

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0111****Vývoj a komplexná charakterizácia biosyntetických tubulárnych 3D-extracelulárnych matric (skafoldov) ako substituentov poškodenej ľudskej močovej rúry**Zodpovedný riešiteľ **MUDr. Stanislav Žiaran, PhD., MPH**Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave - Lekárska fakulta****Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený**Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave
ICARST, n.o.
Technická univerzita v Košiciach - Strojnícka fakulta**Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení**Department of Chemistry and Industrial Chemistry, University of Pisa, UdR INSTM Pisa,
Pisa, I-56124, Italy**Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu**

-

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

1. Braccini S, Pecorini G, Chiellini F, Bakos D, Miertus S, Frecer V. Adhesion of fibroblast cells on thin films representing surfaces of polymeric scaffolds of human urethra rationalized by molecular models of integrin binding cell adhesion on polymeric scaffolds for regenerative medicine. J Biotechnol. 2020 Dec 20;324:233-238. doi: 10.1016/j.jbiotec.2020.11.001.
2. Culenova M, Bakos D, Ziaran S, Bodnarova S, Varga I, Danisovic L. Bioengineered Scaffolds as Substitutes for Grafts for Urethra Reconstruction. Materials (Basel). 2019 Oct 22;12(20):3449. doi: 10.3390/ma12203449.
3. Culenova M, Ziaran S, Danisovic L. Cells Involved in Urethral Tissue Engineering: Systematic Review. Cell Transplant. 2019 Sep-Oct;28(9-10):1106-1115. doi: 10.1177/0963689719854363.
4. Kollar J, Morreli A, Chieliny F, Miertus S, Bakos D, Frecer V. Epithelial cell adhesion on films mimicking surface of polymeric scaffolds of artificial urethra compared to molecular modeling of integrin binding. Journal of Bioactive and Compatible Polymers. 2019. doi: 10.1177/0883911519843309.
5. Findrik Balogová A, Hudák R, Tóth T, Schnitzer M, Feranc J, Bakoš D, Živčák J. Determination of geometrical and viscoelastic properties of PLA/PHB samples made by additive manufacturing for urethral substitution. J Biotechnol. 2018 Oct 20;284:123-130. doi: 10.1016/j.jbiotec.2018.08.019.
6. Žiaran S, Galambošová M, Danišovič L. Tissue engineering of urethra: Systematic review

Uplatnenie výsledkov projektu

Získané výsledky sa uplatnia v rámci tkanivového inžinierstva a regeneratívnej medicíny, pri príprave arteficiálnych náhrad uretry. Po vykonaní ďalších testov, najmä na úrovni animálnych modelov predpokladáme transláciu výsledkov do klinickej praxe.

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

Vykonala sa komplexná in vitro charakterizácia originálnej materiálovej zmesi na báze PLA/PHB/TPS v kontexte jeho využitia v tkanivovom inžinierstve a regeneratívnej medicíny. Na základe MTT testu a testu kontaktnej cytotoxicity sa vyseletovali netoxické plastifikátory a najoptimálnejšie vzorky zmesí v kontexte proliferácie buniek (vzorky 64,67,68,70,71). Vybrané zmesi boli následne aplikované na 3D tlač planárnych a tubulárnych skafoldov. Analýza vytlačených skafoldov pomocou SEM odhalila vysoko poréznu morfológiu skafoldov. Vzorky boli schopné absorbovať vodu a taktiež sa nám podarila úspešná kolonizácia ich povrchu bunkami, ktorá vedie k možným aplikáciám na in vivo modeli. V rámci projektu boli realizované mechanické ťahové a tlakové skúšky bioaditívne vyrobených vzoriek z originálneho materiálu PLA/PHB/TPS za účelom zistenia odolnosti implantátu pri rôznych pomeroch citrátového zmäkčovadla TAC. Zistilo sa, že s pribúdajúcim množstvom zmäkčovadla klesá pevnosť a krehkosť materiálu a zvyšuje sa jeho plasticita a húževnatosť. Vzorky bez zmäkčovadla boli odolnejšie voči tlaku a to vo všetkých druhoch roztokov ako vzorky z materiálu s prítomnosťou triacetínu. V rámci testovania resorpcie boli bioaditívne vyrobené vzorky podrobené štúdiu na biodegradáciu materiálu. Boli sledované zmeny v absorpcii vzoriek, morfologické zmeny v štruktúre vzoriek a boli sledované aj mechanické vlastnosti pomocou mechanickej skúšky v tlaku. V experimente sa zistilo, že poréznosť vzoriek má vplyv na absorpciu roztokov. Výsledkom je zistenie, že aj keď vzorky bez zmäkčovadla mali vyššie hodnoty absorpcie roztoku, nedochádzalo u nich k tvorbe kryš a bublín a hodnoty pH roztoku, v ktorých sa materiál nachádzal boli počas celej doby experimentu v neutrálnych hodnotách, teda materiál neznižoval hodnoty pH do alkalického oblasti ako pri roztokoch so zmäkčovadlom. V rámci experimentu došlo pri plných vzorkách z materiálu PLA/PHB 0TAC, ktoré boli vo fyziologickom roztoku a pri plných vzorkách z materiálu PLA/PHB 10TAC, ktoré boli v roztoku PBS, k tvorbe kryš a bublín. Pri týchto typoch vzoriek v daných rozpúšťadlách možno hovoriť o najväčšej miere degradácie. Okrem toho sa experimentálne sledovala adhézia a proliferácia epiteliálnych buniek a fibroblastov na tenkých filmoch vytvorených z biodegradovateľných polymérov PLA, PHB, PDO, PGA HA, amylozy a kolagénu ako aj ich (1:1) zmesí. Pozorovania sa porovnávali s vypočítanými interakčnými energiami získanými z molekulového modelovania naviazania membránového proteínu integrínu na modelové polymérne povrchy. Experimenty aj počítačové modely ukázali, že bunky sa lepšie prichytávajú a rastú na povrchoch obsahujúcich amylozu a PHB.

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

A comprehensive in vitro characterization of the original material mixture based on PLA / PHB / TPS in the context of its use in tissue engineering and regenerative medicine was performed. Based on the MTT assay and the contact cytotoxicity assay, non-toxic plasticizers and the most optimal samples of the mixtures in the context of cell proliferation were selected (samples 64,67,68,70,71). Selected mixtures were then applied to 3D printing of planar and tubular scaffolds. Analysis of the extruded scaffolds by SEM revealed a highly porous scaffold morphology. The samples were able to absorb water and we also succeeded in successfully colonizing their surface with cells, leading to possible applications in an in vivo model.

Within the project, mechanical tensile and compressive tests of bioadditively produced samples from original PLA / PHB / TPS material were performed in order to determine the resistance of the implant at different ratios of citrate plasticizer TAC. It has been found that with increasing amount of plasticizer, the strength and brittleness of the material decreases and its plasticity and toughness increases. Samples without plasticizer were more resistant

to pressure in all types of solutions than samples made of material with the presence of triacetin. Changes in the absorption of the samples, morphological changes in the structure of the samples and the mechanical properties were also monitored by means of a mechanical pressure test. In the experiment, it was found that the porosity of the samples affects the absorption of the solutions. As a result, although the plasticizer-free samples had higher solution absorption values, they did not form circles and bubbles and the pH values of the solution in which the material was present were neutral throughout the experiment, so the material did not lower the pH to alkaline areas as for plasticizer solutions. In the experiment, samples of PLA / PHB 0TAC in saline and samples of PLA / PHB 10TAC in PBS formed circles and bubbles. These types of samples in the given solvents have the highest degree of degradation. In addition, the adhesion and proliferation of epithelial cells and fibroblasts on thin films formed from biodegradable polymers PLA, PHB, PDO, PGA HA, amylose and collagen as well as their (1: 1) mixtures were experimentally monitored. The observations were compared with the calculated interaction energies obtained from molecular modeling of integrin membrane protein binding to model polymer surfaces. Experiments and computer models have shown that cells adhere better and grow on surfaces containing amylose and PHB.