibroblasty HDF a také immortalizované mezenchymální kmenové buňky z adipózní tkáně ASC52telo. Modifikace Ar plazmatem (výkon 3, resp. 8 W, expozice 20-240 s) výrazně zvýšila adhezi a proliferaci buněk všech testovaných linií na FEP. Zároveň pozitivně ovlivnila i rozptřeni buněk, které na modifikovaných matricích bylo srovnatelné s kontrolním polystyrenem pro tkáňové kultury. Proces spontánní diferenciaci buněk ASC52telo v osteoblasty se na modifikovaných matricích FEP nezdařil, modifikace ale neinhibuje diferenciaci stimulovanou přidanými diferenciacními faktory. Naše výsledky indikují, že modifikace Ar plazmatem rychle a efektivně zvýšila biokompatibilitu FEP.

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 21-SVV/2018).

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20-SVV/2017).

Financováno grantem GACR P108/12/G108.

Biodegradabilní porézní nosič na bázi silku fibroinu pro ortopedické aplikace*Poláková D., Víchová I., Kejzlar P., Martinová L.**Technická univerzita v Liberci, Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace*

Silk fibroin je protein izolovaný z kokonů bource morušového (*Bombyx mori*), který je tradičně spojovaný především s výrobou přírodního hedvábí. Díky své biodegradabilitě, biokompatibilitě a nízké imunogenicitě je silk fibroin velmi dobrým materiálem pro využití ve tkáňovém inženýrství. Na trhu již existuje náhrada ušního bubínku vyrobená z tohoto biopolymeru a aktivně se studuje také v oblasti kožních, očních a cévních defektů, ať už samotný nebo jako substrát pro postupné uvolňování biologicky aktivních látek.

V naší práci se zabýváme zpracováním čistého silku fibroinu do formy 3D scaffoldu a jeho následnou stabilizací, aby v simulovaných tělních podmínkách byl schopen poskytnout kosti okolo případného defektu dobrou mechanickou oporu. I když se jedná o nebuněčný nosič, poréznost vzniklé struktury umožňuje proliferaci okolních buněk a jejich postupnou migraci materiálem. Biokompatibilita vzniklého materiálu byla testována na buněčné linii lidských osteoblastů, morfologie pak pomocí skenovacího elektronového mikroskopu.

Tato práce byla podpořena Technologickou agenturou ČR grantem TH03020281.

Vláknenný 3D nosič připravený metodou odstředivého zvláknování s inkorporovaným systémem uvolňování látek pro osteogenní diferenciaci mezenchymálních kmenových buněk

Rampichová M.¹, Lukášová V.^{1,2}, Buzgo M.¹, Vocetková K.¹, Sovková V.¹, Blahnová V.¹, Filová E.¹

Ústav experimentální medicíny AVČR, v.v.i., Oddělení tkáňového inženýrství, Praha¹

Přírodovědecká fakulta UK²

Úvod

Regenerace kostních defektů vyžaduje vhodný nosič obohacený o systém řízeného dodávání látek, který podpoří infiltraci buněk z okolních tkání a jejich cílenou diferenciaci. Takový nosič musí splňovat několik parametřů, jako je biokompatibilita, vhodná délka degradace, velká porozita a dostatečně velké propojené póry. Uvolňování stimulačních látek musí být dobře načasováno, aby bylo dosaženo cílené diferenciaci buněk a tvorbě nové tkáně.

Metody

V této studii jsme vytvořily 3D nosič metodou odstředivého zvláknování. Nosič byl obohacen o osteogenní suplementy, β -glycerolfosfát, askorbát-2-fosfát a dexametazon, ve 4 různých koncentracích. Nosiče byly testovány pomocí mezenchymálních kmenových buněk (MSC). Byla sledována buněčná adheze, proliferace a osteogenní diferenciaci pomocí měření hodnot alkalické fosfatázy a PCR analýzy.

Výsledky

Osteogenní suplementy byly úspěšně uzavřeny do nosiče a bylo potvrzeno jejich postupné uvolňování po dobu 30 dní. In vitro testy neprokázaly pozitivní ani negativní efekt uvolňujících se osteogenních suplementů na proliferaci MSC. Naopak byl prokázán pozitivní vliv na osteogenní diferenciaci, a to u vzorků se dvěma nejvyššími koncentracemi osteogenních suplementů.

Závěry

Byl úspěšně připraven vláknenný nosič s inkorporovaným systémem uvolňování látek. Osteogenní suplementy se z nosiče uvolňovaly po dobu 30 dní. Testování s mezenchymálními kmenovými buňkami prokázalo jeho osteoinduktivní vlastnosti. Tento materiál je velmi slibný jako bezbuněčný nosič pro regeneraci kostní tkáně.

Poděkování:

Tento projekt je podpořen Grantovou agenturou České republiky, projekt č. 18-09306S.

Mechanické vlastnosti porézniých keramických materiálů – mez pevnosti v tlaku

Sedláček R.¹, Suchý T.¹, Vondrová J.¹, Lukášová V.², Rampichová M.², Trunc M.³, Štátný P.³, Vojtová L.³, Krtička M.⁴

Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, Fakulta strojní, ČVUT v Praze¹

Univerzitní centrum energeticky efektivních budov, ČVUT v Praze²

CEITEC – Středoevropský technologický institut, VUT v Brně³

Klinika úrazové chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno⁴

Úvod

Předmětem této experimentální studie bylo hodnocení mechanických vlastností porézniých keramických materiálů v tlaku. Nově navrhovaný hybridní biodegradabilní nanokompozitní porézni implantát (HBNPI) modifikovaný biogenním polyfosfátem (bio-polyP) představuje velmi dobrou možnost jak vytvořit kostní fúzi. Zvláště efektivní využití se nabízí v páteřní problematice, kde při jejím poranění či degenerativním postižení je často využívána metoda tzv. intervertebrální dýzy. Pro úvodní studii projektu byly testované vzorky připraveny na bázi tří různých druhů kalcium fosfátové keramiky, jmenovitě hydroxyapatitu (HA), fosforečnanu vápenatého (TCP) a směsné keramiky (BCP) s poměrem fází TCP/HA 75/25.

Metody

Hodnocení mechanických vlastností bylo zaměřeno na stanovení parametrů, které jsou pro testované porézni keramické vzorky významné z hlediska přenosu mechanického zatížení. Metodika spočívá v tlakovém zatěžování vzorku, který je vložen mezi dvě tuhé desky, přičemž horní zatěžná deska má možnost volného naklápění. Zkušební vzorky byly testovány v suchém stavu a po různé dlouhé expozici za podmínek, které mají simulovat činnost osteoklastů, tedy v kyselém prostředí, jež má fyziologicky odbourávat minerální složku kostní tkáně.

Výsledky a závěry

Mez pevnosti v tlaku testovaných porézniých keramických materiálů byla stanovena pro všechny 3 skupiny vzorků v suchém stavu a po expozici v médiu po dobu 2, 7 a 14 dnů. Navržená a odzkoušená metodika byla shledána vhodnou pro hodnocení mechanických vlastností porézniých keramických materiálů. Nejvyšší meze pevnosti v tlaku v suchém stavu bylo dosaženo u vzorků BCP, a to 1,49-1,85 MPa (interval spolehlivosti 95%), druhou statisticky významně nejvyšší pevnost vykazují shodně vzorky HA (1,04-1,36 MPa) a TCP (1,04-1,4 MPa). Expozice v kyselém prostředí nemá žádný vliv na mez pevnosti v tlaku vzorků HA, během dvou týdenní expozice u nich nedochází k žádné statisticky významné změně. Na rozdíl od nich, expozice statisticky významně ovlivní mez pevnosti u obou skupin BCP a TCP s tím, že u BCP dochází ke kontinuálnímu poklesu během všech sledovaných period, zatímco u TCP je minima dosaženo již během jednoho týdne. U HA keramiky tedy během dvou týdnů nedochází ke snížení meze pevnosti, u BCP keramiky lze zaznamenat pokles o 70 % a u TCP až o 93 % oproti suchému stavu.

Tato studie byla podpořena agenturou AZV MZ ČR grantem č. 17-31276A.

Impact of novel UQCRC2 mutation on bioenergetics and mitochondrial morphology in cultured skin fibroblasts

Sládková J., Burská D., Křížová J., Rodinová M., Šonský I., Kostková O., Hansíková H., Zeman J., Tesařová M.

Laboratory for Study of Mitochondrial Disorders, Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague,

The Laboratory for Study of Mitochondrial Disorders (<http://mitolab.lf1.cuni.cz/>) was established as a part of Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague. An advanced diagnostics in combination with research of mitochondrial pathology are used to elucidate causes and pathogenic mechanisms of mitochondrial disorders in patients, to optimize medical care given to a patient and to provide genetic counselling in affected families. Mitochondrial disorders represent a heterogeneous group of more than 250 diseases. Although an increasing number of patients can be diagnosed directly by molecular analyses, muscle biopsies still serve as the gold standard for diagnostics. Cultured skin fibroblasts of our patients are used for genetic and biochemical tests and their mitochondria for ultrastructural research. Despite improved characterization of genetic defects that lead to mitochondrial disorders, the pathogenic mechanisms of these diseases are not very well understood.

The aim of our study was to clarify the impact of novel UQCRC2 mutation on bioenergetics and mitochondrial morphology in cultured skin fibroblasts and therefore to analyse cultured skin fibroblasts of one patient with diagnosis of mitochondrial disease (psychomotoric delay, encephalomyopathy and lactic acidosis). The disease was studied by using all available molecular, genetic and biochemical methods in unique Mitolab. It also included research of bioenergetic status, and shape and ultrastructure of their mitochondrial reticulum.

Whole-exome sequencing revealed a homozygous missense mutation (c.665G>C; p. Gly222Ala) in the UQCRC2 gene that is coding Core 2 protein, the structural subunit of mitochondrial respiratory chain complex III (CIII). CIII together with complexes I and IV (CI and CIV) associates into a variety of supramolecular structures known as supercomplexes (SCs). Biogenesis of CIII relies on coordinated expression of assembly factors and 11 structural subunits one of which is encoded by mitochondrial DNA. BN-PAGE immunoblot of skin fibroblast mitochondria, revealed severe decrease in amount of CIII as well as CI and normal levels of CIV and CV in the patient. Amounts of SCs composed of CIIIIIV and CIIIV were substantially decreased in the patient. The data corresponds to impaired accumulation of SCs due to CIII depletion and it supports suggestion that SCs function to confer stability to CI. Mitochondrial reticulum was visualised by fluorescence vital staining. Ultrastructure mitochondria were characterized by using electron microscopy.

In control fibroblasts, elongated, fusiform mitochondria predominated, while fragmentation and mitochondrial shortening revealed heterogeneous appearance of abnormally sized and shaped mitochondria, which were regularly associated with unusually aberrant and sparse cristae. A multilevel approach is necessary to estimate mitochondrial etiopathogenesis. Nevertheless, it is still complicated to link and explain scientific outcomes to clinical manifestation.

Supported by: RVO-VFN64165/2012

Vliv jednotlivých složek trombocytárního lyzátu na proliferaci a viabilitu buněk

Sovková V., Vocetková K., Amler E.

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

2. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy

Univerzitní centrum energeticky efektivních budov ČVUT v Praze

Trombocyty jsou efektivním zdrojem růstových faktorů a dalších bioaktivních látek ovlivňujících osud buňky. Díky tomu jsou vhodnou náhradou FBS pro kultivaci buněk zejména pro klinické aplikace, kde využití xenogenního přípravku není vhodné. Mimoto jsou využívány jako zdroj růstových faktorů v kombinaci s nosičem, který zajišťuje jejich řízené uvolňování v místě potřeby.

Příprava trombocytárního přípravku na využití v transfuzní medicíně klade jiné požadavky na hodnocení než by bylo hodnocení pro účely tkáňového inženýrství, kde jsou důležité koncentrace a složení růstových faktorů.

K využití bioaktivních látek z trombocytů pro zlepšení hojení i pro akceleraci proliferace buněk mohou být využity trombocytární lyzáty, kde je překonán problém s krátkou životností. Lyzace, provedena například sonikací nebo opakovaným mražením a rozmrazováním umožňuje prodloužit životnost přípravku v řádech měsíců.

Roztoky ve kterých jsou trombocyty rozpuštěny jsou důležitou součástí přípravku a mohou významně ovlivňovat buněčnou odpověď. Trombocyty mohou být uchovány v krevní plazmě, která při alogenním použití přináší rizika imunitní odpovědi příjemce, proto jsou upřednostňovány náhradní roztoky, které tato rizika významně snižují.

V této práci jsme se zaměřili na porovnání jednotlivých složek trombocytárního lyzátu a jejich vliv na proliferaci a viabilitu myších 3T3 fibroblastů a lidských MSC. Zároveň byly u jednotlivých složek sledovány vybrané koncentrace růstových faktorů a dalších mediátorů.

Tato práce byla podpořena následujícími granty: MŠMT VES 17-32285A, NPU I:LO1508, CZ.2.16/3.1.00/21528, NPU I:LO1309, CZ.2.16/3.1.00/24006, OP Prague Competitiveness CZ.2.16/3.1.00/21528

Suché vs. hydratované kolagenové nosiče buněk: je suchý stav reprezentativní?

Suchý T.^{1,2}, Šupová M.¹, Sauerová P.⁴, Sucharda Z.¹, Sedláček R.², Žaloudková M.¹, Hubálek Kalbáčová M.^{3,4}

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

Laboratoř biomechaniky, Ústav mechaniky, biomechaniky a mechatroniky, FS ČVUT v Praze²

Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK v Praze³

Biomedicínské centrum LF v Plzni, UK v Praze⁴

Kolagenové kompozitní materiály se objevují v celé řadě studií nosičů buněk pro tkáňové inženýrství. Hydratace těchto vysoce porézních a hydrofilních struktur může ovlivňovat jejich mechanické vlastnosti a porozitu. Rozdíly ve fyzikálních vlastnostech po hydrataci představují významný limitující faktor pro osazování, růst a diferenciaci buněk *in vitro*, a tím i celkovou aplikovatelnost v oblasti tkáňového inženýrství. Příspěvek shrnuje přípravu a charakterizaci celkem 8 typů kompozitních scaffoldů na bázi kolagenu typu I, poly(DL-laktidových) nanovláken, kalcium fosfátových nanočástic a hyaluronanu sodného s různým zastoupením jejich jednotlivých složek. Připravené materiály byly charakterizovány v suchém a hydratovaném stavu pomocí mikro-CT a stanovení permeability, tlakových mechanických zkoušek, degradačních testů a infračervené spektrometrie. Hydratace simulující podmínky při osazování scaffoldů buňkami po dobu 48 až 576 hodin měla minimální vliv na morfologické parametry a permeabilitu všech 8 typů kompozitů, oproti tomu ale významně ovlivnila jejich mechanické chování, reprezentované poklesem elasticity a smluvní pevnosti v tlaku o 90-95%. Kvantitativní výsledky potvrzují důležitost analýz obdobných materiálů v hydratovaném stavu, resp. prostředí pro které jsou navrženy, a to i přesto že některé vlastnosti nejsou hydratací ovlivněny.

Autoři děkují za finanční podporu této práce poskytnutou prostřednictvím projektu 15-25813A AZV MZČR.

Simulace podmínek v bioreaktoru pro osteogenezi mezenchymálních kmenových buněk

Štěpanovská J., Matějka R., Bačáková L., Rosina J.

Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT v Praze

Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i.

Kostní tkáň patří mezi dynamické tkáně adaptující se na mechanické podněty, které aktivují remodelování tkáně. Mechanické namáhání patří mezi podněty nezbytně potřebné k diferenciaci kmenových buněk do osteoblastů, buněk vytvářejících kostní matrix, složenou především z kolagenu typu I, minerálů a dalších složek.

Pro osteogenezi kmenových buněk in vitro je proto nezbytné vytvořit podmínky podobné tělu organismu, tedy mimo jiné mechanicky stimulovat buňky a podpořit tak jejich diferenciaci do osteoblastů. Výše uvedené požadavky splňuje navržený bioreaktor, zajišťující mimo mechanické stimulace také optimální podmínky pro vývoj buněk, zejména pro jejich adhezi, růst, proliferaci a diferenciaci. Buňky mohou být kultivovány na planárních nosičích z libovolného materiálu. Pro osteogenezi kmenových buněk se zejména využívají mimo klasických laboratorních sklíček i titanové substráty s různými povrchovými úpravami. Povrchy substrátů mohou být dále upraveny fibrinovými gely o různé tloušťce, které vytvářejí 3D kultury buněk a vytvářejí tak pevnější primární tkáň. Pro optimální osteogenezi lze volit mezi několika režimy tlakové stimulace. Systém umožňuje jak konstantní udržování tlaku v kultivační komoře, tak i pulsní stimulaci, kdy na buňky působí předem nastavené rozmezí tlaků při libovolné frekvenci.

Vliv stimulace na osteogenezi mezenchymální kmenové buňky izolované z tuku (ASC) byl hodnocen dle několika markerů v různých časových intervalech doby kultivace a srovnán se statickou kulturou buněk v osteogenním diferenciačním médiu. Primárně byla hodnocena viabilita a počet buněk v buněčné kultuře, dále byl stanovena koncentrace celkového proteinu v extracelulární hmotě, produkce kolagenu typu I, aktivita alkalické fosfatázy a koncentrace osteopontinu. Ve všech výše uvedených markerech dynamická stimulace vykazovala lepší výsledky než statická stimulace. Systém tak může být dále využit např. pro zvýšení biokompatibility titanových materiálů pokrytím materiálů autologními buňkami pacienta.

Metody přípravy nanovláknenných nosičů obohacených o trombocyty

Vocetková K., Sovková V., Buzgo M., Rampichová M., Mičková A., Amler E.

Ústav experimentální medicíny AV ČR

Úvod

Hojení ran je komplexní biologický proces. Narušení křehké rovnováhy signálních molekul, buněk a extracelulární matrix může vést k chronickému hojení. Péče o chronické rány je celosvětovým problémem a je tedy nutné hledat nová řešení léčby. Jako vhodné krytí mohou sloužit polymerní nanovláknna. Svou strukturou napodobují extracelulární matrix a mohou být funkcionalizovány bioaktivními látkami. Vhodným zdrojem nativních růstových faktorů jsou krevní destičky. Obsahují široké spektrum růstových faktorů ve fyziologických poměrech. Cílem této práce bylo vyvinout a charakterizovat polymerní nanovláknenné nosiče obohacené o trombocyty, které podporují metabolickou aktivitu a proliferaci keratinocytů.

Metody

Nanovláknenné nosiče z polykaprolaktonu byly připraveny pomocí elektrostatického zvláknění (24 % PCL). PCL nanovláknna byla nejprve funkcionalizována prostou adhezí krevních destiček, v druhém kroku byly destičky zavlákněny do jádra emulzních nanovláken tvořených PCL (24%) a polyvinyl alkoholem (PVA). Uzavřením destiček do nitra nanovláken se mění uvolňovací profily růstových faktorů. Takto připravené scaffoldy byly poté osazeny keratinocyty a byl pozorován vliv růstových faktorů na chování buněk. Metabolická aktivita byla stanovena pomocí MTS testu, dále byl určen obsah DNA na jednotlivých nosičích. Morfologie buněk a nosičů byla vizualizována konfokální a skenovací elektronovou mikroskopií.

Výsledky

Připravené nosiče byly charakterizovány pomocí SEM, nosiče ukázaly morfologii typickou pro PCL. Dle získaných údajů je zřejmé, že krevní destičky podporují iniciální adhezi keratinocytů, jejich proliferace a metabolickou aktivitu v porovnání s PCL kontrolou. Uzavření trombocytů do nanovláknenných nosičů vedlo k prodlouženému a postupnému uvolňování růstových faktorů.

Závěr

Výsledky studie naznačují, že nanovláknenné nosiče obsahující krevní destičky jsou vhodným nosičem pro tkáňové inženýrství.

Tato práce byla podpořena následujícími granty: GA UK (512216), MŠMT (NPU LO1508 a LO1309) a OPPK CZ.2.16/3.1.00/21528.

Nanostructured titanium alloys (Ti6Al4V) modified by incubation with simulated body fluid as an alternative material for bone implants

Voltrová B., Jarolímová P., Filová E., Fojt J., Joska L., Daniel M.

Department of Tissue Engineering, Institute of Experimental Medicine of the Czech Academy of Sciences, Prague

Faculty of Science, Charles University, Prague

Titanium and its alloys are widely used in dental and orthopaedic implants due to their biocompatibility, good mechanical properties and inert character. Bioactivity of titanium implants can be modified by tuning their surface properties using nanostructures formation or hydroxyapatite layer creation, which better simulate morphology and mineral composition of native bone.

The aim of this study was to investigate cell interaction with polished and nanostructured surface of Ti6Al4V with hydroxyapatite layer created by exposition to simulated body fluid (SBF).

In this work, four types of Ti6Al4V samples (polished, nanostructured, polished and nanostructured exposed to SBF) were created. The specimens were characterised using scanning electron microscopy (SEM) and electrochemical impedance spectroscopy. For in vitro tests, human mesenchymal stem cells (MSC) were used to compare cell response to the Ti6Al4V samples. Cell metabolic activity was evaluated using MTS assay (Promega), the MSC proliferation was analysed using Quant-iT™ ds DNA Assay Kit (Life Technologies). The MSC spreading and adhesion on the materials was visualised using SEM. Differentiation of the cells were analysed using specific immunohistochemical staining of collagen-I, followed by a confocal microscopy visualisation.

This study was supported by the Czech Science Foundation (No.16-14758S).

Bioimplantologie 2018 - sborník abstrakt

Autor (editor): Barbara Kubešová, Daniel Lysák, Tomáš Suchý, Petr Vališ,
Lucie Vištejnová, Lucy Vojtová

ISBN 978-80-01-06425-2

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

Kontaktní adresa: Tomáš Suchý

Tel.: 266 009 287

Tisk: MSD, spol. s r.o.

Adresa tiskárny: Minská 103, 616 00 Brno

Počet stran: 58

Náklad: 100

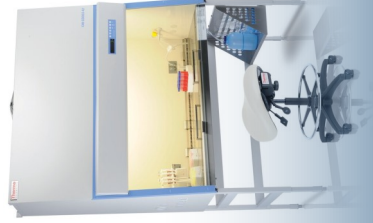
Pořadí vydání: 1.

Brno 2018



KRYOTECHNOLOGIE -190°C HLUBOKOMRAZICÍ boxy -85°C

MRAZICÍ a CHLADICÍ boxy
systémy pro MONITORING TEPLoty



MSC Advantage a HERASAFE KS

laminární biohazard boxy tř. II pro ochranu
produktů i obsluhu s vynikajícími ergonomickými
parametry a s certifikací dle ČSN EN 12469



Thermo
SCIENTIFIC



INVIVO - SCI-tive

pracovní a kulturační boxy s přesně kontrolovanou
hypoxickou atmosférou



BAKER RUSKINN

- centrifugy, ultracentrifugy
- biohazardy a laminární boxy
- bezodtahové digestoře
- dekontaminační systémy
- termostaty / CO₂ inkubátory
- anaerobní a hypoxické boxy
- chladičí, mrazicí a kryo boxy
- systémy pro monitoring teploty
- koncentrátory vzorků, lyofilizátory
- sterilizátory, autoklávy, myčky
- gel - imaging analýza
- mikrodestičkové readersy
- purifikátory DNA/RNA - KingFisher
- příprava ultračisté vody
- pipety a laboratorní plast
- zařízení pro chov laboratorních zvířat
- další drobné laboratorní přístroje