



Biomateriály a jejich medicínské využití

Jiřina Medalová, Petra Černochová
jipro@sci.muni.cz

Co všechno lze nahradit??

Organické náhrady

- Kůže a kožní deriváty
 - Kůže, Vlasy, zuby, boltce, nos
- Orgány
 - ledviny, srdce, játra, plíce, pankreas, penis
- Tkáně
 - Rohovka, mozková plena, céva, kost, šlacha, srdeční chlopeň, končetina, prst
- Buňky
 - Kostní dřeň, naprogramované T buňky, spermie, vajíčka

Neorganické náhrady

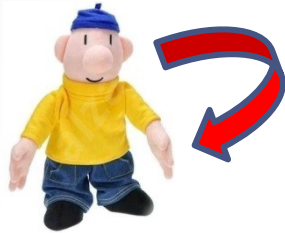
- Falešné oko
- Kloub, kost
- Končetina, prst
- Zub
- Cévní stent
- Meziobratlová ploténka
- Srdeční chlopně

Kombinace buněk a neorganických nosičů - biomateriálů

- Kůže
- Cévy
- 3D modely tkání osídlené buňkami (srdce, ledviny...)

Typy transplantací

- **Autotransplantace** – přemístění tkáně v rámci jedné osoby



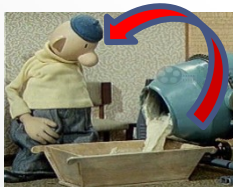
- **Alotransplantace** – dárce a příjemce jsou stejného druhu



- **Xenotransplantace** – dárce a příjemce jsou různého druhu



- **Aloplastika** – využití cizorodých materiálů

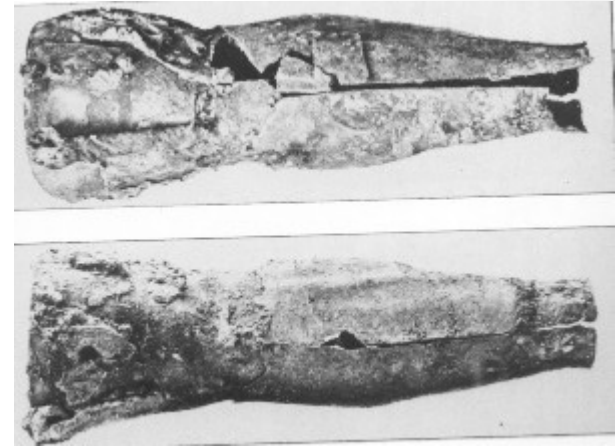


Historie - Náhrady končetin, zubů

800 př.n.l Egypt



300 n.l Itálie



<https://epochaplus.cz/egyptske-protezy-palcu-u-nohy-obstoji-i-v-dnesni-konkurenci/>

2500 př.n.l. Mexiko



1500 n.l. Japonsko



<http://www.lpdental.cz/p91/prvni-zubni-nahrady>

Transplantace tkání

Indie 500 př.n.l - Šušruta – plastika nosu, uší,
- chirurgické nástroje



Čína 200 let př. n.l. - Hua T'ó a Pien Ch'iso - narkóza, transplantace srdce

Turecko 300 n.l. - Kosma a Damián – transplantace končetin



Úspěšné transplantace

- Transplantace kostí – 19. století, xenotransp. (pes)
- Transplantace rohovky – 1905 OLOMOUC
- Transplantace vnitřních orgánů
 - nutnost imunosuprese - Cyklosporin A

1954: První úspěšná transplantace [ledviny](#) ([USA](#))

1966: První úspěšná transplantace [slinivky břišní](#) ([USA](#))

1967: První úspěšná transplantace [jater](#) ([USA](#))

1967: První úspěšná transplantace [srdce](#) ([Jihoafrická republika](#))

1981: První úspěšná transplantace srdce a plic zároveň

1983: První úspěšná transplantace plicních laloků

1986: První úspěšná transplantace obou plic

1998: První úspěšná transplantace části [slinivky břišní](#) od živého dárce

1998: První úspěšná transplantace [ruky](#) ([Francie](#))

2010: První úspěšná transplantace celého [obličeje](#) ([Španělsko](#))

2010: První úspěšná transplantace **umělého** [srdce](#) ([Itálie](#))

2015: První úspěšná transplantace penisu ([Jihoafrická republika](#))

Umělé náhrady

- 1938 - První totální náhrada kyčelního kloubu
- 1940 – Zavádění polymerů do medicíny
 - PMMA pro nápravu zlomených kostí
 - celulóza pro dialýzu
 - stehy z nylonu
- 1952 – první mechanická srdeční chlopeň
- 1953 – první náhrada cévy z polymerního dacronu
- 1976 – první arteficiální srdce

- 1975 - Založení společnosti pro biomateriály

Vývoj materiálů a cíl dané generace materiálů:

1. generace – od 1950 – inertnost materiálů
2. generace – od 1980 – bioaktivita materiálů
3. generace – od 2000 – obnovení funkčních tkání



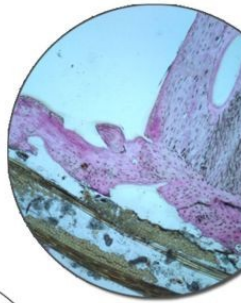
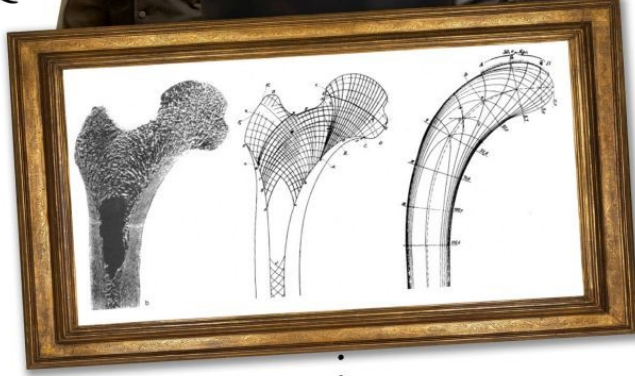
PÁNOVĚ, TEN KARLOV TERÁB PŘENÁŠÍ ZATÍŽENÍ STEJNĚ JAKO KOST!

JULIUS WOLFF (1836-1902)

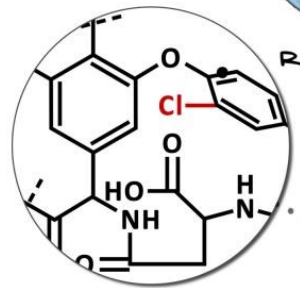
KARL CULMANN (1821-1881)

NIKOLIV, ZAČNĚME OD BŮNKY!

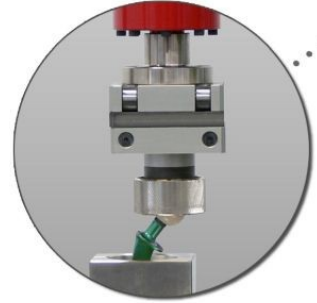
WILHELM ROUX (1850-1924)



REAKCE TRÁVNÍ



CHEMICKÉ SLOŽENÍ



MECHANICKÉ VLASTNOSTI



1822

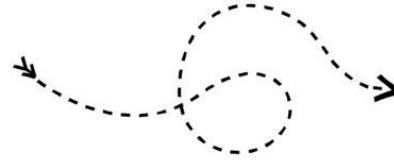
WHITE - PRŮJEM ODSTRANĚNÍ KLOUBU

1886

HANSMANN - STABILIZACE ZLOMENINY

1891

GLÜCK - PRŮJEM UMĚLÁ NÁHRADA KLOUBU



1950+



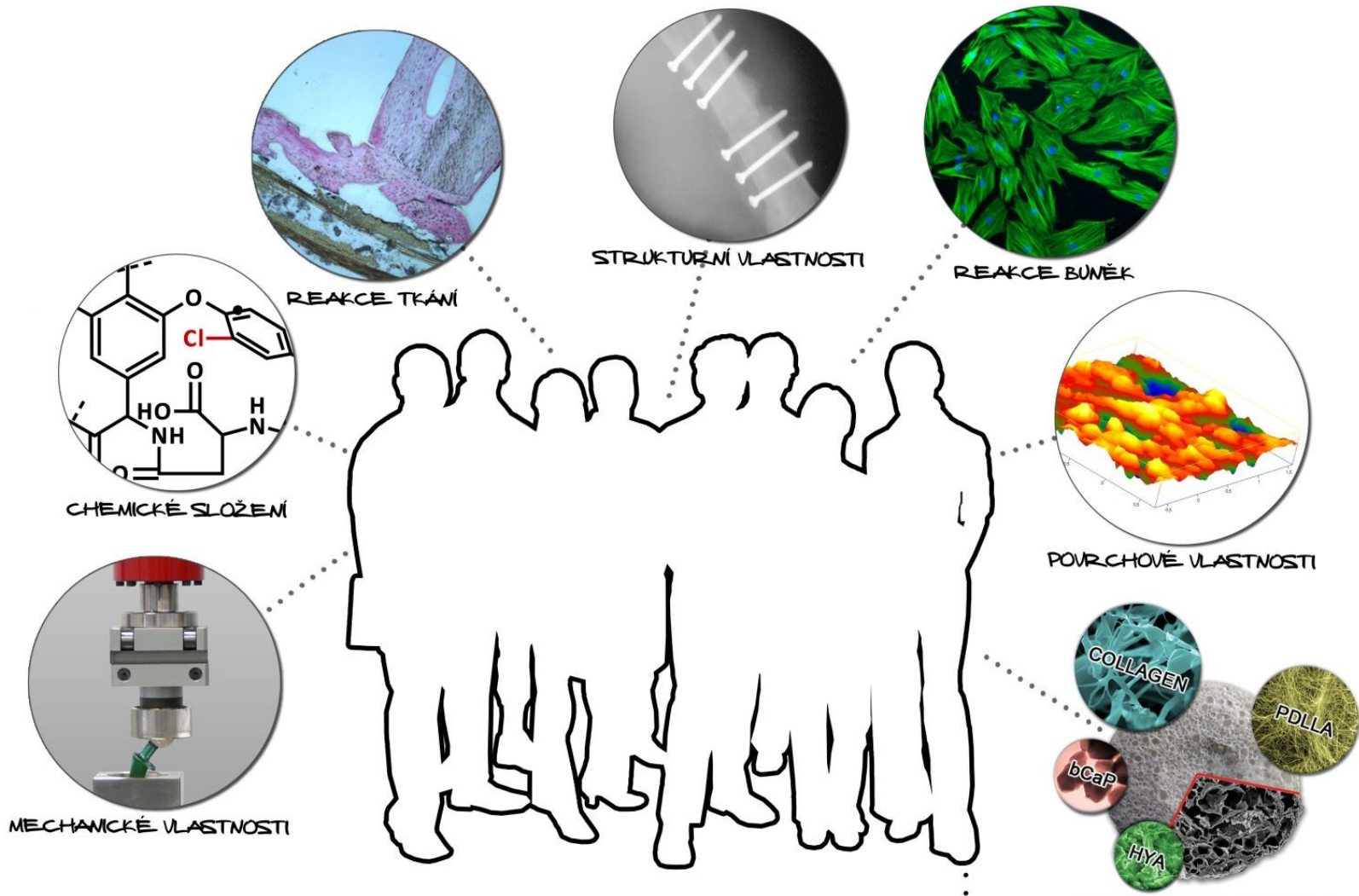
KOVY A JEJICH SLITINY NERESORBOVATELNĚ A NEBIOAKTIVNĚ

1970+



KERAMIKA A POLYMERY BIOAKTIVNĚ NEBO BIORESORBOVATELNĚ

ROUX



1950+ 1970+ 1990+ 2019



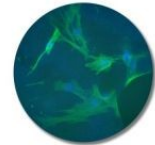
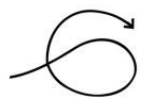
A JEJICH SLITINY
RESORBOVATELNĚ
A NEBIOAKTIVNÍ



KERAMIKA A POLYMERY
BIOAKTIVNÍ NEBO
BIORESORBOVATELNĚ



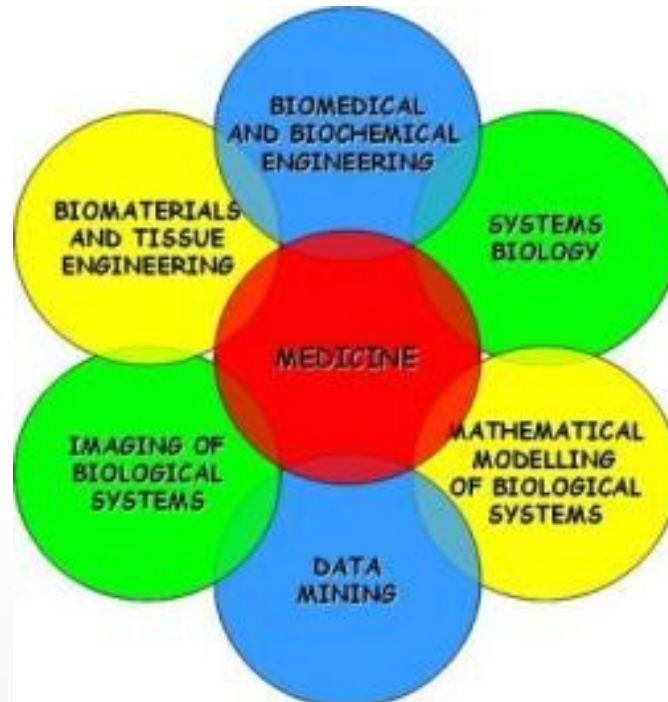
KOMPOZITY A NANOKOMPOZITY
BIOAKTIVNÍ A
BIORESORBOVATELNĚ



BIOMIMETICKÉ MATERIÁLY
TKÁNOVÉ INŽENÝRSTVÍ
MATERIÁLY, KTERÉ NAPODOBUJÍ TKÁŇ
A KOMBINUJÍ SE S ŽIVÝMI BUNĚKAMI

Věda o biomateriálech

- Multidisciplinární studium – fyzika + chemie + biologie
• + medicína + informatika
- Studium fyzikálních a biologických vlastností materiálů a jejich interakce s jejich prostředím v místě použití a vyhodnocování získaných infos



Biomateriály

Žádoucí vlastnosti - biokompatibilita:

dobrá smáčivost, volná povrchová energie,
povrchový náboj, konstantní drsnost, neimunogenost
nekarzinogenost, nepyrogenost
někdy je nutná samodegradovatelnost x vysoká stabilita

- musí být sterilizovatelný

- výroba musí být ekonomicky, časově i ekologicky nenáročná

Postup testování - *in vitro* – cytotoxicita (cytokinetické parametry), mutagenita,
imunogenita

- buněčné kultury – analogická tkáň, buněčný model

- *in vivo* – pyrogenita, systémová a akutní toxicita, imunogenita
karzinogenita, mutagenita

- myši → prasátka → lidé

Metody *in vitro*

Cytokinetické parametry:

Proliferace + viabilita

- formazánové soli metabolizované mitochondriemi za vzniku zbarvení
- Resazurin – fluorescenční resorufin

Buněčná smrt

- apoptóza: DNA žebřík, aktivace kaspáz, annexin V/PI
- autofágie: značení autofagosomů CytoID

Diferenciace

- Markery diferenciace specifické pro dané buňky (qRT-PCR)

Adheze

- Wash away testy, cell scratching, studium motility

Mutagenita a karcinogenita

Amesův test – prokaryota *Salmonella typhimurium*

- mutace v histidinu a sleduje se zpětné mutování v selekčním médiu

Test na získané chromozomové aberace - nutné vyšetření karyotypu
nad 5% mutovaných buněk = vysoká mutagenita

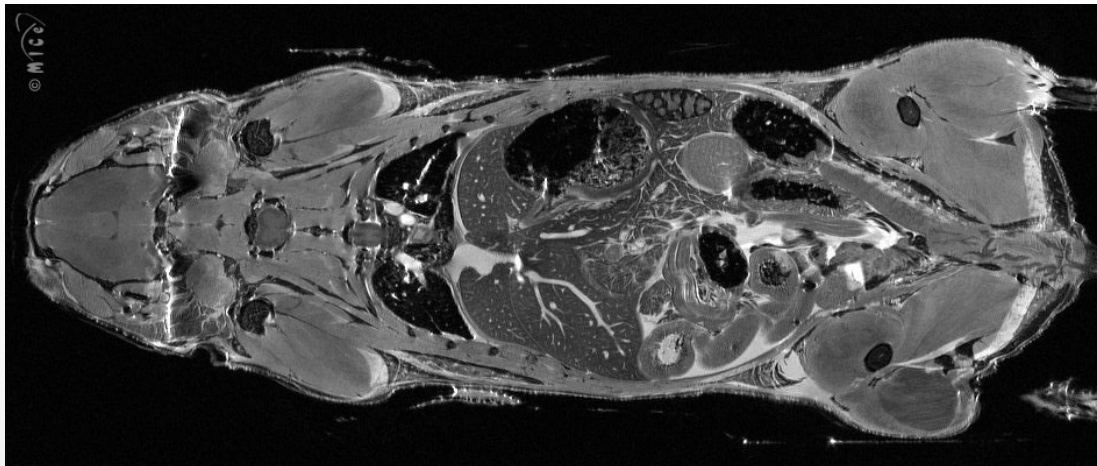
Imunogenita – test produkce TNF α a IL6 na myších makrofázích (ELISA)

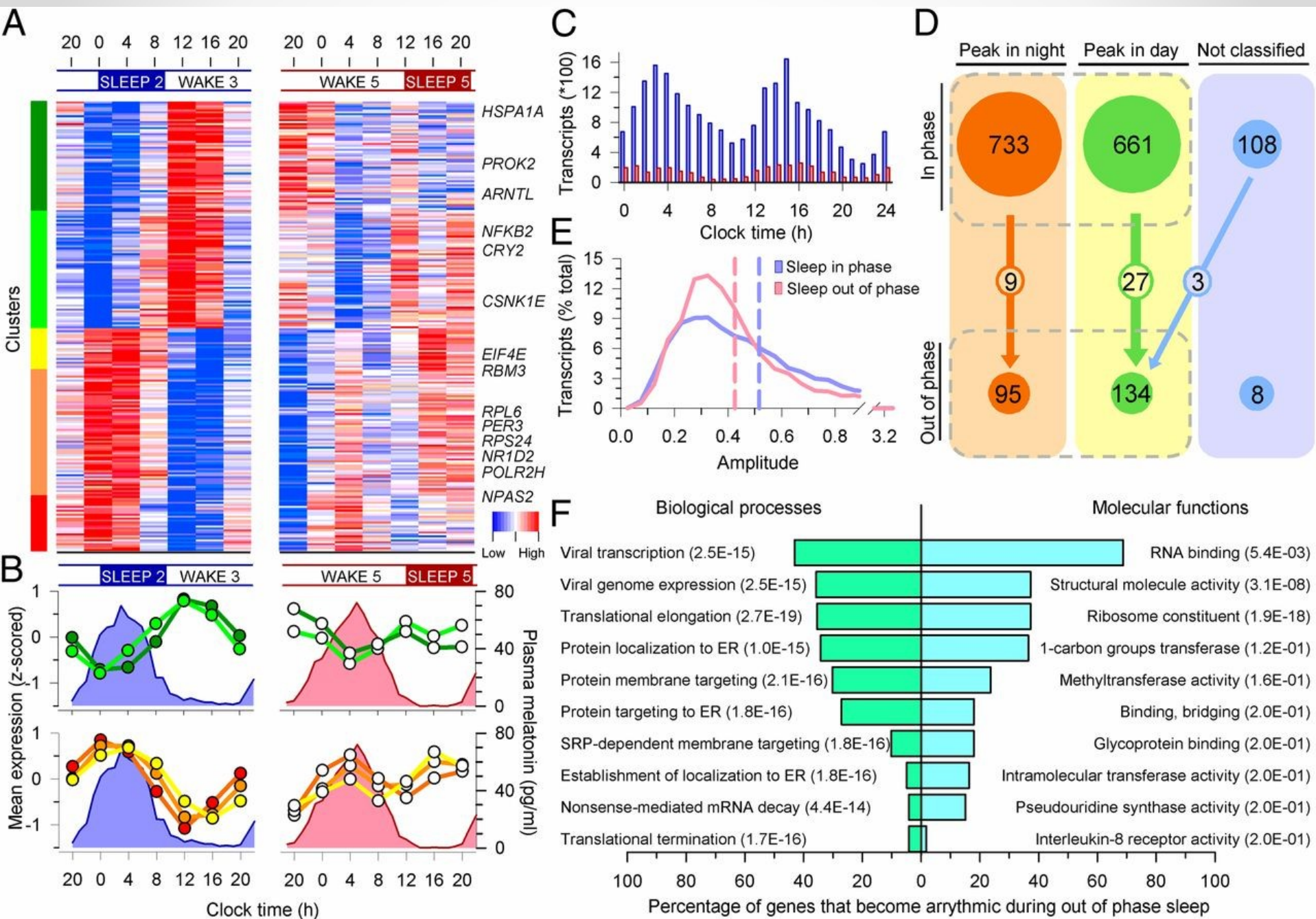


Metody *in vivo*

Vložení materiálu do pokusných modelů a následná měření:

- Měření teploty těla (pyrogenita)
- Studium imunitního systému (imunogenita)
- Celkový zdravotní stav - váha, motilita, aktivita metabolismu - toxicita
- Celotělové metody zobrazení – CT, MR, fluorescece, chemiluminiscence –
 - studium vzniku nádorů (karcinogenita)
- Transkriptom – změny v hlavních signálních drahách





Nejpoužívanější materiály

Biomateriály – Keramika

Materiál	Aplikace
Alumina	Náhrady kloubů
Zirkonia	Náhrady kloubů
Fosforečnany vápenaté	Kostní grafty, Povrchové nátěry (vrstvy) u fixací
Bioaktivní skla	Kostní grafty, Povrchové nátěry (vrstvy) u fixací
Porcelán	Zubní implantáty

Nejpoužívanější materiály

Biomateriály – Kovy

Materiál	Aplikace
316, 316L Nerezová ocel	Fixace zlomenin Náhrady kloubů Spinální instrumentace Chirurgická instrumentace
Čistý titan Ti-6Al-4V Ti-13Nb-13Zr	Náhrady kostí, kloubů Zubní implantáty
CoCr slitiny	Náhrady kostí, kloubů Zubní implantáty Srdeční chlopně
Slitiny zlata	Srdeční chlopně

Nejpoužívanější materiály

Biomateriály – Polymery

Materiál	Aplikace (např.)
Polyethylén (UHMWPE)	Jamky pro výměny kloubů
Polypropylén	Stehy, MCP klouby
Polytetrafluoroethylén (Teflon)	Vaskulární protetika
Polyestery	Vaskulární protetika, doprava léčiv, stehy, vazové grafty
Polyurethany	Vaskulární protetika, srdeční chlopně, katetry
Polyvinylchlorid (PVC)	Katetry
Polymethylmethakrylát (PMMA)	Fixace implantátů
Silikonové elastomery	Oftalmologie
Hydrogely (např. HEMA)	Oftalmologie
Kyselina polymléčná (PLA) a polyglykolová (PGA)	Resorbovatelné materiály, doprava léčiv

Biomateriály a plazma

Osteoartritida – kostní implantáty pokryté hydroxyapatitem pomocí plazmy

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28254288>

- CaO-SiO₂ plazmou nasprejovaný na keramiku

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18771893>

Kardiovaskulární systém - chlopně s nepřilnavými vrstvami

- hydrogely s imobilizovanými kmenovými buňkami

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25778713>

Intervertebral disc – plazmou naspreovaný titan nebo titan + fosforečnan vápenatý

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15541680>

Arteficiální cévy - nejrůznější polymery funkcionalizované plazmou

<https://www.mdpi.com/1996-1944/12/2/240>

Spolupráce

- skupina plazmových technologií na CEITEC (Doc. Zajíčková)

<https://www.ceitec.cz/plazmove-technologie-lenka-zajickova/rg9>

- Biomateriály a tkáňové inženýrství, (FGÚ AVČR, doc. Bačáková)

<http://www.fgu.cas.cz/departments/biomaterialy-a-tkanove-i-inzenyrstvi?publicationsCount=20>

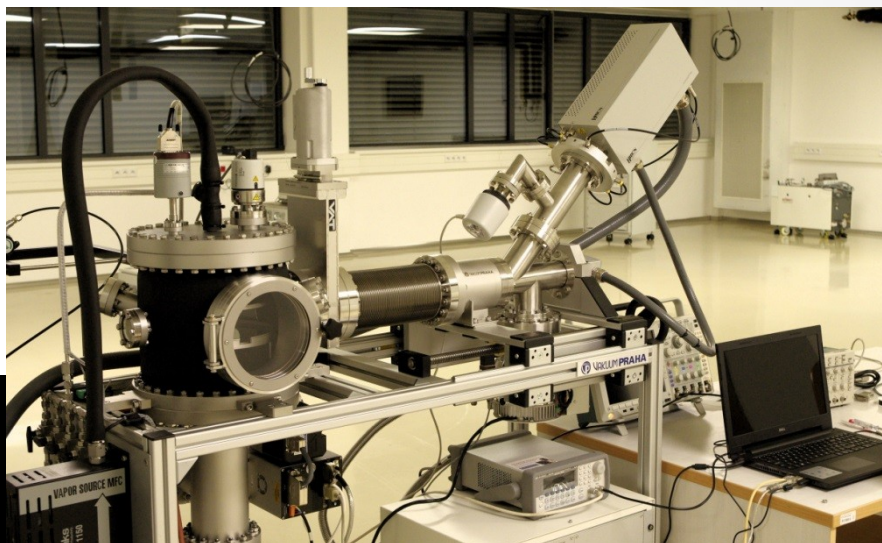
GAČR projekt: Plazmové polymery připravené na nanovlákných membránách pro inženýrství cévní tkáně

Povrchy tvořené polykaprolaktonem spřádeným do nanovláken a funkcionalizované aminy jsou vhodnými nosiči pro náhrady cév

Studium endotelových a kmenových buněk

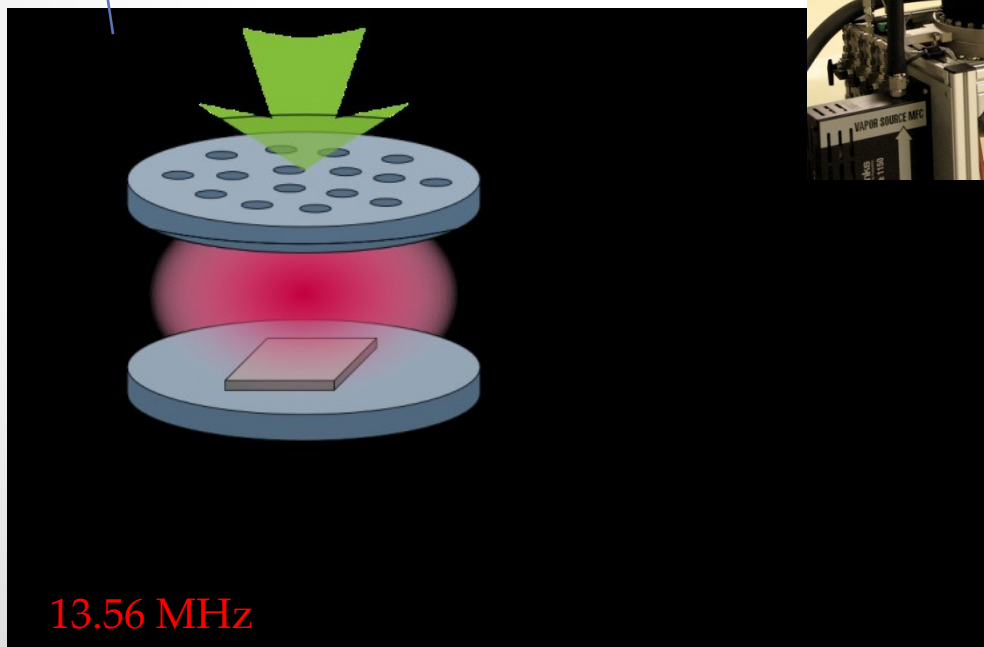


Plazmová funkcionlizace povrchů



Plazmový reaktor s diagnostickými metodami
pro měření

Cyclopropylamine + Ar



13.56 MHz

Schéma kapacitně vázaného plazmového výboje

Projekt

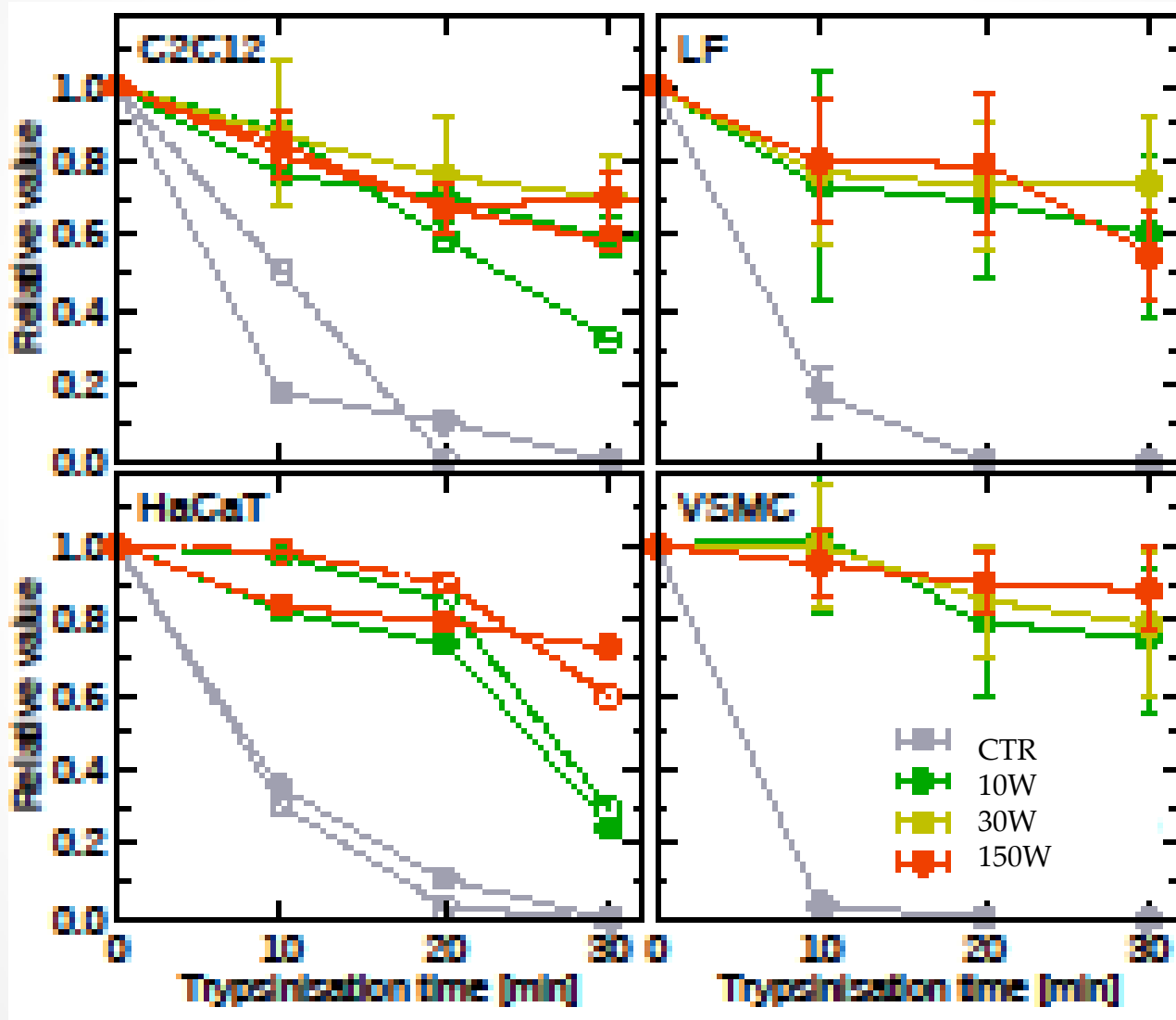
- Plazmatem aktivovaný cyklopropylamin vytváří aktivní aminové (+) funkční skupiny na povrchu polystyrenových misek a nanovláčenných membrán z polykaprolaktonu
 - Hlavní změna fenotypu buněk - **zvýšení odolnosti vůči trypsinu**
 - Studované buněčné linie
 - Myoblasty kosterní svaloviny (C2C12)
 - Keratinocyty (HaCaT)
 - Fibroblasty (LF)
 - Buňky hladké svaloviny z cévy (VSMC)
 - Endotelové buňky (HUVEC, HSVEC, CPAE)
 - 3 studované povrchy - 10 W, 30 W a 150 W
 - Petriho misky
 - nanovláčna z polykaprolaktonu

Membrány

- Cell crowns (Scaffdex) – s membránami v 24 W desce - nejsou průsvitné, nutné fluorescenční barvení
- Stanovení cytokinetických parametrů
- Kokultivace endotelových buněk a VSMC

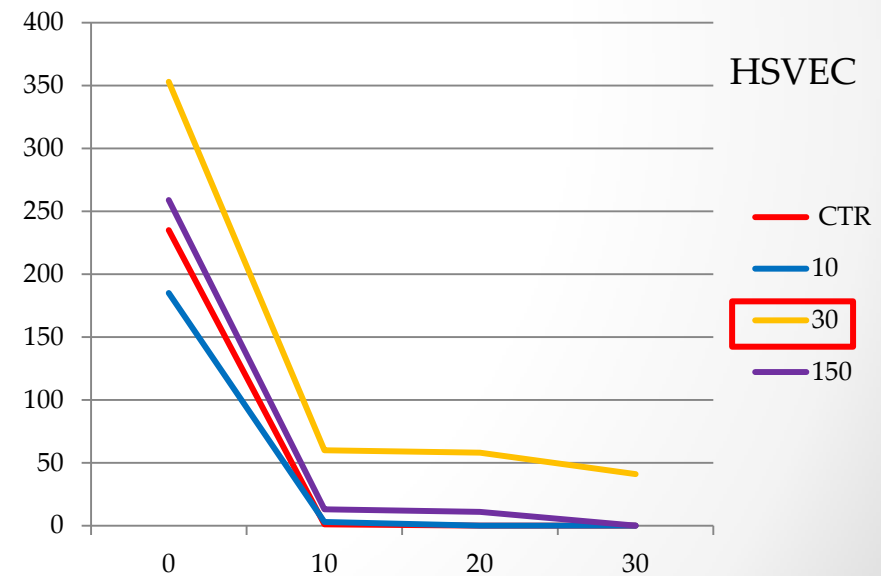
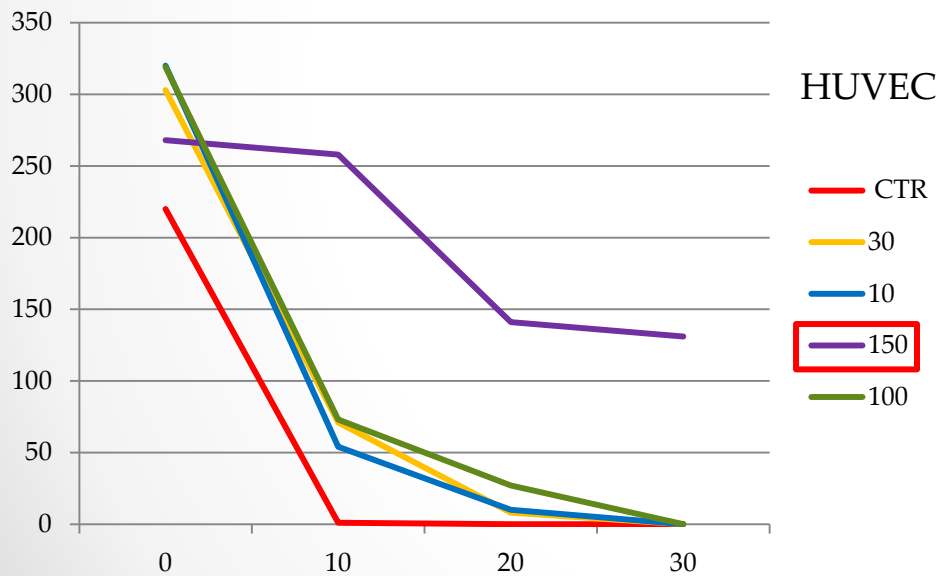


Odolnost buněk vůči trypsinu I

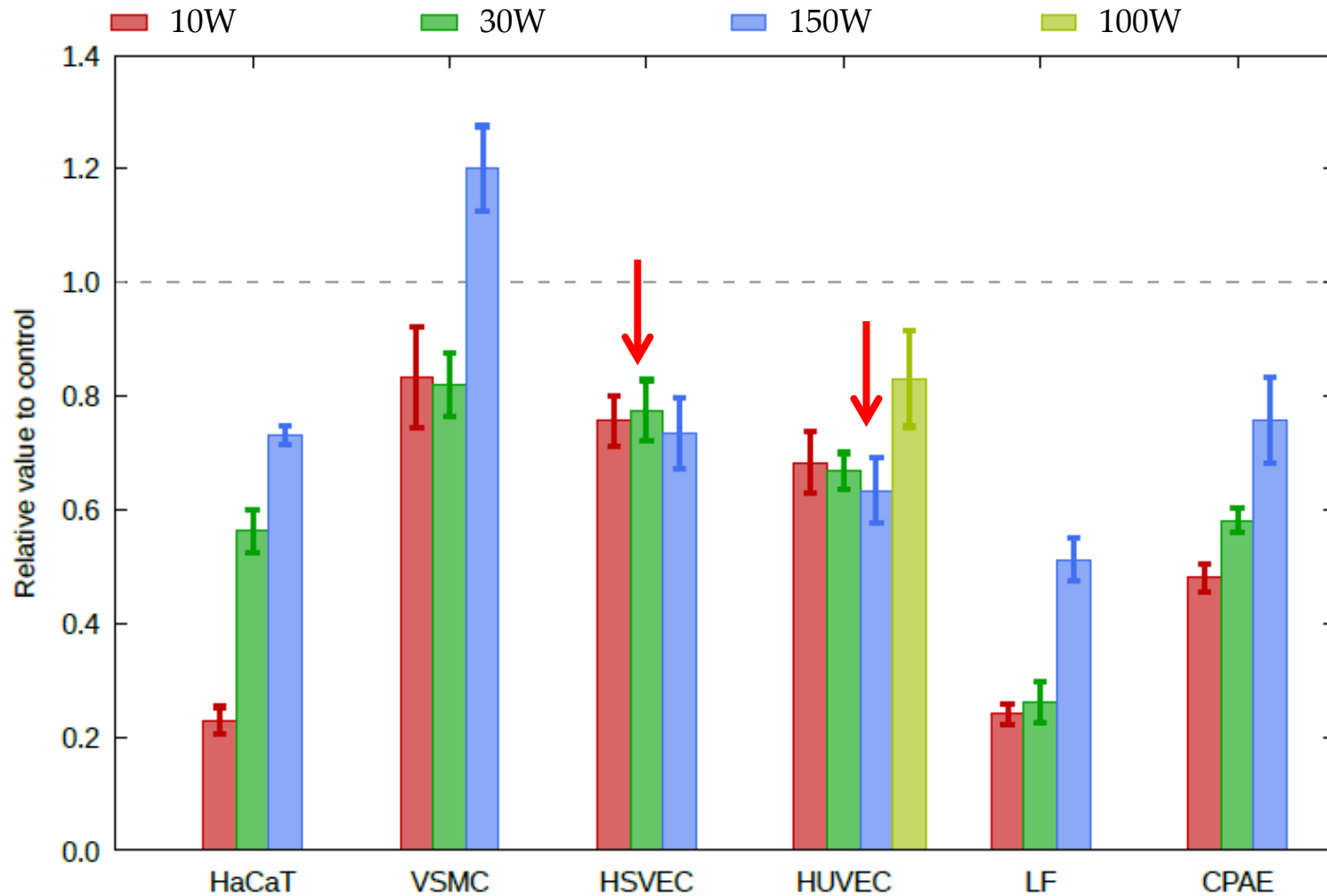


Odolnost buněk vůči trypsinu II

- Endotelové buňky – HUVEC – umbilical vein (pupečník)
 - HSVEC - vena saphena (na noze)
 - CPAE – pulmonary artery (plicnice)

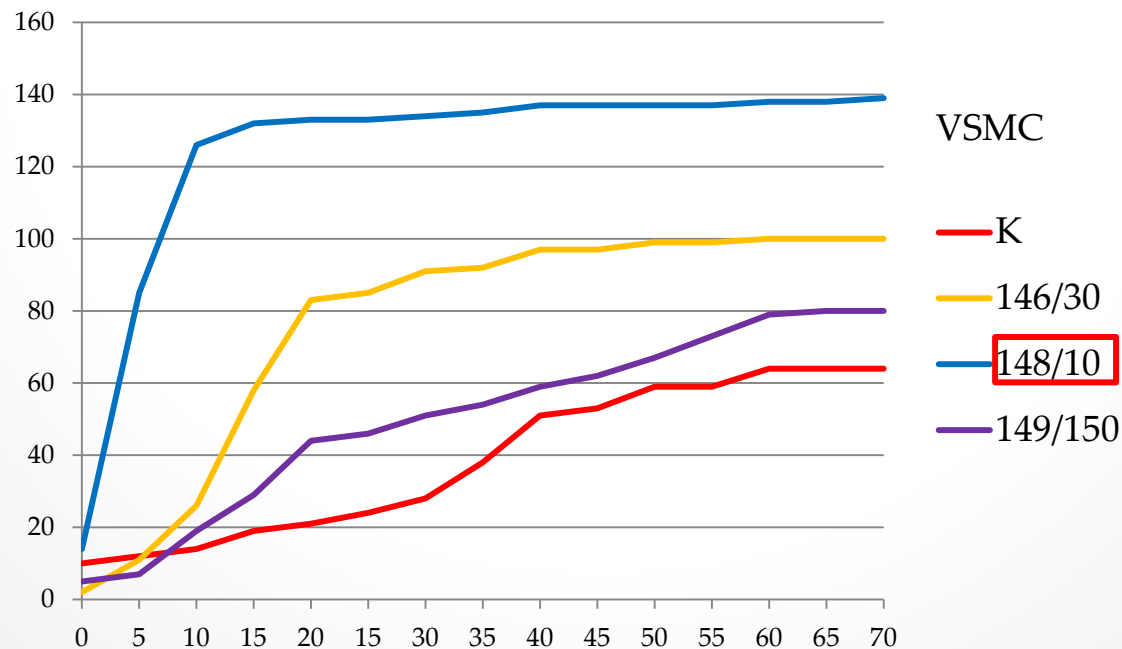


Proliferace – 2 dny



Life Imaging

- Buňky hned po vysetí - 20 hodin časosběrné video
 1. Rychlost přisedání - zvýšená
 2. Motilita buněk – snižena
- Zvýšené adhezní parametry

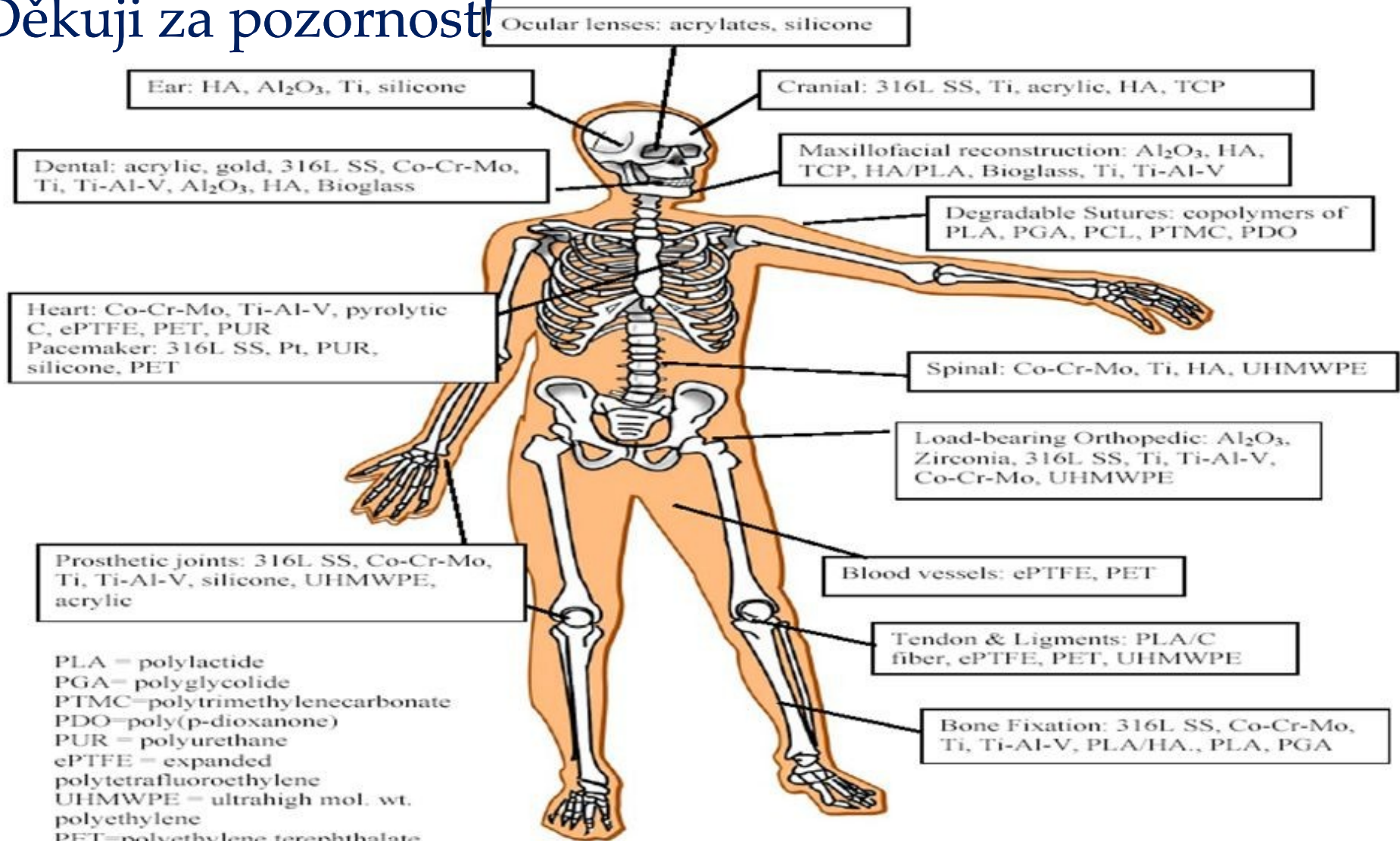


Shrnutí

- Dlouhá a pestrá historie náhrad tkání a orgánů
- Využití plazmy pro modifikace povrchů
- CPA aminové vrstvy způsobují
 - Zvýšenou odolnost buněk vůči trypsinu
 - Rychlejší přisedání
 - Nižší motilitu
 - Sníženou proliferaci
- **Zvýšení adheze, které ovlivňuje i rychlost dělení buněk**
- **Aktuální problematika, do které se můžete zapojit**
- Studium cytokinetiky, life imagingu
- Kokultivace buněk na opačných stranách membrány
- Stanovení imunitní odpovědi (IL6, TNFa)

Biomaterial Science

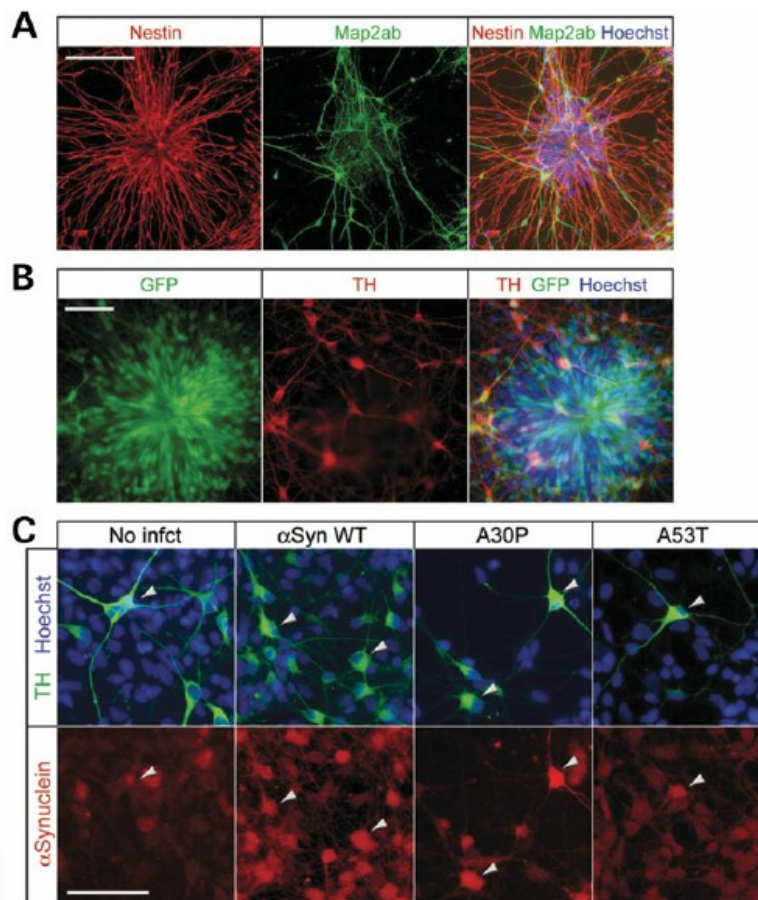
Děkuji za pozornost!



PLA = polylactide
PGA = polyglycolide
PTMC = poly(trimethylenecarbonate)
PDO = poly(p-dioxanone)
PUR = polyurethane
ePTFE = expanded polytetrafluoroethylene
UHMWPE = ultrahigh mol. wt. polyethylene
PET = polyethylene terephthalate
HA = hydroxyapatite
SS = stainless steel

jipro@sci.muni.cz

Toxikologie v praxi



• Vliv chemických látek na diferenciaci neuronů •