

# Ingineria tisulară

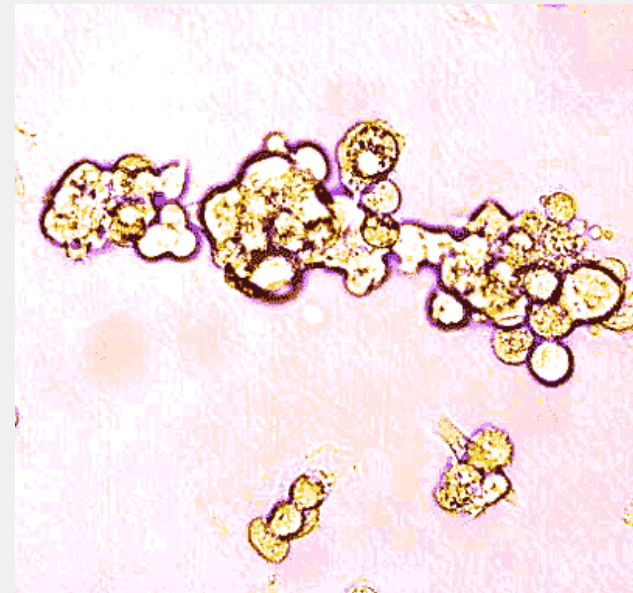
Dr.hab.med.  
prof. Viorel Nacu

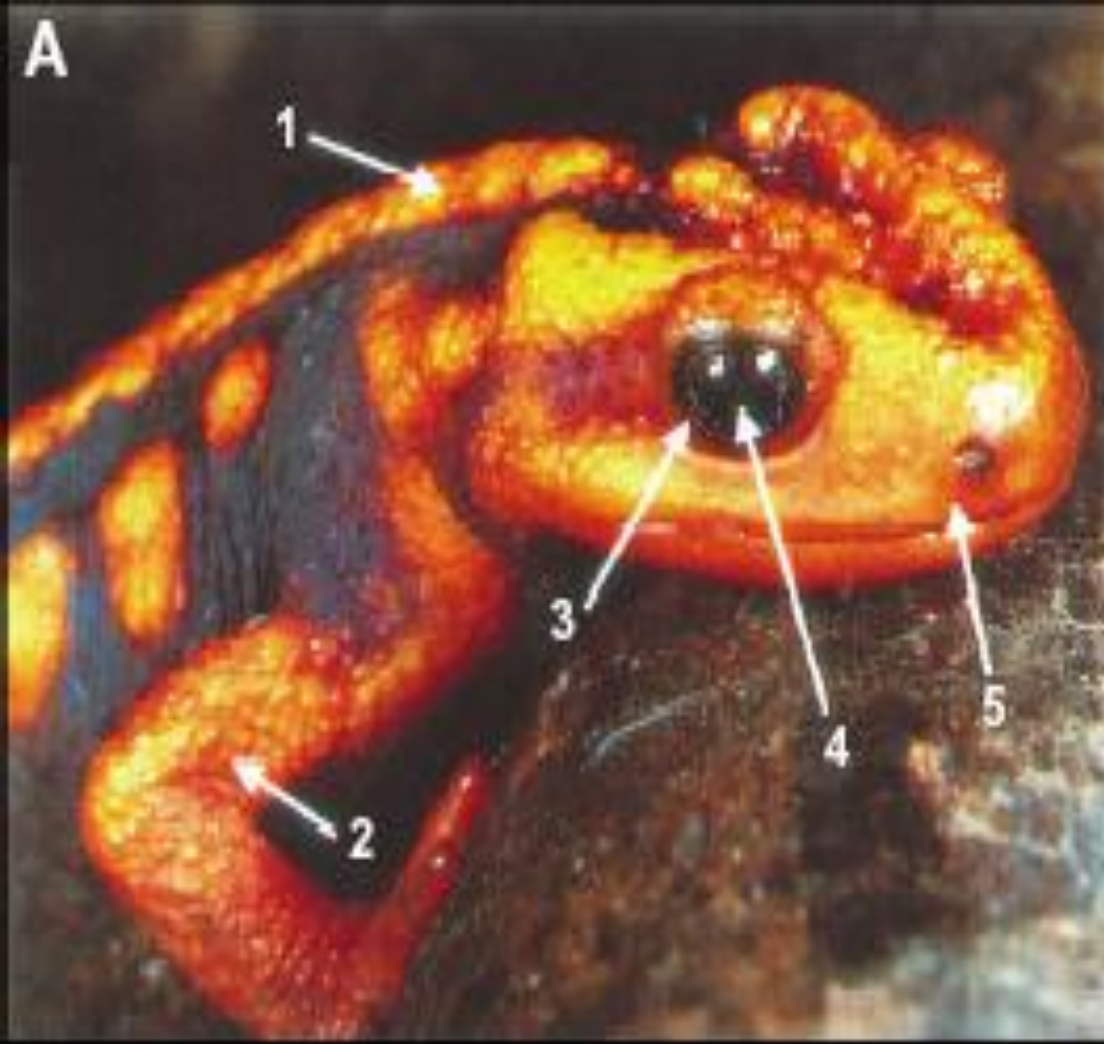
**“Nu îndrăznim pentru că  
lucrurile sunt dificile, ci  
pentru că nu îndrăznim  
lucrurile sunt dificile”**

**Seneca**

**Ingineria tisulară este un domeniu multidisciplinar care include biologia, medicina și ingineria și are ca scop promovarea calității vieții umane prin restabilirea, menținerea sau ameliorarea funcției țesuturilor sau organelor.**

- **Morfogeneza complexă a țesuturilor în dezvoltarea embrionară poate fi replicată sau repetată în ingineria tisulară în țesuturile postnatale.**





Regenerarea la amfibii: triton

# Ingineria tisulară

- **Aplicație terapeutică** - țesutul crește în corpul pacientului sau în afara lui și ulterior este transplantaat.
- **Aplicație diagnostică** - țesutul este crescut *in vitro* și este utilizat pentru testarea metabolismului în prezența unor substanțe medicamentoase, toxicitatea și patogenitatea lor.



# Scopul Ingineriei tisulare:

Restabilirea funcției prin distribuirea elementelor vii care devin integrate în corpul pacientului.

*Joseph P. Vacanti 1999*

# **Ingineria tisulară necesită colaborare interdisciplinară**

- **Inginerie**
- **Chimia**
- **Biologie celulară**
- **Proteomica**
- **Clinicienii,**
- **Știința materialelor**
- **Fizica**
- **Imagistica**
- **Genomica**

# Baza Ingineriei tisulare:

## 1) Biomaterialele:

- materiale noi, neviabile care sunt prevăzute pentru organizarea creșterii și diferențierii celulelor în procesul de formarea a unui țesut funcțional (Matrige, spongii - Sintetice sau naturale).

## 2) Celulele: Sursa, Diferențierea, Purificarea

Metode, protocoale, care trebuie să asigure numărul necesar de celule, și diferențierea lor în dependență de țesutul lezat (celule autologice, alogene, xenogene, celule obținute prin inginerie și prin manipulare imunologică).

**3) Biomoleculele:** includ factori de creștere sau genele lor, factori de diferențiere și proteine morfogenetice.



#### 4) **Aspectele de Design Ingineresc:**

includ expansia celulelor pe structuri 2-D, creșterea țesuturilor 3-D, bioreactore, stocarea celulelor și țesuturilor și distribuirea lor.

#### 5) **Aspectul biomecanic:** determină proprietățile țesuturilor native;

identificarea unor proprietăți minime necesare țesutului ingineresc, semnalelor mecanice care influențează țesuturile ingineriei tisulare, eficacitatea și siguranța acestor țesuturi.

#### 6) **Informatizarea** pentru susținerea ingineriei tisulare: analiza secvențelor de gene și proteine, analiza expresiei genice, expresiei proteinelor.

Analiza interacțiunilor, analizarea cantitativă a celulelor și țesuturilor, modelarea tisulară și celulară, manufactura digitală a țesuturilor, sisteme automatizate de asigurare a calității, interfețelor.

- **Biomaterial** - material neviabil utilizat pentru interacțiune cu un sistem biologic în scopuri medicale.
- **Bioactivitatea** - reprezintă acțiunea pe care o exercită asupra activității celulei (respirație, metabolism, diferențiere, proliferație) atât materialul, cât și produsele care apar la biodegradarea lui în organism.
- Materialul sub acest aspect poate fi **bioinert** (care are o acțiune minimă asupra celulelor (nu există materiale absolut bioinerte)) până la **bio- sau citotoxic**.
- Bioactivitatea materialului depinde de componența chimică, viteza de degradare, produsele care apar la degradare.
- Adaptarea celulei la mediul înconjurător este determinată de parametri fiziologici (homeostaza internă): temperatură, pO<sub>2</sub>, pH, concentrația K și Na.

# ***Biocompatibilitate***

- Este o particularitate a biomaterialului care reflectă posibilitatea coexistenței lui cu biosistemul (organismul viu) prin păstrarea funcțiilor normale ale țesuturilor și posibilității de regenerare. (aprecierea biocompatibilității poate fi efectuată numai în experimente *in vivo*).

- ***Biorezistență*** – este capacitatea biomaterialului de a rezista pentru o perioadă anumită de timp la contactul și acțiunea țesuturilor adiacente exprimata prin menținerea proprietăților sale fizice, chimice și mecanice.

- ***Citochinele*** - Un grup de proteine și peptide care sunt utilizate în organism în calitate de componente semnal (similare hormonilor) care facilitează comunicarea între celule și reprezintă multiple proteine și glicoproteine de dimensiuni mici, cu masa de 8-30 kDa.

# Citochinele utilizate în clinică

- **Interferon  $\alpha$**  (“Roferon”, “Alferon-N”, “Intron A”) – terapie antivirală (chronic Hepatitis B and C), leucemiile.
- **Interferon  $\beta$**  (“Betaseron”) – scleroza multiplă
- **G-CSF** (“Neupogen”) – tratament de suport în transplantarea măduvei osoase.
- **Interferon  $\gamma$**  (“Actimune”) – granulomatoza cronică.
- **Epo** (“Procrit”) – maladii renale.
- **GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IL2, TNF** – au acțiune toxică când sunt aplicate sistematic.



# Problemele inginerii tisulare:

Trebuie țesutul pentru implantare să fie produs *in vitro* sau *in vivo*?

Ce tramă (suport) trebuie utilizat?

Din care material trebuie să fie produs, caracteristică porilor, capacitatea de resorbție, proprietățile mecanice?

- Cum să fie produs?
- Ce tip de celule trebuie să fie utilizate?
- Sursa de celule?
- Expandarea până la numărul necesar fără să-și schimbe fenotipul?
- Ce substanțe regulatorii sunt necesare pentru stimularea proliferării celulare și sinteza matricei pentru facilitarea diferențierii celulelor stem?

# Regenerarea

- ***In Vitro***

- Se produce țesutul definitivat *in vitro* prin plasarea celulelor într-o matrice și apoi se implantează țesutul în corpul recipientului.

## ***In Vivo***

Se implantează *in vivo* biomatricea cu sau fără celule în corpul uman pentru a facilita regenerarea țesutului *in vivo*.



# Ingineria medicală a țesuturilor

## Creșterea grefelor *in Vitro*

- **Avantaje**
- Evaluarea țesuturilor până la implantare
- **Dezavantaje**
- Pentru incorporare țesutul trebuie să fie remodelat, fiindcă încă nu este posibilă arhitectura de stres *in vitro*.

## Creșterea grefelor *In Vivo*

### Avantaje

Incorporarea și formarea sub acțiunea factorilor reglatori intracorporali incluzând și acțiunea mecanică.

### Dezavantaje

Deplasarea și degradarea sub acțiunea stresului mecanic *in vivo*.

# Celule și matrice necesare pentru ingineria tisulară

<b>Connective Tissues (Musculoskeletal)</b>	Mitoză	Migrare	Biosinteză	Contrație
Osul	+	+	+	+
Cartilajul articular	-	-	-	+
ligamente/ tendoane	+	+	?	+
Discul Intervertebral	?	?	-	+
Meniscul	?	?	?	+

- **Mitoza inadecvată necesită celule din exterior.**
- **Migrare inadecvată necesită utilizarea unei trame, matrice.**
- **Biosinteza inadecvată necesită anumite gene sau factori de creștere.**

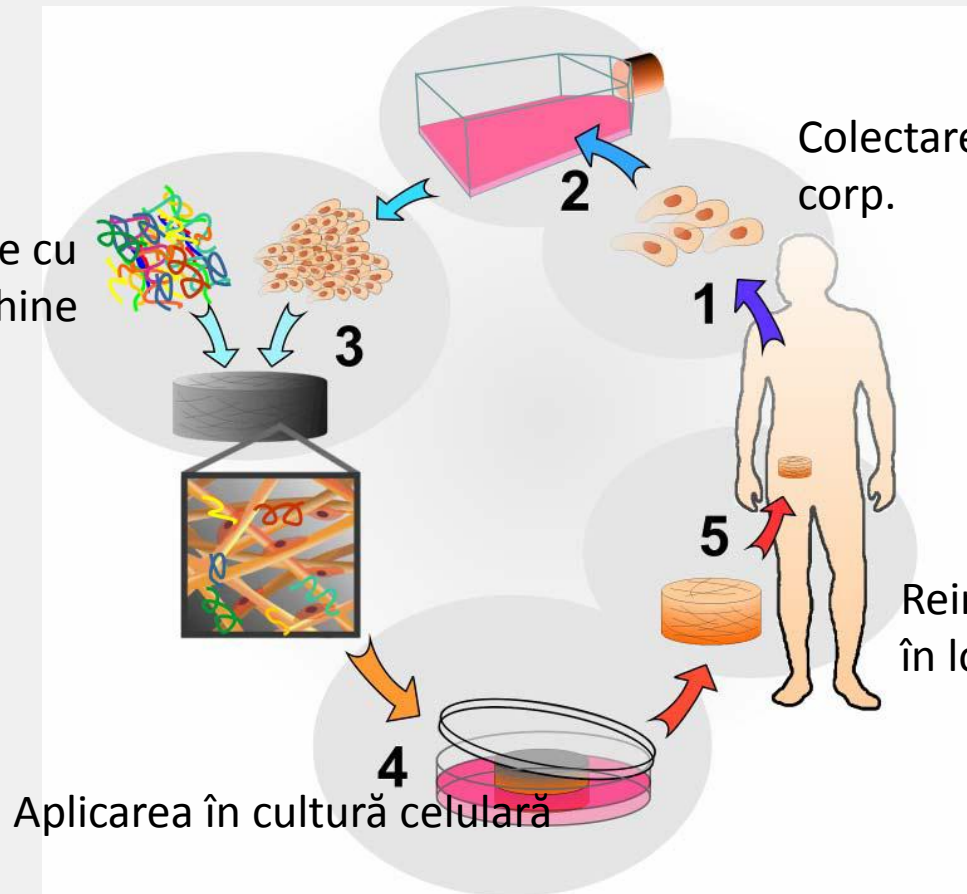
# Materialele

- “Naturale” - *colagenul*
- Matrice tisulară acelulară (submucoasa intestinală, etc.)
- Polimeri sintetici *poliglucozide, Polilactide.*
- Ceramice *Biogsticlă, hidroxiapatite*

# Ingineria tisulară

Expandarea celulară

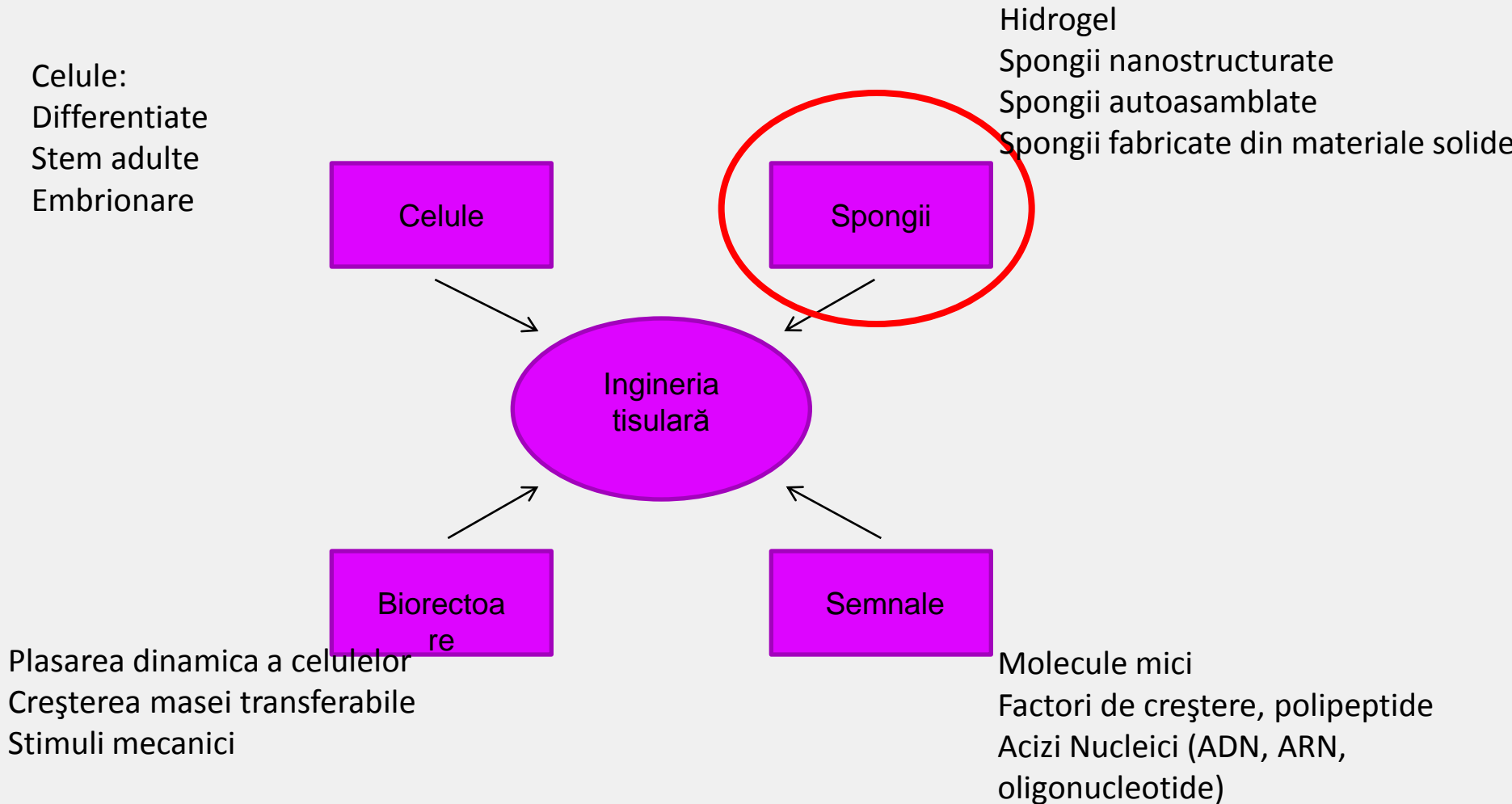
O matrice corespunzătoare cu factori de creștere și citochine necesare.



Colectarea celulelor din corp.

Reimplantarea țesutului în locul deteriorat.

# Ingineria tisulară



# Configurare 3D: Materials

- Pentru ca un material să regenereze un material destinat țesuturilor trebuie să:
  - Stimuleze;
    - creșterea celulelor/differentierea
    - atașarea celulelor,
    - depozitarea matricei extracelulare,
- Ca un template pentru creșterea țesuturilor in 3D
- pentru implantare, să fie resorbabile
- Pentru producerea medicamentelor să fie insolubile

- Ce este Nanotehnologia?
- De ce se folosește nanotehnologia pentru ingineria tisulară?
- Cum nanotehnologia se aplică în ingineria tisulară?



# Materiale

## Polimeri sintetici

- Polyglycolic acid (PGA)
  - Highly crystalline, hydrophilic, byproduct is glycolic acid
- Polylactic acid (PLA)
  - Hydrophobic, lower melting temperature, byproduct is lactic acid
- Polydioxanone (PDO)
  - Highly crystalline
- Polycaprolactone (PCL)
  - Semi-crystalline properties, easily co-polymerized, byproduct caproic acid
- Blends
  - PGA-PLA
  - PGA-PCL
  - PLA-PCL
  - PDO-PCL

## Polimeri naturali

- Elastin
- Gelatin collagen
- Fibrillar collagen
- Collagen blends
- Fibrinogen

## Utilizare

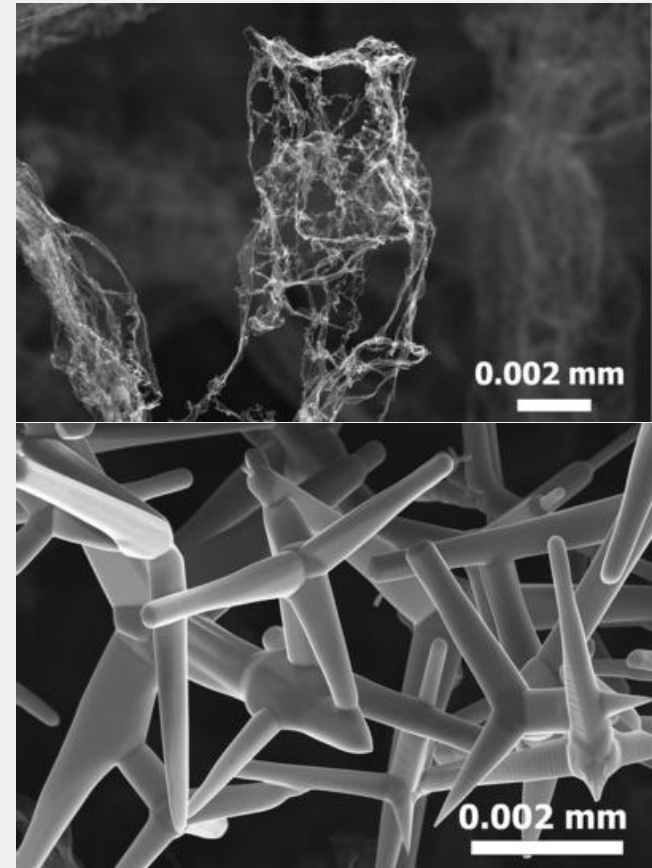
- Synthetic polymers
  - ❖ PGA, PLA and PLGA most commonly used
  - ❖ PDO most similar to Elastin collagen blend (limited by shape memory)
  - ❖ PCL most elastic and mixed frequently with other materials
  - ❖ Provide nanoscale physical features
- Natural polymers
  - ❖ Collagen Type I & III + PDO: best possible match for blood vessels

## World's Lightest Material Unveiled, Metal Is 99.9% Air

A team of researchers from UC Irvine, HRL Laboratories and the California Institute of Technology have developed the world's lightest material – with a density of 0.9 mg/cc – about one hundred times lighter than Styrofoam™. Their findings appear in the Nov. 18 issue of Science.



### Aerographite - a conductor as light as air



***The tetrapods of the zinc oxide form an ideal basis for the robust material Aerographite.***

<http://www.electroline.com.au/articles/55944-Aerographite-a-conductor-as-light-as-air>

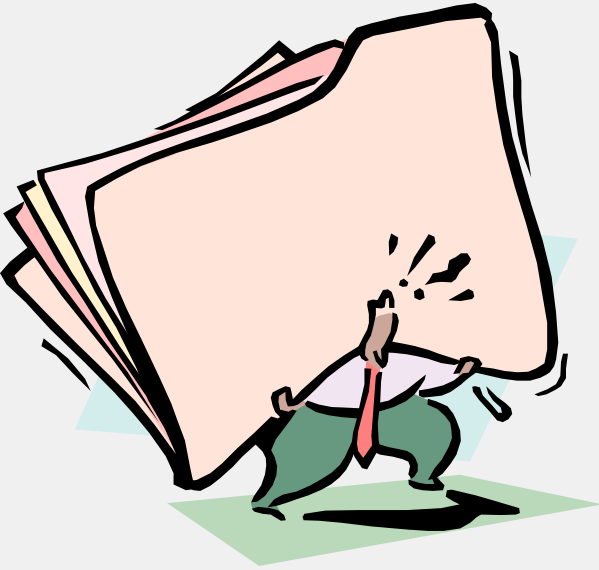
- Matricea osoasă demineralizată, ce reprezintă substratul organic al țesutului osos, compus din fibre de colagen și substratul de bază glucido-proteic.
- Matricea osoasă este obținută din os compact, demineralizat în soluție de acid clorhidric, ulterior fiind păstrată în soluție de alcool etilic.

# Bioreactoare

- Stem cells can be grown in 'beads'
- Differentiation can occur within beads cultured in defined medium e.g. to bone
- Scalable production of stem cells can be achieved in 3D culture

# Avantajele Bioreactorului

- Metodă universală
- Echipament automatizat
- Reducerea timpului de creștere de la (45 la 15 zile)
- Roadă crescută (+500%) pentru producție industrială



**Promiteți-vă că veți face tot ce este posibil pentru a vă atinge obiectivele; aveți încredere în viață, aveți încredere în voi înșivă.**

**Vă mulțumesc pentru atenție!!**