

ORGANY

INŻYNIERIA GENETYCZNA



z probówki

Z roku na rok inżynieria tkankowa osiąga coraz bardziej imponujące wyniki w tworzeniu funkcjonalnych zamienników uszkodzonych tkanek i narządów. Pełna odbudowa tkanki opiera się na zbudowaniu odpowiednich rusztowań podtrzymujących jej strukturę, a także kontroli i utrzymywaniu wymaganych warunków fizykochemicznych, umożliwiających poprawny wzrost i rozwój komórek. Obecnie najpopularniejsze (i sprawne) okazują się implanty skóry oraz chrząstek. Udało się to osiągnąć dzięki połączeniu wiedzy medycznej z nowoczesną technologią – badania nad wzrostem i różnicowaniem się komórek, przebieg sygnalizacji międzykomórkowej czy właściwości fizyczne biomateriałów wymagają połączenia sił biotechnologii, bioinformatyki i medycyny regeneracyjnej.

Czego użyć?

Podstawą działań inżynierii tkankowej jest manipulacja żywymi komórkami, które tworzą określoną tkankę. Odkrycie pod koniec XX stulecia metody pozwalającej przedłużać telomery (a tym samym uniemożliwiać linie komórkowe) stanowiło przełom w prowadzeniu kultur tkankowych. Wcześniej hodowanie kultury zdrowych, nie zagrożonych nowotworzeniem kultur, ograniczone było liczbą ich dopuszczalnych podziałów (limit Hayflicka, por. **Ważne definicje**).

Uzyskanie komórek z krwi (głównie przez odwirowanie) jest znacznie łatwiejsze niż ekstrakcja z tkanki stałej. Wymaga to bowiem rozdrobnienia tkanki i rozpuszczenia macierzy pozakomórkowej z wykorzystaniem enzymów takich jak tripsyna czy kolagenaza. Dopiero taką uzyskaną płynną masę komórkową poddaje się rozdzielaniu.

W inżynierii tkankowej zastosowanie znajdują różne rodzaje komórek. Komórki bezpośrednio pozyskiwane z organizmu biorcy nazywane są **komórkami autologicznymi**. Ich wykorzystanie niesie za sobą znacznie mniejsze ryzyko odrzucenia przeszczepu czy silnej odpowiedzi układu immunologicznego, pozyskanie tego typu komórek nie jest jednak łatwe. Obecnie największe zastosowanie mają multipotencjalne komórki obecne w szpiku kostnym lub tkance tłuszczowej

Obecnie największe zastosowanie mają multipotencjalne komórki obecne w szpiku kostnym lub tkance tłuszczowej pacjenta (tzw. macierzyste komórki mezenchymatyczne), ponieważ mogą się one różnicować w różne rodzaje tkanki łącznej.

pacjenta (tzw. macierzyste komórki mezenchymatyczne), ponieważ mogą się one różnicować w różne rodzaje tkanki łącznej.

Komórki pobrane od organizmów o identycznym materiale genetycznym (np. bliźniąt jednojajowych) nazywane są **komórkami izogenicznymi**, natomiast te uzyskane od dawcy z tego samego gatunku – **allogenicznymi**.

Szczególnie interesujące jest wykorzystanie w inżynierii tkankowej komórek ksenogenicznych (pochodzących od innych gatunków, np. w przypadku implantów sercowo-naczyniowych od świni). Ich użycie obarczone jest dużym ryzykiem odrzucenia czy przeniesienia obcych gatunkowo patogenów.

Wyróżniono również podział na komórki **pierwotne** (pobrane z organizmu żywego) i **wtórne** (pobrane z banku komórek).

Oczywiście największym zainteresowaniem badaczy cieszą się komórki macierzyste, które cechuje brak zróżnicowania i tym samym zdolność do nieograniczonej liczby podziałów. Naukowcy uzyskują je z embrionów (tzw. komórki zarodkowe) lub z organizmu dorosłego (tzw. komórki somatyczne). Różnią się one warunkami, w jakich muszą być hodowane oraz ilością struktur, w które mogą się różnicować.

Warto podkreślić, że tworzące organizmy komórki zróżnicowane, mimo iż jest ich najwięcej, stanowią bardzo trudny materiał hodowlany – cechuje je mała liczba podziałów i niewielka plastyczność.

Stworzenie planowanej, trójwymiarowej struktury tkanki lub organu wymaga podtrzymywania komórek w mikrośrodowisku zbliżonym do naturalnego. Komórki umieszcza się zatem na sztucznym rusztowaniu, mającym za zadanie utrzymywać je w odpowiedniej konfiguracji, jednocześnie umożliwiając ich migrację, dostarczanie czynników wzrostu i zapewnienie dyfuzji składników odżywczych, a także utrzymanie ustalonych parametrów fizykochemicznych.

Dobre rusztowanie charakteryzuje się zatem wysoką porowatością i otworami dopasowanymi do wymagań przeżyciowych komórek. Materiał, z którego wytworzone jest rusztowanie, powinien być biodegradowalny (pozwala to uniknąć zbędnych interwencji chirurgicznych). Materiały te nie mogą wywoływać odpowiedzi immunologicznej, czemu można zapobiec wykorzystując powłoki o odpowiednim ładunku elektrostatycznym, produkowane z substancji obojętnych dla układu odpornościowego. Dlatego też rusztowania wytwarzane są często ze związków naturalnie występujących w macierzy pozakomórkowej: kolagenu, fibryny czy pochodnych kwasu hialuronowego. Zapewnia to zazwyczaj bezproblemową i poprawną integrację z komórkami.

Prowadzenie hodowli komórek wymaga utrzymania ścisłych warunków, sprzyjających wzrostowi oraz rozwojowi tkanek czyli odpowiedniego natlenienia, równowagi kwasowo-zasadowej, temperatury, wilgotności, ciśnienia osmo-



ZAPAMIĘTAJ! WAŻNE DEFINICJE

KULTURA KOMÓRKOWA – utrzymywanie przy życiu i wykorzystywanie komórek organizmów żywych w warunkach *in vitro*. Prowadzone są hodowle komórek prokariotycznych (np. bakterii) i eukariotycznych (np. drożdży, komórek roślinnych, komórek ludzkich). Mogą być wykorzystane do badań nad wpływem analizowanych związków chemicznych (np. farmakologicznych) lub produkcji m.in. przeciwciał czy wektorów wirusowych wykorzystywanych w terapii genowej.

TELOMERY – powtarzające się sekwencje DNA z towarzyszącymi im białkami na każdym końcu chromosomu. W normalnych komórkach somatycznych (czyli wszystkich komórkach budulcowych organizmu, z wyjątkiem komórek rozrodczych) enzym telomeraza jest nieaktywna i stąd skracanie telomerów przy każdym podziale komórki. Telomeraza jest odwrotną transkryptazą i dobudowuje specyficzną sekwencję DNA (u kręgowców jest to TTAGGG).

HAMOWANIE KONTAKTOWE – ruchliwość komórek w hodowli jednowarstwowej ustaje, gdy zetkną się one z komórkami sąsiednimi.

ZAPROGRAMOWANIE PROCESU STARZENIA (Leonard Hayflick) – każda komórka nienowotworowa posiada zaprogramowaną określoną liczbę podziałów, zależną od wieku dawcy (około 50 pasażów w hodowli). Po przekroczeniu tej liczby komórka ginie.

PASAŻOWANIE – komórki dzielą się mitotycznie, dlatego dłuższy okres hodowli powoduje przepełnienie naczyń, zubożenie i zanieczyszczenie podłoża, a tym samym śmierć komórek. Pasażowanie polega na przeniesieniu komórek do nowych naczyń hodowlanych zawierających świeżą pożywkę.

tycznego czy stężenia substancji odżywczych. Utrzymanie tych warunków i optymalizację hodowli umożliwiają bioreaktory, chroniące hodowlę również przed drobnoustrojami.

Terapeutyczne strategie

Podstawową metodą terapeutyczną jest bezpośrednie przeszczepienie komórek pochodzących z kolonii komórek macierzystych. W przypadku komórek allogenicznych procedura często musi być poprzedzona terapią immunosupresyjną, aby zminimalizować ryzyko odrzucenia. Alternatywna metoda polega na dostarczaniu komórek do organizmu w specjalnych polimerowych otoczkach.

Kolejną metodę stanowi umieszczenie w organizmie pacjenta rusztowania, które następnie kolonizowane jest przez komórki gospodarza. Rusztowanie musi jednak zawierać substancje indukujące wzrost i migrację komórek. Metoda ta doskonale sprawdza się m.in. w przypadku leczenia rozległych oparzeń.

Najlepszym jednak rozwiązaniem jest wszczepianie kompletnych struktur, wyhodowanych *in vitro*. Wymaga to jednak olbrzymiego nakładu środków, restrykcyjnych metod hodowli, a ograniczenia technologiczne wciąż pozwalają jedynie na tworzenie prostych, nieskomplikowanych struktur (np. chrząstki, skóry). Problem stanowi również stworzenie w gotowej strukturze sieci naczyń krwionośnych, zapewniających przepływ płynów ustrojowych do komórek i dopasowujących się do naczyń krwionośnych organizmu pacjenta.

Rusztowania wytwarzane są często ze związków naturalnie występujących w macierzy pozakomórkowej: kolagenu, fibryny czy pochodnych kwasu hialuronowego.

Nieważne, jaka metoda zostanie zastosowana, niewątpliwie przyczyni się do przedłużenia życia pacjenta. Inżynieria tkankowa jest najszybciej rozwijającą się nauką biomedyczną, dającą szansę na poprawienie jakości życia wielu przewlekle chorych oraz wyleczenie tych przypadków, które często medycznie okazywały się zbyt skomplikowane.

mgr Joanna Stojak
Instytut Biologii Ssaków PAN,
Białowieża.

REKLAMA



Weź udział w nietypowym
WARSZTACIE DLA NAUCZYCIELI
w laboratorium biologicznym
Centrum Nauki Kopernik.

Centrum zaprasza nauczycieli przedmiotów ścisłych, przyrodniczych i zawodowych do udziału w bezpłatnych warsztatach w świetnie wyposażonym laboratorium biologicznym.



GRA NA NERWACH, czyli NEUROBIOLOGIA W PRAKTYCE!



Uczestnicy zlokalizują i wyizolują hipokamp z utrwalonego mózgu kręgowca. Będą mieli okazję zapoznać się z trójwymiarowym atlasem ludzkiego mózgu stworzonym przez prof. Wiesława Nowińskiego oraz przeprowadzą badania histologiczne wizualizujące ciała neuronów u kręgowca (Nissl).

Zapisy trwają, serdecznie zapraszamy!

Warsztaty są współfinansowane ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.

<http://www.kopernik.org.pl/projekty-specjalne/projekty-europejskie/projekt-przewrot-kopernikanski/nauczyciel-odkrywa/>