

## Abstrakt

Kostní tkáňové inženýrství se snaží napodobit přirozené chování tvrdých pojivových tkání. V současné době dochází v této oblasti k aktivnímu rozvoji výzkumu a vývoje nových funkčních materiálů. Hlavním směrem v oblasti léčby defektu kostní tkáně je použití biologicky odbouratelných kompozitních materiálů na bázi biopolymerů obohacených o anorganickou složku, případně v kombinaci se složkou buněčnou. Obecně významnou roli zde hrají díky svým vlastnostem hydrogely, které mohou poměrně dobře reagovat na změny podmínek okolního prostředí a jsou používány jako vhodné pro buňky, které tam mohou růst a proliferovat. Strukturou hydrogelu mohou difundovat živiny a odpadní produkty a v neposlední řadě díky tomu mohou sloužit také jako nosiče léčiv. Jejich velkou výhodou, je možnost injekční aplikace s následným gelováním *in situ*.

V této práci byly porovnávány fyzikálně zesíťované hydrogely na bázi polyvinylalkoholu (PVA) a kyseliny hyaluronové (HA) v různých objemových poměrech obohacené o hydroxyapatit (HAp) - anorganickou složku vlastní pro kostní tkáň. Začlenění hydroxyapatitu do organické matrix bylo provedeno dvěma způsoby, syntézou *in situ* přímo a fyzikálním přimícháním předem připraveného hydroxyapatitu. Složení obou typů hydroxyapatitu bylo analyzováno pomocí infračervené spektroskopie a energiově disperzní spektroskopie.

Pro stanovení nejvhodnějšího typu hydrogelu pro léčbu kostního defektu bylo použito hodnocení mechanických i biologických vlastností a viability buněk podobným osteoblastům MG-63. Na vybraných typech hydrogelů byla dále ověřována viabilita a diferenciací lidských mezenchymálních buněk BM-hMSC. Použité diferenciací médium bylo oproti základnímu kultivačnímu mediu obohaceno o dexametazon, askorbát-2-fosfát,  $\beta$ -glycerolfosfát, vitamin K3 a vitamin D3. Míra buněčné diferenciací byla hodnocena na základě a exprese vybraných osteogenních genů pomocí polymerázové řetězové reakce, stanovení aktivity alkalické fosfatázy a vizuálně potvrzena barvením vápenatých solí.

Dosažené výsledky ukázaly, že výhodné složení hydrogelů PVA/HA/HAp bylo v objemových poměrech 3:1:2 a 1:1:2. Z hlediska mechanických vlastností se jako výhodnější jevila příprava hydrogelů, kde byl HAp syntetizován *in situ*. Dle předpokladů se se také ukázalo, že přítomnost HA významně zvýšila primární adhezi buněk a přítomnost HAp zlepšila proliferaci kultivovaných buněk. Hodnocení diferenciací ukázalo, že s výjimkou exprese genu Runx2, signifikantně výhodnější bylo složení hydrogelu o objemovém poměru jednotlivých složek 3:1:2.

**Klíčová slova:** kostní tkáňové inženýrství, hydrogel, PVA, kyselina hyaluronová, hydroxyapatit, MG-63, mezenchymální kmenové buňky, diferenciací, osteoblasty