

Název projektu: **Vývoj a testování funkcionalizované nanovláknenné matrice pro studium onemocnění myokardu**

Program: Institucionální program pro veřejné vysoké školy pro rok 2016

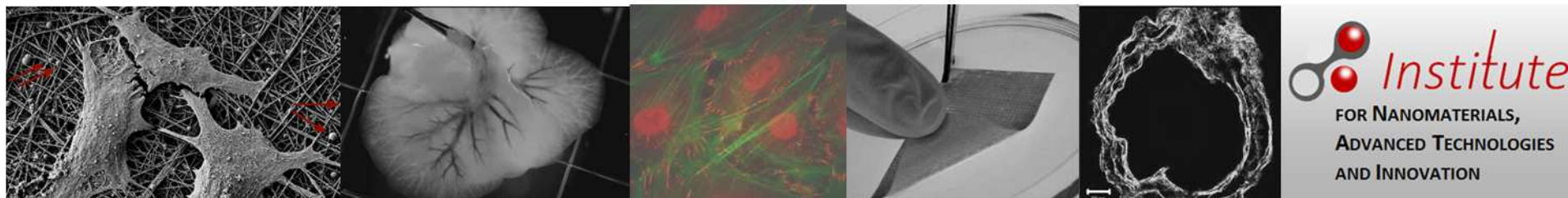
Poskytovatel: Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy

Hlavní řešitel: Ing. Dagmar Poláková

Řešitelský tým: Ing. Hana Tománková, MSc. (TUL)

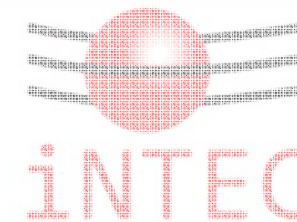
Ing. Miroslava Rysová (TUL)

PharmDr. Vladimír Farár, Ph.D. (UK)





Cíle projektu: Vytvoření vhodného nosiče léčiv pro oblast myokardu, jeho funkcionalizace a testování *in vitro* a *in vivo*

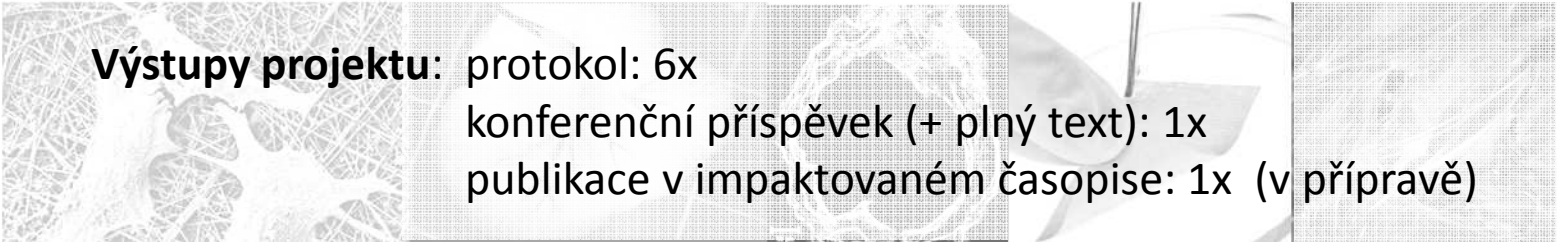


Hlavním cílem projektu byl vývoj a testování nanovláknenného nosiče na proteinové bázi sloužícího jako substrát pro regeneraci myokardu a zároveň umožňujícího uvolňování relevantního léčiva (β -blokátoru) *in situ*. β -blokátor v tomto případě účinkuje jako inhibitor adrenergických receptorů a snižuje krevní tlak.

Do realizace projektu byly zapojeny výzkumné kapacity TUL a 1. LF UK.

Postup řešení projektu:

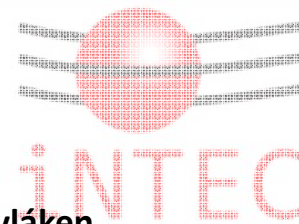
- 1) Vývoj a optimalizace nanovláknenného substrátu na bázi silk fibroinu (SF)
 - zvlákňování, síťování, charakterizace substrátu;
- 2) Funkcionalizace nanovláknenného substrátu léčivem
 - kinetika sorpce β -blokátor Atenolol, kvantifikace;
- 3) Charakterizace substrátu a léčiva při podmínkách *in vitro*
 - kinetika degradace v závislosti na míře a metodě síťování,
 - biokompatibilita SF nanovláken vůči kardiomyoblastům (H9C2),
 - Dose-dependent biokompatibilita β -blokátoru vůči H9C2 (dif./nedif.);
- 4) Příprava testů *in vivo*
 - vliv uvolňování β -blokátoru *in situ* (myokard) na vitální funkce zvířete,
 - vliv β -blokátoru *in situ* na lokalizaci a denzitu zapojených receptorů (histologie, elektroforetická imunoanalýza (western blot)).



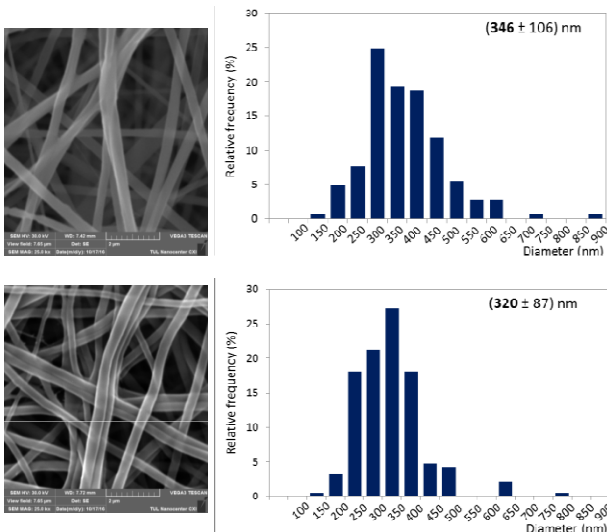
Výstupy projektu: protokol: 6x
konferenční příspěvek (+ plný text): 1x
publikace v impaktovaném časopise: 1x (v přípravě)



Výběr jednotlivých výsledků projektu



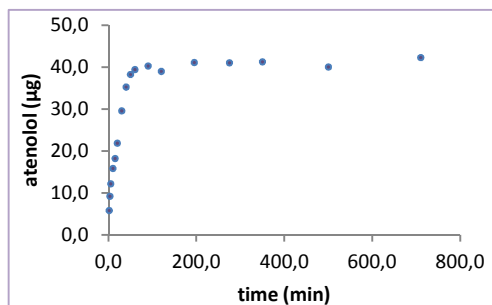
Příprava, síťování a stabilizace SF nanovláken



- ✓ *Připravena nanovláknna na bázi přírodního a medicínsky přijatelného proteinu silk fibroin*
- ✓ *Přenos technologie z laboratorního měřítka na zařízení Nanospider*
- ✓ *Úspěšné dosažení různého stupně síťování*

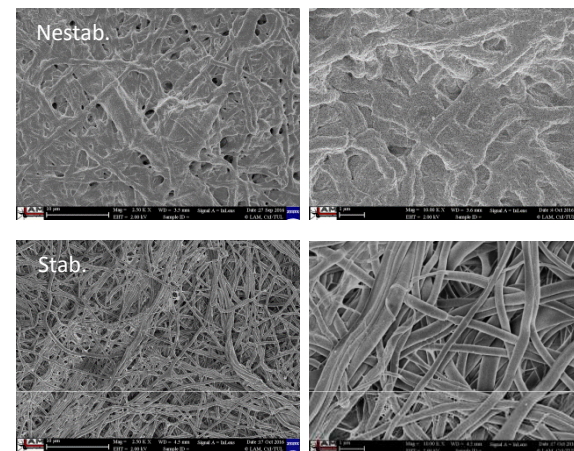
Funkcionalizace β -blokátozem (imobilizace a kinetika uvolňování)

typ NVL vzorku	ATENOLOL $\mu\text{g}/\text{cm}^2$
chitosan	28
SF	42
SF/PCL (10)	7
SF/PCL (15)	3



- ✓ *Úspěšná funkcionalizace SF nanovláken β -blokátozem Atenolol*
- ✓ *Ověřena kinetika jeho uvolňování při podmínkách in vitro*

Degradace nanovláken in vitro při simulovaných podmínkách



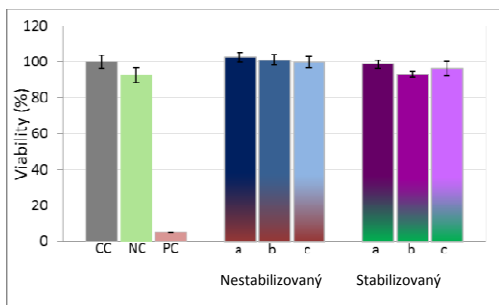
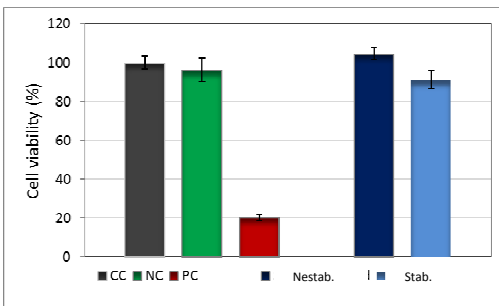
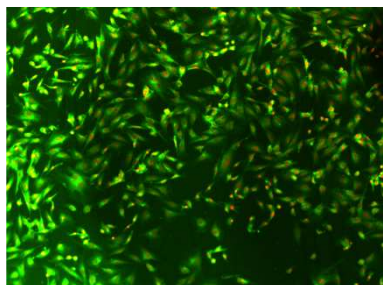
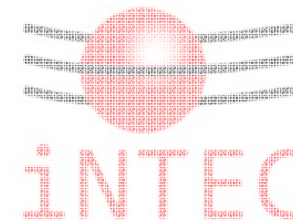
Degradace 72 hodin v SBF.

- ✓ *Potvrzena biodegradabilita substrátu v závislosti na metodě a míře síťování – řízené uvolňování proteinové matrice*
- ✓ *Potvrzen vliv míry síťování na kinetiku imobilizace léčiva a sorpční kapacitu*

Výběr jednotlivých výsledků projektu

Biokompatibilita *in vitro*

Testy *in vivo* - Příprava



Buňky H9C2 ve formě nediferenciovaných myoblastů a diferenciovaných myotub. Výsledky biokompatibilitě SF nanovláken vůči H9C2 v přímém kontaktu a v různých koncentracích eluátu.

- ✓ Prokázána biokompatibilita SF nanovláken vůči buňkám myokardu v kontaktu a v koncentracích SF 0.5 – 2 ul/ml. Prokázán pozitivní vliv uvolňovaného proteinu na buňky myokardu.
- ✓ Prokázána biokompatibilita β -blokátoru Atenolol v koncentracích 1 pg – 100 ug/ml u nedif. i diferenciovaných buněk.
- ✓ Potvrzen minimální efekt Atenololu na mitochondriální metabolickou aktivitu buněk.

- ✓ studium tkáňové distribuce Atenololu jako β -AR neselektivního antagonisty pomocí radionuklidového značení
- ✓ stanovení množství a afinity β -AR ve vzorcích pomocí saturačních vazebných experimentů a porovnání vazby β 1-AR/ β 2-AR v plazmatických membránách vzorků ovlivněných aplikací nanovláčenného substrátu s Atenololem kontrolních vzorků myokardu za pomoci specifického radioligandu [3 H] CGP 12177
- ✓ SDS PAGE/Western Blot imunoanalýza ke studiu exprese receptorů (β -AR i MR): lokalizace na plazmatické membráně nebo internalizace v cytosolu



Shrnutí

Projekt IP 2016 pod názvem „Vývoj a testování funkcionalizované nanovlákněné matrice pro studium onemocnění myokardu“ řešený ve spolupráci s Fyziologickým ústavem 1. LF UK byl úspěšně řešen.

Vzhledem ke změnám v harmonogramu řešení projektu, proběhnou testy in vivo realizované na UK v prvním čtvrtletí 2017.

Současná úroveň řešení projektu: **90%**

Po dokončení testů in vivo se předpokládá odeslání publikace do impaktovaného časopisu a další pokračování spolupráce s 1. LF UK na tomto tématu.

Děkujeme za pozornost a podporu tohoto projektu!

