



# Тканевая инженерия. Биоинженерные органы

# Тканевая инженерия

- **Тканевая инженерия** (англ. tissue engineering) — создание новых тканей и органов для терапевтической реконструкции поврежденного органа посредством доставки в нужную область опорных структур, клеток, молекулярных и механических сигналов для регенерации.

- Современная тканевая инженерия начала оформляться в самостоятельную дисциплину после работ **Д. Р. Уолтера** и **Ф.Р. Мейера** (1984), которым удалось восстановить поврежденную роговицу глаза с помощью пластического материала, искусственно выращенного из клеток, взятых у пациента. Этот метод получил название ***кератинопластика***.
- После симпозиума, организованного Национальным научным фондом США (NSF) в 1987 г., тканевая инженерия стала считаться новым научным направлением в медицине. К настоящему времени большинство работ в этой области выполнено на лабораторных животных, но часть технологий уже используется в медицине.

# Основные методы инженерии

## Имитация тканей естественного органогенеза

- Органогенез - процесс формирования органов в ходе эмбрионального развития
- Органогенез сопровождается дифференцировкой клеток, тканей, избирательным и неравномерным ростом отдельных органов и частей организма, продолжается в личиночном и завершается в ювенильном периоде.

## 3D-биопринтинг

- Это технология создания объёмных моделей на клеточной основе с использованием 3D-печати, при которой сохраняются функции и жизнеспособность клеток.

# Этапы создания искусственных

## органов

### **1. Отбор и культивирование собственного или донорского клеточного материала**

- Клеточный материал может быть представлен клетками регенерируемой ткани или стволовыми клетками.
- На первом этапе отбирают собственный или донорский клеточный материал (биопсия), выделяют тканеспецифичные клетки и культивируют их. В состав тканеинженерной конструкции, или графта, кроме культуры клеток входит специальный носитель (матрица).

### **2. Разработка специального носителя для клеток (матрицы) на основе биосовместимых материалов**

- Матрицы могут быть выполнены из различных биосовместимых материалов. Для создания матриц графтов применяют биологически инертные синтетические материалы, материалы на основе природных полимеров (хитозан, альгинат, коллаген), а также биокомпозитные материалы. Например, эквиваленты костной ткани получают путем направленного дифференцирования стволовых клеток костного мозга, пуповинной крови или жировой ткани. Клетки полученной культуры наносятся на матрицу. инженерия ткань орган выращивание.

### **3. Нанесение культуры клеток на матрицу и размножение клеток в биореакторе со специальными условиями культивирования**

- Где культура инкубируется в течение определенного времени. Первые биореакторы были созданы для получения искусственной печеночной ткани.

### **4. Непосредственное внедрение графта в область пораженного органа или предварительное размещение в области, хорошо снабжаемой кровью, для дозревания и формирования микроциркуляции внутри графта (префабрикация)**

- Биоматериалы, используемые для получения матриц, должны быть биологически инертными и после графтинга (перенесения в организм) обеспечивать локализацию нанесенного на них клеточного материала в определенном месте. Большинство биоматериалов тканевой инженерии легко разрушаются (резорбируются) в организме и замещаются его собственными тканями. При этом не должны образовываться промежуточные продукты, обладающие токсичностью, изменяющие pH ткани или ухудшающие рост и дифференцировку клеточной культуры. Нерезорбируемые материалы почти не применяются, т.к. они ограничивают регенерационную активность, вызывают избыточное образование соединительной ткани, провоцируют реакцию на инородное тело (инкапсуляцию).

## Классы биоматериалов, применяемых в тканевой

Биоматериал	Биосовместимость (включая цитотоксичность)	Область применения
<p>Синтетические:</p> <p>1) Полимеры на основе органических кислот</p> <p>2) Гидроксиапатит</p>	<p>+</p> <p>+</p>	<p>Хирургия, в тканевой инженерии как матрица-носитель практически для всех культур клеток. Костная ткань</p>
<p>Природные:</p> <p>1) Альгинат</p>	<p>++</p>	<p>Перевязочные материалы, в тканевой инженерии в виде гидрогелей (хондробласты, нервные клетки)</p>
<p>2) Хитозан</p>	<p>++</p>	<p>Перевязочные материалы, в ТИ в виде пленок, губок; в сочетании с коллагеном (реконструкция костной, мышечной, хрящевой тканей, сухожилий)</p>
<p>3) Коллаген</p>	<p>+++</p>	<p>Перевязочные материалы, в ТИ (губки, трехмерные модели, пленки) как матрица-носитель практически для всех культур клеток.</p>
<p>Внеклеточный матрикс (естественные биологические мембраны)</p>	<p>++++</p>	<p>Шовный материал, в ТИ (трехмерные модели, пленки) как матрица-носитель для практически всех культур клеток</p>

- Одними из первых в тканевой инженерии стали применяться *биodeградируемые синтетические биоматериалы* на основе полимеров органических кислот, например молочной (PLA, полилактат) и гликолевой (PGA, полигликолид). При этом в состав полимера может входить как один тип кислотного остатка, так и их сочетания в различных пропорциях.
- Матрицы на основе органических кислот легли в основу создания таких органов и тканей, как *кожа, кость, хрящ, сухожилие, мышцы (поперечно-полосатая, гладкая и сердечная), тонкая кишка* и др. Однако у этих материалов имеются недостатки: изменение pH окружающих тканей при расщеплении в организме и недостаточная механическая прочность, что не позволяет использовать их как универсальный материал для матриц и подложек.
- Особое место среди материалов для биоматриц-носителей занимают **коллаген, хитозан и альгинат**.



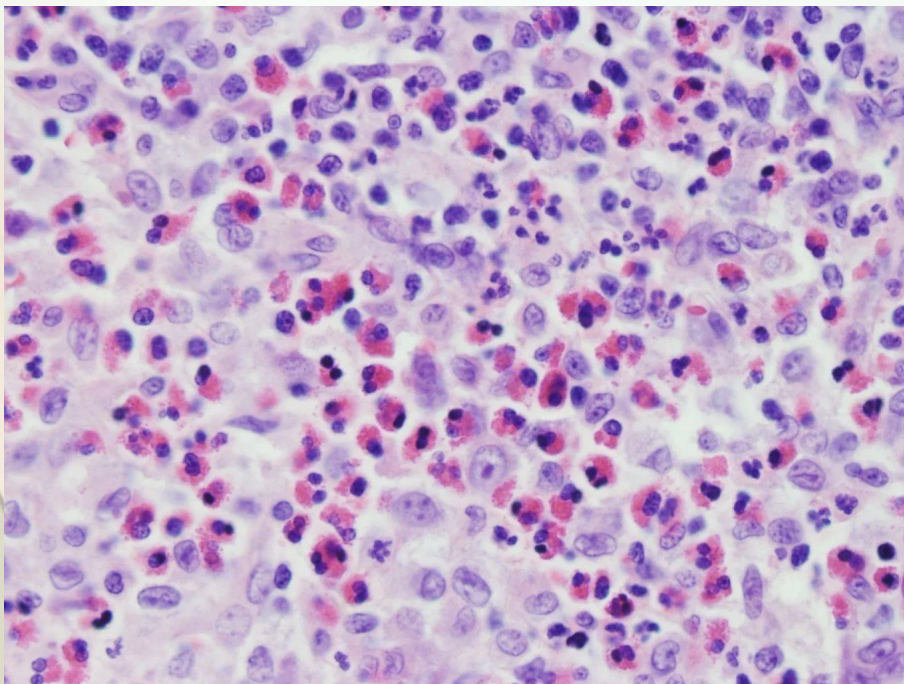
- **Коллаген** практически не имеет антигенных свойств. Используемый в качестве матрицы, он разрушается за счет ферментативного гидролиза и структурно замещается собственными белками, синтезируемыми фибробластами. Из коллагена могут быть изготовлены матрицы с заданными свойствами для реконструкции практически любых органов и тканей. Являясь естественным тканевым (межклеточным) белком, он оптимально подходит в качестве носителя культуры клеток, обеспечивая рост и развитие ткани.
- **Альгинат** – полисахарид из морских водорослей, может быть использован в качестве матрицы-носителя, однако не обладает достаточной биологической совместимостью и оптимальными механическими свойствами. Обычно он используется в виде гидрогелей для восстановления хрящевой и нервной ткани.
- **Хитозан** – азотсодержащий полисахарид, который является основной составляющей наружного покрова насекомых, ракообразных и паукообразных. В настоящее время заслуживает внимания комбинированный по составу препарат – коллагеново-хитозановый комплекс. В ходе лабораторных и клинических исследований была показана его инертность и способность сохранять жизнеспособность клеточной культуры как *in vitro*, так и *in vivo*.

# Клетки, используемые в тканевой

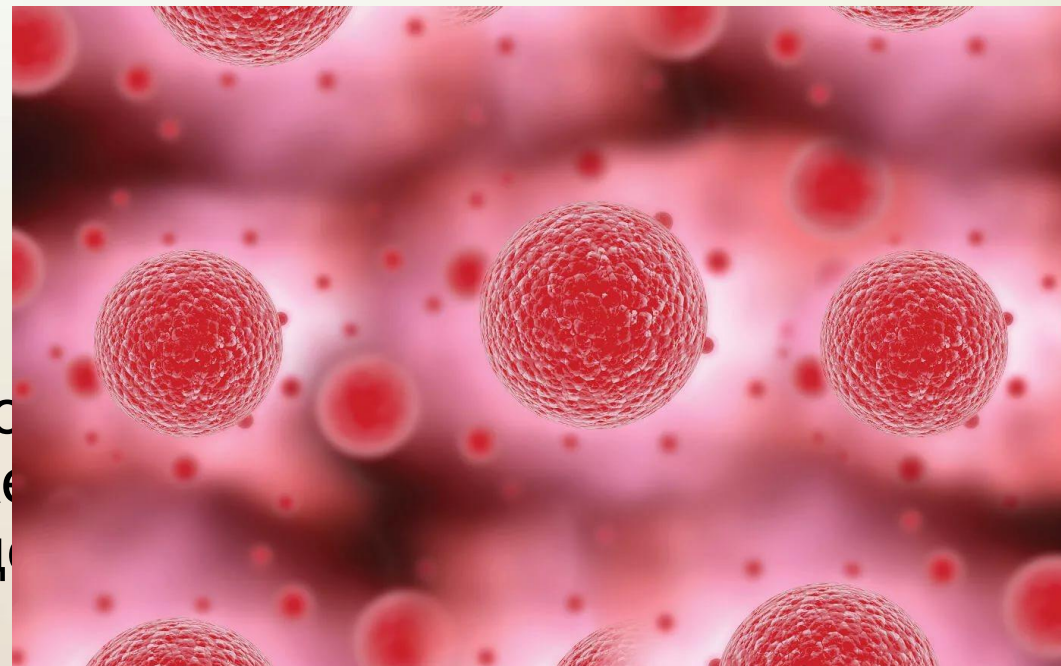
## инженерии

### Дифференцированные клетки

Это зрелые клетки определенной ткани, которые могут быть взяты непосредственно от организма-донора хирургическим путем (клетки опухолевых тканей, клетки различных органов, лимфоциты и тд.)



КЛЕТКИ, КОТОРЫЕ  
ИСПОЛЗУЮТСЯ  
ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ



# Возможности тканевой инженерии

- Большинство исследований в области тканевой инженерии направлены на получение того или иного эквивалента тканей. Самое изученное направление тканевой инженерии – реконструкция соединительной ткани, особенно костной.
- Одним из самых важных направлений в тканевой инженерии является изготовление эквивалентов кожи. Живые эквиваленты кожи, содержащие донорские или собственные кожные клетки, в настоящее время широко применяются в США, России, Италии. Эти конструкции позволяют улучшить заживление обширных ожоговых поверхностей.
- Восстановление органов дыхания, таких как гортань, трахея и бронхи, также возможно с помощью тканевых конструкций из биodeградируемых или композитных материалов с нанесенными на них эпителиальными клетками и хондробластами.

- Основными точками приложения тканевой инженерии в кардиологии можно считать создание искусственных клапанов сердца, реконструкцию крупных сосудов и капиллярных сетей.
- Создание искусственных капиллярных сетей актуально при лечении патологий микроциркуляции крови при таких заболеваниях, как облитерирующий эндартериит, сахарный диабет и др.
- Одной из важнейших задач является восстановление органов и тканей нервной системы. Тканеинженерные конструкции могут быть использованы для восстановления как центральной, так и периферической нервной системы.

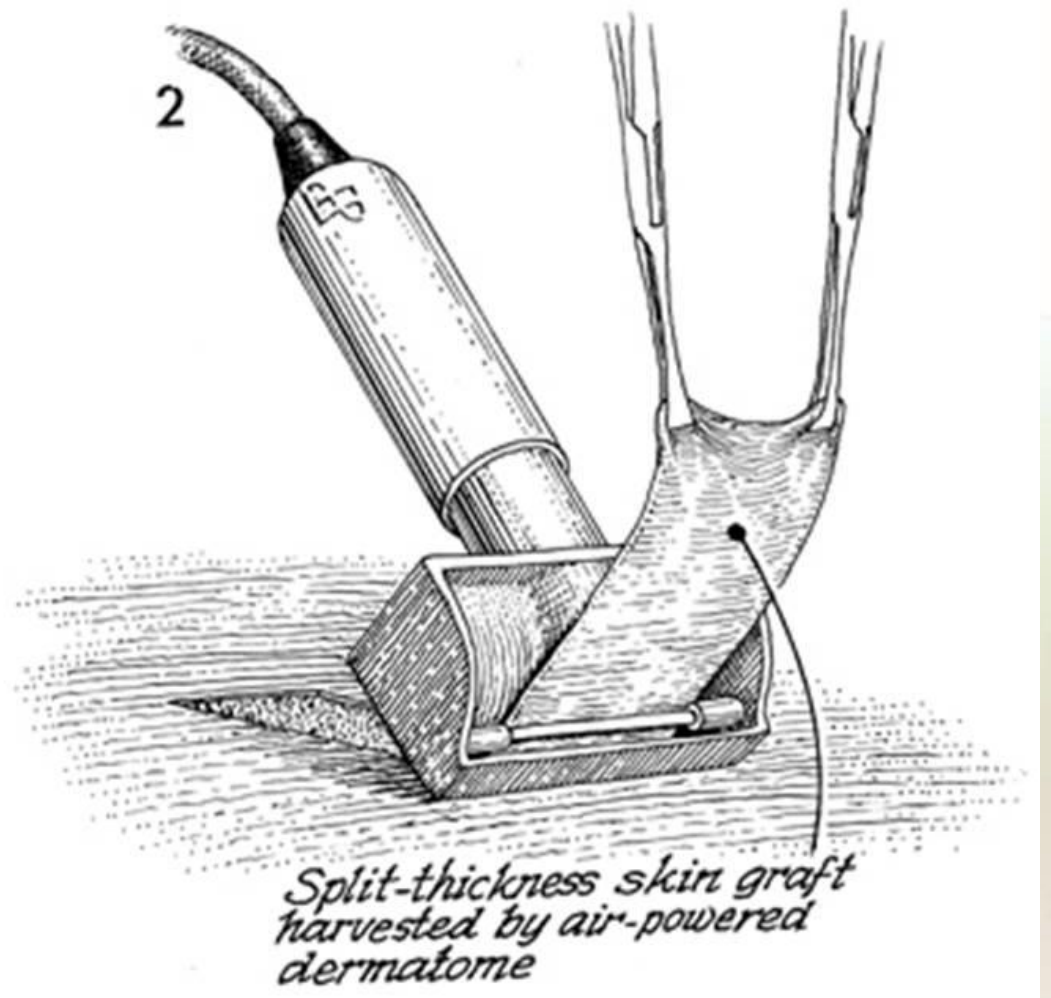
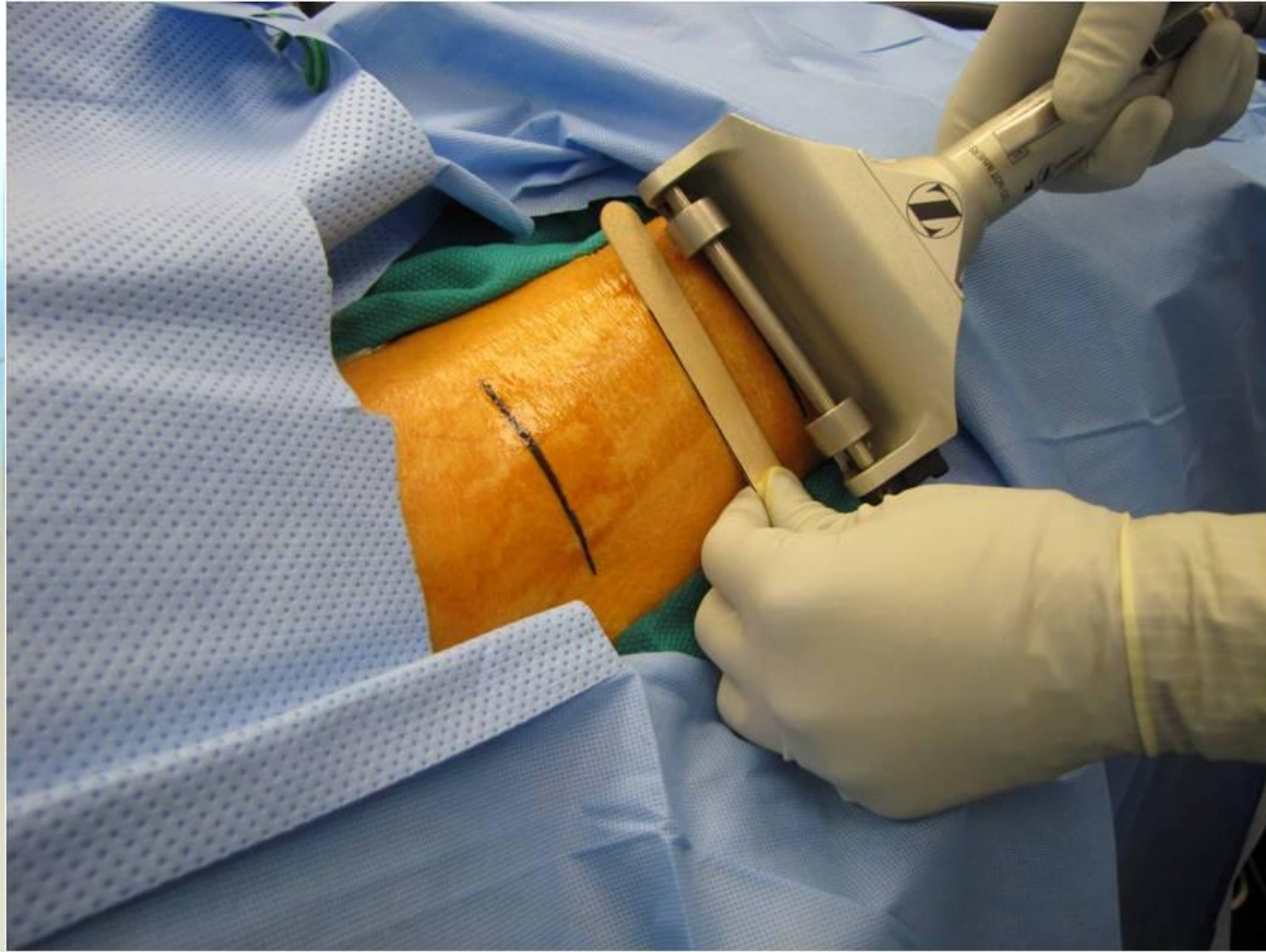
# Биоинженерные органы

- Выращивание органов — перспективная биоинженерная технология, целью которой является создание различных полноценных жизнеспособных биологических органов для человека.
- В настоящее время технология ограничено применяется на людях, позволяя выращивать для пересадки лишь относительно простые по внутреннему устройству органы.

# Кожа

- Восстановление повреждённых участков кожи уже является частью клинической практики. В ряде случаев используются методы регенерации кожи самого человека, например, пострадавшего от ожога посредством специальных воздействий.
- Доктор Герлах (Jorg Gerlach) с коллегами из Института регенеративной медицины при Университете Питсбурга (Institute for Regenerative Medicine at the University of Pittsburg) изобрели устройство для пересадки кожи, которое поможет людям быстрее излечиться от ожогов различной степени тяжести. Skin Gun распыляет на поврежденную кожу пострадавшего раствор с его же стволовыми клетками





# Кост и

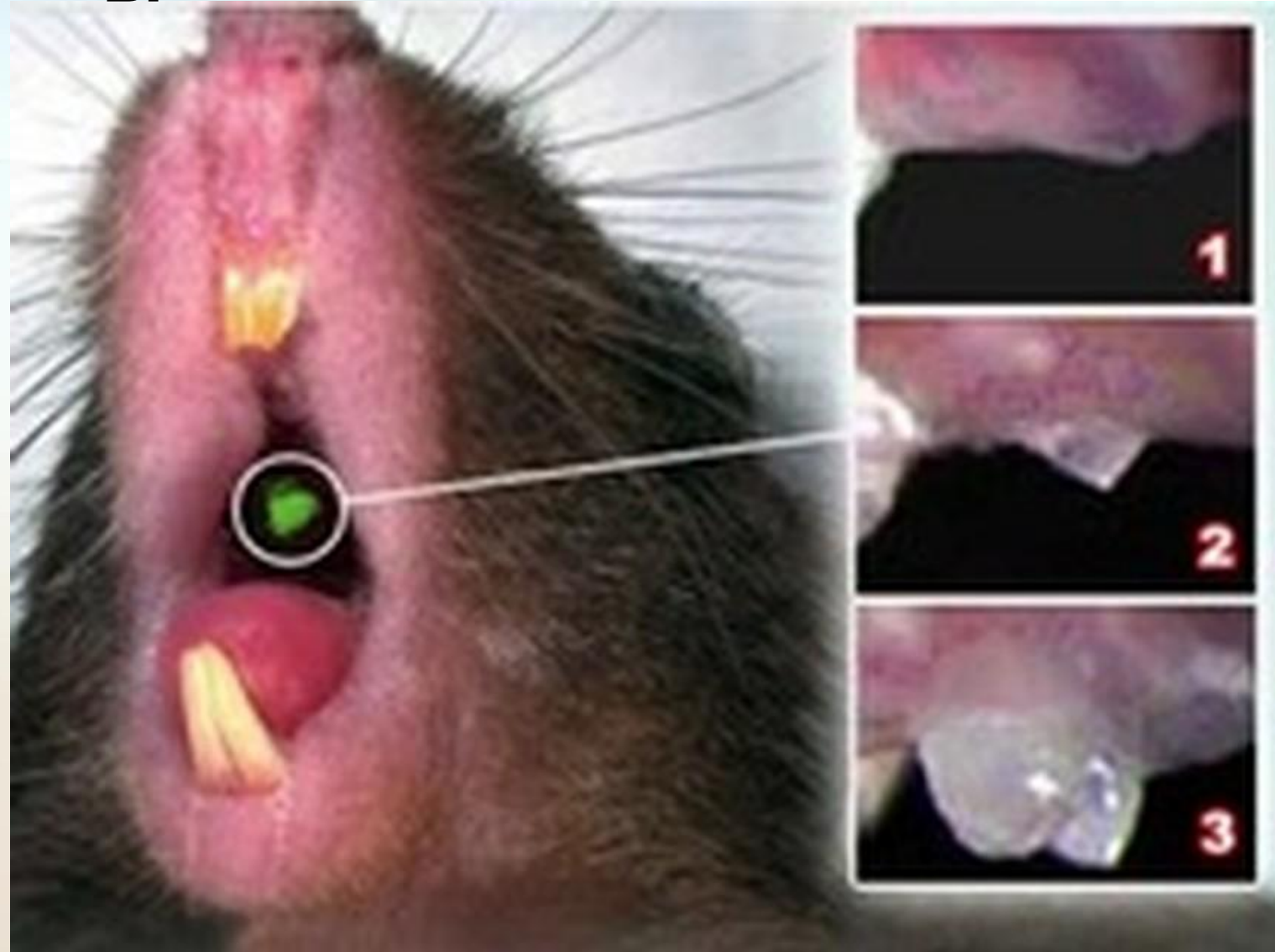
- Группа сотрудников Колумбийского университета под руководством Горданы Вуньяк-Новакович (Gordana Vunjak-Novakovic) получила из стволовых клеток, засеянных на каркас, фрагмент кости, аналогичный части височно-нижнечелюстного сустава.
- Учёные израильской компании Bonus Biogroup (основатель и исполнительный директор - Пай Мерецки, Shai Meretzki) разрабатывают методы выращивания человеческой кости из жировой ткани пациента, полученной посредством липосакции. Выращенную таким образом кость уже удалось успешно пересадить в лапу крысы.





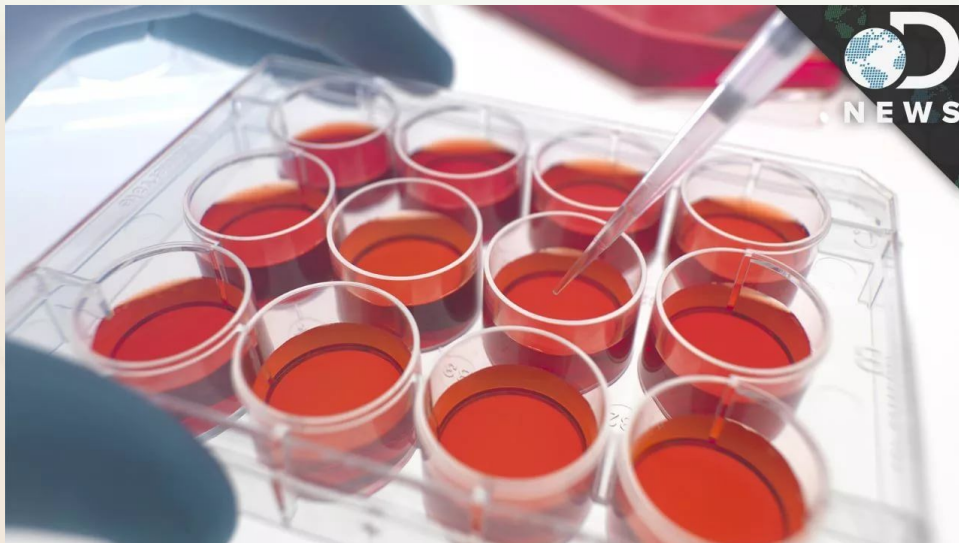
# Зубы

В Токийском университете учёные вырастили из стволовых клеток мышей полноценные зубы, имеющие зубные кости и соединительные волокна, и успешно трансплантировали их в челюсти животных.



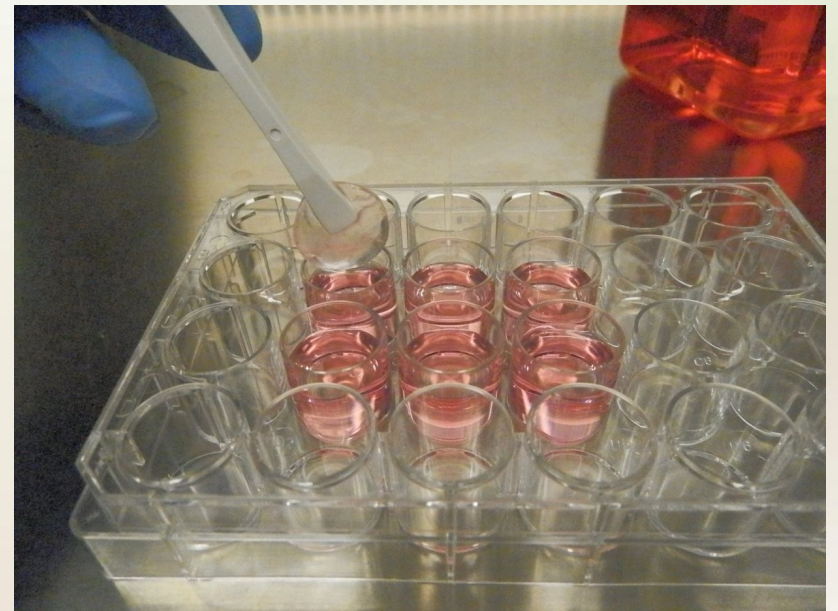
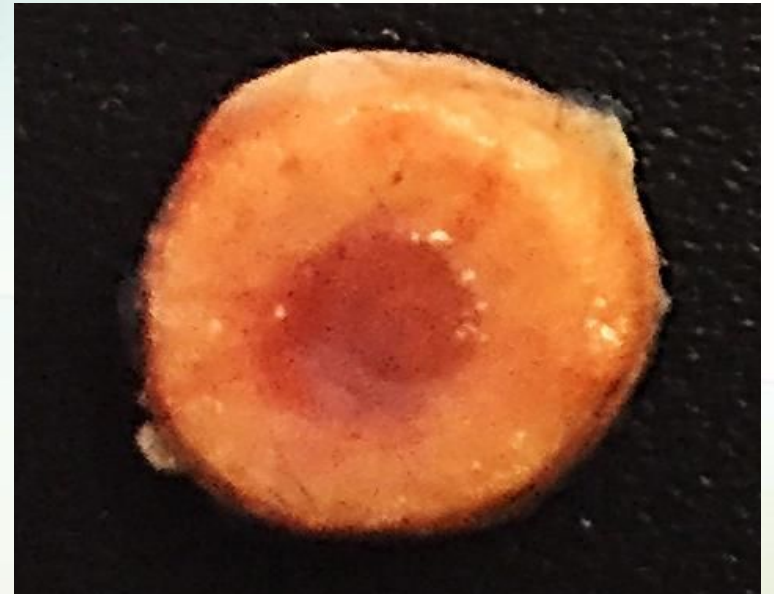
# Кровь

- Исследователи из Университета Пьера и Марии Кюри в Париже под руководством Люка Дуая (Luc Douay) впервые в мировой практике успешно испытали на людях-добровольцах искусственную кровь, выращенную из стволовых клеток.
- Каждый из участников эксперимента получил по 10 миллиардов эритроцитов, что эквивалентно примерно двум миллилитрам крови. Уровни выживаемости полученных клеток оказались сопоставимы с аналогичными показателями обычных эритроцитов.



# Костный мозг

- Искусственный костный мозг, предназначенный для производства *in vitro* клеток крови, впервые успешно был создан исследователями в лаборатории химической инженерии Мичиганского Университета (University of Michigan) под руководством Николая Котова (Nicholas Kotov). С его помощью уже можно получать гемопоэтические стволовые клетки и В-лимфоциты - клетки иммунной системы, продуцирующие антитела



# Мочевой

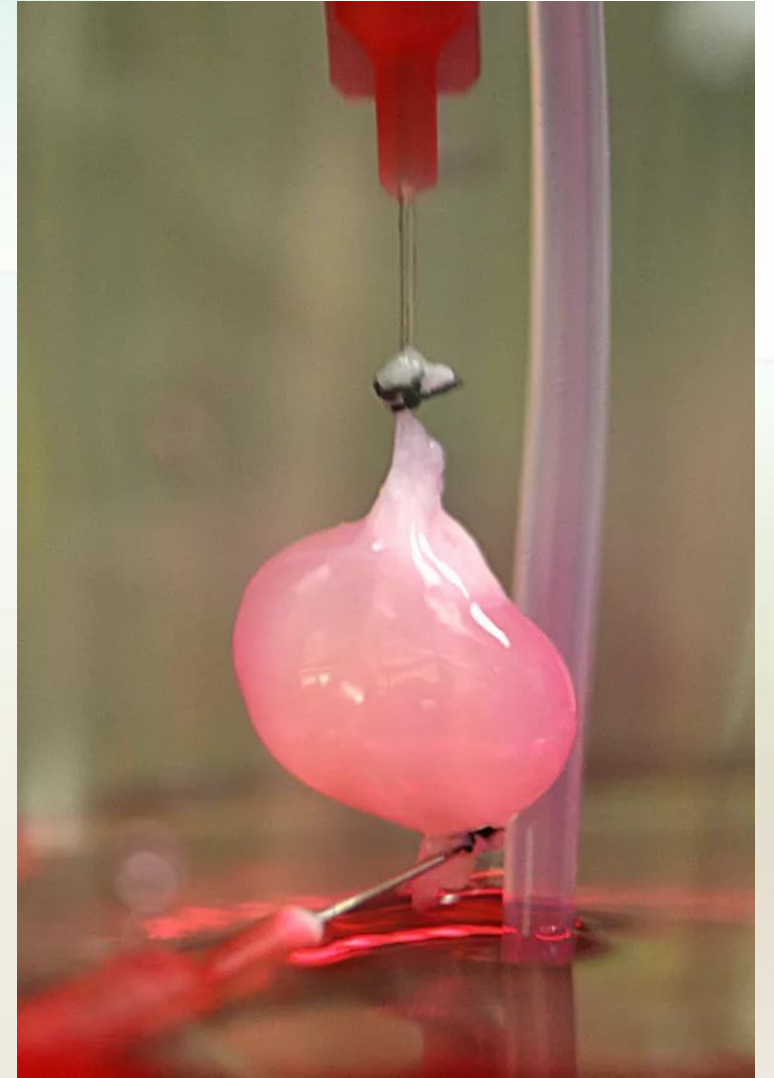
## пузырь

- Доктор Энтони Атала (Anthony Atala) и его коллеги из американского университета Вэйк Форест (Wake Forest University) занимаются выращиванием мочевого пузыря из собственных клеток пациентов и их трансплантацией пациентам.
- Они отобрали нескольких пациентов и взяли у них биопсию пузыря - образцы мышечных волокон и уротелиальных клеток. Эти клетки размножились семь-восемь недель в чашках Петри на имеющей форму пузыря основании. Затем выращенные таким способом органы были вшиты в организмы пациентов.
- Наблюдения за пациентами в течении нескольких лет показали, что органы функционировали благополучно, без негативных эффектов, характерных для более старых методов лечения.
- Фактически это первый случай, когда достаточно сложный орган, а не простые ткани, такие, как кожа и кости, был искусственно выращен *in vitro* и пересажен в человеческий организм. Так же этот коллектив разрабатывает методы выращивания других тканей и органов.



# Почк

- Компания Advanced Cell Technology в 2002 г. сообщила об успешном выращивании полноценной почки из одной клетки, взятой из уха коровы с использованием технологии клонирования для получения стволовых клеток.
- Применяя специальное вещество, стволовые клетки превратили в почечные.
- Ткань вырастили на каркасе из само разрушающегося материала, созданного в Гарвардской медицинской школе и имеющего форму обычной почки. Полученные в результате почки около 5 см в длину были имплантированы корове рядом с основными органами.
- В результате искусственная почка успешно начала вырабатывать мочу.



# Трахе

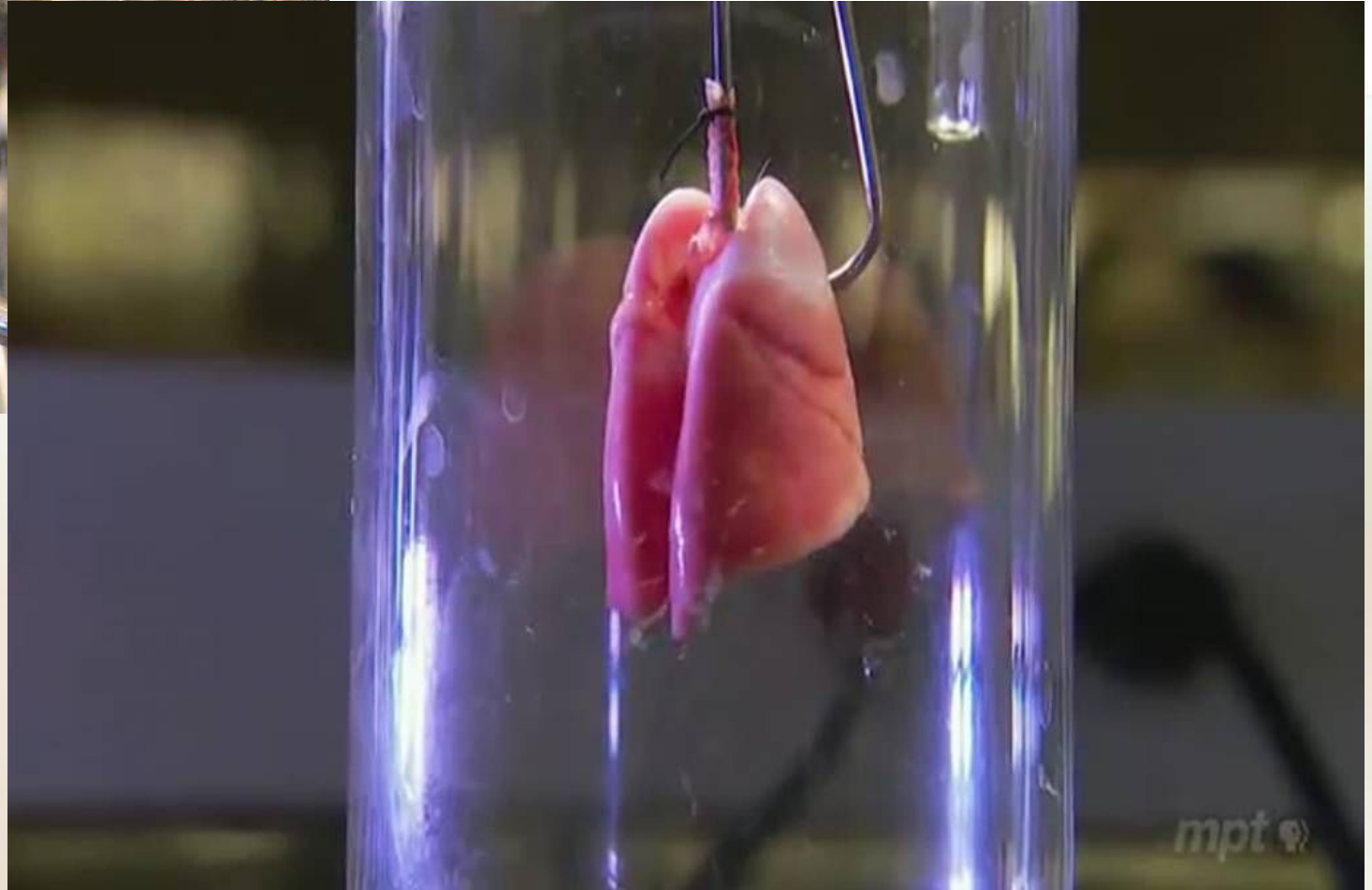
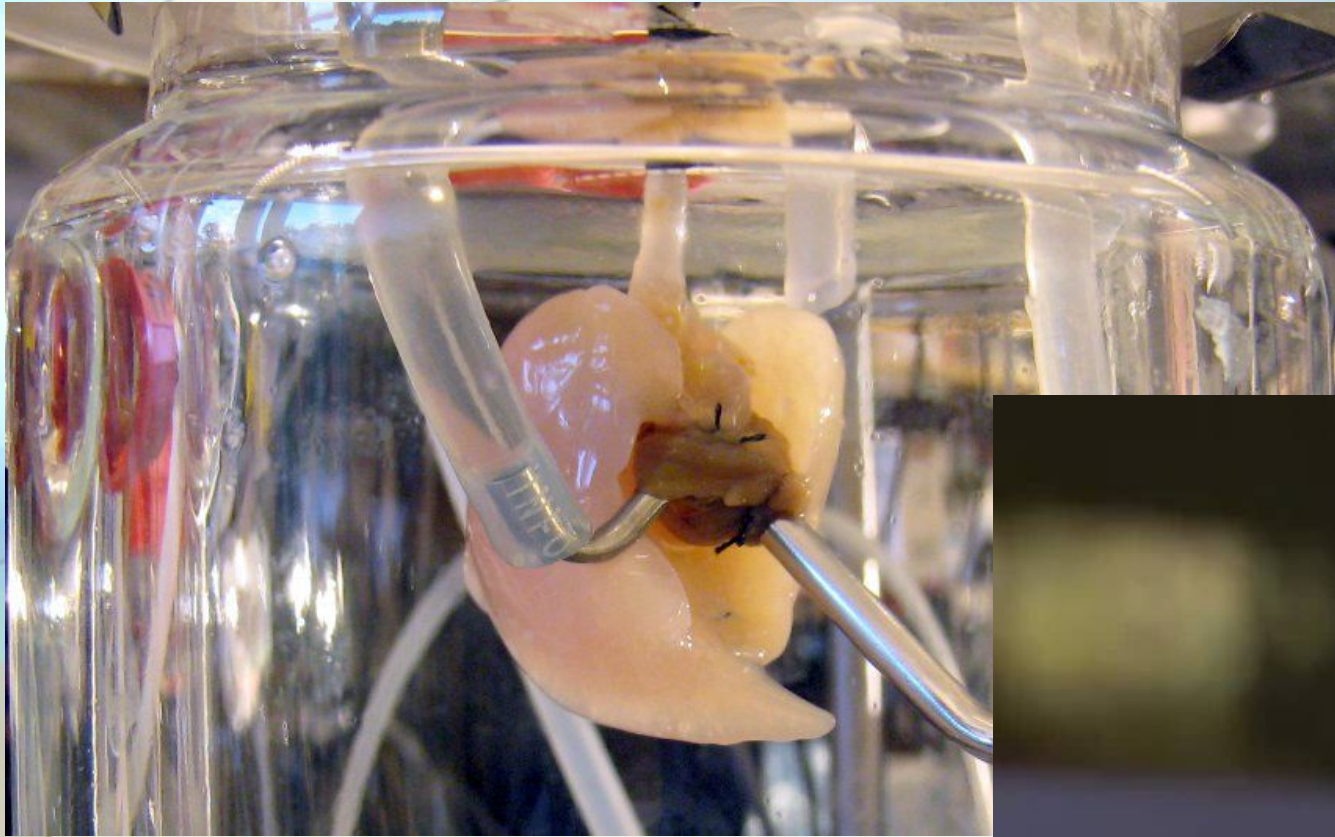
- Испанские хирурги провели первую в мире трансплантацию трахеи, выращенной из стволовых клеток пациентки - 30-летней Клаудии Кастильо (Claudia Castillo).
- Орган был выращен в университете Бристоля (University of Bristol) на основе донорского каркаса из коллагеновых волокон.
- Операцию провёл профессор Паоло Маккиарини (Paolo Macchiarini) из госпиталя Барселоны (Hospital Clínic de Barcelona).





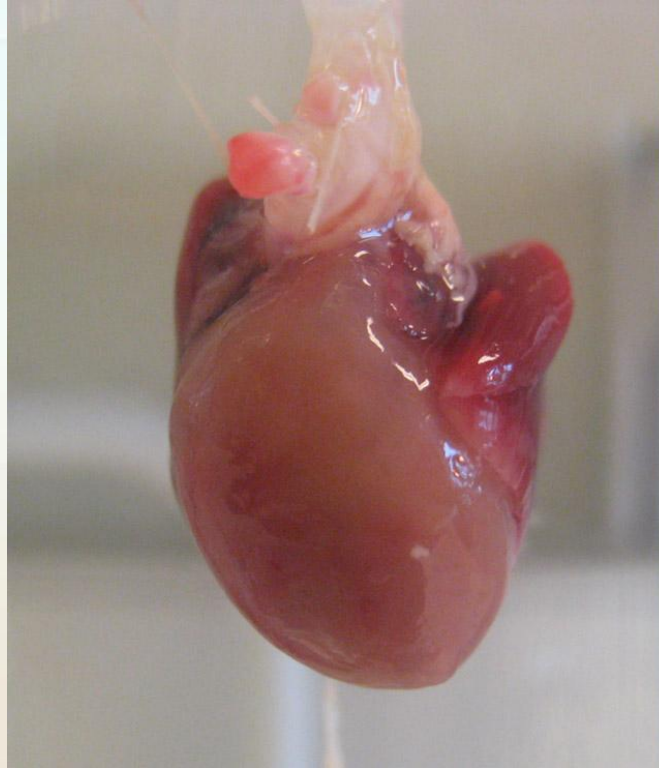
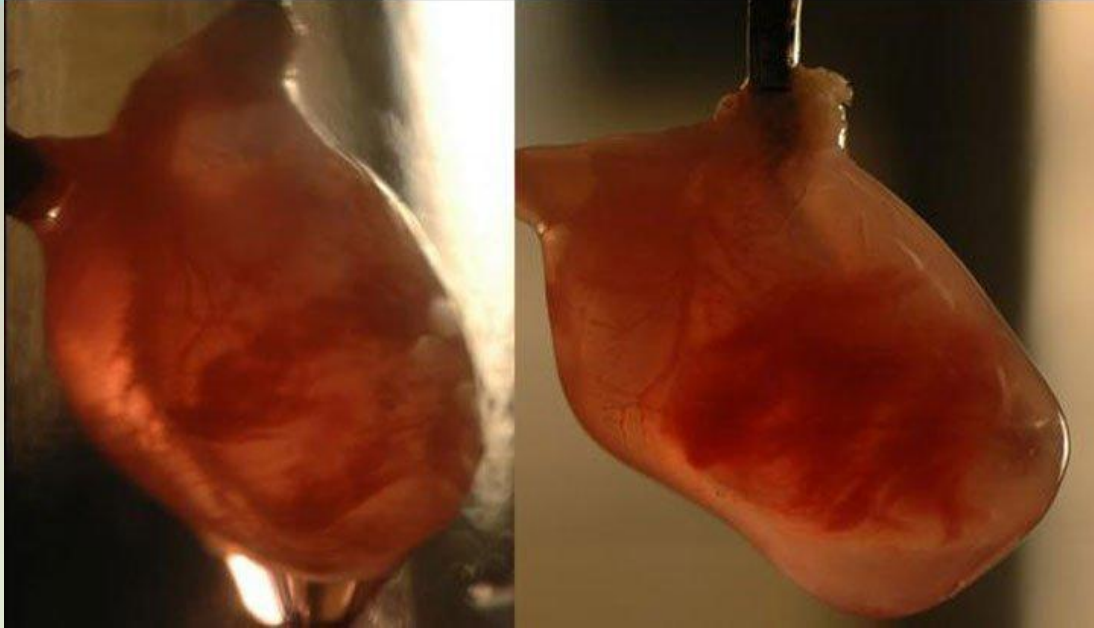
# Легки

- Американские ученые из Йельского университета (Yale University) под руководством Лауры Никласон (Laura Niklason) вырастили в лаборатории легкие (на донорском внеклеточном матриксе). Матрикс был заполнен клетками эпителия легких и внутренней оболочки кровеносных сосудов, взятых у других особей. С помощью культивации в биореакторе исследователям удалось вырастить новые легкие, которые затем пересадили нескольким крысам.
- Орган нормально функционировал у разных особей от 45 минут до двух часов после трансплантации. Однако после этого в сосудах легких начали образовываться тромбы. Кроме того, исследователи зафиксировали утечку небольшого количества крови в просвет органа. Тем не менее, исследователям впервые удалось продемонстрировать потенциал регенеративной медицины для трансплантации лёгких.



## Сердц

- Ученые из британского госпиталя Хэафилд под руководством Мегди Якуба впервые в истории вырастили часть сердца, используя в качестве "строительного материала" стволовые клетки. Врачи вырастили ткань, которая работала в точности как сердечные клапаны, ответственные за кровоток в организме людей. Ученые из University of Rostock (Германия) использовали технологию лазерного переноса-печатания клеток (Laser-Induced-Forward-Transfer (LIFT) cellprinting) для изготовления "заплатки", предназначенной для регенерации сердца.



# Печен

- Американские специалисты из Массачусетской больницы общего профиля (Massachusetts General Hospital) под руководством Коркута Югуна (Korkut Uygun) успешно пересадили нескольким крысам печень, выращенную в лаборатории из их собственных клеток.
- Исследователи удалили печени у пяти лабораторных крыс, очистили их от клеток хозяина, получив, таким образом, соединительнотканые каркасы органов.
- Затем в каждый из пяти полученных каркасов исследователи ввели примерно по 50 миллионов клеток печени, взятых у крыс-реципиентов. В течение двух недель на каждом из заселенных клетками каркасов сформировалась полностью функционирующая печень.
- После чего выращенные в лаборатории органы были успешно пересажены пяти крысам.

Спасибо за внимание