

# Užití bioreaktorů v tkáňovém inženýrství

## Samostatná práce



Tento článek je editován studenty 2. LF UK v rámci plnění jejich studijních povinností (seminární práce – vypracování zkouškových otázek z biofyziky). Ostatní uživatele prosíme, nezasahujte výrazněji do jeho tvorby až do doby, než bude práce odevzdána (s výjimkou malých editací – opravy překlepů, pomoci s formátováním apod.). Máte-li nějaké náměty či připomínky, uveďte je prosím v diskusi ([https://www.wikiskripta.eu/w/Diskuse:U%C5%BEit%C3%AD\\_bioreaktor%C5%AF\\_v\\_tk%C3%A1%C5%88ov%C3%A9m\\_in%C5%BEen%C3%BDrstv%C3%AD](https://www.wikiskripta.eu/w/Diskuse:U%C5%BEit%C3%AD_bioreaktor%C5%AF_v_tk%C3%A1%C5%88ov%C3%A9m_in%C5%BEen%C3%BDrstv%C3%AD)). V případě potřeby kontaktujte autory stránky – naleznete je v historii ([https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=U%C5%BEit%C3%AD\\_bioreaktor%C5%AF\\_v\\_tk%C3%A1%C5%88ov%C3%A9m\\_in%C5%BEen%C3%BDrstv%C3%AD&action=history](https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=U%C5%BEit%C3%AD_bioreaktor%C5%AF_v_tk%C3%A1%C5%88ov%C3%A9m_in%C5%BEen%C3%BDrstv%C3%AD&action=history)).

Stránka byla naposledy aktualizována v sobotu 15. 8. 2020 v 11.47.

Jedná se o zařízení, které využívá mechanické prostředky k ovlivňování biologických procesů během kultivace buňky. Bioreaktory se tak stávají velmi užitečným pomocníkem při vývoji nové tkáně in vitro tím, že poskytují buňkám biochemické a fyzikální regulační signály a podporují je v diferenciaci a/nebo k produkci extracelulární matrix před implantací in vivo. Bioreaktory, v nichž probíhají biologické či biochemické procesy, utvářejí důkladně monitorované a striktně kontrolované prostředí.

## Základní funkce bioreaktorů

Obecně vzato bioreaktory jsou konstruovány k vykonávání následujících funkcí:

- poskytují prostorově rovnoměrné rozložení buněk
- podporují buňky v diferenciaci a/nebo k produkci extracelulární matrix
- udržují požadovanou koncentraci plynů a živin v kultivačním médiu
- usnadňují hromadný transport do tkáně
- aplikují biofyzikální signály ke konstrukci a formování tkáně in vitro před implantací in vivo
- poskytují informace o utváření 3D tkáně

## Požadavky při konstruování bioreaktorů

### Jednoduchost

Bioreaktor by měl být konstruován co možná nejjednodušeji (např. vyhnout se obráběné výklenky) – tak se zabráni vytvoření živné půdy pro mikroorganismy. Jednoduchost konstrukce také znamená rychlé sestavení a rozmontování. Jednoduchost je též důležitá pro snadné a rychlé umístění buněk. Čím kratší dobu budou buňky mimo inkubátor, tím se sníží riziko úspěšnosti experimentu.

### Výběr vhodných materiálů

Výběr materiálu je velice důležitý z toho hlediska, že nevhodný materiál by mohl vyvolat negativní reakci s kultivovanou tkání – materiály k vytvoření bioreaktoru musí být proto biologicky kompatibilní. Použití většiny kovů je tedy nemožné, avšak nerezová ocel může být použita v případě, že se chromové ionty nevytlačují do tkáňového média. Mnohé plasty splňují požadavky, avšak existují další omezení výběru materiálů, které musí být rovněž vzaty v úvahu. Materiály musí být použitelné při teplotě 37 °C ve vlhkém prostředí. A musí být možné je sterilizovat, mají-li být znovu použity.

Po různé komponenty bioreaktoru jsou zapotřebí jiné materiály – vlastnost materiálu závisí na úloze dané součástky – např. průhledné materiály jsou vhodné pro monitorování dané kultivace, zatímco pružné a ohybné trubice mohou pomoci s montáží bioreaktoru.

### Efektivnost

Je vhodné též sestavit bioreaktor tak, aby bylo možné kultivovat více scaffoldů najednou.

## Typy bioreaktorů



Bioreaktor pro kultivaci cévních štěpů

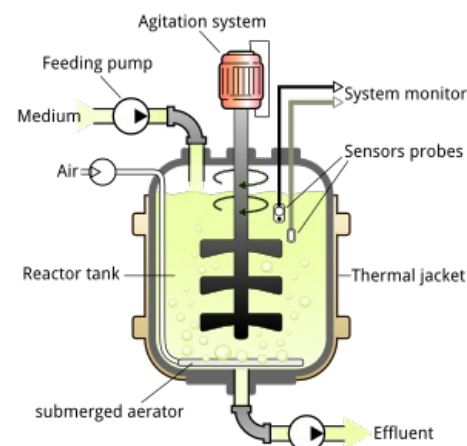
Mnoho studií tkáňového inženýrství uplatňuje tradiční metody (statické dozrávání – tzv. static seeding), které vedou ke strukturám obsahující tenkou vrstvu tkáně na bázi scaffoldu v důsledku gravitačního usazování buněk. Naproti tomu míchání (třepaná baňka) a proudění (perfuzní proudění) zlepšuje architekturu tkáně.

Nejužívanější typy bioreaktorů, které mají rozličné uplatnění v tkáňovém inženýrství (uvnitř těchto bioreaktorů proudí médium přes a/nebo okolo scaffoldu, což umožňuje výměnu živin a odpadních látek uvnitř scaffoldu):

- Spinner Flask Bioreactors
- Rotating Wall Bioreactors
- Compression Bioreactors

## Spinner Flask Bioreactors

Jeden ze základních, nejjednodušších a nejfrekventovaněji užívaných bioreaktorů. Základem tohoto typu bioreaktoru je tzv. spinner flask (třepací baňka), která vyvolává mísení kyslíku a živin skrz médium (a snižuje na povrchu konstruktu koncentraci hraniční vrstvy). Uvnitř třepací baňky jsou scaffoldy (buněčná lešení) zavěšeny na konci jehel. Zavedené magnetické míchadlo promíchává médium. Při upevnění scaffoldů je brán zřetel na pohybující se kapalinu. Proudění napříč povrchem scaffoldů vede k vytvoření malých vírů. Skrze tyto víry je kapalina transportována do středu scaffoldu. Třepací baňky mají obvykle objem okolo 120 ml, dosahují přibližně 50–80 otáček za minutu a 50 % média, které je v nich použito, se mění každé dva dny. Konstrukty chrupavky rostou do tloušťky 0,5 mm při použití tohoto typu bioreaktoru. (při statické metodě dosahuje konstrukt chrupavky 100–150  $\mu\text{m}$  tloušťky) Nicméně i tato tloušťka je stále příliš slabá pro klinické využití. Mezi nevýhodu tohoto bioreaktoru patří nestejnoměrná distribuce kyslíku a živin uvnitř scaffoldu, což má za následek, že buňky se usazují převážně na periferii konstruktu.



Princip bioreaktoru

## Rotating Wall Bioreactors

Rotating wall bioreactor byl vyvinut organizací NASA. Původně byl totiž tento typ bioreaktoru zkonstruován pro ochranu experimentálních buněčných kultur před silami v průběhu vzletu a přistání kosmického raketoplánu. Nicméně toto zařízení se prokázalo být užitečným i v oboru tkáňového inženýrství na planetě Zemi. V rotating wall bioreaktoru jsou buněčné nosiče (scaffoldy) volně umístěny v médiu, které se nachází v nádobě. Bioreaktor se skládá z komory cylindrického tvaru, ve které vnější a/nebo vnitřní stěny jsou schopné rotace ve stálé úhlové rychlosti. Rotace umožní ustanovení rovnováhy mezi gravitační silou (směřující dolů) a hydrodynamickou odporovou silou (směřující nahoru), která působí na každý buněčný nosič (scaffold). Výsledkem rovnováhy těchto sil zůstávají scaffoldy suspendované v médiu. Dynamické laminární proudění vytvořené rotujícím kapalným prostředím je efektivním způsobem, jak redukovat omezení spojená s difúzí živin a metabolitů. Média mohou být vyměněna dočasným zatavením rotace nebo přidáním čerpadla kapaliny, pomocí něhož je médium neustále načerpáváno do nádoby. Tento bioreaktor stejně jako spinner flask bioreactor poskytuje více homogenní buněčnou distribuci než statické kultury. Bioreaktor rotuje rychlostí 15–30 otáček za minutu. Rychlost rotace musí být přiměřená tak, aby scaffoldy zůstaly v suspenzi. Po sedmi měsících kultivace dosáhne v tomto bioreaktoru chrupavčitá tkáň tloušťky 5 mm.

## Compression Bioreactors

Compression bioreactor je dalším široce užívaným bioreaktorem. Tyto bioreaktory jsou obecně využívány v tkáňovém inženýrství chrupavky a mohou být konstruovány tak, že je zde užito jak statického, tak dynamického zatížení. Pouze statické zatížení by mělo negativní efekt na utváření chrupavky, jelikož dynamické zatížení představuje fyziologické zatížení. Compression bioreactors se skládají obvykle z motoru, který vyvolává lineární pohyb, a z kontrolních mechanismů, které mění stupně a frekvence. Signalizační generátor je použit ke kontrolování systému zatěžující buňky, zatímco transformátory jsou použity k měření odezvy zatížení a mění hodnotu zatížení pomocí tzv. platens (ploché kovové plátky), které rovnoměrně rozprostírají zatížení.

## Odkazy

### Související články

- Nanotechnologie v medicíně
- Umělé tkáně
- Materiály v regenerativní medicíně
- Tkáňové inženýrství

### Zdroje

- KOLEKTIV, Autorů, et al. Tissue Engineering : From Wikipedia, the free encyclopedia [online]. Wikipedia, ©2014. Poslední revize 2014-12-03, [cit. 2014-12-04]. <[https://en.wikipedia.org/wiki/Tissue\\_engineering](https://en.wikipedia.org/wiki/Tissue_engineering)>
- Eberli, D. (Ed).. Tissue Engineering [online]. 1. vydání. InTech, 2010. 524 s. Dostupné také z <<https://www.intechopen.com/books/tissue-engineering>>. ISBN 978-953-307-079-7.
- Andrades, Jose A. (Ed).. Regenerative Medicine and Tissue Engineering [online]. 1. vydání. InTech, 2013. 853

