

Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka



I. Celostátní konference

# BIOIMPLANTOLOGIE 2009

Brno, 19. – 20. března 2009

SBORNÍK ABSTRAKT

---

Společnost Lineq se specializuje na prodej a servis v oblasti kryogenních aplikací.



### **Lineq nabízí:**

- Dewarovy nádoby Taylor-Wharton HARSCO
- **dobavy tekutého dusíku**
- různé vestavby a příslušenství k Dewarovým nádobám
- programovatelné zamrazovače Sy-Lab
- projekci, realizaci a údržbu kryobank
- transport vzorků v tekutém dusíku (LIN) nebo jeho parách
- zapůjčení Dewarových nádob
- skladování vzorků v LIN nebo jeho parách
- zálohování vzorků při poruchách
- monitorování Dewarových nádob a prostoru kryoskladu

---

**Lineq, s.r.o.**  
**V Horce 178**  
**252 28 Černošice**

**tel./fax: +420 251 642 390**  
**mobil: +420 602 311 893**  
**e-mail: [lineq@lineq.cz](mailto:lineq@lineq.cz)**

---

Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka



pořádá

pod záštitou

**MUDr. Romana Krause, MBA**  
ředitele Fakultní nemocnice Brno

**prof. MUDr. Jana Žaloudíka, CSc.**  
děkana Lékařské fakulty Masarykovy univerzity

**MUDr. Pavla Březovského, CSc., MBA.**  
ředitele Koordinačního střediska pro transplantaci

## **I. Celostátní konferenci**

# **BIOIMPLANTOLOGIE 2009**

Brno, 19. – 20. března 2009  
Hotel Holiday Inn

---

Texty neprošly jazykovou kontrolou.

---

Vydavatel: MSD

ISBN: 978-80-7392-090-6

## Vědecký výbor konference

**prof. MUDr. Roman Hájek, CSc.**

náměstek pro vědu, výzkum a školství, Fakultní nemocnice Brno

**doc. MUDr. Martin Krbec, CSc.**

Ortopedická klinika LF MU a Fakultní nemocnice Brno

**MUDr. Barbara Kubešová**

Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka

**prof. MUDr. Jaroslav Michálek, Ph.D.**

Univerzitní centrum buněčné imunoterapie LF MU

**MUDr. Jaroslav Špatenka, CSc.**

Fakultní nemocnice Motol, Transplantační centrum

## Organizační výbor

**MUDr. Barbara Kubešová**

**MVDr. Jaroslava Vinklárková**

**MUDr. Jaroslav Pepřla**

**Drahomíra Procházková**

## Hlavní témata

- mezenchymální buňky
- buněčná protinádorová terapie
- kmenové buňky manipulované
  - buněčné transplantáty
  - tkáňové transplantáty
- legislativa a systém jakosti

## Organizační zajištění

**SYMMA, spol. s r.o.**

Aleš Martinek

Kounicova 13, POB 643, 661 43 Brno

Tel., Fax: 00420 549 123 256

E-mail: a.martinek@symma.cz

<http://www.symma.cz>

---

---

## **OBSAH:**

### **ODBORNÝ PROGRAM 19. 3. 2009**

Přínos buněčné terapie pro klinickou onkologii: zkušenosti Univerzitního centra buněčné imunoterapie - přednáška .....	9
Užití mesenchymálních buněk pro léčbu míšního poranění .....	10
Molekulární chemoterapie nádorů prostřednictvím modifikovaných mezenchymových kmeňových buněk .....	11
Adhesion, Growth and Differentiation Markers in Human Osteoblast-Like Cells Cultured on Surface-Modified Metallic Materials Designed for Bone Implants .....	12
Bezpečná alogenní transplantace jako buněčná imunoterapie .....	13
Nová generace dendrických buněk pro klinické aplikace v onkologii .....	14
Imunoterapie mnohočetného myelomu s využitím nádorového antigenu a dendritických buněk .....	15
Tumor infiltrující lymfocyty - první pacient s metastázujícím melanomem léčený ve Střední Evropě .....	16
Vývoj peptidových vakcín odvozených od univerzálních nádorových antigenů .....	17
Nový způsob transportu kultivovaných keratinocytů .....	18
Srovnání preventivní a léčebné transplantace MSCs při léčbě defektů růstové chrupavky u miniaturního prasete .....	19
Implantace solidního chondrograftu při řešení osteochondrálních defektů nosných kloubů a sledování kvality v hojení .....	20
Transplantace kultivovaných autologních chondrocytů 2003-2008 .....	21
Imunologický rozdíl mezi perforující a lamelární keratoplastikou .....	22
Substituční on-lay uretrotplastiky kolagenními implantáty, porovnání výsledků dle typu použitého materiálu .....	23
Budoucnost tkáňového bankéřství ve světle nové legislativy .....	24
Zařazení a regulace léčivých přípravků obsahujících lidské tkáň a buňky .....	25
Nežádoucí účinky při aplikaci orgánů, tkání a buněk lidského původu .....	26
Charakteristika čistých experimentálních výrobních prostor v podmínkách správné výrobní praxe .....	27
Řekni mi, kterou buňku podáš, a já ti řeknu, který zákon uplatníš, aneb šedá zóna legislativy pro buněčné terapie v EU .....	28

---

## ODBORNÝ PROGRAM 20. 3. 2009

Použití kostních štěpů v onkologické ortopedii .....	29
Použití kostních štěpů v endoprotetice kyčle .....	30
Využití produktů tkáňové banky FN Brno v ortopedické praxi .....	31
Augmentace patologických kostních dutin čelistí .....	32
Příprava a použití meniskálních transplantátů .....	33
Základní charakteristiky MSC a možnosti jejich kultivace in vitro.....	34
Diferenciace kmenových buněk zubní pulpy v neurální elementy .....	35
Využití destičkových lyzátů při kultivaci mesenchymálních stromálních buněk .....	36
Kultivace MSC z buněk zachycených v odběrových setech po odběru kostní dřevě zdravých dárců .....	37
Nový postup ve zpracování a kryokonzervaci krvetvorných buněk .....	39
Problematika kontaminace při odběru muskuloskeletálních tkání .....	40
Přehled činností a produktů Tkáňové banky FN Brno .....	41
Osteointegrace trikalciumfosfátu v kostních defektech .....	42
Produkty somatobuněčné terapie na Tkáňové bance FN Brno-Bohunice .....	43
Integrace banky srdečních chlopní zajišťuje potřebu kardiochirurgů ČR .....	44
Výroba protinádorových vakcín v podmínkách SVP v LEHABI – čisté prostory ILBIT LF MU .....	45
Separace monocytárních buněk pomocí přístroje Elutra.....	46
Možnosti léčby Alzheimerovy demence implantací autologních kmenových buněk .....	47
Nabídka tkáňových transplantátů pro potřeby kliniků .....	48
Selektivně depletované alogenní T lymfocyty využitelné pro bezpečnou léčbu nádorů .....	49
Rejstřík autorů .....	51





## **Přínos buněčné terapie pro klinickou onkologii: zkušenosti Univerzitního centra buněčné imunoterapie - přednáška**

*Michálek J.*

*Masarykova univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie*

---

Univerzitní centrum buněčné imunoterapie se zabývá výzkumem a klinickou aplikací protinádorových vakcín. V roce 2005 byla v pilotní studii testována první generace vakcíny na bázi dendritických buněk u dětských onkologických pacientů. Tato vakcinace prokázala bezpečnost podání a zanedbatelné vedlejší účinky. Od roku 2006 probíhá vakcinace dendritickými buňkami naloženými nádorově specifickým antigenem u pacientů s mnohočetným myelomem. Průběžné hodnocení této studie ukazuje bezpečnost vakcíny, absenci vedlejších účinků a klinický efekt u 6 z 8 pacientů sledovaných více než 12 měsíců.

Od roku 2007 byla zahájena klinická studie fáze I./II. využívající selektivní deplece aloreaktivních klonů T lymfocytů jako prevence reakce štěpu proti hostiteli u pacientů s relapsem hematologické malignity po transplantaci krvetvorných kmenových buněk. V roce 2009 je validován proces optimální přípravy nové generace dendritických buněk s vysokou produkcí IL-12 pro potřeby klinické studie u pacientů s renálním karcinomem a glioblastomem.

Budou prezentovány výsledky jednotlivých etap aplikovaného a klinického výzkumu, který jako první v České republice prošel schválením Státním ústavem pro kontrolu léčiv, přičemž veškeré přípravky buněčné imunoterapie jsou vyráběny v certifikovaných čistých prostorách Univerzitního centra buněčné imunoterapie na Masarykově univerzitě v Brně.

Tato práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR 1A8709-5 a grantem MŠMT ČR NPVII-2B06058.

**Užití mesenchymálních buněk pro léčbu míšního poranění**

*Syková E.*

*2. lékařská fakulta UK, centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad*

---

## **Molekulárna chemoterapia nádorov prostredníctvom modifikovaných mezenchýmových kmeňových buniek**

*Kučerová L., Matúšková M., Altanerová V., Altaner Č.*

*Ustav experimentalnej onkologie SAV*

---

Mezenchýmové kmeňové bunky (MSC) majú schopnosť usídľovať a integrovať sa do nádorov. Tieto bunky by preto mohli slúžiť ako bunkové nosiče pre nasmerovanú génovú terapiu vďaka možnosti produkovať cytotoxickú látku in situ. Naším cieľom bolo otestovať, či by mezenchýmové kmeňové bunky odvodené z ľudského tukového tkaniva (adipose-tissue derived mesenchymal stem cells, AT-MSC) boli efektívnym bunkovým prostriedkom na molekulárnu chemoterapiu nádorov.

V bunkách AT-MSC sme exprimovali dva transgénu: kvasinkovú cytozindeaminázu (CD-MSC) a tymidínkinázu vírusu Herpes simplex (TK-MSC). Enzymová konverzia príslušného predliečiva 5-fluorocytozínu resp. gancikloviru vedie k produkcii cytotoxických metabolitov. Proliferačnú inhibíciu sme hodnotili na paneli ľudských nádorových bunkových línii in vitro. Mezenchýmové kmeňové bunky exprimujúce cytozindeaminázu v kombinácii s predliečivom 5-fluorocytozínom pôsobia veľmi výrazne cytotoxicky na nádorové bunky prsníka, krčka maternice, hrubého čreva, na bunky melanómu a glioblastómu in vitro. Pri kokultivácii CD-MSC/5FC a melanómových buniek A375 v pomere 1:50, čo predstavuje len 2% terapeutických buniek, bola inhibícia proliferácie až 91%. Cytotoxický efekt je podporený výrazným -bystander-efektom, a pri tomto type transgénu nie sú nevyhnutné priame medzibunkové spojenia. Naproti tomu pri kombinácii TK-MSC/GCV je tvorba medzibunkových spojení (-gap junctions-) potrebná na sprostredkovanie silnej cytotoxicity. Potvrdili sme vytváranie medzibunkových spojení (GJIC - gap junctional intercellular communications) medzi nádorovými gliómovými bunkami a MSC. V prítomnosti transgénu (TK-MSC/GCV) prešli nádorové bunky do apoptózy v relatívne krátkom čase (24–48 hod.) a viac ako 50% gliómových buniek 8-MG-BA bolo eliminovaných. Efekt terapeutической kombinácie sme potvrdili aj na modeli imunodeficientných myší. Po systémovom podaní terapeutической kombinácie CD-MSC/5FC sme dosiahli inhibíciu rastu subkutánneho xenotransplantátu kolorektálneho adenokarcinómu aj melanómu.

---

**Adhesion, Growth and Differentiation Markers in Human Osteoblast-Like Cells Cultured on Surface-Modified Metallic Materials Designed for Bone Implants**

*Ali C., Bacakova L., Fenc J., Dungi P, Matejovsky Z.*

*Ortopedická traumatologická klinika, FN na Bulovce, ILF a IPVZ*

---

Alloys of titanium, aluminium, vanadium, iron and other metals are traditional materials used in bone tissue surgery. The integration of a metallic material with the surrounding tissue can be markedly improved by its appropriate physicochemical surface properties, such as roughness, topography, wettability or presence of certain chemical functional groups. Therefore, in the present study, the surface roughness of samples of pure Ti or Ti6Al4V alloy was modified by machining or subsequent polishing by diamond paste in order to influence the adhesion, growth and osteogenic differentiation of human osteoblast-like MG 63 cells, i.e., a cell line derived from osteosarcoma of a 13-year-old boy. In addition, we investigated the interaction of MG 63 cells with a newly developed material for construction of bone-anchoring parts of hip joint replacements, i.e. Ti5Al2.5Fe alloy treated either with electro-erosion or plasma-spraying with Ti. The cells were cultured on the tested materials for 1, 4 and 8 days. The cell numbers were detected in a ViCell XR analyzer, and were used for construction of growth curves and calculation of cell population doubling time. We found that from day 1 to 4, the cell proliferation was the quickest on the samples with the lowest surface roughness, i.e., those polished with diamond paste. As revealed by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the cells on the polished samples also contained the highest concentration of integrin adhesion molecules with alpha V chain, i.e. receptors for vitronectin and fibronectin. On day 8 after seeding, the cells on all metallic samples as well as tissue culture polystyrene reached similar population densities. However, the cells on electro-eroded Ti5Al2.5Fe contained the highest concentration of osteocalcin and osteopontin, i.e. markers of osteoblastic differentiation. Thus, the latter newly developed material could be considered as promising for construction of bone implants well anchored in the surrounding bone tissue. Nevertheless further in vivo experiments must be performed prior to the potential clinical use of this material.

**Bezpečná alogenní transplantace jako buněčná imunoterapie**

*Michálek J., Matějková E., Foltánková V., Vitetta E., Barrett L.*

*Masarykova univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie*

---

## **Nová generace dendritických buněk pro klinické aplikace v onkologii**

*Skálová K., Macková K., Smejkalová J., Michalek J.*

*Masarykova univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie*

---

Dendritické buňky patří mezi antigen prezentující buňky, jejichž hlavní funkcí je aktivace pomocných a cytotoxických T-lymfocytů. Jsou schopné prezentovat nádorový antigen a indukovat tak imunitní odpověď organismu proti nádoru. Jsou tedy vhodným zdrojem pro produkci protinádorových vakcín. V různých experimentálních studiích bylo prokázáno, že dendritické buňky kultivované různými metodami se liší jak svým imunofenotypem, tak spektrem cytokinů, které produkují. Nejvhodnějším typem pro klinickou aplikaci jsou podle posledních poznatků dendritické buňky produkující ve velké míře interleukin-12 (IL-12), který podporuje protinádorovou imunitní reakci, a naopak v malém množství IL-10, který způsobuje toleranci imunitního systému. Dendritické buňky jsou v průběhu kultivace naloženy nádorovým antigenem a podány pacientovi ještě v průběhu maturace. Tento nový přístup ve vakcinaci umožňuje stimulovat imunitní reakci přímo in vivo.

Pomocí separátoru jsou z krve pacienta izolovány leukocyty (leukaferéza). Pro validaci metodiky pro účely plánované klinické studie byly použity leukocyty dobrovolných dárců. Pomocí přístroje ELUTRA jsou z leukaferézy izolovány monocyty, prekurzory dendritických buněk. Ty jsou po dobu 6 dnů kultivovány v kompletním médiu s přidavkem cytokinů IL-4 a GM-CSF (růstový faktor stimulující tvorbu granulocytů a makrofágů). Nezralé dendritické buňky jsou pak naloženy nádorovým antigenem ve formě proteinového lyzátu nádorové tkáně. Poté je přidáním lipopolysacharidu (LPS) a interferonu- $\gamma$ ; (IFN- $\gamma$ ;) indukována jejich maturace. Po krátkodobé kultivaci jsou buňky v alikvotech zamrazeny.

Celý proces přípravy protinádorových vakcín probíhá v přísně sterilních podmínkách na certifikovaném pracovišti pro výrobu léčivých přípravků, v Čistých prostorách UCBI na Masarykově univerzitě v Brně. Budou prezentovány dosavadní výsledky vycházející z validací vakcín. Klinické studie budou zahájeny po schválení Státním ústavem pro kontrolu léčiv.

Podporováno granty MŠMT NPVII 2B06058 a NPV II 2B08066.

## **Imunoterapie mnohočetného myelomu s využitím nádorového antigenu a dendritických buněk**

*Macková K.<sup>1,4</sup>, Zahradová L.<sup>1,2</sup>, Očadlíková D.<sup>1</sup>, Hájek R.<sup>1,2</sup>, Michálek J.<sup>1,3</sup>*

*Masarykova univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie<sup>1</sup>*

*Interní hematologická klinika a Fakultní nemocnice Brno<sup>2</sup>*

*I. dětská interní klinika a Fakultní nemocnice Brno<sup>3</sup>*

*Oddělení klinické hematologie a Fakultní nemocnice Brno<sup>4</sup>*

Od června 2006 probíhá na našem pracovišti klinická studie, kdy je pacientům se stabilním onemocněním ve fázi plató nebo s pomalou progresí mnohočetného myelomu (MM) bez nutnosti léčby podávána protinádorová vakcína na bázi dendritických buněk (DB). V říjnu 2008 bylo dokončeno vyhodnocení imunitní a klinické odpovědi u 7 pacientů. Každému pacientovi bylo intradermálně podáno 6 vakcín s odstupem 1 měsíce.

Vakcína připravená podle podmínek správné výrobní praxe (SVP) obsahuje DB, které jsou získány z periferní krve pacientů a kultivovány po dobu 9 dnů za přítomnosti cytokinů IL-4 a GM-CSF. 5. den kultivace jsou DB naloženy autologním monoklonálním imunoglobulinem (Mlg), Id-proteinem, který produkuje myelomové buňky. Úplné dozrání DB je dokončeno přidáním TNF- $\alpha$ . Funkční charakteristika DB je sledována pomocí imunofenotypizace na průtokovém cytometru, imunologická odpověď na vakcínu byla hodnocena metodou ELISpot. Klinická odpověď byla sledována pomocí koncentrace Mlg v séru pacientů. Po ukončení vakcinace byli pacienti sledováni v rámci imunomonitoringu a klinické odpovědi dalších 6 měsíců.

Celkem bylo připraveno 42 vakcín vyhovujících kritériím podání. Ze  $60 \times 10^6$  MNPK bylo získáno  $7,40 \times 10^6$  DB ( $0,89 \times 10^6 - 36,96 \times 10^6$ ), medián (min – max). Funkční charakteristika DB byla prokázána pomocí imunofenotypizace na průtokovém cytometru, v den podání bylo 92,90 % HLADR/CD86 pozitivních DB (32,10 % – 99,30 %), medián (min – max). Metodou ELISpot byla zaznamenána imunologická odpověď u 71 % (5/7) pacientů. V průběhu dosavadní doby sledování 31 měsíců (15 – 31 měsíců), medián (min – max), byla zaznamenána stabilizace onemocnění ve fázi plató u čtyř pacientů a u tří pacientů trvá pomalá progresse MM bez nutnosti léčby.

Vakcína na bázi DB byla velmi dobře snášena bez závažných vedlejších účinků. Klinická studie pokračuje vakcinací dalších pacientů s MM.

Tato práce byla podpořena grantem MSMT LC 06027, MZCR NR8945–4 a MSMT NPVII 2B06058.

---

**Tumor infiltrující lymfocyty - první pacient s metastázujícím melanomem  
léčený ve Střední Evropě**

*Michálek J., Kocák I., Hanák L., Svoboda M., Mužíková J., Vidláková P., Žaloudík J.*

*Masarykova univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie*

---

Maligní melanom ve fázi generalizovaných metastáz je považován za jedno z nejhůře ovlivnitelných nádorových onemocnění. V případě chirurgicky neřešitelné generalizace melanomu není v současných možnostech onkologické léčby dosáhnout kurativního efektu léčby. Onemocnění je považováno za chemorezistentní i radiorezistentní. Metastázující melanom (MM) je však také zároveň považován za imunogenní nádor. V posledních letech se objevují klinické studie využívající adoptivní imunoterapie spojené s transferem kultivovaných expandovaných a aktivovaných lymfocytů získaných z nádorem postižené lymfatické uzliny (TIL – tumor infiltrující lymfocyty). Adoptivní buněčná imunoterapie tak představuje novou terapeutickou strategii založenou na aktivaci imunitního systému prakticky bez vedlejších nežádoucích účinků. V prosinci 2008 byla zahájena léčba pomocí TIL u prvního pacienta ve Střední Evropě. Bude prezentována kazuistika tohoto pacienta s MM včetně klinického a imunologického monitorování v rámci započaté klinické studie Univerzitního centra buněčné imunoterapie.

Projekt byl podpořen grantem MŠMT NPVII 2B06058 a nadačním fondem Modrá kotva.



**Vývoj peptidových vakcín odvozených od univerzálních nádorových antigenů**

*Jelínek J.<sup>1</sup>, Kryukov F.<sup>1</sup>, Hájek R.<sup>3,4</sup>, Michálek J.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>UNIVERZITNÍ CENTRUM BUNĚČNÉ IMUNOTERAPIE, LF MU, BRNO

<sup>2</sup>I. DĚTSKÁ INTERNÍ KLINIKA, FN BRNO, PDM

<sup>3</sup>LABORATOŘ EXPERIMENTÁLNÍ HEMATOLOGIE A BUNĚČNÉ IMUNOTERAPIE, FN BRNO

<sup>4</sup>UNIVERZITNÍ VYZKUMNÉ CENTRUM - ČESKÁ MYELOMOVÁ SKUPINA, LF MU  
*Univerzitní centrum buněčné imunoterapie*

---

Jednou z možností moderní protinádorové imunoterapie je i aktivace imunitního systému pomocí specifických antigenních peptidů odvozených od univerzálních nádorových antigenů. Tyto antigeny jsou charakteristické pro většinu typů nádorových onemocnění a dají se tak využít při léčbě různých druhů nádorů.

Cílem této studie je specifická aktivace T-lymfocytů pomocí HLA A2 specifických antigenních peptidů odvozených od proteinázy 3, proteinu RHAMM a proteinu WT1 in vitro. T-lymfocyty jsou aktivovány ve směsi mononukleárních buněk izolovaných z periferní krve (PBMC). Pro zesílení antigenprezenčního potenciálu je plánována také kultivace dendritických buněk. Specifická aktivace T buněk je sledována pomocí průtokové cytometrie. U T-lymfocytů je monitorována povrchová exprese vybraných aktivačních markerů a proliferační aktivita. V kultivačním mediu je také měřena koncentrace vybraných cytokinů pomocí velice citlivé metody cytometric bead array (CBA). Průběžné výsledky budou prezentovány.

Práce je podporována grantem NPVII 2-B06058.

## **Nový spôsob transportu kultivovaných keratinocytov**

*Dragúňová J.<sup>1</sup>, Koller J.<sup>1</sup>, Csonge L.<sup>2</sup>*

*Centrálne tkanivová banka pri Klinike popálenín Lekárskej fakulty  
Univerzity Komenského Bratislava<sup>1</sup>*

*West Hungarian Regional Tissue Bank, Győr<sup>2</sup>*

*Centrálne tkanivová banka pri Klinike popálenín a rekonštrukčnej chirurgie*

---

Pri transporte keratinocytov je potrebné predovšetkým zachovať vitalitu buniek a celistvosť vykultivovaných transplantátov.

Pri transporte na krátke vzdialenosti (v rámci nemocnice, v rámci mesta) vitalita nie je ohrozená, často však dochádza k mechanickému poškodeniu transplantátov. Ak keratinocyty transportujeme na dlhšiu vzdialenosť pri bežnom transporte v tekutom médiu je poškodenie sheetov ešte väčšie a vitalita klesá. Preto na transport väčšie vzdialenosti alebo na dlhšiu dobu sa vykultivované sheety keratinocytov zmrazujú.

Zmrazovanie KC však znižuje ich vitalitu, médium obsahuje kryoprotektant, ktorý je potrebné odstrániť premývaním a preto má mnoho nemocníc problémy s rozmrazovaním.

V Centrálnej tkanivovej banke sme vyskúšali transport keratinocytov na niekoľkých typoch nosičov. Použili sme tekuté médium, polotekuté médium spevnené metylcelulózou, tuhé médium, spevnené agarom. Testovali sme stupeň poškodenia plátov keratinocytov pri mechanickej manipulácii a vitalitu KC v intervaloch do 5 dní.

Zistili sme že pre transport je výhodné médium spevnené agarom. V tomto prípade nedochádza k mechanickému poškodeniu sheetov keratinocytov a vitalita je zachovaná.

Pri použití takto modifikované transportného média je možné zabezpečiť bezpečný transport čerstvých keratinocytov i na veľké vzdialenosti pri zachovaní optimálnych podmienok pre bunky a výrazne zjednodušiť manipuláciu s bunkami pri aplikácii.

## **Srovnání preventivní a léčebné transplantace MSCs při léčbě defektů růstové chrupavky u miniaturního prasete**

*Plánka L., Starý D., Škvařil J., Srnec R., Nečas A., Gál P.*

*Klinika dětské chirurgie, ortopedie a traumatologie LF MU a Fakultní nemocnice Brno*

---

Cílem naší experimentální studie bylo prověřit možnost využití preventivní a léčebné transplantace Mesenchymových kmenových buněk (MSCs) do defektu růstové chrupavky. Experimentální skupinu tvořilo 20 miniaturních prasat rozdělených do dvou skupin (A, B). Ve skupině A (10 prasat) byly zvířatům do defektu růstové ploténky zevního kondylu levé stehenní kosti transplantovány MSCs v kolagenovém skafoldu ihned po vytvoření defektu (preventivní typ transplantace), ve skupině B (10 prasat) byly MSCs v kolagenovém skafoldu do stejného místa transplantovány až po 4 týdnech od vytvoření defektu a odvrtání kostního můstku těsně před transplantací. Hodnocení výsledků experimentu jsme prováděli z RTG snímků a histologicky. Preventivní transplantace MSCs do defektu růstové zóny femuru u prasete se zdá být vhodnější ve srovnání s léčebnou transplantací vzhledem k výraznějšímu růstu kosti do délky. Při srovnání vzniklé valgózní deformity nebyly rozdíly zjištěné v rozsahu distálního segmentu kosti statisticky významné. U všech zvířat ve skupině A a B byla histologickým vyšetřením potvrzena přítomnost nově vytvořené hyalinní chrupavky. Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR 9896–3.

## **Implantace solidního chondrograftu při řešení osteochondrálních defektů nosných kloubů a sledování kvality v hojení**

*Vališ P., Chaloupka R., Repko M., Šprláková-Puková A., Kubešová B.*

*Ortopedická klinika LF MU a Fakultní nemocnice Brno*

---

### Úvod:

Náhrada defektu chrupavky solidním chondrograftem se je v současné době již spíše rutinní metodou. Technika implantace je již vžitá a byla již na ortopedických kongresech opakovaně referována. Proto jsme se v současné době zaměřujeme na hodnocení výsledků implantace po operaci.

### Metoda:

Na ortopedické klinice FN Brno-Bohunice používáme tuto metodiku náhrady defektu chrupavky od května 2001. V solidním chondrograftu je trojrozměrným nosičem tkáňové lepidlo Tissucol. V současné době implantujeme chondrograft na koleno, hleznu a v loktu. Sledujeme pacienty opakovaně po operaci MRI vyšetřením, klinicky a hodnotíme na kolenech pomocí Lysholmova skóre a na hleznu pomocí Weber skóre.

### Materiál:

O května 2001 doposud jsme na naší klinice implantovali solidní chondrograft u 88 pacientů, z toho bylo 47 mužů a 41 žen. V 69 případech bylo operovaným kloubem koleno, 18 x hlezno a 1 x loketní kloub. Průměrný věk v době implantace byl 27 let. Na kolenech jsme připojili u 27 pacientů další operační výkon. Jednalo se 18 x o plastiku LCA a 9 x o plastiku závěsného aparátu pately. Pooperační stav jsme hodnotili pomocí reartroskopie a to na kolenech v 21 případech a pomocí NMR. Při hodnocení MRI na kolenech byla po 1 roce plná konsolidace štěpu bez známek subchondrálního otoku. Při sledování na hleznu pomocí MRI kontrolujeme pacienty po 3,12 a 24 měsících. Při sledování přes 2 roky, což bylo u 4 pacientů je také plná konsolidace štěpu bez subchondrálního otoku. Reartroskopicky jsme odebírali vzorek chrupavky z místa původní implantace chondrograftu a z okraje původního defektu. Hodnotili jsme všechny vzorky elektronovou mikroskopií. Výsledkem bylo, že ve všech vzorcích se nacházela hyalinní chrupavka. Pouze v 1 z okraje pův. defektu byla smíšená hyalinní a vazivová chrupavka a v 1 případě se jednalo o vazivovou chrupavku. Poté jsme v poslední době přistoupili k hodnocení imunohistochemickému na přítomnost kolagenu č.2. Po nabarvení hematoxilinem.- eosinem byl ve všech vzorcích prokázán kolagen č.2.

Pacienty jsme hodnotili také klinicky a to na kolenech pomocí Lysholmova skóre. To bylo před operací průměrně 37,5, 1 rok od operace 81,4 a u pacientů po 2 letech sledování 83,1. Obecně platí, že skóre po operaci bylo u stavů, kde byla doplněna plastika závěsného aparátu pately, bylo nižší, než u izolovaných implantací., Weber skóre bylo na hleznech před operací 17,3, Po operaci 1 rok 4,6 a u 4 pacientů, kde je sledování delší než 2 roky 4,5.

### Závěr:

V současné době platí, že implantace chondrograftu je standartní metodou léčby chrupavčitých defektů. Autoři se ve sdělení věnují zhodnocení výsledků implantací, a to z hlediska histologického i klinického.

## Transplantace kultivovaných autologních chondrocytů 2003-2008

*Handl M., Trč T., Kubešová B., Varga F.*

*Ortopedická klinika 2. LF UK*

---

### Úvod:

Hluboké defekty hyalinní chrupavky kolenního a hlezenného kloubu byly léčeny transplantací autologních chondrocytů (ACI - autologous chondrocyte implantation) .

### Materiál a metodika:

95 pacientů bylo operováno od července 2003 do ledna 2009. Indikací k operaci byly úrazy hyalinní chrupavky, chondropathie III. a IV. stupně dle Outerbridge, unikompartmentální osteoartróza II. až III. stupně, osteochondritis dissecans (OCD). Klinická vyšetření a NMR kontroly byly prováděny před operací, poté 2 měsíce, 1,3 a 5 let po operaci. Second-look arthroscopie byly provedeny u 6 pacientů v intervalu 1–3 roky po implantaci. Kultivace chondrocytů probíhala 28 až 42 dní. Chondrograft byl implantován a fixován fibrinovým lepidlem.

### Výsledky:

Signifikantní zlepšení klinického stavu pacienta bylo zjištěno po prvních 6 měsících od operace, ( $p < 0,001$ ). Další zlepšení bylo prokazatelné v průběhu druhého roku po operaci ( $p \ll 0,1$  podle Lysholma a Tegnera, dle Meyerse). V průběhu třetího roku po výkonu se již stav pacientů nezlepšoval ( $p \gg 0,1$ ).

### Závěr:

Celkově bylo zaznamenáno signifikantní zlepšení klinického stavu ve většině případů. Dle NMR došlo k dobré až výborné integraci štěpu v místě původního defektu. Arthroscopická kontrola prokázala plnou integraci chondrograftu. Metoda ACI je adekvátní léčbou těžkých defektů hyalinní chrupavky, která umožňuje návrat k plné životní aktivitě. NMR je vhodná metoda k posouzení procesu hojení a integrace štěpu.

---

**Imunologický rozdíl mezi perforující a lamelární keratoplastikou***Netuková M., Urbanová Y., Šach J., Kuchynka P.**Oční tkáňová banka OTB01, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha*

---

Transplantace rohovky je nejčastější transplantací vůbec. Ve Spojených státech se ročně provede přes 30000 transplantací, v ČR to je něco přes 600. Přestože se jedná o transplantaci nejčastější, velkým otazníkem zůstává, zda se jedná také o transplantaci neúspěšnější. 10 let přežívá pouhých 59% transplantů. Nejčastější příčinou selhání operace je rejekce transplantátu. Do nedávné doby byla perforující keratoplastika (transplantace plné tloušťky rohovky) prakticky jedinou možností odstranění vadné části rohovky. V posledních letech bylo vytvořeno a do praxe zavedeno několik zcela nových operačních technik, které umožňují výměnu právě jen poškozené části rohovky. Jedná se o lamelární keratoplastiky. Tyto operace představují pro oko podstatně menší trauma, dále též výrazně zkracují potřebnou dobu hojení oka a snižují pooperační refrakční vadu. Kromě těchto jednoznačných výhod však existuje ještě podstatně významnější výhoda lamelární keratoplastiky a tou je nižší riziko rejekce transplantátů. V našem sdělení popisujeme imunologický rozdíl mezi perforující a lamelární keratoplastikou. V současné době patří rohovkové lamely ve světě k běžným produktům tkáňových bank.

## **Substituční on-lay uretroplastiky kolagenními implantáty, porovnání výsledků dle typu použitého materiálu**

*Kutílek P., Novák I., Hušek P.*

*Fakultní nemocnice Hradec Králové, Urologická klinika*

---

**Cíl:** Retrospektivně vyhodnotit a porovnat výsledky substitučních uretroplastik použitím kolagenních implantátů Pelvicol- a SIS.

**Materiál a metodika:** V letech 2003–2007 bylo na Urologické klinice FN a LFUK v Hradci Králové operováno substituční on-lay uretroplastikou 40 mužů pro strikturu přední uretry. U 20 pacientů jsme k rekonstrukci použili Pelvicol-, ve 20 případech štěp SIS. Všichni pacienti byli standartně předoperačně vyšetřeni retrogradní uretrocytografií (UCG), extraluminální sonografií (e-USG) a uretroskopií. Průměrná doba pooperačního sledování byla 12–24 měsíců ambulantně v tříměsíčních intervalech UCG a uroflowmetrií (UFM).

**Výsledky:** Použitím Pelvicolu- k substitučním rekonstrukcím byla operace úspěšná u 13/20 pacientů (65%), recidiva striktury byla u 7/20 (35%), v jednom případě vznikla uretrokutánní píštěl. Časné komplikace se objevily u 7/20 případů (35%). Následnou OUT restriktury jsme dosáhli reparace průsvitu uretry 1× (5%). Uretrokutánní píštěl jsme vyřešili konzervativně zavedením permanentního katetru. Reoperovat jsme museli 6/20 (30%) pacientů.

Úspěšnost rekonstrukcí SIS implantátem byla 15/20 případů (75%), restrikturu jsme zjistili u 5 operovaných (25%). 2× jsme definitivně dořešili průchodnost lumina (OUT + jednorázovou dilatací blanité striktury distální anastomózy. Operace restriktury byla nutná ve 3 (15 %) případech.

**Závěr:** Uretroplastiky s využitím SIS implantátů, zejména jednovrstevných, se jeví jako perspektivní metoda bez potřeby odběru štěpu a modelace laloku zejména u závažných, dlouhých striktur uretry.

**Budoucnost tkáňového bankéřství ve světle nové legislativy***Kubešová B.**Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka*

---

Úvod: Do oblasti tkáňového bankéřství zasáhly významně tři zákony: 285/2002 Sb. - Transplantační zákon, 296/2008 Sb. - Zákon o lidských tkáních a buňkách 378/2007 Sb. - Zákon o léčivu.

Cíle: Prezentace poukazuje zejména na to:

- Zákon o léčivu, který buněčné transplantáty zahrnul nově jako léčivo, produkci buněčných léčivých přípravků téměř zastavuje. Administrativní aplikace farmaceutických pravidel a nařízení, která byla po léta cizelována na klasických lékových formách, je často pro buněčnou terapii velmi obtížně nebo vůbec aplikovatelná.
- Požadavky na prostorové a personální vybavení podle Zákona o lidských tkáních a buňkách překračují možnosti většiny nemocničních zařízení.
- Produkty, které budou splňovat veškerá nařízení budou snad nepatrně bezpečnější, ale jejich cena bude mnohonásobně vyšší.

Závěr: Je otázkou, kde je hranice, kdy navyšování nákladů na zajištění jakosti už limituje jejich možné použití pro pacienta-



---

**Zařazení a regulace léčivých přípravků obsahujících lidské tkáň a buňky***Haunerová I.**Státní ústav pro kontrolu léčiv*

---

V průběhu roku 2008 došlo v České republice k zásadním změnám legislativy v oblasti moderních terapií a lidských tkání a buněk (LTB). V říjnu roku 2008 vešel v platnost zákon o lidských tkáních a buňkách č. 296/2008, kterým byly do naší legislativy transponovány evropské směrnice stanovující podmínky zajištění jakosti a bezpečnosti LTB určených k použití u člověka, a to při jejich darování, opatrování, vyšetřování, zpracování, skladování a distribuci. Dalším klíčovým dokumentem je Nařízení Evropského parlamentu a Rady o léčivých přípravcích pro moderní terapie 1394/2007, které je účinné od počátku roku 2009.

Před přípravou tkání a buněk nebo přípravků z nich odvozených a před jejich aplikací pacientovi je nutné správné zařazení tohoto materiálu do jedné z kategorií, které naše legislativa nabízí. Od zařazení materiálu (přípravku) se pak odvíjí způsob jeho regulace a požadavky, které je třeba při jeho přípravě a aplikaci pacientovi dodržovat. Výroba a použití LTB a léčivých přípravků pro buněčnou terapii a tkáňové inženýrství podléhají regulaci Státním ústavem pro kontrolu léčiv a Evropskou lékovou agenturou.

**Nežádoucí účinky při aplikaci orgánů, tkání a buněk lidského původu***Březovský P.**Koordinační středisko transplantací*

---

V legislativě ČR je zakotvené povinné hlášení nežádoucích účinků a reakcí při provádění diagnostické a léčebné péče. Jedná se zejména o nežádoucí účinky léčiv a použitých zdravotnických materiálů. Při aplikaci lidských orgánů, tkání a buněk je určení závažnosti nežádoucí reakce či účinku obtížné, zejména s ohledem na možnost hromadného výskytu reakce. V prezentaci je nastíněna jedna z variant, která umožňuje odpovídajícím způsobem zareagovat správně při jednotlivém výskytu nežádoucí reakce a spustit systém časného varování na odpovídající úrovni.

## **Charakteristika čistých experimentálních výrobních prostor v podmínkách správné výrobní praxe**

*Smejkalová J.<sup>1,2</sup>, Michálek J.<sup>2</sup>, Hájek R.<sup>1</sup>*

*Univerzitní výzkumné centrum - Česká myelomová skupina, ILBIT,*

*Lékařská fakulta Masarykovy univerzity<sup>1</sup>*

*Univerzitní centrum buněčné imunoterapie, ILBIT,*

*Lékařská fakulta Masarykovy univerzity<sup>2</sup>*

---

Masarykova univerzita představuje unikátní pracoviště pro obor Imunoterapie. V Čistých prostorách vyrábí novou, netoxickou léčbu pro onkologii - protinádorové hodnocené léčivé přípravky. Disponuje povolením k výrobě léčivých přípravků v oblasti Výroba autologních a alogenních léčivých přípravků kultivací imunokompetentních buněk in vitro a je držitelem „Certifikátu SVP pro výrobce“, (správná výrobní praxe), což znamená zápis do databáze EudraGMP. Výroba v čistých prostorách je pravidelně kontrolována inspektory SÚKL (Státní ústav kontroly léčiv).

Léčivé přípravky jsou připravovány asepticky, výroba je monitorována z hlediska mikrobiální a částicové kontaminace, jsou monitorováni pracovníci. Léčivé přípravky podléhají výstupní kontrole bezpečnosti a jakosti a jsou propouštěny kvalifikovanou osobou.

Podřízení se přísným požadavkům kontroly, metodiky práce a zákonných podmínek je klíčovým krokem k dodržování zásad SVP.

Podporováno výzkumným záměrem MŠMT NPV II 2B06058 a LC06027.

**Řekni mi, kterou buňku podáš, a já ti řeknu, který zákon uplatníš, aneb šedá zóna legislativy pro buněčné terapie v EU***Michálek J., Smejkalová J.**Masarykova univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie*

---

Složitost legislativních pravidel pro moderní terapie zahrnující somatobuněčné terapie v různých podobách narůstá do takové míry, že je obtížné zařadit některé nové léčebné postupy do příslušné legislativní kategorie. Autoři sdělení chtějí upozornit na některé aspekty týkající se buněčné terapie, která se může pohybovat v šedé zóně poměrně komplikovaných legislativních pravidel. Přitom se zpravidla jedná o moderní postupy šetrné k pacientovi, ekonomicky efektivní, avšak poněkud komplikované legislativními opatřeními.

**Použití kostních štěpů v onkologické ortopedii***Janíček P., Černý J., Pazourek L.**I. ortopedická klinika LF MU a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně*

---

I.ortopedická klinika používá kostní štěpy pro náhradu defektů po resekci kostních nádorů již od založení tkáňové ústředny při I. ortopedické klinice v roce 1952. tkáňová ústředna se v roce 1985 osamostatnila jako samostatné oddělení a později vzniká Tkáňová banka FN Brno-Bohunice. Dosud jsme použili alogenní kostní štěpy u téměř 1 000 pacientů s maligními i benigními kostními tumory.

Autoři ve své sdělení shrnují indikace a výsledky použití masivních kostních štěpů v závislosti na anatomické lokalizaci implantace. Jsou rozebrány příčiny úspěchu a neúspěchů a z nich doporučená kritéria použití alogenního kostního štěpu v ortopedické onkologii.

## Použití kostních štěpů v endoprotetice kyčle

*Janíček P., Rozkydal Z., Tomáš T., Moster R.*

*I. ortopedická klinika LF MU a Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně*

Kostní štěpy se používají na I. ortopedické klinice v různých formách a v různých indikacích po desetiletí. Autoři používají kostní štěpy u primárních i revizních náhrad kyčelního kloubu v různých formách. Použili autoštěpy z hlavic femurů jako podporu pro necementovanou acetabulární komponentu u postdysplastické koxartrózy k rekonstrukci insuficientní proximální a laterální části acetabula. Prezентují svoje výsledky u 43 nemocných z období 1991–1994 (doba sledování v průměru 15 roků). Průměrné Harrisovo skóre se zlepšilo o 58 bodů a činilo 92,6 bodů při poslední kontrole. Acetabulární komponenta byla kryta kostním homoštěpem v průměru 32% povrchu. U všech nemocných dosáhli osteointegraci rozpěrné CLS jamky. Nejistili selhání kostního štěpu ani v jednom případě. K nevznamné resorpci štěpu docházelo jen v nezátžené části.

U revizních náhrad používají homoštěpy ve formě kostní drtě, odebrané malou frézou z hlavice femuru. Kostní drť vyplňovali kavitární defekty acetabula po aseptickém uvolnění jamky a implantovali rozpěrnou CLS jamku. Ošetřili takto 196 nemocných se 211 kyčlemi v období 1993–2001. Průměrná doba sledování byla 9,5 roku. Průměrné Harrisovo skóre se zlepšilo z 38 na 82 bodů. Osteointegraci CLS jamky dosáhli u 149 kyčlí. Zjistili 31 komplikací vyžadujících další revizní operaci. Radiologické přežití bylo po 9,5 letech 70% a klinické přežití 84%.

U revizních náhrad kyčle s rozsáhlými kostními defekty acetabula použili kostní štěpy ve formě malých strukturálních štěpů velikosti 10×10 mm odebraných z hlavic femurů Luerovými kleštěmi a jimi vyplnili defekty acetabula pod Burch- Schneiderovým prstecem. Vytvořili takto stabilní kompozit ilická kost- kostní štěpy- Burch- Schneiderův prstenec- kostní cement - polyetylenová jamka. Ošetřili takto 68 nemocných se 69 kyčlemi v období 1985–2001 s defekty typu Paprosky 3A a 3B. Doba sledování činila 9,5 roků. Konsolidaci kostních štěpů zjistili v 55 případech (80%). 55 nemocných bylo v době poslední kontroly bez potíží a bez nutnosti další revizní operace.

U revizních náhrad kyčle s rozsáhlými defekty femuru použili autoři masivní strukturální kostní štěpy (strut grafts) ve formě biologické dlahy přemostující defekty ve femuru. Autoři prezentují svoje zkušenosti u 7 nemocných z období 2006–2008 s defekty femuru Paprosky typ 4 a 3B. Použili spolu se štěpy cementovaný revizní dřík Beznoska a necementovaný dřík Wágnerův. U všech dosáhli stabilní fixace dříku a dobrou osteointegraci kortikálního štěpu. Harrisovo skóre bylo v průměru 74 bodů. Kortikální aloštěpy spolu s dlouhým revizním dříkem jsou pro ně alternativou při řešení aseptického uvolnění femorální komponenty s rozsáhlým defektem femuru.

**Využití produktů tkáňové banky FN Brno v ortopedické praxi***Burda J., Novák J., Vališ P.**Ortopedická klinika LF MU a Fakultní nemocnice Brno*

---

Přednáška se zabývá možnostmi použití některých produktů tkáňové banky na pracovišti autorů. Představuje indikace i jednotlivé operační postupy. Další část přednášky je věnovaná vlastnímu zpracování těchto biologických materiálů na operačním sále. Zabývá se zejména možnostmi využití kostních štěpů a hodnotí jejich kvalitu. Závěrem se autoři věnují směrům budoucí spolupráce mezi oběma pracovišti.

## **Augmentace patologických kostních dutin čelistí**

*Machálka M.*

*Klinika ústní,čelistní a obličejové chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno*

---

Patologické kostní dutiny v čelistech souvisejí s výskytem kostních cyst a tumorů. U rozsáhlé kostní dutiny po cystektomii se může pooperační hematoma při dehiscenci sutury sliznice zánětem rozpadnout. Dutina cysty se pak spojená s dutinou ústní hojí komplikovaně a dlouhodobě. Je snahou vyplňovat dutiny materiálem, který nejen zmenší její objem, ale také stimuluje novotvorbu kosti.

Z materiálů, které jsme v rámci výzkumné aktivity, užívaly se nejvíce osvědčuje směs lidské drčené a tříděné lyofilizované kostní drti (3díly), sterilizované ozářením, která je smíchána s venózní krví nemocného v kombinaci s přidáním hydroxyapatitu nebo trikalcium fosfátu (1 díl).

Výsledky u 23 nemocných s vyplněním kostních dutin po cystách (20) a kostních benigních tumorech (3) ukazují na nekomplikované hojení. Ve srovnání s kontrolní skupinou 20 nemocných s obdobnými kostními dutinami, kde nebyla augmentace, je zde pozorován dvojnásobný počet zánětlivých pooperačních komplikací.



## **Příprava a použití meniskálních transplantátů**

*Karkoška J.<sup>1</sup>, Kubešová B.<sup>1</sup>, Špirka D.<sup>1</sup>, Hart R.<sup>2</sup>*

*Tkáňová banka FN Brno<sup>1</sup>*

*Ortopedie Nemocnice Znojmo<sup>2</sup>*

---

Tkáňová banka FN Brno připravuje meniskální transplantáty zhruba tři roky. Získání allogenických menisků a jejich zpracování do meniskálního transplantátu je organizačně i technicky náročné a počet vyrobených transplantátů není velký. V současné době je to zhruba 20 kvalitních meniskálních transplantátů ročně. Dárce musí splňovat všechna kritéria vhodnosti pro odběr a jeho věk musí být do 45 let. Odebírá se celý kolenní kloub, který se později zpracovává za aseptických podmínek na Tkáňové bance. Z kolenního kloubu je nejdříve odebráno patelární ligamentum a zpracovává se na transplantát typu kost-šlacha-kost, který je používán při transplantacích předního zkříženého kolenního vazů. Potom se opatrně vypreparují menisky tak, aby byly každý samostatně. U menisku je ponechán malý kostní bloček ve tvaru kvádrů. Pro větší bezpečnost je takto upravený meniskus vložen do Petriho misky a vakuově zataven do dalšího obalu. Kromě povinných údajů a rozměrů menisku je na štítku uvedena i výška dárce. Ta je velmi důležitá pro soulad rozměrů menisku mezi dárce a příjemcem.

Meniskální transplantát je používán k transplantaci menisků a to zejména v úrazové chirurgii. Nově se ukazuje, že je možné použít meniskus k náhradě poškozeného labrum glenoidale. Autoři zmiňují kasuistiku, kdy byl k této operaci použit laterální meniskus vyrobený v TB FN Brno.

Meniskální transplantát je vhodným transplantátem při některých ortopedických operacích a jeho poptávka se zvyšuje.

---

## **Základní charakteristiky MSC a možnosti jejich kultivace in vitro**

*Matějková E.<sup>1,2</sup>, Foltánková V.<sup>1</sup>, Michálek J.<sup>1,3</sup>*

*Masarykova univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie<sup>1</sup>*

*Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka<sup>2</sup>*

*I. dětská interní klinika LF MU a Fakultní nemocnice Brno<sup>3</sup>*

---

### Úvod:

Mezenchymální stromální buňky (mesenchymal stromal cells, MSC) jsou heterogenní subpopulace kmenových buněk, které mohou být izolovány z různých typů tkání - např. pupečnickové krve, kostní dřevě, tukové tkáně a dalších.

MSC se mohou diferencovat v buňky mezodermálního původu - adipocyty, chondrocyty nebo osteocyty nebo v další typy buněk. MSC mohou interagovat s buňkami imunitního systému a mohou tak ovlivňovat některé funkce přirozené i získané imunity.

### Materiál a metody:

V našich experimentech používáme jako zdroj MSC pupečnickovou krev od zdravých dárců a kostní dřevě od pacientů s neoplastickou diagnózou. MSC se izolují metodou plastické adherence nebo pomocí RosetteSep- Human MSC Enrichment Cocktail (Stemcell Technologies). Kultivace buněk probíhá v kompletním médiu s obsahem séra.

### Výsledky a závěr:

Z dosavadních výsledků je zřejmé, že produktivnějším zdrojem pro izolaci a následnou úspěšnou kultivaci je kostní dřevě. Jako další alternativa bude vyzkoušena metoda izolace MSC z adipózní tkáně.

Práce je podporována Programem rektora MU na podporu tvůrčí činnosti studentů.

**Diferenciace kmenových buněk zubní pulpy v neurální elementy**

*Suchánek J., Soukup T., Víšek B., Brůčková L., Ivančaková R.*

*Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové*

---

Cílem studie bylo prokázat schopnost kmenových buněk zubní pulpy (KBZP) diferencovat v neurální elementy v podmínkách kultivace in vitro.

KBZP byly izolovány ze zubní pulpy 3. moláru. Pro diferenciaci byly KBZP nasazeny do kultivačních nádob potažených fibronectinem, v koncentraci 15 000 buněk/cm<sup>2</sup> a byly 14 dní kultivovány v neurodiferenčním médiu. Pro průkaz změny fenotypu kmenových buněk byl použit průtokový cytometr Cell-Lab Quanta. KBZP byly značeny primárními protilátkami konjugovanými s FITC nebo PE. Pro imunocytochemické metody jsme použili KBZP rostoucí v monolayeru fixované 4% paraformaldehydem. KBZP jsme značili primárními protilátkami anti-*nestin*, *nucleostimin*, *GFAP*, *A2B5*,  $\beta$ -III-tubulin, *Pan NF*, *DCX*, *O4*, *NG2*, *RC2* a *FORSE-1*.

KBZP diferencované ve formě monolayeru vykazovaly obdobný fenotyp s KBZP kultivovanými ve standardním kultivačním mediu. Imunocytochemická analýza prokázala pozitivitu pro *RC-2*, *A2B5* a *FORSE-1*. Dále pak pozitivitu pro znaky neuronálních kmenových buněk *Pan NF* a  $\beta$ -III-tubulin a slabou pozitivitu pro *GFAP* a *O4*.

Práce byla podpořena VZFN MZO 00179906 a MSM 0021620820.

---

**Využití destičkových lyzátů při kultivaci mesenchymálních stromálních buněk***Foltánková V., Matějková E., Michálek J.**Masarykova univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie*

---

Pro expanzi mesenchymálních stromálních buněk (MSC) jsou používána média obsahující jako zdroj růstových faktorů živočišná séra, která však mohou být zdrojem xenogenních antigenů a nést riziko transmise živočišných virů, prionů a zoonos.

Pro klinické použití v buněčné terapii a tkáňovém inženýrství jsou tudíž taková média nevhodná. Kvalitní náhradou živočišného séra se ukázal být destičkový lyzát (PL-platelet lysate) – koncentrát růstových faktorů lidských krevních destiček získaný jejich lýzou teplotním šokem, ošetřením heparinem a centrifugací.

MSC kultivované v médiu s 5% destičkovým lyzátem (MSC-PL) vykazují mírně odlišnou morfolonii, avšak podobný imunofenotyp a diferenciační potenciál jako MSC kultivované v médiu s živočišným sérem (MSC-FCS). MSC-PL mají vyšší klonogenní a proliferativní kapacitu. Imunoregulační schopnosti MSC jsou u obou typů médií srovnatelné. MSC-PL se ukazují být využitelné spíše v regenerativní a reparativní buněčné terapii, zatímco MSC-FCS jsou pro svou vyšší imunopresivitu vhodné například pro prevenci a léčbu imunitních komplikací spojených s aloreaktivitou.

**Kultivace MSC z buněk zachycených v odběrových setech po odběru kostní dřeně zdravých dárců***Hrubá A., Rahmatová Š., Fales I., Dvořáková J.**Ústav hematologie a krevní transfuze*

---

Kostní dřeň pro transplantace se odebírá do odběrových setů vybavených filtry. Ve vacích a na filtrech se zachycují buňky, které lze uvolnit vypláchnutím PBS. Po několikadenní inkubaci mononukleárních buněk z tohoto zdroje v alfe MEM médiu s 10% séra se v kulturách objeví adherované buňky vřetenového tvaru s charakteristikou MSC. Proliferace buněk je rychlejší v přítomnosti lidského séra, nebo séra z pupečnickové krve než v přítomnosti fetálního telecího séra.

# Informační systém TISSUE



Informační systém TISSUE firmy Tis Brno, s.r.o. je komplexním informačním systémem pro řízení a sledování výroby a skladování lidských tkání.

Umožňuje shromáždit veškerá potřebná data, vznikající během odběru, zpracování a skladování lidských tkání a jejich supervizi a propouštění odpovědnými pracovníky v průběhu zpracování.

Struktura a organizace přístupu k datům je specifická pro různé typy tkání. Podporuje odběry kostí, ligament, rohovek, sklér, kůží, amnií a dalších tkání.

Umožňuje různé formy zpracování, lišící se podle typu tkání, oplachy, sterilisaci a lyofilisaci. Dále umožňuje pořizování výsledků laboratorních vyšetření k jednotlivých odběrům a tkáním i v průběhu zpracování.

Jednotlivé fáze zpracování a vyšetření lze v systému propouštět a tisknout k nim odpovídající protokoly.

Vysoká spolehlivost systému je zajištěna širokým využitím technologie čárových kódů v průběhu výroby i při značení finálních produktů.

Systém je v provozu na TB FNB Brno, Bohunice, od roku 2006.

**Nový postup ve zpracování a kryokonzervaci krvetvorných buněk***Formannová L., Komárková J., Vinklárková J.**Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka*

---

**Cíl:** Nový postup ve zpracování a kryokonzervaci krvetvorných buněk.

**Metodika:** Validace nového postupu ve zpracování a kryokonzervaci krvetvorných buněk byla porovnána s validací původního postupu. Validace obou postupů byla provedena pomocí commetru ( programovatelný registrační teploměr ), který měřil teplotu přímo ve vacích. U obou postupů byla provedena 3 měření , která byla následně vyhodnocena.

**Výsledky:** U původního postupu bylo na základě měření zjištěno, že ve vacích dochází ke zvýšení teploty nad horní stanovenou mez. Dalším nevyhovujícím faktorem je riziko kontaminaci a složitá manipulace.U nového postupu měření ukázalo, že ke zvýšení teploty nedochází a riziko kontaminace je eliminováno.Další výhodou nového postupu je jednodušší manipulace a snadná udržba.

**Závěr:** Novým postupem se podařilo nahrati původní postup, který nebyl pro zpracování a kryokonzervaci krvetvorných buněk optimální.

## **Problematika kontaminace při odběru muskuloskeletálních tkání**

*Špirka D., Brůžková E., Skokanová M., Kubešová B.*

*Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka*

---

Autoři prezentují výsledky statistického výzkumu týkajícího se míry kontaminace muskuloskeletálních tkání po odběru. Ta je hodnocena ve dvou rovinách:

- a) V závislosti na faktu, zda byl odběr proveden před či po pitvě dárce.
- b) V závislosti na délce časového intervalu mezi úmrtím a zahájením odběru muskuloskeletálních tkání.

Byla zpracována data týkající se celkem 279 muskuloskeletálních odběrů za období 1. 1. 2005 – 31. 12. 2008. Všechny tyto odběry byly provedeny odběrovým týmem TB FN BRNO za diodržení všech platných kritérií EATB, legislativy ČR a SOP TB FN Brno.

Z vyhodnocených údajů vyplynulo, že:

- a) U muskuloskeletálních odběrů provedených před pitvou se vyskytla nižší míra kontaminace (47%) než u odběrů provedených po pitvě (65%)
- b) Nejvyšší míra kontaminace se vyskytla u odběrů provedených v časovém intervalu 20 – 24 hod. po úmrtí dárce, nejnižší potom v intervalu 5 – 10 hod. po úmrtí.

Vyšší míru kontaminace u odběrů prováděných po pitvě jsme očekávali, ale rozdíl byl nakonec menší, než jsme si mysleli. To vypovídá o kvalitě použitých postupů při odběru tkání. Potvrdila se důležitost časového intervalu od úmrtí do zahájení odběru. Vzhledem k tomu, že dosáhnout změn v obou parametrech je organizačně téměř nemožné, je nutno hledat další postupy, které sníží riziko bakteriální kontaminace i při ztížených podmínkách odběru tkání.



**Přehled činností a produktů Tkáňové banky FN Brno***Procházková D., Kubešová B.**Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka*

---

Tkáňová banka FN Brno byla založena v roce 1952 a patří k nejstarším zařízením tohoto typu v České republice.

Organizačně se Tkáňová banka FN Brno dělí na tyto úseky: úsek tkáňových transplantací, úsek hematopoetických buněk, úsek nehematopoetických buněk a kryobanka.

Autoři představují služby a především produkty které se zpracovávají a/nebo skladují v Tkáňové bance FN Brno.

## Osteointegrace trikalciumfosfátu v kostních defektech

*Kučera T.<sup>1</sup>, Urban K.<sup>1</sup>, Šponer P.<sup>1</sup>, Kohout A.<sup>2</sup>, Strnad J.<sup>3</sup>*

*Ortopedická klinika FN a LF UK Hradec Králové<sup>1</sup>*

*Fingerlandův ústav patologie FN a LF UK Hradec Králové<sup>2</sup>*

*LASAK s.r.o. Praha<sup>3</sup>*

Prezentujeme klinické využití umělé náhrady kostní tkáně  $\beta$  - trikalciumfosfátu, který vyrábí firma LASAK Praha pod názvem Poresorb. Na naší klinice byl tento materiál testován od roku 1987, v klinickém použití od roku 2002.

Retrospektivně vyhodnocujeme soubor pacientů, kterým byl implantován Poresorb v období 2002 - 2007. Jedná se o 56 pacientů, 32 žen a 24 mužů, celkem 61 operací. Věkový rozptyl pacientů byl 3 až 89 let, Poresorb implantujeme i v indikacích dětské ortopedie. Minimální doba sledování byla 8, průměrně 34 měsíců. Nejčastějšími diagnózami byly juvenilní kostní cysta, enchondrom, neosifikující fibrom. Nejčastějšími lokalizacemi byly metafýzy tibie, femuru a humeru. Pro výplň defektu byl použit Poresorb samostatně nebo v kombinaci s aspirátem kostní dřevě a/nebo autoštěpy. Při patologické zlomenině nebo jejím riziku byla provedena osteosyntéza. V době odstranění kovu jsme odebírali část tkáně na histologické vyšetření.

Hodnocení bylo klinické, rentgenologické a histologické. Nebyly zaznamenány žádné subjektivní potíže vázané na přítomnost Poresorbu. Radiologicky byl zřejmý přímý kontakt Poresorbu s kostními trabekulami bez přítomnosti ohraničení měkkými tkáněmi. Resorpce začíná na periferii, je zřejmá novotvorba kosti. Plná resorpce Poresorbu a obliterace kostních defektů závisí na věku pacienta, velikosti defektu a základní diagnóze. Histologicky jsme zaznamenali tvorbu pletivové a lamelární kosti.

Porézní  $\beta$  - trikalciumfosfát lze dle našich zkušeností doporučit k léčbě kostních defektů v oblasti epifýz a metafýz. Další náš výzkum je zaměřen na posílení osteoindukce a osteogeneze umělých kostních náhrad.

---

**Produkty somatobuněčné terapie na Tkáňové bance FN Brno-Bohunice***Komárková J., Procházková D., Kubešová B.**Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka*

---

Produkty somatobuněčné terapie na Tkáňové bance FN Brno-Bohunice

Buněčné transplantáty jsou v nabídce produktů Tkáňové banky od roku 1992. Prvním produktem byly kultivované epidermální transplantáty. Od roku 2000 byla nabídka rozšířena o suspenzi kultivovaných chondrocytů a chondrocyty v nosiči.

Zájem o jejich aplikaci se v průběhu let měnil, ale stále zůstávají v zájmu lékařů jako perspektivní produkty somatobuněčné terapie.

Zařazení produktů somatobuněčné terapie mezi léčiva a povinnost jejich registrace pozastavila kultivace a aplikace. Tkáňová banka je připravena po obdržení potřebných povolení obnovit současnou nabídku buněčných transplantátů a usilovat o její rozšíření.

**Integrace banky srdečních chlopní zajišťuje potřebu kardiochirurgů ČR***Habrmanová A., Krejčová J., Burkert J., Tláškal T., Kobyłka P., Mokráček A., Špatenka J.**Transplantční centrum, STB85 FN Motol*

---

**Cíl práce**

Dětské kardiocentrum používá alotransplantáty srdečních chlopní (ASCH) od 1983. Srdce pro přípravu ASCH byla odebírána od NHBD. Expirační doba 28 dnů znamenala, že štěpy byly použity výjimečně. Transplantační centrum (TC) bylo ve FNM ustaveno 1992, banka kardiiovaskulárních tkání se stala jeho součástí a zavedla kryoprezervaci. Sdělení ukazuje závislost nabídky srdcí kadaverózních dárců pro přípravu ASCH na počtu dárců a transplantací srdce.

**Metody**

Retrospektivní analýza počtu kadaverózních dárců orgánů, transplantací srdce, dostupnosti srdcí pro přípravu ASCH, počtu připravených a transplantovaných ASCH byla provedena 1983 - 2007.

**Výsledky**

1983 - 2007 realizoval český program transplantací orgánů 3601 kadaverózních dárců, získáno 1171 srdcí, ze kterých bylo připraveno 2068 ASCH, 1010 ASCH bylo transplantováno.

**Závěr**

Srdce orgánových dárců jsou v ČR hlavním zdrojem srdcí pro přípravu chlopenních štěpů. Integrace banky ASCH do národního programu odběrů a transplantací orgánů zajišťuje dostatečný počet ASCH pro potřeby kardiochirurgie.

Úspěšný program je výsledkem unikátní spolupráce odběrových týmů a koordinátorů TC z celé ČR.

**Výroba protinádorových vakcín v podmínkách SVP v LEHABI – čisté prostory ILBIT LF MU**

*Mužíková J.<sup>1,2</sup>, Smejkalová J.<sup>1,2</sup>, Michálek J.<sup>2</sup>, Hájek R.<sup>1</sup>*

*Univerzitní výzkumné centrum - Česká myelomová skupina, ILBIT, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity<sup>1</sup>*

*Univerzitní centrum buněčné imunoterapie, ILBIT, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity<sup>2</sup>*

---

Imunoterapie v dnešní době představuje novou a netoxickou léčbu pro nádorová onemocnění. Protinádorové vakcíny pro použití v klinických studiích jsou vyráběny asepticky, za dodržení podmínek SVP (správná výrobní praxe), v tzv. Čistých prostorách. Vakcína je aplikována pacientům s mnohočetným myelomem, metastazujícím melanomem, glioblastomem, renálním karcinomem a dětským pacientům se solidním nádorem.

V letech 2003-2008 bylo připraveno celkem 141 vakcín. Od roku 2007 jsou protinádorové vakcíny vyráběny v Čistých prostorách Univerzitního kampusu Masarykovy univerzity. Tento pokrok umožnilo získání povolení k výrobě léčivých přípravků od SÚKL (Státní ústav kontroly léčiv). Masarykova univerzita je prvním a v současné době i jediným univerzitním pracovištěm s tímto povolením k výrobě

Podporováno IGA MR 8945–4, výzkumným záměrem MŠMT NPV II 2B06058 a LC06027.

## **Separace monocytárních buněk pomocí přístroje Elutra**

*Vidláková P., Mackova K., Skálová K., Matějková E., Kyjovská D., Mužíková J., Novotná D., Burešová I., Smejkalová J., Michálek J.*

*Masarykova univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie*

---

### Úvod:

Separáční přístroj Elutra je v České republice unikátní a na našem pracovišti byl uveden do provozu na jaře roku 2008. Jeho hlavní využití spočívá v separaci monocytoidních buněk z leukaferetického produktu. Separát je následně použit pro kultivaci dendritických buněk in vitro, které jsou hlavní složkou protinádorové vakcíny pro onkologické pacienty.

### Princip metody:

Separáční systém Elutra umožňuje rozdělení buněčných populací do různých frakcí a to na základě velikosti a hustoty buněk. Přístroj tak umožňuje obohacení jednotlivých buněčných populací, jejich případnou depleci, zkoncentrování nebo promývání. Vše se odehrává v plně uzavřeném a automatizovaném systému.

Elutriace se řídí Stokesovým zákonem o proudění kapalin.

### Výsledky:

Do současnosti byly provedeny 4 kompletní elutriace. Ve vybraném případě bylo z  $4,148 \times 10^9$  leukocytů ve vstupním produktu obsahujícím 21,1% monocytoidních buněk získáno  $2,914 \times 10^9$  vyseparovaných buněk s čistotou 89,4%. Došlo tedy k obohacení z původních 21,1% před separací na 89,4% monocytoidních buněk po separaci. Další experimenty prokázaly obdobné výsledky.

### Závěr:

Separované buňky ve vysoké čistotě jsou díky uzavřenému systému přístroje Elutra bez rizika možné kontaminace využitelné pro následné laboratorní a klinické aplikace.

Tato práce byla podpořena grantem NPVII 2B06058

## **Možnosti léčby Alzheimerovy demence implantací autologních kmenových buněk**

*Matějovská Kubešová H., Weber P., Klabusay M., Kubešová B.*

*Fakultní nemocnice Brno*

---

Výskyt kognitivních poruch ve stáří nabývá na významu zvláště v kontextu prodlužování střední délky života a zvyšování podílu seniorů v populaci. V současné době je počet nemocných s Alzheimerovou demencí odhadován na 5% v populaci 65letých, dále se toto procento každých pět let věku zdvojnásobuje, tedy v populaci 80letých se Alzheimerova demence vyskytuje u každého 4.-5. seniora. Zásadním problémem je v současné době přehlížení příznaků rozvíjející se kognitivní poruchy a pozdní zahájení léčby, která má v dané fázi jen malou šanci na významnější efekt.

Jednou ze zkoumaných příčin rozvoje Alzheimerova demence je kromě známých strukturálních změn i snížená schopnost růstu nervových prekursorů při zachovalé proliferační aktivitě v hipokampální oblasti. Těchto skutečností využívá metoda autologní transplantace autologních kmenových buněk odebraných z kosti kyčelní a aplikovaných zpět nemocnému cestou karotické arterie. Od tohoto postupu je očekáván podobný efekt jako po transplantaci krvetvorné tkáně – tedy usídlení kmenových buněk v příslušných oblastech mozku a jejich proliferaci se vznikem nových funkčních neuronů.

---

## **Nabídka tkáňových transplantátů pro potřeby kliniků**

*Procházková D., Karkoška J., Kubešová B.*

*Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka*

---

Úvod: Tkáňová banka FN Brno zajišťuje tkáňové transplantáty pro významnou část zdravotnických zařízení v České Republice. Při práci se řídí jak legislativou ČR tak standardy Evropské asociace tkáňových bank. Jako první tkáňová banka v Evropě získala TB FN Brno standard kvality ISO 9001:2000 v roce 2005.

Vyráběné produkty: TB FN Brno má ve své nabídce širokou paletu produktů. Mezi běžně dostupné transplantáty patří – kostní allografty zmrazené (kortikální špalíky, kortikospongiózní štěpy), patelární ligamentum, achilova šlacha, drčená lyofilizovaná spongióza, amniové membrány, skléry, rohovky, dermoepidermální štěpy. Mezi novinky patří zmrazené svalové šlachy (od musculus tibialis anterior et posterior), menisky a fascia lata různých rozměrů.

Speciální objednávky: Tkáňová banka FN Brno úzce spolupracuje s kliniky. Podle jejich požadavků připravuje špalíky různých rozměrů z dialýz dlouhých kostí, celé epifýzy i s částí diafýzy a další.

Závěr: autoři předkládají souhrnné údaje o produkci a připravili také malou ukázkou ze zpracování kostí ve formě videa.



## Selektivně depletované alogenní T lymfocyty využitelné pro bezpečnou léčbu nádorů

Matějková E.<sup>1,2</sup>, Mužíková J.<sup>1</sup>, Novotná D.<sup>1</sup>, Burešová I.<sup>1</sup>, Michálek J.<sup>1,3</sup>

Masarykova univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie<sup>1</sup>

Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka<sup>2</sup>

I. dětská interní klinika LF MU a Fakultní nemocnice Brno<sup>3</sup>

Reakce štěpu proti hostiteli (graft-versus-host disease, GVHD) je stále nejčastější a nejzávažnější komplikací po alogenní transplantaci kmenových buněk. Hlavní roli ve vzniku GVHD hrají aloreaktivní klony T lymfocytů dárce, které mohou následně způsobit poškození tkání pacienta. Selektivní deplece je velmi účinnou strategií k odstranění těchto nebezpečných dárcovských T lymfocytů a zároveň je při tomto postupu zachován žádoucí protinádorový potenciál štěpu.

V primární smíšené lymfocytární reakci (mixed lymphocyte reaction, MLR) byly použity ozářené neleukemické/nenádorové buňky pacienta jako antigenní stimulátor. Vzniklá populace aloreaktivních T lymfocytů byla selektivně depletována pomocí anti-CD25 imunotoxinu (IT). Zbylé T-lymfocyty nevykazovaly reaktivitu proti buňkám pacienta (příjemce štěpu) a byly následně stimulovány leukemickými/nádorovými buňkami od stejného pacienta. Takto aktivované buňky byly imunomagneticky separovány na základě produkce znaků CD4/CD25 a CD8/CD25.

V našich experimentech bylo provedeno 42 MLR (12× AML, 3× ALL, 3× CLL, 1× CML, 7× mnohočetný myelom a 16× renální karcinom). Selektivní deplece aloreaktivních T lymfocytů pomocí anti-CD25 IT dosáhla vždy velmi vysoké účinnosti (99,2 - 100%, medián 99,7%). Graft-versus-leukemia/tumor (GVL/GVT) efekt dárcovských T lymfocytů byl dobře zachován, 1,1 - 9,6%, (medián 7,46%) dárcovských T lymfocytů bylo GVL/GVT reaktivních, zatímco graft-versus-host (GVH) reaktivita dárcovských buněk byla zanedbatelná (0 - 0,23%, median 0,14%) i po opakovaných restimulacích ozářenými nenádorovými buňkami pacienta.

Závěrem lze konstatovat, že je možné velmi účinně selektivně depletovat aloreaktivní T lymfocyty dárce pomocí anti-CD25 IT. V případě všech testovaných diagnóz byla u depletovaných buněk zachována relativně vysoká reaktivita proti leukémii/nádoru.

Podporováno grantem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy NPV11 2B06058.

## KONFERENCE / KONGRESY / SYMPOZIA

### VÁŠ OSVĚDČENÝ PARTNER PŘI REALIZACI

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

**MUDr. Chadi Ali**

*Ortopedická klinika 1. LF UK, Fakultní nemocnice Na Bulovce*

**MUDr. Pavel Březovský, MBA**

*Koordináční Středisko Transplantací*

**MUDr. Jan Burda**

*Ortopedická klinika LF MU a Fakultní nemocnice Brno*

**Mgr. Jana Dragúňová, CSc.**

*Centrálna tkanivová banka pri Klinike popálenín Lekárskej fakulty  
Univerzity Komenského Bratislava*

**Mgr. Veronika Foltánková**

*Masarykovy univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie*

**Lucie Formannová**

*Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka*

**Anna Habrmanová, CETC, CTBS**

*Fakultní nemocnice v Motole, Transplantační centrum*

**Doc. MUDr. Milan Handl, Ph.D.**

*Ortopedická klinika - Dětská a dospělá ortopedie a traumatologie*

**Ing. Ivana Haunerová**

*Státní ústav pro kontrolu léčiv*

**PhMr. RNDr. Alena Hrubá, CSc.**

*Ústav hematologie a krevní transfuze*

**Doc. MUDr. Pavel Janíček, CSc.**

*I. ortopedická klinika LF MU a Fakultní nemocnice u sv.Anny v Brně*

**RNDr. Jiří Jelínek**

*Masarykovy univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie*

**Mgr. Ján Karkoška**

*Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka*

**Jana Komárková**

*Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka*

**MUDr. Barbara Kubešová**

*Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka*

**Mgr. Lucia Kučerová, Ph.D.**

*Ustav experimentalnej onkologie SAV*

**MUDr. Tomáš Kučera**

*Ortopedická klinika FN a LF UK Hradec Králové*

**MUDr. Petr Kutílek, Ph.D.**

*Urologická klinika FN a LF Hradec Králové*

**Mgr. Klára Macková**

Masarykovy univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie

**Doc. MUDr. Milan Machálka, CSc.**

Klinika ústní, čelistní a obličejové chirurgie LF MU a Fakultní nemocnice Brno

**Mgr. Eva Matějková**

Masarykovy univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie

**Prof. MUDr. Hana Matějovská Kubešová, CSc.**

Fakultní nemocnice Brno

**Prof. MUDr. Jaroslav Michálek, Ph.D.**

Masarykovy univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie

**Jana Mužíková**

Masarykovy univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie

**MUDr. Magdalena Netuková, Ph.D.**

Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Oční tkáňová banka

**MUDr. Ladislav Plánka**

Klinika dětské chirurgie, ortopedie a traumatologie LF MU a Fakultní nemocnice Brno

**Drahomíra Procházková**

Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka

**Mgr. Kateřina Skálová**

Masarykovy univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie

**Mgr. Jana Smejkalová, Ph.D.**

Masarykovy univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie

**MUDr. Jakub Suchánek**

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

**Prof. MUDr. Eva Syková, DrSc.**

2. lékařská fakulta UK, Centrum buněčné terapie a tkáňových náhrad

**Daniel Špirka**

Fakultní nemocnice Brno, Tkáňová banka

**MUDr. Petr Vališ**

Ortopedická klinika LF MU a Fakultní nemocnice Brno

**Petra Vidláková**

Masarykovy univerzita, Univerzitní centrum buněčné imunoterapie

---

**Poznámky:**

Bioimplantologie 2009  
SBORNÍK PŘEDNÁŠEK

Nakladatel: MSD  
Lidická 23, 602 00 Brno

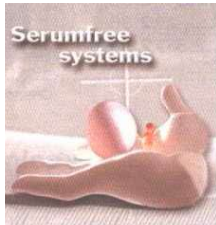
Tisk: MSD, Lidická 23, 602 00 Brno  
Rok vydání: 2009

ISBN: 978-80-7392-090-6



**Michal Kysilka**  
 Botanická 55  
 602 00 BRNO  
 CZECH REPUBLIC  
 GSM : +420 607 926 475  
 E-mail : kysilkamichal@volny.cz

Panserin  
 Cytogenetic media  
 AmnioGrow plus  
 LymphoGrow  
 MarrowGrow  
 EHC medium



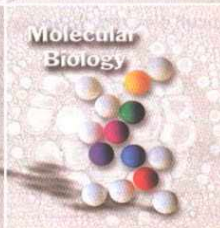
Monoclonal Antibodies  
 Anti-human Polyclonal Antibodies  
 Anti-murine Polyclonal Antibodies  
 Anti-rat Polyclonal Antibodies

Cell Culture Media liquid  
 Cell Culture Media powder  
 Special Media for  
 Endothelialcells/sterile water  
 Media for insects liquid,powder



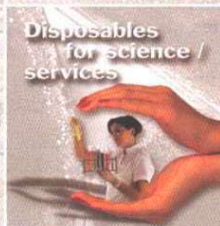
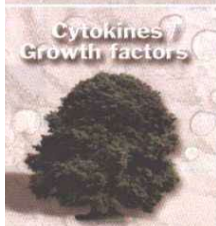
Foetal bovine serum  
 - heat-inactivated  
 - gamma irradiated  
 - after dialysis  
 - ultra low IgG  
 Calf serum-newborn  
 Bovine serum

Media supplements liquid,powder  
 Buffered Salt Solutions liquid,powder  
 Amino Acids and Vitamins liquid  
 Amino Acids and Vitamins powder  
 Antibiotics liquid,powder  
 Enzymes for Cell Dissociation  
 Attachment factors  
 Separating Agent Solutions –  
 Pancoll/Powercoll



DNA / RNA Polymerases  
 For nucleic acid modification  
 Kits for Nucleic Acid Isolation  
 Nucleotides  
 Products for Electrophoresis

Human Growth Factors &  
 Cytokines  
 Murine Growth Factors &  
 Cytokines  
 Rat Growth Factors & Cytokines  
 Receptors & Ligands  
 Elisa/Kits



Laboratory equipment/Plastics  
 Mycoplasma Detection  
 Disinfectans  
 Safety Data Sheet Barrycidal 36

**a**sistovaná reprodukce / **b**iomedicinský  
výzkum a granty / imuno**d**iagnostika  
patologi**e** / **f**yzologie / **g**enetika / **ch**irurgie  
komple**x**ní dodávky / **Z**akázky na míru



**YBUX**

[czech@ybux.eu](mailto:czech@ybux.eu)

[slovak@ybux.eu](mailto:slovak@ybux.eu)