

## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-14-0858****Materiály a procesy pre funkčnú enkapsuláciu pankreatických ostrovčiek v liečbe diabetu**Zodpovedný riešiteľ **Ing. Igor Lacík, PhD., DrSc.**Príjemca **Ústav polymérov SAV**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav polymérov SAV

### Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

CellTrans, Inc., Chicago, IL, USA

University of Virginia, Charlottesville, VA, USA

Ústav makromolekulárnej chémie Akadémie vied ČR, v.v.i., Praha, Česká Republika

Norwegian University of Science and Technology Trondheim, Nórsko

### Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo užitočné vzory, ktoré sú výsledkami projektu

Neboli, v súčasnosti sa zvažuje možnosť patentovania niektorých výstupov projektu

### Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

Selektované publikácie:

KASÁK, P. - MOSNÁČEK, J. - DANKO, M. - KRUPA, I. - HLOUŠKOVÁ, G. - CHORVÁT, D. Jr. - KOUKAKI, M. - KARAMANOU, S. - ECONOMOU, A. - LACÍK, I.\* A polysulfobetaine hydrogel for immobilization of a glucose-binding protein. In RSC Advances, 2016, vol. 6, p. 83890-83900. (3.289 - IF2015). ISSN 2046-2069.

LACÍK, I.\* - CHOVANCOVÁ, A. - UHELKÁ, L. - PREUSSER, C. - HUTCHINSON, R. A. - BUBACK, M. PLP-SEC studies into the propagation rate coefficient of acrylamide radical polymerization in aqueous solution. In Macromolecules, 2016, vol. 49, p. 3244-3253. (5.554 - IF2015). ISSN 0024-9297.

TAKÁČOVÁ, M. - HLOUŠKOVÁ, G. - ZAŤOVIČOVÁ, Miriam - BENEJ, Martin - SEDLÁKOVÁ, Oľga - KOPÁČEK, Juraj - PASTOREK, Jaromír - LACÍK, Igor\* - PASTOREKOVÁ, Silvia\*. Encapsulation of anti-carbonic anhydrase IX antibody in hydrogel microspheres for tumor targeting. In European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2016, vol.31, no.1, p. 110-118 (3.773 - IF2015).

KRAJČOVIČ, Tomáš - BUČKO, Marek - VIKARTOVSKÁ, Alica, Welwardová - LACÍK, Igor - UHELKÁ, Lucia - CHORVÁT, Dušan - NEDĚLA, Vilém - TIHLAŘÍKOVÁ, Eva - GERICKE, Martin - HEINZE, Thomas - GEMEINER, Peter. Polyelectrolyte complex beads by novel two-step process for improved performance of viable whole-cell Bayeyer-Villiger monooxygenase by immobilization. In CATALYSTS, 2017, vol. 7, art.no. 353. (3.082 -

IF2016). (2017 - Current Contents). ISSN 2073-4344  
SOBOLČIAK, Patrik - POPELKA, Anton - MIČUŠÍK, Matej - SLÁVIKOVÁ, Monika - KRUPA, Igor - MOSNÁČEK, Jaroslav - TKÁČ, Ján - LACÍK, Igor - KASÁK, Peter.  
Photoimmobilization of zwitterionic polymers on surfaces to reduce cell adhesion. In *Journal of Colloid and Interface Science*, 2017, vol. 500, p. 294-303. (4.233 - IF2016). (2017 - Current Contents). ISSN 0021-9797.  
GRAVASTRAND, Caroline - HAMAD, Shamal - FURE, Hilde - STEINKJER, Bjorg - RYAN, Liv - OBERHOLZER, Jose - LAMBRIS, John D. - LACÍK, Igor - MOLLNES, Tom Eirik - ESPEVIK, Terje - BREKKE, Ole-Lars - ROKSTAD, Anne Mari. Alginate microbeads are coagulation compatible, while alginate microcapsules activate coagulation secondary to complement or directly through FXII. In *Acta biomaterialia*, 2017, vol. 58, p. 158-167. (6.319 - IF2016). ISSN 1742-7061.  
KRONEKOVÁ, Zuzana - PELACH, Michal - MAZANCOVÁ, Petra - UHELSKÁ, Lucia - TREĽOVÁ, Dušana - RÁZGA, Filip - NÉMETHOVÁ, Veronika - SZALAI, Szabolcs - CHORVÁT, Dušan Jr. - MCGARRIGLE, James J. - OMAMI, Mustafa - ISA, Douglas - GHANI, Sofia - MAJKOVÁ, Eva - OBERHOLZER, José - RAUS, Vladimír - ŠIFFALOVIC, Peter\* - LACÍK, Igor\*. Structural changes in alginate-based microspheres exposed to in vivo environment as revealed by confocal Raman microscopy. In *Scientific Reports*, 2018, vol. 8, art. no. 1637. (4.122 - IF2017). ISSN 2045-2322.  
SALGARELLA, Alice Rita - ZAHORANOVÁ, Anna - ŠRÁMKOVÁ, Petra - MAJERČÍKOVÁ, Monika - PAVLOVA, Ewa - LUXENHOFER, Robert - KRONEK, Juraj - LACÍK, Igor - RICOTTI, Leonardo\*. Investigation of drug release modulation from poly(2-oxazoline) micelles through ultrasound. In *Scientific Reports*, 2018, vol. 8, art. no. 9893. (4.122 - IF2017). ISSN 2045-2322.  
BOCHENEK, Matthew A. - VEISEH, Omid - VEGAS, Arturo J. - MCGARRIGLE, James J. - QI, Meirigeng - MARCHESI, Enza - OMAMI, Mustafa - DOLOFF, Joshua C. - MENDOZA-ELIAS, Joshua - NOURMOHAMMADZADEH, Mohammad - KHAN, Arshad - YEH, Chuh-Chieh - XING, Yuan - ISA, Douglas - GHANI, Sofia - LI, Jie - LANDRY, Casey - BADER, Andrew R. - OLEJNIK, Karsten - CHEN, Michael - HOLLISTER-LOCK, Jennifer - WANG, Yong - GREINER, Dale L. - WEIR, Gordon C. - STRAND, Berit Lokensgard - ROKSTAD, Anne Mari A. - LACÍK, Igor - LANGER, Robert - ANDERSON, Daniel G. - OBERHOLZER, Jose. Alginate encapsulation as long-term immune protection of allogeneic pancreatic islet cell transplanted into the omental bursa of macaques. In *Nature biomedical engineering*, 2018, vol. 2, no. 11, p. 810-821. ISSN 2157-846X  
BITAR, C. M.E. - MARKWICK, K. E. - TREĽOVÁ, D. - KRONEKOVÁ, Z. - PELACH, M. - SELERIERA, C.M.O. - DIETRICH, J. - LACÍK, I. - HOESLI, C.A. Development of a microchannel emulsification process for pancreatic beta cell encapsulation. In *Biotechnology Progress*, May 26:e2851. doi: 10.1002/btpr.2851. [Epub ahead of print] (2.406 - IF2018)  
Selektované prednášky pre odbornú verejnosť:  
LACÍK I. Microcapsules for immunoprotection of transplanted islets of Langerhans. 79th Prague Meeting on Macromolecules; Functional polymers at bio-material interfaces 2015, 28 June – 02 July, Prague, Czech Republic, Book of Abstracts, p. 30, pozvaná prednáška  
TREĽOVÁ, Dušana - RÁZGA, Filip - KRONEKOVÁ, Zuzana - NÉMETHOVÁ, Veronika - UHELSKÁ, Lucia - RAUS, Vladimír - MAZANCOVÁ, Petra - FRAŇO, Milan - HEYDARI, Abolfazl - KLEŠČÍKOVÁ, Lucia - ROKSTAD, Anne Mari - MARCHESI, Enza - MCGARRIGLE, James - OBERHOLZER, José - LACÍK, Igor. Polyelectrolyte microcapsules: A bridge to improved diabetes treatment. In *DVSPM 2017 : Danube Vltava Sava Polymer Meeting : book of abstracts*. - Vienna, Austria: Institute of Applied Synthetic Chemistry TU Wien, 2017, abstract no. IL-21. ISBN 978-3-9504017-6-9. (Pozvaná prednáška IL)  
TREĽOVÁ, D. - RÁZGA, F. - KRONEKOVÁ, Z. - PELACH, M. - NÉMETHOVÁ, V. - RAUS, V. - MAZANCOVÁ, P. - UHELSKÁ, L. - KLEŠČÍKOVÁ, L. - HEYDARI, A. - ŠIFFALOVIC, P. - MAJKOVA, E. - ROKSTAD, A. M. - MCGARRIGLE, J. - OBERHOLZER, J. - LACÍK, I. Encapsulated pancreatic islets: the next generation diabetes treatment. "Smart Specialization Strategy in the Field of Biotechnologies in Europe: A Challenge for CEE Region", Bratislava, Sept 4 – 6 2017 (Pozv. prednáška: IL)  
LACÍK, Igor. Hydrogel microspheres for cell encapsulation in next generation diabetes treatment. In *ISPCS '18 : XXI International Seminar on Physics and Chemistry of Solids and advanced materials : abstract book*. - Czestochowa, Poland: Jan Dlugosz University in Czestochowa, 2018, p. 22. ISBN 978-83-7455-574-6 (pozvaná prednáška)

KRONEKOVÁ, Zuzana. Confocal laser scanning and Raman spectroscopy. In Cell & Drug Encapsulation : 10th Training School on Microencapsulation : proceedings. - Trondheim, Norway : Bioencapsulation Research Group & Norwegian University of Science and Technology, 2018, p. 68-75 (pozvaná prednáška)

LACÍK, Igor. Microcapsule physico-chemical characterization. In Cell & Drug Encapsulation : 10th Training School on Microencapsulation : proceedings. - Trondheim, Norway : Bioencapsulation Research Group & Norwegian University of Science and Technology, 2018, p. 58-66 (pozvaná prednáška)

Selektované prednášky pre laickú verejnosť a iné popularizačné aktivity:

LACÍK I. Polymérne mikrokapsuly a liečba cukrovky. Vedecká kaviareň CVTI, 25.2.2016, prednáška

LACÍK I. Prednáška pre združenie diabetikov Diador, Primaciálny palác, Bratislava, 28.11.2016, <https://youtu.be/DFIYItUCEvQ>

LACÍK, I. Enkapsulované pankreatické ostrovčeky: možnosť zlepšenia kontroly hladiny cukru Odborný workshop Inovatívne spôsoby edukácie rodičov a detí s ochorením diabetes mellitus I. typu, 12.10.2018, Fakulta zdravotníckych odborov PU v Prešove, Prešov, pozvaná prednáška

LACÍK, I. Cukrovka a enkapsulované pankreatické ostrovčeky. Neformálne stretnutie s deťmi diabetikmi a ich rodičmi z Kysúc a Žiliny. Vrátna dolina, 16.-17.6.2018, Slovensko

KRONEKOVÁ, Z. – KRONEK, J. Biomateriálový výskum napreduje milovými krokmi. In VEDA NA DOSAH, 18. jún 2018, dostupné na internete, <http://vedanadosah.cvtisr.sk/biomaterialovy-vyskum-napreduje-milovymi-krokmi>.

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Naše aktivity sú dlhodobo zamerané na definovaný cieľ, ktorým je zásadný príspevok k poznatkom týkajúcich sa alternatívnej možnosti liečby cukrovky typu 1. Touto možnosťou je kontrola hladiny cukru pomocou transplantovaných pankreatických ostrovčiek, ktoré sú chránené pred napadnutím a zničením imunitným systémom enkapsuláciou v hydrogélových mikrokapsulách.

V súčasnosti sa transplantácia ostrovčiek používa ako prostriedok pre liečbu diabetu u vybraných skupín diabetických pacientov, ako sú pacienti s častým výskytom hypoglykémie alebo s predchádzajúcou transplantáciou obličky. Tu je potrebné podávať imunosupresívne liečivá, aby sa zabránilo odmietnutiu transplantovaných ostrovčiek, čo je spojené s rizikom vedľajších účinkov. Transplantované ostrovčeky však jednoznačne predstavujú významný prínos pacientom v podobe normálnej hladiny glukózy v krvi, ochrany pred hyper a hypoglykémiou, a absenciou mikrovaskulárnych komplikácií. Liečba diabetu transplantovanými ostrovčkami je tak považovaná za výhodnú možnosť kontroly hladiny cukru s následným zlepšením zdravotných podmienok a kvality života diabetických pacientov.

Princíp transplantácie enkapsulovaných ostrovčiek poskytuje kontrolu hladiny cukru a nevyžaduje podávanie imunosupresívnych liečiv. V prípade zavedenia tejto terapie sa sprístupní liečba cukrovky enkapsulovanými ostrovčkami aj rizikovým skupinám z pohľadu imunosupresie, napr. deťom trpiacim cukrovkou typu 1 a iným diabetickým pacientom, ktorí nemôžu tolerovať režim imunosupresie.

Výsledky projektu budú uplatnené v rôznych smeroch. V prvom rade predstavujú posun v poznaní ohľadne vývoja multikomponentných tzv. PMCG mikrokapsúl, ktoré boli hlavným predmetom štúdia projektu. Získané skúsenosti budú ďalej využité pre následnú prácu s týmito mikrokapsulami s cieľom získať kritické výsledky v predklinickom modeli primátov a v pochopení mechanizmu tvorby mikrokapsúl pre pochopenie vzťahu medzi vlastnosťami mikrokapsúl a in vivo funkčnosťou enkapsulovaných ostrovčiek. V druhom rade výsledky projektu týkajúce sa procesu enkapsulácie a charakterizácie hydrogélových mikrokapsúl majú všeobecnú platnosť pre globálnu enkapsulačnú komunitu. Tieto výsledky projektu budú diseminované vo vedeckej komunite prostredníctvom vedeckých článkov, prezentácií a tiež verejnosti, ktorej sa cukrovka nejakým spôsobom dotýka. Tieto výsledky budú slúžiť ako podklad pre získanie pokračujúcich projektov financovaných z národných (APVV, Ministerstvo zdravotníctva SR) a medzinárodných (spolupráca v rámci najmä Juvenile Diabetes Research Foundation, EU projekty, kontrakty) zdrojov. Sme presvedčení, že výsledky projektu predstavujú plánovaný príspevok k posunu tejto terapie bližšie ku klinike.

## **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)**

Cieľom projektu bolo prispieť k súčasným poznatkom v téme liečby cukrovky typu 1 pomocou enkapsulovaných transplantovaných ostrovčekov. Našou celkovou snahou je poskytnúť enkapsulačnej komunite a diabetickým pacientom polymérne mikrokapsule, ktoré majú šancu byť úspešne klinicky testované. Multikomponentný charakter PMCG mikrokapsúl predstavuje na jednej strane komplexný systém, avšak na druhej strane nám dáva možnosť optimalizácie vlastností mikrokapsúl vzhľadom na to, ako sa správajú v in vivo prostredí. Výsledky získané v rámci projektu poukazujú na to, že ciele projektu boli splnené v plánovanej miere. Hlavné výsledky je možné zhrnúť nasledovne:

- (1) Nová generácia PMCG mikrokapsúl bola postavená na nami syntetizovanými polymérmi PMCG a SCS a selektovanom vysokočistom SA po zistení, že donedávna používané komerčné polyméry nemajú konštantné vlastnosti.
- (2) Využili sme flexibilitu v príprave PMCG mikrokapsúl testovaním rôznych podmienok procesu prípravy, pričom sa nám podarilo identifikovať niektoré kľúčové parametre procesu na vlastnosti mikrokapsúl a ich in vivo fungovanie. Zdokonalili sme trysku na prípravu kvapiek a reaktora na prípravu mikrokapsúl smerom k potlačeniu vplyvu operátora.
- (3) Zaviedli sme súbor fyzikálno-chemických techník pre charakterizáciu mikrokapsúl, ktorý je využívaný pre naše oddelenie a tiež v spolupráci pre mnoho iných pracovísk vo svete.
- (4) Vyvinuté PMCG mikrokapsuly nestimulujú komplement a neindukujú produkciu cytokínov na rozdiel od mikrokapsúl tvorených komerčnými polymérmi.
- (5) Nová generácia PMCG mikrokapsúl vykazuje vysokú biokompatibilitu v imunokompetentných C57BL/6 myšiach, ktoré sú považované za najkritickejší myšší model z pohľadu fibrotického obrastania. Táto biokompatibilita zaručuje aj dlhodobé fungovanie enkapsulovaných ľudských ostrovčekov v diabetických myšiach. Tieto výsledky kvalifikujú PMCG mikrokapsulu na testovanie v predklinickom modeli primátov. Výsledky z posledného obdobia poukazujú na to, že nie je priamy súvis medzi úspešnými experimentami v myšiach a v makakoch, u ktorých pozorujeme nestabilitu resp. obrastanie fibrotickým tkanivom. Riešenie tohto problému bude súčasťou pokračujúcich aktivít.
- (6) Tento projekt nám poskytol možnosť naďalej budovať zmysluplnú domácu a zahraničnú spoluprácu s akademickými pracoviskami, medzinárodnými konzorciami, ako aj vytvorenia kontaktov s firmami aktívnymi vo vývoji komerčných enkapsulačných systémov.
- (7) Výsledky projektu boli prezentované odbornej aj laickej verejnosti, ktoré sa týkajú (i) všeobecne poznatkov o polymérnych biomateriáloch, (ii) poznatkov súvisiacich s prípravou a charakterizáciou polymérnych materiálov pre biomateriály zahrňujúce aj mikrokapsuly, (iii) prípravy a charakterizácie mikrokapsúl, (iv) stratégie enkapsulačného procesu, (v) testovania mikrokapsúl v in vivo prostredí.

## **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)**

The goal of the project was to contribute to the current knowledge related to the topic of diabetes type 1 treatment by transplantation of encapsulated islets. Our ultimate aim is to provide to the encapsulation community and diabetic patients the polymeric microcapsules with the high probability for successful clinical testing. The multicomponent character of PMCG microcapsules represents a difficult system. On the other hand, it affords the possibility to optimize the microcapsule properties in correlation with the in vivo performance. The obtained results declare that project goals were fulfilled as planned. The main results can be summarized as follows:

- (1) The new generation of PMCG microcapsules is based on newly synthesized PMCG and SCS polymers and selected ultrapure SA. This step was done after realizing that the commercial polymers used until recently do not exhibit constant properties.
- (2) We utilized the high flexibility in the preparation of PMCG microcapsules by testing various conditions of the encapsulation process. We could identify several key parameters determining the properties of microcapsules and their in vivo performance. We optimized the nozzle for droplet production as well as the multi-loop reactor for microcapsule manufacturing in order to enhance the user-friendliness of the encapsulation process.
- (3) The set of physico-chemical characterization techniques was introduced, which is routinely used for our department as well as, in cooperation, for other teams around the world.

- (4) Developed PMCG microcapsules do not stimulate complement and do not induce production of cytokines unlike the PMCG microcapsules based on commercial polymers.
- (5) A new generation of PMCG microcapsules exhibits high biocompatibility in the immunocompetent C57BL/6 mice, which are considered as the most critical mouse model in terms of the fibrotic overgrowth. This biocompatibility makes possible that encapsulated human islets normalize the blood glucose levels in diabetic mice. These results qualify PMCG microcapsules for testing in the primate preclinical models. Recent results show that there is no direct correlation between successful experiments in mice and cynomolgus monkeys, since the microcapsule instability and fibrotic overgrowth are observed in this monkey model. The solution to this problem is to be identified in our future studies.
- (6) This project enabled us to further establish the network with national and international academic collaborators, international consortia as well as to create contacts with the commercial institutions that are active in the design of encapsulation systems.
- (7) The project results were disseminated to professional and lay public, and relate to (i) the knowledge on polymeric biomaterials in general, (ii) the knowledge corresponding to preparation and characterization of polymeric biomaterials, including microcapsules, (iii) preparation and characterization of microcapsules, (iv) strategy of encapsulation process, and (v) testing of microcapsules in vivo.