

Využití piezoelektrických materiálů v regenerativní medicíně

Lucia Kubačková

Bakalářská práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Lucia Kubačková
Osobní číslo: T22097
Studijní program: B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace: Biomateriály a kosmetika
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Využití piezoelektrických materiálů v regenerativní medicíně

Zásady pro vypracování

Teoretická část:

Zpracujte literární přehled zaměřený na piezoelektrické materiály a jejich vlastnosti.
Zaměřte se na základní principy piezoelektrického jevu, typy piezoelektrických materiálů a jejich využití v biomedicíně.
Popište využití piezoelektrických materiálů v regenerativní medicíně.
Soustřeďte se na konkrétní aplikace, jako je podpora hojení kostí, svalů a nervových tkání, a jak mohou tyto materiály stimulovat buněčný růst a diferenciaci.

Praktická část:

Seznamte se s prací v biologických laboratořích.
Vyhodnotte účinek piezoelektrických materiálů na buněčnou proliferaci.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] RAJABI A. H. et. al. "Piezoelectric materials for tissue regeneration: A review", Acta Biomaterialia, 2015, doi: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.07.010>
- [2] RIBEIRO C. et. al. "Piezoelectric polymers as biomaterials for tissue engineering applications", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2015, doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.08.043>
- [3] ATALA A. "Regenerative medicine strategies", Journal of Pediatric Surgery, 2012, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2011.10.013>
- [4] LEE S. J. "Biomaterials and Tissue Engineering", Clinical Regenerative Medicine in Urology, 2018, doi: https://doi.org/10.1007/978-981-10-2723-9_2
- [5] NAJJARI A. et. al. "Smart piezoelectric biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine: a review", Bio-medical Engineering, 2022, doi: <https://doi.org/10.1515/bmt-2021-0265>

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Marie Schrammová**
Centrum polymerních systémů

Datum zadání bakalářské práce: **17. února 2025**

Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – bakalářskou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

- jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem řádně citovala; v případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Cílem této bakalářské práce bylo zhodnotit biologickou odpověď buněk na piezoelektrický polymer poly(vinylidenfluorid-ko-hexafluorpropylen) (PVDF-HFP) s různou povrchovou úpravou. Teoretická část popisuje princip piezoelektrického jevu, jeho výskyt v biologických tkáních a vlastnosti materiálů s potenciálním využitím v regenerativní medicíně. Experimentální část se zaměřuje na hodnocení proliferace myších embryonálních fibroblastů NIH/3T3 a myších embryonálních kmenových buněk ES R1. Proliferace byla sledována pomocí konfokální laserové mikroskopie. Fibroblasty vykazovaly dobrou adhezi a růst, zatímco kmenové buňky reagovaly minimálně. Výsledky naznačují, že PVDF-HFP může sloužit jako bioaktivní substrát vhodný pro aplikace v regenerativní medicíně.

Klíčová slova: piezoelektrické materiály, regenerativní medicína, PVDF-HFP, proliferace, kmenové buňky, fibroblasty

ABSTRACT

The aim of this bachelor's thesis was to evaluate the biological response of cells to the piezoelectric polymer poly(vinylidene fluoride-co-hexafluoropropylene) (PVDF-HFP) with different surface modifications in the context of regenerative medicine. The theoretical part describes the principle of the piezoelectric effect, its occurrence in biological tissues, and the properties of piezoelectric materials with potential applications in biomedicine. The experimental section focuses on assessing the proliferation of mouse embryonic fibroblasts NIH/3T3 and mouse embryonic stem cells ES R1 cultured on surface-modified PVDF-HFP films. Cell proliferation was evaluated using confocal laser scanning microscopy. Fibroblasts showed strong adhesion and proliferation, while stem cells exhibited minimal attachment and limited response. These results suggest that PVDF-HFP has potential as a bioactive substrate suitable for regenerative medicine applications.

Keywords: piezoelectric materials, regenerative medicine, PVDF-HFP, cell proliferation, stem cells, fibroblasts

Veľmi rada by som poďakovala vedúcej bakalárskej práce Ing. Marii Schrammovej z Centra polymérnych systémov Univerzity Tomáša Baťa v Zlíne za odborné vedenie, cenné rady a priateľskú atmosféru počas celého spracovania práce. Zároveň si vysoko cením pomoc Ing. Kateřiny Skopalovej, Ph.D., ktorá mi poskytla odborné konzultácie, metodické usmernenie a venovala mi svoj čas pri realizácii experimentálnej časti.

Podakovanie patrí aj mojej rodine, priateľom a blízkym za ich trpezlivosť, povzbudenie a morálnu podporu počas celého štúdia.

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČASŤ	12
1 REGENERATÍVNA MEDICÍNA.....	13
1.1 HISTORICKÉ MÍENIKY	13
1.2 KĽÚČOVÉ METÓDY REGENERATÍVNEJ MEDICÍNY	14
1.2.1 Bunková terapia.....	14
1.2.2 Tkanivové inžinierstvo.....	15
1.2.3 Imunomodulácia.....	16
2 PIEZOELEKTRICKÉ MATERIÁLY	17
2.1 PIEZOELEKTRICKÝ JAV	17
2.1.1 Princíp	18
2.2 PIEZOELEKTRICKOSŤ V ĽUDSKOM TELE.....	19
2.2.1 Význam ECM.....	19
2.2.2 Piezoelektrické vlastnosti ľudských štruktúr.....	20
2.3 KLASIFIKÁCIA PIEZOELEKTRICKÝCH MATERIÁLOV	22
2.3.1 Piezoelektrická keramika	22
2.3.2 Piezoelektrické polyméry.....	24
2.3.3 Piezoelektrické kompozity	26
3 PIEZOELEKTRICKÉ MATERIÁLY V REGENERATÍVNEJ MEDICÍNE	27
3.1 KOSTNÉ TKANIVO.....	27
3.2 NERVOVÉ TKANIVO.....	31
3.3 KOŽA.....	34
II PRAKTICKÁ ČASŤ	39
4 CIEĽ PRÁCE.....	40
5 MATERIÁL A METODIKA.....	41
5.1 POUŽITÉ PRÍSTROJE A POMÔCKY	41
5.2 BUNKOVÉ KULTÚRY A MÉDIUM.....	41
5.3 MATERIÁL PVDF-HFP	42
6 EXPERIMENT	43
6.1 KULTIVÁCIA A PASÁŽOVANIE BUNIEK	43
6.1.1 Myšie embryonálne fibroblasty.....	43
6.1.2 Myšie embryonálne kmeňové bunky	43
6.2 TEST CYTOTOXICITY – MTT TEST	44
6.3 PROLIFERÁCIA A FARBENIE BUNIEK.....	45
7 VÝSLEDKY A DISKUSIA.....	47

7.1	HODNOTENIE CYTOTOXICITY.....	47
7.2	HODNOTENIE PROLIFERÁCIE BUNIEK	47
ZÁVER.....		53
ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY		54
ZOZNAM OBRÁZKOV		64
ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK		65

ÚVOD

Biologické systémy disponujú schopnosťou obnovy poškodenej štruktúry prostredníctvom koordinovanej interakcie buniek, signálnych dráh a extracelulárnej matrice (ECM). Pri rozsiahlejších poraneniach alebo chronických ochoreniach však tieto procesy často nestačia. Regeneratívna medicína preto rozvíja prístupy zamerané na podporu a riadenie obnovy tkaniva prostredníctvom bunkovej terapie, rastových faktorov a biologicky aktívnych nosičov, ktoré ovplyvňujú správanie buniek a stimulujú regeneráciu [1].

V tejto oblasti sa osobitná pozornosť venuje elektroaktívnym biomateriálom schopným sprostredkovať endogénne stimuly bez vonkajšieho napájania. Medzi najvýznamnejšie patria materiály s piezoelektrickými vlastnosťami, ktoré konvertujú mechanické deformácie na elektrické impulzy [2].

Piezoelektrický efekt je prirodzenou súčasťou ľudských tkanív s vysokým obsahom kolagénu, ako sú kosti, väzy, šľachy a dentín. V dôsledku mechanického zaťaženia v nich vznikajú slabé elektrické signály, ktoré ovplyvňujú správanie buniek a prispievajú k regenerácii. Tento princíp sa stal základom vývoja syntetických biomateriálov schopných generovať elektrickú stimuláciu už pri nízkej úrovni fyziologických podnetov, ako je pohyb či dýchanie. Vďaka svojej biokompatibilite, mechanickej stabilite a možnosti povrchových úprav a schopnosti aktivovať intracelulárne dráhy môžu tieto materiály podporovať obnovu funkcie poškodených tkanivových štruktúr [3]. Ich účinok bol preukázaný v *in vitro* aj *in vivo* podmienkach, predovšetkým pri regenerácii periférnych nervov, kostného tkaniva a kože. Výrazné výsledky priniesli aj nedávne *in vivo* experimenty v oblasti centrálného nervového systému (CNS), kde biodegradovateľné scaffoldy bez potreby externého napájania podporili diferenciáciu neurálnych kmeňových buniek a obnovu štruktúr miechy [4]. Ďalším inovatívnym prístupom je využitie piezoelektrických nanočastíc, ktoré generujú terapeutické elektrické impulzy presne cielené na postihnuté tkanivá. Táto technológia umožňuje presnú stimuláciu, čím výrazne zvyšuje efektívnosť regeneračných terapií. Tieto prístupy, od biodegradovateľných scaffoldov až po pokročilé nanočastice, ilustrujú široké možnosti piezoelektrických materiálov pri vývoji personalizovaných stratégií regenerácie tkanív [5].

Praktická časť práce sa zameriava na hodnotenie proliferácie myších embryonálnych fibroblastov NIH/3T3 a myších embryonálnych kmeňových buniek ES R1 v kontakte s fóliami z PVDF-HFP s rôznou povrchovou úpravou.

I. TEORETICKÁ ČASŤ

1 REGENERATÍVNA MEDICÍNA

Regeneratívna medicína je inovatívny odbor zameraný na obnovu, opravu alebo náhradu poškodených tkanív a orgánov prostredníctvom pokročilých biotechnologických postupov a buniek s regeneračným potenciálom. Jej základom je využitie prirodzených hojivých mechanizmov tela alebo tvorba biologických náhrad, ktoré dokážu obnoviť narušenú funkciu [1]. Ide o multidisciplinárnu oblasť, ktorá prepája poznatky z biológie, inžinierstva a materiálovej vedy s cieľom navrhnuť nové terapeutické prístupy. V porovnaní s tradičnými metódami, ako je transplantácia, prináša viaceré výhody. Jednou z nich je možnosť obísť problém nedostatku darcovských orgánov [6]. Namiesto spoliehania sa na darcov možno využiť vlastné bunky pacienta, napríklad kmeňové, na opravu poškodeného tkaniva. Tým sa znižuje riziko imunitnej odpovede, ktorá často vedie k odmietnutiu transplantátu. Zároveň klesá potreba dlhodobej imunosupresívnej liečby, ktorá môže organizmus výrazne zaťažovať [7].

1.1 Historické míľniky

K rozvoju regeneratívnej medicíny prispel výskum kanadských vedcov Ernesta McCullocha a Jamesa Tilla v roku 1961. Preukázali existenciu hematopoetických kmeňových buniek schopných obnovovať krvotvorné tkanivá. Ich práca sa stala východiskovým bodom pre ďalší vývoj bunkovej regenerácie a rozšírila možnosti ich využitia v klinickej praxi [8].

Následne v roku 1998 americký vedec James Thomson po prvýkrát úspešne izoloval ľudské embryonálne kmeňové bunky (hESCs). Tento prelom umožnil ich kultiváciu a otvoril nové možnosti pri vývoji liečby závažných ochorení. Skutočnosť, že sa hESCs získavali z ľudských embryí, vyvolala etickú diskusiu, ktorá presiahla hranice vedeckej komunity [9].

Významný posun v oblasti regeneratívnej medicíny nastal v roku 2006, keď japonský vedec Shinya Yamanaka preukázal, že dospelé bunky, napríklad fibroblasty, možno reprogramovať do pluripotentného stavu. Tak vznikli indukované pluripotentné kmeňové bunky (iPSCs), ktoré kombinujú vlastnosti hESCs s výhodou neinvazívneho získavania z dospelých buniek. Týmto prístupom sa podarilo obísť viaceré etické bariéry a zároveň sa otvoril nový priestor pre výskum a klinické využitie [10]. Vďaka schopnosti regenerovať poškodené tkanivá sa iPSCs bunky stali objektom intenzívneho záujmu v súvislosti s ich terapeutickým potenciálom [9].

1.2 Kľúčové metódy regeneratívnej medicíny

Na rozdiel od tradičných terapeutických prístupov, ktoré sa zameriavajú najmä na zmiernenie symptómov, regeneratívna medicína podporuje prirodzené hojivé procesy tela. Využíva metódy bunkovej biológie, genetiky a tkanivového inžinierstva, pričom kombinuje rôzne typy buniek, biomateriálov a biologicky aktívnych molekúl na podporu regenerácie. Jednotlivé prístupy majú špecifické uplatnenie a spoločne prispievajú k efektívnemu obnovovaniu tkanív a orgánov [7].

1.2.1 Bunková terapia

Bunková terapia patrí medzi hlavné piliere regeneratívnej medicíny a zameriava sa na obnovu poškodených tkanív prostredníctvom buniek s regeneračným potenciálom. Jej prednosťou je schopnosť nahradiť stratené alebo poškodené bunky bez potreby invazívnych chirurgických zákrokov či transplantácií [11].

Medzi najpoužívanéjšie typy buniek v tejto oblasti patria:

- **Ľudské embryonálne kmeňové bunky (hESCs)** sú pluripotentné bunky izolované z ľudských embryí. Majú schopnosť diferencovať sa na akýkoľvek typ bunky v tele, čo im dáva výnimočný regeneračný potenciál. Tieto bunky sú obzvlášť sľubné pri regenerácii nervového a srdcového tkaniva. hESCs sa skúmajú v súvislosti s neurodegeneratívnymi ochoreniami, ako je Parkinsonova choroba, kde by mohli pomôcť obnoviť stratené neuróny, a v prípadoch zlyhania srdca môžu regenerovať poškodené bunky myokardu [12].
- **Indukované pluripotentné kmeňové bunky (iPSCs)** sú získavané reprogramovaním dospelých somatických buniek na pluripotentný stav. iPSCs sa využívajú predovšetkým v personalizovanej medicíne, keďže umožňujú vytvárať tkanivá špecifické pre jednotlivých pacientov, čím sa znižuje riziko imunitných reakcií. iPSCs majú sľubné aplikácie pri liečbe neurodegeneratívnych ochorení, ako je Parkinsonova a Alzheimerova choroba, ako aj pri regenerácii srdcového tkaniva po infarkte myokardu [10]. V roku 2016 bola úspešne vykonaná klinická štúdia, kde iPSCs pomohli regenerovať srdcové bunky u pacientov po infarkte, čo dokazuje ich obrovský potenciál v kardiovaskulárnej medicíne [11].

- **Mezenchymálne kmeňové bunky (MSCs)** sú multipotentné a nachádzajú sa v rôznych tkanivách ako je kostná dreň, tukové tkanivo alebo pupočníková krv. Ich aplikácia je sľubná najmä pri regenerácii muskuloskeletálnych štruktúr a autoimunitných ochoreniach [11].
- **Hematopoetické kmeňové bunky (HSCs)** sa používajú predovšetkým pri liečbe krvných ochorení, ako sú leukémia a lymfóm. HSCs sú schopné obnoviť krvotvorné tkanivá a sú základom pre transplantácie kostnej drene, ktoré sa bežne používajú na liečbu hematologických ochorení [8].
- **Neurálne kmeňové bunky (NSCs)** majú schopnosťou diferencovať sa na neuróny a gliové bunky, čo z nich robí vhodný nástroj v terapii poranení CNS a neurodegeneratívnych ochorení [12]. Aktuálny výskum sa zameriava na využitie NSCs pri liečbe Parkinsonovej choroby a poranení miechy. Na podporu ich diferenciácie a integrácie do poškodeného nervového tkaniva sa testujú 3D piezoelektrické nosiče. Tie v reakcii na mechanický stres vytvárajú elektrické impulzy, a tým aktivujú bunkové mechanizmy potrebné pre regeneráciu tkaniva [13].

Jednou z pokročilých metód je autológna bunková terapia, ktorá využíva bunky pacienta [12]. Tento prístup výrazne znižuje riziko imunitnej reakcie a odmietnutia transplantátu. V prípade, že pacientove bunky nie sú dostupné alebo vhodné, možno použiť alogénnu bunkovú terapiu, ktorá využíva bunky darcu [14]. Genetická modifikácia buniek navyše poskytuje nové možnosti na zvýšenie ich schopnosti obnovovať poškodené tkanivá a odolávať nepriaznivým podmienkam [12].

Hoci bunková terapia ponúka značný potenciál, jej praktické využitie sprevádzajú viaceré výzvy. Jednou z nich je zabezpečenie dlhodobej životaschopnosti transplantovaných buniek, ktoré musia nielen prežiť, ale aj funkčne integrovať do hostiteľského tkaniva, aby sa dosiahol požadovaný terapeutický účinok [11]. Ďalším rizikom je teratogenéza alebo tvorba nádorových buniek, čo sa môže vyskytnúť najmä pri použití pluripotentných kmeňových buniek. Z tohto dôvodu je nevyhnutné zavádzať kontrolné opatrenia, ktoré minimalizujú tieto riziká. Napriek tomu zostáva vývoj bezpečných a účinných bunkových stratégií jednou z kľúčových výziev personalizovanej medicíny [14].

1.2.2 Tkanivové inžinierstvo

Zatiaľ čo bunková terapia sa zameriava na regeneráciu pomocou živých buniek, tkanivové inžinierstvo kombinuje tieto bunky s biomateriálmi a technológiami na vytváranie nových

funkčných tkanív. Tento prístup umožňuje nielen opraviť, ale aj nahradiť poškodené tkanivá. Kľúčovým prvkom tkanivového inžinierstva sú scaffoldy – nosné štruktúry, ktoré poskytujú bunkám fyzickú podporu potrebnú na vytvorenie nového tkaniva [12]. Scaffoldy môžu byť vyrobené z biokompatibilných materiálov, ktoré napodobňujú prirodzenú ECM [15]. Používajú sa napríklad v regenerácii kostí, chrupavky alebo kože, kde poskytujú podporu pre bunkovú proliferáciu a organizáciu tkanív [12].

Moderné technológie, ako je 3D biotlač, umožňujú presné modelovanie a vytváranie trojrozmerných štruktúr tkanív, čo výrazne zlepšuje priestorovú organizáciu buniek. Vďaka tejto technológii je možné vytvárať implantovateľné tkanivá šité na mieru pre pacientov, čím sa zvyšuje úspešnosť regenerácie [16]. Scaffoldy môžu byť navyše obohatené o rastové faktory, ktoré stimulujú bunkový rast a diferenciáciu, čím urýchľujú proces hojenia. Praktické využitie tkanivového inžinierstva už prinieslo sľubné výsledky, napríklad v regenerácii kože pri popáleninách alebo regenerácii chrupavky v kĺboch. Kombinácia bunkovej terapie a scaffoldov sa stáva čoraz populárnejšou stratégiou, najmä pri regenerácii zložitých tkanív, ako sú šľachy, svaly a cievy [12].

1.2.3 Imunomodulácia

Imunomodulácia je neoddeliteľnou súčasťou regeneratívnej medicíny, pretože kontrola imunitnej odpovede je kľúčová pri úspešnej transplantácii buniek alebo tkanív. Imunitný systém môže často odmietnuť transplantované bunky alebo spôsobiť zápal, čo znižuje úspešnosť liečby [11].

MSCs sa ukázali byť veľmi efektívnym nástrojom v imunomodulácii [17]. Ich účinnosť spočíva v produkcii imunomodulačných molekúl, medzi ktoré patria najmä protizápalové cytokíny, ako je transformujúci rastový faktor-beta (TGF- β , transforming growth factor beta) a interleukín-10 (IL-10). Tieto molekuly regulujú imunitnú odpoveď tak, že potláčajú zápal a podporujú prijatie štepu organizmom. V dôsledku toho MSCs vytvárajú priaznivé prostredie, ktoré znižuje riziko odmietnutia implantovaného materiálu a minimalizuje zápalové reakcie, ktoré by mohli poškodiť regenerované tkanivá [11]. Tento princíp sa využíva predovšetkým pri liečbe autoimunitných ochorení a zápalových procesov, kde je potrebné regulovať imunitnú odpoveď a zároveň podporiť regeneráciu poškodených tkanív [17].

2 PIEZOELEKTRICKÉ MATERIÁLY

Piezoelektrické materiály predstavujú špecifickú skupinu látok, ktoré pri mechanickej deformácii generujú elektrický náboj. Keďže ich činnosť nevyžaduje externý zdroj energie, sú sľubnými kandidátmi na rôzne aplikácie v biomedicínskom inžinierstve [2]. Z fyzikálneho hľadiska sú mimoriadne citlivé na mechanické podnety, vrátane dýchania, tlkotu srdca či telesných pohybov, pričom aj malé deformácie môžu vyvolať výraznú elektrickú odozvu. Táto precíznosť ich predurčuje na využitie v senzoroch a kalibrovaných prístrojoch [18]. Väčšina piezoelektrických materiálov sa vyznačuje dobrou mechanickou odolnosťou. Hoci tvrdosť a pružnosť sa líšia v závislosti od konkrétneho materiálu, vo všeobecnosti dokážu odolávať vysokému zaťaženiu a opakovanému používaniu. Stabilita v rôznych podmienkach, vrátane extrémnych teplôt, prispieva k ich spoľahlivosti. Navyše, ich nízka spotreba energie je kľúčovou vlastnosťou pri aplikáciách v malých, energeticky nezávislých zariadeniach, ako sú nositeľné elektronické systémy alebo implantáty. Niektoré z týchto materiálov vykazujú aj pyroelektrický efekt, čo rozširuje ich možnosti využitia v špecifických aplikáciách [19]. Tieto materiály dokážu generovať nízkoúrovňové elektrické prúdy v cieľovom tkanive, čím napodobňujú endogénne pole organizmu. Tento jav podporuje intracelulárnu komunikáciu, transport iónov a prenos nervových impulzov. Ich aktivácia môže prebiehať aj prostredníctvom vibrácií alebo ultrazvuku, čo z nich robí udržateľné a autonómne riešenie v medicíne. Vďaka citlivosti na mechanické podnety sa využívajú v terapii a stimulácii tkanív [20]. Ich široké uplatnenie zahŕňa biomedicínske zariadenia, ako sú senzory, kochleárne implantáty, kardiostimulátory a ďalšie technológie podporujúce obnovu telesných funkcií [21].

2.1 Piezoelektrický jav

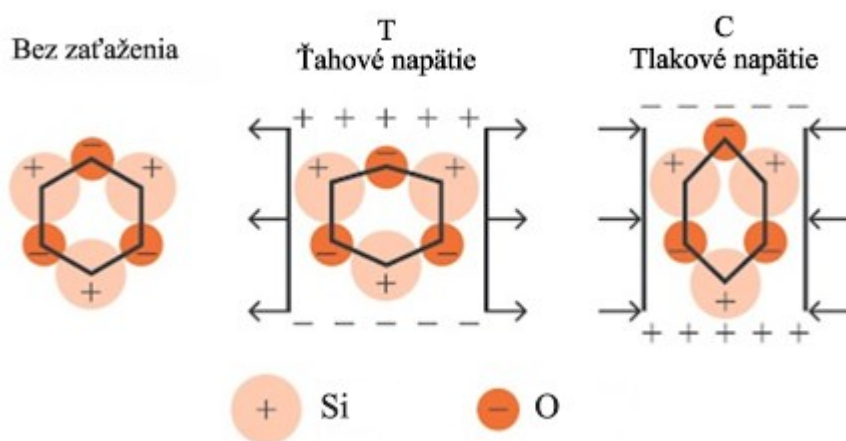
Piezoelektrický jav bol objavený v roku 1880 bratmi Jacquesom a Pierreom Curieovcami. Zistilo sa, že určité kryštalické materiály, ako napríklad kremeň či turmalín, dokážu generovať elektrický náboj, keď sú mechanicky stlačené alebo natiahnuté [22]. Tento objav sa považuje za kľúčový moment vo fyzike, pretože otvoril nové oblasti výskumu v materiálových vedách. Ukázalo sa, že piezoelektrický efekt vzniká v materiáloch, ktorých kryštalická štruktúra nemá centrovanú symetriu. Práve táto absencia symetrie spôsobuje nerovnováhu elektrických nábojov pri deformácii materiálu [23]. Táto fyzikálna vlastnosť umožňuje využitie piezoelektrických materiálov v regeneratívnej medicíne, kde generované elektrické polia podporujú rast a obnovu tkanív [24].

2.1.1 Princíp

Piezoelektrický materiál, ako napríklad kremeň, sa vo voľnom stave bez pôsobenia mechanického tlaku nachádza v rovnovážnej polohe. V takejto konfigurácii sa kladné a záporné náboje v jeho kryštálovej štruktúre navzájom kompenzujú, v dôsledku čoho je výsledný elektrický náboj nulový [25].

Kryštálová štruktúra kremeňa patrí do trigonálnej sústavy a je tvorená tetraédrami SiO_4 , ktoré sú usporiadané do špirálovitej konfigurácie. Práve táto asymetrická štruktúra je príčinou piezoelektrických vlastností materiálu, pretože neobsahuje stred symetrie [26].

Pôsobením mechanického tlaku na kryštál sa naruší rovnovážne usporiadanie nábojov v kryštálovej mriežke (Obrázok 1). Kladné náboje sa na vrchnej strane kryštálu posunú horizontálne, čím sa stred kladného náboja presunie nahor. Súčasne sa zmení poloha záporných nábojov, pričom ich stred sa posunie smerom nadol. Preskupenie nábojov vo vnútri kryštálovej štruktúry vytvára nerovnováhu a spôsobuje polarizáciu kryštálu. Následne sa na povrchu materiálu hromadia náboje, čím vzniká elektrické pole [27].



Obrázok 1 Posun nábojov pri mechanickom zaťažení na kryštál

(zdroj: [28])

Intenzita elektrického poľa, ktoré vzniká pri pôsobení mechanickej sily, závisí od citlivosti materiálu na mechanické zaťaženie. Táto citlivosť sa vyjadruje piezoelektrickým koeficientom, ktorý udáva aký elektrický náboj sa vytvorí pri aplikovaní mechanickej sily alebo aká deformácia nastane pri pôsobení elektrického poľa. Materiály s vyšším piezoelektrickým koeficientom generujú pri rovnakej sile väčšie elektrické napätie [29].

Tento jav, pri ktorom sa mechanické napätie premieňa na elektrickú energiu, sa označuje ako priamy piezoelektrický efekt. S rastúcim mechanickým zaťažením sa zvyšuje aj intenzita vzniknutého elektrického poľa. Naopak, inverzný piezoelektrický efekt spočíva v tom, že aplikované elektrické pole vyvolá mechanickú deformáciu materiálu. Tento reverzný proces je dôležitý najmä pri konštrukcii akčných členov a v biomedicínskych zariadeniach, kde sa elektrický impulz využíva na stimuláciu mechanických pohybov alebo vibrácií materiálov [30].

2.2 Piezoelektrickosť v ľudskom tele

Vlastnosť nazývaná piezoelektrickosť je rozšírená v živom tkanive a má zásadný význam pre mnohé fyziologické procesy. Nachádza sa predovšetkým v štruktúrach ako sú kosti, šľachy, chrupavky, väzy, dentín, kolagén, elastín a DNA. Tieto štruktúry vďaka svojim elektroaktívnym vlastnostiam podporujú dôležité bunkové procesy ako sú proliferácia, diferenciácia a migrácia buniek, ktoré sú nevyhnutné pre regeneráciu tkanív [31].

2.2.1 Význam ECM

ECM zohráva kľúčovú úlohu v piezoelektrických procesoch prebiehajúcich v ľudskom tele. Táto komplexná sieť proteínov a polysacharidov umožňuje generovanie elektrických signálov prostredníctvom vlastností svojich komponentov, predovšetkým kolagénu [3].

Mechanické sily pôsobiace na ECM vyvolávajú náboje, ktoré prostredníctvom integrínov sprostredkujú interakciu s bunkami. Tieto signály zohrávajú zásadnú úlohu pri koordinácii bunkových odpovedí na mechanické podnety [32]. Okrem mechanických vlastností významne ovplyvňuje tento jav aj biochemické prostredie ECM. Signálne molekuly a rastové faktory zosilňujú tieto impulzy, čím podporujú procesy ako proliferácia a diferenciácia buniek [33]. Napríklad dynamická mechanická záťaž medzistavcových platničiek preukázateľne zvyšuje produkciu proteínov ECM ako je kolagén typu II (COL II). To naznačuje, že mechanická stimulácia môže podporiť tvorbu komponentov s piezoelektrickými vlastnosťami [34].

Jednou z výnimočných vlastností tohto javu je jeho nezávislosť od životaschopnosti buniek. Štrukturálne vlastnosti ECM, najmä jej hlavného proteínu, kolagénu, umožňujú generovanie elektrických signálov aj v tkanivách s poškodenými alebo nekrotickými bunkami. Tento fakt experimentálne potvrdili Fukada a Yasuda (1957), ktorí skúmali piezoelektrické vlastnosti femuru človeka a vola po odstránení všetkých bunkových zložiek.

Vzorky od človeka boli niekoľko rokov sušené na vzduchu a následne dosušené v sušiarňi s prítomnosťou chloridu vápenatého. Vzorky od vola boli buď ohriate na 120 °C počas 5 hodín, alebo prevarené vo vode počas 2 hodín a následne vysušené. Napriek týmto tepelným úpravám, si kostné vzorky zachovali piezoelektrické vlastnosti, pričom namerané hodnoty koeficientov dosahovali približne 1/10 hodnoty piezoelektrického efektu v kremenných kryštáloch. Mechanické testy jednoznačne preukázali, že piezoelektrický jav v kostiach nie je podmienený metabolickou aktivitou buniek. Vzniká v dôsledku šmykového napätia pôsobiaceho na kolagénové vlákna a špecifickej štruktúry kolagénových fibríl [35].

2.2.2 Piezoelektrické vlastnosti ľudských štruktúr

Kolagén tvoriaci základ spojivových tkanív ako sú kosti, šľachy, väzy, zohráva kľúčovú úlohu v piezoelektrických procesoch. Jeho fibrilárna štruktúra a orientácia vlákien zásadne ovplyvňujú smer a intenzitu elektrických signálov. Molekula kolagénu je tvorená tromi polypeptidovými reťazcami usporiadanými do trojitej špirály, čo jej poskytuje vysokú pevnosť a stabilitu. Anizotropia tejto štruktúry spôsobuje, že piezoelektrická odpoveď závisí od smeru mechanického namáhania [36].

Mechanizmus tohto javu spočíva v posune vodíkových väzieb medzi polypeptidovými reťazcami, čo vedie k zmene elektrického potenciálu a vzniku náboja. Tento jav je zosilnený polárnymi funkčnými skupinami (hydroxylové a aminoskupiny), ktoré pri mechanickom napätí menia svoju orientáciu a spôsobujú posun nábojov. Simulácie naznačujú, že táto reorganizácia štruktúry umožňuje kolagénu prispôbiť sa dynamickým podmienkam [37].

Hustota a priestorová organizácia kolagénových fibríl významne ovplyvňujú ich piezoelektrické vlastnosti. Vyššia hustota fibríl zosilňuje piezoelektrický efekt, pretože zvyšuje počet polárnych skupín, ktoré sa podieľajú na tvorbe celkového dipólového momentu. Výskumy naznačujú, že piezoelektrická odozva kolagénu nie je homogénna, ale líši sa v závislosti od mikroštruktúrnych oblastí fibríl. Kolagénové vlákna sú usporiadané do dvoch odlišných oblastí – medzerovej zóny a zóny prekrytia. Medzerové zóny, ktoré sú dlhé približne 40 nm, sú menej kompaktné a obsahujú redšie usporiadané molekuly. Zóny prekrytia, dlhé okolo 27 nm, sú naopak hustejšie a organizovanejšie. Tieto rozdiely ovplyvňujú aj piezoelektrické vlastnosti. Medzerové zóny vykazujú vyšší piezoelektrický koeficient, pretože ich menej organizované usporiadanie umožňuje väčšiu pohyblivosť molekúl. Pri mechanickom zaťažení sa tieto oblasti deformujú intenzívnejšie, čím generujú viac elektrického náboja [38]. Predpokladá sa, že práve tieto zóny zohrávajú dôležitú úlohu

pri mineralizácii kostí. Elektrické signály vznikajúce v dôsledku piezoelektrického efektu môžu ovplyvniť rast a diferenciáciu osteoblastov, čím prispievajú k regulácii tvorby kostného tkaniva [39]. Tento mechanizmus súvisí aj s výsledkami Minary-Jolandan a Yu. Ich výskum ukázal, že nerovnomerné rozloženie elektrických nábojov v kolagénových fibrilách počas mechanického zaťaženia mení lokálne iónové prostredie. Táto zmena môže ovplyvniť rast a remodeláciu kostí. Variácie v distribúcii nábojov sú preto dôležitým faktorom pri regulácii buniek podieľajúcich sa na kostnej prestavbe [40].

Ďalším faktorom, ktorý výrazne ovplyvňuje piezoelektrické vlastnosti kolagénu, je priestorová orientácia vlákien. Zarovnanie fibríl v určitom smere môže zosilniť piezoelektrickú odozvu v dôsledku smerovej povahy elektrických dipólových momentov v rámci molekúl kolagénu. Maximálny piezoelektrický signál bol zaznamenaný pri sklone 45° k fibrilárnej osi, čo poukazuje na zložitý vzťah medzi orientáciou vlákien a piezoelektrikou. Tento smerovo závislý jav je obzvlášť dôležitý v tkanivách, ako sú šľachy, kde sú kolagénové fibrily usporiadané paralelne k smeru mechanického zaťaženia. Takéto zarovnanie optimalizuje nielen mechanické, ale aj piezoelektrické vlastnosti kolagénu, čím zabezpečuje jeho funkčnú adaptabilitu [41].

Piezoelektrické koeficienty kolagénu sa menia v závislosti od jeho štruktúrnej organizácie a stupňa mineralizácie. Štúdie uvádzajú, že piezoelektrická konštanta pre jednotlivé molekuly kolagénu dosahuje približne 1,1 pC/N, zatiaľ čo pre kolagénové mikrofibrily môže byť až 2,6 pC/N [42]. Táto variabilita zdôrazňuje význam hierarchickej štruktúry pri modulácii jeho elektromechanických vlastností. Preukázalo sa tiež, že mineralizovaný kolagén vykazuje zosilnenú piezoelektrickú odozvu, čo dokazuje experiment s ukladáním nanokryštálov uhličitanu strontnatého do kolagénových filmov. Výsledky potvrdili, že mineralizácia výrazne zvyšuje piezoelektrický efekt v porovnaní s nemodifikovaným kolagénom [43].

Fukada a Yasuda experimentálne skúmali piezoelektrické vlastnosti kolagénu na Achillových šľachách hovädzieho dobytká a koní. Vďaka vysokej orientácii fibríl bolo možné presne stanoviť piezoelektrické konštanty. Výsledky ukázali, že najvýraznejšia piezoelektrická aktivita nastáva pri šmykových deformáciách kolagénových vlákien. Zistilo sa tiež, že efekt je najsilnejší v suchom stave, pričom hydratácia ho oslabuje narušením fibrilárnej organizácie. Experimenty tiež preukázali, že pri zahriatí šľachy na 120°C sa piezoelektrické vlastnosti zachovali, ale pri vyšších teplotách došlo k tepelnému zmršteniu kolagénu, čo znemožnilo ďalšie merania [36].

Okrem kolagénu vykazujú tieto vlastnosti aj iné biomolekuly, ako napríklad DNA a RNA. Elektrické charakteristiky týchto nukleových kyselín môžu zohrávať úlohu v bunkovej signalizácii a ovplyvňovať expresiu génov ako odpoveď na mechanické podnety [44]. Tento fenomén je nevyhnutný pre procesy, ako sú regenerácia, remodelácia a komunikácia na bunkovej úrovni, čím prispieva k udržaniu homeostázy tkanív a organizmu [45].

2.3 Klasifikácia piezoelektrických materiálov

Piezoelektrické materiály sa na základe chemického zloženia delia na keramické, polymérne a kompozitné. Každá skupina má špecifické vlastnosti, ktoré určujú ich využitie v technických aj biomedicínskych aplikáciách. V tkanivovom inžinierstve sa využívajú ako nosné štruktúry, ktoré pri mechanickom namáhaní generujú elektrické impulzy. Tento efekt umožňuje stimuláciu buniek bez potreby externého zdroja energie, čím sa eliminuje riziko akumulácie produktov elektrolýzy a zvyšuje bezpečnosť implantátov. Elektrická aktivita vzniká pri prechodných deformáciách spôsobených migráciou buniek, ich adhézou alebo pohybom tela. Napriek týmto výhodám, ich biomedicínske využitie závisí od biokompatibility, mechanickej stability a schopnosti dlhodobej integrácie do biologického prostredia [46].

2.3.1 Piezoelektrická keramika

Piezoelektrická keramika je polykryštalický materiál, v ktorom každé zrno tvorí elektrickú doménu so spontánnou polarizáciou. Vďaka tejto štruktúre dosahuje vyšší piezoelektrický koeficient než kremeň a zároveň vyniká pevnosťou a tepelnou stabilitou. Je citlivá na mechanické podnety a efektívne premieňa mechanickú energiu na elektrickú, čo ju predurčuje na využitie v senzoroch, aktuátoroch a ultrazvukových zariadeniach [47]. Napriek týmto výhodám, je jej použitie ako biomateriálového scaffoldu obmedzené kvôli neodbúrateľnosti, cytotoxicite a nesúladu tuhosti s biologickými tkanivami. Preto sa skúmajú alternatívy s lepšou biokompatibilitou, ktoré zachovávajú piezoelektrické vlastnosti a zároveň sa mechanicky prispôsobujú biologickému prostrediu [48].

Titaničitán olovnato-zirkoničitý (PZT) je jedným z najpoužívanějších piezokeramických materiálov vďaka vysokému piezoelektrickému koeficientu (360 pC/N) a stabilite pri vysokých teplotách. Využíva sa v ultrazvukových sondách, tlakových snímačoch a piezoaktuátoroch. Napriek výhodám, má zásadné nevýhody – vysoký Youngov

modul a veľká hustota zvyšujú jeho krehkosť a znižujú citlivosť na nízko-frekvenčné vibrácie [49]. Obsahuje tiež 60 hm. % olova, ktoré je toxické a spája sa s neurotoxicitou, prenatálnymi poruchami a spomalením rastu u detí. Z dôvodu jeho toxicity a sprísňujúcich sa regulácií sa intenzívne skúmajú bezolovnaté alternatívy, ako titaničitan bárnatý, oxid zinočnatý, niobičnan draselný, lítium-sodno-draselný niobičnan a nanorúrky nitridu bóru [46].

Titaničitan bárnatý (BTO) patrí medzi prvé objavené piezokeramiky a vyznačuje sa vysokým piezoelektrickým koeficientom, dostupnosťou a jednoduchou výrobou. Makroskopický BTO je biokompatibilný, no jeho nanočastice môžu vyvolávať oxidačný stres, ktorý možno zmierniť bioaktívnymi povlakmi, ako je hydroxyapatit (HAp) alebo kolagén [50]. Tieto povlaky zároveň podporujú bunkový rast a väzbu na kostné tkanivo [51]. BTO sa skúma aj v onkológii pre schopnosť reagovať na kyslé mikroprostredie nádoru. V týchto podmienkach sa jeho nanočastice agregujú, čím zvyšujú katalytickú aktivitu. Pri ultrazvukovej stimulácii generujú reaktívne formy kyslíka (ROS), ktoré poškadzujú membrány nádorových buniek a spúšťajú apoptózu. *In vivo* štúdie na myšom modeli potvrdili, že táto kombinácia významne inhibuje rast nádoru bez poškodenia zdravých buniek [52].

Niobičnan draselný (KNN) a **niobičnan sodno-lítiový (LNKN)** sú perspektívne bezolovnaté piezokeramické alternatívy s piezoelektrickými koeficientmi o dva rády vyššími ako pri prirodzenej kostnej štruktúre. Výskumy preukázali, že KNN vykazuje 84 % životaschopnosť myších fibroblastov po 24 hodinách, zatiaľ čo LNKN dosahuje 58 %, pričom optimalizáciou pH možno hodnotu zvýšiť až na 72 %. Vyššia toxicita LNKN pravdepodobne súvisí s uvoľňovaním Li^+ iónov do kultivačného média [53]. Oba materiály majú potenciál pri regenerácii kostí a tkanív. LNKN stimuluje proliferáciu osteoblastov, čím podporuje rýchlejšiu obnovu kostného tkaniva [54]. KNN sa skúma aj pre riadené uvoľňovanie liečiv a opravu kostí, chrupaviek, kože a nervového tkaniva [3].

Oxid zinočnatý (ZnO) sa využíva v piezoelektrických nanogenerátoroch, ktoré premieňajú mechanickú energiu na elektrickú. Nachádza uplatnenie v biomedicínskych senzoroch a implantovateľných zariadeniach na monitorovanie vitálnych funkcií a napájanie implantátov [55]. Pri mikrometrových veľkostiach je biokompatibilný, no v nanoforme môže indukovať tvorbu ROS a vykazovať cytotoxicitu [3]. Napriek tomu sa ZnO skúma aj v tkanivovom inžinierstve, kde jeho nanočastice dispergované v polymérnych scaffoldoch spolu s hypoxiou podporujú syntézu chrupavkového tkaniva [56].

Nanorúrky nitridu bóru (BNNT) majú lepšie piezoelektrické vlastnosti ako bežné piezopolyméry. Štúdie preukázali, že biodegradovateľné polymérne scaffoldy s BNNT podporujú osteoblasty, no môžu znižovať adhéziu chondrocytov, fibroblastov a buniek hladkého svalstva, čo naznačuje ich potenciál v ortopedických aplikáciách [3]. Ciofani et al. preukázali, že BNNT implantované do buniek PC-12 a aktivované ultrazvukom stimulovali rast a diferenciáciu neuritov. Blokovanie vápnikových kanálov tento efekt oslabilo, čo poukazuje na úlohu vápnikových signálnych dráh pri diferenciácii neurónov. Tento mechanizmus môže byť využiteľný pri regenerácii nervového tkaniva [57].

Väčšina piezokeramík sa v biologických tekutinách čiastočne rozpúšťa. Zatiaľ čo uvoľňovanie olova z PZT predstavuje toxické riziko, materiály ako BTO, KNN a BNNT vykazujú nižšiu toxicitu a pri kontrolovanej biodegradácii môžu pozitívne ovplyvniť regeneráciu tkanív. Na minimalizáciu rizík sa piezoelektrické častice často enkapsulujú do polymérnych matric alebo sa kombinujú s keramickými kompozitmi na kontrolu iónového uvoľňovania [46].

2.3.2 Piezoelektrické polyméry

Obmedzenia piezokeramiky podnietili vývoj piezoelektrických polymérov, ktoré majú nižšiu hustotu, vyššiu flexibilitu a sú biokompatibilne modifikovateľné. Oproti keramike sú odolnejšie voči nárazom a majú nižšiu tuhosť, čo uľahčuje ich integráciu s mäkkými tkanivami. Využívajú sa v senzorocho, aktuátoroch a generátoroch energie. Piezoelektricitu polymérov je dôsledkom orientovaných molekulových dipólov, ktoré pri mechanickom namáhaní menia svoju polarizáciu, čím generujú elektrické napätie [48].

Polyvinylidénfluorid (PVDF) je jedným z najštudovanejších piezoelektrických polymérov vďaka vysokému piezoelektrickému koeficientu ($\sim 20 \text{ pC/N}$), chemickej stabilite a mechanickej pevnosti. Jeho piezoelektrické vlastnosti sú úzko spojené s obsahom β -fázy, ktorá má najsilnejší polárny moment. Pri elektrostatickom zvlákňovaní sa nepolárna α -fáza premieňa na β -fázu, čím sa zlepšujú piezoelektrické a mechanické vlastnosti materiálu. Nachádza uplatnenie v biosenzorocho, generátoroch energie a aktuátoroch. V regeneratívnej medicíne sa skúma jeho schopnosť podporovať osteogézu a regeneráciu svalov [46]. Martins et al. preukázali, že PVDF scaffoldy vystavené koronárnej polarizácii získali negatívny povrchový náboj, ktorý zlepšil adhéziu a proliferáciu myoblastov [58]. Okrem toho bolo dokázané, že PVDF môže stimulovať rast kosti na rozhraní kosť-implantát prostredníctvom inverzného piezoelektrického efektu [59].

Poly(vinylidénfluorid-trifluóretylén) P(VDF-TrFE) je kopolymér PVDF s trifluóretylénom, pričom dodatočné atómy fluóru stabilizujú β -fázu a zvyšujú piezoelektrický koeficient (~ 30 pC/N) [46]. Vyniká vysokou flexibilitou a výbornými piezoelektrickými vlastnosťami, vďaka čomu sa využíva v senzoroch, aktuátoroch a tkanivovom inžinierstve. Nanodrôtové senzory z P(VDF-TrFE) sa používajú v nositeľných zdravotníckych zariadeniach a intravaskulárnych katédroch na monitorovanie fyziologických parametrov, ako sú pulz a tlak [60]. Damaraju et al. preukázali, že elektrostaticky zvlákňované scaffoldy z P(VDF-TrFE) podporujú diferenciáciu MSCs na chondrocyty, čím môžu prispieť k regenerácii chrupavky [61].

Poly-L-mliečna kyselina (PLLA) je biokompatibilný a biodegradovateľný polymér so špirálovitou štruktúrou, ktorá umožňuje generovanie piezoelektrického efektu bez nutnosti pólovania [46]. Fukada et al. preukázali, že implantácia PLLA podporuje tvorbu kostného kalusu, pričom vyšší stupeň molekulárnej orientácie zvyšuje piezoelektrický náboj a môže tak stimulovať regeneráciu kosti [62]. V ortopédii sa využíva na výrobu degradovateľných implantátov, ako sú skrutky a kolíky, pričom je schválený úradom pre kontrolu potravín a liečiv. Degraduje sa hydrolyticky na kyselinu mliečnu, ktorá je netoxická a rozpustná vo vode, čím sa minimalizuje zápalová reakcia. V tkanivovom inžinierstve sa skúma ako scaffold pre regeneráciu kostného a nervového tkaniva. Barroca et al. preukázali, že polarizovaný povrch PLLA ovplyvňuje adsorpciu proteínov, čo môže zlepšiť bunkovú adhéziu a podporiť regeneráciu tkaniva [46].

Piezopolyméry sú perspektívne materiály pre biomedicínske aplikácie, avšak ich využitie limituje nízka piezoelektrická konštanta, mechanická a tepelná odolnosť, ako aj hydrofóbnosť, ktorá môže zhoršovať bunkovú adhéziu. Dlhodobé mechanické namáhanie môže navyše viesť k zníženiu stability a životnosti materiálu. Tieto nedostatky je možné čiastočne eliminovať úpravou štruktúry, napríklad orientáciou reťazcov alebo polarizáciou, prípadne kombináciou s biokompatibilnými materiálmi. Takéto modifikácie zlepšujú mechanické vlastnosti, piezoelektrickú aktivitu a biokompatibilitu, čím rozširujú možnosti ich využitia v regeneratívnej medicíne [48].

2.3.3 Piezoelektrické kompozity

Piezokompozity kombinujú vysoký piezoelektrický koeficient anorganických zložiek s flexibilitou a biokompatibilitou polymérov. Výsledkom sú materiály s lepšími mechanickými a elektrickými vlastnosťami, ktoré sa využívajú v tkanivovom inžinierstve a senzorike [63].

Elektrostatické zvlákňovanie síce podporuje tvorbu β -fázy v PVDF, no časom dochádza k relaxácii reťazcov, čo znižuje piezoelektrickú odozvu. Tento problém sa rieši zavedením plnív, ako je grafénový oxid alebo piezoelektrické keramické nanočastice (napr. PZT), ktoré stabilizujú β -fázu a zvyšujú výstupné napätie. PZT/PVDF kompozity tak spájajú vysokú piezoelektrickú aktivitu PZT s flexibilitou PVDF, vďaka čomu sú vhodné pre senzory a aktuátory [64].

Okrem PVDF sa skúmajú aj ďalšie polymérne matrice, napríklad polymetylmetakrylát (PMMA), kde inkorporácia BTO nanočastíc umožňuje vznik piezoelektrického efektu využiteľného pri kostných implantátoch. Pridanie grafénu do PMMA/BTO kompozitu ďalej zlepšuje mechanické a piezoelektrické vlastnosti, čím sa zvyšuje osteoinduktivita a adhézia buniek na povrchu materiálu [65].

Zaujímavým riešením je aj PLLA/BTO kompozit, ktorý spája elektroaktivitu s topografickými podnetmi pre stimuláciu osteogenézy. Elektrostaticky zvláknené PLLA vlákna s BTO nanočasticami majú dielektrické vlastnosti podobné kostnému tkanivu. Náhodná orientácia vlákien podporuje diferenciáciu MSCs na osteoblasty. Tento materiál má vysoký potenciál v kostnom tkanivovom inžinierstve [66].

Piezokompozity sa tiež uplatňujú v implantovateľných senzoroach na monitorovanie fyziologických signálov, inteligentných tkanivových scaffoldoch a systémoch na riadené dodávanie liečiv. Napriek ich výhodám, je výroba náročná a vyžaduje optimalizáciu interakcií medzi polymérnou matricou a plnivom na zabezpečenie dlhodobej stability v biomedicínskych aplikáciách [48].

3 PIEZOELEKTRICKÉ MATERIÁLY V REGENERATÍVNEJ MEDICÍNE

Piezoelektrické materiály sa v posledných rokoch ukazujú ako perspektívne nástroje v oblasti regeneratívnej medicíny. Viaceré štúdie potvrdzujú, že môžu podporiť kľúčové bunkové procesy, ako je proliferácia, migrácia či syntéza zložiek ECM, čo zohráva významnú úlohu pri obnove poškodených tkanív [67]. Ich účinnosť však závisí od viacerých faktorov. Pri použití v *in vivo* aj *in vitro* podmienkach je potrebné zohľadniť biokompatibilitu taktiež vhodnosť štruktúrneho dizajnu pre nepravidelné alebo obmedzené anatomické priestory. Rovnako dôležitá je citlivosť systému a schopnosť generovať elektrické stimuly s dostatočnou intenzitou, ktoré však zostávajú biologicky prijateľné. Výkonnosť materiálu závisí aj od jeho schopnosti napodobniť prirodzené mikroprostredie a poskytovať podnety, ktoré aktivujú bunkovú odozvu. Tento princíp bol potvrdený pri viacerých piezoelektrických systémoch [63].

3.1 Kostné tkanivo

Kosť je dynamické tkanivo s vysokou húževnatosťou, ktoré sa neustále remodeluje v reakcii na mechanické podnety. Jej štruktúru tvorí ECM, kde dominuje COL I, zabezpečujúci ťahovú pevnosť a pružnosť, a minerálna zložka tvorená HAp, ktorá jej dodáva tvrdosť a tlakovú pevnosť. Na jej prestavbe sa podieľajú osteoblasty syntetizujúce kostnú matrix, osteoklasty zodpovedné za jej odbúravanie a osteocyty regulujúce remodeláciu kosti [3].

Kosť je anizotropný piezoelektrický materiál s vlastným elektrickým mikroprostredím. Elektrické signály v nej zohrávajú kľúčovú úlohu pri regenerácii. Piezoelektrické vlastnosti kosti sú spôsobené najmä necentrosymetrickou štruktúrou kolagénu. Pri mechanickom namáhaní, napríklad počas chôdze, dochádza v kolagénových vláknach k redistribúcii elektrických nábojov. Polarita náboja závisí od typu zaťaženia – kompresia vedie k tvorbe záporného náboja, zatiaľ čo trakcia vyvoláva kladný náboj. Okrem kolagénu sa v posledných rokoch skúmajú aj piezoelektrické vlastnosti HAp. Počítačové simulácie naznačujú, že jeho kryštálová štruktúra nie je dokonale centrosymetrická, čo môže prispievať k jeho piezoelektrickej aktivite. Experimentálne štúdie preukázali, že HAp okrem piezoelektrických vlastností vykazuje aj feroelektrické a pyroelektrické správanie. Ukázalo sa, že tepelne upravené vrstvy HAp môžu dosahovať piezoelektrický koeficient porovnateľný s kolagénom [67].

Prirodzená obnova kosti závisí od koordinovanej signalizácie buniek s okolím, pričom kľúčovú úlohu zohrávajú mechanické, biologické a elektrické podnety. Ak je však kostný defekt rozsiahly alebo sú signálne dráhy narušené, regenerácia môže byť spomalená alebo neúplná. V takých prípadoch je potrebný externý zásah pomocou biomateriálov [67].

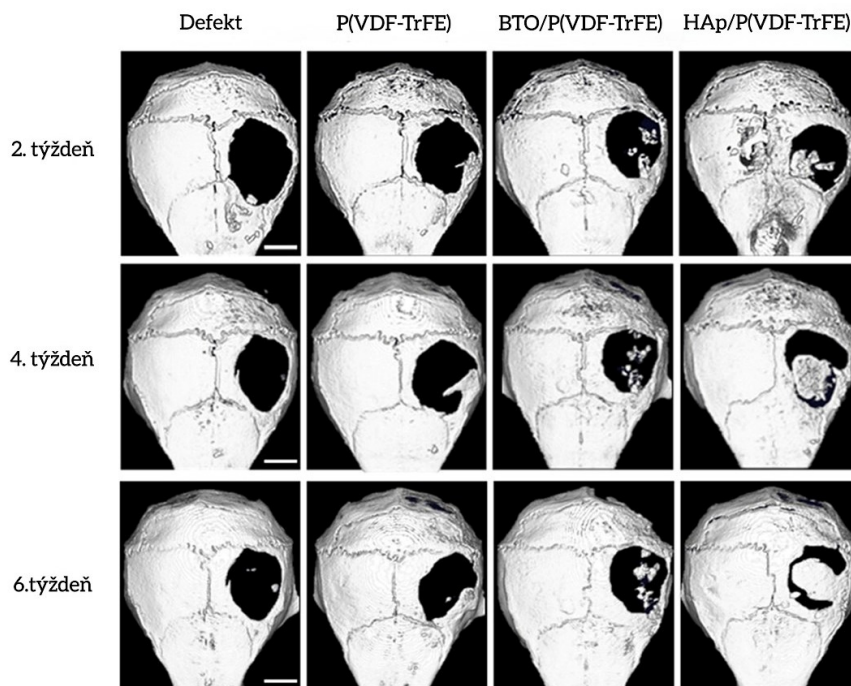
Implantácia piezoelektrických scaffoldov do miesta poškodenia vytvára lokálnu elektrickú stimuláciu vyvolanú mechanickým namáhaním pri fyziologických aktivitách. Táto stimulácia ovplyvňuje mechanosenzitívne receptory, ako sú integríny, a otvára napäťovo riadené vápnikové kanály. Výsledkom je zvýšenie intracelulárnej koncentrácie Ca^{2+} , čo aktivuje signálne dráhy podporujúce regeneráciu. Tento proces zvyšuje expresiu rastových faktorov, ako sú TGF- β , kostný morfogenetický proteín (BMP, bone morphogenetic protein) a vaskulárny endoteliálny rastový faktor (VEGF, vascular endothelial growth factor). Tieto faktory podporujú diferenciáciu MSCs na osteoblasty, ktoré produkujú ECM a zabezpečujú mineralizáciu. Usadzovanie kryštálov HAp v mieste poškodenia môže byť elektrickým poľom usmerňované a urýchlené. Okrem stimulácie osteoblastov elektrická aktivita podporuje aj angiogézu, čím zlepšuje prekrvenie regenerujúcej kosti. Zvýšená produkcia VEGF stimuluje rast kapilár v mieste poškodenia a zabezpečuje dostatočný prísun živín. V záverečnej fáze sa osteoblasty diferencujú na osteocyty, ktoré zabezpečujú dlhodobú stabilitu a remodeláciu kosti. Piezoelektrické implantáty predstavujú perspektívny nástroj na opravu kostných defektov. Ich schopnosť generovať elektrický potenciál bez potreby vonkajšieho zdroja napätia umožňuje dlhodobú stimuláciu regenerácie. To prispieva k stabilite a funkčnosti novotvorenej kosti [3].

Jednou zo stratégií na podporu regenerácie kostného tkaniva je riadená kostná regenerácia (GBR, guided bone regeneration), ktorá využíva bariérové membrány na ochranu štepu a zabránenie prerastaniu mäkkého tkaniva do defektu. Ich osteoindukčné vlastnosti sú však často nedostatočné, čo limituje účinnosť hojenia [68].

V rámci štúdie Bai et al. bola vyvinutá flexibilná nanokompozitná membrána na báze P(VDF-TrFE) s homogénne rozptýlenými nanočasticami BTO. Tie boli modifikované dopamínom, ktorý stabilizoval ich distribúciu v polymérnej matrici a zabránil agregácii. Následne bola membrána koronovo polarizovaná, čím získala stabilné piezoelektrické vlastnosti. Analýza povrchových vlastností preukázala hydrofóbny povrch s kontaktným uhlom v rozsahu 80°–100°. Táto vlastnosť môže znižovať príľnavosť k novotvorenému kostnému tkanivu a uľahčovať jej odstránenie po regenerácii. Zároveň umožňuje udržiavať lokálne elektrické mikroprostredie bez rizika zápalu spôsobeného zvyškami materiálu.

Terapeutická účinnosť membrány bola hodnotená *in vivo* na modeli kritického defektu v mandibule králika. Kostné defekty boli vyplnené deproteinizovanými hovädzími kostnými granulami (DBB, deproteinized bovine bone) a prekryté buď testovaným materiálom, alebo komerčne dostupnou polytetrafluóretylénovou (PTFE) membránou. Po 4 týždňoch sa v skupine s BTO/P(VDF-TrFE) pozorovala intenzívnejšia vaskularizácia defektu a väčší objem novotvorenej kosti. Včasná neovaskularizácia významne ovplyvnila následnú remodeláciu a dozrievanie tkaniva, keďže tvorba cievnej siete je kľúčová pre úspešnú regeneráciu kosti. Po 12 týždňoch bola histologicky potvrdená vyššia mineralizácia novotvoreného tkaniva, čo potvrdila zvýšená expresia osteokalcínu v skupine s piezoelektrickou membránou v porovnaní s PTFE membránou [68]. Výsledky štúdie naznačujú, že kombinácia BTO/P(VDF-TrFE) membrány s DBB granulami synergicky podporuje regeneráciu kostného tkaniva prostredníctvom včasnej neovaskularizácie a zlepšenej osteoindukcie. Tento materiál tak predstavuje perspektívnu alternatívu k súčasným bariérovým membránam v terapii GBR [68].

V novej štúdii boli analyzované piezoelektrické scaffoldy ako potenciálne biomateriály na regeneráciu kostného tkaniva. Porovnávali sa tri typy materiálov: P(VDF-TrFE), BTO/P(VDF-TrFE) a HAp/P(VDF-TrFE), pričom sa hodnotil ich vplyv na bunkovú aktivitu a osteogézu. Scaffold s HAp vykazoval najvyššiu piezoelektrickú aktivitu, čo sa pripisuje prítomnosti HAp a jeho homogénnej disperzii v polymérnej matici. Táto vlastnosť umožnila efektívnejšiu stimuláciu osteoblastov generovaním lokálneho elektrického poľa. Povrchová analýza odhalila zvýšenú drsnosť scaffoldov s HAp, čo zlepšilo bunkovú adhéziu o 15 % a proliferáciu o 30 % v porovnaní s referenčnými materiálmi. Parakrinné účinky sa skúmali meraním exprese rastových faktorov dôležitých pre kostnú regeneráciu. Scaffoldy s HAp vykazovali výrazne vyššiu produkciu BMP-4, BMP-7, TGF- β 1 a VEGF-A, čo viedlo k 40 % zvýšenej mineralizácii kostnej matrix a podpore vaskularizácie tkaniva. *In vivo* testovanie na myšom modeli kraniálneho defektu (5 mm) potvrdilo, že HAp/P(VDF-TrFE) výrazne urýchľuje tvorbu novej kosti. Mikro-CT analýza (Obrázok 2) a histologické farbenie preukázali lepšiu integráciu scaffoldu s okolitým tkanivom a vyššiu hustotu regenerovanej kosti [69].



Obrázok 2 Mikro-CT analýza regenerácie kalvariálnych defektov *in vivo*

(zdroj: [66])

Scaffoldy zároveň vykazovali vysokú biokompatibilitu bez známok cytotoxicity, zápalu či nežiaducej imunitnej odpovede. Počas šiestich týždňov zostali stabilné, bez degradácie alebo systémových nežiaducich účinkov, čo potvrdzuje ich bezpečné využitie v kostnej regenerácii. Vďaka týmto vlastnostiam je HAp/P(VDF-TrFE) sľubným biomateriálom vhodným na klinické využitie [69].

Hoci piezoelektrické biomateriály vykazujú významný potenciál v kostnej regenerácii, ich klinické aplikácie sú stále predmetom výskumu. Súčasné štúdie sa zameriavajú na optimalizáciu ich fyzikálnych a biologických vlastností, najmä mechanickej stability, biokompatibility a integrácie s kostným tkanivom. Ideálny piezoelektrický materiál by mal podporovať osteoindukciu, osteokondukciu a osteogenézu, čím by efektívne stimuloval regeneráciu kostí. Napriek mnohým výhodám, ako je prirodzená elektrická stimulácia a podpora vaskularizácie, zostáva výzvou dosiahnuť kontrolovanú biodegradáciu a minimalizovať riziko nežiaducej imunitnej odpovede. Preto je potrebné ďalšie skúmanie ich dlhodobého správania v organizme a bezpečnej implementácie v klinickej praxi [70].

3.2 Nervové tkanivo

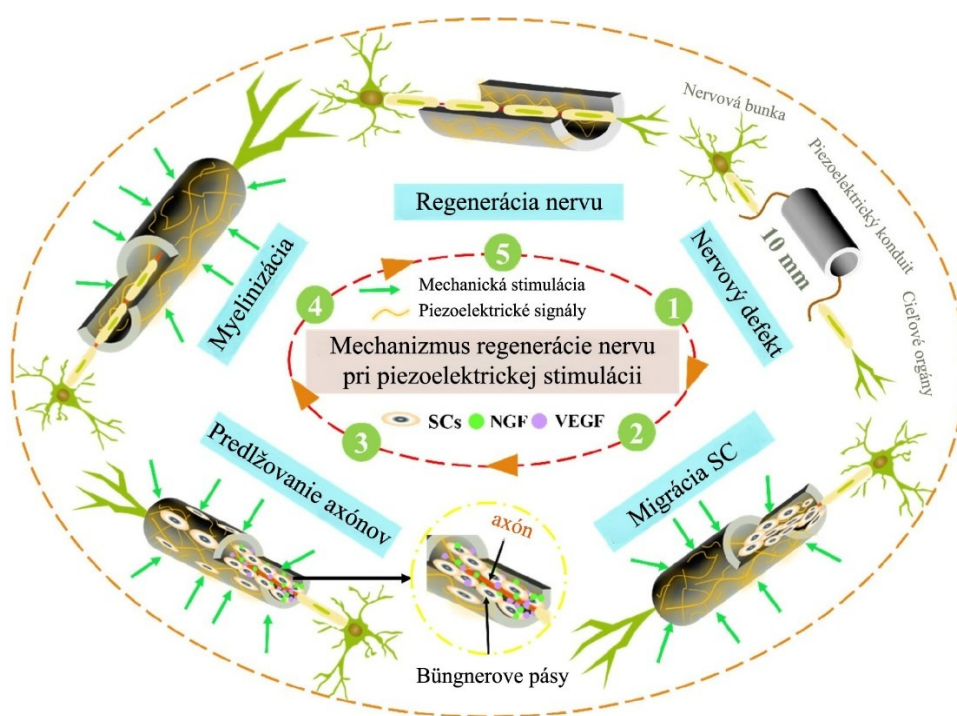
Poranenie periférneho nervového systému (PNI, peripheral nerve injury) predstavuje závažný klinický problém, ktorý môže viesť k strate motorických a senzorických funkcií. Periférne nervy sú vzhľadom na absenciu kostnej ochrany a hematoencefalickej bariéry výrazne náchyľnejšie na mechanické poškodenie. Medzi najčastejšie príčiny PNI patria dopravné nehody, pracovné úrazy, iatrogénne poškodenia a chronické kompresné syndrómy. Hoci periférne nervy majú určitú schopnosť regenerácie, spontánna obnova funkcie je obmedzená vzdialenosťou, ktorú axóny dokážu prekonať, a pri rozsiahlejších defektoch si vyžaduje externú podporu [71].

Regenerácia periférnych nervov prebieha v niekoľkých fázach a zahŕňa komplexné mechanizmy. Po poškodení dochádza k Wallerovej degenerácii, pri ktorej sa odstráni distálny segment axónu spolu s myelínovou pošvou. Tento proces sprostredkovávajú Schwannove bunky (SC) a makrofágy, ktoré fagocytujú degenerované štruktúry a vytvárajú priaznivé mikroprostredie pre regeneráciu. SC následne migrujú na miesto poškodenia a vytvárajú Büngnerove pásy, ktoré usmerňujú rast axónov. Zároveň produkujú neurotrofické faktory stimulujúce axonálny rast a ECM bohatú na laminín a fibronektín, čím zlepšujú adhéziu neuritov. Ak však axón narazí na prekážku, ako je jazva alebo nesprávne usporiadané tkanivo, môže vzniknúť neuróm. Ten často spôsobuje chronickú neuropatickú bolesť a dysfunkciu nervu. Naopak, ak dorastie k cieľovému orgánu, vznikajú nové synapsie a prebieha remyelinizácia, čím sa obnovuje prenos nervových impulzov. Menšie defekty sa môžu spontánne zahojiť, avšak rozsiahlejšie poškodenia si vyžadujú chirurgický zákrok [72].

Najčastejšou klinickou metódou liečby PNI je autológne štepenie, pri ktorom sa pacientov nerv resekuje a transplantuje do miesta poranenia. Tento prístup poskytuje prirodzené prostredie pre rast axónov a obsahuje funkčné SC. Napriek tomu má viaceré nevýhody, ako sú komplikácie v mieste odberu, obmedzená dostupnosť vhodného nervového tkaniva, nesúlad priemeru nervov a riziko infekcií či tvorby neurómu [71].

Vzhľadom na tieto limitácie sa výskum sústreďuje na nervové vodiče (NGC, nerve guidance conduit) ako alternatívu pri rekonštrukcii poranených nervov. Tieto konduity preklenujú defekt, usmerňujú rast axónov a poskytujú štrukturálnu oporu. Samotné pasívne štruktúry však neponúkajú dostatočné stimuly na obnovu nervového spojenia, preto sa ich účinnosť zvyšuje integráciou bioaktívnych alebo elektroaktívnych zložiek. Elektrická

stimulácia aktivuje SC, podporuje rast axónov a produkciu neurotrofických faktorov, čím priaznivo ovplyvňuje regeneráciu nervov. Bežne využívané elektródy a externé zdroje energie však zvyšujú invazívnosť zákroku, nesú riziko infekcie a vyžadujú následný chirurgický zásah na ich odstránenie. Z tohto dôvodu sa čoraz väčšia pozornosť venuje piezoelektrickým materiálom, ktoré umožňujú generovanie elektrických podnetov pri mechanickom zaťažení bez potreby externého napájania. Vizualizáciu jednotlivých krokov regenerácie periférneho nervu podporenej piezoelektrickým scaffoldom poskytuje Obrázok 3, ktorý sumarizuje hlavné procesy vrátane mechanickej stimulácie, aktivácie SC a následnej myelinizácie. Ich využitie v NGC predstavuje inovatívny prístup, ktorý môže zjednodušiť klinickú aplikáciu a minimalizovať invazívne zásahy [73].



Obrázok 3 Mechanizmus regenerácie nervu pri piezoelektrickej stimulácii.

(zdroj: [74])

Potenciál piezoelektrických materiálov pri stimulácii nervovej regenerácie potvrdzuje štúdia Hoop et al., ktorá skúmala vplyv ultrazvukom aktivovaného PVDF na diferenciáciu PC12 buniek. Výsledky ukázali, že priemerná dĺžka neuritov po stimulácii PVDF ultrazvukom dosiahla $(22,9 \pm 6,8) \mu\text{m}$, čo bolo porovnateľné s účinkom nervového rastového faktora (NGF, nerve growth factor) $(34,5 \pm 9,5) \mu\text{m}$. Naopak, pri nepiezoelektrických α -PVDF membránach sa tento efekt neprejavil, čo potvrdilo, že diferenciácia neurónov bola výsledkom elektrickej aktivácie materiálu. Ďalšie testy ukázali, že stimulácia PVDF vedie

k aktivácii vápnikových kanálov a následnému spusteniu cAMP/PKA signálnej dráhy, zatiaľ čo NGF využíva MAPK/ERK mechanizmus. Inhibičné experimenty potvrdili nezávislosť týchto mechanizmov, keďže blokovanie NGF dráhy nemalo vplyv na účinok PVDF, zatiaľ čo inhibícia vápnikových kanálov výrazne potlačila diferenciáciu. Hoci NGF podporuje neuritogézu, jeho krátky polčas a rýchla difúzia obmedzujú účinnosť *in vivo*. Výsledky tejto štúdie naznačujú, že PVDF stimulovaný ultrazvukom môže predstavovať účinnú alternatívu k rastovým faktorom pri podpore diferenciácie neurónov [75].

Napriek preukázaným účinkom PVDF na neuritogézu, zostáva výzvou jeho aplikácia v komplexných štruktúrach *in vivo*. Tento aspekt skúmala štúdia Cheng et al., ktorá sa zamerala na trojrozmerný piezoelektrický scaffold z PVDF a poly(ϵ -kaprolaktónu) (PCL) určený na regeneráciu periférnych nervov. Spojenie piezoelektrických vlastností PVDF s biodegradabilitou a biokompatibilitou PCL vytvorilo materiál s vhodnou poréznu štruktúrou a mechanickými vlastnosťami. Scaffold podporoval adhéziu a proliferáciu SC, pričom *in vitro* testy potvrdili nízku cytotoxicitu a schopnosť predlžovať neurity. Po implantácii do 15 mm defektu ischiatického nervu potkanov významne zlepšil regeneráciu. Rýchlosť vedenia nervového signálu dosiahla 35,5 m/s, čo bolo viac než pri PCL (14,6 m/s) a porovnateľné s autograftom (33,7 m/s). Histologické analýzy odhalili vyššiu myelinizáciu axónov, lepšiu vaskularizáciu a obnovu svalovej hmoty v porovnaní s PCL. V priebehu štyroch mesiacov scaffold degradoval 9,1 % svojej hmotnosti, čo naznačuje jeho lepšiu odbúrateľnosť oproti čistému PVDF. Táto štúdia naznačuje, že PVDF/PCL scaffold môže predstavovať sľubnú alternatívu k autograftom pri liečbe periférnych nervových defektov [76].

V rámci nedávnej štúdie bol vyvinutý piezoelektrický kompozitný scaffold na báze hodvábného fibroínu, PVDF-HFP a MXene s cieľom podporiť obnovu periférnych nervov. Scaffold pripravený elektrostatickým zvlákňovaním s obsahom 3 % MXene (SPH-0,3M) vykazoval vylepšené piezoelektrické vlastnosti, vyššiu hydrofiliu, antibakteriálnu aktivitu a optimálne mechanické parametre vhodné na obnovu nervového tkaniva. Účinnosť materiálu sa testovala na potkanoch s 10 mm defektom sedacieho nervu. Experimentálne zvieratá boli rozdelené do troch skupín: autotransplantát (referenčný štandard), SPH-0,3M bez mechanickej stimulácie a S-SPH-0,3M, kde scaffold dopĺňala pohybová stimulácia na bežiacom páse. Po 12 týždňoch scaffold S-SPH-0,3M vykazoval výrazne vyššiu myelinizáciu oproti SPH-0,3M, pričom hodnoty sa blížili autotransplantátu. Funkčné testy preukázali lepšie motorické aj senzorické zotavenie v S-SPH-0,3M v porovnaní

s SPH-0,3M, pričom index funkcie sedacieho nervu dosahoval -33,3 oproti -69,0. Okrem toho sa pozorovala zvýšená proliferácia SC a vyššia expresia neurotrofinov. Cytotoxikologické testy potvrdili biokompatibilitu materiálu, pričom scaffold nevykazoval toxické účinky na bunky a podporoval ich proliferáciu. Výsledky naznačujú, že piezoelektrická stimulácia vytvára priaznivé mikroprostredie pre regeneráciu nervov, podporuje adhéziu a rast SC a zároveň predstavuje perspektívnu neinvazívnu alternatívu k elektródovým systémom [74].

Piezoelektrické materiály sa v regenerácii periférnych nervov čoraz viac ukazujú ako perspektívna náhrada tradičných metód elektrickej stimulácie. Ich schopnosť poskytovať elektrické podnety bez potreby implantovaných elektród otvára nové možnosti pre menej invazívne terapeutické prístupy. Okrem podpory axonálneho rastu a aktivácie SC umožňujú aj preklenutie väčších nervových defektov. Napriek tomu ostávajú výzvy spojené s optimalizáciou ich mechanických a piezoelektrických vlastností dlhodobou stabilitou signálov a biologickou odbúrateľnosťou. V budúcnosti môže integrácia pokročilých bioaktívnych prvkov a zlepšenie riadenia ich interakcie s bunkami viesť k plnohodnotnej alternatíve súčasných invazívnych riešení a k efektívnejšej liečbe poškodení periférnych nervov [72].

3.3 Koža

Koža je najväčší orgán ľudského tela a plní množstvo funkcií, od ochrany pred vonkajším prostredím, cez reguláciu telesnej teploty až po senzorickú a imunologickú úlohu. K narušeniu jej celistvosti môže dôjsť v dôsledku rôznych príčin, ako sú mechanické zranenia, popáleniny, chirurgické zákroky, infekcie alebo chronické ochorenia, napríklad diabetické vredy. Pri vážnejších poraneniach býva prirodzená regeneračná kapacita kože obmedzená, čo často vedie k oneskorenému hojeniu, zvýšenému riziku infekcií a vzniku jaziev [77].

Pri poškodení epidermy dochádza k prerušeniu transepiteliálneho potenciálu, čo vedie k vzniku endogénneho elektrického poľa smerujúceho z neporušeného tkaniva k centru rany. Laterálne orientované pole zohráva dôležitú úlohu v riadení bunkového správania, prostredníctvom javu známeho ako elektrotaxia, keď sa bunky pohybujú v smere elektrického poľa. Elektrická stimulácia zároveň aktivuje viaceré signalizačné dráhy, ako napríklad PI3K a ERK1/2, ktoré ovplyvňujú procesy bunkovej proliferácie, migrácie, angiogenézy a remodelácie. Je však známe, že intenzita poľa v priebehu hojenia postupne

klesá, najmä pri chronických ranách, čo môže spomaliť regeneráciu. Na dosiahnutie efektívneho uzatvorenia rany je preto nevyhnutné, aby sa elektrické pole udržiavalo počas celého regeneračného procesu [78].

Samotné hojenie kože prebieha vo viacerých po sebe nasledujúcich fázach: hemostáze, zápale, proliferácii a remodelácii. V úvodnej fáze sa zastavuje krvácanie a uvoľňujú sa prozápalové cytokíny a chemokíny, ktoré aktivujú imunitné bunky a spúšťajú zápalovú odpoveď. Následne dochádza k fagocytóze poškodeného tkaniva a patogénov a k uvoľňovaniu rastových faktorov podporujúcich bunkovú proliferáciu. V proliferatívnej fáze keratinocyty migrujú z okrajov rany a zabezpečujú reepitelizáciu, fibroblasty syntetizujú najmä COL I/III a ďalšie komponenty ECM, zatiaľ čo súbežne prebieha angiogenéza. Tieto procesy vedú k tvorbe granulačného tkaniva, ktoré dočasne nahrádza poškodenú dermálnu štruktúru. V poslednej fáze dochádza k reorganizácii kolagénových vlákien, zvyšovaniu pevnosti tkaniva, zániku nadbytočných ciev a apoptóze buniek, ktoré už nie sú potrebné [77].

Na podporu regenerácie kože sa využívajú rôzne biomateriály, ktoré vytvárajú priaznivé mikroprostredie pre bunkový rast a obnovu tkaniva. Ich hlavnou funkciou je ochrana rany, udržiavanie vlhkého prostredia, výmena plynov a podpora bunkových procesov, ako je adhézia, migrácia a proliferácia. Účinné materiály musia byť biokompatibilné, priedušné, schopné absorbovať exsudát, mechanicky stabilné a flexibilné. Často sa aplikujú vo forme hydrogélů, nanovláknových membrán alebo poréznych 3D scaffoldov pripravených pomocou aditívnej výroby. Mnohé z nich sú biodegradovateľné alebo navrhnuté tak, aby sa dali po ukončení liečby jednoducho odstrániť bez poškodenia novotvoreného tkaniva. V klinickej praxi sa často používajú ako súčasť obväzov a náplastí, ktoré chránia ranu a podporujú hojenie udržiavaním optimálneho prostredia [79].

Kým väčšina súčasných riešení funguje pasívne a vytvára iba vhodné podmienky na hojenie, narastá záujem o aktívne terapeutické systémy. Medzi najperspektívnejšie patria piezoelektrické materiály, ktoré napodobňujú alebo zosilňujú prirodzené bioelektrické signály a cielene stimulujú bunkové procesy. Piezoelektrická stimulácia bola spojená s urýchlením migrácie buniek, zvýšením tvorby kolagénu, redukciou zápalu a podporou angiogenézy. Ukazuje sa, že môže priaznivo ovplyvniť všetky hlavné fázy hojenia, a predstavuje tak nádejný nástroj v liečbe akútnych aj chronických rán [48].

Jednou z prvých preukázateľne účinných stratégií bola aplikácia flexibilnej dermálnej náplasti s nanorodmi ZnO, ktorá generovala elektrické signály pri bežných pohyboch kože. V *in vivo* modeli náplast výrazne urýchlila reepitelizáciu, podporila syntézu COL I/III, ako aj angiogézu sprostredkovanú VEGF. Navyše ZnO prispel k antibakteriálnej ochrane, pričom nebolo potrebné žiadne externé napájanie, čo je výhodou najmä pri aplikácii na pohyblivé oblasti tela [78].

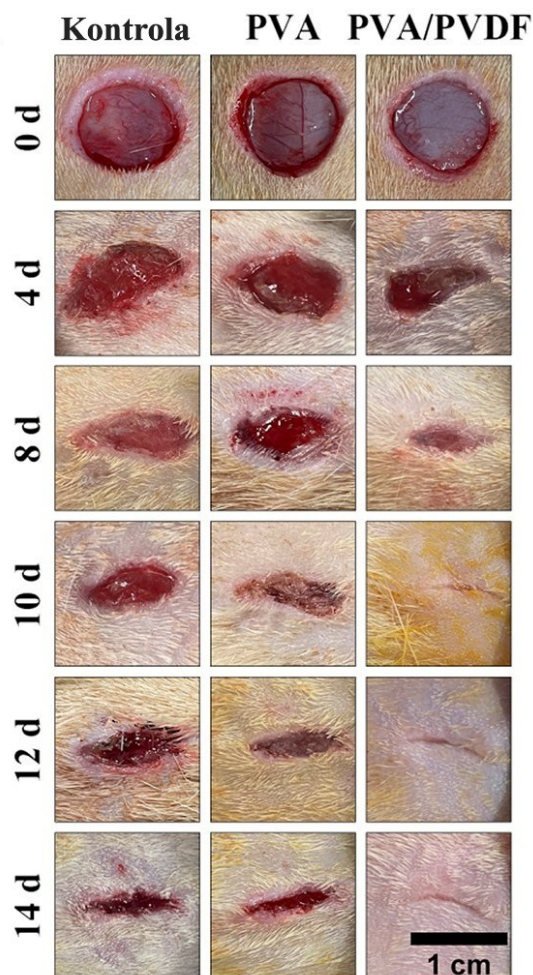
Na tieto poznatky nadviazala štúdia, ktorá predstavila 3D tlačený piezoelektrický hydrogél ZPFSA kombinujúci PVDF, alginát sodný a nanočastice ZnO. Tento systém využíval dva nezávislé mechanizmy elektrickej stimulácie – vertikálne napučanie hydrogél v dôsledku absorpcie exsudátu a horizontálne trenie medzi povrchom hydrogél a pokožkou pri pohybe. Takto bolo zabezpečené kontinuálne elektrické pole počas celej doby hojenia. V *in vivo* experimente na potkanoch viedla aplikácia ZPFSA ku kompletnému uzavretiu rán do 14 dní, zatiaľ čo v kontrolnej skupine hojenie výrazne zaostávalo. Zaznamenané bolo zvýšenie expresie markerov reepitelizácie, angiogézy, kontrakcie rany (α -SMA, alpha smooth muscle actin) a rastových faktorov VEGF, epidermálny rastový faktor (EGF, epidermal growth factor) a TGF- β . Zároveň došlo k potlačeniu zápalových cytokínov, ako sú tumor nekrotizujúci faktor α (TNF- α , tumor necrosis factor alpha) a IL-6, čo svedčí o protizápalovom účinku. Významným prínosom bola aj antibakteriálna účinnosť voči meticilín-rezistentnému *staphylococcus aureus* (MRSA), čo zvyšuje klinický potenciál tejto stratégie [80].

Na rozdiel od predošlých štúdií, ktoré sa spoliehali na prirodzený pohyb ako zdroj mechanickej energie, v ďalšej práci bola aplikovaná sonodynamická aktivácia. Bol použitý piezoelektrický nanokompozit Au@BaTiO₃, teda BTO pokrytý nanočasticami zlata. Pod ultrazvukovou stimuláciou dochádzalo ku generácii ROS, ako sú hydroxylové radikály a singletový kyslík. Tie účinne eliminovali patogény vrátane MRSA a zároveň stimulovali proliferáciu fibroblastov, angiogézu a urýchlené uzatváranie rán. Táto technológia tak účinne spája antibakteriálnu terapiu s regeneratívnou stimuláciou [81].

Ďalší významný prístup predstavuje využitie elektrostaticky zvlákňovaného scaffoldu z PVDF a polyuretánu (PU). Proces zvlákňovania viedol k formácii piezoelektrickej β -fázy, ktorá generovala elektrické impulzy v reakcii na pohyb. Na takto upravených scaffoldoch bola zaznamenaná zvýšená migrácia, adhézia a proliferácia fibroblastov. Molekulárne analýzy potvrdili zvýšenú expresiu ECM proteínov vrátane COL I/III, fibronektínu (FN) a elastínu. *In vivo* testy preukázali, že scaffoldy implantované do pohyblivých oblastí tela

stimulovali hojenie aj bez potreby externého napájania. Zároveň bolo preukázané, že scaffoldy s vyšším obsahom PU vykazovali vyššiu pevnosť v ťahu a predĺženie pri pretrhnutí, hoci za cenu mierneho zníženia piezoelektrického koeficientu (z 14 na 8,2 pC/N) [82].

Najkomplexnejší systém bol predstavený v štúdií Wang et al., kde bol vyvinutý samonapájací piezoelektrický hydrogél na báze polyvinylalkoholu a PVDF. Vďaka viacstupňovému procesu spracovania (zmrazovanie/rozmrazovanie, výmena rozpúšťadla, žihanie, napučanie) sa dosiahla vysoká kryštalinita, tvorba β -fázy PVDF a pevná vodíková väzba medzi polymérmi. Výsledný hydrogél dosiahol piezoelektrický koeficient 8,4 pC/N, stabilný elektrický výstup a vynikajúce absorpčné a mechanické vlastnosti. V *in vitro* podporil migráciu a proliferáciu fibroblastov aj endotelových buniek prostredníctvom aktivácie signálnych dráh PI3K/AKT a ERK1/2. Bola zaznamenaná zvýšená expresia COL I/III, FN, α -SMA, VEGF a EGF. V modeli diabetických potkanov hydrogél urýchlil reepitelizáciu, zvýšil angiogézu, zlepšil usporiadanie kolagénu a indukoval prechod makrofágov z prozápalového fenotypu na reparatívny, čo viedlo k poklesu hladín IL-6 a TNF- α . Rany sa v tomto modeli úplne uzavreli do 14 dní (Obrázok 4), čo potvrdzuje vysoký terapeutický potenciál tohto systému v liečbe chronických a komplikovaných kožných defektov [83].



Obrázok 4 Rany u diabetických potkanov v kontrolnej, PVA a PVA/PVDF skupine v čase

(zdroj: [83])

Piezoelektrické materiály otvárajú nové možnosti v aktívnej podpore regenerácie kože. Dokážu kombinovať stimuláciu tkaniva s antibakteriálnym účinkom a podporou angiogenézy, čo z nich robí silných kandidátov pre budúce inteligentné terapeutické platformy. Výzvou zostáva ich optimalizácia v reálnych podmienkach a overenie dlhodobej bezpečnosti. Ďalším krokom je vývoj systémov s diagnosticko-terapeutickým potenciálom, ktoré umožnia personalizovanú liečbu kožných defektov [48].

II. PRAKTICKÁ ČASŤ

4 CIEĽ PRÁCE

- Kultivácia myších embryonálnych fibroblastov a myších embryonálnych kmeňových buniek v podmienkach *in vitro*.
- Vyhodnotenie adhézie a proliferácie buniek na substrátoch PVDF-HFP s rôznymi povrchovými úpravami.
- Zhodnotenie biologickej odozvy testovaných substrátov.

5 MATERIÁL A METODIKA

5.1 Použité prístroje a pomôcky

Na realizáciu experimentu boli použité prístroje, ako centrifúga 5702 R (Eppendorf, ČR), fluorescenčný mikroskop Olympus IX81 s fázovým kontrastom (Olympus, Japonsko), inkubátor Heracell™ 150i (ThermoFisher Scientific, USA), inverzný mikroskop IX51 (Olympus, Japonsko), konfokálny mikroskop (Olympus, Japonsko), laminárny box Bio130 A2 s príslušenstvom (Alpina, Poľsko) a trepačka Vortex GENIE 2 (Scientific Industries, USA).

5.2 Bunkové kultúry a médium

Počas experimentu bola proliferácia skúmaná na dvoch bunkových líniiach.

Prvým typom buniek boli myšie embryonálne fibroblasty NIH/3T3 (ATCC® CRL-1658™) získané od American Type Culture Collection, ATCC. Kultivácia prebiehala v kultivačnom médiu Dulbecco's Modified Eagle's Medium (PAA Laboratories GmbH, Rakúsko), ktoré obsahovalo 10 % teľacieho séra (BioSera, Francúzsko) a antibiotík penicilín/streptomycín (GE Healthcare HyClone, Veľká Británia) v koncentrácii 100 µg/ml.

Druhým typom boli myšie embryonálne kmeňové bunky ES R1, ktoré boli kultivované v Petriho miskách na tkanivové kultúry potiahnutých 0,1 % želatínou (Sigma Aldrich, USA). Na kultiváciu bolo použité médium Dulbecco's Modified Eagle's Medium, ktoré obsahovalo: 15 % fetálneho teľacieho séra, 100 U/ml penicilínu, 0,1 mg/ml streptomycínu, 100 mM roztoku neesenciálnych aminokyselín (všetko od Thermo Fisher, Waltham, MA, USA), 0,05 mM 2-merkaptotanolu (Sigma, St. Louis, MO, USA) a 1000 U·ml⁻¹ LIF (Leukemia Inhibitory Factor, Gibco, MA, USA), ktorý sa pridáva na zabránenie diferenciácie a udržanie pluripotencie buniek.

Kultivácia oboch bunkových línii sa uskutočňovala v inkubátore Heracell 150i (ThermoFisher Scientific, USA) pri teplote 37 °C, 95 % vlhkosti a atmosfére s obsahom 5 % CO₂.

5.3 Materiál PVDF-HFP

Testované fólie poskytol Ing. Přemysl Fajkus z Centra polymérnych systémov Univerzity Tomáše Baťu v Zlíne.

Fólie boli pripravené z 10 hm.% roztoku polyméru PVDF-HFP v rozpúšťadle DMF (dimethylformamid). Do kadičky sa navážilo 18 g DMF, ktorý sa zohrial vo vodnom kúpeli na 60 °C. Po dosiahnutí teploty sa za stáleho miešania (120 ot./min) počas 1,5–3 hodín postupne pridávalo 2 g PVDF-HFP, aby sa zabránilo tvorbe hrudiek. Po úplnom rozpustení polyméru sa miešadlo odstránilo. Roztok polyméru sa následne nalial do stredu PDMS šablóny. Kadička sa pritom neobracala dnom nahor, aby sa zabránilo prípadnému prenosu nerozpustených granúl polyméru, ktoré mohli zostať na dne. Šablóna sa preniesla do vákuovej sušiarne predhriatej na 40 °C, kde sa sušila 20 minút pri tlaku 600 mbar. Následne sa teplota zvýšila na 50 °C a tlak sa znížil na 50 mbar, pričom sa v tomto režime pokračovalo až do úplného odparenia rozpúšťadla. Vzniknutá fólia sa opatrne odlúpila zo šablóny, vystrihli sa vzorky so štruktúrami a každá sa označila príslušným číslom.

6 EXPERIMENT

6.1 Kultivácia a pasážovanie buniek

Pasážovanie buniek je základnou metódou v bunkových kultúrach, ktorá umožňuje obnovu bunkových línií a ich udržanie v optimálnom stave pre ďalšie experimentálne použitie. Tento proces sa zameriava na udržanie životaschopnosti a aktivity buniek, čo je kľúčové pre ich následné použitie v experimentoch. Typický protokol pasážovania zahŕňa odstránenie starého média, uvoľnenie buniek zo substrátu a ich prenos do nového kultivačného prostredia, pričom konkrétne kroky sa môžu líšiť v závislosti od typu bunkovej kultúry.

6.1.1 Myšie embryonálne fibroblasty

Pri pasážovaní NIH/3T3 sa proces uskutočnil pri dosiahnutí 80 % konfluencie buniek pestovaných v kultivačných nádobách, čím sa zabezpečilo, že fibroblasty boli v aktívnej fáze delenia a vhodné na ďalšiu manipuláciu. Najprv bolo potrebné odstrániť staré kultivačné médium, ktoré už neobsahovalo dostatok živín a mohlo obsahovať metabolity ovplyvňujúce bunky. Povrch buniek sa následne opláchol sterilným fosfátovým pufrom PBS (dulbecco's phosphate buffered saline) v objeme 0,2 ml/cm², čím sa odstránili zvyšky kultivačného média. Na uvoľnenie buniek z povrchu kultivačnej nádoby sa pridalo 0,1 ml/cm² trypsínu-EDTA, ktorý narušil adhézne väzby medzi bunkami a substrátom nádoby. Bunky boli inkubované pri teplote 37 °C počas 10–15 minút, aby trypsín mohol efektívne pôsobiť. Po tomto čase sa k zmesi pridalo 12 ml čerstvého média, ktoré neutralizovalo účinok trypsínu. Takto pripravená suspenzia bola prenesená do sterilnej skúmavky a centrifugovaná pri 1100 otáčkach za minútu počas 3 minút. Po centrifugácii boli bunky usadené na dne skúmavky a supernatant (trypsín a médium) bol opatrne odstránený. Bunky boli resuspendované v 1 ml čerstvého kultivačného média, čím vznikla suspenzia s koncentráciou približne 2×10^7 buniek/ml. Bunková suspenzia bola následne zriedená na požadovanú koncentráciu a použitá na nasadenie buniek na testovaný materiál v rámci ďalšieho experimentu zameraného na hodnotenie ich adhézie a proliferácie.

6.1.2 Myšie embryonálne kmeňové bunky

Pasážovanie ES R1 si vyžaduje mimoriadne jemný a šetrný prístup, pretože tieto bunky sú citlivé na fyzický stres a zmeny v kultivačnom prostredí. Presné a opatrné kroky sú nevyhnutné na zachovanie ich životaschopnosti a pluripotencie, čo je kľúčové pre ich ďalšie použitie v experimentoch.

Postup pasážovania bol obdobný ako pri NIH/3T3, avšak s niekoľkými úpravami objemov a podmienok. Najprv bolo odstránené staré kultivačné médium, aby sa eliminovali zvyšky metabolitov a živín. Miska bola následne dvakrát opláchnutá 2 ml sterilného PBS, čo zabezpečilo dôkladné vyčistenie povrchu. Na uvoľnenie buniek sa pridalo 150 μ l trypsínu-EDTA, ktorý bol rovnomerne rozložený jemným nakláňaním misky. Trypsín pôsobil niekoľko minút pri izbovej teplote, čím narušil adhézne väzby medzi bunkami a povrchom misky. Po uvoľnení buniek sa pridalo čerstvé ES médium, ktoré neutralizovalo účinok trypsínu. Výsledná bunková suspenzia bola prenesená do sterilnej skúmavky a centrifugovaná pri 200G počas 4–5 minút, aby došlo k oddeleniu buniek od supernatantu. Po opatrnom odstránení supernatantu bol bunkový pellet resuspendovaný v čerstvom ES médiu, čo zabezpečilo optimálnu prípravu buniek na ďalšie použitie.

6.2 Test cytotoxicity – MTT test

Stanovenie životaschopnosti buniek je kľúčové pri hodnotení ich reakcie na rôzne látky. Medzi najpoužívanjšie metódy patrí MTT test, ktorý vychádza z metabolickej aktivity buniek. Pri tomto teste dochádza k enzymatickej redukcii žltého MTT (3-(4,5-dimetylthiazol-2-yl)-2,5-difenyl-tetrazóliumbromidu) na nerozpustný fialový formazán pomocou mitochondriálnej dehydrogenázy. Tento proces prebieha v mitochondriách živých buniek. Kryštály formazánu, ktoré vzniknú sa následne rozpúšťajú pomocou rozpúšťadla, najčastejšie dimetylsulfoxidu (DMSO), a absorbancia sa meria spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 570 nm. Vyššia absorbancia naznačuje vyšší počet životaschopných buniek, pretože vzniklo väčšie množstvo formazánu, čo sa prejaví silnejším zafarbením roztoku. Čím väčšie množstvo MTT sa premení na formazán, tým vyššia je absorbancia, čo signalizuje vyššiu životaschopnosť buniek. Test tak umožňuje rýchlu kvantifikáciu cytotoxického účinku látok a hodnotenie vplyvu na bunkovú životaschopnosť [84].

V tejto práci sa pracovalo s materiálom PVDF-HFP vo forme fólie. Hoci test cytotoxicity nebol realizovaný, predpokladalo sa, že použitý materiál nie je cytotoxický. Tento predpoklad vychádzal z dostupných informácií o biokompatibilite PVDF-HFP, ktorý sa často používa v biomedicínskych aplikáciách. Preto sa experimenty v tejto práci zamerali priamo na hodnotenie adhézie a proliferácie buniek.

Ak by bolo potrebné testovať cytotoxicitu PVDF-HFP fólií, postup by bol realizovaný podľa normy ISO 10993-5:2009. Táto norma stanovuje štandardizované postupy na

hodnotenie cytotoxicity zdravotníckych materiálov. Test by zahŕňal prípravu extraktu z PVDF-HFP fólií, ktorý by bol následne aplikovaný na bunky kultivované na mikrotitračných doštičkách. Testovaný materiál PVDF-HFP patrí do kategórie „film, fólia, stena hadičky“ podľa ISO 10993-12:2021, a preto by bol zvolený extrakčný pomer 6 cm²/ml. Fólie by boli sterilizované, narezané na kúsky a inkubované v kultivačnom médiu (napr. DMEM s 10 % FBS) pri teplote 37 °C po dobu 24 hodín, aby sa pripravil extrakt. Tento extrakt by bol prefiltrovaný cez sterilný 0,22 µm filter, aby sa zabezpečila jeho čistota. NIH/3T3 by boli nasadené na mikrotitračnú doštičku v primeranej koncentrácii a nechali sa adhézovať počas 24 hodín. Následne by bol na bunky aplikovaný pripravený extrakt v rôznych koncentráciách (napr. 100 %, 75 %, 50 %, 25 %, 10 % a 1 %). Po ďalších 24 hodinách inkubácie by sa na vyhodnotenie cytotoxicity použil MTT test. Bunkám by bol pridaný roztok MTT a po 4-hodinovej inkubácii by sa vytvorené kryštáliky formazánu rozpustili v DMSO. Absorbancia roztoku by sa merala spektrofotometricky pri vlnovej dĺžke 570 nm. Cytotoxicita by sa určovala na základe zníženia životaschopnosti buniek v porovnaní s kontrolnou vzorkou, pričom materiál by sa považoval za necytotoxický, ak by pokles viability nepresiahol 30 %.

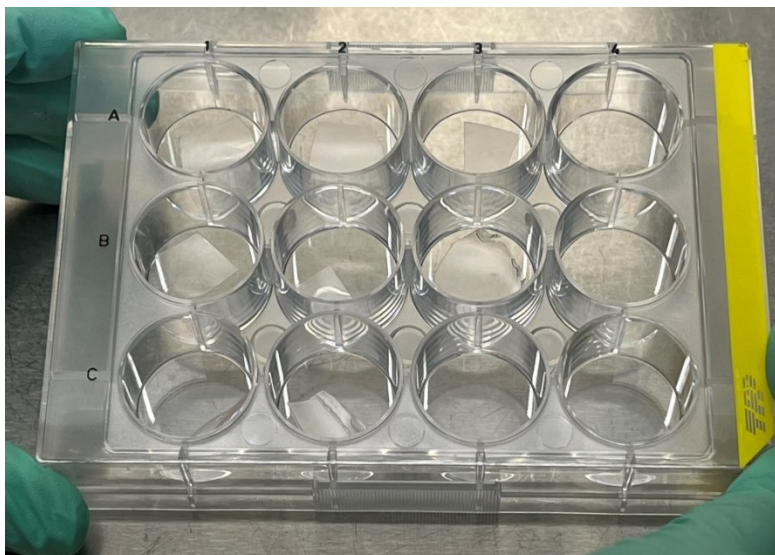
6.3 Proliferácia a farbenie buniek

Proliferácia buniek je kľúčový proces rastu a delenia buniek, nevyhnutný pre regeneráciu tkanív a využitie biomateriálov v tkanivovom inžinierstve. Tento proces ovplyvňujú chemické, fyzikálne a topografické vlastnosti povrchu materiálu, ktoré podporujú adhéziu a rast buniek. Fluorescenčná mikroskopia predstavuje efektívnu metódu na analýzu bunkovej proliferácie. Pomocou špecifických farbív, ako ActinRed™ 555 na zobrazenie aktínových filamentov a Hoechst 33258 na farbenie jadrovej DNA, umožňuje detailne sledovať rozloženie a organizáciu buniek na rôznych substrátoch, čo prispieva k hodnoteniu biologických vlastností materiálov.

Cieľom experimentu bolo hodnotiť schopnosť adhézie a proliferácie NIH/3T3 a ES R1 na substrátoch PVDF-HFP s rôznymi povrchovými úpravami. Substrát bol narezaný na malé kúsky, sterilizovaný ponorením na 20 minút do 70 % etanolu a vložený do 12-jamkovej mikrotitračnej doštičky (Obrázok 5), pričom dve vzorky boli ošetrené 1 ml želatíny na podporu adhézie buniek. Na vzorky bola aplikovaná bunková suspenzia s hustotou 2x10⁵ buniek/ml v prípade NIH/3T3 a 1x10⁵ buniek/cm² v prípade ES R1.

Jamky boli rozdelené nasledovne:

- 2 jamky obsahovali PVDF-HFP fóliu potiahnutú želatínou,
- 2 jamky obsahovali PVDF-HFP fóliu bez želatínovej úpravy,
- 2 jamky slúžili ako kontrolné (referenčné) bez substrátu.



Obrázok 5 Ukážka mikrotitračnej doštičky s materiálom PVDF-HFP

(zdroj: vlastný)

Po nasadení buniek bola mikrotitračná doštička inkubovaná 48 hodín v prípade NIH/3T3 a 72 hodín pri ES R1. Po skončení inkubačnej doby bolo médium z jamiek odstránené a bunky boli fixované pridaním 1 ml 4 % formaldehydového roztoku, ktorý pôsobil 15 minút pri izbovej teplote. Následne bol formaldehyd odsávaný a vzorky boli premyté 1 ml PBS pufrom na odstránenie zvyškov fixačného roztoku. Po fixácii sa vykonala permeabilizácia bunkových membrán pridaním 1 ml 0,5 % Tritonu™ X-100, ktorý pôsobil 5 minút pri izbovej teplote. Po pôsobení Tritonu boli vzorky trikrát premyté 1 ml PBS pufrom, aby sa odstránili zvyšky permeabilizačného činidla. Na zvýraznenie bunkových štruktúr boli vzorky farbené fluorescenčnými farbivami. Do PBS pufru sa pridala 1 kvapka ActinRed™ 555, ktorá slúžila na vizualizáciu aktínových filamentov, a 20 µl Hoechst 33258, ktoré farbilo jadrovú DNA. Farbivá pôsobili 30 minút v tme, čím sa znížilo riziko ich fotodegradácie. Po tejto dobe bol PBS s farbivami odstránený a vzorky boli premyté 1 ml PBS pufrom na odstránenie prebytočných farbív. Nafarbené bunky boli následne pripravené na pozorovanie pomocou konfokálneho mikroskopu (Olympus).

7 VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tejto kapitole sú diskutované poznatky o cytotoxicite fólií PVDF-HFP na základe dostupnej literatúry a následne spracované výsledky hodnotenia proliferácie buniek. Pozornosť je venovaná analýze morfológie, adhézie a rastového správania buniek v závislosti od povrchovej úpravy materiálu.

7.1 Hodnotenie cytotoxicity

Cytotoxicita PVDF-HFP nebola v rámci tejto práce priamo testovaná. Dostupné literárne údaje však konzistentne poukazujú na jeho biokompatibilitu a absenciu cytotoxických účinkov.

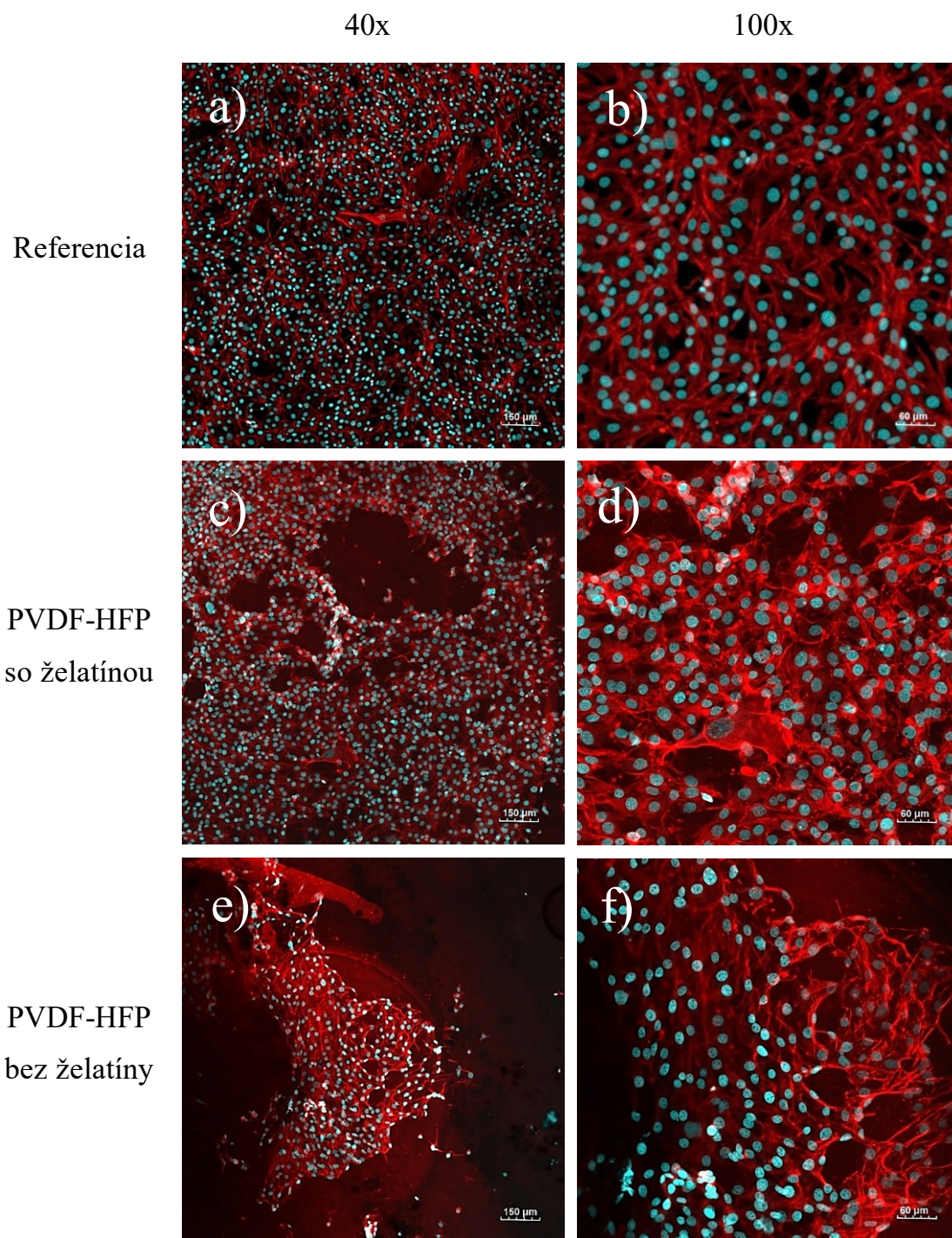
Ahmed et al. hodnotili cytotoxicitu PVDF-HFP vzoriek na ľudských endotelových bunkách z kostnej drene. Cytotoxicita bola hodnotená pomocou WST-1 testu, ktorý sleduje metabolickú aktivitu buniek ako ukazovateľ životaschopnosti. Bunky vykazovali dobrú adhéziu a proliferáciu počas 9 dní, čo potvrdzuje, že materiál nie je cytotoxický [85]. V ďalšej štúdii bol PVDF-HFP aplikovaný ako povrchová vrstva na ZnO nanoštruktúry s cieľom znížiť ich cytotoxicitu. Hodnotením testom absorpcie neutrálnej červene sa zistilo, že PVDF-HFP znížil uvoľňovanie Zn^{2+} iónov približne o 50 %, čím sa zvýšila životaschopnosť epitelových buniek obličky psa bez straty funkčných vlastností materiálu [86]. V štúdii Zhang et al. bol PVDF-HFP testovaný ako súčasť rôznych variantov kompozitného scaffoldu na SC. Výsledky MTS testu preukázali dobrú biokompatibilitu vo všetkých testovaných vzorkách, čo potvrdzuje, že PVDF-HFP nevykazuje cytotoxické účinky [74].

Ako poukazujú viaceré články, PVDF-HFP nevykazuje cytotoxické účinky. Vďaka svojej chemickej odolnosti, tepelnej stabilite, mechanickej pevnosti a biokompatibilite je vhodným materiálom pre aplikácie v regeneratívnej medicíne [87].

7.2 Hodnotenie proliferácie buniek

Proliferácia buniek na PVDF-HFP fóliách predstavuje dôležitý ukazovateľ biokompatibility a schopnosti materiálu podporovať proces hojenia a obnovy tkanív. V rámci tejto práce bola hodnotená proliferácia buniek línií NIH/3T3 a ES R1 na čistých fóliách PVDF-HFP, fóliách so želatínovou úpravou a referenčných vzorkách. Sledovanie proliferácie prebiehalo pomocou konfokálnej laserovej skenovacej mikroskopie, pričom na vizualizáciu boli

bunkové jadrá a cytoskelet označené fluorescenčnými farbivami. Vyhodnocovanie bolo zamerané na adhéziu buniek, ich morfológiu a distribúciu na povrchu jednotlivých vzoriek.



Obrázok 6 Proliferácia myších fibroblastov NIH/3T3 v prítomnosti fólie PVDF-HFP so želatínou a bez želatíny v porovnaní s referenciou (zväčšenie 40x, 100x)

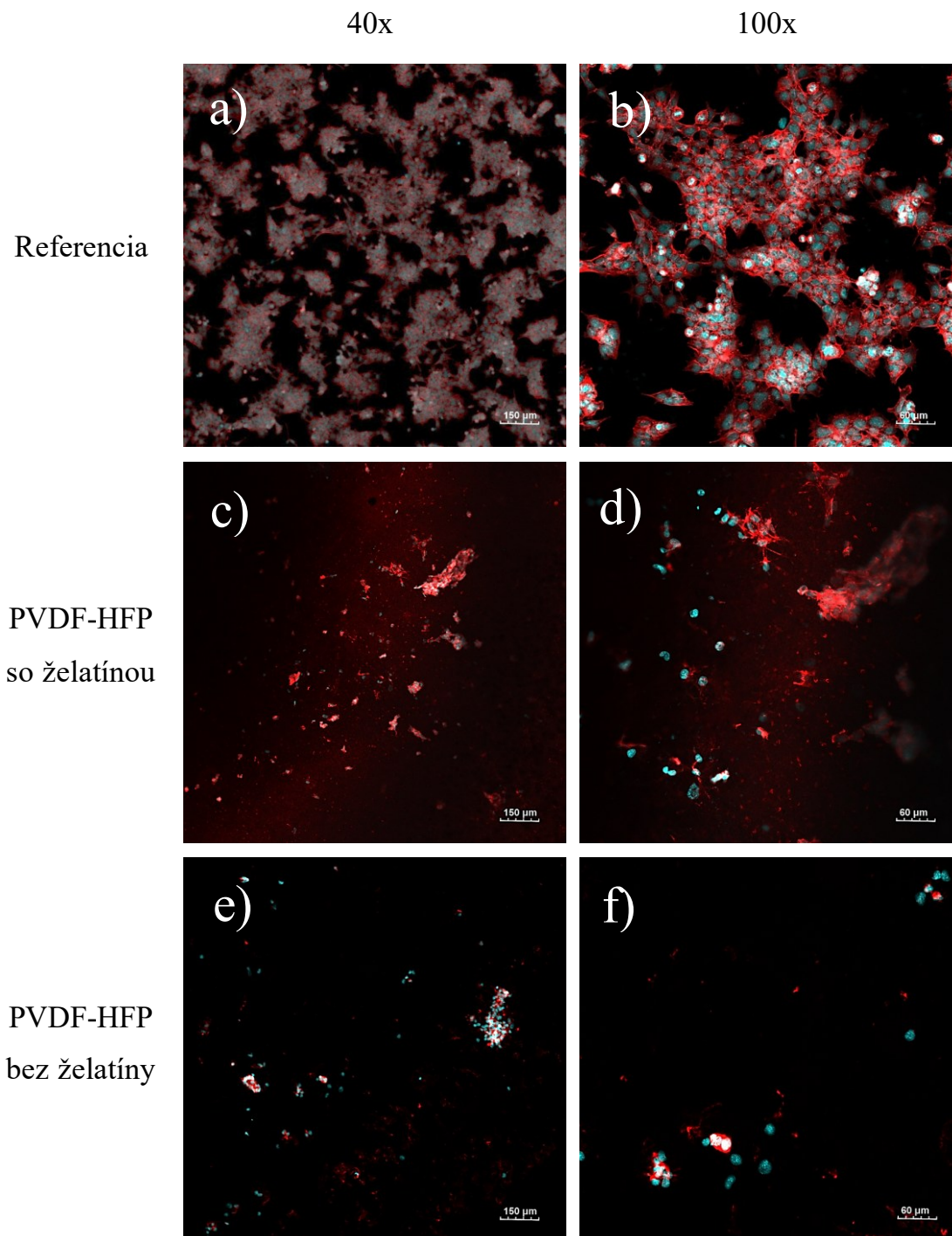
(zdroj: vlastný)

Proliferácia fibroblastov NIH/3T3 bola hodnotená na referencii a fóliách PVDF-HFP s rôznou povrchovou úpravou (Obrázok 6). Na referencii boli bunky distribuované rovnomerne po celom povrchu (Obrázok 6a,6b). Morfológia buniek bola typická pre fibroblasty, vrátane predĺženého vretenovitého tvaru, dobre organizovaného aktínového cytoskeletu a oválneho tvaru jadier. Bunky adherovali tesne k substrátu a vytvárali rozvinuté medzibunkové spojenia, čo potvrdzuje vysokú mieru proliferácie a vhodné podmienky pre rast.

V prípade fólií PVDF-HFP so želatínovou úpravou (Obrázok 6c, 6d) bola proliferácia buniek prevažne homogénna, avšak v určitých oblastiach boli pozorované prázdne zóny bez buniek. Tieto lokálne nehomogenity mohli vzniknúť v dôsledku nerovností povrchu alebo mechanického ohýbania fólie počas manipulácie. Bunky si zachovali typický tvar a ich jadrá boli pravidelného oválne tvaru. Celkovo bola adhézia a rast buniek uspokojivý, aj keď menej homogénny v porovnaní s referenciou.

Na fóliách PVDF-HFP bez želatínovej úpravy (Obrázok 6e, 6f) bola zaznamenaná výrazná nehomogenita v rozložení buniek. Bunky sa vyskytovali najmä v klastroch a vytvárali sústredené zhluky namiesto súvislej vrstvy. Počet adherovaných buniek bol v porovnaní s referenciou nižší. Morfológia fibroblastov bola menej charakteristická, v cytoskelete sa častejšie vyskytovali stresové vlákna. Tento nepriaznivý rozptyl a znížená adhézia buniek môžu súvisieť s hydrofóbnym charakterom povrchu PVDF-HFP, ktorý sa vyznačuje kontaktným uhlom približne $94,2^\circ \pm 4,1^\circ$ pre fólie pripravené technikou odlievania [88]. Ďalším faktorom mohla byť aj mechanická nestabilita fólie počas manipulácie, ktorá mohla lokálne zhoršiť podmienky pre adhéziu buniek. Tieto faktory mohli spoločne prispieť k narušeniu homogénnej proliferácie fibroblastov na tomto materiáli.

Následne bola hodnotená proliferácia buniek ES R1, a to rovnakým spôsobom ako v prípade bunkovej línie NIH/3T3. Výsledky proliferácie buniek ES R1 sú zobrazené na Obrázku 7.



Obrázok 7 Proliferácia myších embryonálnych kmeňových buniek ES R1 v prítomnosti fólie PVDF-HFP so želatínou a bez želatíny v porovnaní s referenciou (zväčšenie 40x, 100x)

(zdroj: vlastný)

Pri hodnotení proliferácie ES R1 bola na referenčných vzorkách (Obrázok 7a, 7b) pozorovaná typická tvorba kompaktných zhlukov tvorených bunkami s guľovitým tvarom. Kolónie boli dobre ohraničené a distribúcia buniek bola rovnomerná, čo svedčí o vysokej proliferácii.

V prípade fólií PVDF-HFP so želatínovou úpravou (Obrázok 7c, 7d) bola proliferácia buniek veľmi nízka. Povrch fólie zostával prevažne nepokrytý, čo naznačuje nízku mieru adhézie buniek na tento substrát. Je pravdepodobné, že bunky primárne adherovali na plastové dno kultivačnej misky pod fóliou. Bunky voľne sa vznášajúce v kultivačnom médiu pravdepodobne podľahli apoptóze alebo neprežili kvôli nedostatočnému ukotveniu.

Na fóliách PVDF-HFP bez želatínovej úpravy (Obrázok 7e, 7f) bola situácia obdobná, avšak ešte výraznejšia. Proliferácia buniek bola prakticky absentujúca a pozorované boli len ojedinelé bunky unášané v kultivačnom médiu, ktoré už boli mŕtve. Výsledky hodnotenia ukázali, že kmeňové bunky ES R1 vykazovali nízku adhéziu a proliferáciu na fóliách PVDF-HFP, pričom aplikácia želatínovej úpravy nebola schopná tieto parametre výraznejšie zlepšiť.

Pri porovnaní proliferácie buniek NIH/3T3 a ES R1 na fóliách PVDF-HFP s rôznou povrchovou úpravou bolo pozorované, že fibroblasty NIH/3T3 vykazovali lepšiu adhéziu a proliferáciu než kmeňové bunky ES R1. Tento rozdiel je pravdepodobne spôsobený hydrofóbnym charakterom PVDF-HFP, ktorý je menej vhodný pre citlivé kmeňové bunky. Fibroblasty, ako robustnejší typ buniek, dokázali priľnúť aj k menej priaznivým povrchom, zatiaľ čo ES R1 bunky, ktoré preferujú bioaktívne a hydrofilnejšie prostredie, vykazovali minimálnu adhéziu a rast. Okrem hydrofóbného charakteru materiálu mohla k zníženej proliferácii prispieť aj mechanická nestabilita fólie počas manipulácie, ktorá mohla lokálne zhoršiť podmienky pre adhéziu buniek.

V porovnateľných podmienkach ako v tejto štúdii hodnotil Ahmed et al. proliferáciu endotelových buniek na fóliách z PVDF-HFP pripravených odlievaním z roztoku a elektrostatickým zvlákňovaním. Už na neupravených odlievaných fóliách bola pozorovaná významná proliferácia, pričom množstvo buniek sa medzi 5. a 9. dňom zvýšilo z 80 % na 98 %, podobne ako na referencii. Oproti tomu na elektrostaticky zvlákňovaných vzorkách bola proliferácia oneskorená (40–65 %) a do 9. dňa nedošlo ku konfluencii. Následná adsorpcia fibrinogénu výrazne zlepšila proliferáciu práve na elektrostaticky zvlákňovaných povrchoch až na 98 %, čo sa pripisuje vyššej aktívnej ploche a priaznivej topografii nanovláknien, ktoré umožnili efektívnejšiu väzbu bioaktívnych domén fibrinogénu [88].

Podobne, Nunes-Pereira et al. skúmali proliferáciu dvoch bunkových línií na poréznych PVDF a kopolymérnych membránach pripravených odlievaním. V súlade s našimi pozorovaniami zistili, že membrány z PVDF-HFP vykazovali najnižšiu mieru proliferácie, čo pripisujú kombinácii vysokej hydrofóbnosti, nižšej kryštalinity a menej vhodnej morfológii pórov [89].

Pre zlepšenie adhézie a proliferácie buniek na fóliách PVDF-HFP by bolo vhodné použiť kombináciu fyzikálnych a chemických úprav povrchu. Účinným prístupom môže byť povrchová modifikácia plazmou na zvýšenie hydrofility [90], ako aj imobilizácia bioaktívnych proteínov, napríklad kolagénu, fibrinogénu. Takto modifikovaný povrch by mohol vytvoriť vhodnejšie podmienky pre bunkový rast [88].

ZÁVER

Cieľom bakalárskej práce bolo preskúmať vlastnosti piezoelektrických materiálov, najmä v kontexte ich potenciálneho využitia v oblasti regeneratívnej medicíny, a experimentálne vyhodnotiť biokompatibilitu fólií PVDF-HFP.

V teoretickej časti boli spracované poznatky o piezoelektrických materiáloch, ktoré vďaka schopnosti generovať elektrický náboj v reakcii na mechanickú deformáciu zohrávajú dôležitú úlohu v stimulácii buniek a regenerácii tkanív. Piezoelektrické materiály sa vyznačujú vysokou tepelnou stabilitou, chemickou odolnosťou, dobrou mechanickou pevnosťou a vysokou citlivosťou na mechanické podnety. Tieto materiály dokážu generovať nízkoúrovňové elektrické prúdy v cieľovom tkanive, čím napodobňujú prirodzené endogénne elektrické polia organizmu a podporujú bunkové procesy, ako je adhézia, proliferácia a diferenciácia.

V experimentálnej časti boli testované fólie PVDF-HFP pripravené metódou liatia z roztoku. Cytotoxicita materiálu bola hodnotená na základe dostupnej literatúry, pričom výsledky poukazujú, že PVDF-HFP nevykazuje významnú cytotoxicitu voči rôznym typom buniek, vrátane epitelových a endotelových línií. Praktická časť bola zameraná na hodnotenie proliferácie fibroblastov NIH/3T3 a kmeňových buniek ES R1. Fibroblasty vykazovali dobrú adhéziu a vyššiu proliferáciu na fóliách v porovnaní s kmeňovými bunkami, ktoré preukázali minimálnu adhéziu a rast, aj napriek želatínovej úprave povrchu. Výsledky naznačujú, že hydrofóbny charakter fólií a mechanická nestabilita materiálu počas manipulácie mohli negatívne ovplyvniť bunkové správanie.

Z hľadiska ďalšieho výskumu by bolo vhodné zamerať sa na optimalizáciu technológie prípravy fólií s cieľom zvýšiť ich mechanickú stabilitu. Rovnako je potrebné venovať pozornosť testovaniu rôznych povrchových modifikácií a ich vplyvu na správanie ďalších typov buniek. Perspektívne by takto upravené fólie mohli slúžiť ako nosiče buniek v regeneratívnej medicíne a pri tvorbe bioaktívnych scaffoldov. Dostupné štúdie zároveň preukazujú, že materiály na báze PVDF-HFP sa už úspešne testujú aj *in vivo* v oblasti regenerácie periférnych nervov, čo potvrdzuje ich vysoký potenciál pre biomedicínske aplikácie.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

- [1] EDGAR, L, T PU, B PORTER, J M AZIZ, C LA POINTE, A ASTHANA a G ORLANDO. Regenerative medicine, organ bioengineering and transplantation. *British Journal of Surgery* [online]. 2020, **107**(7), 793–800. ISSN 0007-1323, 1365-2168. Dostupné z: doi:10.1002/bjs.11686
- [2] LAY, Ratanak, Gerrit Sjoerd DEIJS a Jenny MALMSTRÖM. The intrinsic piezoelectric properties of materials – a review with a focus on biological materials. *RSC Advances* [online]. 2021, **11**(49), 30657–30673. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/D1RA03557F
- [3] JACOB, Jaicy, Namdev MORE, Kiran KALIA a Govinda KAPUSETTI. Piezoelectric smart biomaterials for bone and cartilage tissue engineering. *Inflammation and Regeneration* [online]. 2018, **38**(1), 2. ISSN 1880-8190. Dostupné z: doi:10.1186/s41232-018-0059-8
- [4] CHEN, Ping, Chao XU, Ping WU, Kun LIU, Feixiang CHEN, Yun CHEN, Honglian DAI a Zhiqiang LUO. Wirelessly Powered Electrical-Stimulation Based on Biodegradable 3D Piezoelectric Scaffolds Promotes the Spinal Cord Injury Repair. *ACS Nano* [online]. 2022, **16**(10), 16513–16528. ISSN 1936-0851, 1936-086X. Dostupné z: doi:10.1021/acsnano.2c05818
- [5] DOLAI, Jayanta, Aritra BISWAS a Nikhil R. JANA. Piezoelectric Nanoparticles for Ultrasound-Based Wireless Therapies. *ACS Applied Nano Materials* [online]. 2022, **5**(10), 14038–14050. ISSN 2574-0970, 2574-0970. Dostupné z: doi:10.1021/acsanm.2c03421
- [6] PANG, Calver, Amel IBRAHIM, Neil W BULSTRODE a Patrizia FERRETTI. An overview of the therapeutic potential of regenerative medicine in cutaneous wound healing. *International Wound Journal* [online]. 2017, **14**(3), 450–459. ISSN 1742-4801, 1742-481X. Dostupné z: doi:10.1111/iwj.12735
- [7] MAO, Angelo S. a David J. MOONEY. Regenerative medicine: Current therapies and future directions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2015, **112**(47), 14452–14459. ISSN 0027-8424, 1091-6490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1508520112
- [8] WEISSMAN, Irving L. a Judith A. SHIZURU. The origins of the identification and isolation of hematopoietic stem cells, and their capability to induce donor-specific transplantation tolerance and treat autoimmune diseases. *Blood* [online]. 2008, **112**(9), 3543–3553. ISSN 0006-4971, 1528-0020. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2008-08-078220
- [9] WEI, Lingxi, Wenqi YAN, Wahid SHAH, Zhengwei ZHANG, Minghe WANG, Biao LIU, Zhentong XUE, Yixin CAO, Xinyu HOU, Kai ZHANG, Beibei YAN a Xiaogang WANG. Advancements and challenges in stem cell transplantation for regenerative medicine. *Heliyon* [online]. 2024, **10**(16), e35836. ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2024.e35836

- [10] TAKAHASHI, Kazutoshi a Shinya YAMANAKA. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell* [online]. 2006, **126**(4), 663–676. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2006.07.024
- [11] MARGIANA, Ria, Alexander MARKOV, Angelina O. ZEKIY, Mohammed Ubaid HAMZA, Khalid A. AL-DABBAGH, Sura Hasan AL-ZUBAIDI, Noora M. HAMEED, Irshad AHMAD, R. SIVARAMAN, Hamzah H. KZAR, Moaed E. AL-GAZALLY, Yasser Fakri MUSTAFA a Homayoon SIAHMANSOURI. Clinical application of mesenchymal stem cell in regenerative medicine: a narrative review. *Stem Cell Research & Therapy* [online]. 2022, **13**(1), 366. ISSN 1757-6512. Dostupné z: doi:10.1186/s13287-022-03054-0
- [12] ATALA, Anthony. Regenerative medicine strategies. *Journal of Pediatric Surgery* [online]. 2012, **47**(1), 17–28. ISSN 00223468. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpedsurg.2011.10.013
- [13] WANG, Chie-Hong, Guan-Cyun LIN, Ru-Huei FU, Yu-Chuen HUANG, Shih-Yin CHEN, Shinn-Zong LIN, Horng-Jyh HARN, Woei-Cherng SHYU, Yi-Fang HUANG, Long-Bin JENG a Shih-Ping LIU. Neural stem cells derived from α -synuclein-knockdown iPS cells alleviate Parkinson's disease. *Cell Death Discovery* [online]. 2024, **10**(1), 407. ISSN 2058-7716. Dostupné z: doi:10.1038/s41420-024-02176-z
- [14] TERZIC, Andre, Michael A. PFENNING, Gregory J. GORES a C. Michel HARPER. Regenerative Medicine Build-Out. *Stem Cells Translational Medicine* [online]. 2015, **4**(12), 1373–1379. ISSN 2157-6564, 2157-6580. Dostupné z: doi:10.5966/sctm.2015-0275
- [15] GURTNER, Geoffrey C., Matthew J. CALLAGHAN a Michael T. LONGAKER. Progress and Potential for Regenerative Medicine. *Annual Review of Medicine* [online]. 2007, **58**(1), 299–312. ISSN 0066-4219, 1545-326X. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.med.58.082405.095329
- [16] ZHANG, Jianhua, Esther WEHRLE, Marina RUBERT a Ralph MÜLLER. 3D Bioprinting of Human Tissues: Biofabrication, Bioinks, and Bioreactors. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2021, **22**(8), 3971. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22083971
- [17] MAHLA, Ranjeet Singh. Stem Cells Applications in Regenerative Medicine and Disease Therapeutics. *International Journal of Cell Biology* [online]. 2016, **2016**, 1–24. ISSN 1687-8876, 1687-8884. Dostupné z: doi:10.1155/2016/6940283
- [18] COVACI, Corina a Aurel GONTEAN. Piezoelectric Energy Harvesting Solutions: A Review. *Sensors* [online]. 2020, **20**(12), 3512. ISSN 1424-8220. Dostupné z: doi:10.3390/s20123512
- [19] SHI, Xiaoquan, Yazhou SUN, Dekai LI, Haitao LIU, Wenkun XIE a Xichun LUO. Advances in wearable flexible piezoelectric energy harvesters: materials, structures, and fabrication. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics* [online]. 2023,

34(3), 220. ISSN 0957-4522, 1573-482X. Dostupné z: doi:10.1007/s10854-022-09536-4

- [20] NGUYEN, Nhien, Zong-Hong LIN, Snigdha Roy BARMAN, Chiranjeevi KORUPALLI, Ji-Yen CHENG, Ni-Xuan SONG, Yen CHANG, Fwu-Long MI, Hsiang-Lin SONG, Hsing-Wen SUNG a Yu-Jung LIN. Engineering an integrated electroactive dressing to accelerate wound healing and monitor noninvasively progress of healing. *Nano Energy* [online]. 2022, **99**, 107393. ISSN 22112855. Dostupné z: doi:10.1016/j.nanoen.2022.107393
- [21] WU, Yongling, Yulin MA, Hongyu ZHENG a Seeram RAMAKRISHNA. Piezoelectric materials for flexible and wearable electronics: A review. *Materials & Design* [online]. 2021, **211**, 110164. ISSN 02641275. Dostupné z: doi:10.1016/j.matdes.2021.110164
- [22] KOPTSIK, V A a I S REZ. Pierre Curie's works in the field of crystal physics (on the one-hundredth anniversary of the discovery of the piezoelectric effect). *Soviet Physics Uspekhi* [online]. 1981, **24**(5), 426–428. ISSN 0038-5670. Dostupné z: doi:10.1070/PU1981v024n05ABEH004861
- [23] WANG, Longfei a Zhong Lin WANG. Advances in piezotronic transistors and piezotronics. *Nano Today* [online]. 2021, **37**, 101108. ISSN 17480132. Dostupné z: doi:10.1016/j.nantod.2021.101108
- [24] WU, Yifan, Junwu ZOU, Kai TANG, Ying XIA, Xixi WANG, Lili SONG, Jinhai WANG, Kai WANG a Zhihong WANG. From electricity to vitality: the emerging use of piezoelectric materials in tissue regeneration. *Burns & Trauma* [online]. 2024, **12**, tkae013. ISSN 2321-3876. Dostupné z: doi:10.1093/burnst/tkae013
- [25] STARR, Matthew B. a Xudong WANG. Coupling of piezoelectric effect with electrochemical processes. *Nano Energy* [online]. 2015, **14**, 296–311. ISSN 22112855. Dostupné z: doi:10.1016/j.nanoen.2015.01.035
- [26] ZANDONA, Alessio, Bernd RÜDINGER a Joachim DEUBENER. Mg-bearing quartz solid solutions as structural intermediates between low and high quartz. *Journal of the American Ceramic Society* [online]. 2021, **104**(2), 1146–1155. ISSN 0002-7820, 1551-2916. Dostupné z: doi:10.1111/jace.17517
- [27] PARK, In Woo, Kyung Won KIM, Yunhwa HONG, Hyun Ji YOON, Yonghun LEE, Dham GWAK a Kwang HEO. Recent Developments and Prospects of M13-Bacteriophage Based Piezoelectric Energy Harvesting Devices. *Nanomaterials* [online]. 2020, **10**(1), 93. ISSN 2079-4991. Dostupné z: doi:10.3390/nano10010093
- [28] *Piezoelectric Effect - Optimize IAS* [online]. 31. března 2023 [vid. 2025-03-27]. Dostupné z: <https://optimizeias.com/piezoelectric-effect/>
- [29] TICHÝ, Jan, Jiří ERHART, Erwin KITTINGER a Jana PŘÍVRATSKÁ. *Fundamentals of Piezoelectric Sensorics: Mechanical, Dielectric, and Thermodynamical Properties of Piezoelectric Materials* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010 [vid. 2025-02-19]. ISBN 978-3-540-43966-0. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-540-68427-5

- [30] JAIN, Anjana, Prashanth K. J., Asheesh Kr. SHARMA, Arpit JAIN a Rashmi P.N. Dielectric and piezoelectric properties of PVDF/PZT composites: A review. *Polymer Engineering & Science* [online]. 2015, **55**(7), 1589–1616. ISSN 0032-3888, 1548-2634. Dostupné z: doi:10.1002/pen.24088
- [31] BARBOSA, Frederico, Fábio F. F. GARRUDO, Paola S. ALBERTE, Leonor RESINA, Marta S. CARVALHO, Akhil JAIN, Ana C. MARQUES, Francesc ESTRANY, Frankie J. RAWSON, Carlos ALÉMAN, Frederico Castelo FERREIRA a João C. SILVA. Hydroxyapatite-filled osteoinductive and piezoelectric nanofibers for bone tissue engineering. *Science and Technology of Advanced Materials* [online]. 2023, **24**(1), 2242242. ISSN 1468-6996, 1878-5514. Dostupné z: doi:10.1080/14686996.2023.2242242
- [32] THEOCHARIS, Achilleas D., Dimitra MANOU a Nikos K. KARAMANOS. The extracellular matrix as a multitasking player in disease. *The FEBS Journal* [online]. 2019, **286**(15), 2830–2869. ISSN 1742-464X, 1742-4658. Dostupné z: doi:10.1111/febs.14818
- [33] CHEN, Li, Jianye YANG, Zhengwei CAI, Yanran HUANG, Pengcheng XIAO, Juan WANG, Fan WANG, Wei HUANG, Wenguo CUI a Ning HU. Electroactive Biomaterials Regulate the Electrophysiological Microenvironment to Promote Bone and Cartilage Tissue Regeneration. *Advanced Functional Materials* [online]. 2024, **34**(23), 2314079. ISSN 1616-301X, 1616-3028. Dostupné z: doi:10.1002/adfm.202314079
- [34] TSENG, Mu-Cyun, Jormay LIM, Ya-Cherng CHU, Chih-Wei CHEN, Chi-Kuang FENG a Jaw-Lin WANG. Dynamic Pressure Stimulation Upregulates Collagen II and Aggrecan in Nucleus Pulposus Cells Through Calcium Signaling. *Spine* [online]. 2022, **47**(15), 1111–1119. ISSN 0362-2436. Dostupné z: doi:10.1097/BRS.0000000000004286
- [35] FUKADA, Eiichi a Iwao YASUDA. On the Piezoelectric Effect of Bone. *Journal of the Physical Society of Japan* [online]. 1957, **12**(10), 1158–1162. ISSN 0031-9015, 1347-4073. Dostupné z: doi:10.1143/JPSJ.12.1158
- [36] FUKADA, Eiichi a Iwao YASUDA. Piezoelectric Effects in Collagen. *Japanese Journal of Applied Physics* [online]. 1964, **3**(2), 117. ISSN 0021-4922, 1347-4065. Dostupné z: doi:10.1143/JJAP.3.117
- [37] CHAE, Inseok, Chang Kyu JEONG, Zoubeida OUNAIES a Seong H. KIM. Review on Electromechanical Coupling Properties of Biomaterials. *ACS Applied Bio Materials* [online]. 2018, **1**(4), 936–953. ISSN 2576-6422, 2576-6422. Dostupné z: doi:10.1021/acsabm.8b00309
- [38] KWON, Jinha a Hanna CHO. Piezoelectric Heterogeneity in Collagen Type I Fibrils Quantitatively Characterized by Piezoresponse Force Microscopy. *ACS Biomaterials Science & Engineering* [online]. 2020, **6**(12), 6680–6689. ISSN 2373-9878, 2373-9878. Dostupné z: doi:10.1021/acsbiomaterials.0c01314

- [39] KWON, Jinha a Hanna CHO. Collagen piezoelectricity in osteogenesis imperfecta and its role in intrafibrillar mineralization. *Communications Biology* [online]. 2022, **5**(1), 1229. ISSN 2399-3642. Dostupné z: doi:10.1038/s42003-022-04204-z
- [40] MINARY-JOLANDAN, Majid a Min-Feng YU. Uncovering Nanoscale Electromechanical Heterogeneity in the Subfibrillar Structure of Collagen Fibrils Responsible for the Piezoelectricity of Bone. *ACS Nano* [online]. 2009, **3**(7), 1859–1863. ISSN 1936-0851, 1936-086X. Dostupné z: doi:10.1021/nn900472n
- [41] DENNING, Denise, Sofiane ALILAT, Stefan HABELITZ, Andrzej FERTALA a Brian J. RODRIGUEZ. Visualizing molecular polar order in tissues via electromechanical coupling. *Journal of Structural Biology* [online]. 2012, **180**(3), 409–419. ISSN 10478477. Dostupné z: doi:10.1016/j.jsb.2012.09.003
- [42] ZHOU, Zhong, Dong QIAN a Majid MINARY-JOLANDAN. Molecular Mechanism of Polarization and Piezoelectric Effect in Super-Twisted Collagen. *ACS Biomaterials Science & Engineering* [online]. 2016, **2**(6), 929–936. ISSN 2373-9878, 2373-9878. Dostupné z: doi:10.1021/acsbiomaterials.6b00021
- [43] FANG, Weijian, Hang PING, Xinhui LI, Xiaofei LIU, Fuqiang WAN, Bingtian TU, Hao XIE, Patraic O'REILLY, Hao WANG, Weimin WANG a Zhengyi FU. Oriented Strontium Carbonate Nanocrystals within Collagen Films for Flexible Piezoelectric Sensors. *Advanced Functional Materials* [online]. 2021, **31**(45), 2105806. ISSN 1616-301X, 1616-3028. Dostupné z: doi:10.1002/adfm.202105806
- [44] PANDA, Swati. Biomolecular Piezoelectric Materials for Biosensors. *Prabha Materials Science Letters* [online]. 2022, **1**(1), 37–49. ISSN 2583-5114. Dostupné z: doi:10.33889/PMSL.2022.1.1.006
- [45] BANKS, T. A., P. S. B. LUCKMAN, J. E. FRITH a J. J. COOPER-WHITE. Effects of electric fields on human mesenchymal stem cell behaviour and morphology using a novel multichannel device. *Integrative Biology* [online]. 2015, **7**(6), 693–712. ISSN 1757-9708. Dostupné z: doi:10.1039/c4ib00297k
- [46] RAJABI, Amir Hossein, Michael JAFFE a Treena Livingston ARINZEH. Piezoelectric materials for tissue regeneration: A review. *Acta Biomaterialia* [online]. 2015, **24**, 12–23. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2015.07.010
- [47] HAO, Jigong, Wei LI, Jiwei ZHAI a Haydn CHEN. Progress in high-strain perovskite piezoelectric ceramics. *Materials Science and Engineering: R: Reports* [online]. 2019, **135**, 1–57. ISSN 0927796X. Dostupné z: doi:10.1016/j.mser.2018.08.001
- [48] NAIN, Amit, Srishti CHAKRABORTY, Snigdha Roy BARMAN, Pratik GAVIT, Sushma INDRAKUMAR, Akhilesh AGRAWAL, Zong-Hong LIN a Kaushik CHATTERJEE. Progress in the development of piezoelectric biomaterials for tissue remodeling. *Biomaterials* [online]. 2024, **307**, 122528. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2024.122528
- [49] BRUSA, Eugenio, Anna CARRERA a Cristiana DELPRETE. A Review of Piezoelectric Energy Harvesting: Materials, Design, and Readout Circuits. *Actuators* [online]. 2023, **12**(12), 457. ISSN 2076-0825. Dostupné z: doi:10.3390/act12120457

- [50] AHAMED, Maqsood, Mohd Javed AKHTAR, M.A. Majeed KHAN, Hisham A. ALHADLAQ a Aws ALSHAMSAN. Barium Titanate (BaTiO₃) Nanoparticles Exert Cytotoxicity through Oxidative Stress in Human Lung Carcinoma (A549) Cells. *Nanomaterials* [online]. 2020, **10**(11), 2309. ISSN 2079-4991. Dostupné z: doi:10.3390/nano10112309
- [51] BUSUIOC, Cristina, Georgeta VOICU, Sorin-Ion JINGA, Valentina MITRAN a Anisoara CIMPEAN. The influence of barium titanate on the biological properties of collagen-hydroxiapatite composite scaffolds. *Materials Letters* [online]. 2019, **253**, 317–322. ISSN 0167577X. Dostupné z: doi:10.1016/j.matlet.2019.06.101
- [52] XIANG, Zhuo, Lingling XU, Yizhu SHAN, Xi CUI, Bojing SHI, Yuan XI, Panxing REN, Xuemei ZHENG, Chaochao ZHAO, Dan LUO a Zhou LI. Tumor microenvironment-responsive self-assembly of barium titanate nanoparticles with enhanced piezoelectric catalysis capabilities for efficient tumor therapy. *Bioactive Materials* [online]. 2024, **33**, 251–261. ISSN 2452199X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bioactmat.2023.11.004
- [53] YU, Sheng-Wen, Shu-Ting KUO, Wei-Hsing TUAN, Yu-Yu TSAI a Sea-Fu WANG. Cytotoxicity and degradation behavior of potassium sodium niobate piezoelectric ceramics. *Ceramics International* [online]. 2012, **38**(4), 2845–2850. ISSN 02728842. Dostupné z: doi:10.1016/j.ceramint.2011.11.056
- [54] CARVILLE, N. Craig, Liam COLLINS, Michele MANZO, Katia GALLO, Bart I. LUKASZ, Katey K. MCKAYED, Jeremy C. SIMPSON a Brian J. RODRIGUEZ. Biocompatibility of ferroelectric lithium niobate and the influence of polarization charge on osteoblast proliferation and function. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2015, **103**(8), 2540–2548. ISSN 1549-3296, 1552-4965. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.35390
- [55] LE, Anh Thi, Mohsen AHMADIPOUR a Swee-Yong PUNG. A review on ZnO-based piezoelectric nanogenerators: Synthesis, characterization techniques, performance enhancement and applications. *Journal of Alloys and Compounds* [online]. 2020, **844**, 156172. ISSN 09258388. Dostupné z: doi:10.1016/j.jallcom.2020.156172
- [56] MIRZA, Eraj Humayun, Chong PAN-PAN, Wan Mohd Azhar Bin WAN IBRAHIM, Ivan DJORDJEVIC a Belinda PINGGUAN-MURPHY. Chondroprotective effect of zinc oxide nanoparticles in conjunction with hypoxia on bovine cartilage-matrix synthesis. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* [online]. 2015, **103**(11), 3554–3563. ISSN 1549-3296, 1552-4965. Dostupné z: doi:10.1002/jbm.a.35495
- [57] CIOFANI, Gianni, Serena DANTI, Delfo D’ALESSANDRO, Leonardo RICOTTI, Stefania MOSCATO, Giovanni BERTONI, Andrea FALQUI, Stefano BERRETTINI, Mario PETRINI, Virgilio MATTOLI a Arianna MENCIASSI. Enhancement of Neurite Outgrowth in Neuronal-Like Cells following Boron Nitride Nanotube-Mediated Stimulation. *ACS Nano* [online]. 2010, **4**(10), 6267–6277. ISSN 1936-0851, 1936-086X. Dostupné z: doi:10.1021/nn101985a
- [58] MARTINS, P. M., S. RIBEIRO, C. RIBEIRO, V. SENCADAS, A. C. GOMES, F. M. GAMA a S. LANCEROS-MÉNDEZ. Effect of poling state and morphology of piezoelectric poly(vinylidene fluoride) membranes for skeletal muscle tissue

engineering. *RSC Advances* [online]. 2013, **3**(39), 17938. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/c3ra43499k

- [59] REIS, Joana, Clara FRIAS, Carlos CANTO E CASTRO, Maria Luísa BOTELHO, António Torres MARQUES, José António Oliveira SIMÕES, Fernando CAPELA E SILVA a José POTES. A New Piezoelectric Actuator Induces Bone Formation *In Vivo*: A Preliminary Study. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* [online]. 2012, **2012**, 1–7. ISSN 1110-7243, 1110-7251. Dostupné z: doi:10.1155/2012/613403
- [60] LUO, Yi, Jian LIU, Jiachang ZHANG, Yu XIAO, Ying WU a Zhidong ZHAO. A wearable nanoscale heart sound sensor based on P(VDF-TrFE)/ZnO/GR and its application in cardiac disease detection. *Beilstein Journal of Nanotechnology* [online]. 2023, **14**, 819–833. ISSN 2190-4286. Dostupné z: doi:10.3762/bjnano.14.67
- [61] DAMARAJU, Sita M., Yueyang SHEN, Ezinwa ELELE, Boris KHUSID, Ahmad ESHGHINEJAD, Jiangyu LI, Michael JAFFE a Treena Livingston ARINZEH. Three-dimensional piezoelectric fibrous scaffolds selectively promote mesenchymal stem cell differentiation. *Biomaterials* [online]. 2017, **149**, 51–62. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2017.09.024
- [62] FUKADA, E. Piezoelectricity of biopolymers. *Biorheology* [online]. 1995, **32**(6), 593–609. ISSN 0006355X. Dostupné z: doi:10.1016/0006-355X(95)00039-C
- [63] MOKHTARI, Fatemeh, Bahareh AZIMI, Maryam SALEHI, Samaneh HASHEMIKIA a Serena DANTI. Recent advances of polymer-based piezoelectric composites for biomedical applications. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* [online]. 2021, **122**, 104669. ISSN 17516161. Dostupné z: doi:10.1016/j.jmbbm.2021.104669
- [64] LIU, Xia, Jing MA, Xiaoming WU, Liwei LIN a Xiaohong WANG. Polymeric Nanofibers with Ultrahigh Piezoelectricity via Self-Orientation of Nanocrystals. *ACS Nano* [online]. 2017, **11**(2), 1901–1910. ISSN 1936-0851, 1936-086X. Dostupné z: doi:10.1021/acsnano.6b07961
- [65] TANG, Yufei, Lei CHEN, Zihao DUAN, Kang ZHAO a Zixiang WU. Graphene/barium titanate/polymethyl methacrylate bio-piezoelectric composites for biomedical application. *Ceramics International* [online]. 2020, **46**(5), 6567–6574. ISSN 02728842. Dostupné z: doi:10.1016/j.ceramint.2019.11.142
- [66] LI, Yiping, Xiaohan DAI, Yunyang BAI, Yun LIU, Yuehong WANG, Ousheng LIU, Fei YAN, Zhangui TANG, Xuehui ZHANG a Xuliang DENG. Electroactive BaTiO₃ nanoparticle-functionalized fibrous scaffolds enhance osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *International Journal of Nanomedicine* [online]. 2017, **Volume 12**, 4007–4018. ISSN 1178-2013. Dostupné z: doi:10.2147/IJN.S135605
- [67] KAMEL, Nagwa Ahmed. Bio-piezoelectricity: fundamentals and applications in tissue engineering and regenerative medicine. *Biophysical Reviews* [online]. 2022, **14**(3), 717–733. ISSN 1867-2450, 1867-2469. Dostupné z: doi:10.1007/s12551-022-00969-z

- [68] BAI, Yunyang, Xiaohan DAI, Ying YIN, Jiaqi WANG, Xiaowen SUN, Weiwei LIANG, Yiping LI, Xuliang DENG a Xuehui ZHANG. Biomimetic piezoelectric nanocomposite membranes synergistically enhance osteogenesis of deproteinized bovine bone grafts. *International Journal of Nanomedicine* [online]. 2019, **Volume 14**, 3015–3026. ISSN 1178-2013. Dostupné z: doi:10.2147/IJN.S197824
- [69] JOO, Soyun, Yonghyun GWON, Soyeon KIM, Sunho PARK, Jangho KIM a Seungbum HONG. Piezoelectrically and Topographically Engineered Scaffolds for Accelerating Bone Regeneration. *ACS Applied Materials & Interfaces* [online]. 2024, **16**(2), 1999–2011. ISSN 1944-8244, 1944-8252. Dostupné z: doi:10.1021/acsami.3c12575
- [70] HUANG, Huagui, Kaizhong WANG, Xiangyan LIU, Xin LIU, Jinzuo WANG, Moran SUO, Hui WANG, Shuang CHEN, Xin CHEN a Zhonghai LI. Piezoelectric biomaterials for providing electrical stimulation in bone tissue engineering: Barium titanate. *Journal of Orthopaedic Translation* [online]. 2025, **51**, 94–107. ISSN 2214031X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jot.2024.12.011
- [71] LIU, Kai, Lisan YAN, Ruotao LI, Zhiming SONG, Jianxun DING, Bin LIU a Xuesi CHEN. 3D Printed Personalized Nerve Guide Conduits for Precision Repair of Peripheral Nerve Defects. *Advanced Science* [online]. 2022, **9**(12), 2103875. ISSN 2198-3844, 2198-3844. Dostupné z: doi:10.1002/advs.202103875
- [72] SHLAPAKOVA, Lada E., Maria A. SURMENEVA, Andrei L. KHOLKIN a Roman A. SURMENEV. Revealing an important role of piezoelectric polymers in nervous-tissue regeneration: A review. *Materials Today Bio* [online]. 2024, **25**, 100950. ISSN 25900064. Dostupné z: doi:10.1016/j.mtbio.2024.100950
- [73] QIAN, Yun, Yuan CHENG, Jialin SONG, Yang XU, Wei-En YUAN, Cunyi FAN a Xianyou ZHENG. Mechano-Informed Biomimetic Polymer Scaffolds by Incorporating Self-Powered Zinc Oxide Nanogenerators Enhance Motor Recovery and Neural Function. *Small* [online]. 2020, **16**(32), 2000796. ISSN 1613-6810, 1613-6829. Dostupné z: doi:10.1002/smll.202000796
- [74] ZHANG, Haiqiang, Dongwei LAN, Baiqing WU, Xiang CHEN, Xia LI, Zhi LI a Fangyin DAI. Electrospun Piezoelectric Scaffold with External Mechanical Stimulation for Promoting Regeneration of Peripheral Nerve Injury. *Biomacromolecules* [online]. 2023, **24**(7), 3268–3282. ISSN 1525-7797, 1526-4602. Dostupné z: doi:10.1021/acs.biomac.3c00311
- [75] HOOP, Marcus, Xiang-Zhong CHEN, Aldo FERRARI, Fajer MUSHTAQ, Gagik GHAZARYAN, Theo TERVOORT, Dimos POULIKAKOS, Bradley NELSON a Salvador PANÉ. Ultrasound-mediated piezoelectric differentiation of neuron-like PC12 cells on PVDF membranes. *Scientific Reports* [online]. 2017, **7**(1), 4028. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-017-03992-3
- [76] CHENG, Yuan, Yang XU, Yun QIAN, Xuan CHEN, Yuanming OUYANG a Wei-En YUAN. 3D structured self-powered PVDF/PCL scaffolds for peripheral nerve regeneration. *Nano Energy* [online]. 2020, **69**, 104411. ISSN 22112855. Dostupné z: doi:10.1016/j.nanoen.2019.104411

- [77] VELNAR, T, T BAILEY a V SMRKOLJ. The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research* [online]. 2009, **37**(5), 1528–1542. ISSN 0300-0605, 1473-2300. Dostupné z: doi:10.1177/147323000903700531
- [78] BHANG, Suk Ho, Woo Soon JANG, Jin HAN, Jeong-Kee YOON, Wan-Geun LA, Eungkyu LEE, Youn Sang KIM, Jung-Youn SHIN, Tae-Jin LEE, Hong Koo BAIK a Byung-Soo KIM. Zinc Oxide Nanorod-Based Piezoelectric Dermal Patch for Wound Healing. *Advanced Functional Materials* [online]. 2017, **27**(1), 1603497. ISSN 1616-301X, 1616-3028. Dostupné z: doi:10.1002/adfm.201603497
- [79] BONFERONI, Maria Cristina, Carla CARAMELLA, Laura CATENACCI, Bice CONTI, Rossella DORATI, Franca FERRARI, Ida GENTA, Tiziana MODENA, Sara PERTEGHELLA, Silvia ROSSI, Giuseppina SANDRI, Milena SORRENTI, Maria Luisa TORRE a Giuseppe TRIPODO. Biomaterials for Soft Tissue Repair and Regeneration: A Focus on Italian Research in the Field. *Pharmaceutics* [online]. 2021, **13**(9), 1341. ISSN 1999-4923. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics13091341
- [80] LIANG, Jiachen, Huajing ZENG, Liang QIAO, Hong JIANG, Qian YE, Zhilong WANG, Bin LIU a Zengjie FAN. 3D Printed Piezoelectric Wound Dressing with Dual Piezoelectric Response Models for Scar-Prevention Wound Healing. *ACS Applied Materials & Interfaces* [online]. 2022, **14**(27), 30507–30522. ISSN 1944-8244, 1944-8252. Dostupné z: doi:10.1021/acsami.2c04168
- [81] WU, Mengqi, Zeyu ZHANG, Zhirong LIU, Jiaming ZHANG, Yalong ZHANG, Yiming DING, Tian HUANG, Deli XIANG, Zhuo WANG, Yujie DAI, Xingyi WAN, Shaobo WANG, Huaili QIAN, Qijun SUN a Linlin LI. Piezoelectric nanocomposites for sonodynamic bacterial elimination and wound healing. *Nano Today* [online]. 2021, **37**, 101104. ISSN 17480132. Dostupné z: doi:10.1016/j.nantod.2021.101104
- [82] GUO, Hong-Feng, Zhen-Sheng LI, Shi-Wu DONG, Wei-Jun CHEN, Ling DENG, Yu-Fei WANG a Da-Jun YING. Piezoelectric PU/PVDF electrospun scaffolds for wound healing applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2012, **96**, 29–36. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2012.03.014
- [83] WANG, Limin, Yaru YU, Xiaowen ZHAO, Zhen ZHANG, Xueling YUAN, Jinlong CAO, Weikun MENG, Lin YE, Wei LIN a Guanglin WANG. A Biocompatible Self-Powered Piezoelectric Poly(vinyl alcohol)-Based Hydrogel for Diabetic Wound Repair. *ACS Applied Materials & Interfaces* [online]. 2022, **14**(41), 46273–46289. ISSN 1944-8244, 1944-8252. Dostupné z: doi:10.1021/acsami.2c13026
- [84] GHASEMI, Mahshid, Tyron TURNBULL, Sonia SEBASTIAN a Ivan KEMPSON. The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2021, **22**(23), 12827. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms222312827
- [85] AHMED, Furqan, Namita Roy CHOUDHURY, Naba K. DUTTA, Andrew ZANNETTINO a Robert KNOTT. Near Superhydrophobic Fibrous Scaffold for Endothelialization: Fabrication, Characterization and Cellular Activities. *Biomacromolecules* [online]. 2013, **14**(11), 3850–3860. ISSN 1525-7797, 1526-4602. Dostupné z: doi:10.1021/bm400938n

- [86] IMANI, Roghayeh, Barbara DRAŠLER, Veno KONONENKO, Tea ROMIH, Kristina ELERŠIČ, Janez JELENC, Ita JUNKAR, Maja REMŠKAR, Damjana DROBNE, Veronika KRALJ-IGLIČ a Aleš IGLIČ. Growth of a Novel Nanostructured ZnO Urchin: Control of Cytotoxicity and Dissolution of the ZnO Urchin. *Nanoscale Research Letters* [online]. 2015, **10**(1), 441. ISSN 1931-7573, 1556-276X. Dostupné z: doi:10.1186/s11671-015-1145-3
- [87] MOHAMMADPOURFAZELI, Soha, Shabnam ARASH, Afshin ANSARI, Shengyuan YANG, Kaushik MALLICK a Roohollah BAGHERZADEH. Future prospects and recent developments of polyvinylidene fluoride (PVDF) piezoelectric polymer; fabrication methods, structure, and electro-mechanical properties. *RSC Advances* [online]. 2023, **13**(1), 370–387. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/D2RA06774A
- [88] AHMED, Furqan, Naba K. DUTTA, Andrew ZANNETTINO, Kate VANDYKE a Namita Roy CHOUDHURY. Engineering Interaction between Bone Marrow Derived Endothelial Cells and Electrospun Surfaces for Artificial Vascular Graft Applications. *Biomacromolecules* [online]. 2014, **15**(4), 1276–1287. ISSN 1525-7797, 1526-4602. Dostupné z: doi:10.1021/bm401825c
- [89] NUNES-PEREIRA, J., S. RIBEIRO, C. RIBEIRO, C.J. GOMBEK, F.M. GAMA, A.C. GOMES, D.A. PATTERSON a S. LANCEROS-MÉNDEZ. Poly(vinylidene fluoride) and copolymers as porous membranes for tissue engineering applications. *Polymer Testing* [online]. 2015, **44**, 234–241. ISSN 01429418. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymertesting.2015.05.001
- [90] CORREIA, Daniela M., João NUNES-PEREIRA, Denis ALIKIN, Andrei L. KHOLKIN, Sónia A.C. CARABINEIRO, Luís REBOUTA, Marco S. RODRIGUES, Filipe VAZ, Carlos M. COSTA a Senentxu LANCEROS-MÉNDEZ. Surface wettability modification of poly(vinylidene fluoride) and copolymer films and membranes by plasma treatment. *Polymer* [online]. 2019, **169**, 138–147. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2019.02.042

ZOZNAM OBRÁZKOV

Obrázok 1 Posun nábojov pri mechanickom zaťažení na kryštál	18
Obrázok 2 Mikro-CT analýza regenerácie kalvariálnych defektov <i>in vivo</i>	30
Obrázok 3 Mechanizmus regenerácie nervu pri piezoelektrickej stimulácii.	32
Obrázok 4 Rany u diabetických potkanov v kontrolnej, PVA a PVA/PVDF skupine v čase	38
Obrázok 5 Ukážka mikrotitračnej doštičky s materiálom PVDF-HFP	46
Obrázok 6 Proliferácia myších fibroblastov NIH/3T3 v prítomnosti fólie PVDF-HFP so želatínou a bez želatíny v porovnaní s referenciou (zväčšenie 40x, 100x)	48
Obrázok 7 Proliferácia myších embryonálnych kmeňových buniek ES R1 v prítomnosti fólie PVDF-HFP so želatínou a bez želatíny v porovnaní s referenciou (zväčšenie 40x, 100x) ..	50

ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK

α -SMA	alpha smooth muscle actin (alfa aktín hladkého svalstva)
BNNT	boron nitride nanotubes (nanorúrky nitridu bóru)
BMP	bone morphogenetic protein (kostný morfogenetický proteín)
BTO	titaničitán bárnatý
CNS	centrálny nervový systém
COL I	kolagén typu I
COL II	kolagén typu II
COL III	kolagén typu III
DBB	deproteinized bovine bone (deproteinovaná hovädzia kosť)
DMSO	dimetylsulfoxid
DMF	dimetylformamid
ECM	extracelulárna matrica
EGF	epidermal growth factor (epidermálny rastový faktor)
FN	fibronektín
GBR	guided bone regeneration (riadená kostná regenerácia)
HAp	hydroxyapatit
hESCs	human embryonic stem cells (ľudské embryonálne kmeňové bunky)
HSCs	hematopoietic stem cells (hematopoetické kmeňové bunky)
IL-6	interleukín-6
IL-10	interleukín-10
iPSCs	induced pluripotent stem cells (indukované pluripotentné kmeňové bunky)
KNN	niobičnan draselný
LNKN	niobičnan sodno-lítiový
MRSA	methicillin-resistant staphylococcus aureus
MSCs	mesenchymal stem cells (mezenchymálne kmeňové bunky)

MTT	3-(4,5-dimetylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazoliumbromid
NGC	nerve guidance conduit (nervový vodič)
NGF	nerve growth factor (nervový rastový faktor)
NSCs	neural stem cells (neurálne kmeňové bunky)
P(VDF-TrFE)	poly(vinylidénfluorid-trifluóretylén)
PBS	dulbecco's phosphate buffered saline
PCL	poly- ϵ -kaprolaktón
PLLA	poly-L-mliečna kyselina
PMMA	polymetylmetakrylát
PNI	peripheral nerve injury (poranenie periférneho nervu)
PTFE	polytetrafluóretylén
PU	polyuretán
PVDF	polyvinylidénfluorid
PVDF-HFP	poly(vinylidenfluorid-ko-hexafluorpropylen)
PZT	titaničitán olovnato-zirkoničitý
ROS	reaktívna forma kyslíka
SC	schwann cells (schwannove bunky)
TGF- β	transforming growth factor beta (transformujúci rastový faktor beta)
TNF- α	tumor necrosis factor alpha (tumor nekrotizujúci faktor alfa)
VEGF	vascular endothelial growth factor (vaskulárny endotelový rastový faktor)
ZnO	oxid zinočnatý