

Umělé tkáně



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:Um%C4%9B%C3%A9_tk%C3%A1n%C4%9B). V případě potřeby kontaktujte autory stránky – naleznete je v historii (https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Um%C4%9B%C3%A9_tk%C3%A1n%C4%9B&action=history).

Stránka byla naposledy aktualizována ve čtvrtek 24. 10. 2019 v 14.56.

Umělé tkáně

Umělé tkáně jsou tkáně vytvořené synteticky za účelem nahradit poškozenou nebo nefunkční tkáň pacienta. Neznamená to však, že celá tato struktura je umělá, je pouze uměle vytvořená. Jako stavební materiál totiž používáme buňky z léčeného pacienta, z dárce stejného druhu nebo dárce druhu odlišného. Buňky ale musíme extrahovat, vyrobit je neumíme. Co vyrobit umíme, je takzvané lešení – scaffold. Tato konstrukce slouží jako opora pro živé buňky, které se do ní implantují, vytvoří si extracelulární matrix, a tím i sobě vlastní prostředí a dále už mohou fungovat bez scaffoldu, jako plnohodnotná tkáň.

Buňky jako konstrukční materiál

Tkáňové inženýrství využívá živé buňky jako konstrukční materiály. Například použití živých fibroblastů při výměně nebo opravě kůže nebo živých chondrocytů při opravě chrupavek. Buňky jsou k dispozici jako stavební materiál od roku 1998, kdy vědci z Geron Corporation zjistili, jak prodloužit telomery a vyrábět tak nekonečné buněčné linie. Před tímto objevem se laboratorní kultury zdravých, nenádorových savčích buněk dělily pouze po pevně daném počtu opakování, dokud nedospěly k tzv. Hayflickovu limitu.

Extrakce

Z tekutých tkání, jako je krev, jsou buňky získávány obvykle odstředěním nebo aferézou. Z pevných tkání je extrakce obtížnější. Tkáň se nejprve štěpí enzymy trypsinem nebo kolagenázou, aby byla odstraněna extracelulární matrix, ve které se buňky drží. Poté je možné volně plovoucí buňky extrahovat opět odstředěním, případně aferézou. ^[1]

Scaffold – nosič

Buňky jsou většinou implantovány nebo „naočkovány“ do umělé struktury, schopné podporovat trojrozměrnou tvorbu tkáně. Tyto struktury, obvykle nazývané scaffold, jsou často rozhodujícím faktorem úspěšné implantace. Musí být konstruovány tak, aby implantované buňky mohly jejich strukturu ovlivňovat a vytvářet si tak vlastní, přirozené mikroprostředí. Scaffold musí splňovat určité požadavky. Vysoká pórovitost a odpovídající velikostí pórů jsou nezbytné ke správnému usazení buněk ve struktuře a umožňují difúzi buněk a živin. Biologická degradovatelnost je také velmi důležitým faktorem, protože scaffold musí být absorbován do okolní tkáně bez nutnosti chirurgického odstranění, aby se nenarušila nově vzniklá tkáň. Rychlost, při které dochází k degradaci, se musí co nejvíce shodovat s rychlostí tvorby tkáně. To znamená, že když si buňky zhotoví vlastní mezibuněčný matrix, scaffold je schopen zajistit strukturální integritu ve tkáni a nakonec se rozpadne a opustí nově vzniklou tkáň, která převezme mechanické zatížení.

Materiály

Nejčastěji se při konstrukci nosiče používají nanovlákná kolagenu a některých polyesterů. Mezi běžně používané syntetické materiály patří PLA – kyselina polymlečná. Tento polyester se v lidském těle degraduje za vzniku kyseliny mléčné, která je přirozeně odbouratelná. Podobné materiály jsou kyselina polyglykolová (PGA) a polylaktid (PLA). Z přírodních materiálů je vhodný kolagen, chitosan, kyselina hyaluronová a fibroin. ^[2]

Výroba (syntéza) scaffoldu

Textilní technologie

Tyto techniky zahrnují všechny kroky, které byly úspěšně použity pro výrobu „netkaných“ sítí různých polymerů. Zejména netkané struktury polyglykolidů byly testovány pro tkáňové inženýrství. Bylo zjištěno, že tyto vláknité struktury jsou vhodné pro růst několika různých typů buněk, ale jejich nevýhodou je příliš vysoká pórovitost a pravidelnosti velikosti pórů.

SCPL (Solvent Casting & Particulate Leaching)

Tento postup umožňuje přípravu porézních struktur s pravidelnou pórovitostí, ale s omezenou tloušťkou. Nejdříve se polymer rozpustí ve vhodném organickém rozpouštědle (např. kyselina polymléčná se rozpouští v dichlormethanu), pak roztok se odlévá do formy naplněné částicemi porogenu. Porogen může být anorganická sůl, jako je například chlorid sodný nebo krystaly sacharózy, želatinové kuličky, nebo parafínové kuličky. Velikost částic porogenu ovlivňuje velikost pórů scaffoldu. Poté, co roztok polymeru obsadí částice porogenu, rozpouštědlo se nechá zcela odpařit, pak se kompozitní struktura ve formě ponoří do lázně, která obsahuje kapalinu vhodnou pro rozpuštění porogenu. V případě chloridu sodného, sacharózy a želatiny je to voda a v případě parafínu alifatické rozpouštědlo, jako je hexan. Jakmile je porogen úplně rozpuštěn, získáváme samostatnou pórovitou strukturu. Nevýhodou struktur získaných touto metodou je, že můžeme získat pouze struktury o malé tloušťce a při výrobě musíme dbát na úplné odstranění zbytků organického rozpouštědla, které bylo použito, protože by mohlo narušit buňky, které budeme do scaffoldu implantovat.

Plynová pěna

Tato technika využívá jako porogen plyn. Nejdříve se kotoučová konstrukce požadovaného polymeru připraví pomocí lisování v zahřáté formě. Tyto kotouče se potom umístí do komory, kde jsou vystaveny vysokému tlaku CO₂ po dobu několika dnů. Tlak uvnitř komory se postupně vyrovnává s tlakem atmosférickým. Během tohoto postupu se póry vytváří molekulami oxidu uhličitého, který je postupně opouští, takže scaffold má ve výsledku houbovitou strukturu. Hlavními problémy vyplývajícími z této techniky jsou použití nadměrného tepla při lisování, což vylučuje použití jakékoli tepelně degradovatelné látky do polymerní matrice a nedostatečná propojenost pórů.

Emulgace a sušení mrazem

Tato technika nevyžaduje použití pevného porogenu jako SCPL. Nejprve se syntetický polymer rozpustí ve vhodném rozpouštědle (např. kyselina polymléčná v dichlormethanu), pak se k roztoku přidá voda a tyto dvě kapaliny vytvoří emulzi. Předtím, než se obě fáze mohou oddělit, se odlévá emulze do formy a rychle zmrazí pomocí ponoření do kapalného dusíku. Zmrazená emulze se následně lyofilizuje pro odstranění dispergované vody a rozpouštědla a ve formě zůstane ztuhlá porézní polymerní struktura. Zatímco emulgace a lyofilizace umožňují rychlejší přípravu ve srovnání s SCPL, protože nevyžaduje časově náročné vyluhování, stále vyžaduje použití rozpouštědel. Navíc, velikost pórů je relativně malá a pórovitost je často nepravidelná. Lyofilizace sama o sobě je také běžně používaná technika pro výrobu scaffoldu. Zejména se používá k přípravě houbovitých kolagenových struktur. Kolagen se rozpustí v roztoku kyseliny octové nebo kyseliny chlorovodíkové, roztok se poté odlije do formy, zmrazí kapalným dusíkem a lyofilizuje.

TIPS (Thermally Inducted Phase Separation)

Podobně jako u předchozí techniky tento postup dělení fází vyžaduje použití rozpouštědla s nízkou teplotou tání plus v tomto případě je další podmínkou že, musí snadno sublimovat. Vhodný je například dioxan, který se používá k rozpouštění kyseliny polymléčné. Následné oddělení fází se indukuje přidáním malého množství vody, tím vznikne fáze na polymer chudá a fáze na polymer bohatá. Následuje ochlazení pod teplotu tání rozpouštědla a vakuové sušení, při kterém rozpouštědlo sublimuje. Tímto postupem získáme hotový scaffold. Tato metoda má stejné nevýhody jako emulgace a lyofilizace.

Elektrostatické

Vysoce univerzální technika, která může být použita k výrobě kontinuálních vláken od mikrometrů po nanometry. V typickém elektrostatickém nastavení se roztok přivádí na zvlákňovací trysku a na její špičce je aplikováno vysoké napětí. Nahromadění elektrostatického odporu uvnitř nabitého roztoku způsobí, že vzniká tenký vláknitý proud. Pomocí v roztoku umístěné kolektorové desky nebo tyče s opačným nábojem se vytváří kontinuální vlákna, ze kterých vzniká vysoce porézní síť. Hlavními výhodami této techniky je její jednoduchost a variabilita. V laboratorních podmínkách je k této metodě zapotřebí zdroj napětí o hodnotě přibližně 30 kV, injekční stříkačka s plochým hrotem a vodivý kolektor. Úpravou podmínek, například vzdálenosti kolektoru, velikosti přiloženého napětí, nebo průtokové rychlosti roztoku, můžeme zásadně změnit konstrukci scaffoldu.

CAD / CAM technologie

Většina výše uvedených technik má omezené možnosti, pokud jde o kontrolu porézности a velikosti pórů. S podporou počítače lze tyto konstrukční a výrobní parametry kontrolovat. Nejprve je trojrozměrná struktura navržena CAD softwarem. Pórovitost je regulována pomocí algoritmů softwaru. Scaffold je pak realizován pomocí inkoustového tisku, kdy jako „inkoust“ slouží polymerní prášek nebo polymerní tavenina.

Biosyntetické orgány

Pokud všechny terapeutické prostředky selžou a funkce selhávajícího orgánu již není slučitelná se životem pacienta, přistupuje se k náhradám částí nebo celých orgánů. Jednou z možností je transplantace tkání z jiných organismů, je nezbytné dodržet přísná kritéria (např. kompatibilita krevní skupiny, předchozí anamnéza dárce), následná, dlouhodobá, farmakologická podpora imunosupresivy a úprava režimu. I přes to není zaručen úspěch transplantační péče. Další možností je syntéza částí, nebo celých orgánů umělých.

Biosyntetické orgány jsou uměle vytvořená ústrojí, která se implantují či integrují do lidského organismu za účelem náhrady nefunkčního původního orgánu. Syntetické orgány nemusí přímo souviset s podporou základních fyziologických funkcí, nicméně mohou velmi výrazně zlepšit kvalitu života příjemce. Tyto orgány jsou energeticky independentní, nevyžadují napojení ke zdroji energie (pravidelné nabíjení baterií), ani jiným stacionárním zdrojům (filtry, chemické suplementy).

Indikace

Indikací k vytvoření a implementaci takového orgánu mohou být:

- podpora základních životních funkcí a tím odvrácení náhlé smrti organismu (např. umělé srdce);
- rapidní zlepšení kvality života pacienta, navrácení soběstačnosti (např. umělá končetina);
- zlepšení kvality sociálního života (např. kochleární implantáty);
- kosmetické úpravy po nádorových onemocnění či úrazech.

Orgány

Srdce

Implantace celého srdce se provádí u pacientů bezprostředně ohrožených na životě, i přes vyspělé možnosti dnešní medicíny se nepodařilo vytvořit syntetické srdce které by plně nahrazovalo funkci původního orgánu na dobu delší než 18 měsíců. Nicméně se nahrazují i části poškozeného myokardu. Například k náhradě insuficientní chlopně se používá umělý materiál, nejčastěji slitina ušlechtilých kovů a umělých hmot. Taková chlopeň podléhá mechanickému opotřebení a vyžaduje trvalou antikoagulační léčbu. Další částí srdce, která se již standardně nahrazuje, je primární srdeční pacemaker, tedy zdroj impulsů, které přimějí srdce ke stahu. Zařízení může mít funkci implantovaného defibrilátoru, nebo kontinuální stimulace.

Mozek

Transplantaci mozku, ani jeho částí se i přes vyspělé možnosti dnešní medicíny nepodařilo uskutečnit. Nicméně se do mozku mohou implantovat různé stimulatory, které vysíláním elektrických impulsů stimulují mozkovou tkáň a eliminují tak symptomy různých onemocnění, jako jsou epilepsie, deprese, tremor, či Parkinsonova choroba.

Ucho

I přes to, že s umělými kochleárními implantáty není obnovena kvalita vnímání zvuku na fyziologickou úroveň, pacient je s nimi schopen vnímat zvuky okolí a řeč. Což má pro neslyšící nepopíratelný význam. Kochleární implantát je elektrické zařízení, které filtruje zvuk hovoru od okolního ruchu a zvuk převádí na elektrické impulsy, které dále posílá do středního ucha na sluchové ústrojí.

Průdušnice

První syntetická průdušnice byla vyrobena v roce 2011 ve Švédsku. Onkologickému pacientovi byly odebrány kmenové buňky z hýždě, podpořeny růstovými faktory a implantovány na nosič ve tvaru fyziologické průdušnice.

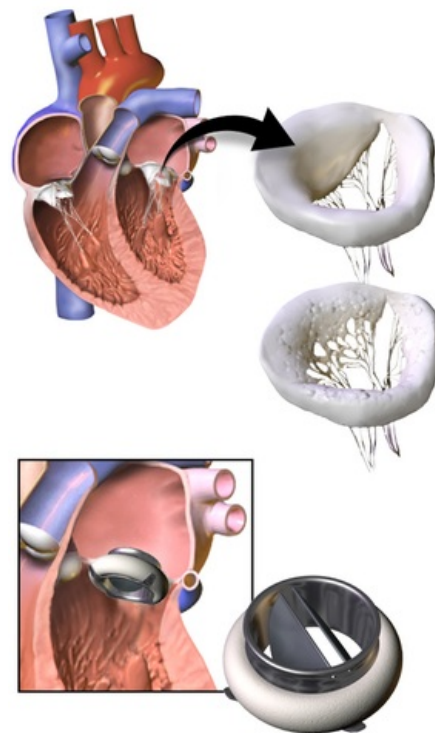
Játra

Výzkum syntézy umělých jater je stále v raném vývoji. Prozatím byla vytvořena jen provizorní játra, která umožní poškozenému původnímu orgánu zregenerovat, nebo dočasně nahradí jeho funkci, než bude umožněna transplantace. Syntetická játra se vyrábí z hepatocytů kladených na nosič.

Slinivka břišní

Vývoj syntetické slinivky břišní je stále v procesu. Některé techniky využívají živých buněk Langerhansových ostrůvků zasazených do nosičů ze speciálních materiálů, které by předešly imunitní odpovědi organismu, a tím zahubení implantovaných funkčních buněk. Syntéza slinivky břišní je významná zejména pro léčbu diabetu.

Močový měchýř



Srdeční chlopeň

Hlavní metody pro nahrazení funkce močového měchýře zahrnují jednak přesměrování toku moči, vytvoření měchýře in situ, nebo vytvoření ze střevní tkáně.

Topořivé těleso

Jednou z možností léčby poruchy erekce je implantace manuálně nafukovacích balónků. Což je velmi drastická a ireverzibilní chirurgická metoda určena těm pacientům, u kterých již všechny ostatní druhy léčby selhaly.

Vaječníky

U žen postižených onkologickým onemocněním, které byly vystaveny chemoterapii nebo ozařování, často dochází k poškození oocytů a brzkému nástupu menopauzy. Pomocí 3D technologie a Petriho misky byly z vlastní tkáně pacientky vytvořeny syntetické vaječníky, které slouží k in vitro dozrání nezralých oocytů.

Končetiny

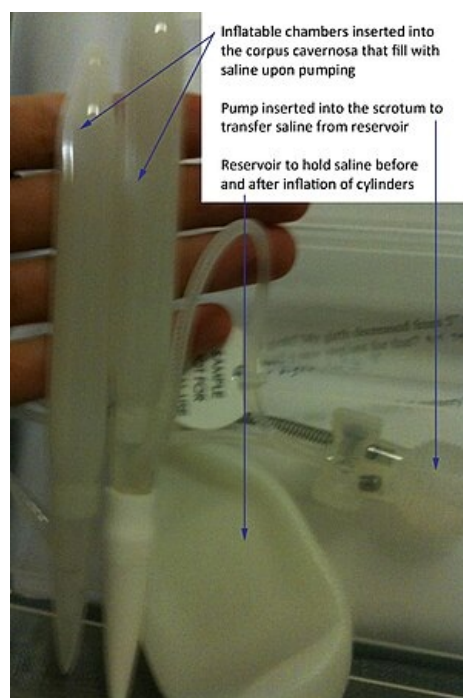
Snaha o náhradu amputovaných končetin sahá až do středověku. Původní protézy byly těžké, nepohodlné, nepohyblivé a neuspokojivé. Vývoj končetinových náhrad se posunul kupředu díky válečným sporům. V dnešní době jsou náhrady již tak kvalitní, že neinformovaný pozorovatel nemusí absenci původní končetiny vůbec poznat. Ba naopak, v posledních letech se diskutuje o výhodách použití končetinových protéz při sportu oproti fyziologickým končetinám.

Tkáně

Syntetická výroba tkání obsahujících kolagen je značně rozšířená. Laboratorně vypěstovaná chrupavka již byla úspěšně použita při náhradě kolenního kloubu. Při léčbě popálenin je velmi přínosná syntetická kůže, vyrobená z lidských kožních buněk zalitých v hydrogelu. Umělá svalová tkáň byla zatím vytvořena v podobě požitelného zvířecího masa.



Kochleární implantát



Implantát topořivého tělesa

Zdroje

- Wikipedia: The Free Encyclopedia. *Tissue engineering* [online]. [cit. 2014-03-12]. <https://en.wikipedia.org/wiki/Tissue_engineering>.
- Wikipedia: The Free Encyclopedia. *Artificial organs* [online]. [cit. 2014-10-11]. <https://en.wikipedia.org/wiki/Artificial_organ>.
- MALCHESKY, Paul S.. *Artificial organs* [online]. [cit. 2014-10-11]. <<http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/%28ISSN%291525-1594>>.

Reference

1. [Tkáňové inženýrství]
2. [Tkáňové inženýrství]