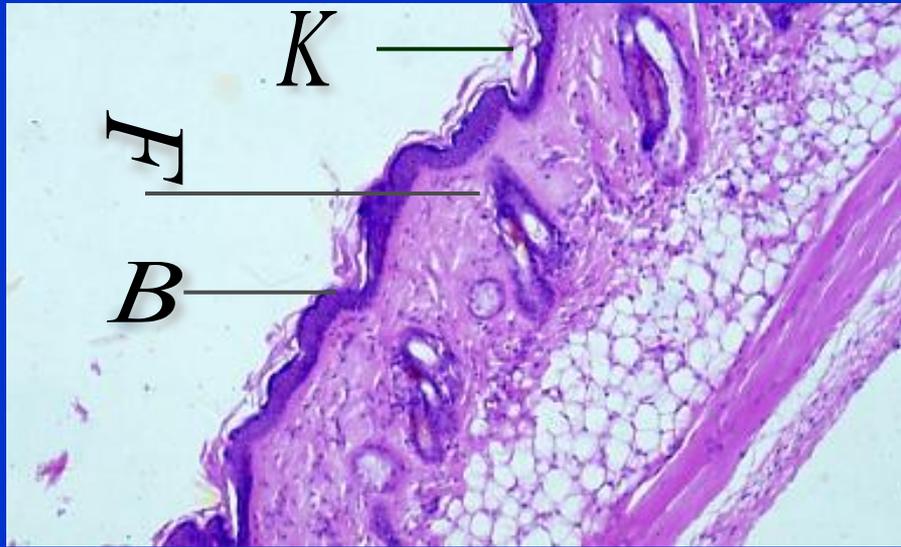


# Биоматериалы в тканевой инженерии

С.н.с. ИТЭБ РАН, к.ф.-м.н.  
Селезнева И.И.

## Кожа



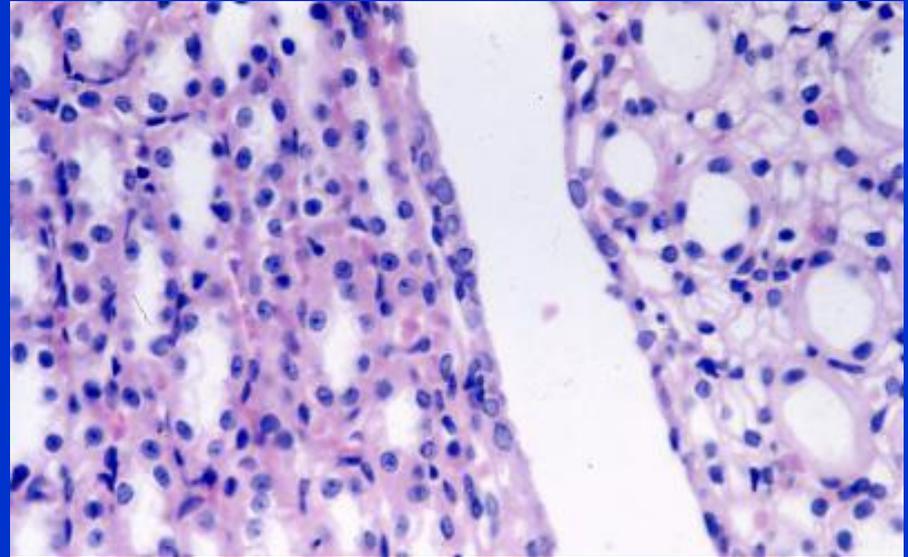
**Многослойный эпителий  
(эпидермис) защищает дерму**

В = базальный слой

F = клетки волосяных фолликул

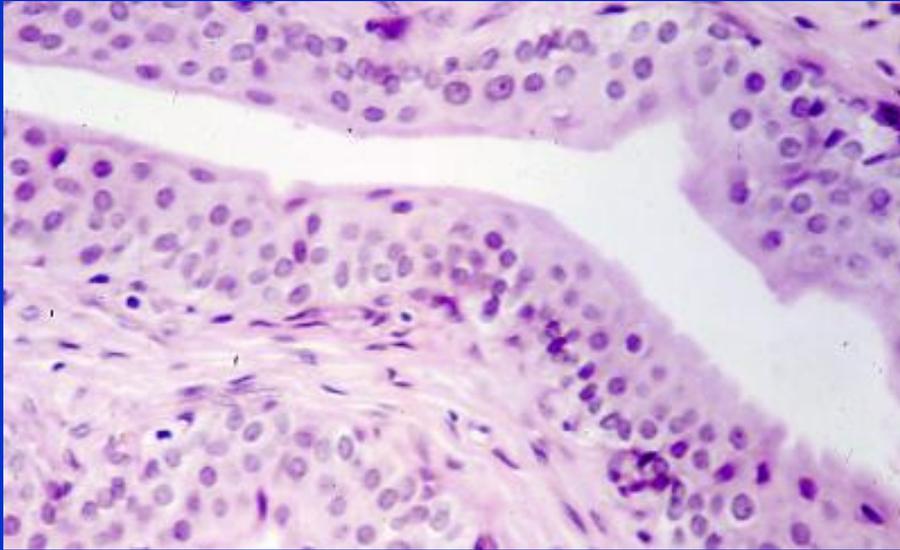
К = кератин

## Почка



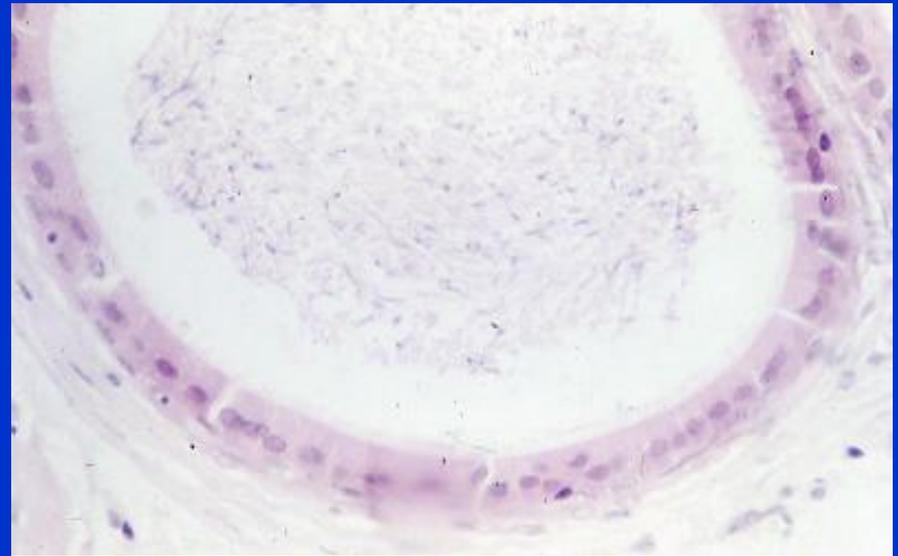
**Простой кубический эпителий  
покрывает поверхность почечных  
канальцев**

## Мочевой пузырь



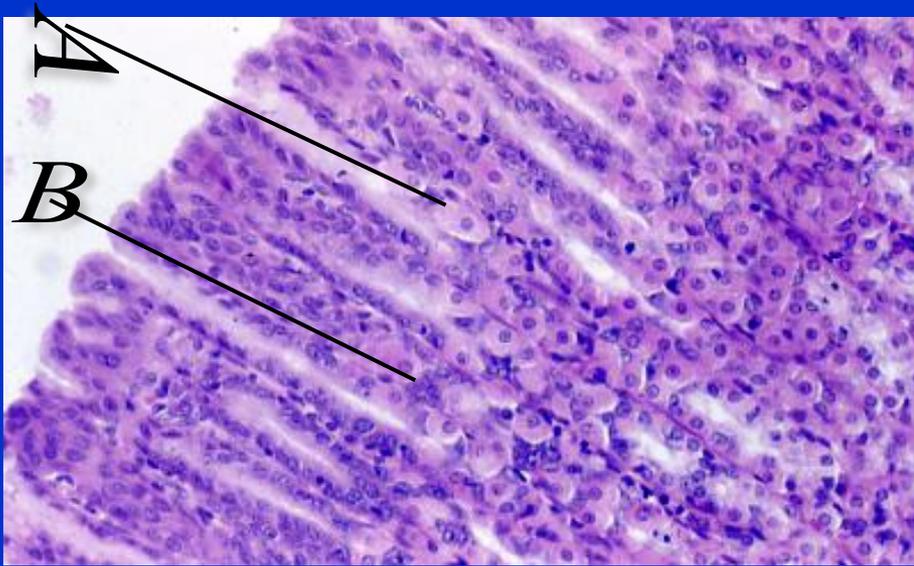
Мультислойный эпителий  
(уроэпителий), ядерные клетки во  
всех слоях.

## Яичко



Реснитчатый цилиндрический  
эпителий

## Желудок



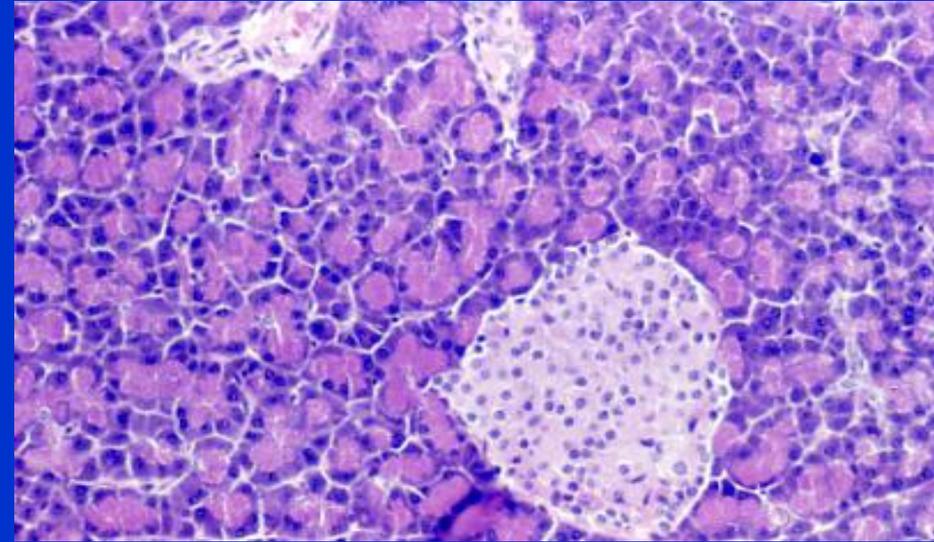
### Секреторный эпителий

A = клетки, секретирующие кислоту

B = клетки, секретирующие ферменты

Слизь защищает стенки желудка

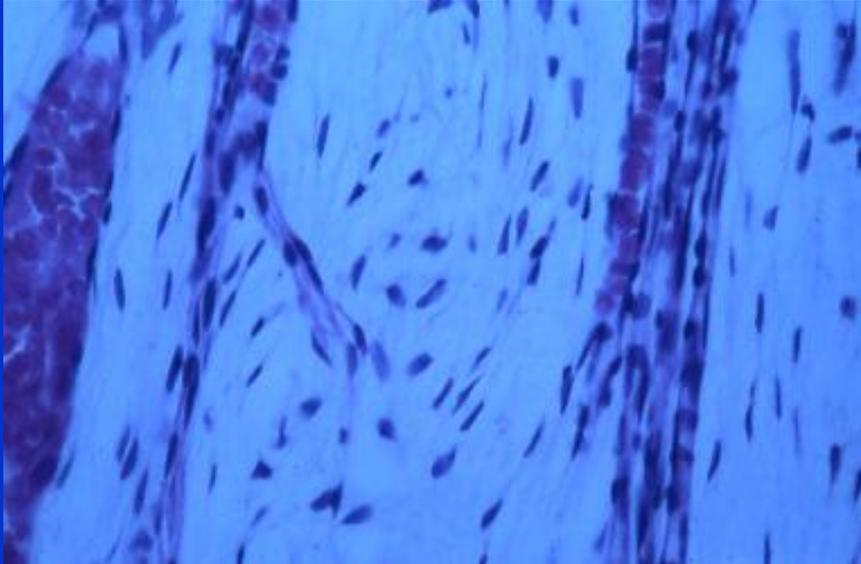
## Поджелудочная железа



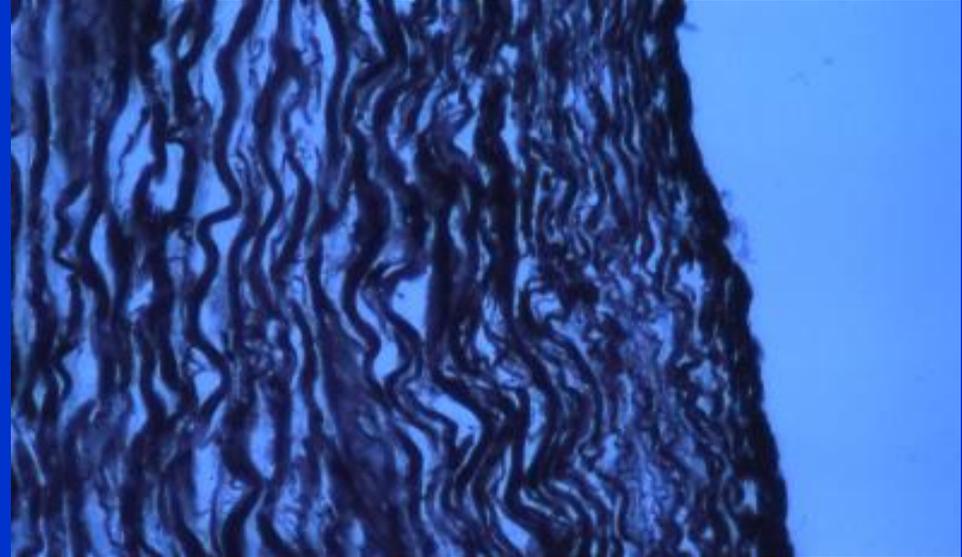
E = экзокринные железы с окрашенными секреторными каналами, выходящими в двенадцатиперстную кишку

I = островок Лангерганца, секреция в кровь.

# Кровеносные сосуды

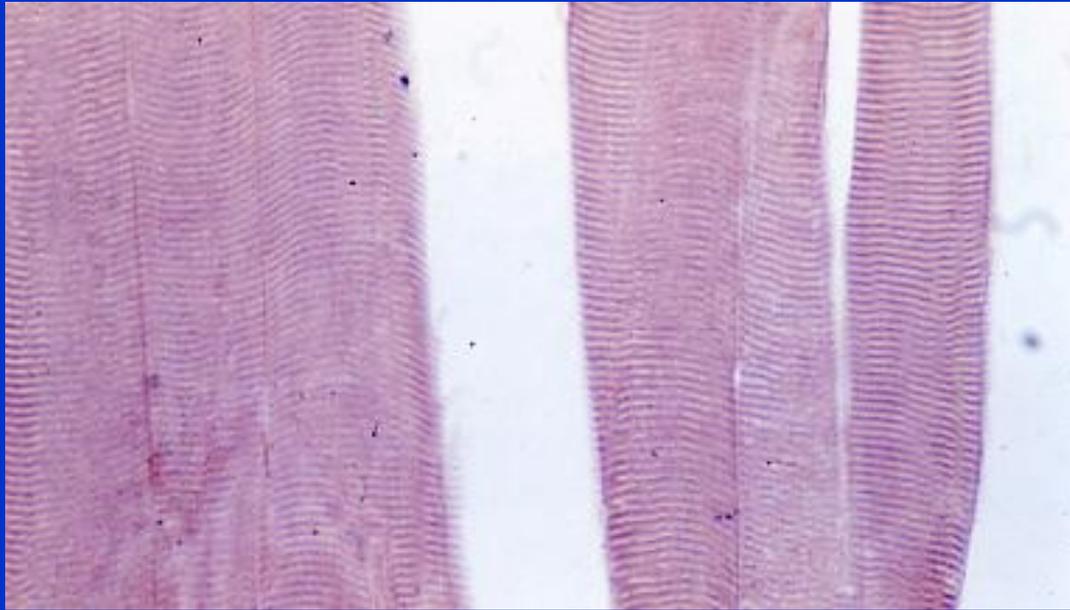


Монослой плоских клеток  
эндотелия покрывает стенки  
капилляров

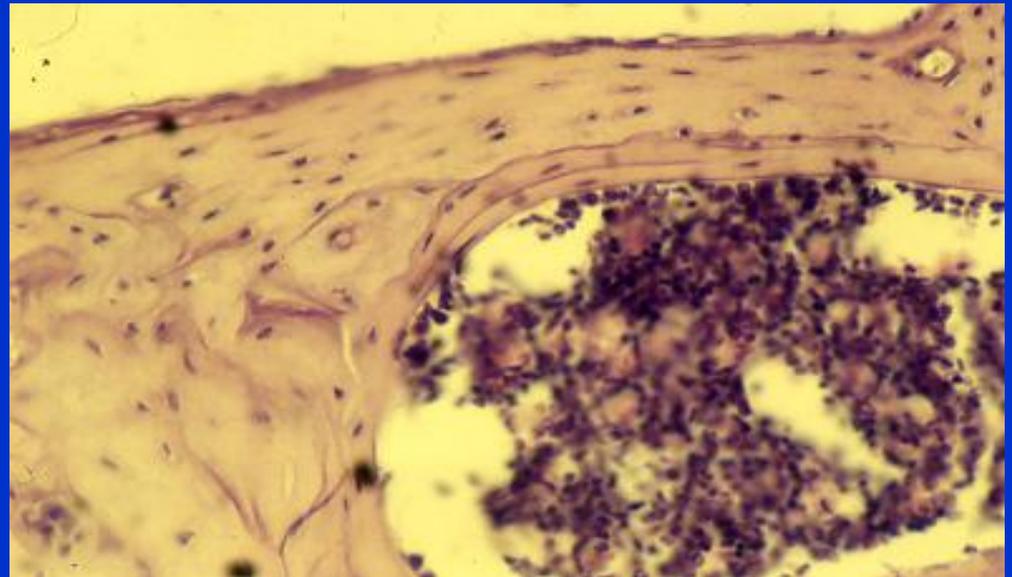


Стенка артерии, эластиновые  
волокна окрашены черным.

# Скелетные мышцы

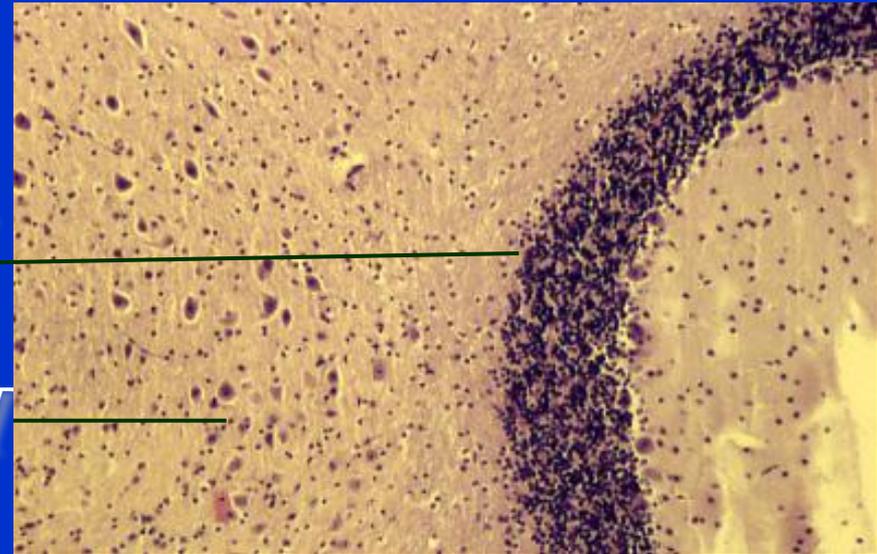
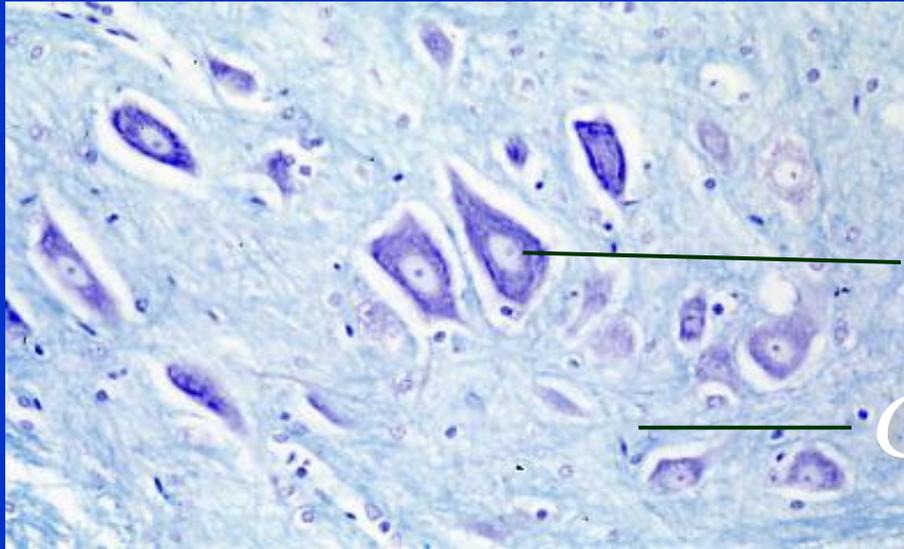


Кость



# Спинной мозг

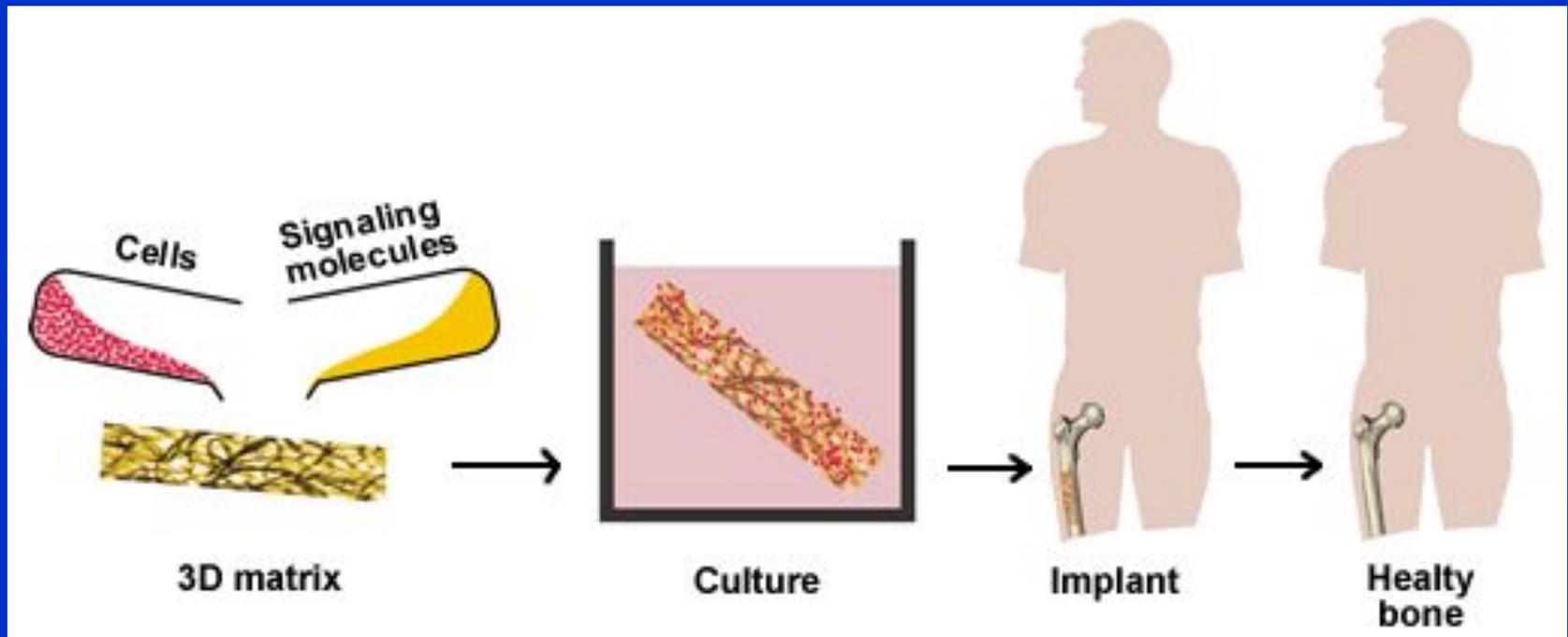
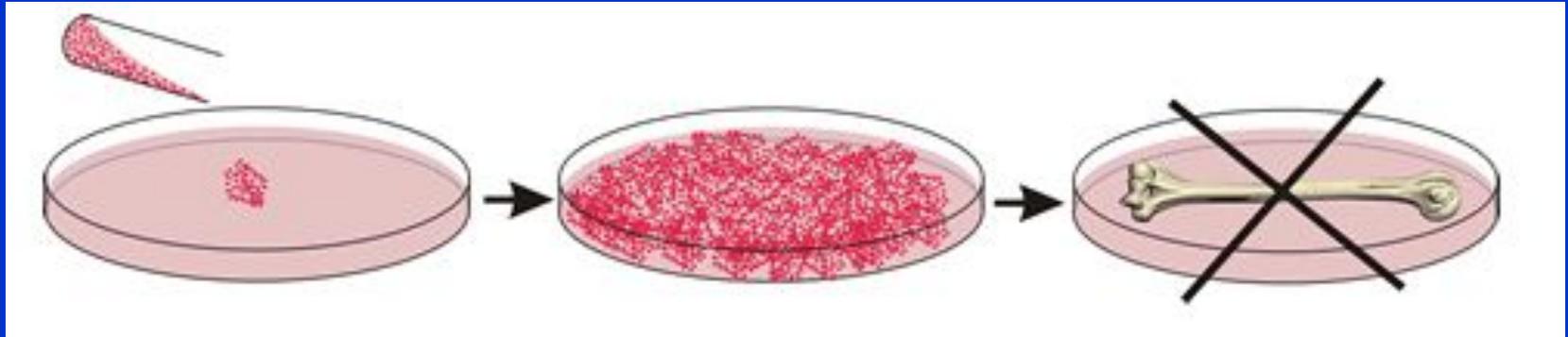
# Мозг



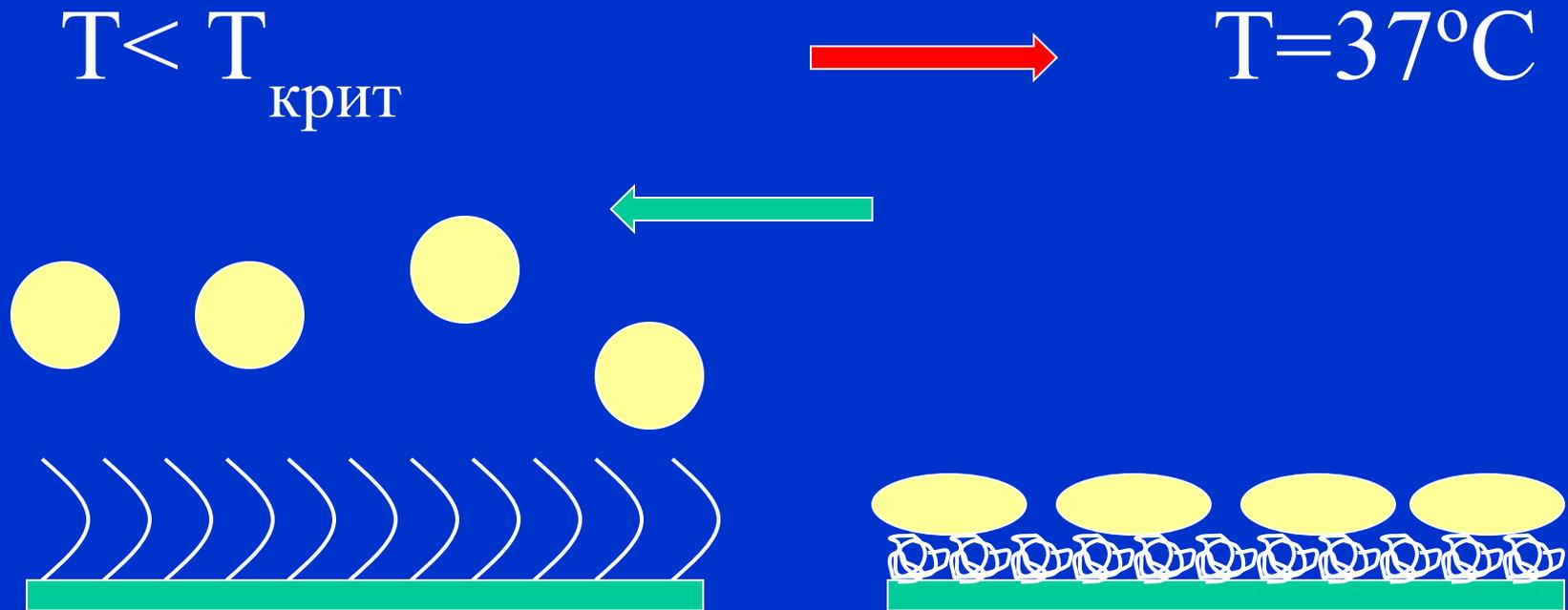
**N = нейроны**

**СТ = соединительная ткань.**

# Дизайн и выращивание ткани человека *in vitro* с последующей ее имплантацией



# Термочувствительный субстрат



Термочувствительные материалы поддерживают адгезию и рост субстратзависимых клеток млекопитающих и обеспечивающих открепление клеток от поверхности при снижении температуры ниже критической.

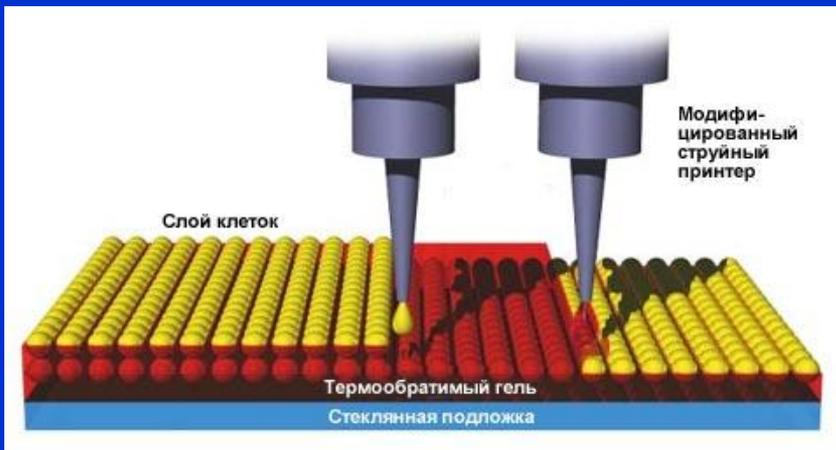
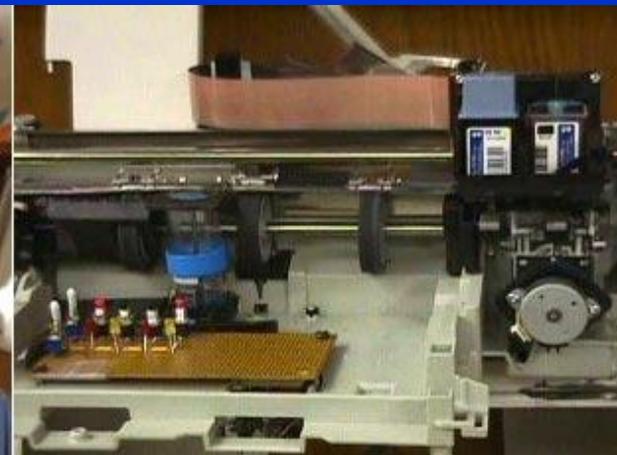


Схема опыта Боланда и Миронова (иллюстрация с сайта [newscientist.com](http://newscientist.com)).



Трёхмерные клеточные структуры (трубки), напечатанные на принтере (фото с сайта [people.clemson.edu](http://people.clemson.edu)).

Печать тканей при помощи струйного принтера: вместо чернил картридж заполняется клетками, вместо бумаги используется термочувствительный полимер. Для контроля над процессом печати требуется специальное программное обеспечение. Кроме того, изменяется система подачи вещества на сопла печатающих головок.



Томас Боланд, изобретатель биологического принтера и, собственно, сам аппарат (фотографии с сайтов [ces.clemson.edu](http://ces.clemson.edu) и [people.clemson.edu](http://people.clemson.edu)).

При создании новой ткани используют один из трех общих подходов:

- Мобилизация собственного потенциала организма для восстановления функции поврежденных органов и тканей.
- Дизайн и выращивание ткани человека *in vitro* с последующей ее имплантацией
- Имплантация стволовых клеток с индукторами тканеобразования

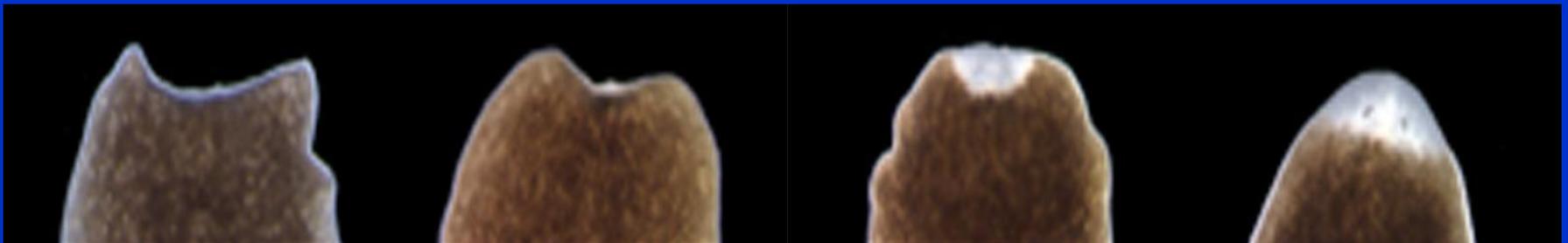
# Регенерация обусловлена наличием соматических стволовых клеток у взрослых животных



Саламандры могут отращивать лапы  
бесчисленное количество раз за  
считанные недели



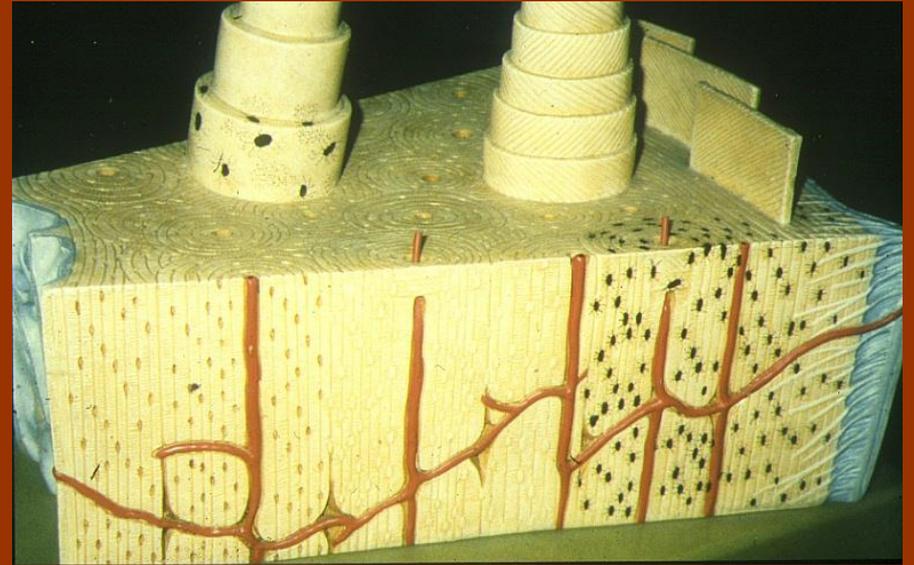
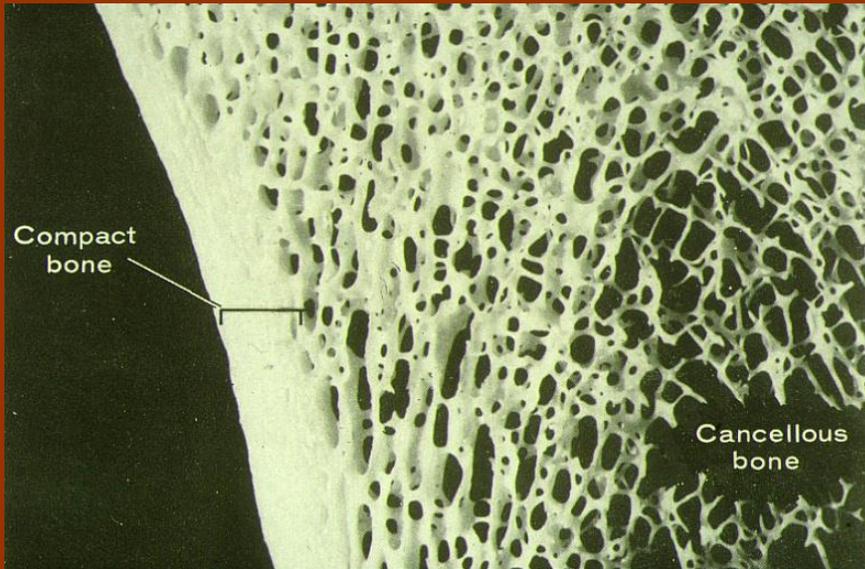
Пресноводные планарии  
известны способностью к  
регенерации целого животного  
из маленьких кусочков.



**Регенерация – восстановление клеток, тканей и органов, направленное на поддержание функциональной активности данной системы.**

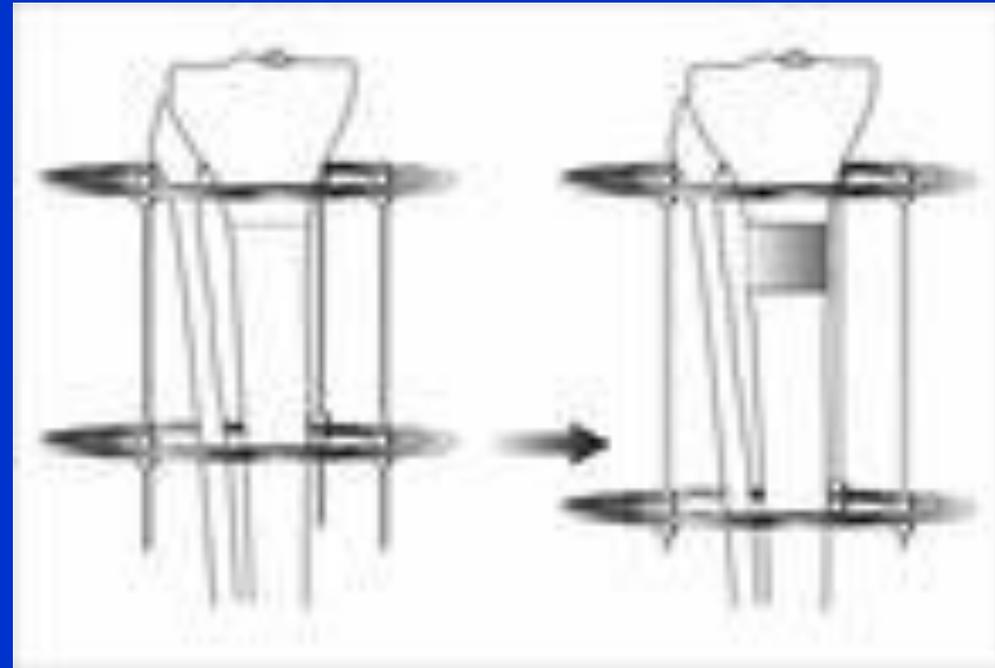
- **Физиологическая регенерация** – восстановление клеток ткани после их естественной гибели (например, кроветворение)
- **Репаративная регенерация** – восстановление тканей и органов после их повреждения (травм, воспалений, хирургических воздействий и т.д.)
- **Уровни регенерации:** клеточный, тканевой, органный
- **Способы регенерации:** клеточный, внутриклеточный, заместительный
- **Факторы, регулирующие регенерацию:** гормоны, медиаторы, кейлоны, факторы роста и др.

# Использование собственных восстановительных возможностей организма пациента

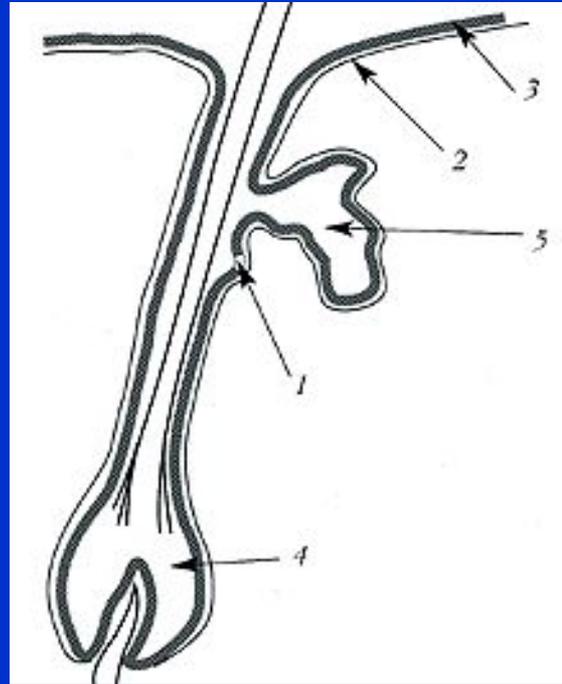
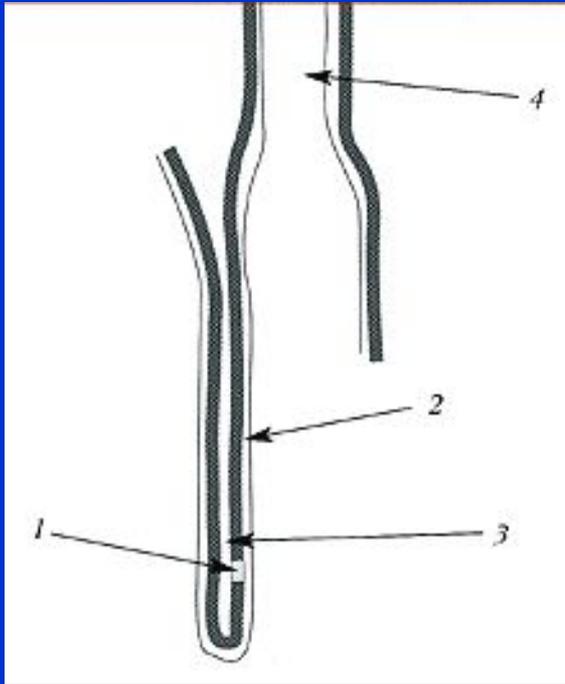


При нормальном обмене веществ 0.6% кортикальной и 1.2% губчатой костной поверхности подвергается разрушению (резорбции) и, соответственно, 3% кортикальной и 6% губчатой костной поверхности вовлечены в формирование новой костной ткани. Остальная костная ткань (более 93% ее поверхности) находится в состоянии отдыха или покоя.

# Метод чрескостного дистракционно-компрессионного остеосинтеза ( Г. А. Илизаров)



# Соматические стволовые клетки у человека



Волосяной фолликул:  
1 - стволовые клетки;  
2 - базальная мембрана;  
3 - эпидермис;  
4 - волосяная луковица;  
5 - сальная железа

Крипта тонкого кишечника:

1 - стволовые клетки;  
2 - базальная мембрана;  
3 - крипта;  
4 - ворсинка

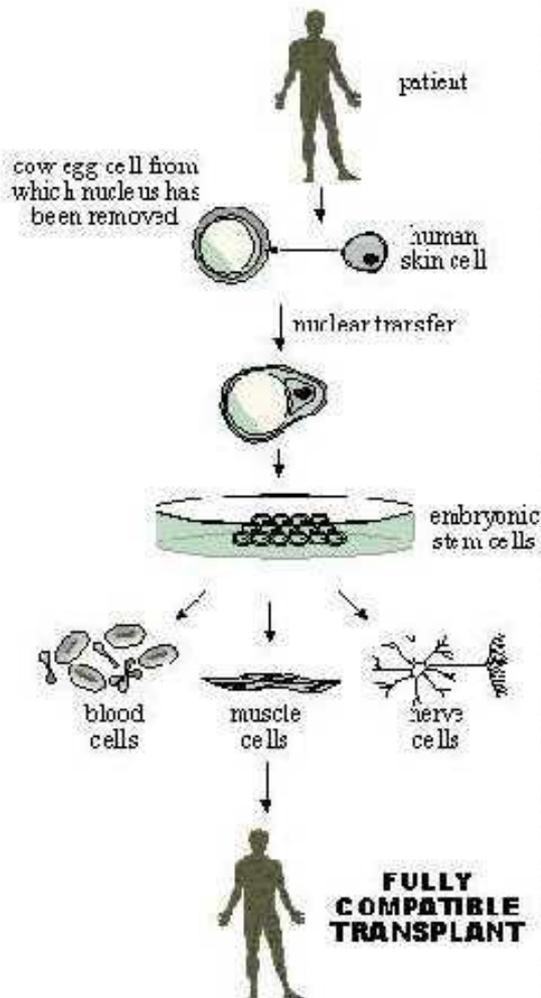


Эпителий:  
1 - стволовые клетки;  
2 - базальная мембрана;  
3 - фибробласт;

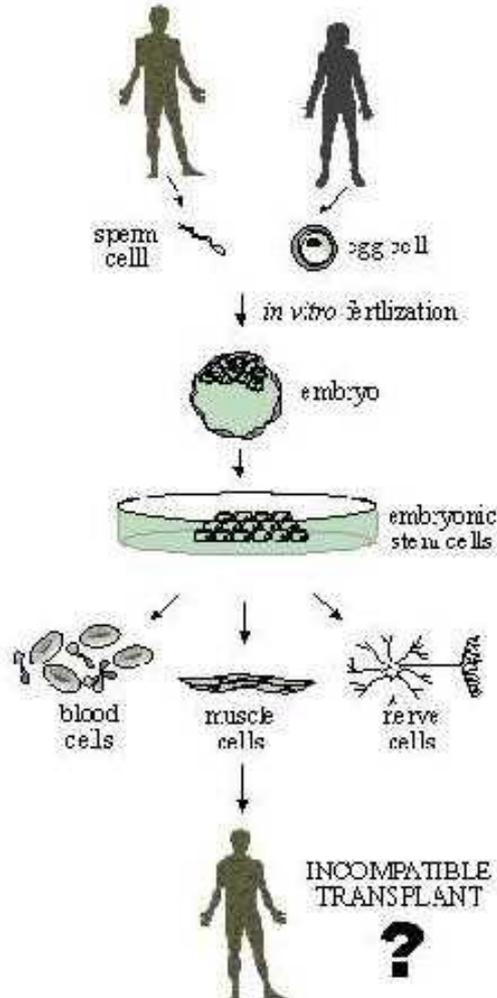
# Эмбриональные стволовые клетки

## Comparison of Methods for Generation of Human Embryonic Stem Cells

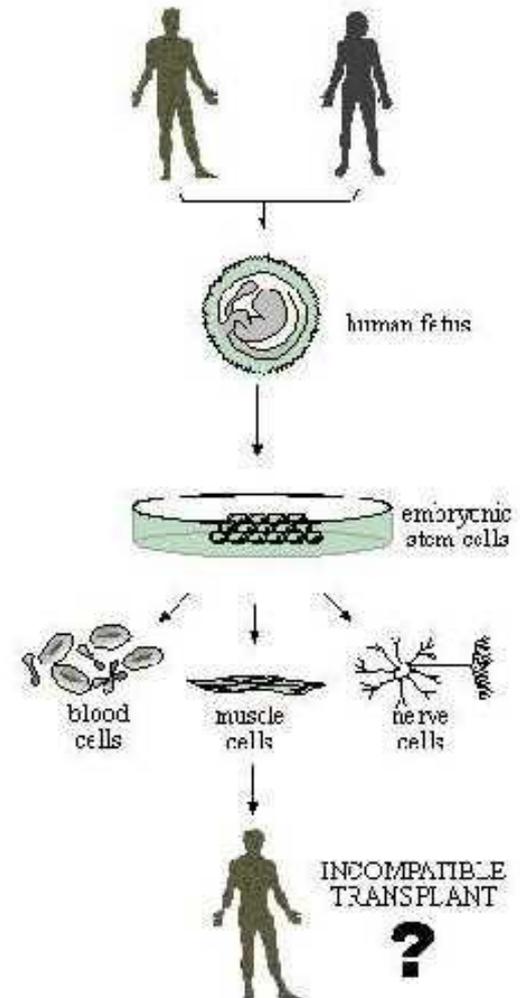
### Cell Generation by ACT Nuclear Transfer Technique

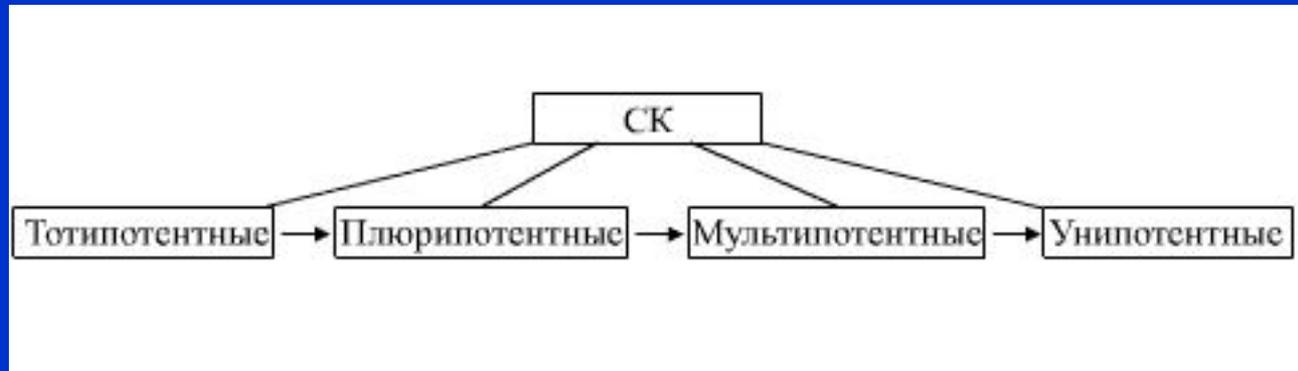
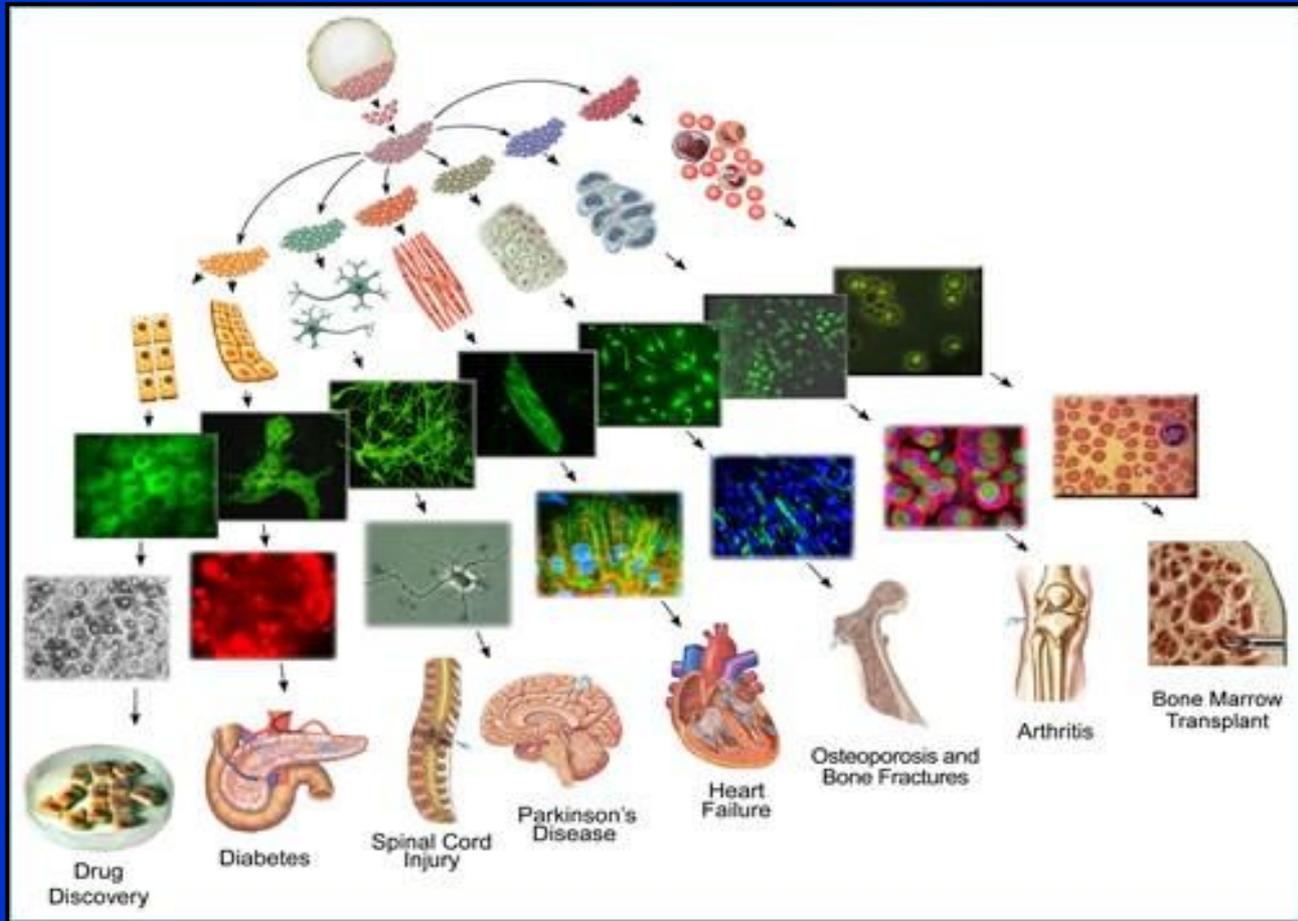


### Cell Generation from Human Embryos (IVF)

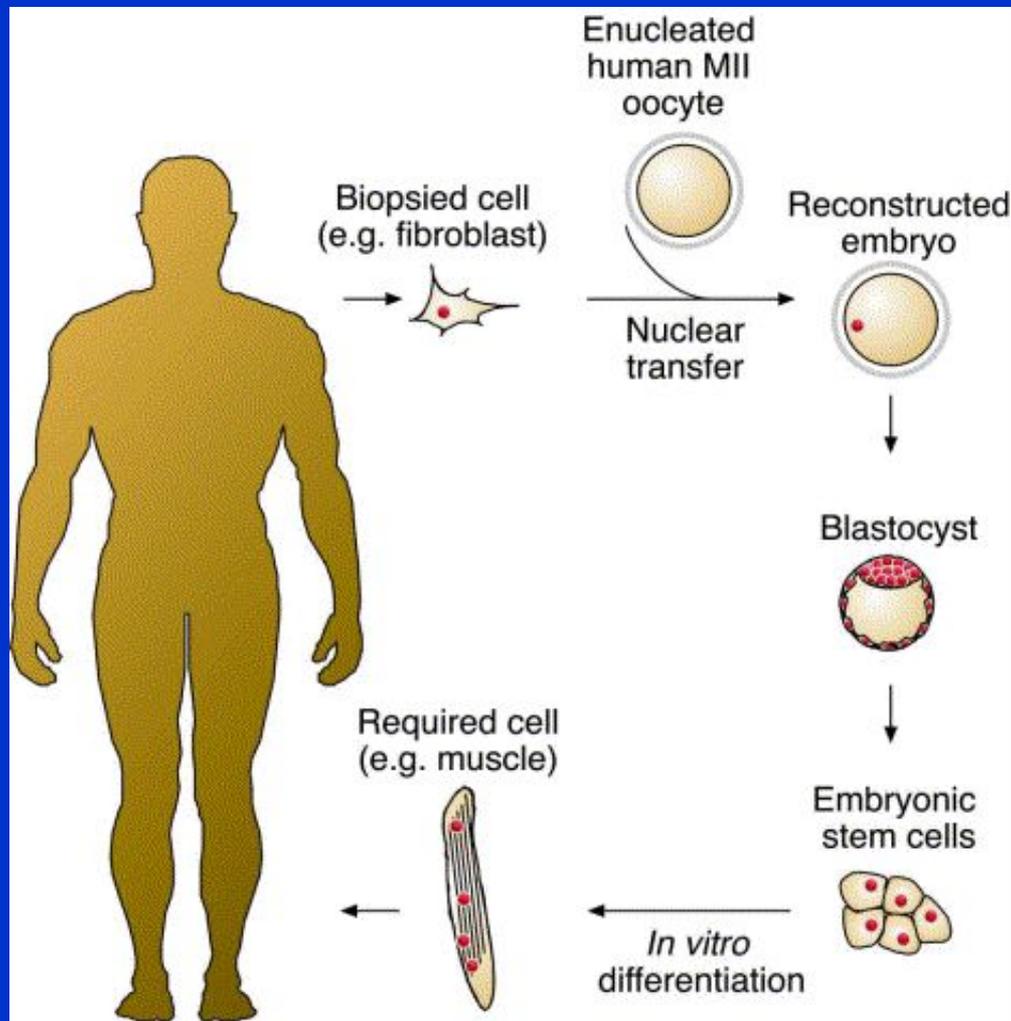


### Cell Generation from Human Fetal Tissue

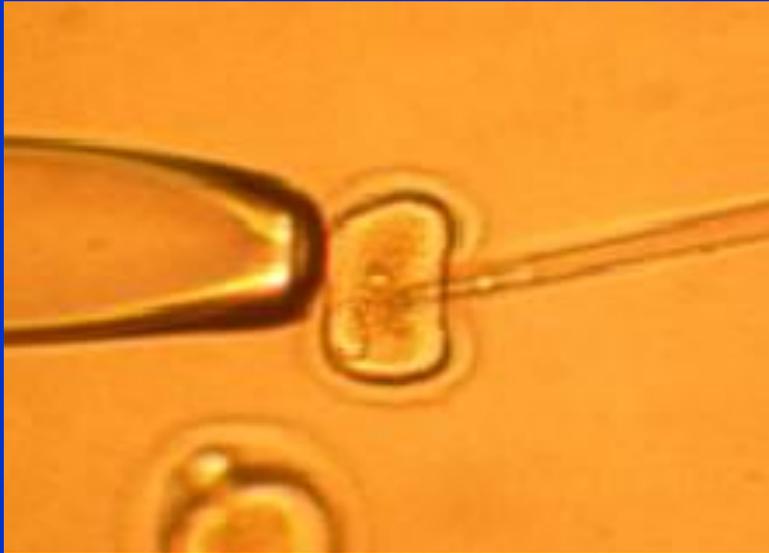


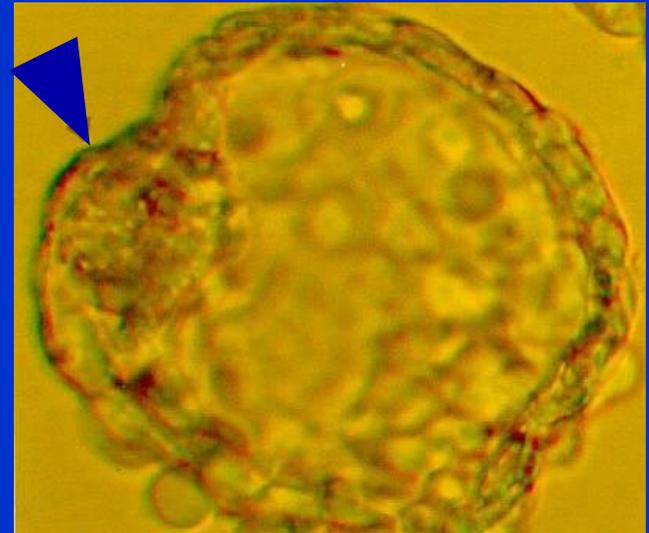
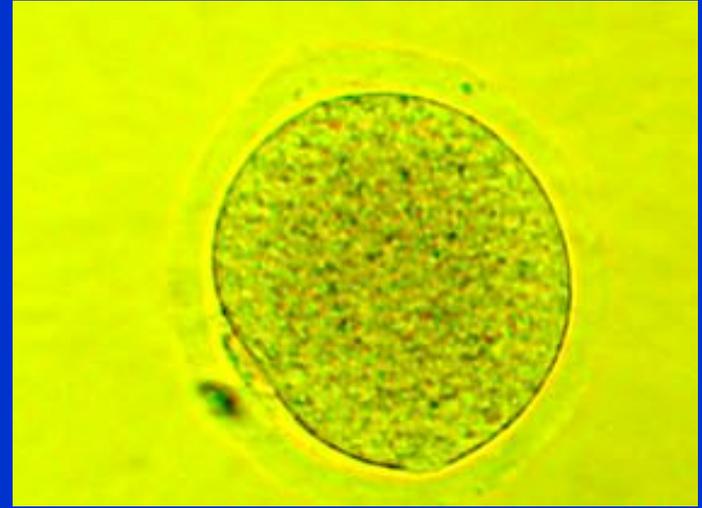
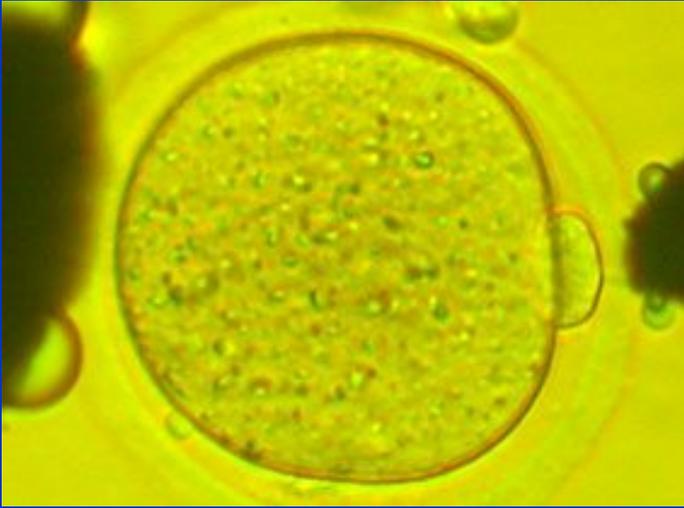


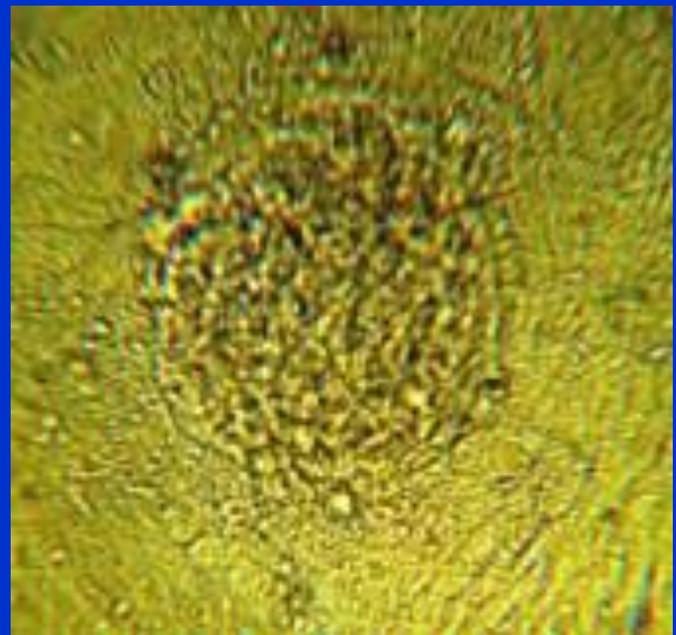
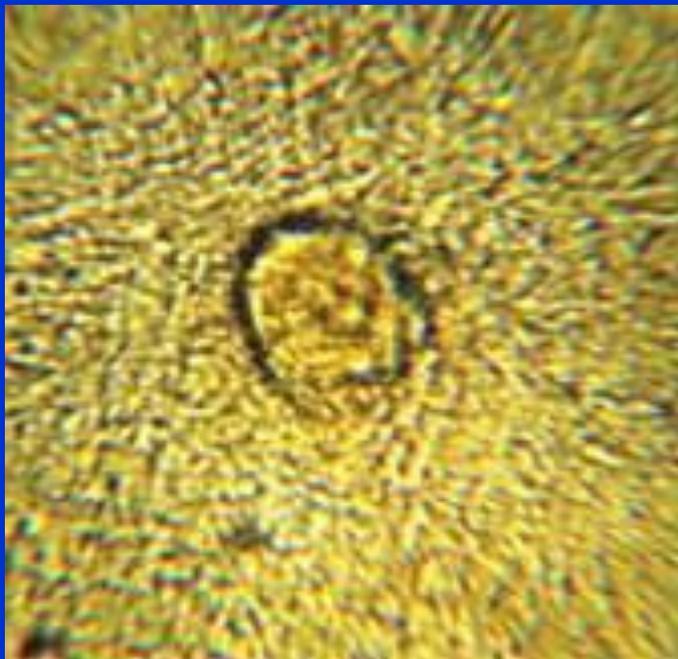
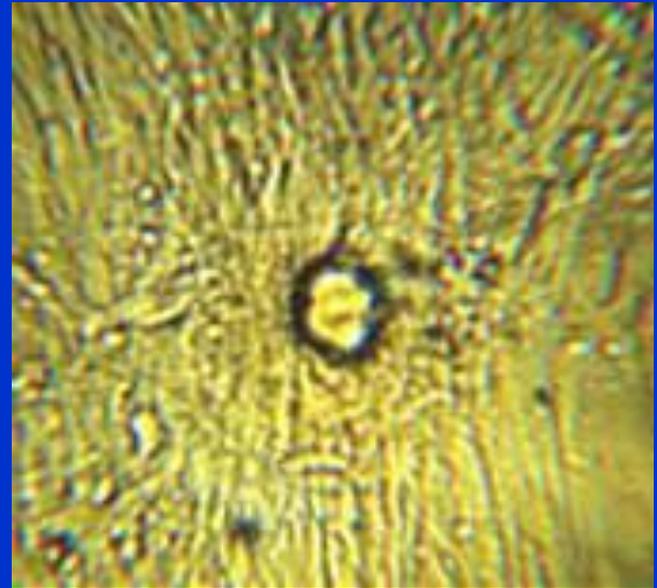
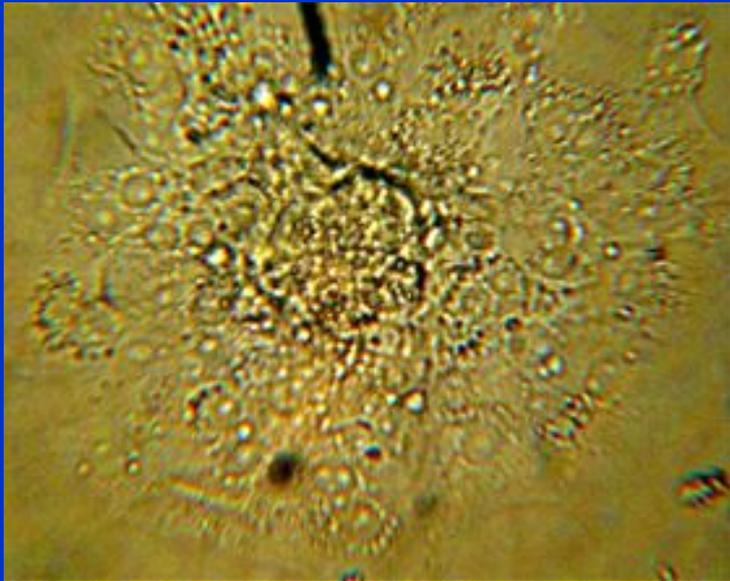
# Разработка технологий терапевтического клонирования



- Реконструкция эмбриона с использованием генетического материала пациента
- Получение культуры стволовых клеток из ВКМ бластоцисты
- Направленная дифференцировка стволовых клеток перед трансплантацией



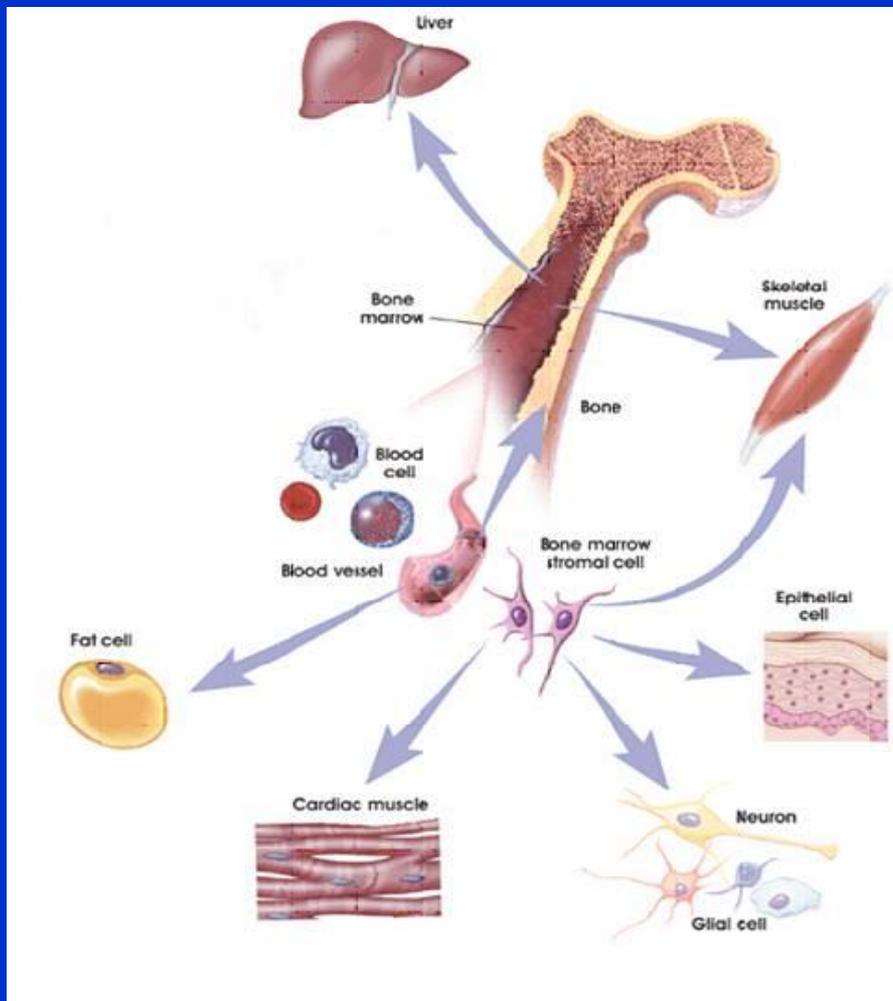




# Плюрипотентные клетки могут образовать тератомы и тератокарциномы после трансплантации во взрослый организм



Трансплантация ППК иммунодефицитным мышам Nude. Формирование экспериментальных тератом у мышей-реципиентов

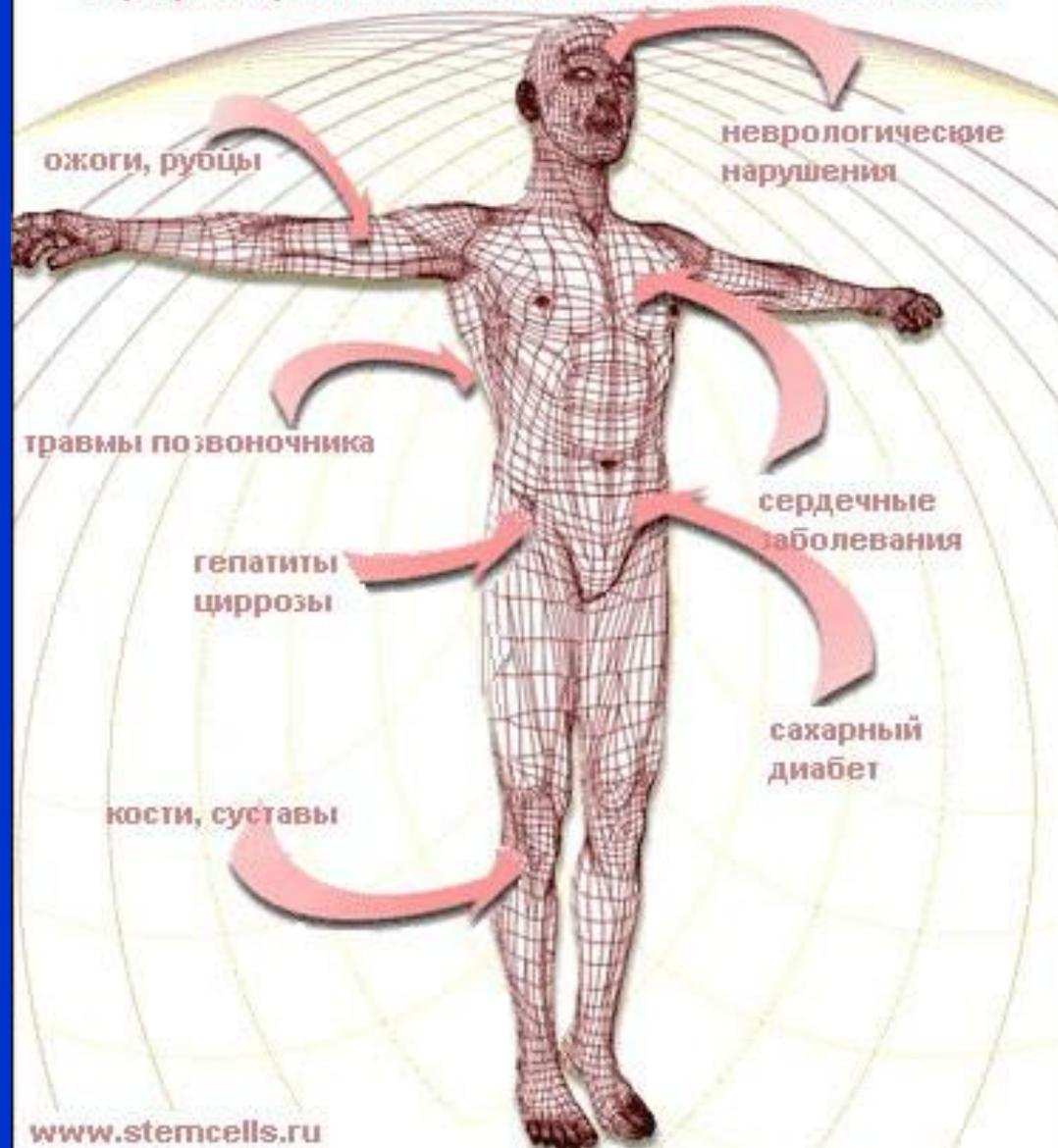


- В качестве источников ВСК используют:
1. костный мозг
  2. слизистую оболочку носоглотки в районе обонятельных рецепторов
  3. жировую ткань
  4. плацентарную и пуповинную кровь новорожденных
  5. собственную плаценту

Мезенхимальные стволовые клетки



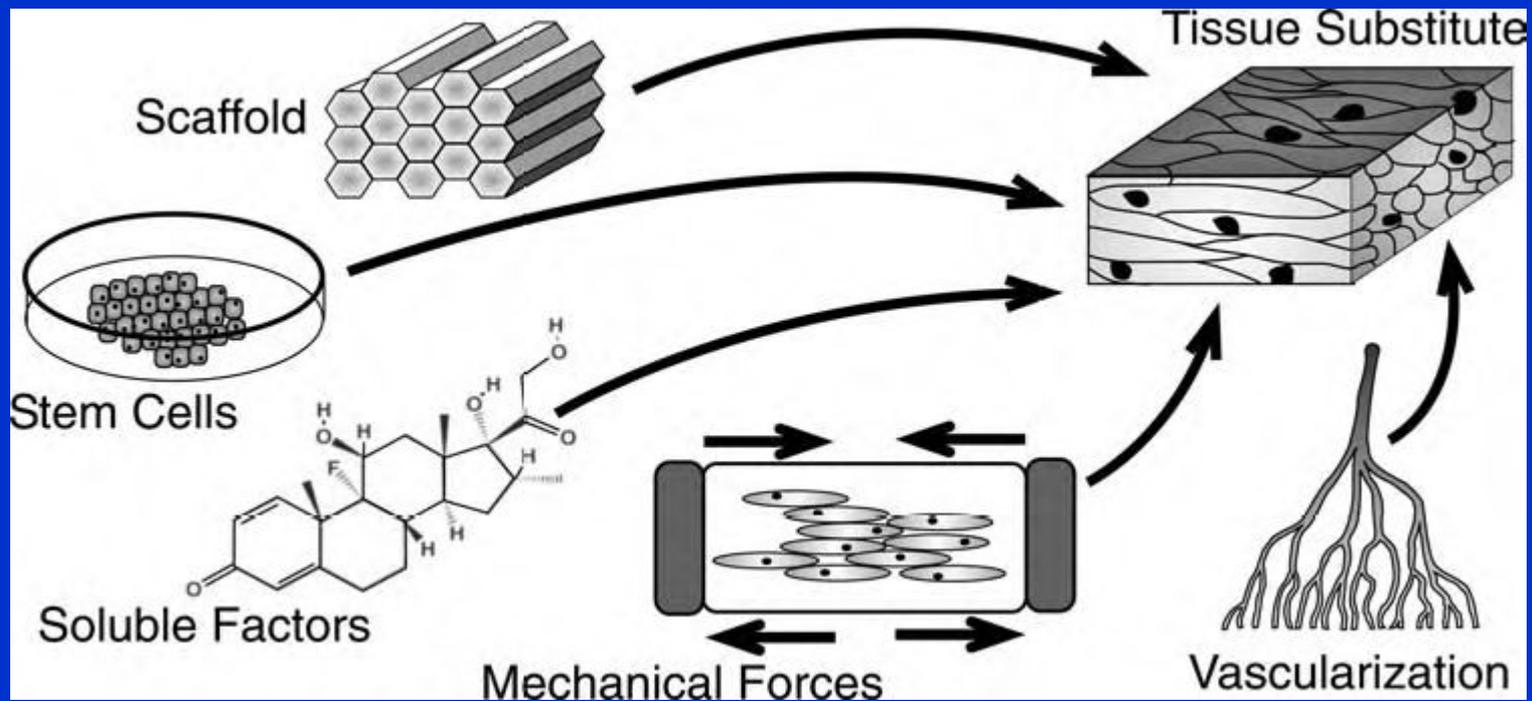
## Сферы применения клеточных технологий



## Восстановление длины и опорной функции конечности



Рентгенографические снимки дефекта бедренной кости мыши спустя 4 недели после операции: а - контрольная группа, б- группа с имплантированной матрицей, с, d – группы с имплантированной матрицей, засеянной стволовыми клетками



1. Стволовые клетки – предшественники
2. Матрикс на основе биосовместимого материала (композиции)
3. Растворимые факторы, продуцируемые клетками и выделяемые матриксом в результате диффузии или деградации
4. Физико-химические параметры поверхности (в случае кости + механическая стимуляция), как фактор организации роста клеток и тканей
5. Структурные элементы и условия для роста сосудов

# Биоматериалы для реконструкции костной ткани

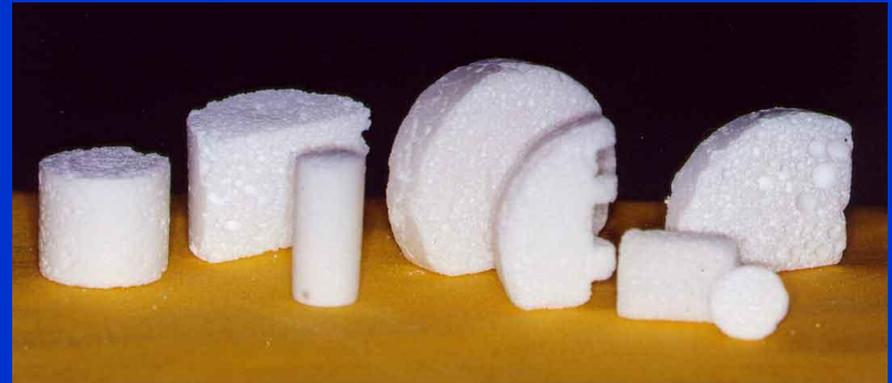
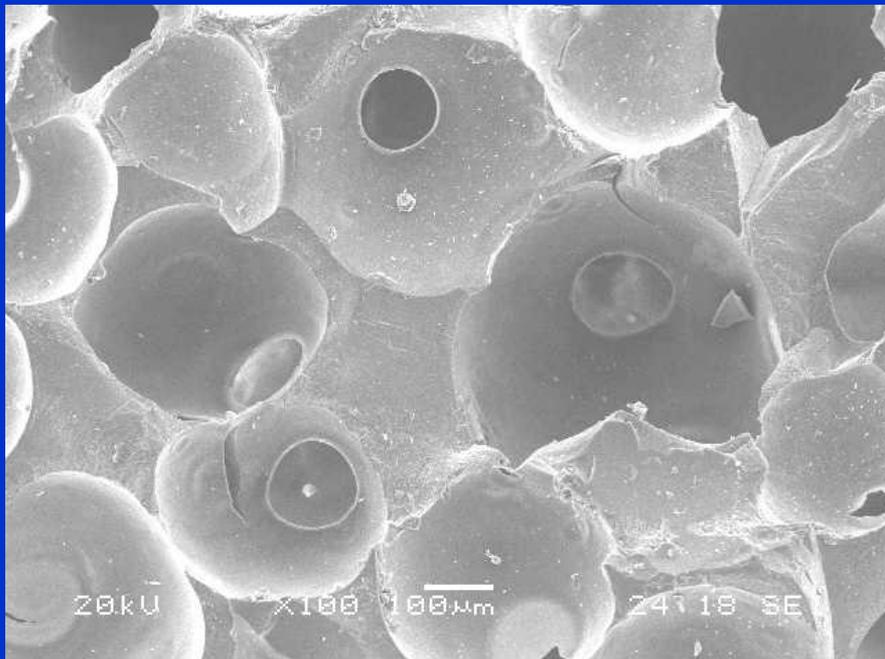
- Аутологичная или аллогенная костная ткань
- Биоматериалы на основе коллагена костной ткани сельскохозяйственных животных.
- Биоактивная керамика, стекла и стеклокерамика (гидроксиапатит, Bioglass®, A-W glass-ceramic и т.д.) - (периодонтальные дефекты, реконструкция позвонков, и.т.д.)
- Биорезорбируемые фосфаты кальция.
- Биорезорбируемые полимеры (PLA, PGA, PLGA и др. )



# Пористая керамика и стекла для биомедицинского применения

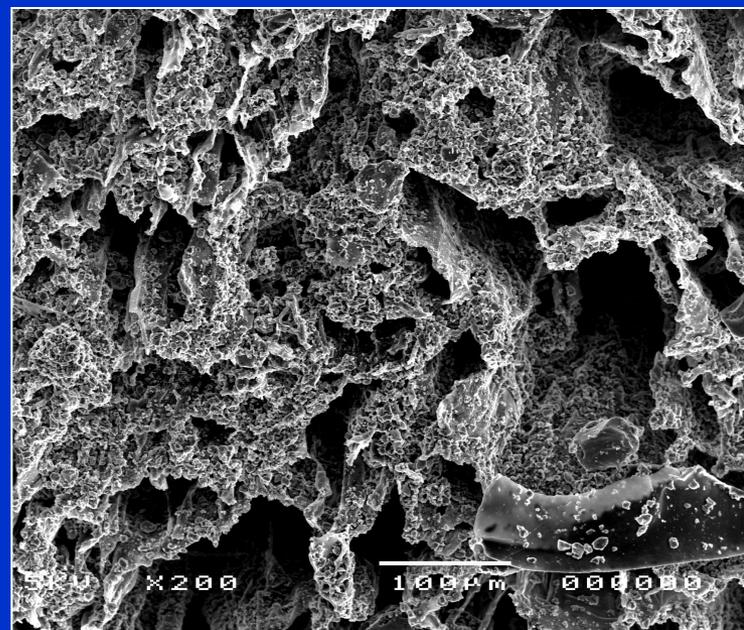
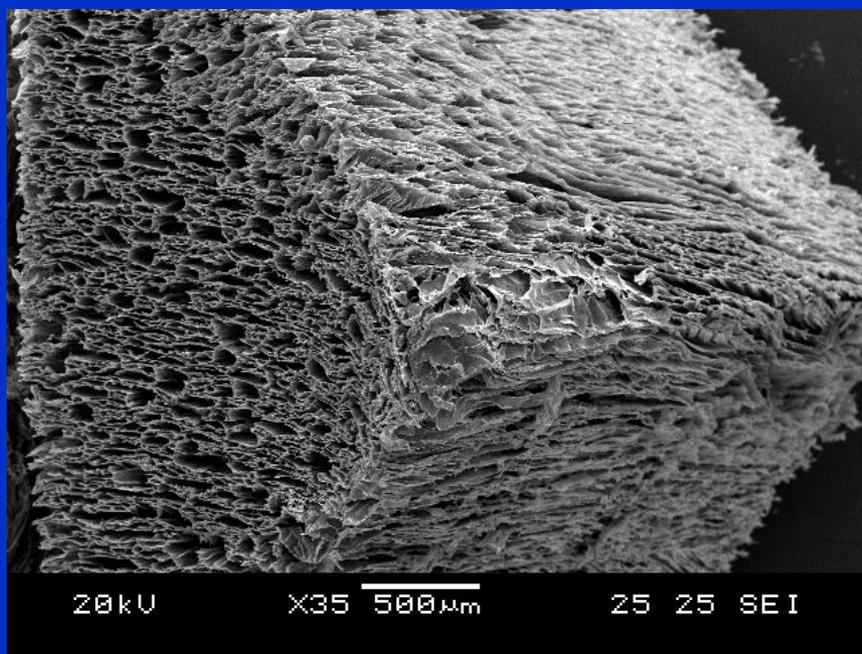
- Ненагружаемые имплантаты
- подложки для тканевой инженерии

Поры и каналы обеспечивают васкуляризацию имплантатов и прорастание в них костной ткани (остеоинтеграцию)



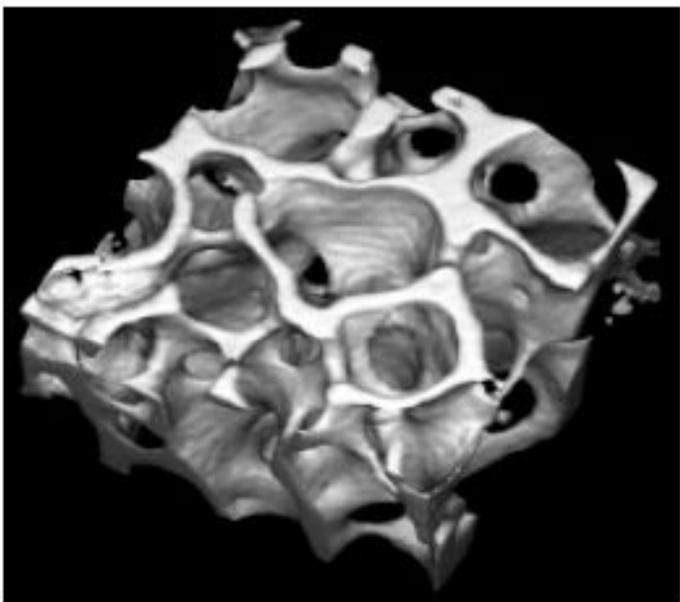
**Биоактивное стекло для тканевой инженерии  
(Jones, Sepulveda and Hench, 2002)**

# Bioglass® покрытие на резорбируемом PDLLA- комбинация прочности и биоактивности

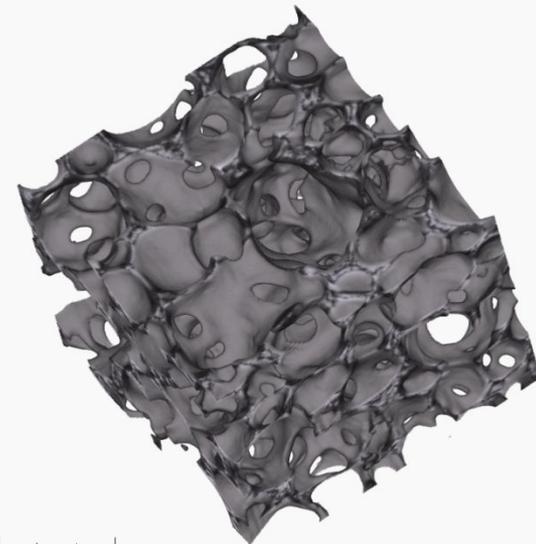


Dr. AR Boccaccini.

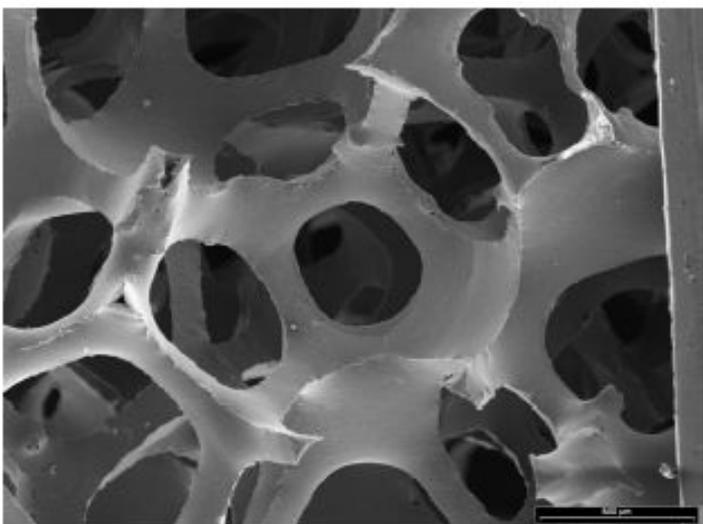
V. Maquet, A.R. Boccaccini, L. Pravata, I. Notingher, R. Jerome, J.  
Biomed. Mater. Res. 66A: 335–346, 2003



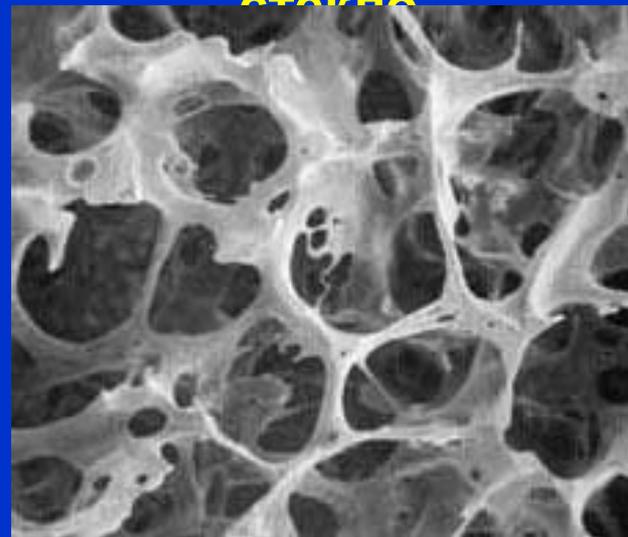
**Биопсия кости человека,  
головка бедренной кости**



**Биоактивное  
стекло**

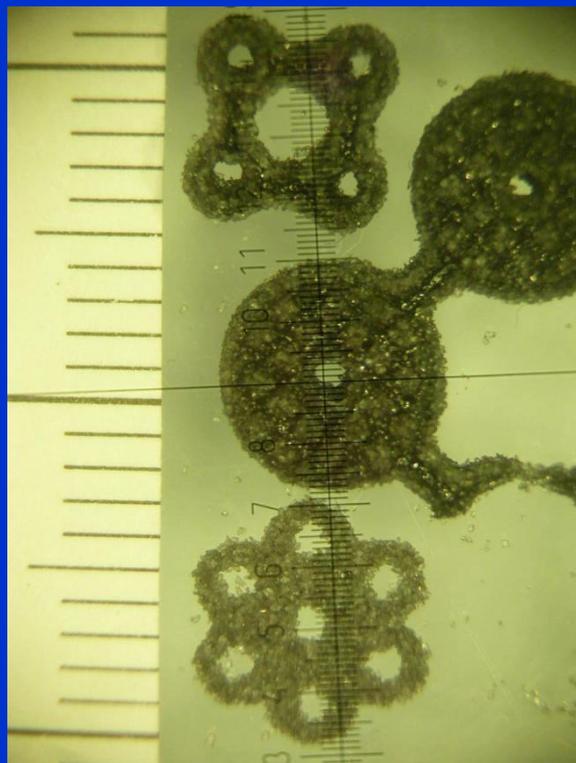
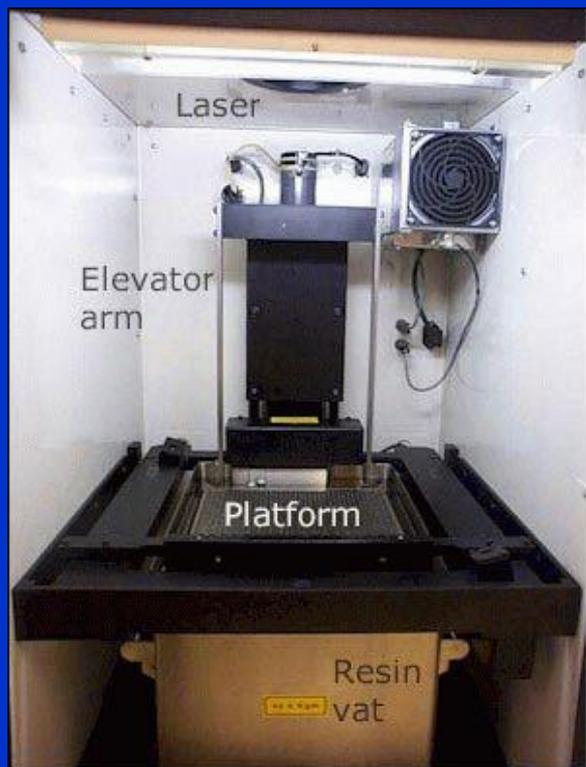


**Гидроксиапат**



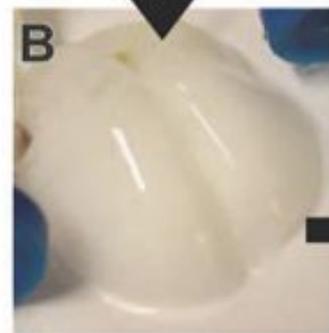
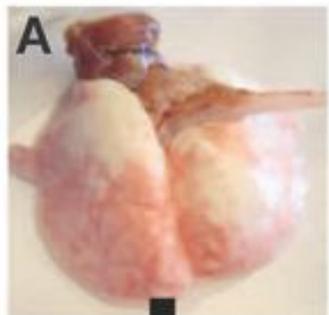
**Полилакти**

# Применение метода селективного лазерного спекания для формирования жестких трехмерных матричных структур

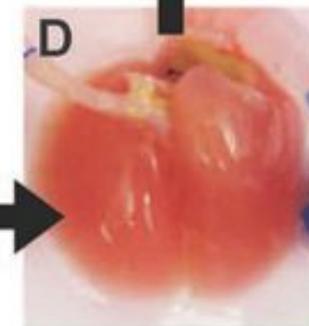
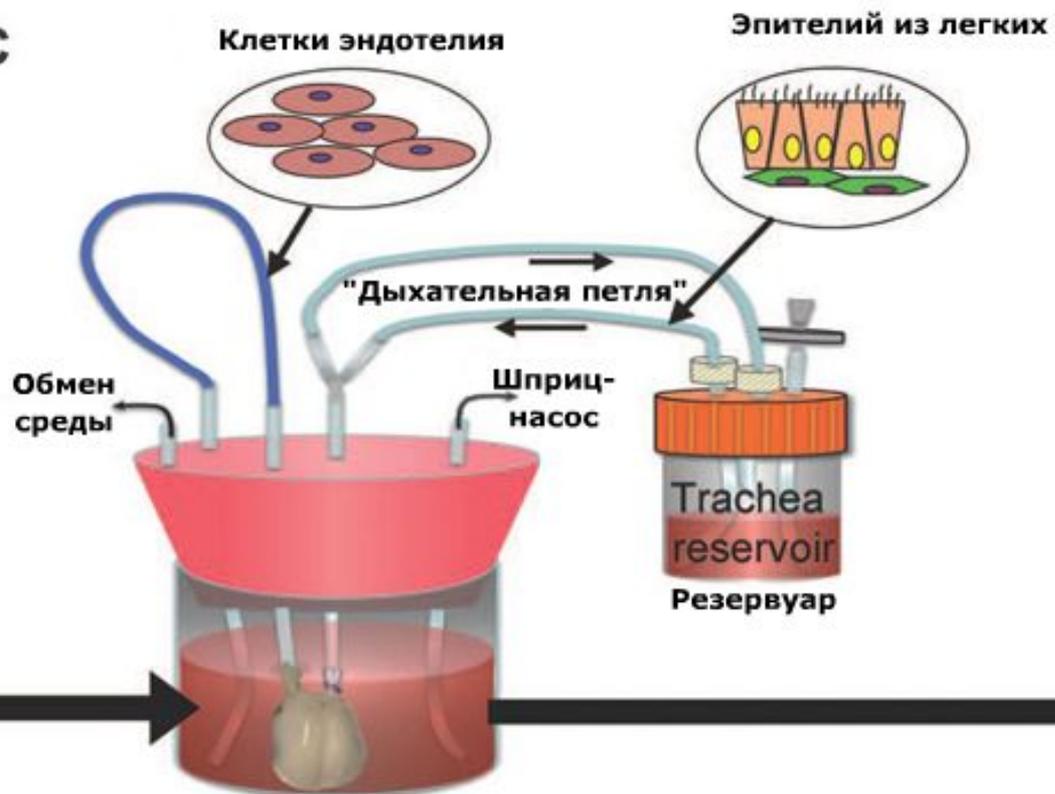


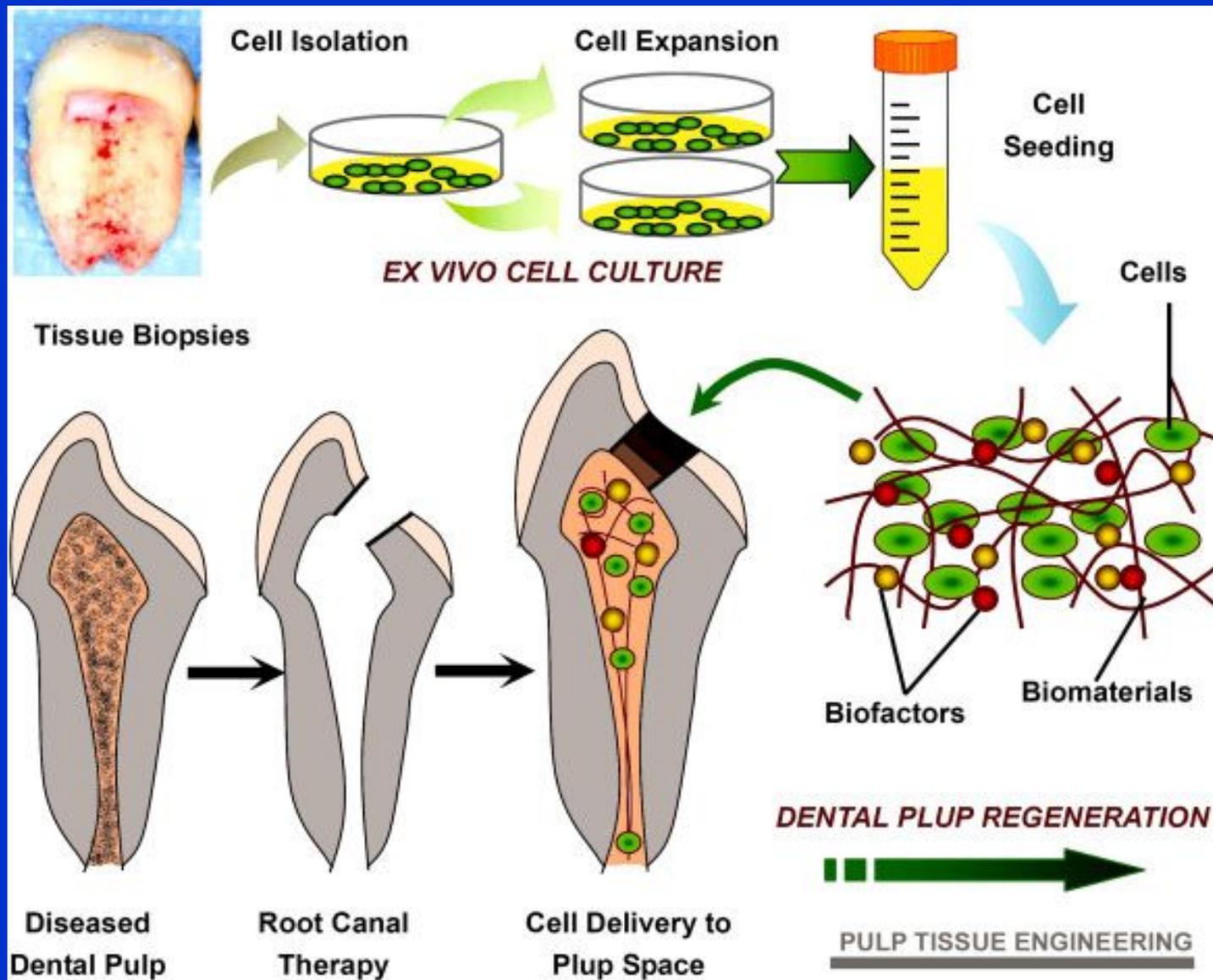
•Институт лазерных и информационных технологий РАН, г. Троицк.

# Тканевая инженерия легкого

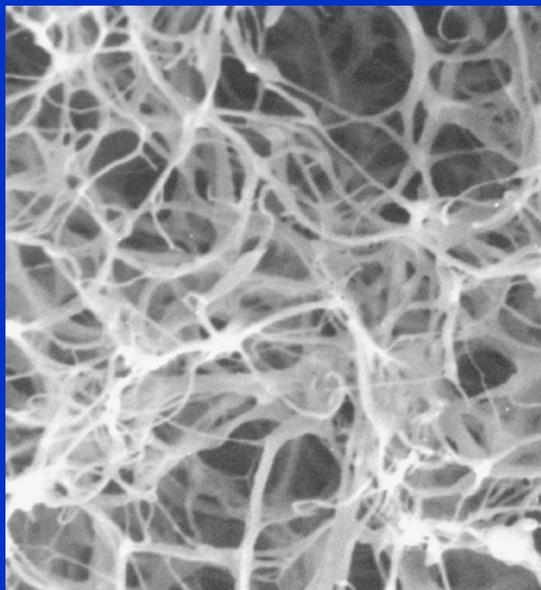


**C**

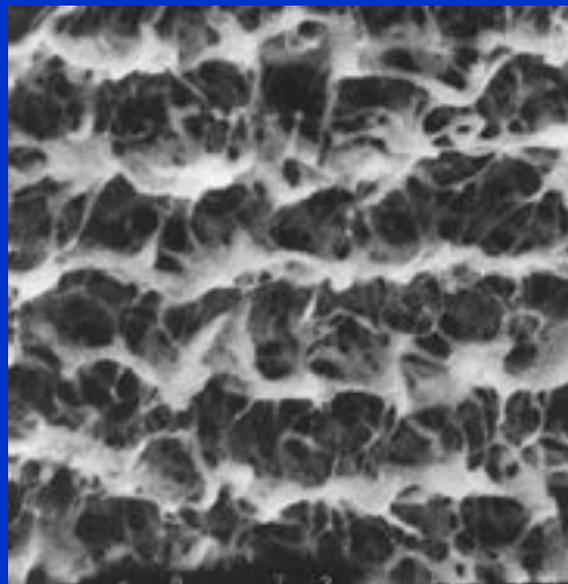




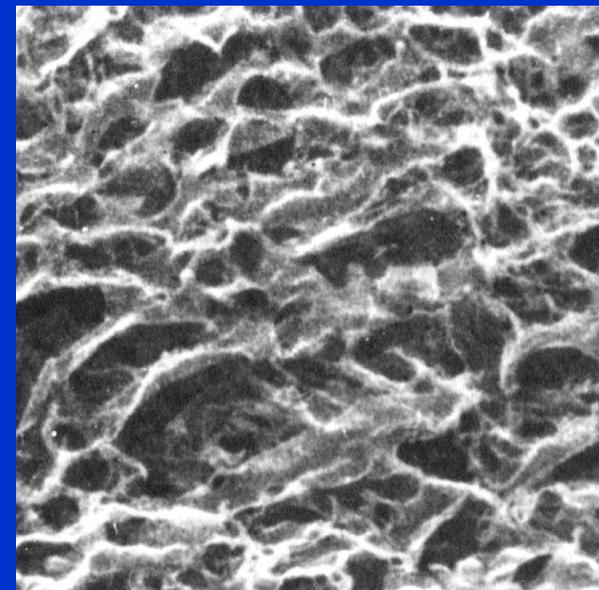
Hai-Hua Sun, Tao Jin, Qing Yu and Fa-Ming Chen. Biological approaches toward dental pulp regeneration by tissue engineering. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. Volume 5, Issue 4, April 2011, Pages: e1–e16



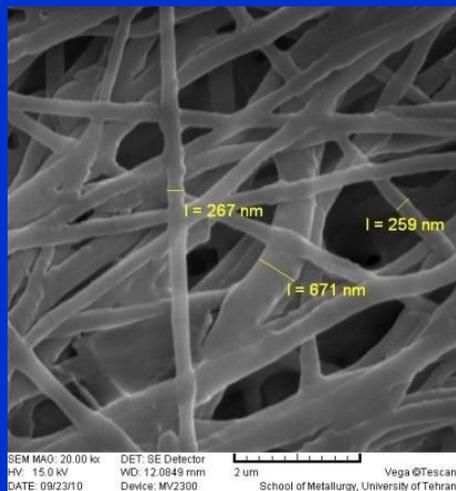
Коллаген



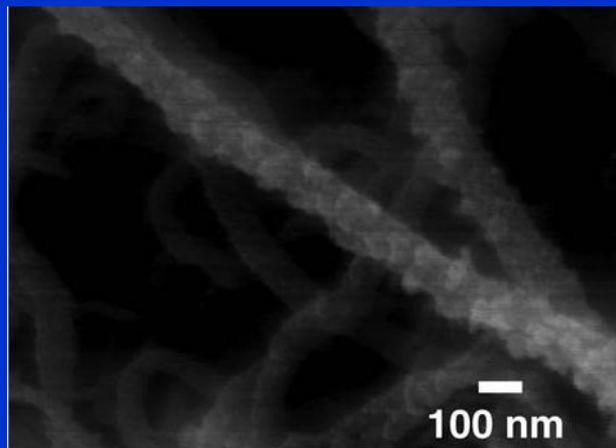
Коллаген-  
хондроитин-4-сульфат



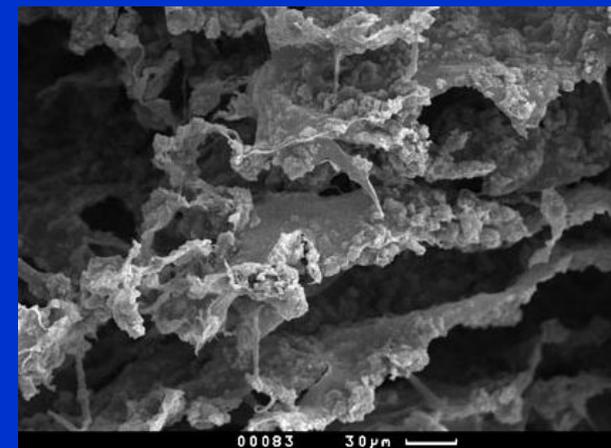
Коллаген-хитозан



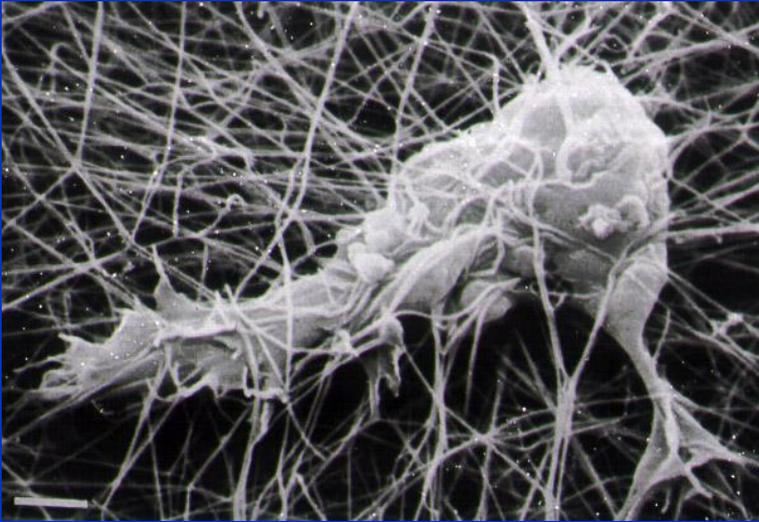
Нанофибриллы  
PHBV — коллаген



Углеродные нанотрубки  
с осажденным ГАП



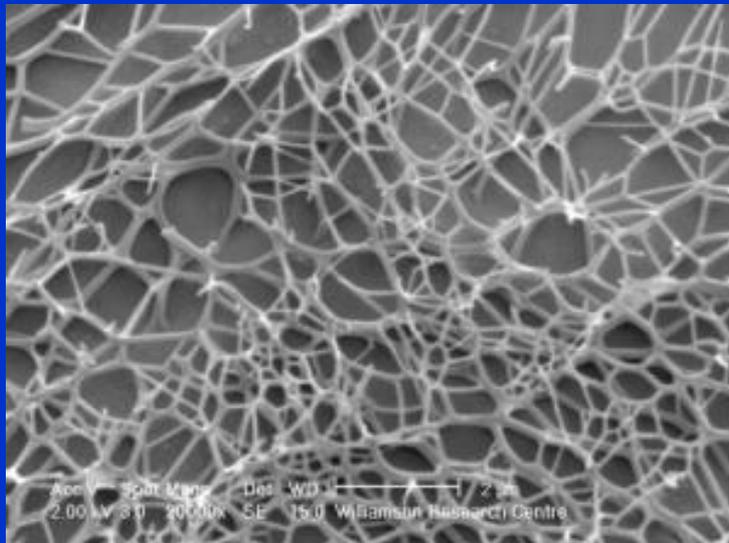
Коллапол



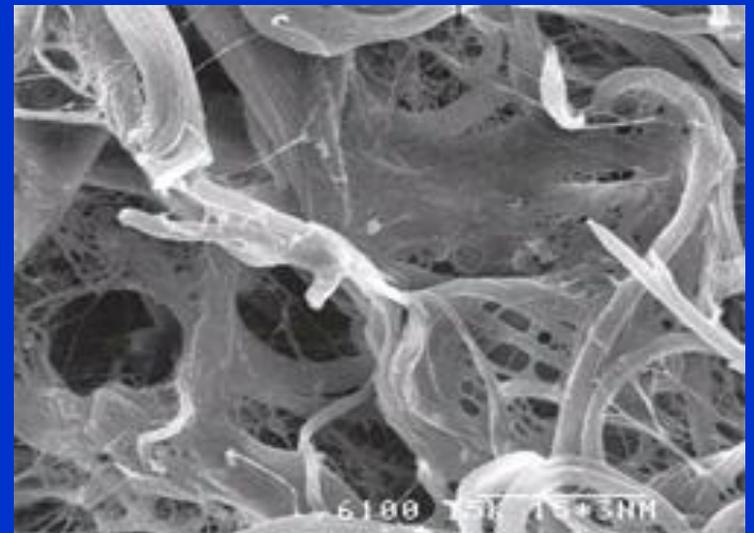
Фибробласт в коллагеновом геле



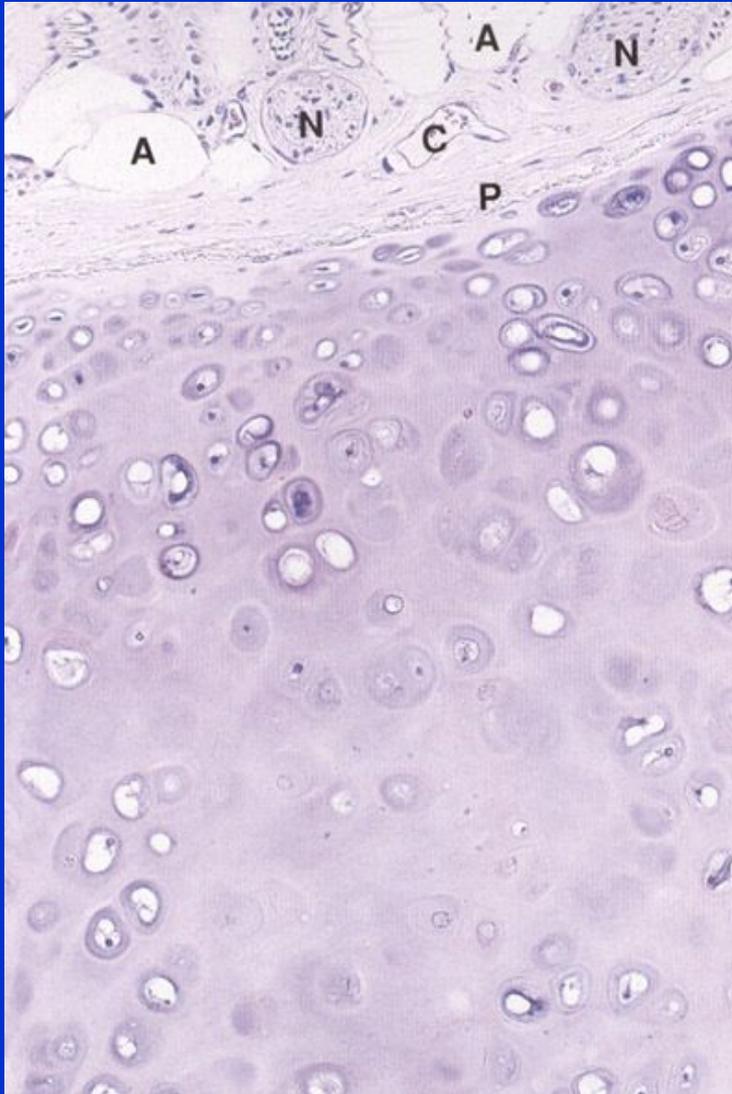
Клетки печени на матригеле



Пептидный гель



Алломатрикс-Имплант



Хондроциты в ткани

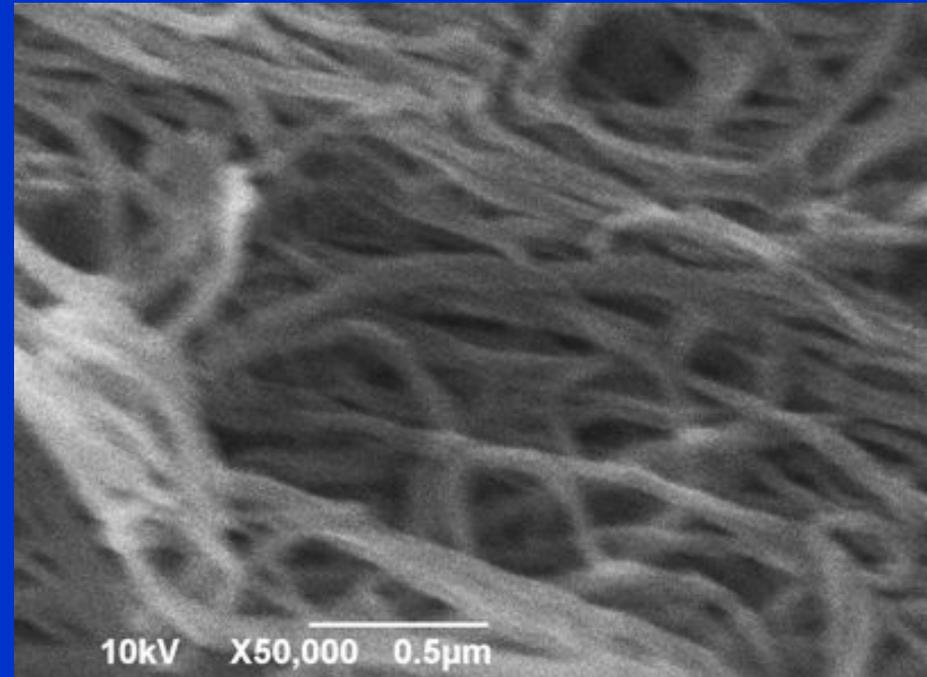
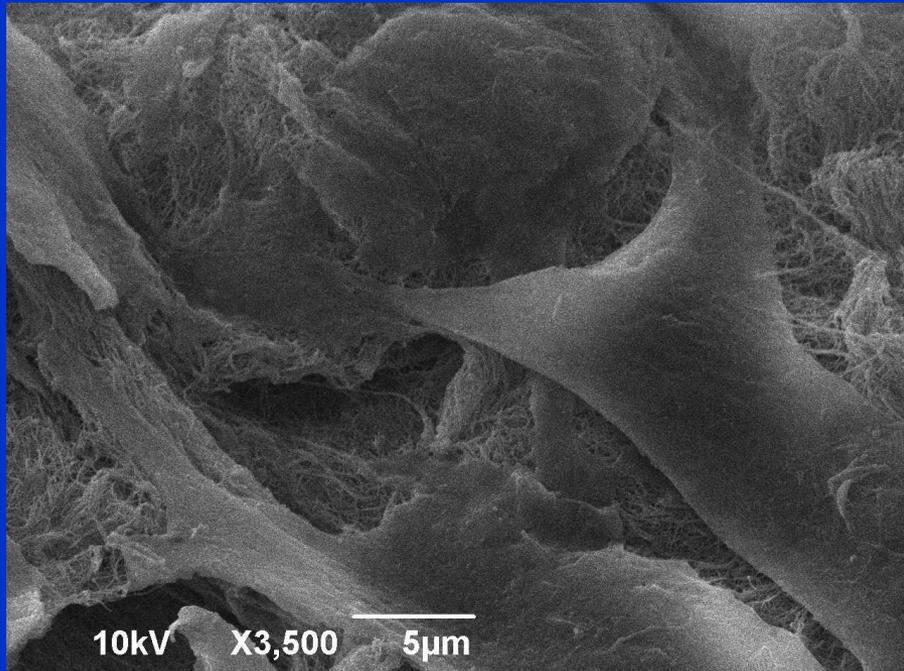


Хондроциты на пластике



Хондроциты в коллагеновом геле

# Трехмерные матрицы и мезенхимальные клетки-предшественники для реконструкции тканей



# Кожа

## Первичное заживление

Неинфицированные раны,  
с хорошим кровоснабжением,  
ровными краями без дефектов.  
(напр., послеоперационные раны)



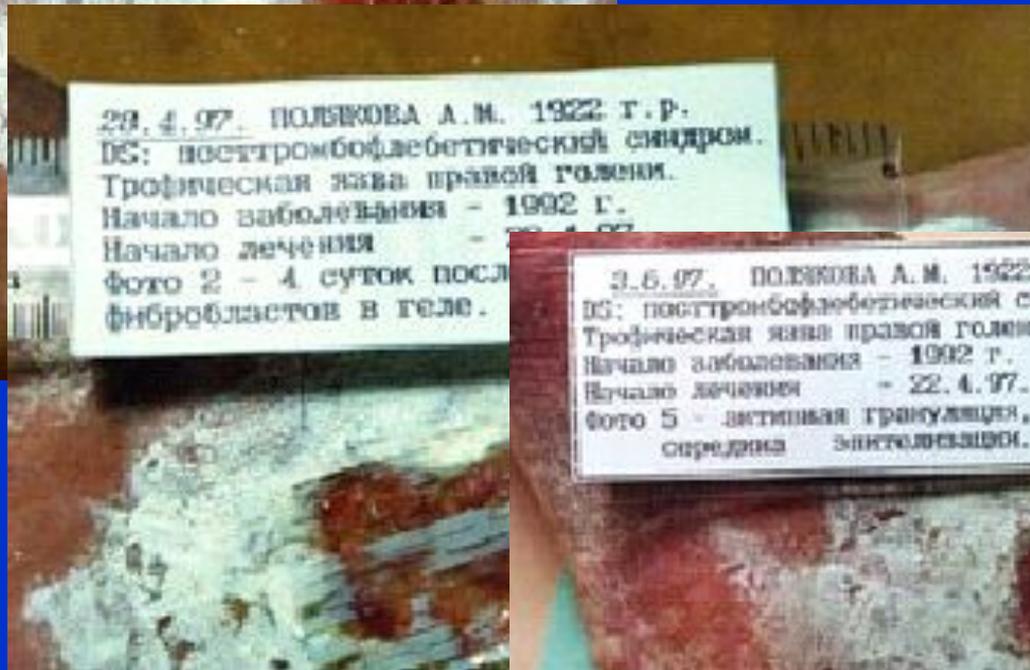
## Вторичное заживление

Первично инфицированные раны,  
обширные, с неровными краями  
с дефектом тканей  
(напр., пролежни, язвы, ожоги)



Рис. 2. Типы заживления ран

# Коллагеновый гель с эмбриональными фибробластами при лечении трофической язвы

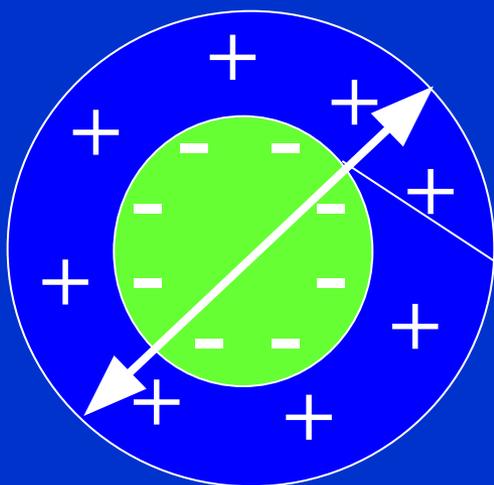
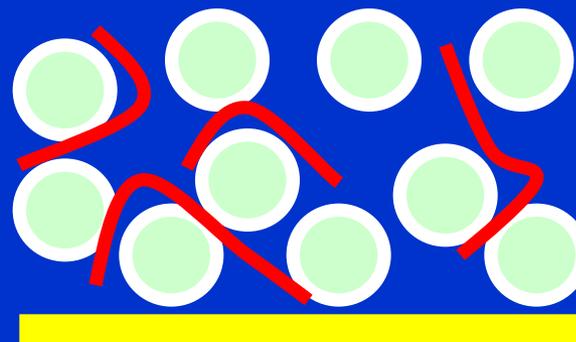


# Искусственная кожа - биосинтетическое раневое покрытие “Биокол-1”

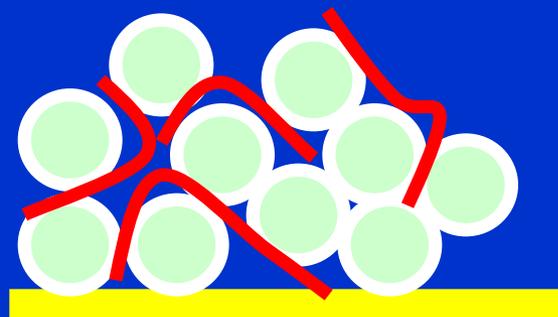


# Технология формирования биоматериалов на основе синтетических и природных полимеров

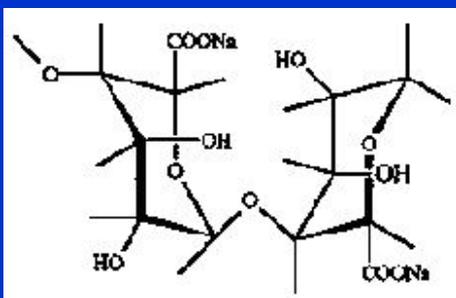
Водная дисперсия фторлатекса и биополимеров



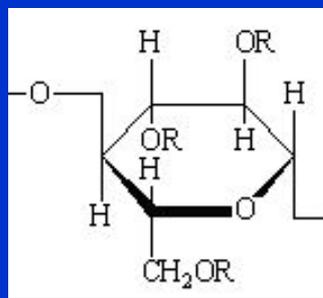
$d=170\text{нм}$



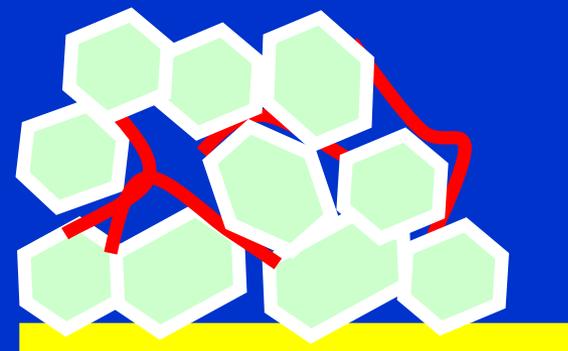
Природные полисахариды



Альгинат натрия

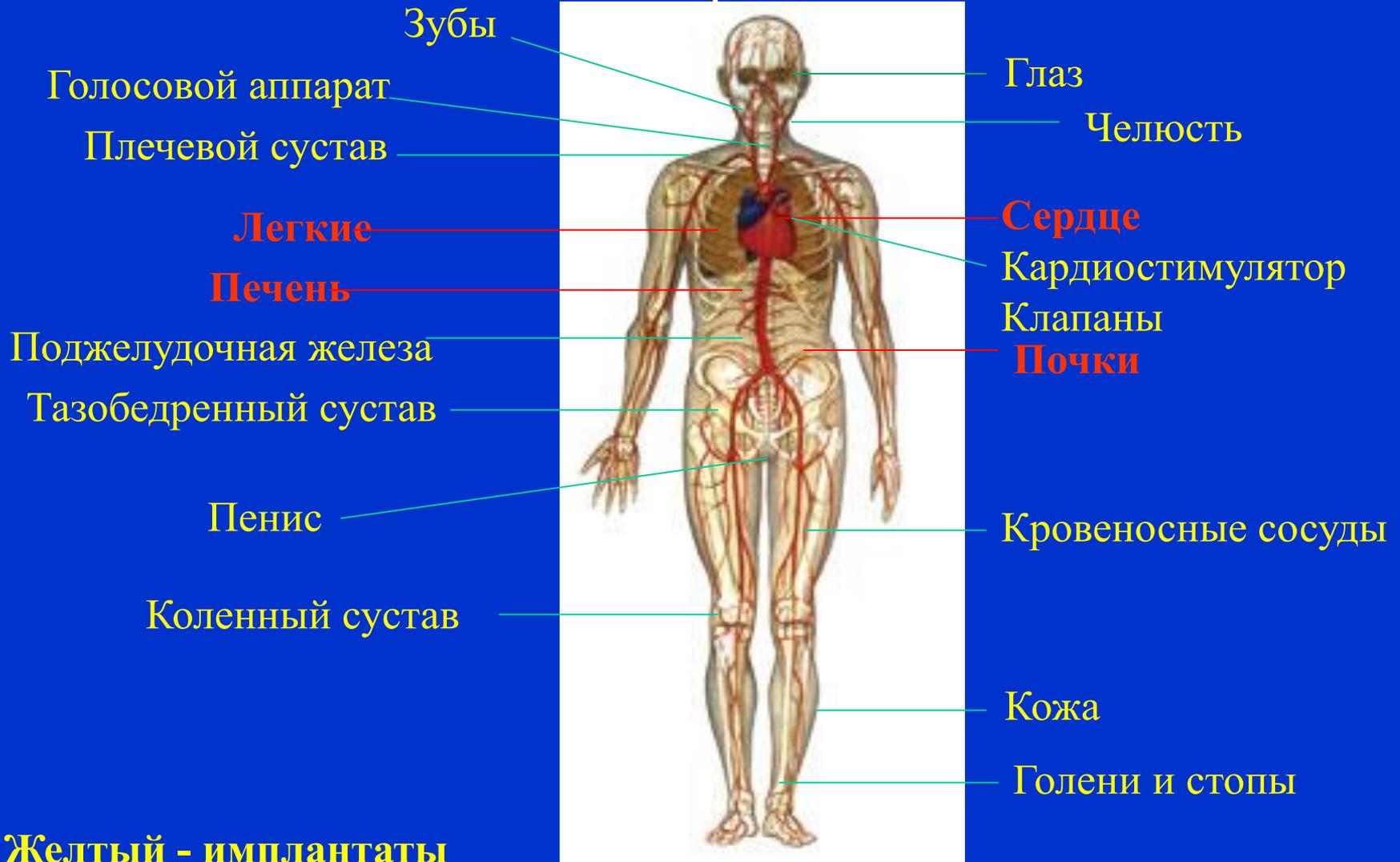


Метилцеллюлоза





# Биомедицинская инженерия – замещение органов, функции которых утрачены в результате заболевания или травмы



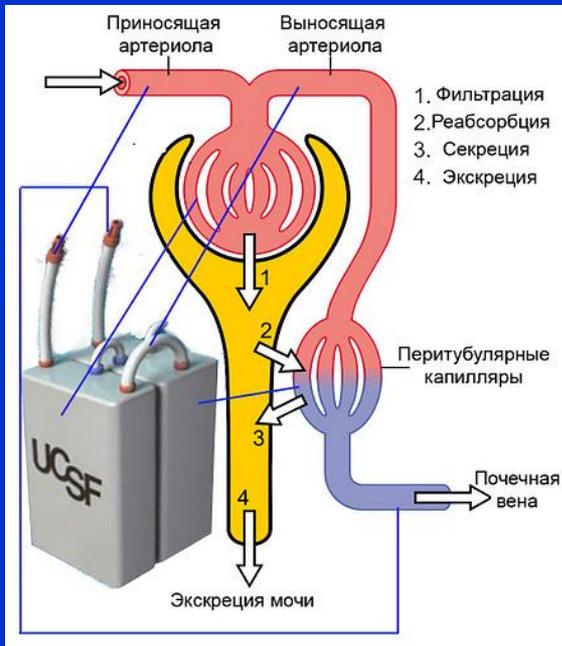
**Желтый - имплантаты**

**Красный - внешние устройства**

# Искусственная печень



# Искусственные почки



Биоискусственная система почечных эпителиальных клеток от Innovative BioTherapies, Inc. (IBT)

- Имплантат- медицинский объект, изготовленный из синтетических или искусственных материалов, в том числе неживых природных объектов, помещенный хирургическим путем в организм и находящийся в контакте с кровью и лимфой
- Эндопротез – изделие, вводимое в организм с целью замещения удаленного органа или ткани, в той или иной мере выполняющее его функцию



Стент-графт для лечения  
аневризмы брюшной аорты



Интраокулярная линза  
(ИОЛ)



Митральный клапан  
Medtronic-Hall



Металлические имплантаты  
для замены поврежденных  
тазо-бедренных суставов



Кардиостимулятор



Почечный  
баллонорасширяемый  
стент

# Титан – низкая жесткость, высокая биосовместимость



# Сплав кобальт-хром - высокие износостойкость, твердость, жесткость и низкое трение



# Реакция организма на введение имплантата

- Воспалительный процесс, образование капсулы, отторжение
- Некроз окружающих тканей, канцерогенез, аллергенные явления
- Деградация (неклеточная и клеточная)
- Кристаллизация неорганических солей на поверхности и в массе имплантата
- Биоинтеграция – процесс их включения в систему внутриорганизменных и внутритканевых взаимодействий, при которых не наступает эффектов отторжения и имплантаты/ имплантационные материалы берут на себя функциональную нагрузку, соответствующую их целевому назначению.

- **Биосовместимость** – устойчивость имплантируемого материала к воздействию сред организма и отсутствие токсического действия на ткани организма
- **Биологическая инертность (биоинертность)**- свойство материала не оказывать биологического действия на окружающие ткани и организм в целом и быть устойчивым к их воздействию
- **Биоактивность** – способность формирования связи материала и ткани

- Биодegradация – способность к рассасыванию в организме
- Биозамещение – способность замещения новой живой тканью параллельно с процессом биодegradации
- Биореакционная способность – способность химически и/или биохимически вступать в реакции под влиянием окружающих тканей и сред
- Адгезивность – способность поддерживать адгезию, распластывание и миграцию субстратзависимых клеток

# Физико-химические характеристики биоматериалов, определяющие их биосовместимость

- Химическая структура
- Гидрофильно-гидрофобные свойства
- Шероховатость поверхности
- Пористость структуры
- Механические характеристики
- Размеры

Химическая структура поверхности полимера определяет адгезию клеток через адсорбцию адгезивных белков сыворотки изменение конформации которых на поверхности с различными химическими группами определяет различия в клеточном ответе.



Гидрофобная поверхность  
( $\theta_a > 80^\circ$ )  
-CH<sub>3</sub>, -CH=CH<sub>2</sub>



Умеренно гидрофобная  
поверхность ( $\theta_a = 48-62^\circ$ )  
-COOH, -NH<sub>2</sub>



Гидрофильная  
поверхность  
( $\theta_a < 35^\circ$ ).  
-ПЭГ, -ОН



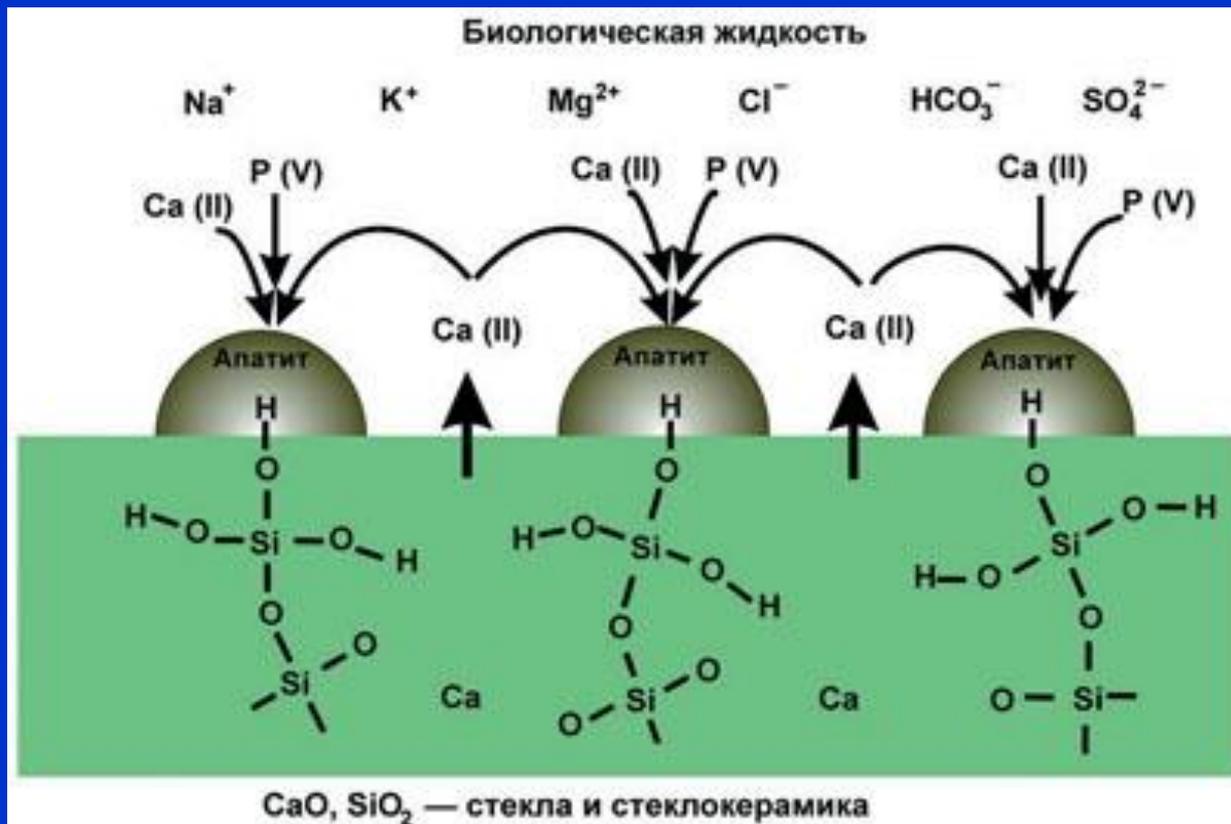
- белок



- Активный центр белка

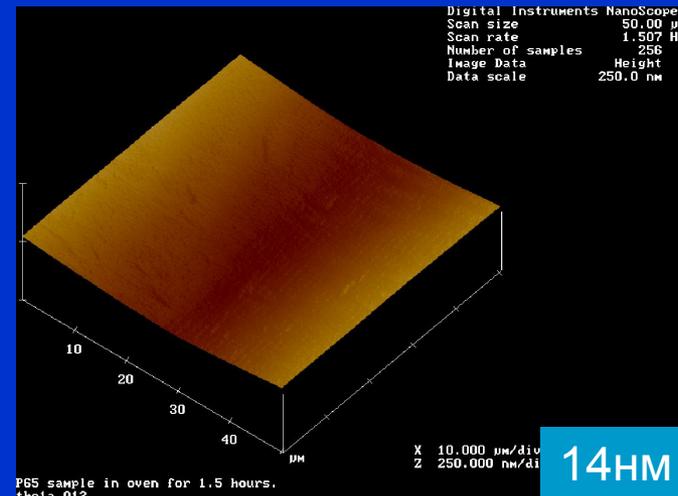
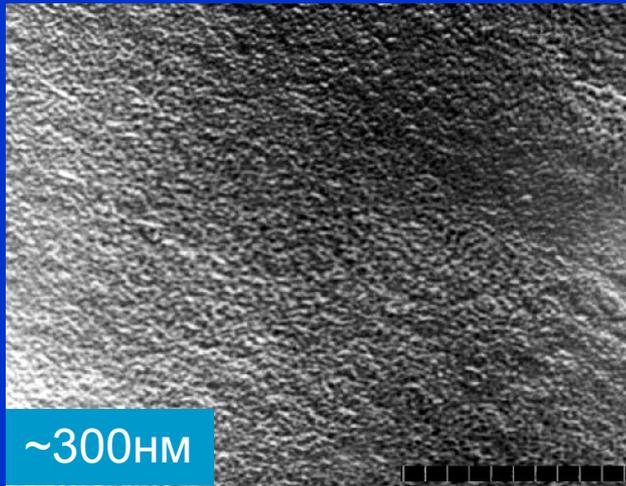
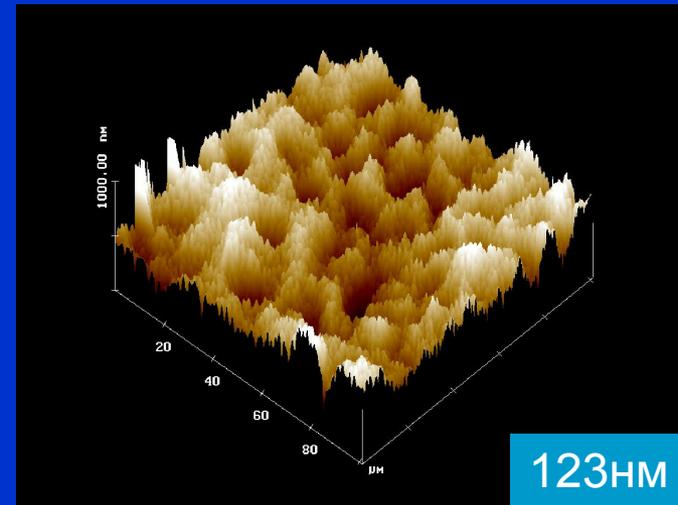
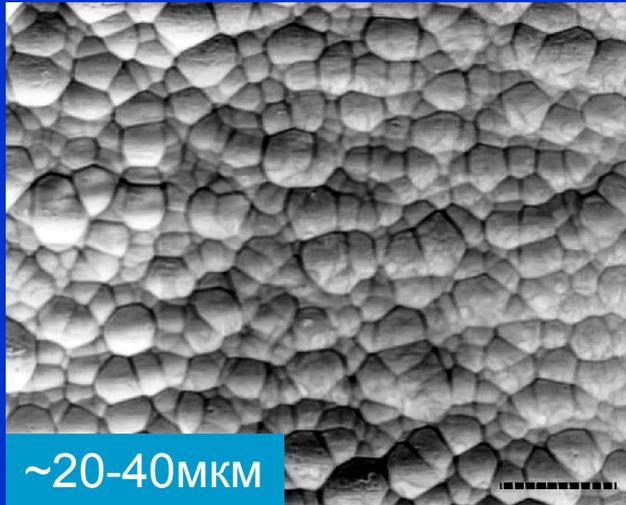
# В 1998 году Л.Хенч получил за биоактивный имплантат "Bioglass@R" премию Хиппеля

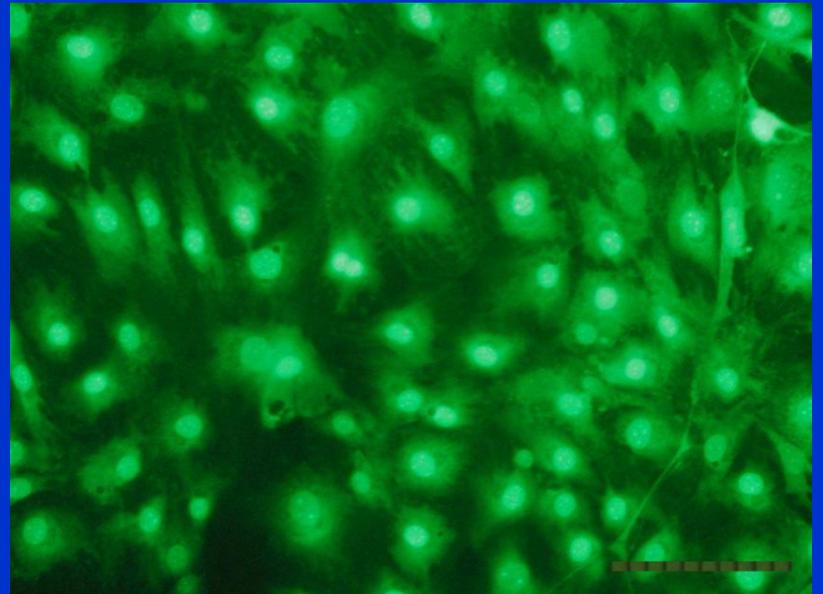
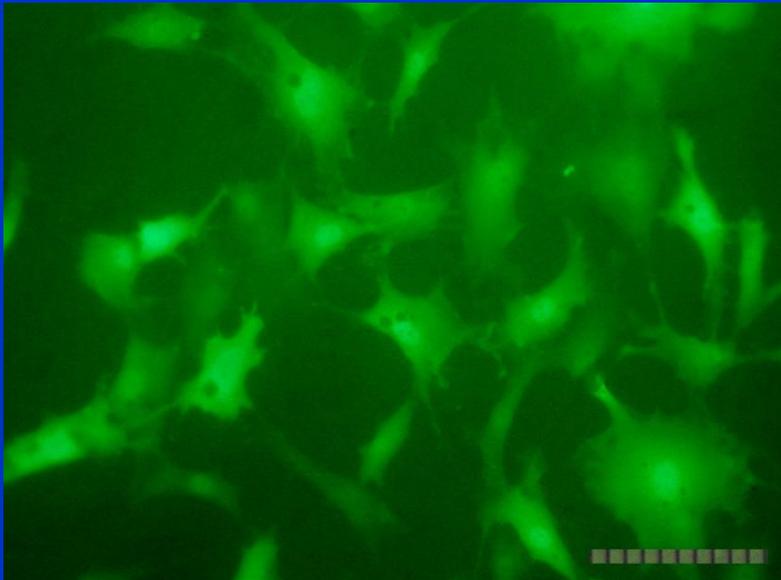
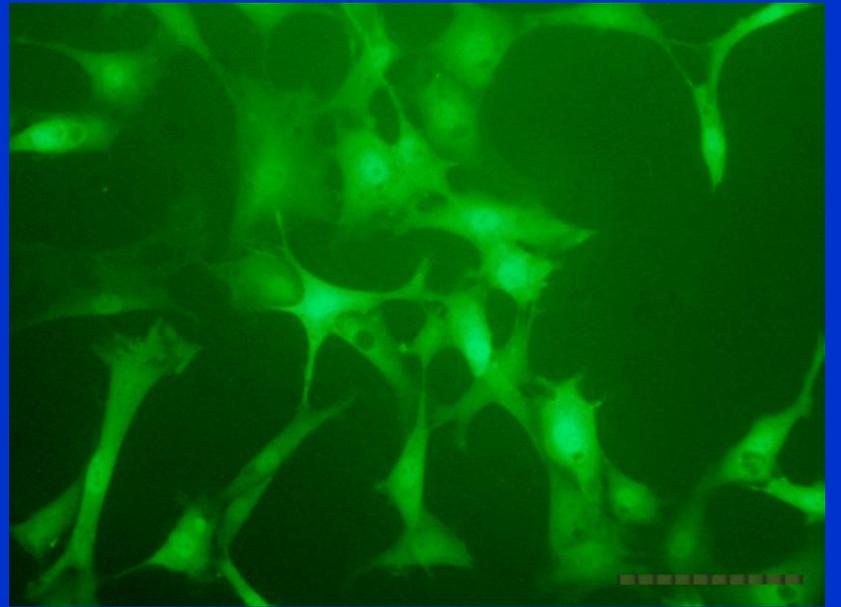
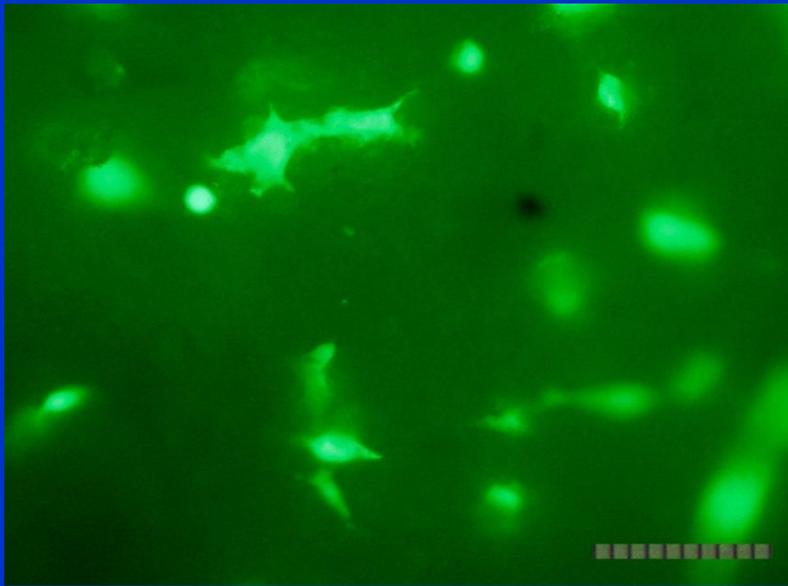
С помощью биокинетических исследований диаграммы состояния системы  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$  ученые выделили области, в которых стекла были биоинертны, резорбировались (перерабатывались организмом) или проявляли биоактивность (сращивались с костной тканью).



Срастание стекла с костью: на поверхности стеклокерамики образуются гидраты (силанольные группы  $-\text{SiOH}$ ), которые «связывают» кальций и фосфор из окружающей биожидкости, в результате на поверхности стекла быстро кристаллизуется гидроксикарбонатапатит

# Топология поверхности



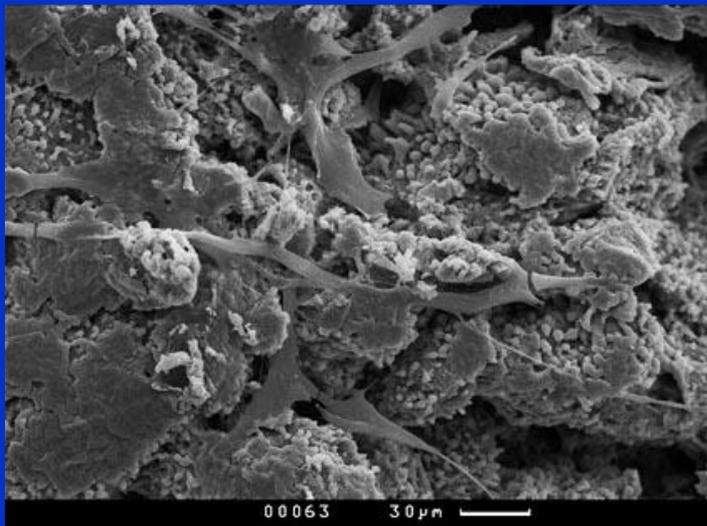


# Интеграция с тканями

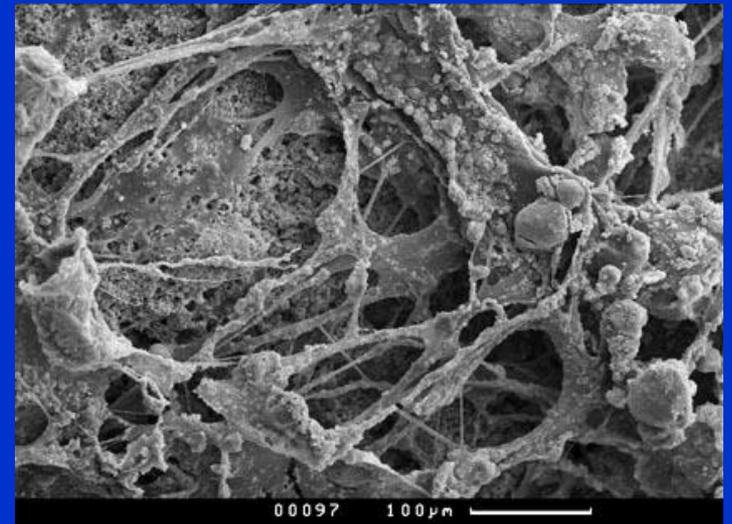


**Остеоинтеграция** (контактный остеогенез, osseointegration) - плотное прилегание костной ткани к внутрикостной поверхности имплантата без интерпозиции волокнистой соединительной ткани. Такой вариант морфологической картины считают оптимальным тканевым ответом на внедрение имплантата.

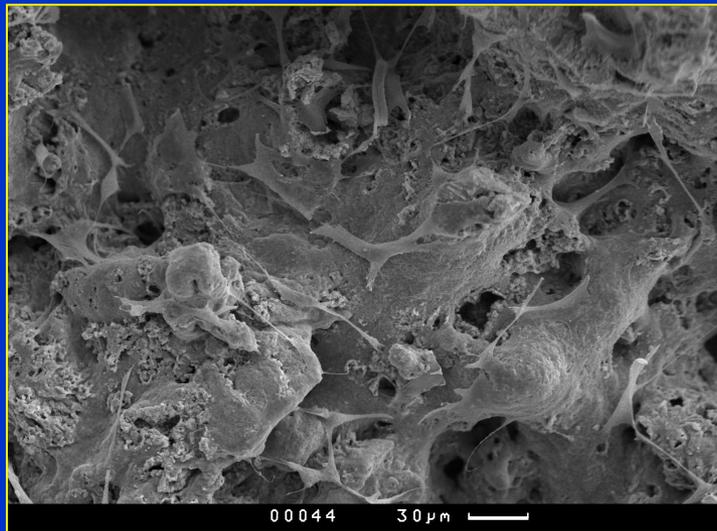
- Формирование стабильной зоны контакта с живой тканью предотвращает перемещение имплантата или смежной кости и предотвращает их разлом.
- Приближение модуля упругости материала к модулю Юнга кости предотвращает ослабление кости из-за экранирования напряжения и локализованной гибели кости.
- Использование пористых структур или нанесение покрытий из биоактивных керамических материалов может усилить крепление имплантата к костной ткани



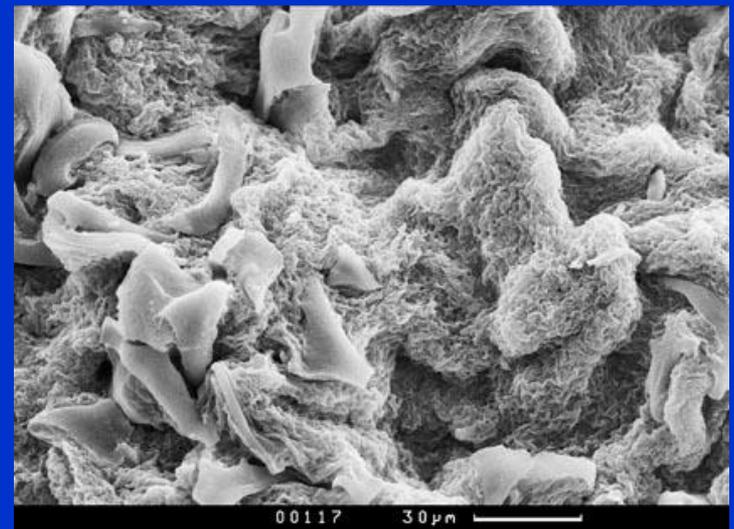
ΠΤΦΕ + TiC + ΓΑΠ



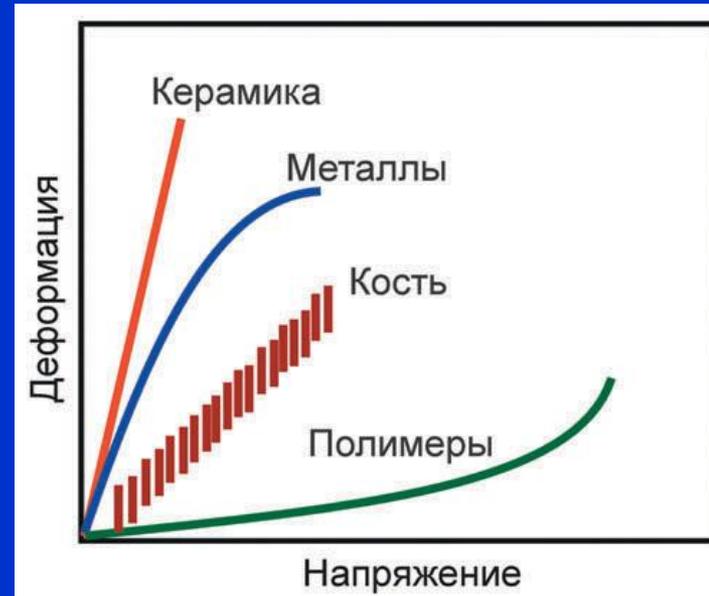
Κολлаген + ΓΑΠ



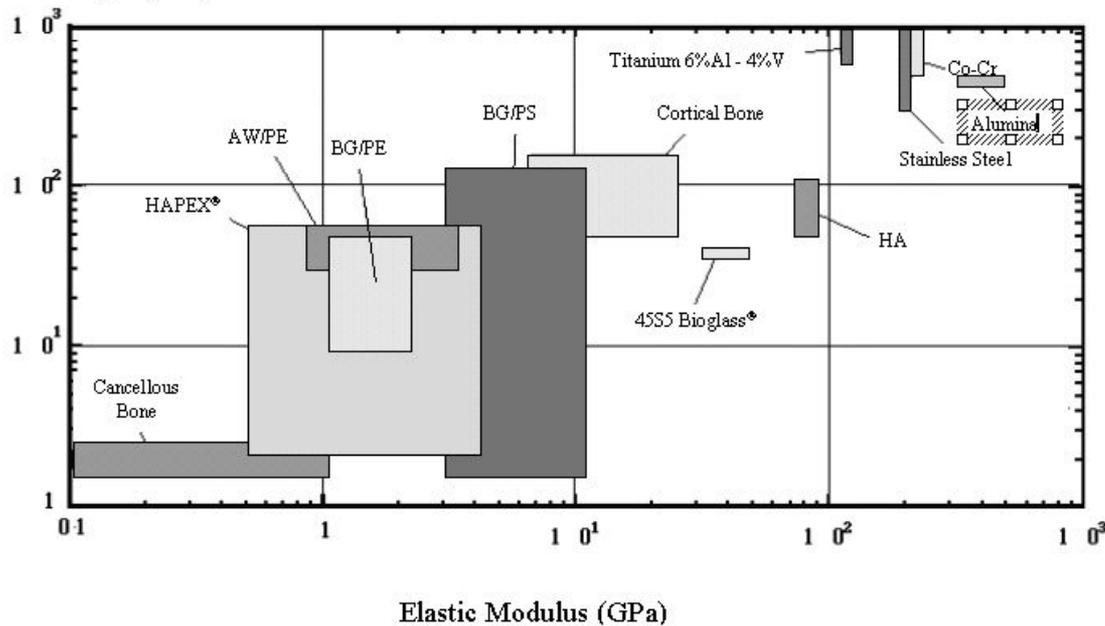
Ti+Co+ΓΑΠ



Κολлаген



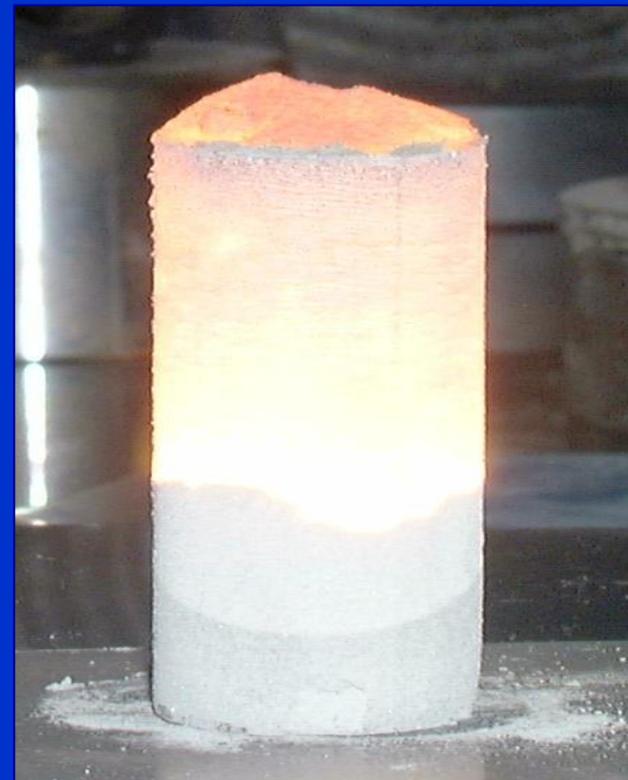
Tensile Strength (MPa)



# Композитные биоматериалы

- **Полимерно-керамические.** В таких материалах неорганическая фаза (стекло или фосфаты кальция) равномерно распределена в матрице органического вещества (например, в полиэтилене высокого давления или в эпоксидной смоле).
- **Металло-керамические.** Эти материалы, главным образом, состоят из металла, который обеспечивает высокую механическую прочность. Основой протеза может быть титан и его сплавы, никель, хром, благородные металлы. Керамику (фосфаты кальция или биоактивные стекла) наносят на поверхность металла и именно она отвечает за биосовместимость имплантата.

# СВС – самораспространяющийся высокотемпературный синтез



а) б) в) г) д) е)

а)  $\text{Ti}+\text{Co}+10\%\text{mass.НAPcr.}+1\%\text{TiH}_2$

б)  $\text{Ti}+\text{Co}+25\%\text{mass.НAPcr.}+1\%\text{TiH}_2$

в)  $\text{Ti}+\text{Co}+10\%\text{mass.НAPorg.}+1\%\text{TiH}_2$

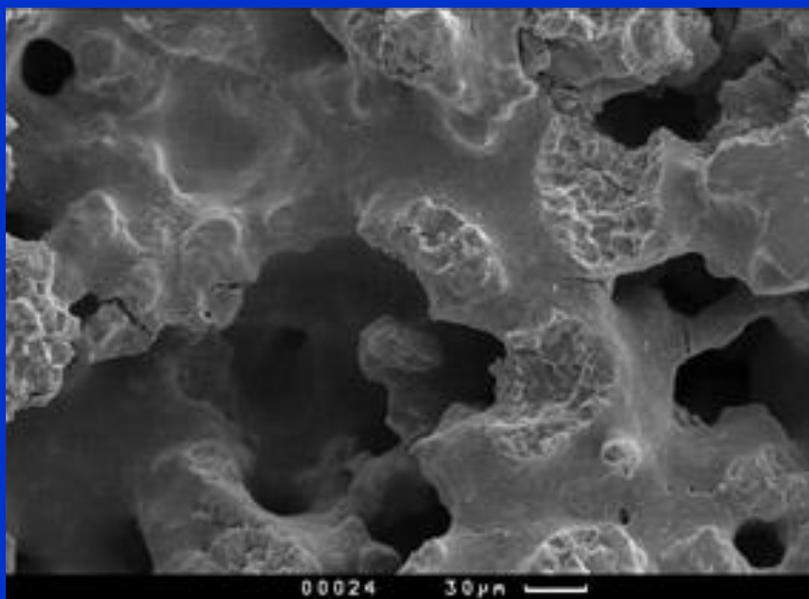
г)  $\text{Ti}+\text{Co}+10\%\text{mass.НAPamor.}+1\%\text{TiH}_2$

д)  $\text{Ti}+\text{Co}+1\%\text{TiH}_2$

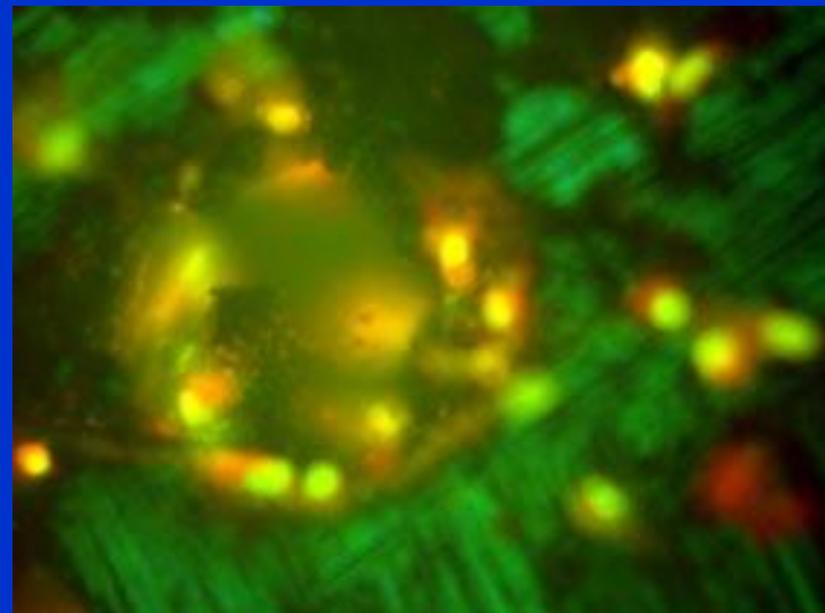
е)  $1.25\text{Ti}+\text{Co}+10\%\text{mass.НAPorg.}+1\%\text{TiH}_2$

Институт структурной макрокинетики и проблем материаловедения РАН,  
г. Черноголовка

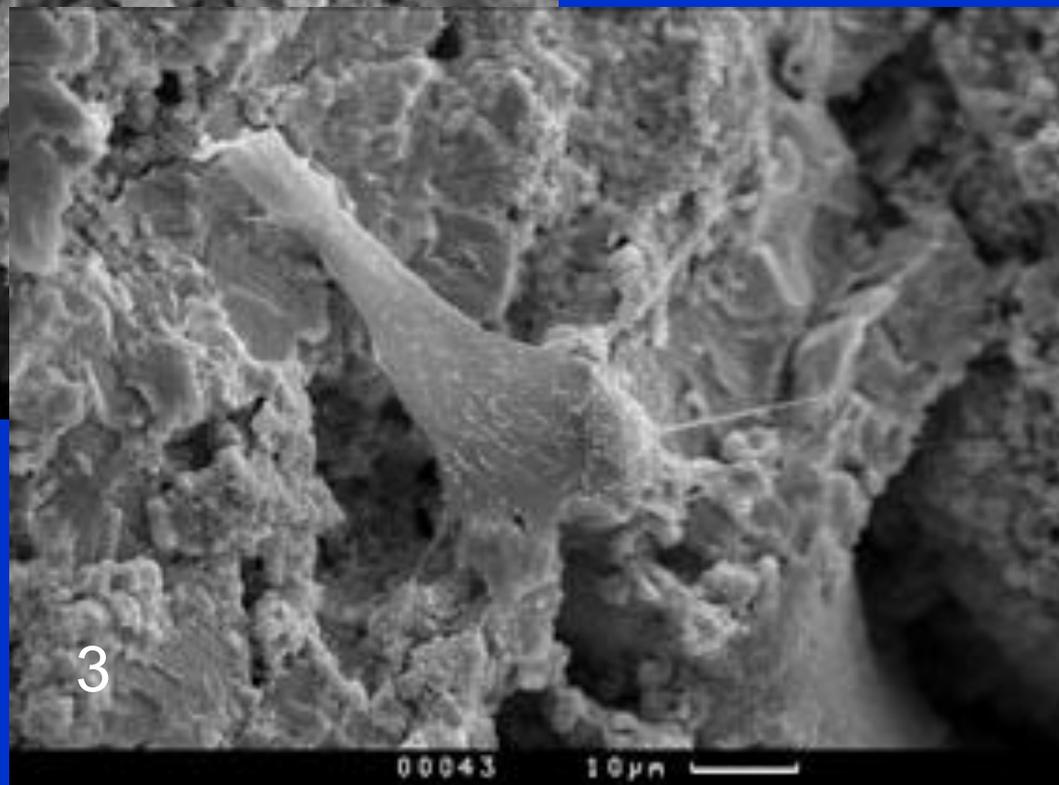
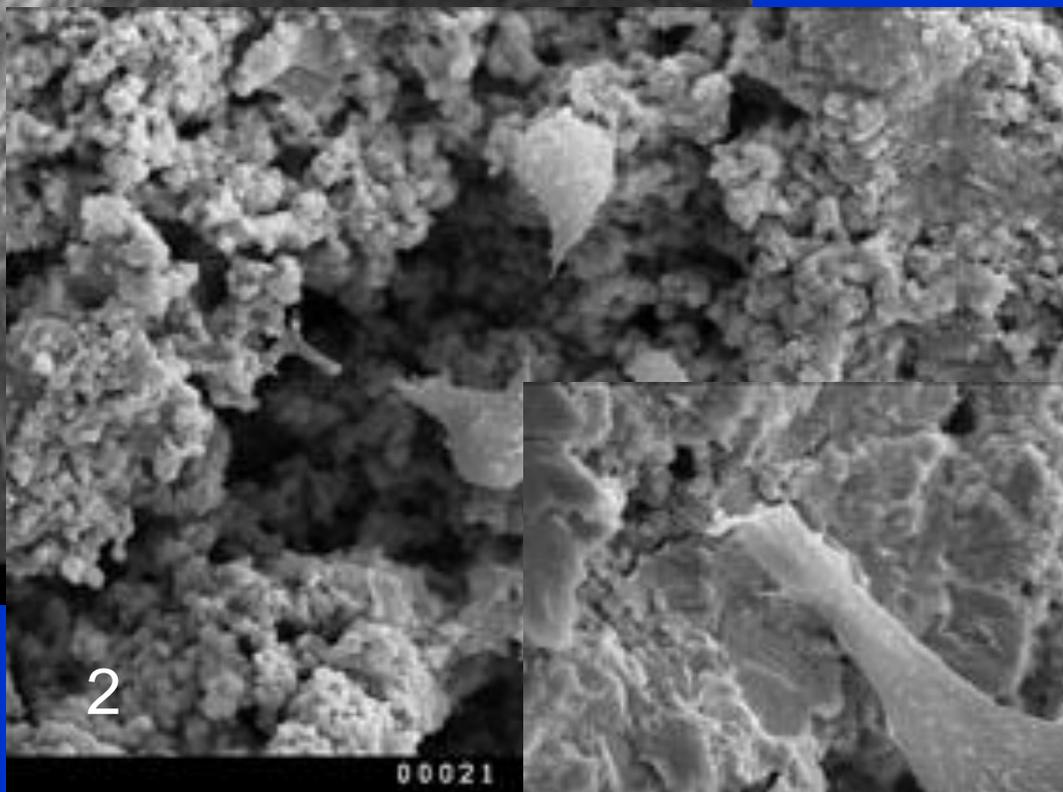
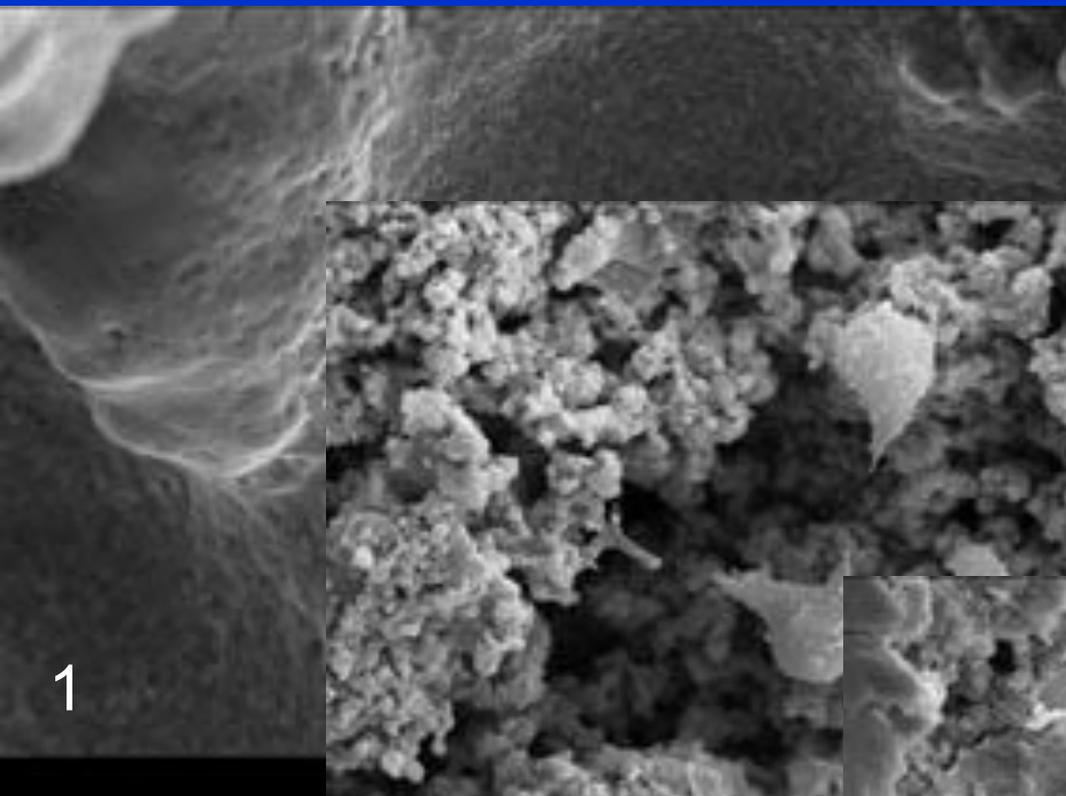
Разработан способ получения методом самораспространяющегося высокотемпературного синтеза (СВС) пористых материалов на основе сплавов титана и кобальта с включением гидроксиапатита кальция. Показано, что использование нанодисперсного гидроксиапатита (ГАП) в процессе формирования материалов Ti-Co-ГАП облегчает порообразование и приводит к модификации свойств поверхности порового пространства, что создает условия для адгезии, миграции и роста клеток.



Пористая структура СВС сплава Ti-Co

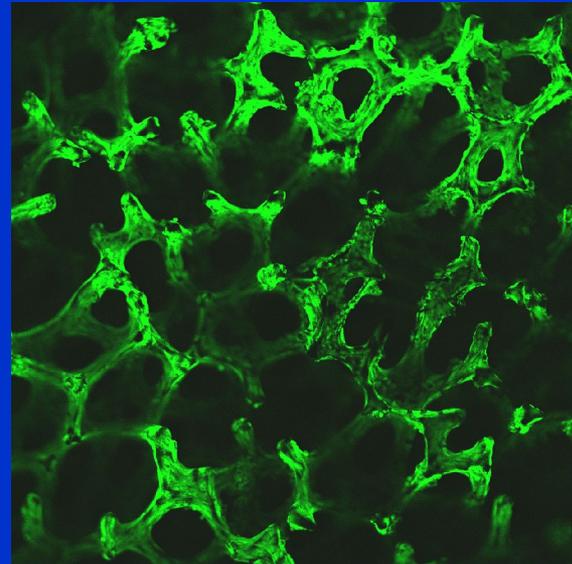
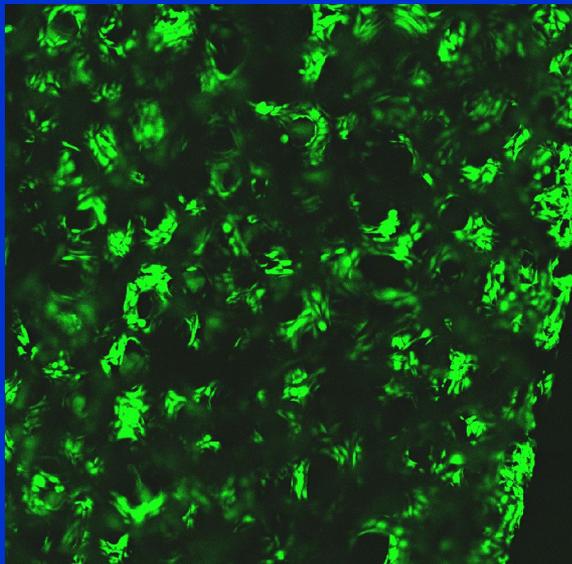
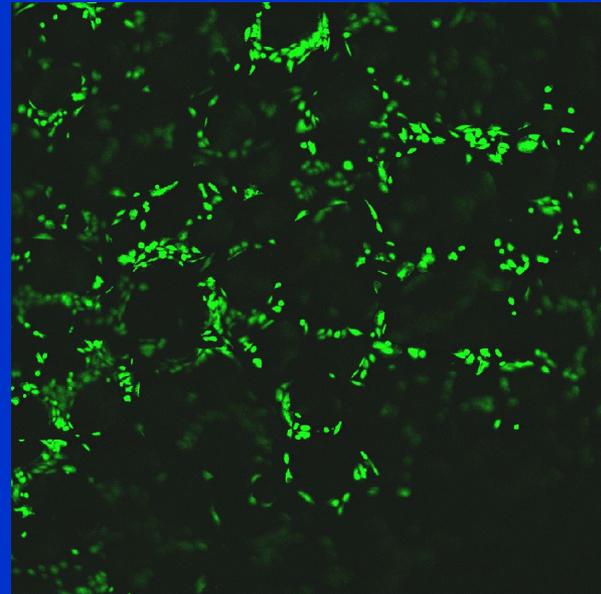
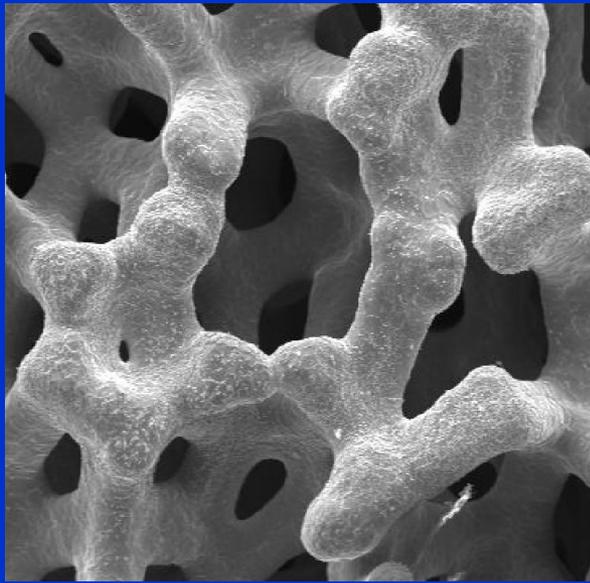


Мезенхимальные стволовые клетки в порах материала Ti-Co-ГАП

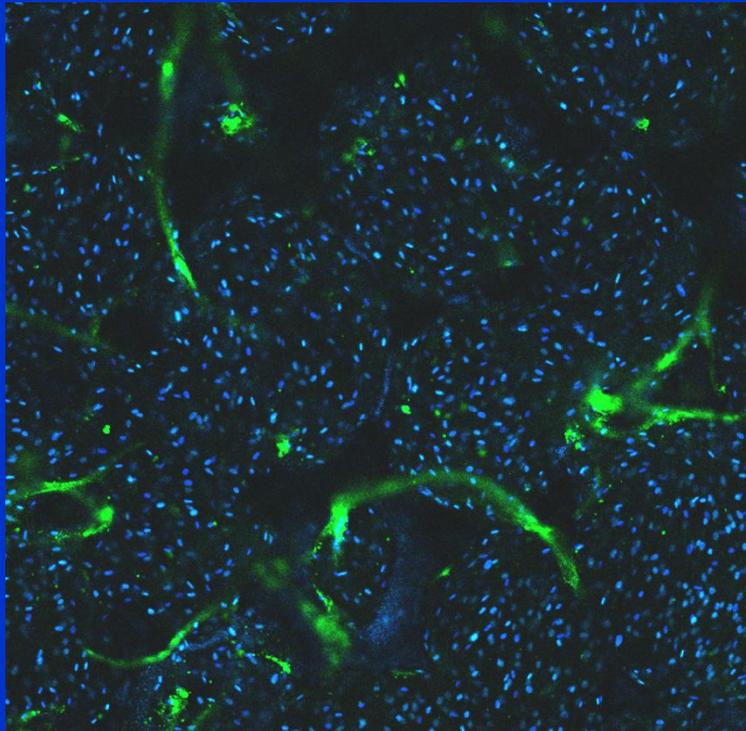


- 1) Ti+Co,
- 2) Ti+Co+ГАПкр.
- 3) Ti+Co+ГАПаморф.,

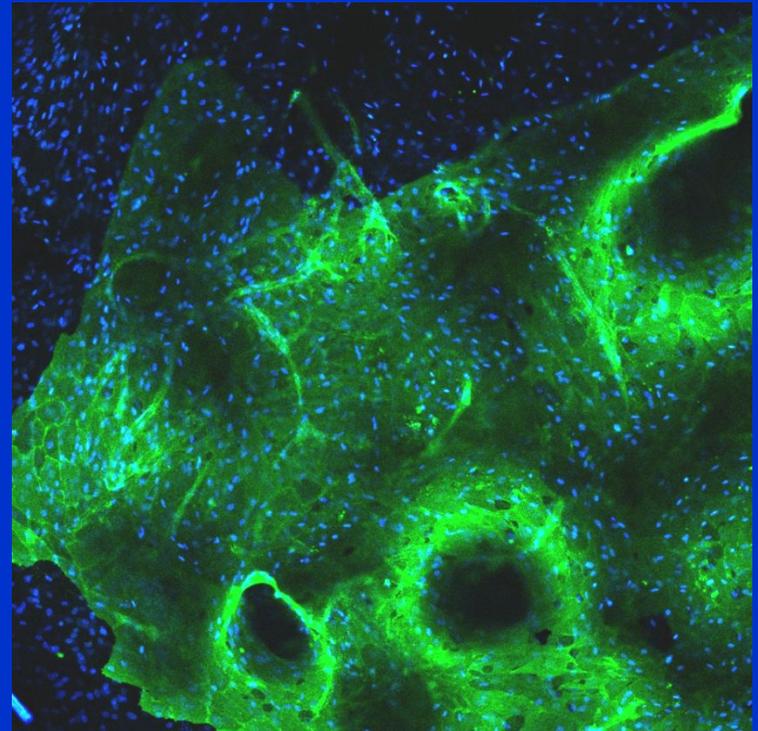
# Рост остеобластов на поверхности NiTi



# Сокультивирование остеобластов и эндотелиальных клеток на поверхности NiTi (42 дня)

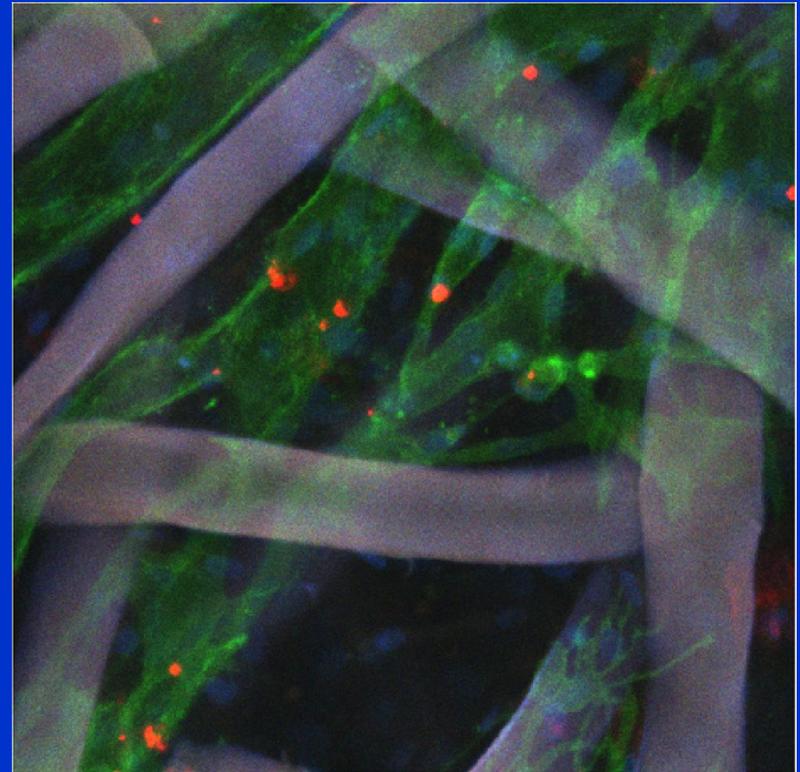
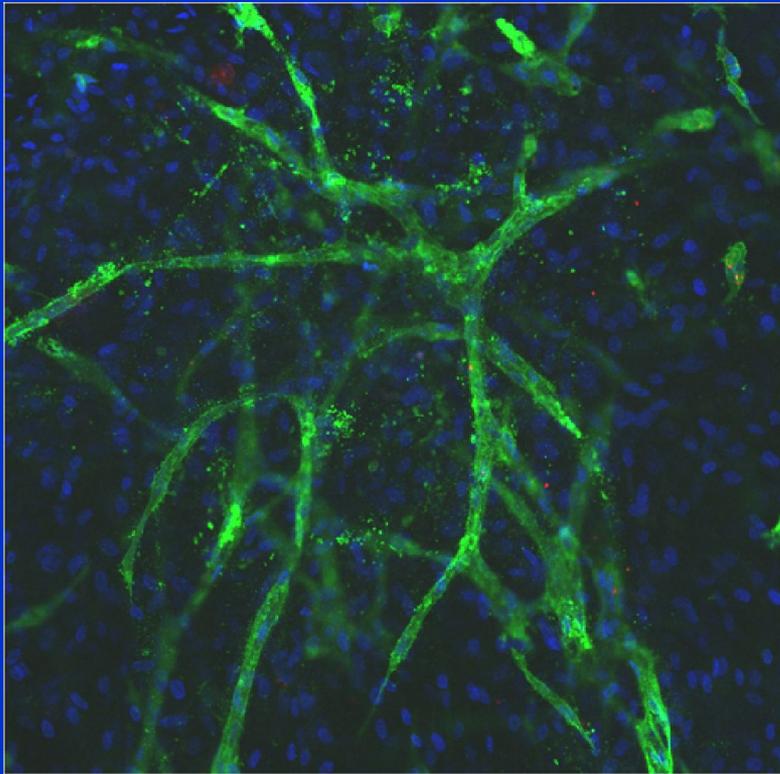


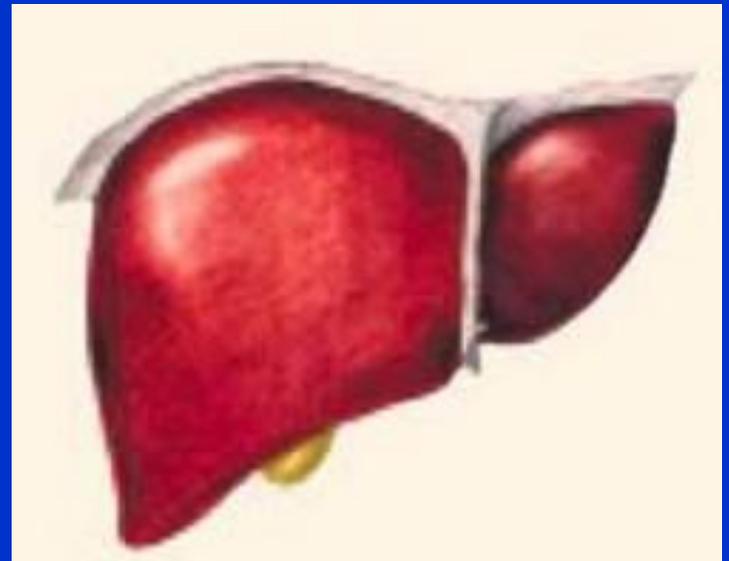
Без покрытия



С покрытием

# Сокультивирование остеобластов и эндотелиальных клеток





Спасибо за внимание!