



**XVI. mezinárodní konference
BIOIMPLANTOLOGIE
a regenerativní medicína 2025**
Brno, Orea hotel Santon
23. – 25. dubna 2025

Program
a sborník abstraktů

ČASOVÝ HARMONOGRAM KONFERENCE

23. dubna 2025

středa

10:00 – 12:30	Registrace účastníků
13:00 – 13:20	Zahájení konference
13:20 – 15:00	Sekce přednášek
15:00 – 15:30	<i>Coffee Break</i>
15:30 – 16:30	Sekce přednášek
16:30 – 17:20	Sekce komentovaných posterů
19:30 – 24:00	<i>Večeře a společenský večer</i>

24. dubna 2025

čtvrtek

9:00 – 10:40	Sekce přednášek
10:40 – 11:10	<i>Coffee Break</i>
11:10 – 12:10	Sekce přednášek
12:10 – 13:00	Sekce komentovaných posterů
13:00 – 14:15	<i>Oběd</i>
14:30	Společné focení
16:00 – 18:00	Plavba lodí
19:30 – 24:00	<i>Večeře a společenský večer</i>

25. dubna 2025

pátek

9:00 – 10:00	Sekce přednášek
10:00 – 11:00	Sekce komentovaných posterů
11:00 – 11:30	<i>Coffee Break</i>
11:30 – 12:30	Sekce přednášek
12:30 – 12:45	Vyhlášení vítězů o tři nejlepší komentované postery
12:45	Zakončení konference

XVI. mezinárodní konference Bioimplantologie a regenerativní medicína

Brno, 23. – 25. dubna 2025
Orea hotel Santon

PROGRAM SBORNÍK PŘEDNÁŠEK A POSTERŮ

organizuje



Společnost pro bioimplantologii ČLS JEP

www.bioimplantologie.cz

OBSAH

Programový výbor	6
Základní informace.....	7
Program	8
Sborník přednášek a posterů	11
Autorský rejstřík	78

Staňte se členem Společnosti pro bioimplantologii!

Máte zájem o **buněčnou terapii, regenerativní medicínu nebo tkáňové inženýrství**? Přidejte se k nám a staňte se součástí dynamické komunity, která propojuje výzkum s klinickou praxí a pomáhá formovat budoucnost medicíny.

Společnost pro bioimplantologii ČLS JEP (dále jen OS) je **dobrovolné sdružení odborníků**, kteří se chtějí podílet na rozvoji a praktické aplikaci buněčné a tkáňové léčby v České republice. OS je **organizační složkou ČLS JEP**, bez právní subjektivity, ale s plnou odpovědností za svou odbornou činnost.

Naše společnost **není určena pouze lékařům** – vítáme **vědecké pracovníky a studenty z oborů materiálového a polymerního inženýrství, nanovláken, mechaniky, fyziky či biologie**. Spojujeme také odborníky z medicínských oblastí, jako jsou ortopedie, chirurgie, stomatologie, plastická chirurgie, traumatologie, onkologie a léčba akutních i chronických poranění.

Naším cílem je vytvářet podmínky pro rozvoj bioimplantologie a podporovat její praktické využití v českém zdravotnictví.

Poslání Společnosti pro bioimplantologii

Společnost pro bioimplantologii si klade za cíl zprostředkovávat informace o tkáňových náhradách založené na vědeckých důkazech nejen odborníkům, ale také **laické veřejnosti a patientským organizacím**.

Věříme, že sdílení znalostí a spolupráce mezi vědeckými a klinickými obory pomůže posunout hranice moderní medicíny a přispěje k lepší kvalitě života pacientů.

„Vše se mění, nic nezaniká.“
„Omnia mutantur, nihil interit.“

Připojte se k nám a pomozte posouvat hranice moderní medicíny!

Více na <https://www.bioimplantologie.cz/clenstvi/>



Témata konference pro rok 2025

- kmenové buňky a jiné buněčné terapie
- materiály a pokročilé technologie pro bioimplantologii
- transplantace tkání včetně mikrobiomu
- transport léčiv
- klinické aspekty regenerace tkání
- biomechanika
- zobrazovací metody v biomedicině
- buněčné a zvířecí modely v biomedicině
- preklinické a klinické studie
- numerické modely a statistika v biomedicině

Programový výbor

doc. Ing. Lucy Vojtová, Ph.D. – předsedkyně společnosti
CEITEC VUT Brno

MUDr. MDDr. Martin Bartoš, Ph.D.
Stomatologická klinika, 1. LF UK a VFN

doc. Ing. Věra Jenčová, Ph.D.
Katedra chemie, TU v Liberci

Mgr. Michala Klusáček Rampichová, Ph.D.
Ústav experimentální medicíny AVČR, v.v.i.

prof. MUDr. Břetislav Lipový, Ph.D., MBA, LL.M., FICS
Fakultní nemocnice Brno

doc. MUDr. Daniel Lysák, Ph.D.
Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

doc. Ing. Radek Sedláček, Ph.D.
Fakulta strojní, ČVUT v Praze

doc. Ing. Tomáš Suchý, Ph.D.
Oddělení kompozitních a uhlíkových materiálů, ÚSMH AVČR, v.v.i.

Ing. Lucie Vištejnová, Ph.D.
Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

Organizační sekretariát



Congress Business Travel
Lidická 43/66
150 00 Praha 5 – Anděl
telefon: 224 942 575, 224 942 579
e-mail: bioimplantologie2025@cbttravel.cz

ZÁKLADNÍ INFORMACE

Místo konání

Orea Resort Santon Brno

Přístavní 1064/38

Brno-Bystrc

Registrační poplatky

Cena je uvedena včetně 21% DPH

Registrační poplatek	do 13. 4. 2025	od 14. 4. 2025
Člen BioS	4 500 Kč	5 500 Kč
Nečlen	4 800 Kč	5 800 Kč

Registrační poplatek zahrnuje:

- vstupné na konferenci
- občerstvení v průběhu akce
- oběd ve čtvrtek 24. 4. 2025
- společná večeře ve středu 23. 4. a ve čtvrtek 24. 4. 2025
- program a sborník abstraktů
- konferenční materiály
- výlet lodí 24. 4. 2025

Výstava firem

Výstava firem je umístěna v prostorách hotelu – foyer u přednáškové části a otevřena pro účastníky v době konání konference každý den.

PROGRAM KONFERENCE

23. dubna 2025 (středa)		
10:00 – 12:30	Registrace účastníků	
13:00 – 13:20	Zahájení konference	
Sekce 1: předsedající: Lucie Vištejnová & Tomáš Suchý		
13:20 – 13:50	Barbora East	Prosthetic materials in abdominal wall reconstruction
13:50 – 14:20	Jiří Vejmelka	Regenerace střevní mikrobioty: Jak ji podpořit?
14:20 – 14:50	Tomáš Grus	Materiály používané v chirurgii aorty, srdeční podpory
14:50 – 15:00	Accela	Micro-CT Imaging and 3D Tissue Models: Advancing Bioplastology
15:00 – 15:30	Kávová přestávka	
Sekce 2: Michala Klusáček Rampichová & Daniel Lysák		
15:30 – 16:00	Miroslava Jandová	Využití kryokonzervovaných cévních štěpů pro účely transplantace
16:00 – 16:20	Daniel Lysák	Analýza složení meziproduktů a léčivých přípravků s mesenchymálními stromálními buňkami pro léčbu reakce štěpu proti hostiteli
16:20 – 16:30	Merck	Snadná a dostupná analýza buněk pro inteligentní laboratoř budoucnosti: Digitální zobrazovací systém Millicell DCI v akci
16:30 – 17:20	Komentované postery I.	
	Lucy Vojtová	Enzybiotic-loaded Hydrogel Dressings for the Treatment of Infected Wounds: Comprehensive Study
	Jan Čapek	Changes of ICAM-1 molecule expression in 2D and 3D models of SH-SY5Y cells after cisplatin treatment
	Eva Filová	CuO nano/microparticle-loaded nanofibers for protective aids
	Jiří Handl	Toxicity of heavy metals tested in a 3D model of neuroblastoma cells
	Šárka Hauzerová	Uvolňování experimentální látky LPPO z nanovlákných materiálů pro tkáňové inženýrství
	Kristýna Hlináková	Biokompozitní kostní cement pro 3D tisk bioresorbovatelných kostních náhrad
19:30 – 24:00	Společná večeře	

24. dubna 2025 (čtvrtek)**Sekce 1:****Lucie Vištejnová & Daniel Lysák**

9:00 – 9:30	Jiří Moláček	Biotechnologie v chirurgii
9:30 – 10:00	Petr Kasík	Kranioplastika – současné trendy
10:00 – 10:30	Petr Pošta	Titanový osteosyntetický materiál – zhodnocení dlouhodobých výsledků chirurgické léčby zlomenin čelistí
10:30 – 10:40	East Port	Sledování hojení ran, diferenciacie buněk a CAR-T terapie pomocí Omni FL live-cell mikroskopu
10:40 – 11:10	Kávrová přestávka	

Sekce 2:**Lucy Vojtová & Břetislav Lipový**

11:10 – 11:40	Břetislav Lipový	Inovativní strategie pro přežití tukového štěpu: animální model
11:40 – 12:10	Eric Glowacki	Implantabilní fotovoltaická zařízení
12:10 – 13:00	Komentované postery II.	
	Věra Jenčová	Nanovláknenné materiály kombinující vodorozpustná a biodegradabilní vlákna pro efektivnější podporu hojení ran
	Juraj Kronek	Surface modification of implantable materials using non-biofouling polymers
	Zuzana Kroneková	Drug delivery systems based on poly(2-oxazolines): Therapeutic and bioimmunological effects
	Viktorie Ročková	Biocompatibility Assessment of Graphene-Functionalized PLCL Nanofibers for Bioelectronic Applications
	Eva Šebová	Optimization of an in vitro model for simulating bone regeneration and vascularization
13:00 – 14:15	Společný oběd	
14:30	Společné focení	
16:00 – 18:00	Plavba lodí	
19:30 – 24:00	Společná večeře	

25. dubna 2025 (pátek)**Sekce 1:****Věra Jenčová & Martin Bartoš**

9:00 – 9:30	Zdeněk Dvořák	Současné možnosti a limity rekonstrukce obličeje a dutiny ústní z pohledu plastické chirurgie
9:30 – 10:00	David Lukáš	Řízené uvolňování léčiv z nanovláknenných materiálů
10:00 – 11:00	Komentované postery III	
	Andrea Šimičková	Nová syntetická dermální náhrada Novosorb® BTM v klinické praxi
	Karolína Slonková	Implantable Depot Formulation for Controlled On-Demand Drug Release
	Hana Studenovská	Nanovláknenné membrány na bázi syntetických poly(α-aminokyselin)
	Antonín Vlček	Comparison of 2D and 3D Models Derived from Gastric Cancer N87 Cell Line
	Jan Žídek	Uvolňování modelových aktivních látek z vrstvených nanotextilií s polyvinylbutyralem pro medicínské aplikace
11:00 – 11:30	Kávová přestávka	
Sekce 2: Radek Sedláček & Tomáš Suchý		
11:30 – 11:50	David Chvátil	Ozařování biomateriálů na mikrotronu
11:50 – 12:10	Elena Filová	Bioactive strontium-calcium doped coatings for bone implants
12:10 – 12:30	Natália Luptáková	Study of Interfaces between Cranial Bone and AISI 304 Steel after Long-Term Implantation
12:30 – 12:45	Vyhlášení vítězů soutěže o nejlepší komentovaný poster	
12:45	Ukončení konference	

SBORNÍK PŘEDNÁŠEK A POSTERŮ

Jsou řazeny dle prezentujícího
autora abecedně.

Texty abstrakt neprošly jazykovou
ani redakční úpravou.

VYZVANÉ PŘEDNÁŠKY

SOUČASNÉ MOŽNOSTI A LIMITY REKONSTRUKCE OBLIČEJE A DUTINY ÚSTNÍ Z POHLEDU PLASTICKÉ CHIRURGIE

Dvořák Z.¹, Výška T.¹, Mrázek T. Z.¹, Knoz M.¹, Kubát M.¹, Stupka I.¹, Pink R.²

¹Klinika plastické a estetické chirurgie FN U sv. Anny a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně

²Klinika ústní, čelistní a obličejové chirurgie FN Olomouc

Z pohledu plastického chirurga je třeba při korekci měkkých a tvrdých tkání obličeje zvážit, zda je třeba jen modifikovat vlastnosti dané tkáně (lipofiling, fillery), nebo je třeba ji chirurgicky modelovat či posouvat anebo je nutno nekvalitní, méněcennou či postiženou tkáň odstranit a zcela nahradit novou z blízkých nebo vzdálených zdrojů (regionální a volné laloky). Podobně postupujeme jak u vrozených, tak poúrazových a onkologických defektů obličeje jak v případě měkkých, tak i tvrdých tkání. Obecně úprava tvrdých tkání by měla předcházet korekci měkkých tkání. Při rekonstrukci obecně postupujeme podle rekonstrukčního žebříčku od jednodušší techniky rekonstrukce s využitím místních tkání až po volné tkáňové přesuny.

Moderní přístup k rekonstrukci tkání v obličeji zahrnuje vždy pečlivé rozdělení plánované rekonstrukce do jednotlivých kroků s exaktním plánováním tvaru a velikosti rekonstruovaných celků podle druhostranného vzoru nebo podle obecných estetických kánonů. V rámci operačního výkonu tedy využíváme různé cutting guides a šablony. U složitějších rekonstrukcí lze s výhodou využít techniku delay („trénování“ cévního řečiště dané tkáně), prelaminace (modifikace vlastností tkáně implantací jiné nebo umělé tkáně 2-4 týdny před plánovanou rekonstrukcí) a prefabrikace (manipulace s cévním zásobením dané tkáně s vytvořením nového typu tkáňového laloku).

Vzorovými pacienty pro tyto typy výkonů jsou pacienti s vrozenými vadami obličeje, nejčastěji s rozštěpovými vadami (sekundární a ortognátní korekce) a pacienti s různými defekty (ztráta měkkých a tvrdých tkání obličeje po resekci tumoru či po úrazu).

Obecnou platnost si stále zachovávají Millardova a Gilliesova pravidla plastické chirurgie – observace je základ diagnózy, diagnóza musí být stanovena před léčbou, vždy je třeba vytvořit model defektu a stanovit operační plán, normální tkáň je třeba vrátit do normální pozice, primární výsledek rekonstrukce nikdy nesmí být ohrožen sekundárním defektem, ztráty musí být hrazeny přirozenými tkáněmi, nikdy neodstraňovat tkáň, dokud si nejsem jist, že ji nebudu potřebovat. Když lze některý operační krok udělat s výhodou sekundárně, provést to tak. Zachováním těchto postupů a zahrnutím moderních přístupů s využitím nových umělých materiálů lze dosáhnout dobrého funkčního a estetického výsledku rekonstrukce obličeje.

Práce byla podpořena interním projektem specifického výzkumu MUNI/A/1754/2024- Evaluace inovativních postupů plastické a rekonstrukční chirurgie V.

IMPLANTABILNÍ MATERIÁLY V REKONSTRUKCI BŘÍŠNÍ STĚNY

East B.

III. Chirurgická klinika 1. LF UK a FN Motol

Hernioplastika patří k nejčastějším chirurgickým výkonům a v současnosti se jen výjimečně obejde bez použití implantované kýlní sítě. Celosvětově se každoročně provede přibližně 20 milionů operací kýly. Tyto zákroky představují specifický model pro studium interakce mezi implantátem a biologickým prostředím.

V přednášce bude podán přehled současně používaných materiálů s důrazem na jejich fyzikální, chemické a biologické vlastnosti, které ovlivňují jejich chování in vivo. Diskutovány budou rozdíly mezi syntetickými polymery, biosyntetickými a biologickými materiály z hlediska jejich stability, imunogenního potenciálu, tendence k tvorbě jizevnaté tkáně a mechanické integrity.

Zvláštní pozornost bude věnována problematice biokompatibility v kontextu chronického zánětu, infekčních komplikací, recidiv, bolesti a celkové bezpečnosti.

Cílem přednášky je iniciovat mezioborovou diskuzi o tom, jak mohou poznatky z materiálového inženýrství a buněčné biologie přispět k vývoji bezpečnějších, efektivnějších a individualizovaných řešení v oblasti implantabilních biomateriálů.

IMPLANTABILNÍ FOTOVOLTAICKÁ ZAŘÍZENÍ

Glowacki E. D.², Jakešová M.²

¹CEITEC, Vysoké učení technické v Brně

Existuje velká poptávka po minimálně invazivních neuromodulačních technologiích, jednak pro účely základního výzkumu, jednak pro bioelektronickou medicínu. V této přednášce budou představeny naše pokroky ve vývoji ultratenkých optoelektronických zařízení pro minimálně invazivní neurostimulaci. Všechna tato zařízení využívají červené/ infračervené záření v okně transparentnosti tkáně k aktivaci mikroskopických polovodičových součástek. Naší klíčovou technologií je organický elektrolytický fotokondenzátor (OEPC) – zařízení, které napodobuje bipolární proudovou pulzní neurostimulaci a tím převádí optický signál přímo na neurostimulační impuls. Tato zařízení nejsou pouze bezdrátová, ale jsou také 100 – 1000 × tenčí než stávající technologie. Budou představeny příklady různých chronických implantátů schopných stimulovat periferní nervy, kortikální povrch i hlubší mozkové struktury. Světelný výkon lze bezpečně a efektivně přenášet do implantátů až 15 mm pod povrchem kůže a účinně proniká pokožkou i lebeční kostí. Budou předloženy argumenty pro kombinaci hlubokého červeného světla a ultratenkých fotovoltaických zařízení může představovat účinný způsob pohánění různých implantabilních zařízení.

Tento výzkum je podpořen projektem ERC „Optoelectronic medicine – nerve cell regulation with light“ # 949191.

MATERIÁLY POUŽÍVANÉ V CHIRURGII AORTY SRDEČNÍ PODPORY

Grus T.¹, Špaček M.¹, Fila P.², Netuka I.³

¹ II. chirurgická klinika kardiovaskulární chirurgie Všeobecné fakultní nemocnice v Praze

a 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy

² Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie Brno

³ Klinika kardiovaskulární chirurgie IKEM, Praha

Chirurgie aorty je jedním z nejkomplexnějších odvětví cévní a kardiochirurgie, vyžadující použití specializovaných materiálů s vysokou odolností, biokompatibilitou a dlouhodobou stabilitou. Mezi nejčastěji využívané materiály patří syntetické cévní náhrady (Dacron, ePTFE), biologické štěpy (alografty, xenografty) a kombinované stentgrafty, které jsou klíčové pro endovaskulární léčbu (EVAR, TEVAR). Kromě toho se uplatňují hemostatické materiály, tkáňová lepidla a antimikrobiálně impregnované grafty pro prevenci infekčních komplikací. Cílem příspěvku je představit současné trendy v materiálovém inženýrství a jejich dopad na výsledky chirurgické léčby aortálních onemocnění. Pozornost bude věnována zejména inovacím v oblasti biokompatibilních polymerů, hybridních materiálů a nových přístupů ke zlepšení dlouhodobé funkčnosti aortálních rekonstrukcí.

Vývoj srdečních podpor v kardiochirurgii je výrazně ovlivněn technologickým pokrokem, miniaturizací zařízení a zlepšením jejich dlouhodobé efektivity. Mezi moderní systémy, které se z pohledu chirurga běžně využívají, patří ECMO, Impella 5.5 nebo kombinované zapojení v rámci konceptu ECMELLA. Kromě toho je významným pokrokem i HeartMate 3 (HM3), které u pacientů se srdečním selháním představuje alternativu k transplantaci srdce.

VYUŽITÍ KRYOKONZERVOVANÝCH CÉVNÍCH ŠTĚPŮ PRO ÚČELY TRANSPLANTACE

Jandová M.^{1,2}, Měříčka P.¹, Špaček M.³

¹ Tkáňová útředna Fakultní nemocnice Hradec Králové, Hradec Králové

² Ústav histologie a embryologie Lékařské fakulty v Hradci Králové Univerzity Karlovy

³ II. chirurgické kl. kardiovaskulární chirurgie 1. LF UK Fakultní a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha

Fakultní nemocnice Hradec Králové je v současné době jediným pracovištěm, které připravuje kryokonzervované cévní štěpy pro účely alogenní transplantace a poskytuje je specializovaným pracovištím kardiovaskulární chirurgie (orgánová a vaskulární transplantační centra). Tyto štěpy jsou určeny k rekonstrukčním cévním výkonům v případech, kdy nelze u pacienta odebrat kvalitní autologní štěp nebo v případech, kdy použití autologního štěpu nepřipadá vůbec v úvahu resp není k dispozici čerstvý hypotermicky konzervovaný štěp. Cévní alotransplantát kryokonzervovaný je připraven z venózní nebo arteriální tkáně odebrané zemřelému dárci chirurgickými týmy specializovaných orgánových nebo vaskulárních transplantačních center bezprostředně po proběhlém multiorgánovém odběru na operačních sálech dárcovských nemocnic. Při zpracování ke kryokonzervaci v čistých prostorech třídy A s pozadím B je tkáň dekontaminována a následně programovaně zmrazena s použitím 10 % dimethylsulfoxidu a lidského sérového albuminu. Kryokonzervované štěpy jsou skladovány v parách kapalného dusíku při teplotě v kontejneru s automatickým plněním a kontinuální monitorací teploty. V rámci pětileté kryostabilitní studie byla ověřena životaschopnost buněk cévní stěny pomocí fluorescenčního barvení s využitím konfokální mikroskopie pro dva způsoby rozmrazování celkem u 12 cév. Při pomalém rozmrazování byla vitalita buněk v cirkulárních řezech $87,7 \% \pm 11,3$, v longitudinálních řezech $74,5 \% \pm 13,7$; při rychlém rozmrazení $85,5 \% \pm 16,7$ v cirkulárních řezech a $81,2 \% \pm 12,6$ v longitudinálních řezech. Výsledky dokládají, že proces zpracování a následného skladování je optimálně nastaven. Předmětem dalších zkoumání bude ověření vlastností buněk cévní stěny histologickými technikami po desetiletém skladování.

Poděkování projektu: „Podpořeno MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906) a (VFN, 00064165).“

KRANIOPLASTIKA – SOUČASNÉ TRENDY

Mraček J.¹, Holečková I.², Kasík P.³, Příbáň V.⁴

¹Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Plzeň

²CEITEC, Vysoké učení technické v Brně

³Ústav struktury a mechaniky hornin, AV ČR, Praha

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

⁵Hemato-onkologické oddělení, Fakultní nemocnice Plzeň, Plzeň

⁶Stomatologická klinika a 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

⁷Neurochirurgická klinika, Fakultní nemocnice Plzeň, Plzeň

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

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

Z důvodů nedostatku kvalitních dat dosud nebyla na poli kranioplastiky vytvořena evidence-based guidelines. Ani provedené metaanalýzy neprokázaly superioritu některého z typů použitého materiálu. Nicméně vzhledem k signifikantní resorpci je zejména u velkých defektů patrný určitý odklon od kranioplastiky autologní kostní ploténkou, která byla dosud považována za zlatý standard.

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

Ve sdělení prezentujeme současné trendy kranioplastiky na vlastním klinickém materiálu a výzkumu.

BIOTECHNOLOGIE V CHIRURGII

Moláček J.

Chirurgická klinika a Lékařská fakulta v Plzni, Univerzity Karlovy, Praha

Autor shrnuje roli různých biotechnologických, bioinženýrských a bioindustriálních metod a procesů v chirurgických oborech. Vyzdvihuje klíčovou roli spolupráce lékařů a technických odborníků, která vede ke prospěchu pacienta.

TITANOVÝ OSTEOSYNTETICKÝ MATERIÁL – ZHODNOCENÍ DLOUHODOBÝCH VÝSLEDKŮ CHIRURGICKÉ LÉČBY ZLOMENIN ČELISTÍ

Pošta P.¹, Vištejnová L.², Sajenko M.¹, Tolde Z.³

¹Stomatologická klinika LFP UK a FN Plzeň

²Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

³Fakulta strojní, České vysoké učení technické v Praze

Naše pracoviště jakožto součást traumacentra Fakultní nemocnice v Plzni má bohaté zkušenosti s ošetřováním zlomenin obličejového skeletu. Strategie operativy na naší klinice je v souladu s doporučením celosvětově uznávané mezinárodní skupiny AO CMFS (Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen – Association for the Study of Internal Fixation – Cranio-Maxillo-Facial surgery založené ve Švýcarsku v roce 1959). Materiál k osteosyntézám zlomenin čelistí je na našem pracovišti po mnoho let používán od firmy Synthes, přičemž v průběhu času došlo k přechodu na novou verzi dlah, které začaly být v naší operativě používány zhruba mezi roky 2016 – 2017. V posledních letech jsme u našich pacientů zaznamenali zvýšenou míru pooperačních komplikací ve smyslu pozdního selhání osteosyntézy. Z tohoto důvodu jsme zahájili retrospektivní analýzu našich léčebných výsledků a stanovili několik hypotéz, které by mohly postihnout důvody selhání. Jednou z našich hypotéz je, že změna osteosyntetického systému by mohla mít vliv na výsledný léčebný efekt osteosyntézy zlomenin čelistí. Na základě literární rešerše se nám nepodařilo nalézt odpověď na otázku interakce lidských tkání s titanovým osteosyntetickým materiálem používaným na našem pracovišti. Z tohoto důvodu jsme oslovili Biomedicínské centrum Lékařské fakulty v Plzni s žádostí o spolupráci v oblasti analýzy vlastností námi používaných osteosyntetických dlah a šroubů se zaměřením na změnu dodávaného osteosyntetického materiálu a interakce s lidskými tkáněmi. V našem souboru retrospektivně sledujeme pacienty splňující nastavená inkluzní kritéria. Mezi nimi je například podstoupení operativního ošetření zlomeniny čelisti (open reduction and internal fixation – ORIF) v roce 2014 a déle a následná monitorace po dobu minimálně 3 měsíců. Snažíme se identifikovat podobu a možný důvod selhání, najít případné odlišnosti v souborech pacientů zhojených bez komplikací a s komplikacemi a dát do souvislosti se zjištěnými skutečnostmi u jednotlivých případů. Výsledky této studie prezentujeme v našem sdělení.

REGENERACE STŘEVNÍ MIKROBIOTY: JAK JI PODPOŘIT?

Vejmelka J.

Interní klinika 3. LF UK a FTN Praha, Česká mikrobiomová společnost ČLS JEP, z.s.

Střevní mikrobiota je klíčovou součástí mikrobioty lidského těla. Podílí se na tvorbě prospěšných metabolitů, podporuje imunitní systém a zastává řadu dalších esenciálních funkcí. Sdělení se zaměřuje na strategie ovlivňující střevní mikrobiotu s cílem obnovit střevní rovnováhu a dlouhodobě podpořit harmonii mezi mikrobiotou a organismem. Zvláštní pozornost je věnována fekální mikrobiální terapii a jejímu potenciálu při obnově mikrobioty u pacientů s těžkou dysbiózou. Hlavní indikací této terapie je rekurentní infekce *Clostridioides difficile*. Klinické studie navíc hodnotily její efekt a bezpečnost u pacientů s idiopatickými střevními záněty, syndromem dráždivého tračníku a dalšími onemocněními spojenými s narušením střevní mikrobioty.

Sdělení shrnuje možnosti modulace střevní mikrobioty, zkušenosti s mikrobiální terapií a perspektivy jejího využití v klinické praxi.

Zdroje:

Hurych J, Vejmelka J, Hlinakova L, Kramna L, Larionov V, Kulich M, Cinek O, Kohout P. Protocol for faecal microbiota transplantation in irritable bowel syndrome: the MISCEAT study - a randomised, double-blind cross-over study using mixed microbiota from healthy donors. *BMJ Open*. 2022 Jun 27;12(6):e056594. doi: 10.1136/bmjopen-2021-056594. PMID: 35760542; PMCID: PMC9237876.

Khoruts A, Sadowsky MJ. Understanding the mechanisms of faecal microbiota transplantation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016 Sep;13(9):508-16. doi: 10.1038/nrgastro.2016.98. Epub 2016 Jun 22. PMID: 27329806; PMCID: PMC5909819.

Schmidt TSB, Raes J, Bork P. The Human Gut Microbiome: From Association to Modulation. *Cell*. 2018 Mar 8;172(6):1198-1215. doi: 10.1016/j.cell.2018.02.044. PMID: 29522742.

PŘEDNÁŠKY

BIOACTIVE STRONTIUM-CALCIUM DOPED COATINGS FOR BONE IMPLANTS

Filová E.^{1,2}, Gabor R. 2, Doubková M.^{1,2}, Cvrček L.^{2,3}, Malić M.^{1,2}, Mašek K.^{2,4}, Hlinka J.⁵, Martynková G.S.², Waltera J.³, Večer M.⁶, Seidlerová J.^{2,7}, Tokarčíková M.², Bačáková L.^{1,2}

¹Laboratory of Biomaterials and Tissue Engineering, Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic, elena.filova@fgu.cas.cz

²Nanotechnology Centre, CEET, VSB – Technical University of Ostrava, Ostrava-Poruba, Czech Republic

³Faculty of Mechanical Engineering, Czech Technical University in Prague, Prague, Czech Republic

⁴Department of Surface and Plasma Science, Charles University, Prague, Czech Republic

⁵Faculty of Materials and Technology, VSB-Technical University of Ostrava, Ostrava-Poruba, Czech Republic

⁶Centre for Chemical Engineering, Faculty of Material Sciences and Technology, VSB-Technical University of Ostrava, Ostrava, Poruba, Czech Republic

⁷Department of Chemistry and Physico-Chemical Processes Engineering, Faculty of Materials and Technology, VSB-Technical University of Ostrava, Ostrava-Poruba, Czech Republic

For rapid implant osseointegration, suitable bone implant topography and chemical composition are important. Calcium and phosphate are bioactive components of hydroxyapatite in bone, and strontium was observed to stimulate osteoblast proliferation, osteogenic differentiation, and bone formation, and to inhibit bone resorption [1]. The aim of this study was to develop new coatings containing Ca, P, and Sr by micro-arc oxidation (MAO), to characterize their material properties, and to evaluate their effect on the behavior of human bone marrow-derived stromal cells (hMSCs).

The Ti6Al4V alloy samples were either ground and polished, or shot-blasted. These surfaces were further chemically modified by MAO using special electrolytes, and the coatings doped with Sr and Ca were created. The material properties were analyzed using a field emission scanning electron microscope (FE-SEM, JEOL JSM-7610 F Plus, JEOL, Japan), a backscattered electron (BSE) detector with an attached energy-dispersive X-ray spectrometer (EDX, Oxford Instruments), an X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), and a profilometer device (Talysurf 50, Taylor Hobson). The tribological properties were evaluated using the PIN ON DISK method. The *in vitro* evaluation was performed with hMSCs in a standard cell culture medium, replaced by an osteogenic differentiation medium. The cells were evaluated for metabolic activity (resazurin assay), alkaline phosphatase activity, production of type I collagen and osteocalcin. The newly developed coatings were cytocompatible and supported osteogenic differentiation.

MAO treatment seems to be a promising procedure for bone prosthesis modification.

Acknowledgment: Supported by project No. CZ.02. 01. 01/00/22_008/0004631 of the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic – Materials and technologies for sustainable development (MATUR) within the Jan Amos Komenský Operational Program which was co-funded by the European Union, and by the *Praemium Academiae* grant (No. AP2202) provided by the Czech Academy of Sciences.

[1] William Querido, Andre L. Rossi, Marcos Farina The effects of strontium on bone mineral: A review on current knowledge and microanalytical approaches. *Micron* 2016, 80, 16, 122-134.

OZAŘOVÁNÍ BIOMATERIÁLŮ NA MIKROTRONU

Chvátil D., Olšanský V.

Ústav jaderné fyziky, AV ČR, Řež

Mikrotron je typ kruhového urychlovače elektronů, který generuje urychlené elektrony. ÚJF provozuje mikrotron MT25 s maximální energií elektronů 25 MeV. Ozařování biomateriálů elektronovým svazkem může významně ovlivnit jejich mechanické vlastnosti v závislosti na druhu materiálu, energii elektronového svazku a celkové dávce záření. *Při ozařování polymerních materiálů dochází k radiačnímu síťování, což může vést ke zlepšení jejich mechanických a fyzikálních vlastností. Ozáření může vést také k vylepšení biokompatibility povrchů, např. zvýšení hydrofilicity.* Vysokoenergetické elektrony lze využít také pro studium vlivu vysokých dávek ionizujícího záření na buňky a tkáně a také k radiační sterilizaci biomateriálů. Díky vysoké energii elektronů lze dosáhnout požadovaných efektů za krátký expoziční čas. Mikrotron umožňuje přesné nastavení energie a intenzity svazku, což umožňuje precizní nastavení absorbované dávky v materiálech a dávkového příkonu. K ozařování biomateriálů lze použít i fotonové svazky, které na mikrotronu vznikají konverzí na wolframovém terči.

INOVATIVNÍ STRATEGIE PRO PŘEŽITÍ TUKOVÉHO ŠTĚPU: ANIMÁLNÍ MODEL

Lipový B.^{1,2}, Holoubek J.³, Matysková D.³, Váňa V.³, Herudek J.⁴, Jeklová E.⁵, Lišková L.⁶, Hampl A.⁶, Vojtová L.²

¹Klinika popáleninové medicíny FN Královské Vinohrady a 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

²CEITEC, Vysoké učení technické v Brně

³Klinika popálenin a plastické chirurgie FN Brno, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno

⁴Enantis, s. r. o., Brno

⁵Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

⁶Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno

Autologní transplantace tuku je jedna z nevíce populárních technik v rekonstrukční chirurgii. Základní indikací pro její provedení je jak náhrada ztraceného objemu, tak také podpora regenerace a limitace procesu reparace. Jedna z hlavních otázek, které dnes čelíme, se týká problematiky samotného přežití tukové tkáně během její transplantace. Tento aspekt se dnes velmi obtížně predikuje, což vede k celé řadě medicínských i sociálních konsekvencí. Současná literární data ukazují že klíčový aspekt akceptace transplantovaného tuku je jeho vlastní neovaskularizace.

V rámci *in vivo* testování přežití tukového štěpu jsme zavedli model autologní transplantace u králíka, u kterého jsme přenášeli tuk z třísla do ucha. Celý experiment zahrnoval čtyři odlišné aditivace tuku, které měli zajistit jeho přežití: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), divoký typ FGF2, stabilní typ FGF2 (FGF2-STAB®). Samotné testování bylo provedeno u 40 jedinců. Po 12 týdnech došlo k US hodnocení a výpočtu objemu, k jejich utracení a následnému histologickému vyšetření.

Divoký typ FGF2 prokázal superioritu v porovnání s dalšími metodami. Náš předpoklad, že bychom dosáhli lepšího efektu FGF2-STAB® jsme nedokázali v rámci experimentu potvrdit. Nicméně efekt stabilní formy FGF2 byl pluripotentní a velmi bouřivý nejen pro tukovou tkáň a pro další vývoj plánujeme použití nižší koncentrace tohoto růstového faktoru.

Poděkování:

Studie byla podpořena (EWMA) European wound management association Basic research grant, 2020.

ŘÍZENÉ UVOLŇOVÁNÍ LÉČIV Z NANOVLÁKENNÝCH MATERIÁLŮ

Jenčová V., Kuželová Košťáková E., Aguilera J. P. P., Zinenko K., Mikule J., Lukáš D.

Katedra chemie, odd. bioinženýrství, Fakulta Přírodovědně-humanitní a pedagogická, Technická univerzita v Liberci, Liberec

Uvolňování léčiv z nanovláknenných materiálů je dlouhodobě předmětem výzkumu a vývoje systémů dodávání léčiv. Tyto materiály potencionálně umožňují kontrolované uvolňování léků a snižují frekvenci dávkování. Nanovláknena mají vysoký poměr plochy povrchu k objemu, což podporuje efektivní inkorporaci léčiv a rychlé uvolňování, což je zvláště důležité během počáteční terapeutické fáze díky efektu bouřlivého uvolňování. Konstrukce nanovláknenných systémů umožňuje začlenění různých léčiv, včetně hydrofobních a hydrofilních látek. Vytvořením vrstvených a propletených struktur lze modulovat rychlost uvolňování. Bylo prokázáno, že sendvičová struktura hydrofobních a hydrofilních vrstev a splétaných nanovláknenných *přizí účinně reguluje rychlost uvolňování, snižuje náhlou difúzi léčiva a poskytuje regulovanější profil uvolňování.*

Uvolňování léčiva je řízeno řadou fyzikálně-chemických a geometrických parametrů léčiva a jeho nanovláknenného nosiče. Mezi tyto parametry patří difúzní koeficient (který je významně ovlivněný molekulovou hmotností difúzní látky) a hydrofilnost *léčiva a polymeru. Kritickým parametrem je rovněž fáze polymeru (amorfní nebo krystalická), ze kterého je nanovláknenný materiál lokálně tvořen.* Mezi geometrické parametry patří charakteristická vzdálenost, na kterou látka difunduje (např. poloměr vlákna, tloušťka nanovláknenné vrstvy) a počáteční lokalizace léčiva v nanovláknenném materiálu. Difúzní koeficienty vybraných malých molekul (M_w v rozmezí od 15 do 450 Da) v amorfních polymerech jsou v intervalu 10^{-13} - 10^{-11} m²/s. Tyto hodnoty difúzního koeficientu jsou dostatečně vysoké, aby umožnily částicím rychle se přesouvat na vzdálenosti v řádu *několika stovek nanometrů.*

Pochopení a nastavení výše uvedených parametrů umožní vytvořit sofistikované nanovláknenné systémy schopné kontrolovaného uvolňování léčiv, což v konečném důsledku zvýší jejich terapeutickou účinnost.

Výzkum byl podpořen z projektu MZČR AZV NW24-08-00073.

STUDY OF INTERFACES BETWEEN CRANIAL BONE AND AISI 304 STEEL AFTER LONG-TERM IMPLANTATION

Luptáková N.¹, Sobola D.^{1,2}, Mazánová V.¹, Jarý, M.¹, Dlouhý A.¹

¹*Institute of Physics of Materials, AS CR, v. v. i., Žitkova 513/22, Brno, 61662, Czech Republic*

²*CEITEC – Central European Institute of Technology, Žerotínovo nám. 617/9, 601 77 Brno, Czech Republic*

Abstract

Interfaces between AISI 304 stainless steel screws and cranial bone were investigated after long term implantation lasting for 42 years. Samples containing the interface regions were analyzed using state-of-the-art analytical techniques including secondary ion mass, Fourier-transform infrared, Raman and X-ray photoelectron spectroscopies. Local samples for scanning transmission electron microscopy were cut from the interface regions using the focused ion beam technique. A chemical composition across the interface was recorded in length scales covering micrometric and nanometric resolutions and relevant differences were found between peri-implant and the distant cranial bone, indicating generally younger bone tissue in the peri-implant area. Furthermore, the energy dispersive spectroscopy revealed 80 nm thick steel surface layer enriched by oxygen suggesting that the AISI 304 material undergoes a corrosion attack. The attack is associated with a transport of metallic ions, namely ferrous and ferric iron, into the bone layer adjacent to the implant. The results comply with an anticipated interplay between released iron ions and the osteoclast proliferation. The interplay gives rise to an auto-catalytic process in which the iron ions stimulate the osteoclast activity while a formation of fresh bone resorption sites boosts the corrosion process through interactions between acidic osteoclast extracellular compartments and the implant surface. The auto-catalytic process thus may account for an accelerated turnover of the peri-implant bone.

Keywords: stainless steel AISI 304, implant, bio-corrosion, peri-implant bone, remodelling

Acknowledgments: This work was supported by the project “Mechanical Engineering of Biological and Bio-inspired Systems”, funded as project No. CZ.02. 01. 01/00/22_008/0004634 by Programme Johannes Amos Comenius, call Excellent Research.

ANALÝZA SLOŽENÍ MEZIPRODUKTŮ A LÉČIVÝCH PŘÍPRAVKŮ S MESENCHYMÁLNÍMI STROMÁLNÍMI BUŇKAMI PRO LÉČBU REAKCE ŠTĚPU PROTI HOSTITELI

Gmucová H.¹, Holubová M.^{1,2}, Klieber R.^{1,2}, Boudová R.¹, Steinerová K., Karas M.¹, Jindra P.^{1,3}, Lysák D.¹

¹ Hematologicko- onkologické oddělení, Fakultní nemocnice Plzeň

² Laboratoř nádorové biologie a imunoterapie, Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

³ Český národní registr dárců dřeně

Mezenchymální stromální buňky (MSCs) jsou multipotentní buňky s imunomodulačním potenciálem, který se studuje u řady imunopatologických stavů. Nejvíce praktických zkušeností s jejich využitím je v léčbě steroidně refrakterních forem reakce štěpu proti hostiteli (GVHD), zejména akutní GVHD, kde vykazují slibné výsledky. V případě našeho centra se jedná se o léčivé přípravky (LP) vyráběné individuálně pro každého pacienta. Cílem analýzy bylo posoudit jejich variabilitu na úrovni meziproduktů a finálních LP.

MSC byly izolovány z kostní dřeně zdravých dárců jako adherentní buňky a po cca dvou-týdenní expanzi kryokonzerovovány v aliquotech po 1×10^6 buněk. Jednotlivé šarže tohoto meziproduktu byly propouštěny do výroby LP po ověření kvalitativních parametrů (imunofenotyp, vliv na aktivaci a proliferaci T-lymfocytů, růstový potenciál, sterilita). Vlastní léčivé přípravky vznikaly týdenní re-expanzí odpovídajícího množství aliquotů meziproduktu.

Analýzovali jsme data ze 24 šarží meziproduktů (z nichž bylo vyrobeno ≥ 5 šarží LP) a 183 šarží LP zpracovaných v období 2015 – 2023. Průměrné množství MSCs expandovaných z 1 aliquotu meziproduktu bylo 23×10^6 ($\pm 5,4$). Variabilita množství, Msc. získaných z 1 aliquotu byla větší v rámci celého souboru LP, kde byl průměrný rozdíl v zisku buněk na aliquot 8×10^6 (CV 33 %) v porovnání s LP získanými z jednotlivých šarží meziproduktů s rozdílem 5×10^6 (medián CV 21 %, 4 – 32). Pro výrobu jednoho LP bylo potřeba využít průměrně 8 (3 – 15) aliquotů v závislosti na hmotnosti pacienta a růstovém potenciálu buněk a kultivace probíhala po dobu 7 (7 – 9) dní. Všechny léčivé přípravky splnily požadavek na minimální dávku, Msc. ($\geq 1 \times 10^6/\text{kg}$) a vykazovaly zároveň konsistentní imunofenotyp – HLA-DR, CD14, CD19, CD34, CD45 < 5% and CD73, CD90, CD105, CD13 > 95%, s viabilitou 99,5 % (medián). Imunomodulační vlastnosti, Msc. (snížení proliferační aktivity a aktivace T-lymfocytů *in vitro*) nebyly závislé na věku dárce ani růstovém potenciálu, Msc.

Přes variabilitu, která existuje mezi jednotlivými šaržemi meziproduktů i finálních LP, je možné individuálně připravovat LP splňující kritéria propuštění včetně požadované minimální dávky, Msc. Efektivita, Msc. není ovlivněna věkem dárce kostní dřeně využitě pro výrobu.

Práce byla podpořena grantem MZ ČR-RVO (Fakultní nemocnice Plzeň-FNPI, 00669806).

KOMENTOVANÉ POSTERY

CHANGES OF ICAM-1 MOLECULE EXPRESSION IN 2D AND 3D MODELS OF SH-SY5Y CELLS AFTER CISPLATIN TREATMENT

Čapek J., Handl J., Tichá L., Mentlová D., Roušar T.

*University of Pardubice, Faculty of Chemical-technology, Department of Biological and Biochemical Sciences, Studentska 573, 532 10 Pardubice, Czech Republic
jan.capek7@upce.cz*

Cell surface and transmembrane glycoproteins are essential for many cellular processes such as migration, adhesion, and immune responses. The intercellular adhesion molecule ICAM-1 (CD54) is a glycoprotein found on the cell surface. Specifically, it is a regulator of cellular processes and plays an important role in the regulation of tissue integrity and homeostasis. The ICAM-1 molecule is expressed very little under physiological conditions [1]. Increased expression of the ICAM-1 molecule is observed during inflammation, where it has a positive effect on leukocyte adhesion to endothelial cells. In addition, expression of ICAM-1 plays an important role in inducing neuro-inflammation [2,3].

The aim of our study was to compare the changes in expression of ICAM-1 in neuroblastoma SH-SY5Y cells in 2D and spheroids arrangements after 5 and 8 days of incubation with cisplatin (0.1–10 µg/mL). For visualization of ICAM-1, we used fluorescence microscopy. Quantification of ICAM-1 expression was performed using the Simple Wester method. We detected and evaluated the positive changes in the expression of ICAM-1 in 2D and spheroids of SH-SY5Y cells after 5 and 8 days of incubation with cisplatin compared to untreated cells. In spheroids of SH-SY5Y cells, we detected higher expressions of the ICAM-1 molecule compared to the 2D model. The increase in ICAM-1 expression was dependent on the duration of incubation of cells with increasing concentration of cisplatin.

REFERENCES

1. Haydinger C.D., Ashander L.M et al.: *Biology* 2023, 12(5), 743; doi.org/10.3390/biology12050743.
2. Bui T.M., Wiesolek H. et al.: *J Leukoc Biol.* 2020; 108(3):787–799; doi: 10.1002/JLB.2MR-0220-549R.
3. Minghua Y., Han J. et al.: *Cancer Sci.* 2008 Feb 6;99(2):391–397; doi: 10.1111/j.1349-7006.2008.00696.x.

The study was supported by The Biomedical Indicators for Personalized Medicine project (BI-POLE), project ID CZ.02. 01. 01/00/23_021/0008439, co-funded by the European Union.

CUO NANO/MICROPARTICLE-LOADED NANOFIBERS FOR PROTECTIVE AIDS

Filová E.¹, Žižková R.¹, Yalcinkaya B.², Nováková Z.³, Elzeinová F.³, Klusáček Ram-pichová M.¹, Ročková V.¹, Portolés Gil N.⁴, Martinez T.⁵, Rössner P.³, Buzgo M.²

¹Dpt. Tissue Engineering, the Institute of Experimental Medicine of the CAS, Prague

²Respilon Membranes sro, Brno

³Dpt. Toxicology and Molecular Epidemiology, the Institute of Experimental Medicine of the CAS, Prague

⁴Applied Chemistry & Materials Department, Leitat Technological Center, Terrassa, Barcelona, Spain

⁵Hemato-onkologické oddělení, Fakultní nemocnice Plzeň, Plzeň

⁶Circular Economy & Decarbonization Department, Leitat Technological Center, Terrassa, Barcelona, Spain

In this study, we aimed to develop advanced protective materials incorporating copper oxide (CuO) particles, which are well known for their antimicrobial properties. Polyamide 6 (PA6) nanofibers containing CuO at concentrations of 5, 15, 30, and 50 wt% were prepared using a needleless electrospinning technique. CuO was introduced in the form of nanoparticles and microparticles (38 nm, up to 77 nm and 20 µm).

The cytotoxicity of nanofibres was tested in vitro using mouse 3T3 fibroblasts and human bronchial epithelial BEAS-2 B cells incubated with leachate. Cytotoxicity assessments included MTS metabolic assay, fluorescent live/dead staining, and cell morphology visualization using an inverted light microscope. Agar plate disc diffusion test was used for the testing of antimicrobial properties of nanofibers with 50wt% nano-CuO against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Scanning Electron Microscopy (SEM) imaging revealed nanofiber diameters ranging from 80 to 250 nm, with CuO particles uniformly dispersed across the fibre surfaces. In certain regions, the formation of particle clusters was also observed. CuO microparticles at the highest concentration of 50wt% were cytotoxic for 3T3 fibroblasts but not for BEAS-2 B. No other sample showed any cytotoxic effect on cells. However, no significant effect of CuO nanofibres on *S. aureus* was observed and an inconsistent effect was observed on *E. coli*.

Funded by the European Union under project 101110.262 – NanoSHIELD.

Views and opinions expressed are however those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union or the European Defence Fund. Neither the European Union nor the granting authority can be held responsible for them.

TOXICITY OF HEAVY METALS TESTED IN A 3D MODEL OF NEUROBLASTOMA CELLS

Handl J., Tichá L., Vašíčková V., Čapek J., Roušar T.

¹University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Department of Biological and Biochemical Sciences, Studentska 573, 532 10 Pardubice, Czech Republic
jiri.handl@upce.cz

The study of toxicity mechanism of cadmium and other heavy metals is still very relevant because of their constant presence in the environment. Heavy metals induce hepato-, nephro-, and neurotoxic effects. Cadmium induces toxic effect in the central and peripheral nervous systems and in blood-brain barrier [1]. Current evidence indicates that Cd can be also an etiological factor of neurodegenerative diseases.

The human neuroblastoma cell line SH-SY5Y has been accepted as a suitable in vitro model for the evaluation of CdCl₂ neurotoxicity in the literature [2, 3]. At present, the preferred culture model is to use scaffolds, modified culture plastics, or hydrogels, ensuring the formation of 3D models as spheroids and organoids.

The aim of our study was to create reproducible spheroids of neuroblastoma cells that will be useful for studying cytotoxicity of heavy metals. First of all, the formation of SH-SY5Y spheroids was optimized during 7 days of culture. Secondly, the number, size, and morphology of the formed spheroids were characterized and visualized using fluorescence microscopy. We compared the biological effects of CdCl₂ and HgCl₂ in 3D spheroids and 2D monolayer of SH-SY5Y cells. The cells were treated with 0-100 µM CdCl₂ or 0-100 µM HgCl₂ for up to 48 h. Changes in dehydrogenase activity and intracellular glutathione levels were detected. After 24 h, 75 µM CdCl₂ and 50 µM HgCl₂ caused reduction of dehydrogenase activity in both 2D vs 3D models compared to untreated cells.

In conclusion, 3D model of SH-SY5Y cells was created and used for the CdCl₂ and HgCl₂ cytotoxicity testing. SH-SY5Y cells grown in 3D spheroids were less sensitive to the CdCl₂ and HgCl₂ toxicity compared to the cells grown in 2D.

The study was supported by The Biomedical Indicators for Personalized Medicine project (BIPOLE), project ID CZ.02. 01. 01/00/23_021/0008439, co-funded by the European Union and by the FCHT/SGS_2025_004 project.

REFERENCES

1. Nývltová P., Čapek J., Handl J. et al.: Food Chem. Tox., 193, ISSN 0278-6915 (2024).
2. Handl J., Čapek J., Majtnerová P. et al.: Physiol. Res., 68, ISSN 1802-9973 (2019).
3. Svobodová B., Pulkrábková L., Panek D. et al.: Int. J. of Molecul. Sci., 24, ISSN 1661-6596 (2023).

UVOLŇOVÁNÍ EXPERIMENTÁLNÍ LÁTKY LPPO Z NANOVLÁKENNÝCH MATERIÁLŮ PRO TKÁŇOVÉ INŽENÝRSTVÍ

Hauzerová Š.¹, Lisnenko M.¹, Havlíčková K.¹, Kuželová Košťáková E.¹, Müllerová J.^{1,2}, Rejman D.³, Lukáš D.¹, Jenčová V.¹

¹Katedra chemie, Fakulta přírodovědně-humanitní a pedagogická, Technická univerzita v Liberci, Liberec

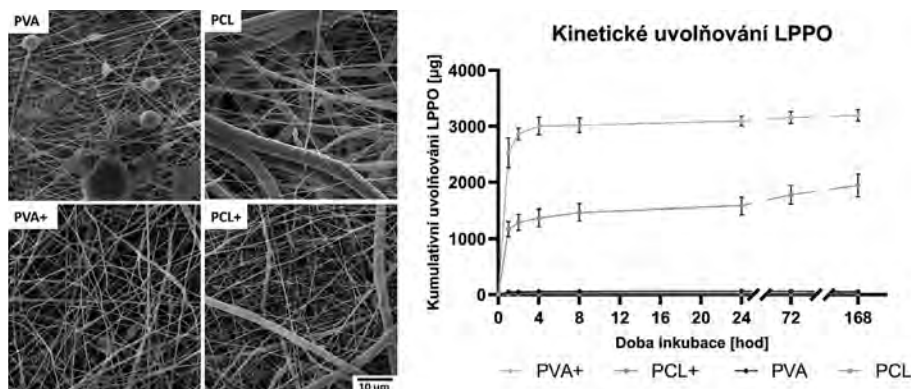
²Oddělení nanochemie, Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace, Technická univerzita v Liberci, Liberec

³Ústav organické chemie a biochemie, AV ČR, Praha

Nosiče pro tkáňové inženýrství a regenerativní medicínu mají za cíl rychlejší a efektivnější regeneraci poškozené tkáně. Nanovláknenné nosiče představují velký potenciál jak z pohledu materiálové a výsledné morfologické struktury, která se snaží připodobnit extracelulární hmotě dané tkáně, tak z pohledu velké škály možných modifikací těchto materiálů (Zheng et al., 2021). Nanovláknenné materiály mohou být modifikovány jak z povrchu, tak inkorporací vhodných aktivních látek, popřípadě léčiv, přímo do zvláknovacích roztoků před samotnou výrobou vláknenného materiálu. Inkorporace do vnitřní struktury vláken si obvykle klade za cíl postupné uvolňování aktivní látky (Wu et al., 2020) studies of controllable long-term drug release from electrospun membrane systems and the underlying release mechanisms have seldom been reported. In this study, electrospun membrane drug delivery systems consisting of the antibiotic ciprofloxacin hydrochloride and FDA-approved polymers are fabricated. Different second-component polymers are introduced to change the properties of a poly(D, L-lactide-co-glycolide). V rámci této studie byly připraveny nanovláknenné materiály z vodorozpuštného polymeru polyvinylalkoholu (PVA) a biodegradabilního polyesteru polylaktonu (PCL). Do jednotlivých polymerních roztoků byla přidána experimentální antimikrobiální látka na bázi lipofosfonoxinu (LPPO). Tyto materiály vyvíjeny s cíleným použitím na kontaminované a špatně se hojící rány. Vyvíjená experimentální látka LPPO vykazuje vysokou antimikrobiální aktivitu proti širokému spektru bakterií, včetně kmenů rezistentních vůči dostupným léčivům. Další výhodou je nízká toxicita LPPO na eukaryotické buňky (Do Pham et al., 2021) including bacteria-infected skin wound healing. As the wide use of antibiotics leads to drug resistance we present here a new concept of wound dressings based on the polycaprolactone nanofiber scaffold (NANO. Pomocí elektrostatického zvláknování technologií Nanospider™ (NS1S500U) byly vyrobeny jednotlivé nanovláknenné vrstvy – bez inkorporované aktivní látky (PVA a PCL) a s inkorporovanou aktivní látkou (PVA+ a PCL+). Výroba jednotlivých materiálů byla optimalizována tak aby výsledné nanovláknenné vrstvy vykazovali srovnatelnou plošnou hmotnost. U vyrobených materiálů byla mimo morfologie jednotlivých vrstev hodnocena kinetika uvolňování aktivní látky LPPO do vodného prostředí. Kinetika uvolňování pro jednotlivé materiály, včetně negativních kontrol (PVA a PCL), byla monitorována po dobu 7 dní (viz Obr. 1).

Poděkování: Výzkum byl podpořen z projektu MZČR AZV NW24-08-00073.

Literatura: Do Pham, D.D. (2021) DOI: 10.1038/s41598-021-96980-7; Wu, J. (2020) DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.01.020; Zheng, X. (2021) DOI: 10.1039/D1RA01849C



Obr. 1.: Snímky vyrobených nanovláknenných vrstev z elektronového mikroskopu (vlevo) a graf kinetického uvolňování aktivní látky LPPO z testovaných materiálů (vpravo).

BIOKOMPOZITNÍ KOSTNÍ CEMENT PRO 3D TISK BIORESORBOVATELNÝCH KOSTNÍCH NÁHRAD

Hlináková K.¹, Menčík P.^{1,2}, Tušlová K.¹, Vištejnová L.³, Vojtová L.¹

¹CEITEC, Pokročilé biomateriály, Vysoké učení technické v Brně

²Fakulta chemická, Ústav chemie materiálů, Vysoké učení technické v Brně

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

Vývoji materiálů pro 3D tiskové technologie umožňující přípravu personalizovaných implantátů věnují vědci a vývojáři pozornost po celém světě. Technologie 3D tisku otevírají možnosti v mnoha sférách medicíny. Příkladem je využití v oblasti rekonstrukční medicíny při léčbě komplikovaných a rozsáhlých kostních defektů. Mezi nejatraktivnější biomateriály dnes patří kompozitní systémy na bázi fosforečnanu vápenatého a polymerního pojiva. Na tyto materiály jsou kladeny vysoké nároky jak z materiálového, tak biologického hlediska. S ohledem na samotnou technologii 3D tisku musí splňovat adekvátní materiálové vlastnosti jako jsou tisknutelnost, stabilita, koheze a v neposlední řadě dostatečné mechanické vlastnosti výsledného implantátu. Naopak z biologického hlediska musí být biokompatibilní, plně degradabilní a resorbovatelné a ideálně s osteoindukčními vlastnostmi. V dnešní době je častým krokem při přípravě biokeramické kostní náhrady proces slinování, což vede ke spálení polymerního pojiva. Výsledkem je tedy křehká biokeramická náhrada s velmi pomalou resorpcí v těle. Při využití tzv. biomimetické cesty je však možné proces slinování eliminovat, a to za předpokladu, že vlastnosti použitého polymerního pojiva budou ve všech směrech vyhovovat biologickým nárokům. Použité pojivo zůstane součástí výsledné kostní náhrady, což může pozitivně ovlivnit mechanické parametry výsledného implantátu. Tato skutečnost nicméně výrazně limituje množství polymerů, která mohou být za tímto účelem použita. Předmětem práce bylo připravit biokompozitní kostní náhradu na bázi fosforečnanu vápenatého a biokompatibilního a biorezorbovatelného kopolymerního pojiva pomocí nízko-teplotního 3D tisku. Hodnoceny byly zejména chemo-fyzikální vlastnosti s důrazem na reologické a mechanické parametry a následně porovnání s již dříve podrobně prostudovaným polymerním pojivem na bázi Pluronicu, který však plní pouze funkci pojiva zajišťující tisknutelnost, ale nepodporuje biodegradaci a osseo-integraci. Rovněž byla provedena degradační studie, a to jak v simulované tělní tekutině, tak i v roztoku se sníženým pH imitujícím osteolytické prostředí kostní tkáně. Z výsledků měření pevnosti v tlaku vyplývá, že vzorky obsahující biokompatibilní kopolymer vykazovaly výrazně vyšší pevnost v tlaku oproti srovnávacímu materiálu. Překvapivým zjištěním bylo, že přítomnost kopolymeru výrazně podporuje degradaci náhrady za fyziologických podmínek. Kromě toho, vzorky nevykazovaly cytotoxické vlastnosti během in vitro buněčného testování.

Poděkování: Projekt profiBONE (TO01000309) je spolufinancován se státní podporou Technologické agentury ČR v rámci Programu KAPPA a fondů EHP z Islandu, Lichtenštejska a Norska. Práce byla také podpořena z Evropského fondu pro regionální rozvoj v rámci projektu číslo CZ.02.01. 01/00/22_008/0004562.

NANOVLÁKENNÉ MATERIÁLY KOMBINUJÍCÍ VODOROZPUSTNÁ A BIODEGRADABILNÍ VLÁKNA PRO EFEKTIVNĚJŠÍ PODPORU HOJENÍ RAN

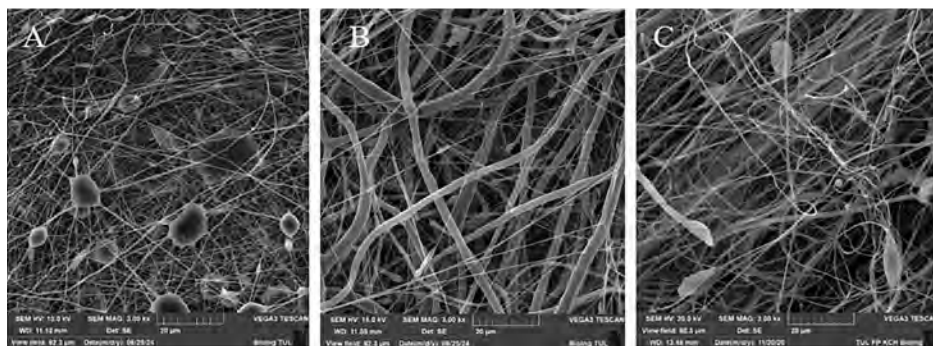
Jenčová V.¹, Lisenko M.¹, Havlíčková K.¹, Hauzerová Š.¹, Kuželová Košťáková E.¹, Müllerová J.¹, Novotný V.², Vrchovecká S.², Valtera J.³, Lukáš D.¹

¹Technická univerzita v Liberci, Fakulta přírodovědně-humanitní a pedagogická, Katedra chemie, Studentská 5, 461 17 Liberec 1

²Technická univerzita v Liberci, Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace, Oddělení environmentální chemie, Bendlova 1409/7, 460 01 Liberec 1

³Technická univerzita v Liberci, Fakulta strojní, Studentská 5, 461 17 Liberec 1

Nanovlákenné materiály mají velký potenciál pro použití v tkáňovém inženýrství, např. jako kožní kryty pro hojení chronických a akutních ran. Nanovlákenná struktura poskytuje buňkám vhodné prostředí pro jejich proliferaci, a rovněž může být velkou výhodou, že tento typ materiálu poskytuje možnost další funkcionalizace biologicky aktivními látkami. Inkorporované biologicky aktivní látky pak mohou dále pozitivně podpořit proces hojení tkání, případně eliminovat nežádoucí komplikace včetně bakteriální infekce. V kožním tkáňovém inženýrství se s výhodou uplatňují biodegradabilní materiály, které zajišťují pouze dočasnou podporu pro hojení tkáně a dále, v případě funkcionalizovaných vláken, může docházet k rychlejšímu uvolňování látek v důsledku např. podpory degradace v případě bakteriální infekce (Do Pham, 2021). V oblasti hojení ran jsou dále velmi rozšířené materiály na bázi vodorozpustných polymerů. Takové materiály pomáhají udržet vlhkost a vytvářejí tak na ráně vhodné prostředí. Jsou rovněž vhodným nosičem pro citlivé biologicky aktivní látky včetně proteinů (Kopřivová, 2021). Zajímavou a velmi efektivní možností můžou být materiály kombinující oba typy polymerů. Tento příspěvek se zabývá možnostmi přípravy nanovlákenných materiálů obsahujících dva typy vláken: biodegradabilní vlákna na bázi polykaprolaktonu (PCL) a vodorozpustná vlákna na bázi polyvinylalkoholu (PVA). Materiály byly připravovány dvěma druhy elektrického zvláknění. Pro zvláknění bylo použito DC elektrické zvláknění na zařízení NS 4S1000U a dále technologie AC elektrického zvláknění za současného použití dvou zvláknovacích elektrod. Byly připraveny materiály složené z vrstev těchto polymerů (Obr. 1.) a dále materiály, kde jsou PCL a PVA vlákna kombinovaná rovnoměrně v celém objemu výsledného materiálu.



Obr. 1.: Snímky z elektronové mikroskopie dvouvrstevného materiálu složeného z vrstvy PVA vláken (A) a vrstvy PCL vláken (B) a materiálu kombinujícího PVA a PCL vlákna v celém objemu (C)

Poděkování: Výzkum byl podpořen z projektu MZČR AZV NW24-08-00073.

Literatura: Do Pham, D.D. (2021), DOI: 10.1038/s41598-021-96980-7; Kopřivová, B. (2020) DOI: 10.3144/expresspolymlett.2020.80.

SURFACE MODIFICATION OF IMPLANTABLE MATERIALS USING NON-BIOFOULING POLYMERS

Kronek J.

Department for Biomaterials research, Polymer Institute of the Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 845 41 Bratislava, Slovakia

Uncontrolled accumulation of proteins and cells on implantable materials often leads to failure of their performance *in vivo*. Poly(2-alkyl-2-oxazolines) (POx) and zwitterionic polymers are currently intensively studied as promising synthetic polymers for different biomedical applications as non-biofouling protective coatings [1]. Various synthetic routes for the preparation of covalently crosslinked hydrogels from 2-oxazolines [2] and also zwitterionic polymers have been described in the literature. However, considering the non-biofouling hydrogel layers, there are still many possibilities to design a new, simpler, more accessible, and effective approach applicable commercially on a large scale.

In this contribution, we report on preparation of thin hydrogel layers through two types of thin hydrogel layer fabrication. First approach was based on ultraviolet light promoted surface grafting of azidobenzene unit containing zwitterionic polymers. Here, simultaneous covalent grafting and crosslinking reaction were promoted by in situ formed nitrene radicals. Second approach was based on beta-radiation of thin films of poly(2-methyl-2-oxazoline-co-2-butenyl-2-oxazoline) containing reactive double bond.

In both cases, stable hydrogel layers with a thickness of 5-30 μm were formed. The mechanical properties were dependent on the copolymer concentration and time of irradiation leading to hydrogel layers mimicking soft tissues. Both types of hydrogel coating were able to effectively suppress non-specific adhesion of model mice fibroblasts used as model cell lines.

This work was financially supported by Slovak Research and Development Agency under contract APVV-20-0202 and Slovak Grant Agency VEGA in the project 2/0170/24.

[1] Yan W., Divandari M., et al., Polym. Chem. 2018, 9, 2580–2589.

[2] Hartlieb M., Kempe K., Schubert U.S., J. Mater. Chem. B. 2015, 3, 526–538.

[3] Sobolciak P., Popelka A. et al., J. Coll. Interface Sci. 2017, 500, 294–303.

DRUG DELIVERY SYSTEMS BASED ON POLY(2-OXAZOLINES): THERAPEUTIC AND BIOIMMUNOLOGICAL EFFECTS

Kroneková Z., Minarčíková A., Kronek J.

Department for Biomaterials research, Polymer Institute of the Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 845 41 Bratislava, Slovakia

Efficient delivery of drug to the target tissue, high efficacy, minimization the off-target and controlled release of the drug are the main goals in the treatment of diseases and trends in recent pharmacology. In the past decades, different drug delivery systems based on organic, inorganic, polymeric basis were developed. Polymeric drug delivery systems, due to their crucial role in sustained drug release, have found wide application in various therapeutic areas, including cancer therapy, vaccines, and chronic disease treatment¹. Poly(2-oxazolines) are class of synthetic polymers, which possesses high biocompatibility, low immunogenicity, immunomodulative properties, flexibility in structure design and further functionalization, offering thus high potential in many biomedical application^{2,3}.

Here, we have used the poly(2-Isopropenyl-2-oxazoline) (PIPOx) for conjugation with ibuprofen, the nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAIDs). NSAIDs are effective therapeutics not only in the traditional approaches for the treatment of pains and fever but also in the treatment of rheumatic arthritis and tuberculosis, and in the prevention and treatment of various types of cancer diseases⁴. We have explored the effect of PIPOx molecular weight on cytotoxicity, formation of nanoparticles from polymer-drug conjugates, drug release under different pH and we have evaluated the bioimmunological properties using reconstructed 3D tissues (Mattek™). We will demonstrate that PIPOx represent the versatile platform as drug delivery systems.

This work was financially supported by Slovak Research and Development Agency under contract APVV-20-0202, APVV-23-0535 and Slovak Grant Agency VEGA in the project 2/0170/24. We are thankful to S. Letasiova and J. Markus from Mattek for their help with 3D reconstructed tissue models.

[1] Kopeček, J.; Yang, J. Polymer Nanomedicines. Adv. Drug Delivery Rev. 2020, 156, 40–64.

[2] Hoogenboom, R., The future of poly(2-oxazoline)s, European Polymer Journal, 2022, 179, 111521.

[3] Kroneková, Z., et al., Biomacromolecules, 2024, 25 (6), 3288-3301.

[4] Zarghampoor, F.; Valibeigi, B.; Behzad-Behbahani, A. Mol. Biol. Res. Commun. 2023, 12 (1), 17–25.

BIOCOMPATIBILITY ASSESSMENT OF GRAPHENE-FUNCTIONALIZED PLCL NANOFIBERS FOR BIOELECTRONIC APPLICATIONS

Ročková V.^{1,2}, Nirwan V. P.³, Amarjantal A.³, Hengsbach R.³, Fahmi A.³, Filová E.¹

¹*Institute of Experimental Medicine, Czech Academy of Sciences, Prague*

²*Department of Physiology, Faculty of Science, Charles University, Prague*

³*Rhine-Waal University of Applied Sciences, Faculty of Technology and Bionics, Kleve, Germany*

The presented study explores the fabrication and characterization of biocompatible electrospun nanofibers as potential bioelectrodes for bioelectronics and biosensor applications, such as triboelectric nanogenerators. A poly(lactic acid-caprolactone) (PLCL) copolymer was electrospun into nanofibers, functionalized with graphene powder, and coated with either graphene ink (Gr.ink) or poly(3,4-ethylenedioxythiophene) polystyrene sulfonate (PEDOT:PSS). Modified nanofibers demonstrated enhanced physical-mechanical properties, with PEDOT:PSS-coated fibers exhibiting a Young's modulus of 1.19, MPA. When tested with neonatal human skin fibroblasts, the materials showed outstanding biocompatibility, with none leading to a decrease in cell metabolic activity below a 70% threshold for toxicity on any of the tested days. This was supported by cell proliferation, which increased for all tested materials from day 1 to day 3, as well as cell morphology (light microscopy, DiOC6(3)/PI staining) and live/dead staining, where cells exposed to materials appeared comparable to the untreated ones. For Gr/PLCL^{Gr.ink} material, there was a decreased cell proliferation compared to untreated control on day 1, but this was not critical due to the stable endpoint (metabolic activity) showing sound biocompatibility and due to proliferation rising from day 1 to day 3. Overall, the biocompatibility testing suggests a potential for further development of these materials in biomedical applications.

This research was financially supported by ERA.Net Plus (Project Bioresorbable implantable triboelectric Nanogenerator devices, "BIOTENG"), the European Regional Development Fund – Excellence in Regenerative Medicine No. CZ.02. 01. 01/00/22_008/0004562.

IMPLANTABLE DEPOT FORMULATION FOR CONTROLLED ON-DEMAND DRUG RELEASE

Slonková K.^{1,2}, Navrátil O.¹, Štěpánek F.¹, Lizoňová D.¹

¹Department of Chemical Engineering, University of Chemistry and Technology Prague, Chemical Robotics Laboratory

²Department of Chemical Engineering, University of Chemistry and Technology Prague, Laboratory of Biomimetic Engineering

Implantable depot systems offer a promising approach in tissue engineering and regenerative medicine by enabling localized, controllable drug release to support post-surgical healing and infection prevention. Traditional depot formulations often suffer from uncontrolled release kinetics, limiting their clinical applicability and contributing to development of bacterial resistance.

We have developed an implantable depot system that enables controlled, on-demand drug release using radiofrequency (RF) activation. Based on our published work (Navrátil et al., 2022), we further optimized this depot system consisting of core-shell microparticles in order to prolong its stability. The core contains micron-sized antibiotic crystals (norfloxacin) embedded in a high-melting wax matrix ($T_m = 42^\circ\text{C}$), ensuring stability at physiological temperatures and preventing premature drug release. The hydrogel-based shell, composed of methacrylated alginate, undergoes dual ionic (Ca^{2+}) and covalent (UV-induced) crosslinking to enhance mechanical stability in biological environments. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) embedded within the shell generate localized heat upon RF exposure, triggering precise and repeatable antibiotic release.

Characterization studies confirmed that the depot remains intact under physiological conditions and enables controlled antibiotic release upon RF stimulation (Figure 1). Antibacterial assays demonstrated effective inhibition of *Escherichia coli*, with inhibition zones increasing in size with the number of RF-triggered release cycles. The system supports multiple release cycles, enabling repeated application while minimizing systemic toxicity and undesired drug leakage.

Beyond infection prevention, this implantable depot has the potential to be adapted for the controlled release of bioactive molecules that promote healing, or reduce inflammation, making it a versatile tool for tissue regeneration and post-surgical recovery. Future studies will focus on *in vivo* validation and expanding its applications for tissue engineering and controlled drug delivery.

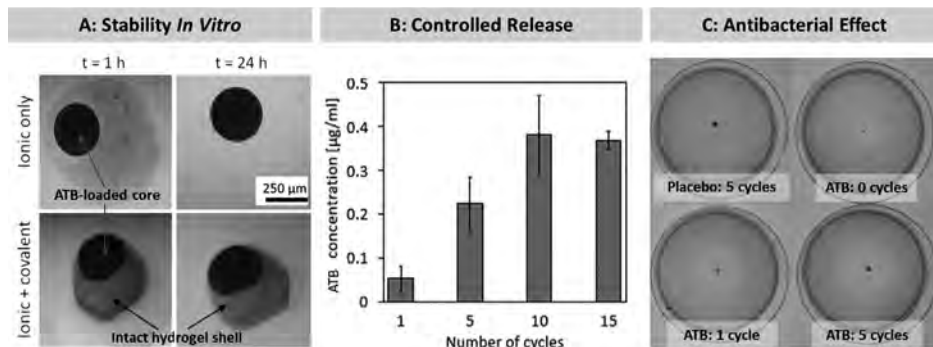


Figure 1. A: Stability of hydrogel shell (brown) in presence of monovalent ions is improved when ionic + covalent crosslinking is used. B: Number of RF cycles determines the drug (ATB) dose to be released. C: Released ATB effectively inhibits bacterial growth *in vitro*.

References

Navrátil O., Lizoňová D., Slonková K., Mašková L., Zdražil A., Sedmidubský D., Štěpánek F., "Antibiotic depot system with radiofrequency controlled drug release", Coll. Surf. B: Biointerfaces 217, 112618 (2022)

NANOVLÁKENNÉ MEMBRÁNY NA BÁZI SYNTETICKÝCH POLY(A-AMINOKYSELIN)

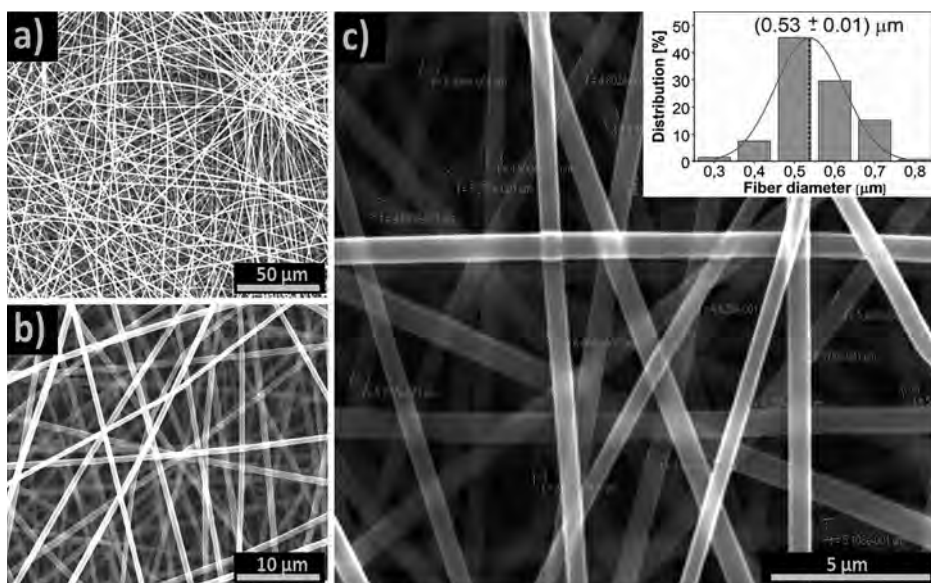
Studnovská H., Souibgui M., Georgievski O.P., Hodan J., Proks V., Nováčková J., Cimrová V.

Ústav makromolekulární chemie AV ČR, Praha

Syntetické poly(α -aminokyseliny), jako je např. poly(γ -benzyl-L-glutamát) (PBLG), obsahují v hlavním řetězci peptidické vazby, které mohou být v biologickém prostředí hydrolyticky štěpeny za současné katalýzy enzymy. Takové polymery mohou být s výhodou použity pro přípravu biomateriálů pro tkáňové inženýrství.

Práce je zaměřena na přípravu ultratenkých nanovláknenných membrán na bázi PBLG technikou elektrostatického zvláknění. Optimalizací podmínek polymerního roztoku s příměsí 1% kyseliny trifluoroctové (TFA) byly připraveny ultratenké substráty o tloušťce 1,7 až 4,5 μm s izotropní vláknennou strukturou. S ohledem na možnou toxicitu není přítomnost TFA žádoucí pro následné buněčné experimenty. Proto byly vzorky substrátů temperovány, a poté pomocí XPS byla sledována přítomnost/nepřítomnost fluoru z TFA. Pomocí small punch testu byly vyhodnoceny mechanické vlastnosti nanovláknenných membrán.

Ultratenké nanovláknenné membrány na bázi PBLG s vysokou porozitou 86 – 88%, dostatečnou tuhostí a vysokou transparentí ve vlhkém stavu jsou potenciálně vhodnými kandidáty pro aplikace v tkáňovém inženýrství oka.



Obr. 1: Struktura nanovláknenné membrány (optimalizované podmínky přípravy $c_{\text{PBLG}} = 0,35 \text{ g ml}^{-1}$ v dichloropropanu s přidavkem 1 wt. % TFA) při zvětšení (a) $\times 1000$, (b) $\times 5000$, and (c) $\times 10000$. Inset – distribuce velikosti vláken.

Poděkování: Práce byla finančně podpořena grantem European Regional Development Fund (No. CZ.02. 01. 01/00/22_008/0004562 Project „Excellence in Regenerative Medicine“).

OPTIMIZATION OF AN *in vitro* MODEL FOR SIMULATING BONE REGENERATION AND VASCULARIZATION

Šebová E., Klusáček Rampichová M., Filová E.

*Institute of Experimental Medicine CAS, Prague *eva.sebova@iem.cas.cz*

Introduction

This study develops a co-culture model to evaluate bone cement using **Saos-2** (osteoblast-like cells for bone regeneration) and **HUVEC** (endothelial cells for vascularization). The goal is to simulate in vivo conditions to assess cement-cell interactions and optimize formulations for tissue integration.

Methods

The study involved two phases: **medium optimization** and **co-culture testing**. In the first phase, Saos-2 cells were cultured in McCoy's 5 A medium mixed with endothelial growth medium (EGM) at varying ratios (e.g., 1:0, 4:1, 2:1, 1:1), while HUVECs were cultured in EGM blended with McCoy's 5 A medium at varying ratios and osteogenic supplements (10 nM dexamethasone, 10 mM β -glycerol phosphate, 50 μ g/mL ascorbate-2-phosphate). Metabolic activity was assessed via MTS assays on days 1, 7, and 14 to determine optimal media compositions.

In the second phase, a co-culture system was established with a **2:1 Saos-2:HUVEC ratio**, chosen to optimize osteogenic differentiation while maintaining vascular support, using a **1:1 blend of osteogenic and endothelial media**. This system was maintained for **21 days**, with analyses performed at days 1, 7, 14, and 21 using MTS assays, ALP activity, and qPCR for gene expression markers.

Results and Discussion

The results showed that Saos-2 cells exhibited optimal growth in McCoy's medium, blended with EGM in a ratio 1:1 on day 7, and 2:1 on day 14. HUVEC cells maintained stable viability when cultured in EGM blended with McCoy's medium and osteogenic supplements in a ratio 1:1 on days 7 and 14. This confirmed the compatibility of the selected media compositions for both cell types, and based on the results, we selected the medium composition 1:1 EGM to McCoy's with osteogenic supplements.

The co-culture system demonstrated a **linear increase in metabolic activity** from day 1 to 21. ALP activity peaked at day 7 and decreased by day 21, indicating an initial surge in **osteogenic differentiation**. Gene expression analysis revealed a decrease in COL1, KDR, PECAM, and ALP by day 14, with OCN peaking at day 7. By day 21, PECAM and ALP showed a slight, non-significant increase. The static 2D conditions limited mechanical cues, suggesting future studies should use 3D scaffolds and dynamic bioreactors. However, the static 2D conditions lack mechanical cues, which will be addressed in future studies using 3D scaffolds and dynamic bioreactors. Future steps include incorporating monocytes/macrophages and osteoclasts to study immune responses and bone remodeling, as well as testing antibiotic-loaded cement for cytotoxicity.

Conclusion

The co-culture model successfully integrates Saos-2 and HUVEC to mimic bone-vascular interactions. Preliminary data validate its utility for testing bone cement under controlled conditions. Expanding to 3D/dynamic systems and additional cell types will enhance clinical relevance, supporting targeted bone regeneration strategies.

Acknowledgement

European Developmental Fund – project: Excellence in Regenerative Medicine CZ.02.01.01/22_008/0004562.

This research was supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr. NW24-05-00202.

NOVÁ SYNTETICKÁ DERMÁLNÍ NÁHRADA NOVOSORB® BTM V KLINICKÉ PRAXI

Šimičková A., Stonová C., Zajíček R.

Klinika popáleninové medicíny FNKV a 3. LF UK, Praha

Pokroky v chirurgické léčbě rozsáhlých popálenin jsou v posledním desetiletí dané především rozvojem tkáňového inženýrství a vývojem kožních náhrad. Nová dermální náhrada Novosorb® BTM (Polynovo, Austrálie) je na rozdíl od předchozích kolagenních matrix tvořena syntetickým, biodegradabilním polyuretanem. Hojení kožních ztrát po aplikaci BTM probíhá přestavbou syntetické matrix na autologní vaskularizovanou neodermis v intervalu 4 týdnů po aplikaci do lůžka rány. V druhé etapě je povrchová krycí vrstva odstraněna a nahrazena tenkým dermoepidermálním transplantátem. Odolnost vůči infekci, snadná manipulace, vynikající funkční a estetický výsledek a široké spektrum indikací činí v dnešní době Novosorb® BTM jednu z nejvíce rozšířených kožních náhrad na světě. KPM FNKV byla prvním pracovištěm v centrální a východní Evropě, kde bylo Novosorb® BTM v roce 2024 použito. Autoři posteru prezentují klinické zkušenosti s použitím této unikátní dermální matrix u 10 pacientů s různou etiologií kožní ztráty.

COMPARISON OF 2D AND 3D MODELS DERIVED FROM GASTRIC CANCER N87 CELL LINE

VIČEK A., ČAPEK J., ROUŠAR T.

Department of Biological and Biochemical Sciences, Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice

Gastric cancer is among the leading cancer types in terms of incidence and mortality in many countries around the world with almost 1 million newly diagnosed cases per year. Cell culture models play an important role in understanding the pathophysiology of gastric cancer cells. At present, two-dimensional (2D) cell culture is important, but advanced and more sophisticated three-dimensional (3D) approaches have been replacing it in recent years. Main advantage of 3D cell culture is to mimic better the complex nature of gastric cancer for *in vitro* disease modelling.

To understand better the differences between 2D and 3D cell culture models, we cultivated N87 gastric cancer cells as 2D monolayers and 3D spheroids. To characterize the cells, we performed several immunocytochemistry assays for detection of cytokeratin 18, carcinoembryonic antigen and selected mucin molecules. We also incubated N87 cells with chemotherapeutic agents, such as 5-fluorouracil (100 and 2500 μM) and cisplatin (50 μM) for up to 72 h. Glutathione levels, dehydrogenase activity and ATP content were chosen as indicators of cellular damage.

In conclusion, using immunocytochemistry approaches, we detected epithelial and tumor nature of N87 cells together with their capability to express specific mucin molecules. The exposure of N87 cells to 5-fluorouracil and cisplatin induced cell impairment which was characterized by decreased levels of glutathione, reduction of dehydrogenase activity and ATP depletion in comparison to untreated cells. Cellular damage was potentiated in time- and dose-dependent manner.

This study was supported by the Biomedical Indicators for Personalized Medicine project (BIPOLE), project ID CZ.02. 01. 01/00/23_021/0008439, co-funded by the European Union, and by the FCHT/SGS/2025/004 project.

ENZYBIOTIC-LOADED HYDROGEL DRESSINGS FOR THE TREATMENT OF INFECTED WOUNDS: COMPREHENSIVE STUDY

Vojtová L.¹, Kacvinská K.¹, Kobzová Š.², Vacek L.², Lipový B.^{1,3}, Raška F.³, Jeklová E.² and Janda L.²

¹CEITEC – Central European Institute of Technology, Brno University of Technology, Advanced Biomaterials, Brno, Lucy.Vojtova@ceitec.vutbr.cz

²Veterinary Research Institute, Brno

³Department of Burns and Plastic Surgery, Institution shared with University Hospital Brno, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

Wound dressings containing collagen are biologically active, which, in addition to their absorption properties, stimulate natural cell activity and promote angiogenesis. Similar to collagen, cellulose-based dressings also impact the biochemistry of the wound. Specifically, the oxidized cellulose fibers form a cohesive gel when in contact with the wound bed, absorbing exudates into the fiber structure and creating a moist environment. Combining cellulose fibers with collagen creates materials with enhanced properties and cost-effective production. Antimicrobial dressings primarily utilize silver ions and nanoparticles, iodine compounds, chlorhexidine, or antibiotics, though excessive use can lead to resistance in many bacterial strains. As a result, bacteriophages, isolated antibacterial proteins, enzymes, and peptides have recently emerged as alternatives.

In our project, we developed porous lyophilized cryogel dressings and fully resorbable, easily injectable hydrogels based on collagen/cellulose biopolymers. These hydrogel-based delivery systems included enzymes such as recombinant thermostable lysostaphin (LYSSTAPH T-9) and endolysin (LYSDERM T-10) with a longer duration of antistaphylococcal effect. These hydrogels were tested in vitro to assess their antibacterial activity against various bacterial strains. While the hydrogels are not inherently antibacterial, adding a low concentration of enzybiotics was sufficient to achieve high effectiveness against specific bacterial strains mainly from the *Staphylococcus aureus* group. The selected hydrogels were then successfully applied to a pig model with skin defects infected by different bacterial strains. These hydrogels can be easily applied to complex and irregular wounds, and enzybiotics can be precisely dosed to provide targeted efficacy in challenging infected wounds.

Acknowledgement:

The study was supported by the European Fund for Regional Development under project ExRegMed number CZ.02. 01. 01/00/22_008/0004562 and by the Ministry of Health of the Czech Republic, grant no. NU22-05-00475.

UVOLŇOVÁNÍ MODELOVÝCH AKTIVNÍCH LÁTEK Z VRSTVENÝCH NANOTEXTILIÍ S POLYVINYL BUTYRALEM PRO MEDICÍNSKÉ APLIKACE

Židek J.¹, Metaj N.¹, Poláková V.¹, Kuželová Košťáková E.², Smilek J.³, Vojtová L.¹

¹CEITEC – Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně, Purkyňova 123, Brno

²Fakulta přírodovědně-humanitní a pedagogická, Technická univerzita v Liberci, Studentská 1402/2, Liberec

³Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně, Purkyňova 116, Brno

Príspevek popisuje řízené uvolňování aktivních látek z vrstvené nanotextilie. Jako modelové aktivní látky byla použita dvě modrá barviva – methylenová modř a indigotin. Vrstvená nanotextilie byla připravena elektrospínáním polyvinylbutyralu (PVB) a jednotlivé vrstvy byly spojeny želatinou. Tento materiál představuje perspektivní modelovou strukturu s potenciálním využitím v senzorech nebo jako nosič léčiv.

Príspevek se zaměřuje na zkoumání mechanismů uvolňování látek z vrstvených nanotextilií. Proces uvolňování je primárně řízen difúzí přes nanostrukturovanou membránu, která je obvykle velmi pomalá. PVB nanotextilie však nabízí specifickou výhodu v podobě přítomnosti mikropórů na povrchu materiálu, které umožňují urychlenou difúzi při zachování určité míry regulace. Další mikropóry lze v materiálu také cíleně vytvářet. To umožňuje programovat strukturu vrstev tak, aby se póry v sousedních vrstvách buď překrývaly, čímž vzniká přímý kanál pro rychlé uvolňování, nebo byly vzájemně posunuté, což vede k vytvoření meandrovitého difúzního kanálu zpomalujícího transport aktivní látky. Tato kontrola struktury umožňuje přesné řízení kinetiky uvolňování a optimalizaci materiálu pro konkrétní aplikace.

V příspěvku představujeme model materiálu s definovanou porozitou, který umožňuje přesný popis řízeného uvolňování aktivních látek. Analyzujeme klíčové faktory ovlivňující tento proces, včetně geometrie materiálu, tloušťky mezivrstev a chemických vlastností PVB. Dále popisujeme difúzní model predikující transport látek v těchto strukturách, přičemž se zaměřujeme na odlišnosti oproti konvenčním nanotextiliím a jejich dopad na bezpečnost a funkčnost v medicínských aplikacích.

Poděkování projektu

Práce byla podpořena z Evropského fondu pro regionální rozvoj v rámci projektu číslo CZ.02.01.01/00/22_008/0004562.

ELEKTRONICKÉ POSTERY

Elektronické postery budou k dispozici po celou dobu konference na digitálním stojanu umístěném ve foyer před hlavním sálem.

Prohlížení je možné prostřednictvím dotykové obrazovky – po výběru jména prezentujícího se příslušný poster zobrazí v plném náhledu.

Účastníci si tak mohou pohodlně prohlédnout jednotlivé postery kdykoliv během konference.

SEZNAM POSTERŮ

Číslo posteru	Příjmení	Jméno	Abstrakt
P01	Brtníková	Jana	The Effect of Polysaccharide Composition and Processing on Morphology and Stability of Freeze-thaw Hydrogels
P02	Daňková	Jana	Hloubkové zobrazování buněk v trojrozměrných titanových maticích pomocí spinning disk technologie
P03	Exnerová	Andrea	Modulation of Macrophage Phenotype by Mesenchymal Stem Cells and Their Secretome
P04	Hedvičáková	Věra	Adhesion of human neonatal fibroblasts on 100% nanofibrous yarns
P05	Janda	Lubomír	Therapeutic effect of antimicrobial enzybiotics in the treatment of Staphylococcus aureus MRSA infected porcine wounds
P06	Kaspar	Pavel	Vliv vybraných plniv na biokompatibilitu PVDF scaffoldu
P07	Klusáček Rampichová	Michala	In vitro co-culture study on injectable calcium phosphate cements: investigation of early cell seeding after hardening
P08	Konečná	Gabriela	Polysaccharide freeze-thaw hydrogels designed for biomedical applications
P09	Kotouček	Jan	Charakterizace struktur kopolymeru PLGA-PEG-PLGA pod kritickou micelární koncentrací: nové využití pro cílenou distribuci léčiv
P10	Kreuzerová	Monika	PLGA-PEG-PLGA Core-Shell Nanoparticles for Antibacterial Enzyme Delivery: A Promising Approach for Enhancing Calcium Phosphate Cements
P11	Kužma	Ján	Comparative Analysis of Dehydrothermal Crosslinking of Collagen: Influence of Vacuum Conditions and Subsequent Chemical Crosslinking
P12	Menčík	Přemysl	Metoda měření mechanických vlastností 3D tištěných porézních struktur kostního cementu a aproximace získaných dat k výpočtu vlastností základního materiálu
P13	Michlovská	Lenka	Mussel-inspired" Self-setting Calcium Phosphate Bone Glue
P14	Pavlišáková	Veronika	Advances in Skin Regeneration: Development of a Multilayered Fourth-Generation Scaffold for Enhanced Wound Healing

Číslo posteru	Příjmení	Jméno	Abstrakt
P15	Sedláček	Radek	Mechanické hodnocení adheze injekčně aplikovatelného kostního cementu: vliv fyziologických rozdílů a chovu při ex vivo pull-out testech
P16	Slaninová	Kateřina	Development of in vitro lung model for inhalational drug delivery research
P17	Sobola	Dinara	Vibrační spektroskopie pro kontrolu kvality kostí
P18	Sovková	Věra	Hyperglykemické podmínky v modelu chronické rány
P19	Strnadová	Kateřina	Optimalizace měření uvolňování inkorporované bioaktivní látky z PVA nanovlákných vrstev
P20	Suchý	Tomáš	Zvýšení adheze injektovatelného resorbovatelného kostního cementu pomocí dopaminu
P21	Šrolerová	Tereza	Syntéza kontrastních látek pro měření pH pomocí magnetické rezonance
P22	Vištejnová	Lucie	Hodnocení kontaktu kost-implantát u kovových implantátů: porovnání 2D histologického a 3D mikro-CT přístupu
P23	Voltrová	Barbora	Optimalizace izolace a kultivace dpMSC získaných ze zubní pulpy terapeuticky extrahovaných stálých zubů
P24	Vrbová	Radka	Metodika přípravy preparátů pro histologické a jiné analýzy nejen v zubním lékařství
P25	Wirthová	Michaela	X-ray Diffraction Investigation of Calcium Phosphate Cement Modified with Biogenic Additives for Bone Regeneration

THE EFFECT OF POLYSACCHARIDE COMPOSITION AND PROCESSING ON MORPHOLOGY AND STABILITY OF FREEZE-THAW HYDROGELS

Brtníková J., Urbancová K., Izsák D. a Vojtová L.

CEITEC, Pokročilé Biomateriály, Vysoké učení technické v Brně

Currently, hydrogels are becoming an increasingly sought-after material for biomedical applications due to their unique properties, including their ability to mimic the natural environment of the extracellular matrix and their high absorption capacity. Synthetic or natural polymers, or their combinations, are commonly used for their preparation, allowing the creation of materials with optimal biological, mechanical, and physicochemical properties. Suitable natural polymers include polysaccharides, which are biologically compatible, biodegradable, nontoxic, and, last but not least, cost-effective.

In this study, hydrogels were prepared based on two types of polysaccharides, water-soluble cellulose derivative and chitosan, combined with other synthetic polymer, namely poly(vinyl alcohol) (PVA), which enhance both the stability, mechanical, and viscoelastic properties of the resulting hydrogel. The hydrogel mixtures were physically crosslinked using the "freeze-thaw" (F-T) method, where repeated freezing and thawing create "crystalline nodes" between individual polymer chains, thereby increasing the stability of the resulting hydrogel. The final step in the preparation was freeze-drying. Subsequently, the effect of the composition and preparation method of polysaccharide-based hydrogels on their final morphology, internal structure, and porosity was investigated using optical and scanning electron microscopy. Hydrogel samples with a lower proportion of the PVA component were found to collapse their 3D porous structure after multiple F-T cycles. Similarly, a higher preparation temperature affected the final morphology of these samples. In contrast, samples with a higher proportion of PVA maintained a stable 3D porous structure after multiple F-T cycles and at higher preparation temperatures. However, these materials showed the formation of smaller pores and lower interconnectivity. When the hydrolytic stability and degradation were monitored under physiological conditions, it was confirmed that the samples with the highest proportion of PVA were the most stable. On the basis of the measurements, it was found that by selecting the appropriate ratio of the individual components forming the hydrogel and the preparation method, it is possible to create a wide range of viscoelastic materials, from hydrogel drug carriers to wound dressings, 3D matrices for cell monitoring, and implants mimicking cartilage.

Acknowledgement

This work was supported by project No. TN02000017 co-financed with the state support of the Technology Agency of the Czech Republic within the National Center of Competence Program, the European Fund for Regional Development under project number CZ.02. 01. 01/00/22_008/0004562 and CzechNanoLab Research Infrastructure supported by MEYS CR (LM2023051).

P-02

HLOUBKOVÉ ZOBRAZOVÁNÍ BUNĚK V TROJROZMĚRNÝCH TITANOVÝCH MATRICÍCH POMOCÍ SPINNING DISK TECHNOLOGIE

Daňková J., Voltrová B., Müllerová M., Filová E.

Ústav experimentální medicíny, Akademie věd ČR, v. v. i., Praha

Tato studie se zaměřuje na využití konfokální spinning disk mikroskopie pro vizualizaci hloubkových struktur v 3D tištěných titanových maticích. Pro zobrazování byl použit invertovaný fluorescenční mikroskop s konfokálním modulem se spinning diskem Andor BC43 (Oxford Instruments). Byly testovány 3D tištěné vzorky čistého titanu a jeho slitin, na které byly nasazeny buňky typu 3T3. Složení vzorků mělo vliv také na jejich strukturu. Některé slitiny neumožnily vytvoření pórů dostatečné velikosti, což znemožnilo hlubší průnik laseru a detekci signálu. Přesto jsme u většiny vzorků byli schopni detekovat signál z hloubky více než 2 mm. Výsledky ukázaly, že konfokální mikroskopie využívající spinning disk umožňuje detailní vizualizaci struktur na povrchu i uvnitř 3D tištěných titanových vzorků.

Výzkumná činnost je podpořena projektem Ministerstva zdravotnictví ČR, AZV VES č. NW24-10-00195.

P-03

MODULATION OF MACROPHAGE PHENOTYPE BY MESENCHYMAL STEM CELLS AND THEIR SECRETOME

Exnerová A., Seidlová S., Daňková V., Nešporová K., Velebný V.

Contipro, a. s., Dolní Dobrouč, Czech Republic

Mesenchymal stem cells (MSC) and their secretome are widely studied for their use in human and veterinary regenerative medicine. The mechanism of the therapeutical effect seems to be mediated by interaction with macrophages. Based on the literature, MSC and their secretome inhibit the activation of M1 "proinflammatory" macrophage phenotype and repolarize them to M2 "proregenerative" phenotype. The effect of MSC and their secretome on the direct M2 macrophage polarization has almost not been explored.

To study the effect of MSC and their secretome on different macrophage phenotypes, optimizing the suitable macrophage model is necessary. In this poster, THP-1 and U937 macrophage models regarding their polarization capacity to M1 and M2 phenotypes were studied. Interestingly, only U937 macrophages were able to polarize into M2 phenotype in the presence of specific stimuli (IL-4 + IL-13) as proven by detection of M2 markers (e.g. IL-10, TGFβ).

Then, the effect of canine adipose tissue derived, MSC and their secretome on the polarization of U937 macrophages was observed. MSC were cocultivated with U937 macrophages using transwells and in the presence of specific polarization stimuli (LPS to M1 phenotype, IL-4+IL-13 to M2 phenotype). Modulation of macrophage phenotype by MSC secretome was studied by gene expression of M1 and M2 markers in macrophages. MSC and their secretome exhibited significant antiinflammatory effect, meanwhile, the widely reported, MSC and their secretome-mediated repolarization from M1 to M2 was not proven in this model. At the same time, the direct promotion of M2 proregenerative phenotype was moderate and quite variable. However, the antiinflammatory effect of MSC and their secretome was confirmed in different inflammation models using various types of macrophages (THP-1, RAW264.7, primary macrophages). Interestingly, the effect was transferable between species – canine, MSC and their secretome inhibit inflammation in human or mouse macrophages.

In conclusion, MSC and their secretome possess a significant anti-inflammatory effect on macrophages, while the effect on M2 macrophage polarization is mild. This knowledge can be used in the proper targeting and timing of MSC-based therapy. The cross-species transferability of MSC effect highlights the potential of xenogeneic therapy. Moreover, this poster proposes a potential use of U937 macrophage model for standardized testing of the effect of developed therapeutics on the polarization of macrophages.

ADHESION OF HUMAN NEONATAL FIBROBLASTS ON 100% NANOFIBROUS YARNS

Hedvičáková V.¹, Klusáček Rampichová M.¹, Mikule J.², Šebová E.¹, Filová E.¹, Lukáš D.², Kuželová Košťáková E.²

¹*Institute of Experimental Medicine, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic*

²*The Faculty of Science, Humanities and Education, Technical University of Liberec, Czech Republic*

Surgical sutures serve to approximate injured tissue and accelerate the healing. Currently, there is a large range of surgical sutures on the market to choose from, depending on the type of application. In our study, we focused on testing the pro-adhesive properties of 100% nanofibrous yarns made from polycaprolactone (PCL). In contrast to smooth suture materials, the rough surface of nanofibrous yarns serves as a non-specific biomechanical stimulus for cell adhesion. Thus, proper integration of the nanofibrous yarns with the surrounding tissue is expected. Moreover, as PCL is biocompatible and biodegradable material, the risk of tissue rejection is lower. We estimate that the nanofibrous yarns could interact properly with the surrounding tissue, shorten the healing period and result in healing without scarring, which is an important mechanical as well as aesthetic factor.

In this study, alternating current (AC) electrospinning was used to produce 100% PCL nanofibrous yarns and PCL planar samples as a control. These materials were seeded with neonatal human dermal fibroblasts (nHDF). To evaluate the rate of cell adhesion, scanning electron microscopy (SEM), talin and vinculin expression by PCR as well as immunostaining of vinculin were used to study the cell adhesion during the short term experiment. Chosen time points were two, 24 and 72 hours post seeding.

As early as two hours after seeding, cell spreading was observed. The cells engaged typical morphology of adhered fibroblasts and retained this morphology throughout the three-day experiment. The expression of adhesive proteins was highest as early as two hours after cell seeding on 100% nanofibrous yarns. A gradual onset in expression was observed on the planar sample with highest expression of talin and vinculin on day three. The results obtained indicate suitable pro-adhesive properties of 100% PCL nanofibrous yarns.

Acknowledgement: This research was supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr. NW24-08-00133.

THERAPEUTIC EFFECT OF ANTIMICROBIAL ENZYBIOTICS IN THE TREATMENT OF *Staphylococcus aureus* MRSA INFECTED PORCINE WOUNDS

Janda L.¹, Kobzová Š.^{1,4}, Raška F.², Vacek L.², Lipový B.^{4,5}, Makovický P.¹, Jeklová E.¹, Vojtová L.⁵

¹Veterinary Research Institute, Brno, lubomir.janda@vri.cz

²Institute of Microbiology, St. Anne's University Hospital in Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

³Department of Burns and Plastic Surgery, Institution shared with University Hospital Brno, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

⁴Department of Biochemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic

⁵CEITEC – Central European Institute of Technology, Brno University of Technology, Advanced Biomaterials, Brno

Bacterial infections of the skin and soft tissues are widespread worldwide and are often caused by the bacterium *Staphylococcus aureus*. This bacterium is capable of causing mild erythematous or skin-mucosal infections and even serious life-threatening diseases, including sepsis, pneumonia and endocarditis. The aim of this study was to verify the efficacy of two recombinantly prepared and temperature-stabilized enzymes LYSDERM-T10 and LYSSTAPH-T9. An experimentally induced porcine model of skin infection with *S. aureus* was used for this purpose. In the final model, 10 excisions of the skin and underlying soft tissue were made in each pig under general anesthesia, while additional fascia incisions were made at the defect base and immediately inoculated with a suspension of *Staphylococcus aureus* ST22 MRSA. On the fourth day after the infection, selected wounds were treated with two enzymes LYSDERM T-10 and LYSSTAPH-T9, with the application being repeated every day. At time points 4, 8, 11 and 15, samples were taken from each wound for microbiological, histopathological and molecular biological examination. The dynamics of inflammatory markers and clinical signs of infection are also described.

Due to the increasing resistance of bacteria to antibiotics, there is a need to search for new antimicrobial agents against MRSA with a topical effect directly on the skin (in vivo).

Acknowledgement: The study was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic, grant no. NU22-05-00475

VLIV VYBRANÝCH PLNIV NA BIOKOMPATIBILITU PVDF SCAFFOLDU

Šromová V.¹, Částková K.², Al-Qaisi W.², Kaspar P.¹, Sobola D.³, Holcman V.¹¹Ústav Fyziky, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Vysoké učení technické v Brně²CEITEC, Vysoké učení technické v Brně³Ústav fyziky materiálů AV ČR, Brno

Polymery poskytují pevnou a pružnou variantu implantovatelných materiálů díky své variabilitě. Polyvinylidene fluoride (PVDF) se již v dnešní době používá například jako výztuha při operacích kýly. Vlákná PVDF byla podrobena zkoušce biokompatibility, včetně jejich obohacené varianty pomocí hydroxyapatitu jakožto přírodně se vyskytující formě vápníku, a basolitu jakožto vázanou formu zinku, který se v poslední době objevuje stále více v biologických aplikacích. Standardizované buňky fibrosarkomu HT1080 byly použity pro testování. PVDF sám o sobě cytotoxicitu nevykazoval, což bylo předpokládáno kvůli jeho používání, a hydroxyapatit nejen že tuto cytotoxicitu nezvýšil, ale naopak podpořil růst buněk na polymerických vláknech. Zinek v polymeru však naopak vytvořil negativní prostředí pro růst buněk, a během několika hodin je všechny zahubil. Tato práce by mohla poskytnout náhled na lepší polymery pro implantování a pro jejich přirozenější integraci do přijímajícího organismu.

Tato práce byla podpořena projektem „Mechanical Engineering of Biological and Bio-inspired Systems“, financovaným jako projekt č. CZ.02. 01. 01/00/22_008/0004634 Programem Johannes Amos Comenius, pod názvem Excelentní výzkum.

IN VITRO CO-CULTURE STUDY ON INJECTABLE CALCIUM PHOSPHATE CEMENTS: INVESTIGATION OF EARLY CELL SEEDING AFTER HARDENING

Klusáček Rampichová M.¹, Šebová E.¹, Vojtová L.², Michlovská L.², Filová E.¹

¹Institute of Experimental Medicine of CAS, v. v. i., Prague; michala.rampichova@iem.cas.cz

²CEITEC – Brno University of Technology, Brno

Introduction: Calcium phosphate cements (CPCs) are widely explored for bone regeneration due to their osteoconductivity and injectability. However, ion imbalance during cement hardening can create unfavorable conditions for cellular viability and function. This imbalance, primarily involving fluctuations in calcium and phosphate ion concentrations, is usually well tolerated *in vivo* due to the complexity of the physiological processes. On the other hand, problems may arise in *in vitro* assays, where we are limited by the buffering capacity of the culture medium. To mitigate this issue and enhance physiological relevance, this study investigated the effect of early cell seeding on CPCs. In addition, we wanted to get closer to physiological conditions by using osteoblast-like Saos-2 cells in coculture with endothelial HUVEC cells, which are involved in bone tissue regeneration and interact with each other. We evaluated cell survival, scaffold biocompatibility, and gene expression profiles.

Methodology: CPCs were prepared and molded into cylindrical samples with a diameter of 10 mm. To approximate *in vivo* conditions, Saos-2 cells (50,000 cells/sample) were seeded onto the cement scaffolds shortly after preparation (30 min of hardening in CO₂ incubator). Day after, HUVEC cells were added (25,000 cells/sample). Cell viability was assessed using live/dead staining, and fluorescence microscopy was employed to visualize cell distribution. Furthermore, mRNA was isolated from seeded scaffolds for PCR analysis to evaluate the expression of lineage-specific markers for both Saos-2 and HUVEC cells, providing insight into cellular activity and differentiation potential.

Results: Live/dead staining revealed that both Saos-2 and HUVEC cells survived on CPC scaffolds, indicating favorable biocompatibility despite initial ion imbalance challenges. Microscopic visualization confirmed cell adhesion and distribution across the cement surface. RNA extraction and subsequent PCR analysis successfully identified specific markers associated with osteogenic activity in Saos-2 cells and endothelial function in HUVEC cells, suggesting that the cement environment supported early cellular responses.

Conclusion Injectable CPCs present a promising solution for bone regeneration, but ion imbalance during hardening poses a challenge. This study highlights the potential of early cell seeding as a strategy for more physically relevant *in vitro* studies. We confirmed that cells can survive and continue to proliferate on the scaffold. In future studies, we would like to focus on expanding the co-culture system for bone-resorbing cells (osteoclasts) and further optimizing the model.

Acknowledgement:

This research was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr. NW24-05-00202 and European Developmental Fund – project: Excellence in Regenerative Medicine CZ.02. 01. 01/22_008/0004562.

P-08

POLYSACCHARIDE FREEZE-THAW HYDROGELS DESIGNED FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

Konečná G., Brtníková J., Chamradová I., and Vojtová L.

*Central European Institute of Technology, Brno University of Technology, Purkyňova 123,
612 00 Brno, Czech Republic*

Hydrogels are widely used in biomedical applications due to their high absorption capacity and ability to mimic the extracellular matrix (ECM) supporting cell growth, differentiation, and proliferation. Their preparation involves synthetic or natural polymers, with polysaccharides like carboxymethyl cellulose (CMC) being particularly advantageous due to their biocompatibility, biodegradability, and cost-effectiveness.

This study explores CMC-based hydrogels combined with polyvinyl alcohol (PVA) and the plasticizer to enhance mechanical and viscoelastic properties. The stiffness of the resulting material can be adjusted by varying PVA molecular weight and input component ratios. Additional cross-linking via the freeze-thaw method, which facilitates the formation of junction points in the polymer network, can be further optimized by adjusting the number of cycles.

Low-molecular-weight PVA hydrogels exhibited injectability and adhesion, making them ideal for 3D printing. This study includes the characterization of the physical, chemical, and biological properties of the modified hydrogels and evaluates their suitability for 3D printing applications. Gravimetric stability tests were conducted to identify the most stable modifications, which were subsequently subjected to rheological testing. The goal of this optimization was to develop a hydrogel that not only mimics ECM properties but is also suitable for 3D bioprinting. Artificially prepared matrices could have potential applications as substrates for cell growth monitoring.

Acknowledgements: This work was supported by project No. TN02000017 co-financed with the state support of the Technology Agency of the Czech Republic within the National Center of Competence Program and the European Fund for Regional Development under project number CZ.02. 01. 01/00/22_008/0004562.

CHARAKTERIZACE STRUKTUR KOPOLYMERU PLGA-PEG-PLGA POD KRITICKOU MICELÁRNÍ KONCENTRACÍ: NOVÉ VYUŽITÍ PRO CÍLENOU DISTRIBUCI LÉČIV

Kotouček J.¹, Chamradová I.¹, Kadlecová Z.¹, Petruš J.^{2,3}, Michlovská L.¹, Žídek J.¹, Vojtová L.¹

¹*Středoevropský technologický institut, Pokročilé biomateriály, Vysoké učení technické v Brně*

²*Středoevropský technologický institut, Pokročilé polymerní materiály a kompozity, Vysoké učení technické v Brně*

³*Fakulta chemická, Ústav chemie materiálů, Vysoké učení technické v Brně*

PLGA-PEG-PLGA (Poly(D,L-laktid-co-glykolid)-*b*-poly(ethylenglykol)-*b*-poly(D,L-laktid-co-glykolid)) představuje termosenzitivní amfifilní triblokový kopolymer na bázi biodegradabilního a biokompatibilního kopolymeru poly(laktid-co-glykolid), tvořící hydrofobní složku a poly(ethylenglykolu), tvořícího hydrofilní část polymerního řetězce. PLGA-PEG-PLGA kopolymer je díky svým fyzikálně-chemickým vlastnostem vhodným nosičem pro hydrofilní i hydrofobní léčiva. Klíčovým faktorem v samoorganizaci amfifilních polymerů je kritická micelární koncentrace (CMC). Pod touto koncentrací se běžně předpokládá, že kopolymer existuje ve formě jednotlivých volných řetězců. Naše studie ukazuje, že PLGA-PEG-PLGA může vytvářet organizované struktury i pod CMC, což je v rozporu s klasickým modelem a otevírá nové možnosti pro jeho využití. Pod naměřenou hodnotou CMC (0,04 % w/v) byly pomocí metody dynamického rozptylu světla analyzovány relativně monodisperzní (PDI <0,2) organizované struktury s průměrem okolo 90 nm. Inkorporací fluorescenční sondy DPH byla stanovena jak schopnost těchto struktur enkapsulovat hydrofobní látku, tak i naměřené hodnoty fluorescenční anizotropie sondy, které dosahovaly relativně vysokých hodnot (0,320 – 0,382), což podporuje existenci rigidního, organizovaného prostředí těchto struktur. Pomocí molekulárně-dynamických simulací bylo zjištěno, že molekuly vody jsou silně vázány na rozhraní polymeru. AI model klasifikoval část struktury jako „zamrzlou“, což naznačuje omezenou mobilitu, která pravděpodobně stabilizuje vznikající strukturu. Tyto výsledky naznačují, že PLGA-PEG-PLGA může vytvářet organizované struktury, schopné enkapsulace hydrofobní látky, i při koncentracích pod CMC, čímž se otevírají nové možnosti pro jeho využití v oblasti cílené distribuce léčiv a biomedicínských aplikací.

Poděkování projektu

Tento výzkum byl podpořen Ministerstvem zemědělství České republiky prostřednictvím Národní agentury pro zemědělský výzkum (NAZV) v rámci programu ZEMĚ II, projekt č. QL24010430.

PLGA-PEG-PLGA CORE-SHELL NANOPARTICLES FOR ANTIBACTERIAL ENZYME DELIVERY: A PROMISING APPROACH FOR ENHANCING CALCIUM PHOSPHATE CEMENTS

Kreuzerová M., Tušlová K., Kadlecová Z., Michlovská L., Vojtová L.

CEITEC – Central European Institute of Technology, Brno University of Technology, Advanced Biomaterials, Purkyňova 656/123, 612 00 Brno, monika.kreuzerova@ceitec.vutbr.cz

Fixation of small bone fragments, especially those smaller than 1 cm, remains a challenge in orthopaedic surgery as these pieces are often discarded due to difficulties in stabilization. Calcium phosphate bone cements offer a promising solution for bonding these small fragments back to the bone, due to their biocompatibility and osteoconductivity. However, their mechanical properties and degradation rates can be further optimized by incorporating the triblock copolymer PLGA-PEG-PLGA (poly(lactic-co-glycolic acid)-b-poly(ethylene glycol)-b-poly(lactic-co-glycolic acid)) into the cement formulation. Additionally, to ensure an infection-free healing process, antibacterial enzymes can be added. Encapsulating these enzymes in core-shell nanoparticles enhances their stability and enables gradual release, allowing for targeted antibacterial action at the implantation site.

This study aimed to develop core-shell nanoparticles using PLGA-PEG-PLGA copolymer encapsulating antibacterial enzymes, lysozyme and lysostaphin, for potential incorporation into calcium phosphate bone cement. The nanoparticles were prepared using the double emulsion (W/O/W) solvent evaporation method and characterized using scanning transmission electron microscopy (STEM) to confirm their spherical shape. Stability tests and in vitro release studies revealed that lysozyme-encapsulated nanoparticles maintained stability over 21 days, conversely, lysostaphin-loaded nanoparticles showed stability for only 3 days, followed by destabilization. Antimicrobial testing demonstrated that lysostaphin-loaded nanoparticles retained significant antibacterial activity.

These findings highlight the potential of PLGA-PEG-PLGA core-shell nanoparticles as a promising approach for enhancing the effectiveness of calcium phosphate bone cements in orthopaedic applications. The encapsulation strategy not only improves enzyme stability but also facilitates controlled release, contributing to better infection control and bone healing.

Acknowledgements: This work was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic under project no. NW24-05-00202.

COMPARATIVE ANALYSIS OF DEHYDROTHERMAL CROSSLINKING OF COLLAGEN: INFLUENCE OF VACUUM CONDITIONS AND SUBSEQUENT CHEMICAL CROSSLINKING

Kužma J.¹, Suchý T.¹, Horný L.², Šupová M.¹, Sucharda Z.¹

¹Ústav struktury a mechaniky hornin, AV ČR, Praha

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

Despite advances in diagnostics and treatment, arterial system impairment remains a major social and economic burden. Surgical treatment restores blood flow using bypass or replacement, preferably with autologous materials, though their availability is limited. Prosthetic alternatives have evolved from coated knitted prostheses to collagen and cast types but have three main drawbacks: early closure at low blood flow, high infection risk due to synthetic fibres, and mechanical mismatch with native arteries. Therefore, developing improved prostheses focuses on better low-flow tolerance, reduced thrombogenicity, and biomechanical properties similar to natural vascular tissue. Our project aims to utilize collagen and artificial scaffolds to mimic the mechanical properties of native blood vessels, with a focus on improving circumferential compliance and elasticity, which are highly limited in existing prostheses. One of the ways in which the mechanical properties of the prosthesis can be programmed is by selecting appropriate extrusion parameters of the collagen and its additional crosslinking. In our project, we are primarily concerned with electron beam crosslinking. Dehydrothermal crosslinking (DHT) appears to be another suitable method. This paper summarizes the findings of applying different DHT conditions to a model collagen material, electrospun collagen nanofibers.

DHT crosslinking improves stability and preserves structural integrity without generating toxic byproducts. This study investigated the crosslinking of electrospun collagen using DHT under both atmospheric and vacuum conditions. To assess the time-dependent effects of DHT, exposure durations of up to 72 hours were applied. Following DHT treatment, the collagen was further crosslinked chemically with carbodiimides. The dual-crosslinked material exhibited enhanced mechanical properties, including increased Young's modulus and ultimate tensile strength, as well as reduced swelling and shrinkage during crosslinking. Additionally, it demonstrated greater resistance to degradation compared to collagen crosslinked solely via DHT or carbodiimides. The results indicate that DHT crosslinking modifies different binding sites than carbodiimide-mediated crosslinking. Exposure to atmospheric conditions for up to 12 hours did not significantly affect material properties relative to vacuum-treated samples. However, prolonged air exposure led to material degradation, likely due to reactions that occupied available binding sites, thereby reducing the efficiency of subsequent carbodiimide crosslinking.

Supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr. NW24-02-00206.

METODA MĚŘENÍ MECHANICKÝCH VLASTNOSTÍ 3D TIŠTĚNÝCH PORÉZNÍCH STRUKTUR KOSTNÍHO CEMENTU A APROXIMACE ZÍSKANÝCH DAT K VÝPOČTU VLASTNOSTÍ ZÁKLADNÍHO MATERIÁLU

Menčík P.^{1,2}, Lavrinčíková V.², Skoumal V.², Vojtová L.¹

¹Vysoké učení technické v Brně, CEITEC – Středoevropský technologický institut, Purkyňova 656/123, 612 00 Brno, ČR

²Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Purkyňova 118, 612 00 Brno, ČR

V oblasti regenerativní medicíny tuhých tkání je v dnešní době používáno velké množství materiálů v závislosti na jejich biomedicínských, ale i mechanických vlastnostech. S velkou výhodou je využíváno kostních cementů, které po implantaci do tělního prostředí nemusí sloužit jako náhrada permanentní a zároveň je možné tuto náhradu pomocí 3D tisku vytvarovat do požadované podoby. Pomocí 3D tištěné vnitřní struktury vzniká cementový vzorek budoucího implantátu s definovanou makro a mikro porozitou. Takový systém je však obtížný charakterizovat z pohledu jeho mechanických vlastností a v dnešní době neexistuje ucelená testovací metoda pro charakterizaci porézních cementových systémů. V této práci jsou zjišťovány mechanické vlastnosti strukturovaných vzorků připravených jak z modelového termoplastického polymeru polyakidu, tak i z reálného fosfátového kostního cementu. Mechanickou zkouškou v kompresi byla zjišťována tuhost a pevnost struktury a to pomocí 2 rozdílných zkušebních metod. Dále byl sledován vliv míry porozity na zkoumané mechanické vlastnosti. Z výsledků bylo pozorováno, že metoda mechanického testu v kompresi pomocí hysterezní smyčky poskytuje na obou materiálech porovnatelné hodnoty jako test s lineární deformací, ale s nižší odchylkou měření. Dále bylo zjištěno, že obě měřené veličiny lineárně rostou s rostoucím objemovým zlomkem výplně vzorku. Jelikož je obtížné připravit plné, zcela neporézní testovací těleso, je možné odvodit modul pružnosti a pevnost v tlaku čistého materiálu z hodnot elastického gradientu a pevnosti strukturovaných 3D tištěných vzorků.

Poděkování: Projekt profiBONE (TO01000309) je spolufinancován se státní podporou Technologické agentury ČR v rámci Programu KAPPA a fondů EHP z Islandu, Lichtenštejnska a Norska. Práce byla také podpořena z Evropského fondu pro regionální rozvoj v rámci projektu číslo CZ.02. 01. 01/00/2 2_008/0004562.

“MUSSEL-INSPIRED” SELF-SETTING CALCIUM PHOSPHATE BONE GLUE

Michlovská L.¹, Wirthová M.¹, Krtička M.², Nekuda V.², Plánka L.², Jeklová E.³, Straková P.³, Procházková P.¹, Dinparvar S.¹, Chamradová I.¹, Kotouček H.¹, Vojtová L.¹

¹CEITEC – Central European Institute of Technology, Brno University of Technology, Purkyňova 656/123, 612 00 Brno, lenka.michlovska@ceitec.vutbr.cz

²Department of paediatric surgery, orthopedics and traumatology, The University Hospital Brno

³Veterinary Research Institute, Brno

The aging of the European population is linked to an increased incidence of bone fractures. All treatment methods for broken bones follow one fundamental principle: fractured fragments must be repositioned and kept in place until they heal. However, small fragments, less than 1 cm in size, cannot be fixed using conventional methods. Our research team has developed an injectable, ‘self-setting’ calcium phosphate bone glue, modified with a natural ‘mussel-inspired’ adhesive based on catecholamines and amino acids. These natural adhesives significantly enhance the injectability and rheological properties of the prepared bone paste. These properties are crucial for both the processing time and the successful application to the bone defect.

This work was focused on the synthesis of a (poly(lactic-co-glycolic acid)-*b*-poly(ethylene glycol)-*b*-poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA-PEG-PLGA) triblock copolymer and the optimization of the chemical bonding of dopamine to the copolymer. Both the effect of chemical modification and the addition of additives on the rheological properties of cement pastes and the transformation of calcium phosphate to calcium-deficient hydroxyapatite were monitored.

The optimized bone cement composition was used for ex vivo testing on sheep ulnas. The morphology and structure of the material after hardening in cell medium were also examined using scanning electron microscopy and microCT.

Acknowledgements: This work was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic under project no. NW24-08-00367.

ADVANCES IN SKIN REGENERATION: DEVELOPMENT OF A MULTILAYERED FOURTH-GENERATION SCAFFOLD FOR ENHANCED WOUND HEALING

Pavlišáková V.¹, Izsák D.¹, Lipový B.^{1,2}, Knoz M.³, Smolnická A.⁴, Faldyna M.⁵, Jeklová E.⁵, Kolísková P.⁶, Buchtová M.⁶, Koutná I.^{4,7}, Vojtová L.¹

¹CEITEC – Central European Institute of Technology, Brno University of Technology, Advanced Biomaterials, Brno

²Department of Burns and Plastic Surgery, Institution Shared with University Hospital Brno, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

³Clinic of plastic and esthetic surgery, St Anne's University Hospital, Brno

⁴Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

⁵Veterinary Research Institute, Brno

⁶Institute of Animal Physiology and Genetics, The Czech Academie of Science, Brno

⁷Cell and Tissue Engineering Facility, International Clinical Research Center, Brno

This research focuses on the development of a multilayered fourth-generation scaffold designed to replicate the structure and function of natural skin. As the body's largest organ, the skin serves as a crucial barrier against external elements and pathogens, comprising three main layers: the epidermis, dermis, and hypodermis. The epidermal layer was engineered using fully-degradable amphiphilic nanofibers composed of gelatin, polycaprolactone, and oxidized cellulose nanofibers, while the dermal and hypodermal layers were constructed from a 3D porous scaffold made from biocompatible collagen type I and antimicrobial chitosan, with variations in thickness to reflect their respective roles. These layers were crosslinked and thoroughly characterized using advanced physicochemical techniques.

To enhance functionality, the dermis- and hypodermis-like scaffolds were seeded with human mesenchymal stem cells (MSCs) differentiated into fibroblasts and preadipocytes. Additionally, isolated human keratinocytes were applied to the surface of skin substitutes. Our experimental approach includes testing six variations of cellular skin substitutes—ranging from dermal layers alone to combinations of dermis and hypodermis with keratinocytes—both *in vitro* and *in vivo* using pig animal model. Histological analyses were conducted to evaluate these constructs against vital skin samples and scaffolds without cells, employing immunohistochemistry staining to assess layer distribution.

Currently, we are advancing to the next phase of our study, which involves incorporating both fibroblast growth factors and differentiated MSCs into our biomaterials. Preliminary results indicate that skin substitutes enriched with growth factors exhibit superior biological activity in promoting neovascularization.

This research represents a significant advancement in improving local care for patients with thermal trauma and extensive skin injuries, aiming to enhance their quality of life through innovative skin substitute technologies.

Acknowledgements

This study was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic, grant Nr. NU22-08-00454, as well as by the European Fund for Regional Development under project Nr. CZ.02. 01 . 01/00/22_008/0004562.

MECHANICKÉ HODNOCENÍ ADHEZE INJEKČNĚ APLIKOVATELNÉHO KOSTNÍHO CEMENTU: VLIV FYZIOLOGICKÝCH ROZDÍLŮ A CHOVU PŘI *ex vivo* PULL-OUT TESTECH

Sedláček R.¹, Kubášová K.¹, Drátovská V.¹, Kratochvíl A.¹, Suchý T.¹, Vojtová L.², Michlovská L.², Wirthová M.², Kotouček J.², Procházková P.², Jeklová E.³, Straková P.³, Plánka L.⁴, Nekuda V.⁴, Krtička M.⁴

¹ *Fakulta strojní, České vysoké učení technické v Praze, Praha*

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

³ *Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno*

⁴ *Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno*

Zlomeniny patří mezi nejčastější poranění kostí. Všechny způsoby léčby zlomenin vycházejí z principu, kdy fragmenty musí být správně umístěny a znehybněny až do zhojení. U tříštivých nitrokloubních zlomenin však malé úlomky nelze běžně fixovat. Námi řešený projekt zkoumá možnost použití injektovatelného resorbovatelného kostního lepidla, které by po vytvrdnutí spolu s vnitřní fixací umožnilo okamžité zatěžování poraněné končetiny. Vyvinuté fosforečnanové cementy (CPC) jsou biokompatibilní, biodegradabilní a injektovatelné, čímž překonávají nevýhody běžně používaného PMMA.

V první fázi projektu se zabýváme hodnocením adhezních vlastností CPC, který je obohacený různými pojivy. Pro testování adheze využíváme tzv. pull-out testů, při kterých v kosti pomocí CPC fixujeme válcový modelový kovový implantát, jenž je po vytvrzení CPC vytahován. Tahové zkoušky jsou prováděny na 3D tištěných titanových implantátech (průměr 4 mm, délka 8 mm) s předpokladem dokonalého spojení CPC s implantátem. Pro testování využíváme zařízení MTS Mini Bionix 858.02 (USA) s hydraulickými čelistmi a speciálním přípravkem pro tahovou zkoušku. Implantáty jsou extrahovány konstantní rychlostí 10,0 mm/min, přičemž hodnocenými parametry jsou tahová síla, smykové napětí, vysunutí při porušení a efektivita adheze.

Pro *ex vivo* testování využíváme kosti získaných z kadaverů pokusných zvířat (prase) z již ukončených pokusů, jejichž odběr je schválen příslušnou etickou komisí. Část kostí je průběžně získávána také z běžně dostupných zdrojů, tedy jatek nebo přímo řeznictví. Často jde tedy o materiál, který by nebyl dále nijak využit. Vzhledem k anatomickým a fyziologickým odlišnostem jednotlivých zvířat je však nutné uvážit rozdíly, které by mohly zásadně ovlivnit výsledky získané v testech, které v rámci optimalizace CPC provádíme průběžně. Jde především o rozdílnou porozitu a strukturu spongiózní kosti, danou jak fyziologickými parametry zvířete, tak umístěním odebíraného vzorku. Svojí roli hraje také obsah tuku, který se zásadně liší u pokusných a jatečných zvířat. Proto jsou místa pro odběr vzorků běžně randomizována do skupin, na které jsou aplikovány jednotlivé modifikace CPC. Pro vzájemné porovnání výsledků z testů prováděných na kostech odebraných z různě chovaných zvířat je potom zcela klíčové zařazení kontrolního materiálu. Pro tento účel využíváme dva typy kontrol, jednak základní nemodifikovaný typ CPC a dále komerční PMMA cement (Refobacin).

V tomto příspěvku jsou shrnuty výsledky z ročního testování různých modifikací základního CPC cementu. Mimo posouzení adhezních vlastností ve srovnání s běžně užívaným nedegradovatelným PMMA cementem, je diskutováno srovnání fyziologických a chovných odlišností zvířat, ze kterých byly průběžně získávány kostní vzorky.

Poděkování projektu: Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR č. NW24-08-00367.

DEVELOPMENT OF *in vitro* LUNG MODEL FOR INHALATIONAL DRUG DELIVERY RESEARCH

Slaninová K., Vyhřídálová L., Lizoňová D.

Department of Chemical Engineering, University of Chemistry and Technology Prague, Chemical Robotics Laboratory

Inhalational drug delivery is a preferred method for treating respiratory diseases, as the lungs offer large surface area and minimal biological barriers for drug absorption. This route is beneficial also for systemic drugs as it bypasses the first-pass effect in liver, reducing the required dosage and enhancing bioavailability. However, preclinical testing often involves animal models, leading to ethical concerns and suffering due to the lack of effective *in vitro* alternatives for evaluating drug safety. A promising solution lies in advanced lung cell culture models that can be used during preclinical studies, offering a controlled environment for drug testing.

In this study, we developed a monoculture model of alveolar cells cultured on transwell inserts, which divide the culture space into apical and basolateral compartments. The apical compartment can be exposed to air, mimicking the exposure of human lungs to inhaled air, while the basolateral side remains in contact with culture medium. Additionally, the model can incorporate endothelial cells on the underside of the insert, simulating the blood-air barrier. We used the A549 human lung carcinoma cell line, a model for type II pneumocytes, to form a confluent monolayer on the apical side of polycarbonate membranes (4.2 cm² area, 0.4 μm pores). The cells were cultured under submerged conditions and assessed for monolayer formation. Optimal seeding density of 100,000 cells/cm² led to confluence on Day 3, at which point cells were exposed to air for continued culture to Day 7 (**Figure 1 B**).

For cellular characterization, cells were fixed with 4% formaldehyde, permeabilized with cold 70% ethanol, and stained with Hoechst (blue – for nuclear visualization, λ_{ex} = 405 nm, emission 430-470 nm) and Texas Red (red – for cytoskeletal structure, λ_{ex} = 561 nm, emission 605-700 nm) between Days 1 and 3. Confocal microscopy was used to acquire high-resolution images of the stained cells, providing information of monolayer formation (**Figure 1 A**). On Day 7 (after 3 days at ALI), the cell were fixed with 4% formaldehyde, permeabilized with 0.1% Triton X-100 and stained for Zonula Occludens-1 (ZO-1, green – λ_{ex} = 488, emission 505-605 nm) a key protein at tight junctions. Preliminary results indicate that ALI conditions supported cell viability and differentiation, with ZO-1 staining suggesting the formation of tight junctions between adjacent cells (**Figure 1C**).

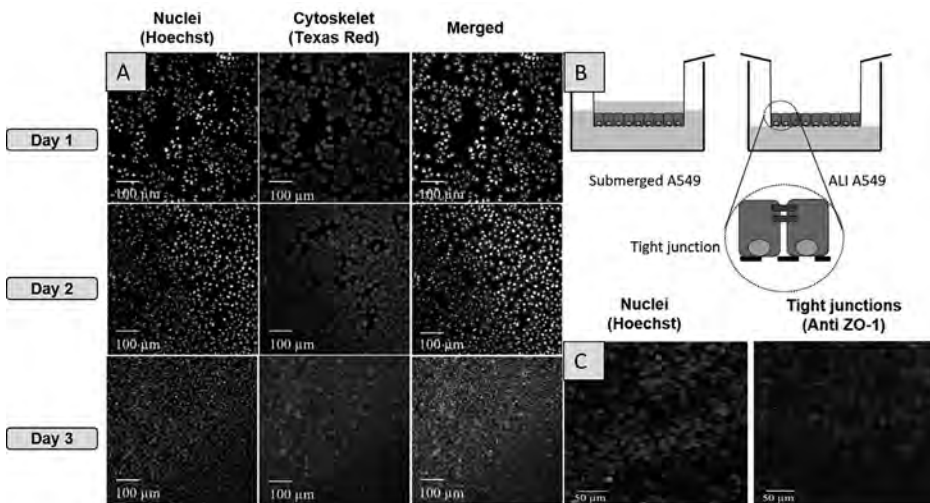


Figure 1. A) Confocal microscopy: formation of confluent monolayer of A549 on membrane of the insert (blue – nuclei, red – cytokelet, merged picture). B) The set up of submerged and ALI culture of A549 on the insert, with illustration of tight junctions forming between adjacent cells. C) Confocal microscopy: presence of tight junctions between cells after culturing A549 at ALI for 3 days (blue – nuclei, green – ZO-1).

Future studies will focus on optimizing tight junction formation, examining the effects of corticosteroids (e.g., dexamethasone) on cell differentiation, and investigating drug permeability using nanocrystals in this model. Additionally, we plan to study the formation of lung surfactant and explore co-culture systems with endothelial cells and macrophages to further replicate the complexity of the lung environment.

- [1] Klein, S.G., Serchi, T., Hoffmann, L. et al. An improved 3D tetra-culture system mimicking the cellular organisation at the alveolar barrier to study the potential toxic effects of particles on the lung. *Part Fibre Toxicol* 10, 31 (2013). <https://doi.org/10.1186/1743-8977-10-31>
- [2] Wu, J., Wang, Y., Liu, G., Jia, Y., Yang, J., Shi, J., ... & Liu, X. (2017). Characterization of air-liquid interface culture of A549 alveolar epithelial cells. *Brazilian journal of medical and biological research*, 51.
- [3] Wang, G., Zhang, X., Liu, X., & Zheng, J. (2020). Co-culture of human alveolar epithelial (A549) and macrophage (THP-1) cells to study the potential toxicity of ambient PM2. 5: a comparison of growth under ALI and submerged conditions. *Toxicology Research*, 9(5), 636-651.

VIBRAČNÍ SPEKTROSKOPIE PRO KONTROLU KVALITY KOSTÍ

Sobola D.^{1,2}, Luptáková N.¹, Mazánová V.¹, Jarý M., Dlouhý A.¹

¹Ústav fyziky materiálů AV ČR, v. v. i., Žitkova 513/22, 616 00 Brno, Česká republika

²CEITEC – Central European Institute of Technology, Žerotínovo nám. 617/9, 601 77 Brno, Czech Republic

Abstrakt

Charakteristiky a kvantifikace infračerveného a Ramanova spektra poskytují podrobné informace o zralosti kostní tkáně s vysokým mikrometrovým prostorovým rozlišením. Tyto spektroskopické metody umožňují analyzovat chemické složení a strukturní uspořádání kostních minerálů a organických složek, což přispívá k hlubšímu pochopení procesu osifikace a remodelace kostí.

Oblast zkoumání zahrnuje lebeční kost a navigační šrouby z oceli AISI 304, které byly implantovány za účelem provedení termolýzy thalamu a ponechány v kostní tkáni po dobu 42 let. Tento experimentální model poskytuje příležitost studovat interakce mezi kostní tkání a kovovým implantátem, zejména na úrovni rozhraní. Byly detekovány jak organické (kolagenová vlákna, proteiny) tak anorganické složky (hydroxyapatit, karbonáty) kosti na rozhraní, což umožnilo následné vyhodnocení rozložení fononů v celé zkoumané oblasti.

Kvalitativní analýza ukázala nižší mineralizaci kostí v blízkosti implantátu. V této studii bylo pozorováno zpoždění v mineralizačním procesu, pravděpodobně v důsledku vlivu kovového materiálu na lokální metabolismus kosti. Tento jev může být spojen s rozdíly v biomechanických vlastnostech a s chemickými interakcemi na povrchu rozhraní. Kromě poměru organických a anorganických složek byla rychlejší míra remodelace podpořena zvýšeným poměrem karbonát/fosfát, což naznačuje aktivní přestavbu kostní hmoty v okolí implantátu. Tento parametr je klíčový pro hodnocení dynamiky kostní výměny a může být použit jako indikátor rychlosti adaptace kosti na přítomnost cizího materiálu. Dále výsledky naznačují, že na molekulární úrovni dochází k redistribuci fosfátových skupin, což ovlivňuje krystalickou strukturu hydroxyapatitu a následně i mechanickou odolnost kosti.

Klíčové slova: Ramanova spektroskopie, Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací, vibrační spektra, zralost kostí, kolagen, hydroxyapatit

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem „Mechanical Engineering of Biological and Bio-inspired Systems“, financovaným jako projekt č. CZ.02. 01. 01/00/22_008/0004634 Programem Johannes Amos Comenius, pod názvem Excelentní výzkum. Explantované navigační šrouby a navazující kostní tkáň byly poskytnuty k analýzám v rámci spolupráce s Neurochirurgickou klinikou dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol. Autoři děkují výzkumné infrastruktuře Czech-NanoLab za podporu poskytnutou MEYS CR (LM2023051).

HYPERGLYKEMICKÉ PODMÍNKY V MODELU CHRONICKÉ RÁNY

Sovková V.¹, Ročková V.^{1,2}, Filová E.¹¹Oddělení tkáňového inženýrství, Ústav experimentální medicíny AV ČR, v. v. i., Praha²Katedra fyziologie, Přírodovědecká fakulta, Karlova Univerzita, Praha

Hyperglykemie, tedy zvýšená hladina glukózy, má významný vliv na buněčné procesy v in vitro podmínkách¹. Studie in vitro se používají k modelování vlivu hyperglykemie na různé typy buněk a tkání^{2,3}. Cílem těchto studií je pochopit mechanismy, kterými hyperglykemie ovlivňuje buněčnou aktivitu, expresi proteinů a celkovou funkci buněk.

Vliv glukózy na metabolickou aktivitu a proliferaci buněk HaCaT a nHDF byl hodnocen pomocí MTS, PG a Live/Dead esejí. Buňky HaCaT byly nasazeny v hustotě 18750 buněk/cm² a buňky nHDF v hustotě 12500 buněk/cm². Experimentální skupiny zahrnovaly (1) 0 mM glukózy (kontrola), (2) 2.5 mM glukózy, (3) 5 mM glukózy, (4) 25 mM glukózy, (5) 50 mM glukózy a (6) 100 mM glukózy. Metabolická aktivita a proliferace byly sledovány v experimentální dny 1, 3, 6 a 8.

U buněk HaCaT byla metabolická aktivita i proliferace významně snížena u skupin s vyšší koncentrací glukózy (50 mM, 100 mM) oproti kontrolní skupině bez glukózy. Metabolická aktivita byla nejvyšší třetí den experimentu, poté ve všech skupinách postupně klesala. Metabolická aktivita a proliferace HDFn byla významně nižší u skupiny s nejvyšší koncentrací glukózy oproti kontrole bez glukózy.

Vyšší koncentrace glukózy negativně ovlivnila HaCaT i HDFn. Pro další experimenty bude vytvořena ko-kultura HaCaT a nHDF a bude analyzována nejslibnější koncentrace glukózy.

- (1) Mateen, M.A.; Alaagib, N.; Haider, K. H. High Glucose Microenvironment and Human Mesenchymal Stem Cell Behavior. *World J Stem Cells* **2024**, *16* (3), 237–244. <https://doi.org/10.4252/WJSC.V16.I3.237>.
- (2) Khapchaev, A. Y.; Antonova, O. A.; Kazakova, O. A.; Samsonov, M. V.; Vorotnikov, A. V.; Shirinsky, V. P. Long-Term Experimental Hyperglycemia Does Not Impair Macrovascular Endothelial Barrier Integrity and Function in Vitro. *Biohimia* **2023**, *88* (8), 1378–1391. <https://doi.org/10.31857/S0320972523080079>.
- (3) Pálóczi, J.; Paál, J.; Kiss, B.; Rhoden, A.; Varga, Z. V.; Ferdinandy, P.; Eschenhagen, T.; Görbe, A. Organ-Specific Model of Simulated Ischemia/Reperfusion and Hyperglycemia Based on Engineered Heart Tissue. *Vascul Pharmacol* **2023**, *152*, 107208–107208. <https://doi.org/10.1016/J.VPH.2023.107208>.

Tato práce byla podpořena MŠMT projektem OP JAK Excelentní výzkum v regenerativní medicíně CZ.02. 01. 01/00/22_008/0004562.

OPTIMALIZACE MĚŘENÍ UVOLŇOVÁNÍ INKORPOROVANÉ BIOAKTIVNÍ LÁTKY Z PVA NANOVLÁKENNÝCH VRSTEV

Strnadová K., Lisnenko M., Šatava Š., Hauzerová Š., Jenčová V.

Katedra chemie, Oddělení bioinženýrství, Technická univerzita v Liberci, Liberec

Inkorporace bioaktivních látek do tkáňových nosičů má v tkáňovém inženýrství velký význam. Lze jím upravovat biokompatibilitu materiálu, postupně uvolňovat léčiva nebo antibakteriální látky na místo určení. Analýza uvolňování inkorporovaných látek je tak zásadní pro použití těchto materiálů v praxi. V rámci této práce jsme se zaměřili na optimalizaci měření a vyhodnocování uvolňování aktivní látky z PVA nanovláčkových materiálů. Vzhledem k tomu, že tyto materiály nebyly teplotně stabilizovány, dochází během prvních pár dní nejprve k bobtnání materiálu a poté k postupnému rozpuštění, a tudíž k úplnému uvolnění aktivní látky. Proto je důležité optimalizovat odběry vzorků tak, aby nedocházelo k ovlivnění výsledků vlivem metodiky odběru vzorků. V rámci těchto experimentů byl porovnáván primárně vliv stáčení vzorku před samotným odběrem, protože se materiál brzy po započetí experimentu rozpadá na miniaturní fragmenty, které je velmi snadné odebrat se vzorkem, což vnáší chybu do vyhodnocování uvolňování inkorporované látky. Druhým zkoumaným faktorem bylo doplňování pufru po odběru na konstantní objem během celého experimentu. Z vyhodnocených dat vyplývá, že stáčení vzorku před odběrem má zásadní vliv na průběh uvolňovací křivky u vzorků vyrobených z PVA. Během experimentu nedochází k neodůvodněnému kolísání dat a uvolňovací křivky odpovídají reálným předpokladům chování uvolňování bioaktivní látky z vodorozpustných polymerů. Co se týče doplňování pufru po odběru na konstantní objem, tak pouhé odebrání vzorku má za následek především zjednodušení výpočtu, a tudíž snížení procesní chyby při vyhodnocování.

Autoři tímto děkují finanční podpoře projektu Ministerstva zdravotnictví – projekt č. NW24-08-00073.

ZVÝŠENÍ ADHEZE INJEKTOVATELNÉHO RESORBOVATELNÉHO KOSTNÍHO CEMENTU POMOCÍ DOPAMINU

Suchý T.¹, Sedláček R.¹, Hrušková B.¹, Kotrč T.¹, Vojtová L.², Michlovská L.², Fulín P.³

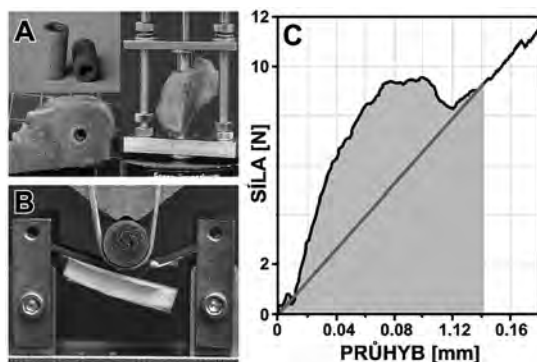
¹Fakulta strojní, České vysoké učení technické v Praze, Praha

²CEITEC, Vysoké učení technické v Brně

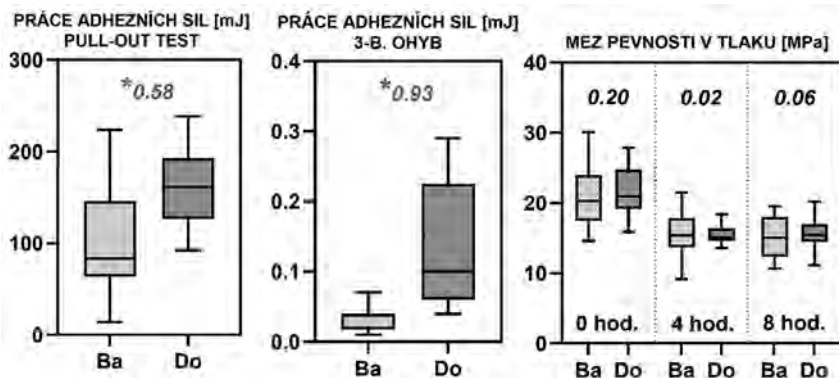
³1. ortopedická klinika, 1. LF UK a FN Motol, Praha

Úvod: Infekce a osteomyelitida představují náročné komplikace při léčbě kostních traumat. Aplikace polymethylmetakrylátu s antibiotickou náplní, který se široce používá například při dvoufázových revizích infikovaných kloubních náhrad, s sebou nese značné nevýhody, včetně nerozložitelnosti, omezené osteointegrace a omezeného uvolňování antibiotik. Naš projekt se zaměřuje na vývoj biodegradabilního injekčně aplikovatelného polymerního/kalcium fosfátového cementu pro léčbu kostních defektů a primární fixaci implantátů. Kompozitní cement je obohacen o přísady (biologické kopolymery, antibiotika, enzymy), které zlepšují prevenci zánětu a také adhezi, a to při zachování jeho mechanických vlastností a rozložitelnosti. Tato studie zkoumá účinky modifikace cementu se zaměřením na adhezi a mechanické vlastnosti během degradace na příkladu modifikace dopaminem.

Metody: Biologicky odbouratelný cement (Ba) je založen na tixotropním kopolymeru a tri-kalciumfosfátu [1]. Pro zvýšení adhezních vlastností byl do Ba přidán dopamin (Do) [2]. Vliv na adhezi byl ověřován dvěma typy testů na modelových vzorcích titanu (Ti6Al4V) simulujících implantát. Při pull-out testech byly použity válcové vzorky (4x8 mm), které byly fixované cementem ve spongióze (*ex vivo*, prase; Obr. 1 A) a po jeho vytvrzení vytahovány. Práce adhezních sil byla hodnocena jako plocha pod křivkou síla-posun. Cementy byly dále vytvrzeny ve tvaru kvádrů (25x5x5 mm) na plochých vzorcích (50x10x1 mm) a práce adhezních sil při tříbodovém ohybu (Obr. 1 B) byla hodnocena jako plocha pod křivkou síla-posun (Obr. 1C; žlutá plocha) po odečtení práce spotřebované při ohybu kovovým podkladem (Obr. 1C; šedá plocha). Tato zkouška vychází z normy (EN 1966:2022) původně používané pro strukturní lepidla. Vliv na mechanické vlastnosti byl dále ověřen kompresní zkouškou během zrychlené biodegradace simulující osteoklastickou lýzu (0-8 hodin, pH ~2,2) [3].



Obr. 1: Znárodnění zkoušek použitých pro stanovení míry adheze cementů.



Obr. 2: Výsledky mechanických testů (* $p < 0,05$ Mann-Whitneyho oboustranný test, velikost věcného účinku číselně: koeficient pořadové biseriální korelace; lze interpretovat obdobně jako Pearsonův korelační koeficient).

Výsledky: Přídavek dopaminu do základního cementu zvýšil práci adhezních sil (medián) v případě pull-out testů přibližně o 93 % a v případě zkoušek ohybem téměř o 400 %. Přídavek dopaminu zároveň neovlivnil mechanické vlastnosti cementu při zatěžování v tlaku. Zjištěné rozdíly mezi mezními pevnostmi v různých dobách urychlené degradace se pohybují pouze v jednotkách procent.

ZÁVĚRY: Přídavek malého množství dopaminu může být vhodným způsobem zvýšení adheze kostního cementu, ale zároveň neovlivňuje jeho mechanické vlastnosti a degradaci. Ty jsou nezbytné pro klinické aplikace jako výplň kostních defektů nebo pro dočasnou fixaci implantátů. V naší studii bude účinek modifikací účinnými látkami dále ověřován.

REFERENCE:

- [1] L. Vojtová et al. (2019) Int. J. Mol. Sci., 20: 391.
- [2] M. Krtička et al. (2021) J. Mech. Behav. Biomed. Mater., 115:104249.
- [3] A. Diaz-Escudero et al. (2017) Acta Biomater., 60:81-92.

Poděkování projektu: Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NW24-05-00202.

SYNTÉZA KONTRASTNÍCH LÁTEK PRO MĚŘENÍ PH POMOCÍ MAGNETICKÉ REZONANCE

Šrolerová T.^{1,2}, Tichý A.^{1,3}, Kotek J.²

¹ Stomatologická klinika, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

² Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha

³ Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Magnetická rezonance (MRI) je nepostradatelnou neinvazivní zobrazovací metodou, která využívá kontrastních látek, jež umožňují snadnější a přesnější diagnostiku. Nejčastěji se jedná o makrocyclické ligandy schopné vázat paramagnetické ionty kovů lanthanoidů za vzniku kineticky inertních a termodynamicky stabilních komplexů. Spojitost změny pH tkáně s nádorovým bujením pak otevírá dveře pro zcela nový typ kontrastních látek použitelných v 31P MRI.

Tato práce se zabývá syntézou a studiem zcela nových molekul odvozených od známého ligandu DOTP a jejich komplexů s paramagnetickými ionty Eu³⁺ a Yb³⁺ s potenciálem velké změny chemického posunu v 31P NMR spektrech v závislosti na pH. Připravené nové deriváty obsahují dvě různé dvojice pendantních skupin, vždy vzájemně v protějších polohách makrocyclicku. Konkrétně se jedná o látku s P–H fosfinátovou skupinou (DO2P2PH), fenylovou skupinou (DO2P2PPh) a trifluorethylovou skupinou (DO2P2Ptfe).

Ligandy a jejich komplexy byly charakterizovány pomocí NMR spektroskopie, provedena byla také relaxometrická měření a dále pH NMR titrace. Analýza ³¹P NMR spekter potvrdila očekávanou pH závislost chemických posunů pendantních ramen obsahujících atom fosforu. Hodnoty pK_a studovaných komplexů jsou však příliš nízké (cca 5,3) a pozorovaná změna v rozdílech chemických posunů měřených signálů tak pokrývá oblast pH cca 4–7, což je mimo fyziologickou oblast pH. Připravené komplexy proto nelze přímo využít v 31P MRI, nicméně získané poznatky přinesly významný proof of principle a jsou dobrým odrazovým můstkem pro design a studium příbuzných systémů.

HODNOCENÍ KONTAKTU KOST-IMPLANTÁT U KOVOVÝCH IMPLANTÁTŮ: POROVNÁNÍ 2D HISTOLOGICKÉHO A 3D MIKRO-CT PŘÍSTUPU

Vistejnova L.^{1,2}, Kindermann M.¹, Klein P.¹, Hanak F.³, Durica D.³, Kral R.⁴, Minarik P.⁴, Svoboda M.⁵, Benes J.⁵, Lunackova J.⁶, Bartos M.⁶, Mik P.², Dolejšova M.¹, Kolinko Y.², Havlas V.³

¹Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

²Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

³Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie 2. LF UK a FN Motol

⁴Matematicko-fyzikální fakulta Univerzity Karlovy

⁵Nové technologie – výzkumné centrum Západočeské univerzity v Plzni

⁶Stomatologická klinika a 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy

Kovové kostní implantáty vyžadují pro optimální a dlouhodobou funkci dostatečný kontakt kosti a implantátu (bone-implant contact, BIC). BIC, definovaný jako procento povrchu implantátu v přímém kontaktu s kostní tkání, je kritickým parametrem ovlivňujícím stabilitu implantátu a funkční setrvání v tkáni. Tradiční histologické metody hodnotí BIC ve 2D zobrazení měřením délky rozhraní kost-implantát podél jedné nebo více rovin řezu a jejím dělením celkovým obvodem implantátu v těchto příslušných rovinách. Naproti tomu mikro-CT analýza umožňuje hodnocení BIC ve 3D a nabízí přesnější zhodnocení kontaktu kost-implantát po celém povrchu implantátu.

Tato studie porovnávala in vivo účinek komerčně dostupné slitiny Mg-Y-RE-Zr (MAGNEZIX®) se třemi experimentálními biologicky odbouratelnými slitinami na bázi Mg-Y-(Li) zpracovanými různými technikami plastické deformace. Slitiny byly implantovány ve formě šroubů a pinů do stehenních kostí potkanů po dobu 6 měsíců. 3D-BIC byl vyhodnocen pomocí micro-CT s velikostí voxelu ~ 6 µm (Xradia 400), poskytující podrobné 3D informace o rozhraní mezi implantátem a okolní kostí (segmentace obrazu a analýza dat v AVIZO). Pro posouzení přesnosti 2D histologických metod byl z kostních výbrusů hodnocen 2D-BIC (Stereologer, SRC Biosciences).

Výsledky kvantitativně posuzují variabilitu hodnot 2D-BIC v různých histologických rovinách a popisují, do jaké míry hodnoty 2D-BIC z jedné roviny kostního výbrusu přesně reprezentují celkový 3D-BIC. Studie kriticky hodnotí přesnost a omezení tradičních 2D histologických metod pro hodnocení BIC v biodegradabilních kovových implantátech. Výsledky studie přispějí k přesnějšímu pochopení faktorů ovlivňujících vznik a remodelaci peri-implantátové kosti a budou vodítkem pro vývoj účinnějších kostních implantátů na bázi kovu či podpoří zavádění přesnějších kvantifikačních technik.

Podpořeno projektem Biodegradable (OP JAK; reg. č. CZ.02. 01. 01/00/23_020/0008512) – spolufinancováno Evropskou unií a státním rozpočtem České republiky a Agenturou pro zdravotnický výzkum Ministerstva zdravotnictví, projekt číslo NU20-08-00150.

OPTIMALIZACE IZOLACE A KULTIVACE DPMSC ZÍSKANÝCH ZE ZUBNÍ PULPY TERAPEUTICKY EXTRAHOVANÝCH STÁLÝCH ZUBŮ

Voltrová B.¹, Hefka Blahnová V.¹, Filová E.^{1,2}

¹ Oddělení tkáňového inženýrství, Ústav experimentální medicíny AVČR, v. v. i., Praha

² 2. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Extrahované zuby v rámci terapeutického ošetření představují dostupný zdroj lidských mezenchymálních kmenových buněk (hMSC). Výhodou hMSC získaných z dentální pulpy (dpMSC) je zejména nižší věk pacientů a dostupnost v porovnání s hMSC z kostní dřeně.

V této studii jsme úspěšně izolovali dpMSC z třetích molárů dárců ve věku 20-34 let. Při izolaci jsme použili o polovinu nižší koncentraci enzymů (kolagenáza I, dispáza II) než je běžné a zkrátily jsme dobu jejich působení. Msc. fenotyp izolované populace buněk byl otestován na průtokovém cytometru a potvrdili jsme diferenciační potenciál těchto buněk v podmínkách *in vitro*. Důležitou součástí studie bylo také testování izolovaných buněk na přítomnost mykoplazmat metodou PCR, neboť infekce mykoplazmaty vede k falešným výsledkům a nereprodukovatelným vědeckým datům.

V rámci této práce jsme pro kultivaci dpMSC využili 5% destičkový lyzát (DL) připravený z trombocytárních koncentrátů. Optimalizovali jsme také kultivační podmínky dpMSC snížením množství heparinu přidávaného jako prevence srážení fibrinu z běžně používaných 2 UI/ml na 0,7 UI/ml kultivačního média s 5% DL.

DpMSC mohou být izolovány ze zubů zdravých dárců různého věku a pohlaví. Reprezentují tak snadno dostupný zdroj kmenových buněk, který otevírá nové možnosti v regenerativní medicíně a *in vitro* modelech.

Projekt byl podpořen MŠMT – operačním programem Jan Amos Komenský, projekt „Excelentní výzkum v regenerativní medicíně“, č. CZ.02. 01. 01/00/22_008/0004562.

Děkujeme MDDr. M. Karlíčkoví a jeho týmu za spolupráci při odběru extrahovaných zubů.

P-24

METODIKA PŘÍPRAVY PREPARÁTŮ PRO HISTOLOGICKÉ A JINÉ ANALÝZY NEJEN V ZUBNÍM LÉKAŘSTVÍ

Vrbová R., Šrolerová T., Janatová T., Roubíčková A.

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

Histologická analýza či analýza v transmisním optickém nebo skenovacím elektronovém mikroskopu má velký význam při hodnocení strukturních prvků tkání a jejich interakcí s cizorodým materiálem přítomným v těle. Výstupy těchto analýz napomáhají k optimalizaci vlastností nově vyvíjených biomateriálů, k hodnocení reakcí tkání na materiály komerčně využívané v klinické praxi, případně mají edukativní přínos.

Tento příspěvek má za cíl ukázat postup zpracování různého biologického materiálu do podoby tenkých řezů (výbrusů), bez procesu dekalifikace. Jedná se o metodiku zahrnující počáteční fixaci daného biologického materiálu, fázi odvodnění a následné prosycení a zalití do média na bázi methylmethakrylátu. Metodická část zahrnuje popis přípravy vlastních tenkých řezů s využitím pomaluběžné laboratorní pily opatřené podiamantovaným řezným kotoučem, z níž jsou získané tenké plátky dále postupně zbrušovány a leštěny do finální tloušťky přibližně 50 μm vhodné pro pozorování v procházejícím světle. Rovněž je popsána metodika barvení a ukázány snímky finálních preparátů tkání a biomateriálů různého původu.

Tato studie byla podpořena programem Cooperatio 207030 Dental Medicine/LF1.

X-RAY DIFFRACTION INVESTIGATION OF CALCIUM PHOSPHATE CEMENT MODIFIED WITH BIOGENIC ADDITIVES FOR BONE REGENERATION

Wirthová M., Michlovská L., Vojtová L.

*CEITEC – Central European Institute of Technology, Brno University of Technology,
Advanced Biomaterials, Brno*

Calcium phosphate cement (CPC) has been considered a promising material for bone tissue engineering over the past few decades, owing to its resorbability, biocompatibility, and its potential to aid in bone regeneration. CPC is formed by mixing a powder phase with an aqueous solution, creating a paste with self-setting properties, which makes it a hydraulic cement. Various substances can be added to the CPC to modify and improve its chemical, physical, and biological properties. The focus of our interest has become a phosphorylated biogenic amino acid metabolite found in human biofluids, which can significantly affect the CPC's self-setting rate, accelerate its degradation, and enhance mechanical properties.

Our developed CPC, consisting of tricalcium phosphate powder and a thermosensitive biodegradable copolymer, was prepared, modified with biogenic compounds, tested and optimized. The proper amount of additive is crucial for the handling, injection and structure of the fresh paste. Even a slightly higher amount of additive causes a rapid decline in the paste's workability and leads to its disintegration.

To investigate the structural properties of the cement, continual X-ray diffraction was employed for observation of the conversion of tricalcium phosphate to calcium-deficient hydroxyapatite. The materials were continuously tested from the early stages to see the first minutes of setting up to the certain setting time. The presence of biogenic amino acid metabolites could prevent the cement paste from forming hydroxyapatite crystals and cause crystalline tricalcium phosphate transition to an amorphous state. The effects of biogenic metabolite additives play a key role in the behavior of fresh cement paste and the conversion of tricalcium phosphate.

Acknowledgements

This study was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic under project no. NW24-08-00367 and CzechNanoLab Research Infrastructure supported by MEYS CR (LM2023051).

FIREMNÍ PŘEDNÁŠKY

SNADNÁ A DOSTUPNÁ ANALÝZA BUNĚK PRO INTELIGENTNÍ LABORATOŘ BUDOUCNOSTI: DIGITÁLNÍ ZOBRAZOVACÍ SYSTÉM MILLICELL DCI V AKCI

Kukla S.

Merck Life Science spol. s r.o., Na Hřebenech II 1718/10, Praha, stanislav.kukla@merckgroup.com

Firma Merck, známá jako přední dodavatel vysoce kvalitních chemikálií a reagensů, nabízí také široké portfolio více než 20 000 produktů pro laboratoře buněčných a tkáňových kultur. Toto portfolio zahrnuje vše, co moderní buňková laboratoř potřebuje pro dlouhodobě konzistentní výsledky — od ikonických pomůcek pro sterilní filtraci, klasických sér a médií, až po růstové faktory a inovativní nástroje pro práci s 3D modely a primárními a kmenovými buňkami. V poslední době se naše nabídka rozrostla o přístrojové vybavení určené pro analýzu buněk, které díky inteligentním funkcím a podpoře cloudového ukládání s možností pokročilé analýzy dat přináší uživatelům příležitost budovat opravdu propojenou digitální laboratoř budoucnosti. Kromě toho Merck nabízí rozsáhlé chemické portfolio a vyvíjí inovativní technologie v oblasti materiálových věd, které našim zákazníkům pomáhají při navrhování, objevování a syntéze nových materiálů se specifickými vlastnostmi. Tyto nové materiály sahají od biomateriálů používaných např. při 3D biotisku a tkáňovém inženýrství přes kompozitní materiály až po nanomateriály pro transport léčiv. Tato unikátní kombinace pokročilých technologií a široká nabídka kvalitních a snadno dostupných produktů jak z oblasti chemie, tak biologie pod hlavičkou Merck Life Science (vše na www.sigmaaldrich.com) podporuje mezipředmětový výzkum a vývoj, čímž přispívá k vědeckému pokroku a pomáhá našim zákazníkům dosahovat rychlejších výsledků a pacientům v léčbě a diagnostice.

Tento příspěvek seznámí účastníky konference s novým digitálním zobrazovacím systémem Millicell DCI, který byl navržen tak, aby standardizoval měření a analýzu kritických parametrů kultivace buněk, jako jsou konfluence, počet buněk a morfologie. Millicell DCI umožňuje in-vessel analýzu, což šetří vzorky a zvyšuje přesnost měření. V kontextu témat konference, jako jsou kmenové buňky, buněčné terapie a transplantace tkání, je jeho role zásadní pro zajištění konzistentnosti a reprodukovatelnosti výsledků.

Hlavní výhody Millicell DCI zahrnují rychlé a objektivní hodnocení kultivace buněk, což eliminuje subjektivitu a uživatelskou chybu. Uživatelé mohou sledovat široké spektrum buněčných kultur, včetně adherentních buněk, sferoidů a organoidů, buněk rozptýlených v různých transparentních matricích a počítat buňky v suspenzi na principu hemocytometru. Automatizace měření, malé rozměry přístroje a intuitivní rozhraní umožňují jak odborníkům, tak nováčkům snadno provádět testy přímo na místě, a tak zjednodušovat každodenní pracovní postupy.

Millicell DCI také podporuje sledování trendů růstu buněk a archivaci historických dat, což je klíčové pro reprodukovatelnost experimentů a klinické studie. Jeho cloudové funkce umožňují bezpečné ukládání a analýzu dat, což přispívá k lepší sledovatelnosti a integritě výzkumných projektů. Tento přístup k digitalizaci laboratoří je zásadní pro zajištění vysoké kvality a konzistence výsledků.

Účastníci konference budou mít možnost si přístroj prohlédnout i na stánku firmy Merck a v případě zájmu si domluvit demonstrační předvedení s využitím vlastních vzorků přímo na svých pracovištích.



www.MillicellDCI.com

MICRO-CT IMAGING AND 3D TISSUE MODELS: ADVANCING BIOMPLANTOLOGY

Brechlerová D., ACELLA

Micro-computed tomography (micro-CT) has emerged as a powerful imaging modality in bioprinting, offering high-resolution, non-destructive analysis of biomaterials and tissue-engineered constructs. This technology enables precise visualization of scaffold architecture, cellular integration, and vascularization within 3D tissue models, providing critical insights for optimizing biomaterial design and implantation strategies. Coupled with advanced 3D tissue engineering approaches, micro-CT enhances the characterization of biomimetic constructs, ensuring their structural and functional fidelity before clinical application. By bridging imaging and bioengineering, these advancements pave the way for more effective, personalized, and predictive approaches in bioprinting.

SLEDOVÁNÍ HOJENÍ RAN, DIFERENCIACE BUNĚK A CAR-T TERAPIE POMOCÍ OMNI FL LIVE-CELL MIKROSKOPU

Ledvina V., EAST PORT Praha s.r.o.

Zobrazování živých buněk („live-cell imaging“) je mikroskopická metoda, která umožňuje kontinuální sledování růstu buněk, jejich morfologie a diferenciace. V této krátké prezentaci Vám představíme fluorescenční mikroskop Omni FL od společnosti Axion Biosystems, který se umísťuje přímo do inkubátoru a umožňuje zobrazování buněk v mikrotitračních destičkách v jejich přirozených kultivačních podmínkách. Ukážeme Vám, jak ho lze efektivně využít při sledování migrace buněk, diferenciace mesenchymálních kmenových buněk a vývoji a testování CAR-T terapie.

AUTORSKÝ REJSTŘÍK

B

Brechlerová D. 77
Brtníková J. 48

Č

Čapek J. 28

D

Daňková J. 49
Dvořák Z. 14

E

East B. 15
Exnerová A. 49

F

Filová El. 22
Filová Ev. 29

G

Glowacki E. D. 15
Grus T. 16

H

Handl J. 30
Hauzerová Š. 31
Hedvičáková V. 50
Hlináková K. 32

Ch

Chvátil D. 23

J

Janda L. 51
Jandová M. 17
Jenčová V. 33

K

Kasík P. 18
Kaspar P. 52
Klusáček Rampichová M. 53
Konečná G. 54
Kotouček J. 55
Kreuzerová M. 56

Kronek J. 34
Kroneková Z. 35
Kukla S. 76
Kužma J. 57

L

Ledvina V. 77
Lípový B. 23
Lukáš D. 24
Luptáková N. 25
Lysák D. 26

M

Menčík P. 58
Michlovská L. 59
Moláček J. 19

P

Pavliňáková V. 60
Pošta P. 19

R

Ročková V. 36

S

Sedláček R. 61
Slaninová K. 62
Slonková K. 37
Sobola D. 64
Sovková V. 65
Strnadová K. 66
Studenovská H. 38
Suchý T. 67

Š

Šebová E. 39
Šimičková A. 40
Šrolerová T. 69

V

Vejmelka J. 20
Vistejnova L. 70
Vlček A. 41
Vojtová L. 42
Votrová B. 71
Vrbová R. 72

W

Wirthová M. 73

Ž

Žídek J. 43



- distribuce a servis Dewarových nádob **IC Biomedical** (dříve Taylor-Wharton), robotických skladovacích jednotek **Askion**, programovatelných zamrazovačů **Sy-Lab**, produktů **Auguste Cryogenics**
- distribuce produktů **Origen**
- dodávky kapalného dusíku
- kompletní projekce, realizace a servis kryogenní technologie
- rozšíření, modernizace a automatizace kryogenního skladování
- vestavby, příslušenství a spotřební materiál k Dewarovým nádobám
- tuzemská i mezinárodní přeprava vzorků v kapalném dusíku (LIN) nebo jeho parách
- řešení krizových situací při náhlé poruše skladovacího systému, zapůjčení Dewarových nádob a zásobníků LIN
- montáž, opravy a revize vyhrazených tlakových zařízení, společnost je držitelem potřebných oprávnění a osvědčení od TČR

**Název: XVI. mezinárodní konference
Bioimplantologie a regenerativní medicína**

Autor: Kolektiv autorů

Editoři: doc. MUDr. Daniel Lysák, Ph.D.; doc. Ing. Tomáš Suchý, Ph.D.;
Ing. Lucie Vištejnová, Ph.D; doc. Ing. Lucy Vojtová, Ph.D.

Vydavatel: Venice Praha, s.r.o.

Vazba: V2

Vydání: 1

Měsíc a rok vydání: duben 2025

ISBN 978-80-907779-4-1

MERCK

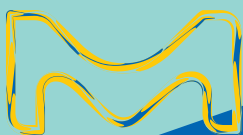
cell Microscopy EVOLVED

The Millicell® DCI Digital Cell Imager

- Quickly and objectively measure common cell culture parameters including confluency, cell count, and morphology.
- Monitor an extensive range of adherent cell cultures including 3D cultures like spheroid and organoids and tricky or hard-to-grow cells.
- Hemocytometer or in-vessel measurement
- Convenient, web-based cloud service for data storage and retrieval of archival data and images



To learn more, visit
MillicellDCI.com



The life science business
of Merck operates as
MilliporeSigma in the
U.S. and Canada.



Millipore®

Preparation, Separation,
Filtration & Monitoring Products

Generální partner konference



Partneři konference



produkty pre medicínu



SPOL. S R.O.



Liquid Nitrogen – Equipment & Cryobanking
www.lineq.cz



...řešení pro vaši laboratoř



Organizing secretariat



CONGRESS BUSINESS TRAVEL

www.bioimplantologie.cz/mezinarodni-konference-2025