



Europäische Union

Europäischer Fonds für
regionale Entwicklung



Ziel ETZ
Freistaat Bayern –
Tschechische Republik
2014 – 2020 (INTERREG V)



NEW TECHNOLOGIES
RESEARCH CENTRE
UNIVERSITY OF WEST BOHEMIA



Programm zur grenzübergreifenden Zusammenarbeit Freistaat Bayern - Tschechische Republik Ziel ETZ 2014-2020
Programu přeshraniční spolupráce Česká republika – Svobodný stát Bavorsko Cíl EÚS 2014-2020

Projektantrag / Návrh projektu
349: 06/2021 – 12/2022

**Augmentierte Behandlung von osteoporotischem Knochen mit innovativen
Metalloberflächen angereichert mit organisch-anorganischen Nanopartikeln**

**Rozšířená léčba osteoporotické kostní tkáně inovativními kovovými povrchy obohacenými
organicko-anorganickými nanočásticemi**

Kooperation der

*Westböhmisches Universität Pilsen, New Technologies Research Centre, Department of Engineering of Special Materials
und des*

Universitätsklinikums Regensburg, Labor für experimentelle Unfallchirurgie an der Klinik und Poliklinik für Unfallchirurgie

spolupráce

Západočeské Univerzity v Plzni, Výzkumné Centrum Nové Technologie, oddělení Inženýrství Speciálních Materiálů

a

Univerzitní Kliniky a Úrazové Polikliniky Regensburg, oddělení Traumatologické Chirurgie

Augmentierte Behandlung von **osteoporotischem** Knochen mit innovativen organisch-anorganisch
Nanopartikel funktionalisierten **Metalloberflächen**

Rozšířená léčba osteoporotické kostní tkáně inovativními kovovými povrchy obohacenými organicko-
anorganickými nanočásticemi

Augmented treatment of **osteoporotic** bone with innovative organic-inorganic nanoparticle functionalized
metal surfaces

OSTEOMET

Buněčná biologie

Univerzitní klinika Regensburg (UKR)

Laboratoř experimentální úrazové chirurgie

Klinika a poliklinika úrazové chirurgie



Materiálové inženýrství

Nové technologie – výzkumné centrum

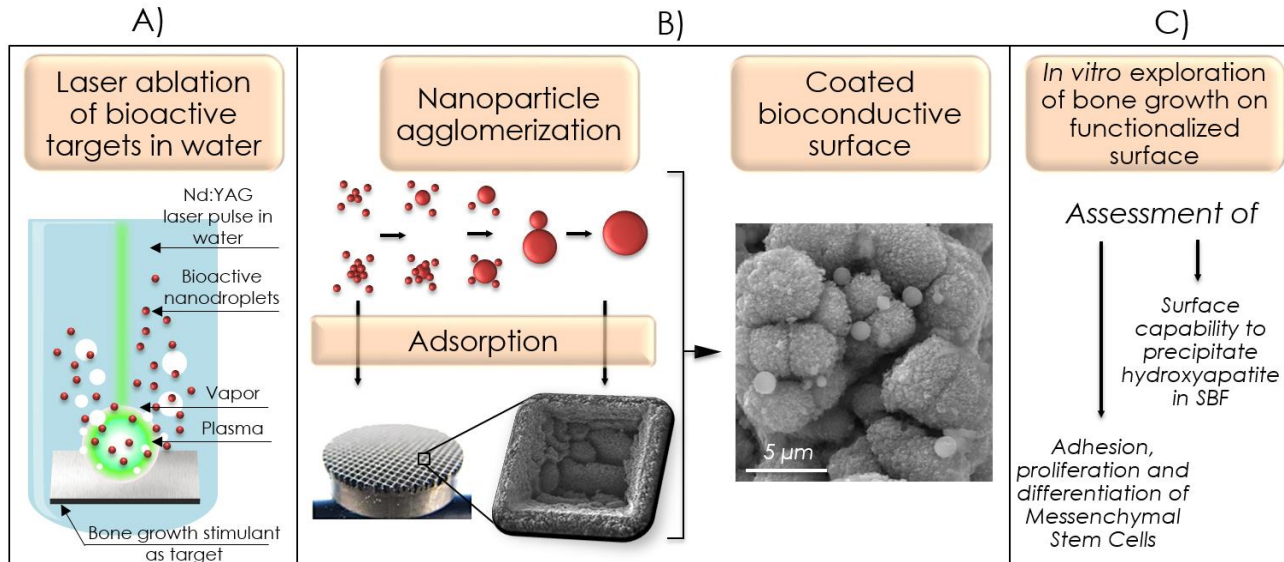
Západočeská univerzita v Plzni

Inženýrství speciálních materiálů



Laserová ablace v kapalinách:

Generování bioaktivních nanočástic s vysokou adsorpční schopností na členité porézní povrchy



Plánované
nanočástice:

CaSi_2 ,

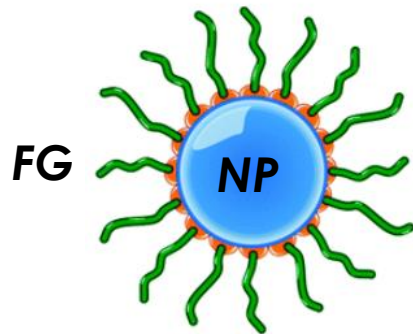
CaTiO_3 ,

CaTiSiO_5 , $\text{CaCu}_3\text{Ti}_4\text{O}_{12}$

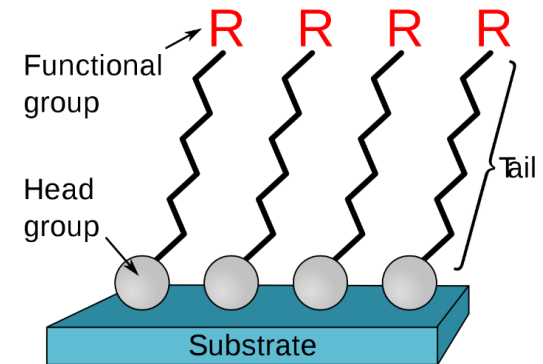
Benefity navrhovaného konceptu:

- Získání nanočástic s vysokou bioaktivitou
- Produkce hydratovaných forem bioaktivních sloučenin
- Jednoduchá a vysoce efektivní cesta pro funkcionalizaci členitých povrchů
- Inovativní přístup s vysokým stupněm novosti

Funkcionalizace texturovaných povrchů a/nebo získaných nanočástic organickými funkčními skupinami



a / nebo

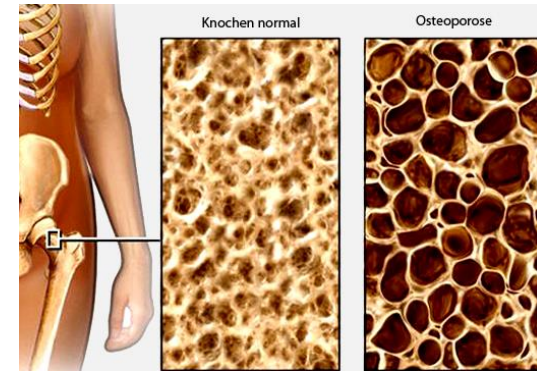


Funkcionalizace ablativně připravených koloidních nanočástic (NP) organickými funkčními skupinami (FG)

Funkcionalizace rozličných povrchů funkčními skupinami
Hydroxylové (-OH), Amino (-NH₂), Thiolové (-SH), Fosfatové (P=O)

- Zkvalitnění interakcí na rozhraní buňky - substrát
- Možnost regulovat povrchový náboj (získání pozitivního náboje)
- Posílení pozitivní reakce s extracelulární matricí (bílkoviny a neproteinové látky, metabolity nebo ionty)
- Potenciál pro zvýšení buněčné adheze a proliferace

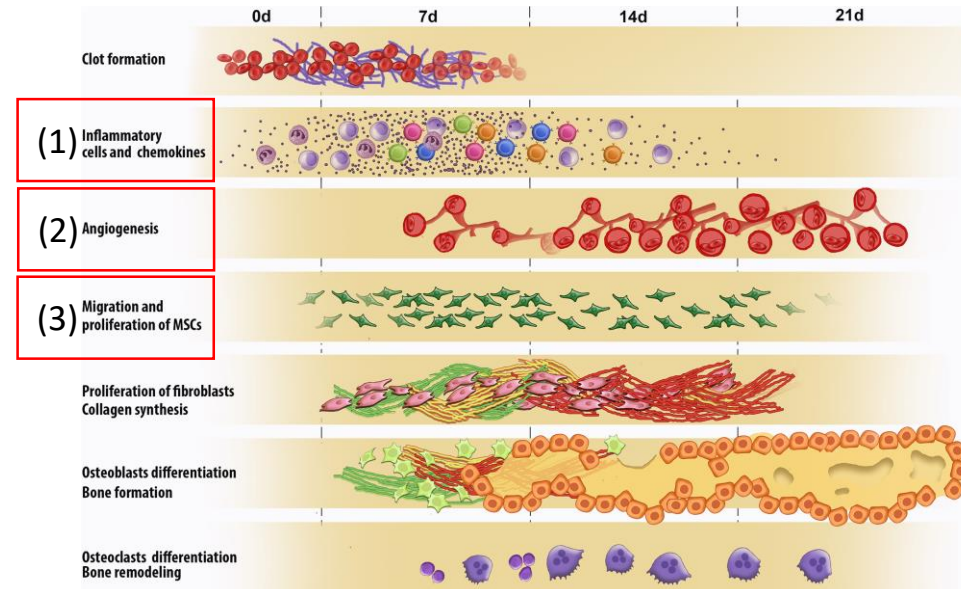
- Zohlednění pacientů s **osteoporotickými kostmi**: začlenění nové buněčné kohorty :
- **Mezenchymální kmenové buňky** od pacientů s
 - **Věk nad 70 let, „zdravý“**
(pokles hustoty kostí se zvyšujícím se věkem)
 - **Věk nad 70 let s osteoporózou**
(výrazně snížená hustota kostí, špatná regenerace kostí)



https://www.sprechzimmer.ch/Krankheitsbilder/Schenkelhalsbruch_Schenkelhalsfraktur.html

- **Imunitní a vaskulární buňky jsou nezbytné pro regeneraci kostí**
 - Podrobná analýza chování buněk na našich nových površích:
 - **Imunitní buňky (1)**
 - **Cévní buňky (2)**
 - Simulace přirozeného složení buněk v místě implantace a analýza komplexní buněčné odpovědi
 - **Kokultury** kmenových buněk, imunitních buněk, vaskulárních buněk

Časová sekvence typů buněk zapojených do hojení kostí



Pochopení buněčného chování osteoporotických kmenových buněk

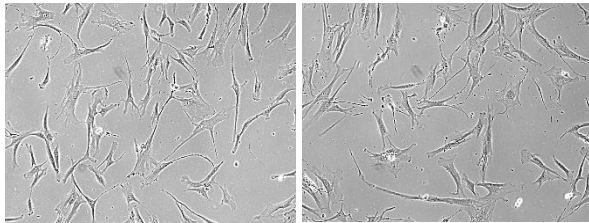
- na úrovni mRNA prostřednictvím analýzy genové exprese genů relevantních pro kosti (např. Runx2, Osterix, Osteopontin, Osteonektin, Osteokalcin, Kolagen Typ 1 Col1, Alkalická fosfatáza, Kostní sialoprotein)
- na úrovni bílkovin prostřednictvím analýz proteinové exprese, jako je sekrece kolagenu (specifické pro kosti, úzké spojení s mineralizací) pomocí ELISA
- Analýza procesu mineralizace a účinnosti mineralizace

Porozumění chování cévních buněk

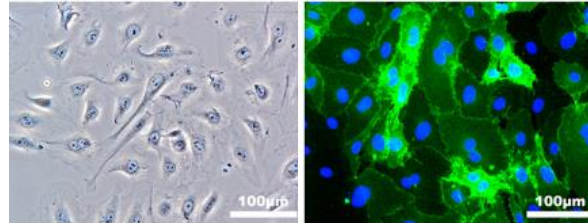
- Analýza tvorby / rozvětvení cév (analýza trubice / rozvětvení)
- Kontaktní analýza buňka-buňka
- Kontrola exprese proteinu specifického pro cévy (CD31, kolagen IV, endomucin)
- Využití zavedeného modelového systému primárních buněk ze žíly pupeční šňůry k výzkumu funkce endoteliálních buněk: HUVEC (lidské buňky endotelu z pupečníkové žíly)

Pochopení reakcí imunitních buněk

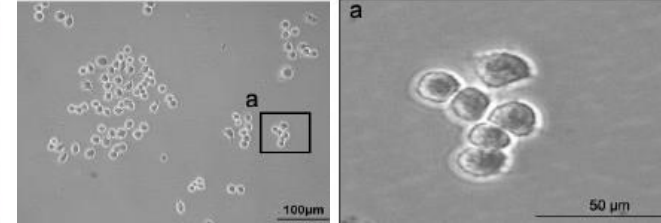
- Použití buněčné linie lidských makrofágů
- Analýza aktivity makrofágů (např. analýzou produkce NO)
- Imunocytochemie pro specifické povrchové markery makrofágů (např. CD68, CD80, CD163)
- Adheze buněk
- Proliferace buněk



Lidské mezenchymální kmenové buňky pacientů s osteoporózou (UKR ve spolupráci s LMU, Dr. Saller)



Cévní buňky (HUVEC, endoteliální buňky lidské pupečníkové žíly, Yin a kol. 2018)



Imunitní buňky (Makrofágy, RAW264.7, Sirine Baccar 2020)

Pochopení komplexního buněčného chování kmenových, vaskulárních a imunitních buněk v kokultuře na organicko-anorganicky funkcionalizovaných kovových površích

- Adheze buněk
- Buněčná vitalita
- Morfologie

- Interakce vaskulární - imunitní - kostní buňky
- Umístění buněk
- Fagocytující procesy

- Expresní analýza genů a proteinů specifických pro kostní tkáň
- Testy mineralizace
- SEM analýza a časosběrné záznamy

➤ **Hlavní hypotéza:**

Interakce organicko-anorganicky funkcionalizovaných materiálů působí proti osteoporotickému fenotypu kmenových buněk.

➤ **Krok 1:**

Vytvoření protokolu pro organickou funkcionalizaci povrchů a produkci nanočástic. Výroba modelů pro testování buněk. Kultivace a validace kohorty kmenových buněk (osteoporotických / zdravých), imunitních buněk a vaskulárních buněk.

➤ **Krok 2:**

Kontrola biokompatibility organicky funkcionalizovaných povrchů (reakce s proteiny, ionty atd.) a generovaných nanočástic. Analýza buněčného chování kmenových buněk (kontrola, zda se deficitní fenotyp zlepšuje), imunitních buněk a cévních buněk na generovaných površích.

➤ **Krok 3:**

Výběr optimálního povrchového chemického a fázového složení a kokultury kmenových, imunitních a vaskulárních buněk.

DALŠÍ CÍLE: WORKSHOPY A SEMINÁŘE

- Workshop s prezentacemi a praktickými aplikacemi (v polovině projektu)
- Virtuální studijní seminář pro studenty o metodách a technologiích
 - Pro studenty z Řezna a Plzně
- Společné závěrečné sympozium na konci roku 2022
- Pracovní setkání pro společné plánování a diskusi o výstupu ve virtuálním formátu



DALŠÍ OČEKÁVANÉ ÚSPĚCHY

- Definice parametrů pro přípravu inovativně funkcionalizovaných povrchů implantátů pro ošetření osteoporotické kosti.
- Příprava preklinických testů pro následnou možnost testování modelů implantátů in vivo.
- Další společné publikace týkající se nových aspektů výzkumu.
- Propagace programu financovaného EU prostřednictvím workshopů, seminářů, webových stránek atd.
- Pokračování dobré přeshraniční spolupráce se slibnými výstupy.