NANOTECHNOLOGIE PRO EFEKTIVNĚJŠÍ CÉVNÍ NÁHRADY

ONDŘEJ ZÍTKA[a], PAVLÍNA ŠOBROVÁ[a], VOJTĚCH ADAM[a], JAROMÍR HUBÁLEK[b], IVO PROVAZNÍK[c], VĚRA ŽÍŽKOVÁ[a] a RENÉ KIZEK[a]

[a] Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, [b] Ústav mikroelektroniky, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 602 00 Brno, [c] Ústav biomedicínského inženýrství, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Vysoké učení technické v Brně, Kolejní 4, 612 00 Brno
kizek@sci.muni.cz

Došlo 22.6.11, přepracováno 17.9.12, přijato 27.9.12.

Klíčová slova: cévní náhrada, nanotechnologie, nanomedicína, kolagen, těžké kovy, chitosan, kyselina hyaluronová

Obsah

1. Úvod
2. Materiály pro zajištění průchodnosti cévních náhrad
3. Materiály pro zajištění antibakteriálních vlastností cévních náhrad
   3.1. Ionty kovů
      3.1.1. Stříbro
      3.1.2. Měď
      3.1.3. Platina, palladium, ruthenium
   3.2. Přírodní polymery
      3.2.1. Chitosan
      3.2.2. Kyselina hyaluronová
4. Nanovlákna kolagenu a elastinu
5. Závěr

1. Úvod

Nanotechnologie a nanobiotechnologie díky svým unikátním fyzikálně-chemickým a biologickým vlastnostem vytváří pokrokové příležitosti pro výrobu nových a účinnějších cévních náhrad. I přesto, že se nanotechnologie dle definicí zabývá objekty v rozsahu 1 až 100 nm, lze pomocí takto miniaturních objektů konstruovat cévy z nanostrukturalizovaných materiálů anebo z nanočástic obsahujících biologicky aktivní látky[1]. Revoluční objev v oblasti umělých nanostruktur je připisován profesoru O. Jirsákovi, který v roce 2003 vynalezl unikátní technologii „Nanospider“, která umožňuje průmyslově vyrábět nanovlákna o velikosti 50–500 nm (cit.[2]). Nanomedicinské aplikace umožní úpravy povrchu cévních štěpů pokrytím speciálním nanofilmem z polymeru nebo biopolymeru, aby došlo ke snížení rizika vzniku trombózy anebo ke zvýšení jeho přilnavosti k cirkulujícím endoteliálním progenitorovým buňkám. Nanostrukturalizovaná síť může připomínat organizaci extracelulární matrix (ECM) v přirozených cévách a tím zlepšit biokompatibilitu u umělé cévy[1]. Úpravou hydrogelů jako moderních biodegradovatelných nosičů růstovými faktory a ECM peptidy nanesenými pomocí nanočástic jsme schopni zlepšit vlastnosti těchto nosičů, a tím zvýšit jejich potenciál pro podporu buněčného dělení[3,4]. Všechny klasické cévní náhrady vyžadují řadu technologických kroků pro zlepšení jejich biokompatibility, které ovšem v určité míře nevedou ke kýženému cíli a jsou imunitním systémem rozpoznány a následně odmítnuty. V této souvislosti by rozvoj nanotechnologií mohl přinést nové doposud neprozkoumané možnosti, jak zlepšit biokompatibilitu, případně umožnit dlouhodobé uvolňování léčiva[1].

2. Materiály pro zajištění průchodnosti cévních náhrad

Inženýrství protisrážlivých úprav dutých materiálů cévních náhrad je nezbytné pro zachování průchodnosti implantovaných materiálů. Doposud byly popsány tři hlavní nanotechnologické strategie pro tvorbu takovýchto materiálů, které jsou založeny na: *i*) imobilizaci protisrážlivých molekul a vytvoření bezbuněčných tromborezistentních nanopovrchů[5], *ii*) začlenění molekul, u kterých bylo prokázáno, že zvýší tvorbu endotelu i na vnitřní stěně cévní náhrady *in vitro* a *in vivo*[6], a *iii*) posílení tvorby endotelu pomocí nanočástic oxidu železa nebo endoteliálních buněk značených magnetickými mikročásticemi[7,8]. Inženýrství cévních štěpů s lipidy pro tvorbu cévy, které byly vytvořeny z proti-srážlivých fosfolipidů, prokázalo, že udržely průchodnost po implantaci *in vivo* bez známek tvorby trombů (sraženin)[9]. Další modifikaci této strategie představují fosfolipidové filmy, které napodobují membrány na povrchu cévního štěpu[10]. Velmi vhodné vlastnosti byly nově prokázány u nanokompozitních polyuretanových polymerů, kdy byly do jejich struktury začleněny mnohostěnné oligomerní silseskvioxany[10]. Kromě toho, imobilizace protilátky proti receptoru CD34 na cévní štěpy i na cévní náhrady zvýšila a zrychlila post-implantační *in vivo* tvorbu endotelu[6]. *In vitro* studie dále prokázaly, že nanokompozity obsahující bioaktivní peptidy mohou podporovat přilnavost, šíření a vznik stékajících vrstev endoteliálních zárodečných buněk[11]. V současnosti již existuje klinická studie potvrzující fakt, že cévní náhrady pokryté materiálem napodobujícím biologické systémy anebo nanovrstvou ukotvených lipidů zlepšuje vlastnosti cévní náhrady včetně zvýšené tvorby endotelu[12].

3. Materiály pro zajištění antibakteriálních vlastností cévních náhrad

Kromě průchodnosti a s ní spojené technologie bránící vzniku trombů je nutné zamezit možné infekci. Sterilita prostředí je samozřejmostí, ale sterilita samotné cévní náhrady je z řady technologických důvodů obtížně dosažitelná (nejčastěji je využíváno gama záření). Proto se hledají způsoby modifikace cévních náhrad, které by zvýšily antibakteriální účinky cévy bez použití složitých sterilizačních prostředků a navíc by neovlivnily proces biologického přijetí cévního implantátu. Látek s antimikrobiálními účinky je řada a patří mezi ně i ionty kovů a mikroorganismy produkované proteiny.

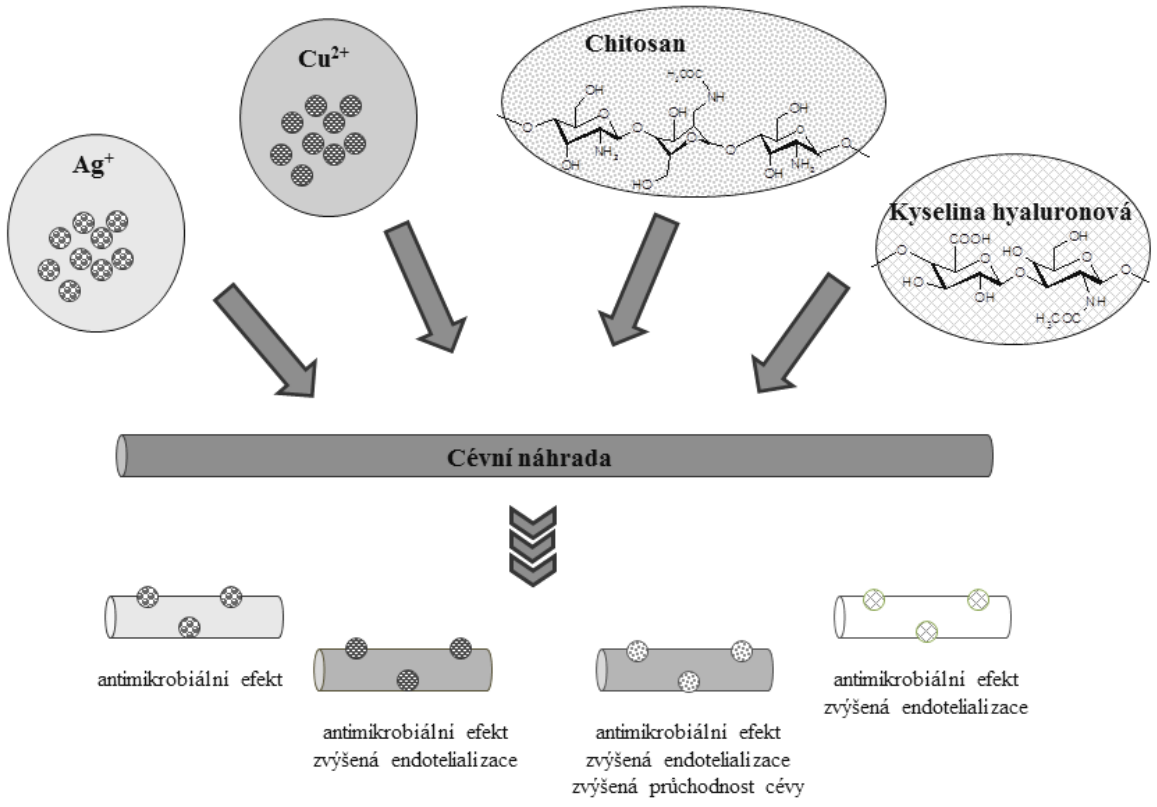
3.1. Ionty kovů

Kovy a jejich soli se využívají pro svůj antibakteriální účinek, který je vyvoláván kationtem kovu. Potřebné antimikrobiální koncentrace kovových iontů se pohybují v řádu ppm. Pro tyto účely jsou nejvíce zkoumány např. aktivní ionty stříbra (Ag^+) a mědi (Cu^{2+}). Ukázalo se[13,14], že tyto ionty hrají důležitou roli při zpomalení procesu dělení virů a bakterií (obr. 1).

3.1.1. Stříbro

Je všeobecně známo, že stříbrné ionty působí baktericidně a desinfekčně. Koloidní stříbro ničí houby a plísně, zabíjí parazity, pomáhá regeneraci buněk, přitom je minimálně toxické pro vyšší organismy. V malých dávkách posiluje imunitní systém a zlepšuje odolnost organismu. Těchto vlastností koloidního stříbra je možné využít při léčbě některých kožních chorob, jako jsou různé ekzémy, vyrážky a opary[15,16].

Biologická aktivita stříbra je úzce spojena s aktivitou stříbrného iontu uvolňovaného ze stříbrných solí, komplexů a halogenidů. Kation stříbra se váže na skupiny obsahující síru, kyslík nebo dusík, které se běžně vyskytují v biomolekulách ve formě thio-, amino- či karboxylových skupin nebo vyměňuje kationty kovů (Ca^{2+} a Zn^{2+}) v biokomplexech. Stříbro navázané na bakteriální DNA inhibuje celou řadu životně důležitých procesů. Dále mohou stříbrné ionty interagovat s biomolekulami zapojenými do procesů spojených s dýchacím řetězcem[17–19]. Interakce iontů Ag^+ s DNA byly studovány řadou metod (infračervená a UV spektrometrie, cirkulární dichroismus). Pomocí těchto technik bylo pozorováno, že dochází k rychlé vazbě stříbra na dusík bází DNA, a to především na N7 guaninu v dsDNA. Tohoto bylo využito pro stano-



Obr. 1. **Možné technologické postupy pro modifikace cévní protézy ionty těžkých kovů (stříbrnými a měďnatými ionty), chitosanem a kyselinou hyaluronovou**

vení DNA na stříbrných elektrodách[20]. Dusičnan stříbrný byl první sloučeninou stříbra, která byla v podobě obvazových materiálů obsahujících tuto sloučeninu použita na rány, kde má adstringentní účinek (stahuje a vysouší tělesné tkáně, snižuje vylučování, sekrety, výtoky a krvácení) a zároveň podporuje tvorbu nové krevní cévy a granulaci tkáně[21,22]. Dále byl připraven preparát obsahující stříbrné ionty a sulfonamid, který vykazuje širokospektrální toxicitu vůči bakteriím, ale je netoxický k lidským endoteliálním buňkám[23]. Stříbro se pomalu uvolňuje z emulzního systému v koncentracích, které jsou selektivně toxické pro bakterie (methicillin rezistentní *Staphylococcus aureus*, gentamycin rezistentní *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp.) a houby.

Použitím nanočástic stříbra lze dosáhnout zvýšení bakteriální toxicity a zároveň přitom nedochází ke zvýšení cytotoxicity srovnatelné s koloidním stříbrem. Výhodou použití je rovněž jednoduchá analytická kontrola obsahu stříbra a jeho formy ve všech materiálech. Nanostříbro se úspěšně používá pro přípravu antibakteriálních obvazů, přičemž uveřejněné studie potvrzují, že při ošetření nanostříbrem klesají počty bakterií v ranách o čtyři až pět řádů za 24 hodin, což s antibiotiky není vůbec dosažitelné[24,25]. Co se týče modifikace cévních náhrad nanostříbrem, *in vitro* studie prokazují, že stříbrem modifikované cévní náhrady mají výborné antimikrobiální účinky (obr. 1). Při porovnání jejich účinku na gram-negativní a gram-pozitivní bakterie byla pozorována vyšší účinnost v případě gram-negativních bakterií[26]. Na základě podobných studií bylo dále ukázáno, že stříbrem modifikované cévní náhrady byly úspěšně aplikovány u pacientů, u kterých došlo k infekci v oblasti cévní náhrady[27]. Kromě samotného pozitivního účinku je také nezbytné sledovat samotnou toxicitu stříbrem modifikovaných cévních náhrad. Zegelman a spol. provedli klinickou studii[28], kde testovali toxicitu cévních náhrad obohacených stříbrem u padesáti pacientů. Na základě pozorování prosakování krve v okolí implantátu jako ukazatele pro přijetí cévní náhrady, průchodnosti a hojení operačních ran zjistili, že cévní náhrady obohacené stříbrem jsou srovnatelné s běžně používanými náhradami a neobjevují se při jejich použití nežádoucí účinky.

3.1.2. Měď

Další možností, jak zvýšit tvorbu endotelu a zároveň posílit antibakteriální vlastnosti cévních náhrad, je jejich modifikace ionty mědi[29,30]. Měď je stopovým prvkem pro lidský organismus stejně jako pro bakterie, ale ve vysokém množství mohou měděné ionty působit negativně na řadu procesů probíhajících v buňce. Mechanismus bakteriotoxicity je neznámý, i když existuje řada teorií, *i*) iniciace unikání draslíku a glutamátu přes vnější membránu bakterie, *ii*) narušení osmotické rovnováhy, *iii*) vazba na aktivní centra proteinů přirozeně neobsahujících měď, popř. *iv*) generace peroxidu vodíku způsobujícího oxidativní stres[29]. Některé studie už potvrdily schopnost mědi účinně ničit patogenní bakterie, mezi které patří *E. coli*, *Salmonella* a methicillin-rezistentní *Staphylococcus aureus*[31–34]. Měď je prvním pevným povrchovým materiálem, který získal registrační známku EPA (US Environmental Protection Agency). Spolu s povrchy z antimikrobiálních slitin mědi se dokázalo, že během dvou hodin zničí více než 99,9 % bakterií. Měděné ionty si zachovají své antimikrobiální účinky, nabízejí spolehlivou a dlouhodobou ochranu (obr. 1). Tím měď může hrát stěžejní roli v obraně proti šíření škodlivých patogenů a doplňovat standardní ochranné postupy kontroly infekce, které předchází přísným hygienickým kontrolám a vyvinutí protivirové vakcíny. I přes výše zmíněná fakta, nejsou měďnaté ionty součástí cévních náhrad, přičemž jejich účinek na možnou endotelializaci se zdá být velmi pozitivní, jak ukazují Kothapalli a Ramamurthi[35].

3.1.3. Platina, palladium a ruthenium

V poslední době vzrostl zájem o platinové kovy (platina, palladium a ruthenium) ve vztahu k jejich antibakteriálním účinkům. První zmínky o jejich možných antimikrobiálních účincích byly popsány již v roce 1965 na komplexech ruthenia-fenantrolinu, kdy byla prokázána inhibice aktivity gram-pozitivních i gram-negativních bakterií[36]. Antimikrobiální účinky ruthenia byly taktéž prokázány skupinou autorů Bolhuis a spol., kteří zkoumali antimikrobiální aktivitu ruthenia (II) založenou na interkalacích jejich komplexů do DNA[37]. Tyto komplexy neprokázaly sice vysokou aktivitu u gram-negativních bakterií *E. coli in vitro*, ale zato u gram-pozitivních bakterií *Bacillus subtilis* a *Staphylococcus aureus* byly inhibiční účinky ruthenia (II) velmi znatelné. Autoři dále demonstrovali aktivitu ruthenia *in vivo* na jednoduchém zvířecím modelu nepatogenního půdního helminta z kmene hlístic *Caenorhabditis elegans* neboli háďátko obecné, které je přirozeným konzumentem půdních bakterií. Účinky ruthenia (II) však neprokázaly toxicitu vůči *C. elegans* ani vůči *S. aureus*.

V posledních letech byl taktéž zmíněn antimikrobiální účinek komplexů platiny a palladia, které jsou velmi známé díky svým cytostatickým účinkům[38–40]. Sharma a spol. sledovali antimikrobiální účinky různých komplexů u vybraných plísní *Alternaria alternata* a *Fusarium oxysporum* a u dvou druhů bakterií *Pseudomonas cepacicola* a *E. coli*. Ve své práci zjistili, že i přesto, že jednotlivé ligandy vykazovaly toxicitu vůči plísním i bakteriím, jejich komplexy s platinou a palladiem potlačovaly růst mikroorganismů signifikantně více[41].

Na druhou stranu nebyly doposud popsány účinky platinových kovů na možnou endotelializaci buněk a jejich vliv je zatím neznámý, nicméně jejich antimikrobiální účinky byly již popsány v řadě publikací[42–44]. Lze se tedy domnívat, že v budoucnu by se tyto kovy mohly stát, vedle běžně používaných stříbrných iontů, vhodnými antimikrobiálními látkami využívanými v cévním inženýrství.

3.2. Přírodní polymery

3.2.1. Chitosan

Chitosan řadící se mezi přírodní polymery je pro své netoxické, biokompatibilní a biodegradabilní vlastnosti

vhodný pro využití v medicíně (cit.[80]). O významnosti používání chitosanu v biomedicíně svědčí v nedávné době publikované speciální číslo v časopise Advanced Drug Delivery Reviews[45–51]. Chitosan, lze využít pro aplikaci na cévní náhradu nejen jako systém pro transport léčiv, ale i jako antibakteriální složku. Samotný chitosan vykazuje antibakteriální účinnost vůči mnoha gram-pozitivním i gram-negativním bakteriím. Přesný mechanismus antimikrobiální účinnosti není plně znám. Předpokládá se, že kladně nabité aminoskupiny glukosaminových jednotek interagují s negativně nabitými komponentami mikrobiálních buněčných membrán, a tím mění jejich propustnost a způsobují dehydrataci intracelulárního obsahu, což vede ke smrti bakteriálních buněk[52]. Antioxidační a biocidní účinnost byla prokázána pro 2-(hydroxypropyl)trimethylamoniový derivát chitosanu. Maltosové deriváty chitosanu vykazují nejvyšší antibakteriální účinnost proti *S. aureus*, proti *E. colli* byly nejúčinnější cellobiosové deriváty[53–56]. A navíc u chemicky modifikovaného chitosanu ftalátem, byl pozorován výrazný antimikrobiální účinek[57].

Efekty chitosanu se pomalu dostávají do popředí zájmu v přípravě cévních náhrad, kde je studován vliv cév obohacených chitosanem na srážlivost, průchodnost cévy a antimikrobiální aktivity (obr. 1). Zhu a spol. prokázali *in vitro*, že cévní náhrady obohacené chitosanem vykazují mnohem nižší adhezi krevních destiček v porovnání s běžnou cévní náhradou. Tyto výsledky následně doplnili a potvrdili experimentem *in vivo* při implantaci cévní náhrady u psa[58]. Další kolektiv autorů ukazuje na výjimečně dobré vlastnosti cévních náhrad tvořených kombinací chitosanu a rekombinantního kolagenu, který je podobný lidskému[59].

3.2.2. Kyselina hyaluronová

Dalším materiálem vhodným pro úpravu a zlepšení vlastností cévní náhrady je kyselina hyaluronová (glykosaminoglykan, polymer disacharidových jednotek tvořený opakovanou sekvencí *N*-acetylglukosaminu a kyseliny D-glukuronové, jež jsou spojeny glykosidickými vazbami (obr. 1)). Kyselina hyaluronová (KH) má řadu fyziologických funkcí včetně bránění ukládání kolagenu, což podporuje bez-jizevnaté hojení ran[60]. Navíc KH společně s dalšími molekulami vytváří extracelulární prostředí pro zabezpečení buněčného dělení, migraci a adhezi buněk[61–64]. A dále, experimenty *in vitro* prokázaly, že KH vykazuje protizánětlivé účinky[61,62]. KH byla několikrát úspěšně testována jako modifikace cévních náhrad[65–69]. Arrigoni a spol. popsali, že při použití KH u hladkého srdečního svalstva se zvýšila proliferace buněk a redukoval se počet apoptotických buněk[65]. Vzhledem k těmto biologicky velmi významným vlastnostem slaví průmyslová výroba KH značný úspěch, přičemž česká společnost Contipro Group a.s. produkuje 30 % světové produkce.

4. Nanovlákna kolagenu a elastinu

Kromě modifikací dnes používaných materiálů pro tvorbu cévních náhrad je dalších směrem v této oblasti tvorba samotných náhrad z materiálů, ze kterých je céva v lidském těle tvořena. Pro tento výzkumný směr se využívá takzvaný „self-assembly“ (samo-uspořádání) proces zahrnující spontánní organizaci jednotlivých komponentů do stabilních struktur větší složitosti. Konstrukce peptidů přilnavých na vlákna trojité šroubovice kolagenu, které jsou používány jako stavební kameny (ECM), patří mezi často testované materiály v této oblasti[70,81]. Vysoký stupeň biokompatibility těchto vláknitých materiálů a jejich schopnost připojit peptidy a proteiny s aktivními zbytky podporuje rozvoj funkčních a hybridních biomateriálů. Několik skupin vědců nezávisle na sobě vyvinulo strategie, které jim umožnily vytvořit přilnavé povrchy pro tvorbu kolagenových vláken pomocí napříč spojených tří aminokyselin (prolin-hydroxyprolin-glycin), přičemž strukturu stabilizovaly disulfidické můstky[71–74]. Tímto způsobem bylo dosaženo syntézy fragmentů kolagenových vláken o délce 400 nm (cit.[73]). Hartgerink a spol. připravili delší kolagenová vlákna o délce několik mikrometrů s navázanými peptidy[74]. Syntetizované heterotrimery ukázaly překvapivě vysokou stabilitu, což naznačuje, že elektrostatické interakce mezi řetězci zvyšují jejich stabilitu[71,75].

Elastin je další protein ECM, který je schopen „self-assembly“ procesu[75]. Schopnost elastinu a elastinu podobných polypeptidů polymerovat, spolu s pozoruhodnými fyzikálními a mechanickými vlastnostmi tohoto proteinu v cévní stěně, dala základ pro vývoj na elastinu založených materiálů pro cévní a tkáňové inženýrství[76,77]. Pomocí rekombinantních lidských polypeptidů lze vytvořit syntetické makromolekuly s rozpustností a mechanickými vlastnostmi podobnými těm, které má lidský elastin[76,78]. Na základě těchto výsledků se zdá být „self-assembly“ přístup k technické přípravě kolagenu a elastinu podobných biomateriálů pro cévní a tkáňové inženýrství velmi slibný.

5. Závěr

Uplatňování nanotechnologických přístupů v tkáňovém inženýrství je nově vznikající a rychle se rozvíjející oblastí výzkumu, která má potenciál překonat jeho doposud nevyřešené problémy. Modifikace cévních náhrad různými chemickými sloučeninami a biomolekulami propůjčují cévním náhradám lepší vlastnosti jak po stránce vstřebatelnosti, tak po stránce antibakteriálních vlastností[79]. Budoucností v tomto oboru je příprava cévních materiálů za použití kmenových buněk popř. biotechnologická příprava samotné cévy přímo z kolagenu pomocí nanotechnologií. Lze říci, že můžeme v této oblasti očekávat velmi zajímavé výsledky již v příštích několika letech, které posunou cévní inženýrství a tím i zlepší terapeutické možnosti moderní medicíny.

Tato práce byla podpořena granty NanoCeva TA ČR TA01010088 a CEITEC CZ.1.05/1.1.00/02.0068.

LITERATURA

1. Stegemann J. P., Kaszuba S. N., Rowe S. L.: Tissue Eng. *13*, 2601 (2007).
2. Jirsak O., Kalinova K., Stranska D., Berichte V. D.: Nanofair 2006 New Ideas for Industry, *1940*, 41 (2006).
3. Chai C., Leong K. W.: Mol. Ther. *15*, 467 (2007).
4. Saha K., Pollock J. F., Schaffer D. V., Healy K. E.: Curr. Opin. Chem. Biol. *11*, 381 (2007).
5. Jordan S. W., Chaikof E. L.: J. Vasc. Surg. *45*, 104A (2007).
6. Rotmans J. I., Heyligers J. M. M., Verhagen H. J. M., Velema E., Nagtegaal M. M., de Kleijn D. P. V., de Groot F. G., Stroes E. S. G., Pasterkamp G.: Circulation *112*, 12 (2005).
7. Perea H., Aigner J., Heverhagen J. T., Hopfner U., Wintermantel E.: J. Tissue Eng. Regen. Med. *1*, 318 (2007).
8. Shimizu K., Ito A., Arinobe M., Murase Y., Iwata Y., Narita Y., Kagami H., Ueda M., Honda H.: J. Biosci. Bioeng. *103*, 472 (2007).
9. Yoneyama T., Sugihara K., Ishihara K., Iwasaki Y., Nakabayashi N.: Biomaterials *23*, 1455 (2002).
10. Wilson J. T., Cui W. X., Sun X. L., Tucker-Burden C., Weber C. J., Chaikof E. L.: Biomaterials *28*, 609 (2007).
11. Alobaid N., Salacinski H. J., Sales K. M., Ramesh B., Kannan R. Y., Hamilton G., Seifalian A. M.: Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. *32*, 76 (2006).
12. Tanaka M., Sackmann E.: Nature *437*, 656 (2005).
13. Bondarenko O., Ivask A., Kakinen A., Kahru A.: Environ. Pollut. *169*, 81 (2012).
14. Taglietti A., Fernandez Y. A. D., Amato E., Cucca L., Dacarro G., Grisoli P., Necchi V., Pallavicini P., Pasotti L., Patrini M.: Langmuir *28*, 8140 (2012).
15. Atiyeh B. S., Costagliola M., Hayek S. N., Dibo S. A.: Burns *33*, 139 (2007).
16. Hollinger M. A.: Crit. Rev. Toxicol. *26*, 255 (1996).
17. Ratte H. T.: Environ. Toxicol. Chem. *18*, 89 (1999).
18. Silver S.: FEMS Microbiol. Rev. *27*, 341 (2003).
19. Krizkova S., Adam V., Kizek R.: Chem. Listy *103*, 559 (2009).
20. Fan C. H., Song H. Y., Hu X. F., Li G. X., Zhu J. Q., Xu X. X., Zhu D. X.: Anal. Biochem. *271*, 1 (1999).
21. Klasen H. J.: Burns *26*, 131 (2000).
22. Klasen H. J.: Burns *26*, 117 (2000).
23. Richards R. M. E., Taylor R. B., Xing D. K. L.: J. Pharm. Sci. *80*, 861 (1991).
24. Rai M., Yadav A., Gade A.: Biotechnol. Adv. *27*, 76 (2009).
25. Sharma V. K., Yngard R. A., Lin Y.: Adv. Colloid Interface Sci. *145*, 83 (2009).
26. Hardman S., Cope A., Swann A., Bell P. R. F., Naylor A. R., Hayes P. D.: Ann. Vasc. Surg. *18*, 308 (2004).
27. Batt M., Magne J. L., Alric P., Muzj A., Ruotolo C., Ljungstrom K. G., Garcia-Casas R., Simms M.: J. Vasc. Surg. *38*, 983 (2003).
28. Zegelman M., Guenther G., Florek H. J., Orend K. H., Zuehlke H., Liewald F., Storck M.: Vascular *17*, 190 (2009).
29. Borkow G., Gabbay J.: Curr. Med. Chem. *12*, 2163 (2005).
30. Kim B. E., Nevitt T., Thiele D. J.: Nat. Chem. Biol. *4*, 176 (2008).
31. Page K., Wilson M., Parkin I. P.: J. Mater. Chem. *19*, 3819 (2009).
32. Casey A. L., Adams D., Karpanen T. J., Lambert P. A., Cookson B. D., Nightingale P., Miruszenko L., Shillam R., Christian P., Elliott T. S. J.: J. Hosp. Infect. *74*, 72 (2010).
33. Gould S. W. J., Fielder M. D., Kelly A. F., Naughton D. P.: BMC Complementary Altern. Med. *9*, 6 (2009).
34. Ren G. G., Hu D. W., Cheng E. W. C., Vargas-Reus M. A., Reip P., Allaker R. P.: Int. J. Antimicrob. Agents *33*, 587 (2009).
35. Kothapalli C. R., Ramamurthi A.: Tissue Eng., Part A *15*, 103 (2009).
36. Dwyer F. P.: *Chelating Agents and Metal Chelates*, str. 415. Academic Press, New York 1964.
37. Bolhuis A., Hand L., Marshall J. E., Richards A. D., Rodger A., Aldrich-Wright J.: Eur. J. Pharm. Sci. *42*, 313 (2011).
38. Ali M. A., Mirza A. H., Butcher R. J., Tarafder M. T. H., Keat T. B., Ali A. M.: J. Inorg. Biochem. *92*, 141 (2002).
39. Kovala-Demertzi D., Demertzis M. A., Miller J. R., Papadopoulou C., Dodorou C., Filousis G.: J. Inorg. Biochem. *86*, 555 (2001).
40. Ray S., Mohan R., Singh J. K., Samantaray M. K., Shaikh M. M., Panda D., Ghosh P.: J. Am. Chem. Soc. *129*, 15042 (2007).
41. Sharma K., Biyala M. K., Swami M., Fahmi N., Singh R. V.: Russ. J. Coord. Chem. *35*, 142 (2009).
42. Abdolkarim C., Javad S. S.: Res. J. BioTechnol. *2*, 38 (2007).
43. Florea A. M., Busselberg D.: Biometals *19*, 419 (2006).
44. Barton L. L., Fauque G. D.: Adv. Appl. Microbiol. *68*, 41 (2009).
45. Agrawal P., Strijkers G. J., Nicolay K.: Adv. Drug Delivery Rev. *62*, 42 (2010).
46. Amidi M., Mastrobattista E., Jiskoot W., Hennink W. E.: Adv. Drug Delivery Rev. *62*, 59 (2010).
47. Bhattarai N., Gunn J., Zhang M. Q.: Adv. Drug Delivery Rev. *62*, 83 (2010).
48. de la Fuente M., Ravina M., Paolicelli P., Sanchez A., Seijo B., Alonso M. J.: Adv. Drug Delivery Rev. *62*, 100 (2010).
49. Kean T., Thanou M.: Adv. Drug Delivery Rev. *62*, 3 (2010).
50. Mao S. R., Sun W., Kissel T.: Adv. Drug Delivery Rev. *62*, 12 (2010).
51. Park J. H., Saravanakumar G., Kim K., Kwon I. C.: Adv. Drug Delivery Rev. *62*, 28 (2010).
52. Dutta P. K., Tripathi S., Mehrotra G. K., Dutta J.:

Food Chem. *114*, 1173 (2009).
53. Rabea E. I., Badawy M. E. T., Stevens C. V., Smagghe G., Steurbaut W.: Biomacromolecules *4*, 1457 (2003).
54. Kumar M., Muzzarelli R. A. A., Muzzarelli C., Sashiwa H., Domb A. J.: Chem. Rev. *104*, 6017 (2004).
55. Illum L.: Pharm. Res. *15*, 1326 (1998).
56. Kumar M.: React. Funct. Polym. *46*, 1 (2000).
57. Qiu Y. Z., Zhang N., Kang Q., An Y. H., Wen X. J.: J. Biomed. Mater. Res., Part B *90B*, 668 (2009).
58. Zhu A. P., Ming Z., Jian S.: Appl. Surf. Sci. *241*, 485 (2005).
59. Zhu C. H., Fan D. D., Duan Z. Z., Xue W. J., Shang L. A., Chen F. L., Luo Y. E.: J. Biomed. Mater. Res., Part A *89A*, 829 (2009).
60. Jancar J., Slovikova A., Amler E., Krupa P., Kecova H., Planka L., Gal P., Necas A.: Physiol. Res. *56*, S17 (2007).
61. Kogan G., Soltes L., Stern R., Gemeiner P.: Biotechnol. Lett. *29*, 17 (2007).
62. Manuskiatti W., Maibach H. I.: Int. J. Dermatol. *35*, 539 (1996).
63. Oh E. J., Park K., Kim K. S., Kim J., Yang J. A., Kong J. H., Lee M. Y., Hoffman A. S., Hahn S. K.: J. Controlled Release *141*, 2 (2010).
64. Price R. D., Berry M. G., Navsaria H. A.: J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg. *60*, 1110 (2007).
65. Arrigoni C., Chitto A., Mantero S., Remuzzi A.: Biotechnol. Bioeng. *100*, 988 (2008).
66. Chuang T. W., Masters K. S.: Biomaterials *30*, 5341 (2009).
67. Ibrahim S., Ramamurthi A.: J. Tissue Eng. Regener. Med. *2*, 22 (2008).
68. Remuzzi A., Mantero S., Colombo M., Morigi M., Binda E., Camozzi D., Imberti B.: Tissue Eng. *10*, 699 (2004).
69. Xu F., Nacker J. C., Crone W. C., Masters K. S.: Biomaterials *29*, 150 (2008).
70. Woolfson D. N., Ryadnov M. G.: Curr. Opin. Chem. Biol. *10*, 559 (2006).
71. Gauba V., Hartgerink J. D.: J. Am. Chem. Soc. *129*, 2683 (2007).
72. Koide T., Homma D. L., Asada S., Kitagawa K.: Bioorg. Med. Chem. Lett. *15*, 5230 (2005).
73. Kotch F. W., Raines R. T.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. *103*, 3028 (2006).
74. Paramonov S. E., Jun H. W., Hartgerink J. D.: J. Am. Chem. Soc. *128*, 7291 (2006).
75. Daamen W. F., Veerkamp J. H., van Hest J. C. M., van Kuppevelt T. H.: Biomaterials *28*, 4378 (2007).
76. Bellingham C. M., Lillie M. A., Gosline J. M., Wright G. M., Starcher B. C., Bailey A. J., Woodhouse K. A., Keeley F. W.: Biopolymers *70*, 445 (2003).
77. Miao M., Cirulis J. T., Lee S., Keeley F. W.: Biochemistry *44*, 14367 (2005).
78. Vieth S., Bellingham C. M., Keeley E. W., Hodge S. M., Rousseau D.: Biopolymers *85*, 199 (2007).
79. Antosova Z., Mackova M., Kral V., Macek T.: Trends Biotechnol. *27*, 628 (2009).
80. J. Gajdziok, D. Vetchý: Chem. Listy *106*, 632 (2012).
81. D. Petráš, D. Kimmer, K. Soukup, P. Klusoň: Chem. Listy *103*, 1009 (2009).

O. Zítka[a], P. Šobrová[a], V. Adam[a], J. Hubálek[b], I. Provazník[c], V. Žížková[a], and R. Kizek[a] *([a] Department of Chemistry and Biochemistry, Faculty of Agronomy, Mendel University, Brno, [b] Department of Microelectronics, [c] Department of Biomedical Engineering, Faculty of Electrical Engineering and Communication, University of Technology, Brno):* **Nanotechnology for More Efficient Blood Vessel Replacements**

The application of nanotechnology in tissue engineering is an emerging and rapidly growing area of research. The advances of nanotechnology can bring additional functionality to vascular scaffolds and optimize internal vascular graft surface. Metals and their salts are used for their antibacterial effects, Ag(I) and Cu(II) ions ranking among the most studied ones. Recently antibacterial effects of Pt, Pd and Rh have also been demostrated. Natural polymers are also suitable for modification and improvement of the properties of vascular grafts, chitosan and hyaluronic acid being their main representatives. In addition to antimicrobial effects they support cells endothelisation and increase vascular permeability.