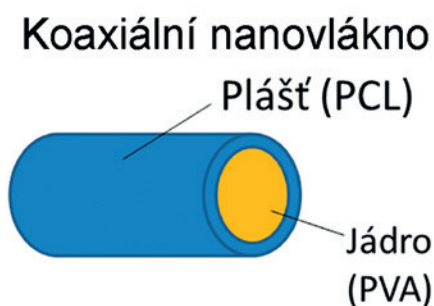


Nanovláknna a mikrovláknna jako nosiče léků a bioaktivních látek

Nanovláknna představují unikátní materiál, který svou strukturou připomíná extracelulární hmotu. Nanovláknennou vrstvou tvoří vlákna s průměrem v rozměrech v desítkách nanometrů až 100 nm. Má veliký poměr povrchu k hmotnosti a obsahují velké množství malých pórů. Náš výzkum se zaměřuje na navazování bioaktivních látek na povrch nebo uzavírání dovnitř nanovláken nebo mikrovláken, která mají průměr v submikronové a mikronové oblasti.

„Projekty Národního programu udržitelnosti I na našem ústavu se zaměřují na buněčnou terapii a nové tkáňové náhrady v regenerativní medicíně a na výzkum interakcí nanomateriálů s buňkami a hodnocení jejich toxicity,“ říká Dr. Eva Filová, vedoucí oddělení tkáňového inženýrství z Ústavu experimentální medicíny Akademie věd České republiky.

Nanovláknna pro tvorbu nosičových systémů je možné připravovat několika technologiemi, mezi nejběžnější patří elektrostatické a odstředivé zvláknňování. Elektrostatické zvláknňování k tvorbě nanovláken využívá elektrických sil a výsledné vrstvy mají spíše 2D strukturu. Naopak při odstředivém zvláknňování (využívá se odstředivé síly) dochází k tvorbě 3D struktur o větší porozitě a s průměry vláken v submikronové a mikronové oblasti. Tyto odlišné morfologické vlastnosti ovlivňují buněčné chování a možnost funkcionalizace vrstev bioaktivními lát-



kami. Při aplikaci léků, proteinů, enzymů či jiných bioaktivních látek je pro jejich účinek velice důležitá dávka, rychlost degradace látek a jejich toxicita. Velký specifický povrch nanovláken umožňuje navázání látek na jejich povrch přímo, nebo pomocí jiné látky, např. fibrinu, což snižuje degradaci a prodlouží jejich účinek.

Ještě většího zpomalení uvolňování je možné dosáhnout uzavřením proteinů do nanovláken nebo mikrovláken v procesu koaxiálního elektrostatického zvláknňová-

ní, který jsme vyvinuli ve spolupráci s Technickou univerzitou v Liberci a Univerzitním centrem energeticky efektivních budov Českého vysokého učení technického v Praze. Uvolňování růstových faktorů nebo enzymů bylo prodlouženo až na 19 dní. Uvedený systém obsahuje ve vodě rozpustný jádrový polymer, např. polyvinylalkohol (PVA), a v organickém rozpouštědle rozpustný plášťový polymer, např. polykaprolakton (PCL). V roztoku PVA nebo jiném vodném roztoku se rozpustí proteiny, léčiva, růstové faktory, které si tak zachovávají svou strukturu a účinek.

Nano- a mikrovláknna s různými bioaktivními látkami vyvíjíme v naší laboratoři pro regeneraci měkkých tkání (kůže, hernie) i tkání tvrdých (chrupavka, kost). Nano- a mikrovláknna jsou připravena z biodegradabilních materiálů, které se v organismu postupně odbourávají a jsou nahrazována vlastní, plně funkční tkání.

Nosiče na bázi nano- a mikrovláken pro regeneraci kůže

Pro aplikace v tkáňovém inženýrství je nezbytné vyvinout vhodný nosič, který jednak slouží jako mechanická opora pro buňky, a jednak obsahuje bioaktivní látky, které požadovaným způsobem modulují jejich chování. Nosiče musí být biokompatibilní a ve většině případů biologicky odbouratelné a měly by mít vlastnosti podobné vlastnostem přirozené mezibuněčné hmoty. Tyto charakteristiky výborně splňují nanovláknna připravená například z polykaprolaktonu. Polykaprolakton je polyester schválený pro klinické aplikace jako šicí materiál i jako materiál pro řízené dodávání léčiv.

Krevní destičky (trombocyty) jsou malé bezjaderné krevní elementy odvozené od megakaryocytů. Jejich hlavní fyziolo-

gický význam spočívá v zástavě krvácení. Ve svých α -granulích však obsahují širokou škálu růstových faktorů a dalších bioaktivních látek, kterými iniciují a podporují proces hojení. Mezi nejvýznamnější bioaktivní látky patří růstové faktory PDGF, VEGF, TGF- β 1 a chemokin RANTES.

Existuje celá škála trombocytárních přípravků, které se mezi sebou liší způsobem přípravy, mechanickými vlastnostmi a obsahem krevních buněk a bioaktivních látek. Mezi hlavní typy přípravků patří plazma bohatá na trombocyty, fibrin bohatý na trombocyty a trombocytární lyzát. Tyto přípravky je možné dále upravovat (např. lyofilizací), čímž se významně prodlouží jejich trvanlivost. Trombocy-

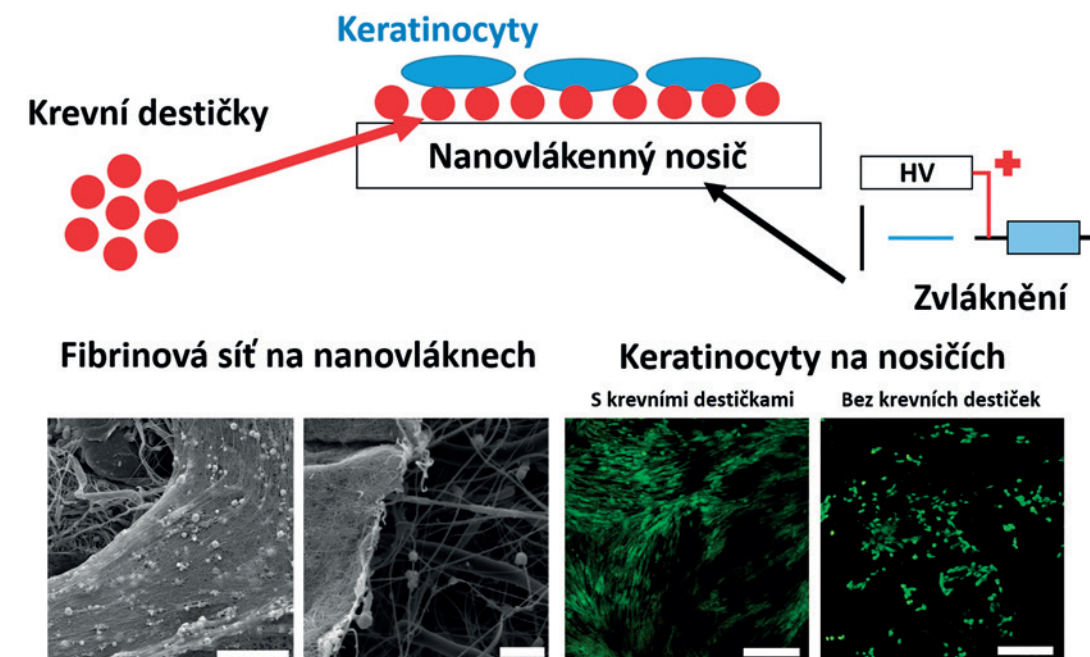
tární produkty jsou využívány v ortopedii pro hojení šlach a defektů chrupavky, v estetické medicíně pro zvýšení tvorby kolagenu a v laboratořích, kde je potřeba standardizovaná kultivace buněk pro klinické aplikace.

Kombinace nanovláknenných nosičů a trombocytárních přípravků je klíčová pro podporu hojení kožních defektů. Trombocytární přípravky mohou být navázány na povrch nanovláknenných nosičů, kde v důsledku své interakce se strukturou nanovláken vytvoří fibrinovou síť. Tato síť slouží jako další rezervoár růstových faktorů a napomáhá jejich postupnému uvolňování po delší časový úsek. Prostým namočením nanovláken do roztoku krevních destiček (např. vlastních

krevních destiček daného pacienta) lze tedy připravit jednoduchý systém, který tělu vlastní růstové faktory dodává až

po dobu 14 dní, což významně prodlužuje dobu jejich účinku v místě defektu. V *in vitro* testech takto připravené nosiče vý-

znamně podporují dělení a aktivitu kožních buněk – fibroblastů, keratinocytů i melanocytů.



Nano- a mikrovláknna s bioaktivními látkami pro hojení kostí

Pro zlepšení hojení kostních defektů byla metodou odstředivého zvláknňování připravena mikrovláknna s 3D strukturou, obsahující β -glycerolfosfát, dexametazon a askorbát-2-fosfát, tedy látky, které stimulují tvorbu kostní hmoty. Uvolňování uzavřených látek bylo prokázáno až po dobu 30 dní. Uvolněné látky měly stimulační vliv na metabolickou aktivitu a růst humánních mezenchymálních kmenových buněk a osteosarkomové linie buněk Saos-2 při testech *in vitro*. Navíc osteogenní látky stimulovaly tvorbu tkáňově-specifického proteinu osteokalcinu a alkalické fosfatázy. V *in vivo* experimentu na modelu králíka podporovaly látky uvolněné z vláken tvorbu kostní tkáně. Dr. Michala Rampichová z ÚEM říká: „Vytvořený systém spojuje výhody nano- a mikrovláknenného prostředí, které je vhodné pro růst buněk, se systémem řízeného dodávání bioaktivních látek. Ty umožní stimulaci tvorby nové tkáně přímo v místě defektu, bez nutnosti jejich dalšího dodávání.“

Výzkum probíhal ve spolupráci s Univerzitním centrem energeticky efektivních budov ČVUT v Praze a 2. lékařskou fakultou, Přírodovědeckou fakultou a Lékařskou fakultou v Plzni Univerzity Karlovy.

