

PLAN WYKŁADÓW

- Regulacja wzrostu i różnicowania komórek poprzez oddziaływanie komórek z macierzą zewnątrzkomórkową
- Kontrola rozwoju tkanki *in vitro*
- Biomateriały i nośniki w medycynie odtwórczej - oddziaływanie komórek z polimerami
- Transplantacje Komórek - komórki macierzyste
- Immunologia w inżynierii tkankowej
- Warunki i zasady wytwarzania substytutów tkankowych
- Żywy substytut skóry
- Substytut chrząstki
- Biodrukowanie

Istota inżynierii komórkowej i tkankowej

1980 - inżynieria tkankowa

dziedzina interdyscyplinarna wykorzystująca zasady inżynierii materiałowej i biologii w celu stworzenia biologicznych substytutów, które odtwarzają i usprawniają funkcje tkanek

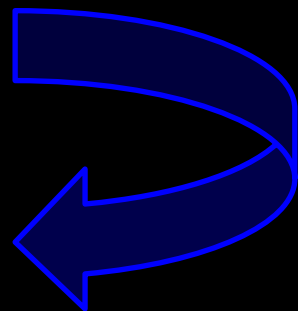


Gojenie ran



zdolność komórek do wydzielania czynników wzrostu i białek macierzy zewnątrzkomórkowej - **tworzenie blizny**

Regeneracja



efekt kliniczny jest zależny od komórek macierzystych, które dzieląc się asymetrycznie generują zróżnicowane potomstwo - **odtworzenie funkcjonalnego naskórka**

Cele inżynierii tkankowej

projektowanie i rozwój substytutów tkanek i narządów
jako **funkcjonalnych** ich ekwiwalentów

identyfikacja sygnałów pobudzających regenerację, a nie
procesy naprawcze

- Alexis Carrel – koncepcja przeszczepów narządowych opracował metodę zespawania naczyń krwionośnych (1912)



- Joseph Murray – pierwszy przeszczep nerki (1954) (1990)

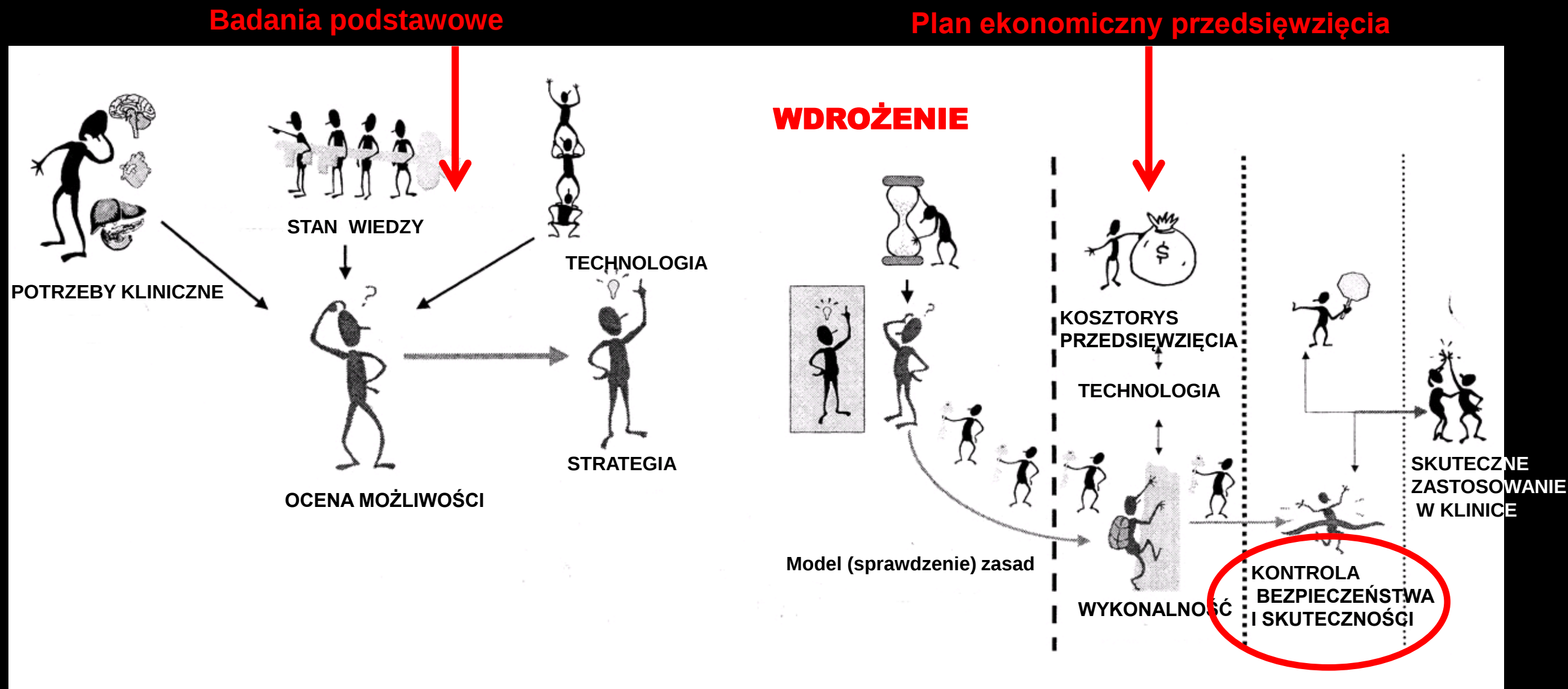


- Brak optymalnej immunosupresji , brak możliwości monitorowania i kontrolowania odrzutu, ograniczona liczba dawców.....

poszukiwanie alternatywnych rozwiązań

- era materiałów syntetycznych i ich wykorzystanie do odtwarzania tkanek----- teflon, silikon ---- zastępniki strukturalne ----- NIE FUNKCJONALNE
- Rozwój technik hodowli komórkowych, badania nad macierzą pozakomórkową, analiza oddziaływań komórek z macierzą i czynnikami wzrostu w niej rezydującymi
- 1960 - mariaż technologii materiałowej z biologią komórki – transplantacje komórek

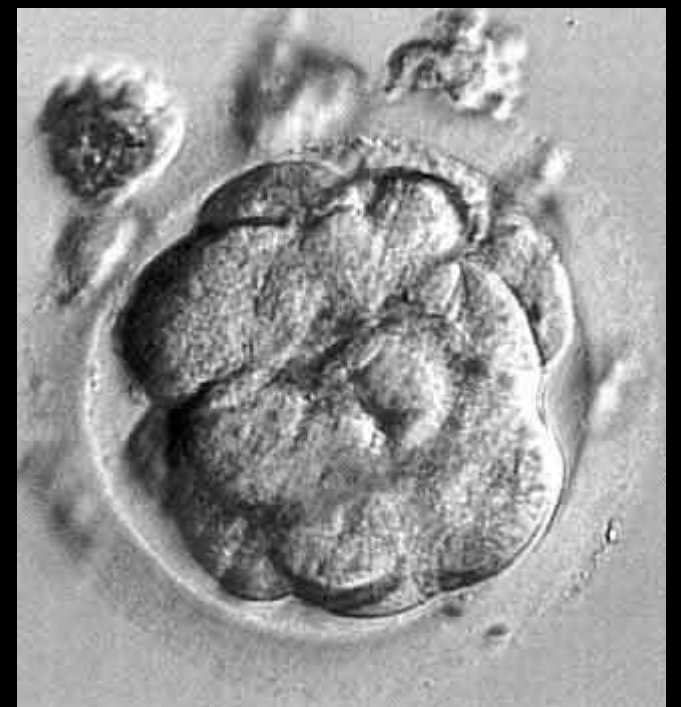
Rozwój skutecznych metod terapii wymaga intensywnych badań podstawowych, rozwoju technologii i właściwego zarządzania



Akceptacja społeczna inżynierii tkankowej
Zainteresowanie sektora komercyjnego

Analiza **rozwoju** lub **regeneracji** tkanki ułatwia
zaprojektowanie procesu jej rekonstrukcji *in vitro*

- Macierz zewnątrzkomórkowa - podstawowe źródło informacji dla komórek formujących tkankę
- Sekrecja białek ECM już na etapie moruli w trakcie rozwoju embrionalnego - *1987 Wessel & McClay - zablokowanie biosyntezy kolagenu na etapie moruli - zatrzymanie rozwoju*

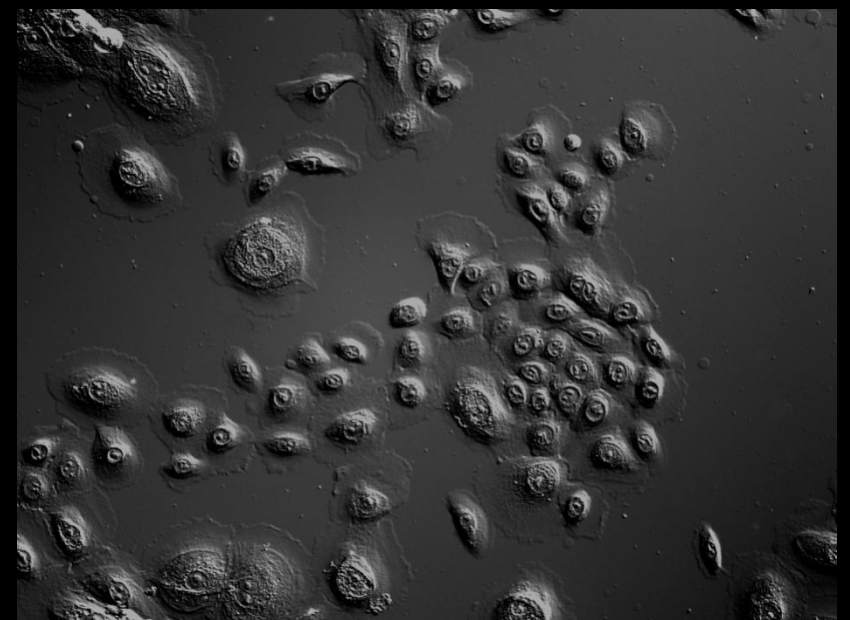
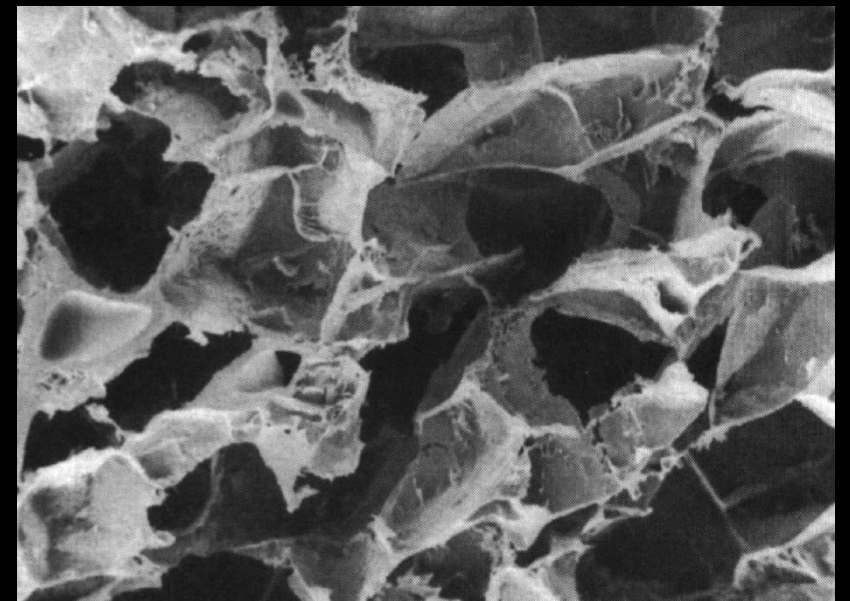


Tkanka

- Komórki
- Macierz zewnątrzkomórkowa
- Systemy sygnalizacyjne

TRIADA inżynierii tkankowej

- Komórki
- Nośnik
- Cząsteczki sygnałowe



żele
gąbki
włókna
membrany

NOŚNIKI

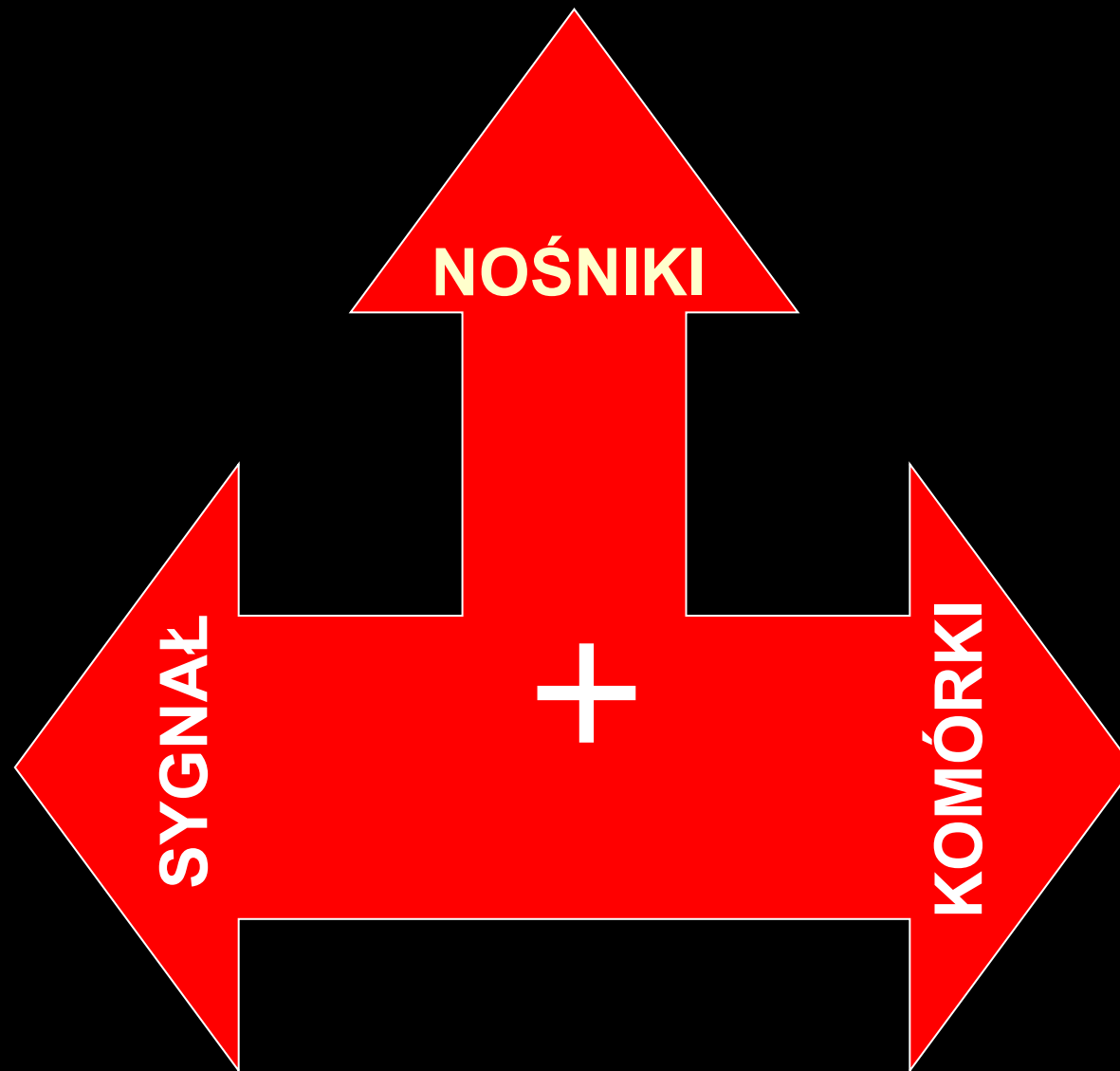
+

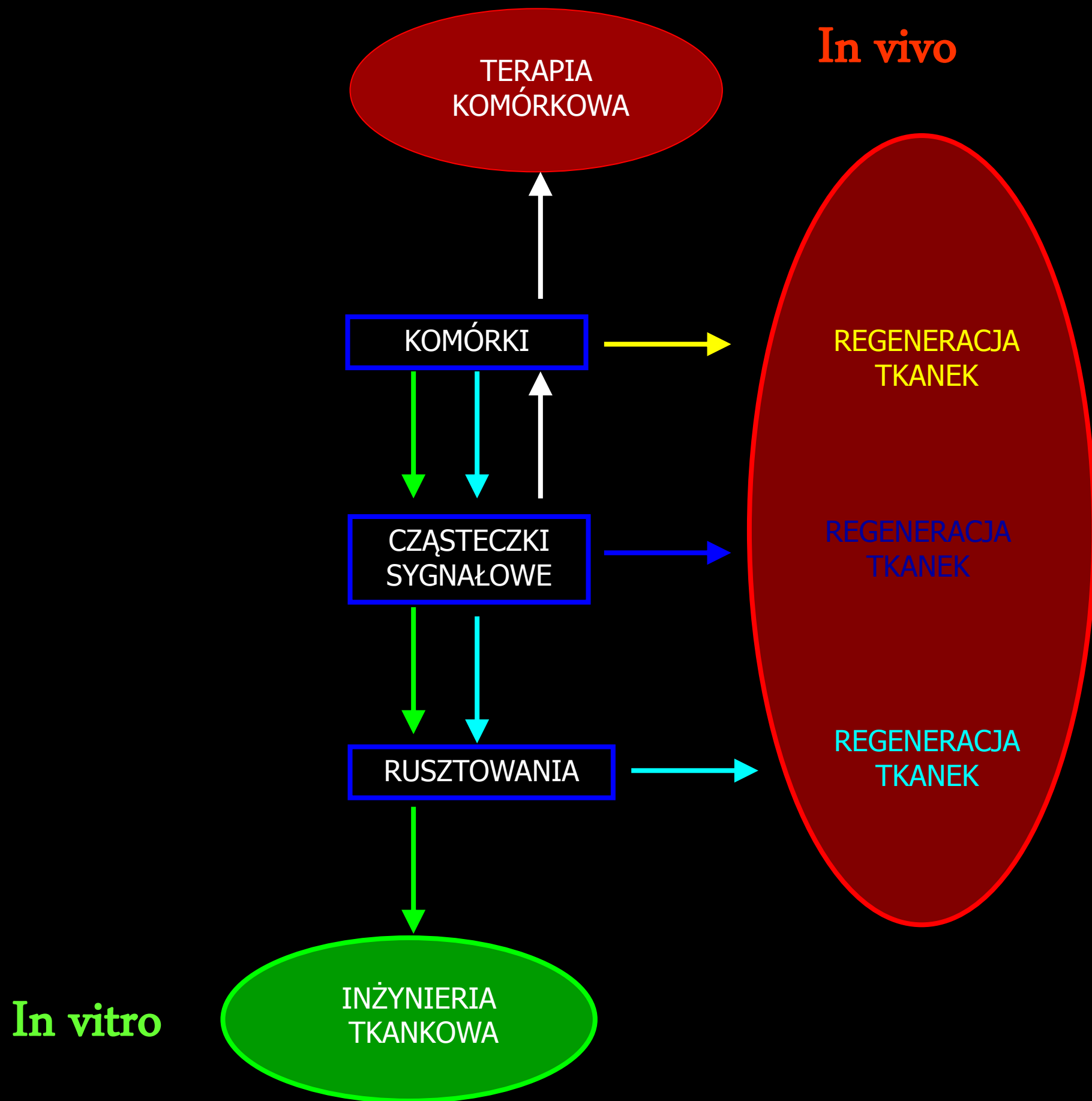
SYGNAŁ

KOMÓRKI

Rodziny:
TGF β
Homeobox
Hedgehog
WNT

autologiczne
allogeniczne
macierzyste somatyczne
macierzyste embrionalne
modyfikowane genetycznie





Ograniczenia wytwarzanych *in vitro* substytutów tkanek

- wrażliwość na biodegradację przez metaloproteinazy zanim nastąpi przebudowa przeszczepionej tkanki (ang. remodeling)
- ograniczone możliwości odtwarzania wszystkich struktur tkankowych (np. gruczoły i mieszki w skórze)
- opóźniona neowaskularyzacja tkanki

Optymalny nośnik (ang. scaffold)

- funkcje mechaniczne i biologiczne natywnej macierzy (*kontrola struktury tkanki i fenotypu komórek*)
- wzbogacony w optymalny koktajl cząsteczek sygnałowych kierujących przebudową implantowanej tkanki (*białka adhezji komórkowej i czynniki wzrostu*)
- zdolność do mobilizowania odpowiednich komórek otaczającej tkanki do zasiedlania (także krążących komórek macierzystych)

↳ Biokompatybilny

↳ Indukuje oddziaływania międzykomórkowe i rozwój tkanki

↳ Odpowiednie właściwości mechaniczne i fizyczne

↳ Biodegradowalny - w odpowiednim tempie- aby nie wyprzedzić przebudowy i nie wywołać odpowiedzi immunologicznej, produkty degradacji nie toksyczne

↳ Właściwie reguluje zachowanie się komórek - adhezja, proliferacja, migracja, różnicowanie- poprzez białka adhezyjne i czynniki wzrostu

Substytuty bezkomórkowe

- allogeniczne i ksenogeniczne nośniki pozbawione elementów komórkowych
- nie immunogenne
- odpowiedź immunologiczna typu Th2
ksenogenicznych tkanek bezkomórkowych - indukcja tolerancji

Immunogenność substytutów

- Konwencjonalne przeszczepy bankowanych lub pobieranych od dawców narządowych tkanek wymagają immunosupresji
- Sher et al. 1983 - hodowla komórek parenchymy selektywnie pozbawiona komórek układu immunologicznego przeszczepiona bez reakcji odrzucenia i bez zastosowania immunosupresji

Tkanki wytwarzane *in vitro*

Lata 70-te - 80-te

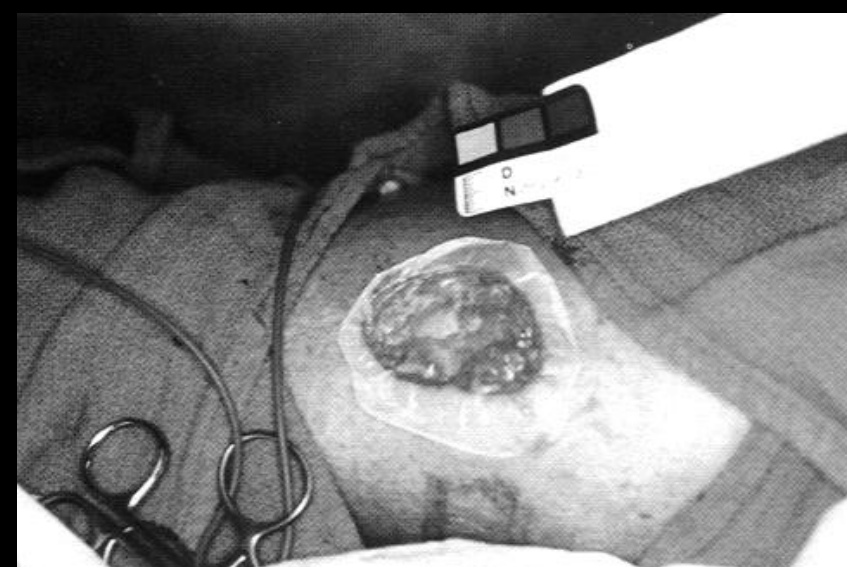
- Skóra
- Naczynia krwionośne
- Gruczoł tarczycy
- Tkanka tłuszczowa

PTA - prekursor analogu tkankowego

Celem nie jest wytworzenie gotowego do przeszczepu,
w pełni funkcjonalnego substytutu tkanki

lecz

sterowanie dynamiczną organizacją, dojrzewaniem
i przebudową prowadzącą do formowania prawidłowej
i funkcjonalnej tkanki



Czy można imitować naturę?

- Stworzenie identycznej lub prawie identycznej repliki tkanki mającej podstawowe cechy tkanki w momencie implantacji
- Dostarczenie dobrze rozwiniętego prekursora substytutu, z założeniem że będzie on ulegał przebudowie po implantacji w pełnowartościową replikę
- Wykorzystanie nie biologicznego odpowiednika

opracować strategię
wspomagającą
i przyspieszającą naprawę
tkanki *in vivo* ???

wytworzyć
nową tkankę *in vitro* ???



Dylematy inżynierii tkankowej.....

Neowaskularyzacja tkanek *in vitro* i *in vivo*

Komórki osadzone na nośniku trójwymiarowym po implantacji muszą mieć dostęp do substancji odżywczych

- Badania nad rekonstrukcją kapilar w nośniku
- Syntetyczne substytuty naczyń

Technologia Komórek

Efektywne wykorzystanie komórek w celach terapeutycznych zależy od:

- Precyzyjnego przewidywania odpowiedzi komórek
- Odpowiedniego wyboru źródła komórek
- Sterowania różnicowaniem komórek

Źródła komórek

TYP

Autologiczne

Własne komórki pacjenta,
immunologicznie akceptowane,
nie są dostępne bezpośrednio

Allogeniczne

Komórki innego osobnika tego
samego gatunku, bezpośrednio
dostępne, wymagana tolerancja
immunologiczna

Ksenogeniczne

Obcogatunkowe, wymagana
tolerancja immunologiczna,
możliwość przeniesienia
zwierzęcych wirusów

Substytut skóry - wykorzystanie komórek allogeniczných pozyskiwanych z napletków

Organogenesis (Canton, MA)- APLIGRAF- Nancy Parenteau, 1999,
zatwierdzony przez FDA

*Keratynocyty i fibroblasty nie wykazują
konstytutywnej ekspresji antygenów zgodności
tkankowej MHC I*

Funkcje komórek i inżynieria genetyczna

- sterowanie programem genetycznym komórek
- sterowanie środowiskiem zewnątrzkomórkowym poprzez działanie stresem mechanicznym lub modyfikacje chemiczne

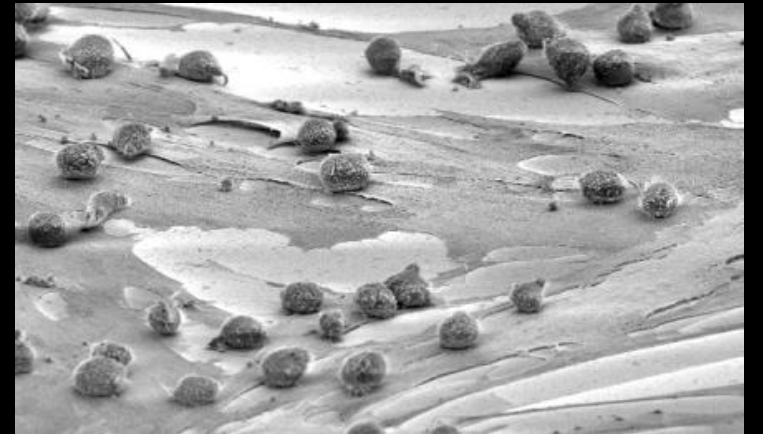
Technologia komórek macierzystych

Komórka macierzysta



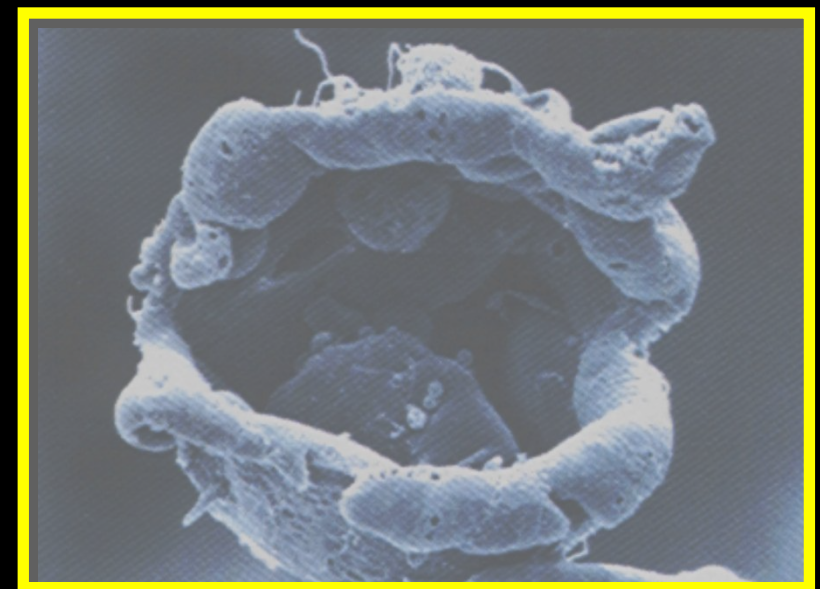
- zdolność do nieograniczonych podziałów
- daje początek co najmniej jednemu typowi zróżnicowanych komórek

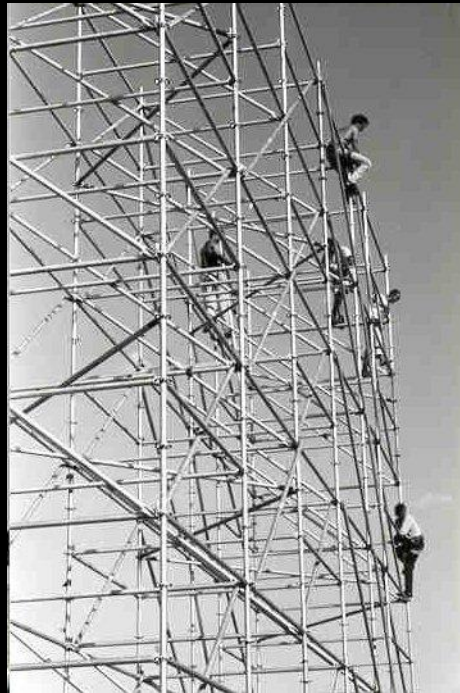
Komórki macierzyste



- ↳ embrionalne
- ↳ izolowane z krwi pępowinowej
- ↳ izolowane z tkanek dojrzałego organizmu

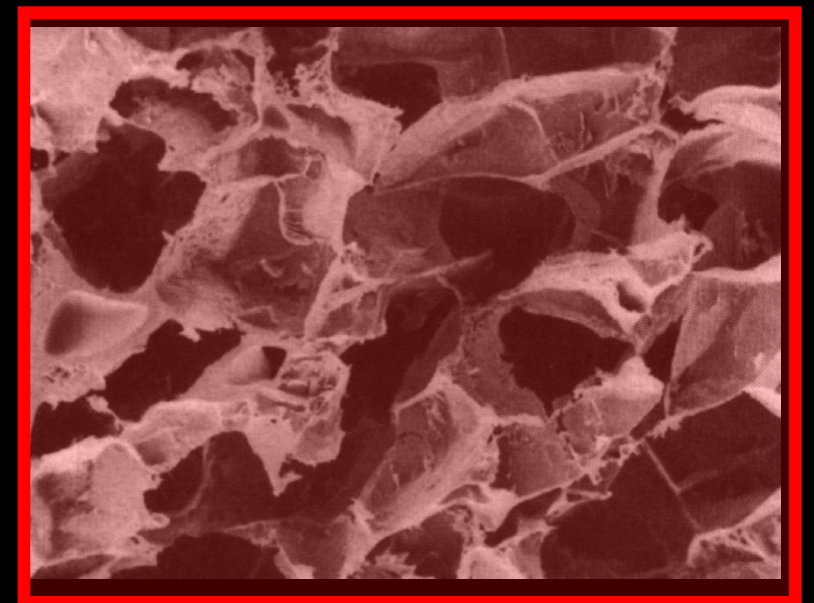
- 1998 - izolacja pierwszej linii ludzkich embrionalnych komórek macierzystych
- Pluripotencjalne embrionalne komórki macierzyste
- Klonowanie terapeutyczne





Technologia konstruktów

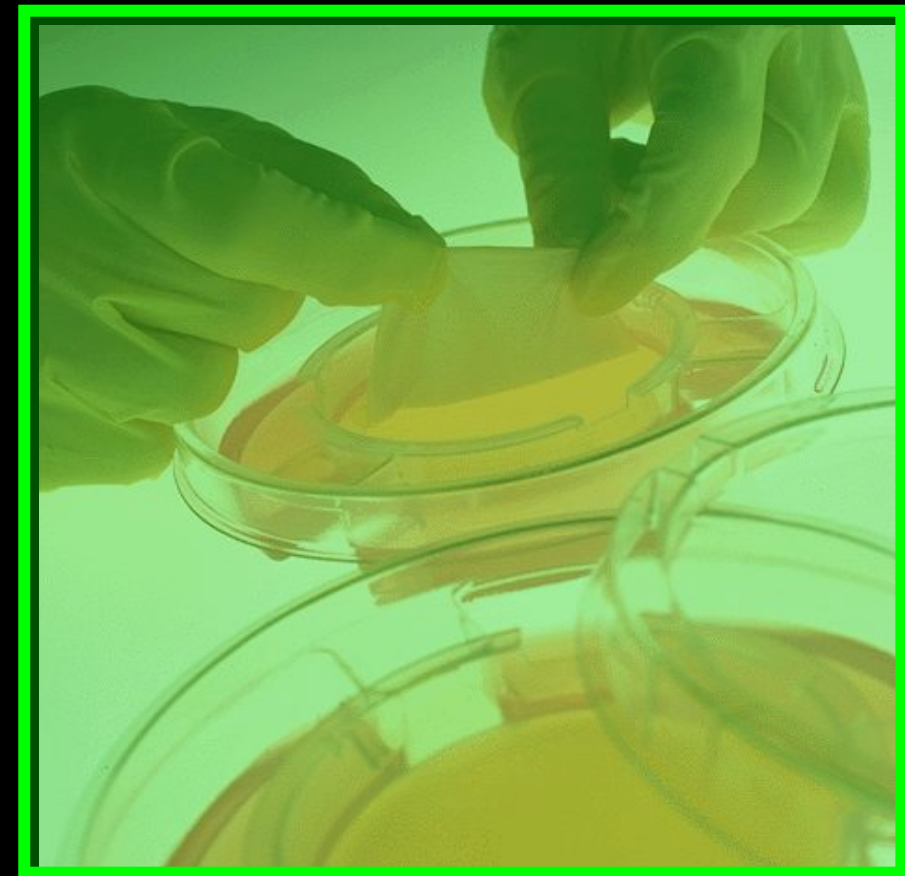
- Trójwymiarowy nośnik komórek, funkcjonalnie charakterystyczny dla danego typu tkanki



Typ konstruktu	komentarz
Macierz bezkomórkowa	Konieczne zasiedlenie przez komórki gospodarza
Żel kolagenowy lub polimerowe nośniki zasiedlone komórkami	Wykorzystywany w substytucie skóry
Produkowany przez komórki	Powstaje w oparciu o syntezę i wydzielanie białek macierzy przez komórki

Technologia produkcji substytutów

- Koszty produkcji
- Standaryzacja produktu
- Masowa produkcja



- Bioreaktory - środowisko kontrolowane pod względem mechanicznym i chemicznym - wstępny remodeling substytutu usprawniający proces implantacji

- Trwałość wytworzonych ekwiwalentów - sposoby przechowywania i transportu, przystępna forma dla klinicystów - **Mrożenie ekwiwalentów jako jedyna forma natychmiastowej ich dostępności**



Implantacja substytutu i integracja w żywym organizmie

- Badania przedkliniczne na modelach zwierzęcych
- Próby kliniczne

