
BILTEN DCTIS

Glasilo Društva za celično in tkivno inženirstvo Slovenije



December 2005

Letnik 1, Številka 1

Bilten Društva za celično in tkivno inženirstvo Slovenije

December 2005, Letnik 1: številka 1

Slika na naslovnici:

http://biomed.brown.edu/Courses/BI108/BI108_2004_Groups/Group04/Index.html

Uredila: dr. Nevenka Kregar Velikonja, univ. dipl. biol.

Prim. Damjan Radosavljevič, dr. med., spec.ortop.med.

Uvodnik

Leta 1994 je prof. Lars Peterson v reviji New England Journal of Medicine objavil članek z naslovom 'Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation'. Njegovo delo, ki ga opisuje v članku, je bilo ocenjeno kot revolucionarno. Leta 1995 sem obiskal prof. Petersona na Švedskem in se v tamkajšnjem medicinskem centru spoznal z to novo operativno tehniko. Vendar pa informacij in podatkov o gojenju hondrocitov ni bilo moč dobiti.

Ob povratku v Slovenijo smo sklenili izdelati svoje metode za gojenje hondrocitov, ter pridobiti sredstva za realizacijo projekta. Projekt transplantacije avtolognih hondrocitov je bil sprejet ter sofinanciran s strani Ministrstva za znanost, pri razvoju metode pa smo sodelovali strokovnjaki Zavoda RS za transfuzijsko medicino, Educella in Ortopedske klinike KC Ljubljana. Projekt je bil uspešno izpeljan pod vodstvom prof. Pavlovčiča.

Postavitev tehnologije gojenja avtolognih hondrocitov za transplantacijo je bil zelo drag projekt, saj takrat nismo imeli ustreznih laboratorijskih kapacitet. Tehnologija gojenja hondrocitov je bila zasnovana na principu avtolognosti, tako da smo za vsaditev namnožili bolnikove lastne celice in gojišču dodajali serum, pridobljen iz bolnikove krvi. Prednost tako gojenih celic se je izkazala kasneje, ob pojavu bolezni norih krav. Saj so bili naši hondrociti gojeni na avtolognem serumu, za razliko od drugih hitro rastočih laboratorijih po svetu, kjer so uporabljali goveji serum.

Naši rezultati so bili obetavni in skupaj s švedskimi kolegi smo orali ledino. Svoje delo smo predstavili na številnih vabljenih predavanjih, kot posledica uspešnega projekta pa so se razvila številna sodelovanja s tujimi raziskovalnimi skupinami. Od začetka pa do danes smo metodo razvijali in izboljševali, vseskozi so potekale raziskave in projekti, ki so dali nekaj magistrskih in doktorskih dizertacij. Redno smo sledili razvoju področja v svetu in se udeleževali mednarodnih

kongresov, skoraj vedno aktivno. Da bi področje celičnega in tkivnega inženirstva predstavili tudi v Sloveniji, smo začeli z organizacijo simpozijev 'Cartilage weekend', ki jih organiziramo vsaki dve leti in se jih udeležijo tudi številni priznani tuji predavatelji.

Tkivno inženirstvo danes v Sloveniji ni več omejeno le na zdravljenje poškodb sklepnega hrustanca. Naši strokovnjaki so razvili tudi metode za zdravljenje vezikoureteralnega refluksa z implantacijo avtolognih celic, pripravo kožnega nadomestka in pripravo kostnega nadomestka za zdravljenje degenerirane obzobne kosti. Tudi v svetu se metode celičnega in tkivnega inženirstva vse bolj uveljavljajo v regenerativni medicini.

Tkivno inženirstvo je multidisciplinarno; povezuje strokovnjake s področja medicine, kemije, biologije, farmacije, fizike, itd. Naša sredstva za raziskave so omejena, zato se je nujno povezovati z mednarodnimi institucijami, konkurirati za EU projekte in se vključevati v združenja, ki obravnavajo to področje. Vse to je pripeljalo do ustanovitve Društva za celično in tkivno inženirstvo Slovenije januarja 2005, v upanju, da bomo k sodelovanju na področju razvoja tehnologij celičnega in tkivnega inženirstva pritegnili še več strokovnjakov, pa tudi sponzorjev.

Društvo za celično in tkivno inženirstvo je prostovoljno, samostojno, nepridobitno združenje strokovnjakov z različnih področij naravoslovnih znanosti (zdravniki, biologi, farmacevti), ki želijo s svojim strokovnim delovanjem prispevati k razvoju te medicinske vede.

Namen društva je, da:

- spremlja s svojim delovanjem strokovni napredek v celičnem in tkivnem inženirstvu doma in v svetu,
- spodbuja individualno izobraževanje in usposabljanje svojih članov,
- spodbuja znanstveno-raziskovalno delo,
- razvija slovensko terminologijo.

Društvo dosega svoj namen z naslednjimi nalogami:

- pospešuje strokovno usposabljanje na področju tkivnega inženirstva z organiziranjem tečajev, simpozijev in drugimi oblikami izobraževanja in usposabljanja,
- izdaja svoje strokovno glasilo in druge strokovne publikacije v skladu z veljavnimi predpisi,
- uresničuje druge svoje strokovne naloge s področja dejavnosti društva.

Vabim in vzpodbujam vse zainteresirane strokovnjake raznih področjih iz tkivnega inženirstva, da nam pošljete za objavo v tem našem biltenu strokovne prispevke, poročila s kongresov, ideje o projektih in sodelovanju. Hkrati pa vas pozivam, da se včlanite v Društvo za celično in tkivno inženirstvo Slovenije.

Prim. Damjan Radosavljevič,
dr. med., spec. ortop. med.
Predsednik društva

KC Ljubljana
Ortopedska Klinika
Zaloška 7, 1000 Ljubljana
E-pošta: damjan.radosavljevic@kclj.si



1. skupščino Društva za celično in tkivno inženirstvo Slovenije 7.5.2005 v Portorožu so vodili Damjan Radosavljevič, Matjaž Jeras in Nevenka Kregar Velikonja, ustanovni člani društva. Damjan Radosavljevič (desno) je bil izvoljen za prvega predsednika društva.

Aktivnosti društva

3. Cartilage weekend: Portorož, 6. in 7. maj 2005

Mag. Matej Drobnič, dr. med.

KC Ljubljana
Ortopedska Klinika
Zaloška 7, 1000 Ljubljana
E-pošta: matej.drobnic@mf.uni-lj.si

V Portorožu je maja letos potekal že tretji Cartilage Weekend, mednarodni simpozij, ki združuje klinike in bazične raziskovalce, ki se ukvarjajo z zdravljenjem hrustanca in sorodnih tkiv s pomočjo celičnega in tkivnega inženirstva. Simpozij so soorganizirali Ortopedska klinika, Educell d.o.o. ter Društvo za celično in tkivno inženirstvo Slovenije. Predsednik organizacijskega odbora, prim. Miro Gorenšek, je v pozdravnem govoru izrazil zadovoljstvo nad razvojem področja v Sloveniji in uspešnim sodelovanjem s priznanimi tujimi strokovnjaki, ki so se tudi letos odzvali našemu vabilu na simpozij. Organizacijo sestanka je sofinancirala Agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije.

Domači predavatelji so predstavili svoje izkušnje s področja zdravljenja hrustanca z mozaično plastiko, mikrofrakturami in avtolognimi gojenimi hondrociti ter predstavili rezultate aktualnih raziskovalnih projektov (iskanje primerne nosilca za hondrocite, različni načini pritrditve vsadkov, vsaditve celic v medveretenčne ploščice, uporaba trombocitne paste, uporaba avtolognih hondrocitov v urologiji...). Lars Peterson in Mats Brittberg, Švedska, sta kot originalna avtorja vsaditve avtolognih hondrocitov pokazala dolgoročne rezultate ter novejšo raziskavo, ki so usmerjene v izboljšanje kostnine pod mestom hrustančne prizadetosti; Linda Sandell, ZDA, je govorila o pomenu ravnotežja med anaboli in kataboli procesi v normalnem in degeneriranem hrustancu ter pomenu poznavanja teh mehanizmov za zdravljenje hrustančnih okvar;

Elisaveta Kon, Italija, je predstavila tehniko vsaditve hondrocitov na hialuronskem nosilcu; Maria Cova, Italija, pa je svoje predavanje namenila diagnostičnim možnostim hrustančne prizadetosti z uporabo magnetne resonance. Veliko sprememb se dogaja tudi na področju zakonodaje novih tehnologij na nivoju EU, kjer želijo definirati skupne pravne okvire za različne napredne terapije na področju medicine, med katere prištevajo tudi tkivno inženirstvo, kar je predstavil Miomir Knežević, komisija EU. Z vidika Komisije za medicinsko etiko in slovenske zakonodaje je področje tkivnega inženirstva orisala Dušica Pleterski-Rigler. Glavni zaključek simpozija je bil, da je tkivno inženirstvo vsekakor tehnologija v vzponu za hrustanec kakor za druga različna človeška tkiva. Ugodna pri simpozijih manjšega obsega, kot je tudi Cartilage Weekend, je tudi možnost odprtih pogovorov z velikimi imeni, ki tako izdajo marsikatero nenapisano skrivnost.

Sklepno dejanje simpozija je bila ustanovna skupščina Društva za celično in tkivno inženirstvo Slovenije, katerega namen je povezati vse slovenske raziskovalne in klinične ustanove, raziskovalne skupine ter posameznike s področij medicine, veterine, biologije, biotehnologije, farmacije in drugih, ki se pri svojem delu srečujejo s celičnim ali tkivnim inženirstvom v okvirih bazične znanosti ali pri rutinskih posegih. Za prvega predsednika društva je bil izvoljen Damjan Radosavljevič, ki je leta 1996 s sodelavci na Ortopedski kliniki v Ljubljani prvič opravil vsaditev avtolognih gojenih hondrocitov pri nas. Novo znanje je osvojil ravno na Švedskem ob obisku Larsa Petersona. Prof. Peterson je tudi kasneje deloval kot naš mentor in je bil tudi redni gost vseh dosedanjih simpozijev, zaradi česar mu je društvo podelilo naziv častnega člana.

Na slikah je nekaj utrinkov s simpozija.



Prof. Mats Brittberg je predstavil nove dosežke na področju transplantacije hondrocitov. Sekcijo je vodil prim. Damjan Radosavljevič.



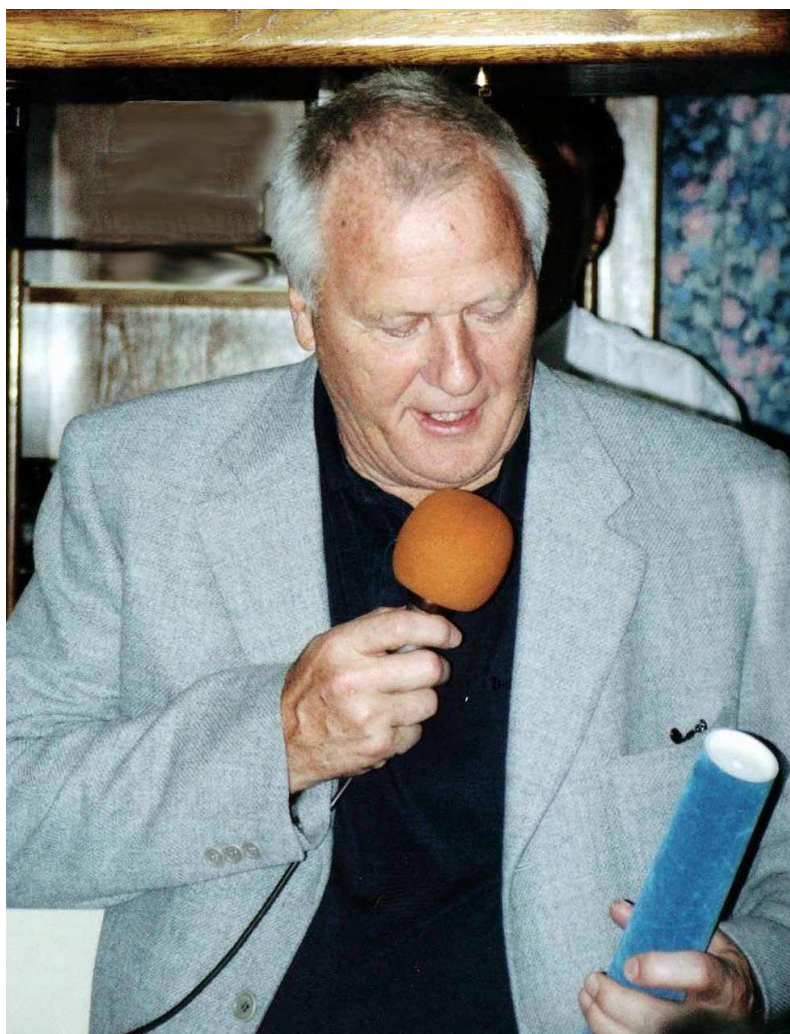
Prof. Linda Sandell je organizatorje simpozija že drugič počastila z udeležbo in predavanjem o molekularno genetskih osnovah degeneracije hrustanca. Sekcijo je vodil prof. dr. Vinko Pavlovčič.



Doc.dr. Miomir Knežević je predstavil razvoj področja tkivnega inženirstva v Evropi.



Predsednik organizacijskega odbora simpozija prim. Miro Gorenšek (z desne) ter predsednik Društva za celično in tkivno inženirstvo Slovenije Damjan Radosavljevič (sredina) izročata prof. Petersonu plaketo ob podelitvi častnega članstva.



Prof. Lars Peterson: »Prihodnost ortopedije temelji na bazičnih raziskavah celične biologije, bioinženirstvu in razvoju novih kliničnih aplikacij. Ponosen sem, da sem boter tega področja«.



Večerja na ladji, ki nas je popeljaja vzdolž slovenske obale je bila prijetna priložnost za izmenjavo mnenj in izkušenj.

Priprava znanstvene monografije 'Tissue Engineering: the Crosspoint of Repair and Regenerative Medicine'

V Društvu za celično in tkivno inženirstvo Slovenije smo se odločili izdati monografijo 'Tissue Engineering: the Crosspoint of Repair and Regenerative Medicine'. Znanstvena monografija bo obravnavala področja, ki so bila predstavljena v sklopu simpozija '3rd Cartilage weekend', ki je bil maja letos v Portorožu. Želimo, da bi monografija odražala umeščenost raziskav, razvoja in klinične

prakse v Slovenji v svetovne trende razvoja obravnavanega področja.

Avtorje, ki so predstavili svoje delo na 'Cartilage weekend-u', smo povabili k sodelovanju. Več prispevkov smo že prejeli, ostale avtorje pa obveščamo, da je rok za oddajo prispevkov podaljšan do 15. januarja 2006.

Najava 4. 'Cartilage weekend-a'

Z organizacijo simpozijev 'Cartilage weekend' želimo nadaljevati z ambicijo, da bi simpozij prerasel v osrednje strokovno-znanstveno srečanje za področje tkivnega inženirstva in regenerativne medicine v jugovzhodni Evropi.

4. simpozij o tkivnem inženirstvu in regenerativni medicini bo organiziran predvidoma maja 2007.

Humana matična celica – uporaba v medicini

Doc. dr. Primož Rožman, dr.med

Zavod RS za transfuzijsko medicino

Šlajmerjeva 6, Ljubljana

SI-1000 Ljubljana

Tel: +386 1 54 38 100

e-pošta: primoz.rozman@ztm.si

Matične celice (angl. stem cells) so nediferencirane celice embrija, zarodka ali odraslega, ki imajo sposobnost dolgotrajnega deljenja in tvorbe sebi identičnih kopij – samoobnavljanja – ter diferenciacije v bolj usmerjene tkivne celice. Matične celice (MC) lahko tudi presadimo iz njenega naravnega v novo mikrookolje, kjer pridobijo lastnosti, ki ustrezajo novemu okolju. To sposobnost prilagoditve imenujemo plastičnost. Matične celice ohranjamo v sebi celo življenje in nam omogočajo, da se naša tkiva in organi regenerirajo navkljub številnim tkivnim poškodbam in okvaram, do katerih prihaja pri vsakdanjem življenju.

V zadnjih 15 letih je prišlo do ogromnega razvoja na področju MC, čeprav prvi začetki proučevanja segajo že v leto 1870, ko je patolog Cohnheim opisal celice, podobne mezenhimskim matičnim celicam (MMC). Šele v zadnjem desetletju je postalo jasno, da se matične celice nahajajo praktično v vseh tkivih odraslega človeka. Hkrati s tem je prišlo do domnev, da bi lahko z njimi zdravili določene degenerativne, rakaste in druge bolezni, še bolj pa mehanske poškodbe tkiv in organov.

Določene MC odraslega, predvsem krvotvorne matične celice (KMC) že leta uporabljajo za zdravljenje različnih krvnih in nekrvnih

bolezni ter različnih vrst raka. O uporabnosti ostalih vrst MC pričajo številna klinična poročila o dobrem regenerativnem učinku različnih celičnih terapij z matičnimi celicami pri tkivnih poškodbah mišic, kosti, hrustanca in zob. Kaže, da krožeče MC sodelujejo tudi z lokalnimi MC tkiv in organov pri celjenju kosti, ran in poškodb nasploh. Napredujejo tudi raziskave, ki bodo v prihodnosti omogočile zdravljenje Parkinsonove, Alzheimerjeve bolezni, Duchennove mišične distrofije, diabetesa, osteogenesis imperfecta, poškodb hrbtenjače in centralnega živčnega sistema.

Pri tem ima uporaba MC iz avtoloških tkiv veliko prednosti pred alogenskimi embrionalnimi MC, saj pri uporabi avtoloških celic ne pride do zavrnitvene reakcije po presaditvi. Boljše možnosti se ponujajo pri t.im. terapevtskem kloniranju, pri katerem bomo lahko uporabili tkivno identične matične celice.

Potrebno je vedeti, da je uporaba MC trenutno večinoma še omejena na celice v suspenziji, kajti ustvarjanje kompleksnih organov nam je kljub izdelanim biološkim nosilcem zaenkrat še nedosegljivo.

Pri uporabi MC za zdravljenje prihaja tudi do vrste tehničnih in etičnih vprašanj. Ker se po svetu zavedajo izjemne prednosti uporabe različnih vrst matičnih celic za zdravljenje, številne univerze odpirajo specializirane laboratorije za raziskave matičnih celic. Tako kaže, da bo v naslednjem desetletju regenerativna medicina z uporabo matičnih celic postala najhitreje rastoča panoga medicine, priključili pa se ji bosta tudi spremljajoča farmacevtska in biotehnoška dejavnost.

Tkivno inženirstvo prihaja v adolescenco

Doc.dr. Miomir Knežević, univ. dipl. biol.

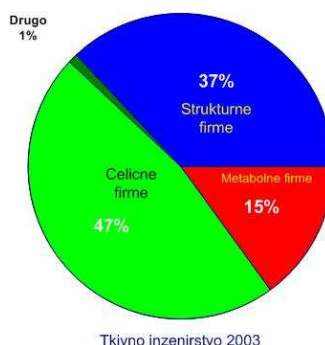
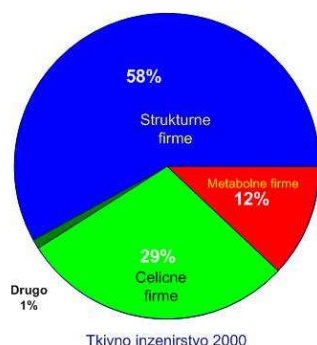
European Commission
DG Research, Directorate F6:
Biotechnology and Applied Genomics
Rue Champs de Mars 21
e-pošta: miomir.knezevic@cec.eu.int

Pričakovanja, ki jih je tkivno inženirstvo budilo med raziskovalci, kliniki, pacienti, novinarji in nenazadnje industrijo ter investitorji ob koncu 90ih let prejšnjega stoletja, so mejila že na pravo euforijo. Ko se tako visoko zastavljeni cilji seveda niso uresničili, je ta interes splahnel tako zelo, da je vrednost podjetij na tem področju padla za 10-krat. Toda to je bil en nihljaj nihala. Odpihnilo je vsa lažna pričakovanja, ohranilo zrele in vztrajne ter pokazalo na pravo vrednost področja, ki pa je vseeno velika. Pomembna preobrazba se je zgodila v zadnjih 3 letih saj sedaj prevladujejo podjetja, katerim je temelj matična celica pred t.i. strukturnimi (reparacija hrustanca, kosti,...). To pomeni, da se dejansko težišče odmika od prihoda na tržišče in se preusmerja bolj v raziskovalno sfero. Se vedno pa na področju tkivnega inženirstva dela več kot 2600 raziskovalcev, katerih vsak delodajalca stane do 150.000 Evrov. Trenutno je se veliko tehnoloških težav, ki morajo biti rešene, da bo možen enostaven prenos iz raziskovalne v razvojno in tržno fazo. Trenutno še ni podjetja, ki bi uspelo biti zares rentabilno od prodaje teh produktov. Tako se je v preteklosti dogajalo že s proizvodnjo

antibiotikov, zdravil za kontrolirano doziranje in monoklonskih protiteles. Vse to pa so dandanes «hiti».

Več pozornosti bo v bodoče potrebno nameniti trženju in prodaji, povračilu stroškov s strani zavarovalnic in pocenitvi stroškov proizvodnje. Verjetno bodo glavni tehnološki preboji prišli na področju novih biorekatorskih sistemov, primerne začetnega vira celic in podaljševanja uporabnosti produkta.

Ker tkivno inženirstvo ni v bistvu nič drugačno od drugih področij, lahko rečemo, da je kot otrok preživelo prvi naval otroških bolezni, ki pa so naredile nekaj škode: izguba več kot polovice delovnih mest, propad veliko podjetij, manjše investicije,... Regulativa, ki je smiselno rešena v ZDA, na žalost v preostalem svetu predstavlja eno glavnih zavor pri razvoju. Po drugi strani so klinične študije prirejene za velika podjetja, ki pa se tkivnega inženirstva zaenkrat še izogibajo, saj investicija v registracijo ne opravičuje potencialnega dobička. Na dolgoročne učinke terapije je treba še čakati, to pa finančnikom v farmacevtskih firmah ne opravičuje velikih investicij. Sedanji rezultati študij niso epohalni za vsa področja, so pa zmerno optimistični. Največ izgubljujejo seveda pacienti, saj nekaterim manjšim skupinam ni možno ponuditi ustrezne terapije. Zato so tudi združenja bolnikov najaktivnejša pri spodbujanju ne samo golega raziskovanja temveč predvsem kliničnih študij. Kaze, da je to pravi pristop.



V 3 letih je prišlo do nastanka ali pa preusmeritve veliko podjetij, ki so bila prej aktivne na regeneraciji tkiv kot so hrustanec, kost, koža (strukturne firme). Nastalo je več firm, katerih področje delovanja predstavlja matična celica. Odstotek podjetij, ki delujejo na področju regeneracije ledvic, jeter, pankreasa (metabolne firme) pa se je malo povečal. (Vir : *Lysaght MJ, Hazlehurst A : Tissue engineering : The end of the beginning. Tissue Engineering, Mary Ann Liebert, Inc., Vol. 10, No.: 1/2, 2004, str. 309*)

Projekti s področja celičnega in tkivnega inženirstva v Sloveniji

Dr. Nevenka Kregar Velikonja

Educell d.o.o.
Letališka 33
1000 Ljubljana
e-pošta: nevenka.kregar@educell.si

V tem prispevku so zbrani nekateri pomembnejši projekti, ki potekajo (ali so potekali) na slovenskih inštitucijah na področju

celičnega in tkivnega inženirstva. Nekateri se že uvajajo v klinično prakso, drugi so usmerjeni v temeljne raziskave fizioloških mehanizmov in regulacije diferenciacije humanih ali živalskih celic. Pregled je pripravljen z namenom, da bi povečaji vedenje o aktivnostih slovenskih skupin na področju celičnega in tkivnega inženirstva in s tem odprli nove možnosti za sodelovanja.

Dendritične celice, pripravljene iz človeških monocitov - aktivatorji in modulatorji specifičnih imunskih odzivov

Vodja projekta: doc.dr. Matjaž Jeras, mag.farm.
Sodelujoče organizacije: ZTM-CTT, KC Ljubljana, Educell

Dendritične celice (DC) igrajo osrednjo vlogo pri uravnavanju delovanja imunskega sistema, saj zelo učinkovito izzovejo nastanek specifičnega imunskega odziva, določajo njegove lastnosti, obseg in trajanje ter vzdržujejo toleranco na telesu lastne antigene. Številna bolezenska stanja, kot je na primer rak ali pa različne avtoimunske bolezni, so povezana z neučinkovitim oziroma neustreznim imunskim odzivom, v kar so nedvomno vpletene tudi DC.

Projekt je usmerjen v pripravo zrelih dendritičnih celic iz človeških monocitov, ter proučevanju njihovega fenotipa in njihove diferenciacije. Na drugi strani proučujemo tumorske celice kot vir znanih in neznanih tumorskih antigenov ter tarč za preizkušanje specifičnega imunskega odziva in vitro. Razvijamo različne načine dostave tumorskih antigenov v DC, da bomo pripravili DC, ki bodo predstavljale tumorske antigene v okviru lastnih molekul HLA.

Rezultati, ki jih pričakujemo, predstavljajo izhodišče za optimalno načrtovanje priprave DC in vitro, za potrebe klinične modulacije imunskega odziva pri raku, za zdravljenje avtoimunskih bolezni oziroma za vzpostavljanju imunske tolerance pred transplantacijami tkiv in organov.

Projekt sofinancira Agencija za raziskovalno dejavnost (šifra projekta: L1-6295)

Osamitev, karakterizacija in diferenciacija humane matične celice kot podlaga celični terapiji

Vodja projekta: doc.dr. Primož Rožman, dr. med., spec. transf. med.
Sodelujoče organizacije: ZTM-TM, KC Ljubljana-interna klinika, Educell

Matične celice (angl. stem cells) so nediferencirane celice embrija, zarodka ali odraslega, ki imajo sposobnost dolgotrajnega deljenja in tvorbe sebi identičnih kopij – samoobnavljanja – ter diferenciacije v bolj usmerjene tkivne celice. Matične celice so obetaven vir celic za različne vrste celičnih terapij. V kostnem mozgu odraslega sta prisotni vsaj dve vrsti matičnih celic in sicer krvotvorne in mezenhimske. Novejše raziskave pa poročajo o več različnih populacijah matičnih celic, ki se razlikujejo po sposobnosti diferenciacije. V projektu raziskujemo prisotnost teh populacij v kostnem mozgu in razvijamo metode za osamitev, karakterizacijo in diferenciacijo humane matične celice. Projekt sofinancira Agencija za raziskovalno dejavnost (šifra projekta: L3-6011)

Uporaba gojenih avtoloških hrustančnih celic za zdravljenje vezikoutereteralnega refluksa

Vodja projekta: prim.dr. Andrej Kmetec
Sodelujoče organizacije: KC Ljubljana, Zavod RS za transfuzijsko medicino, Educell

Med pacienti s kronično odpovedjo ledvic, ki so kandidati za transplantacijo ledvic, je do 8% takih, pri katerih ugotovimo vezikoureteralni refluks. Implantacija avtoloških gojenih hondrocitov elastičnega hrustanca se je izkazala kot uspešna metoda, s katero lahko odpravimo ali zmanjšamo refluks višjih stopenj. Poseg je bil doslej endoskopsko opravljen pri 7 bolnikih, klinični rezultati so spodbudni. Projekt sofinancira Agencija za raziskovalno dejavnost RS (šifra projekta: L3-6265).

Razvoj tkivno-inženirskih kostnih nadomestkov za uporabo v parodontologiji, travmatologiji in ortopediji

Vodja projekta: doc.dr. Miomir Knežević, univ.dipl.biol.

Sodelujoče organizacije: ZTM-CTT, KC-Ortopedska klinika, Educell, ZD Ljubljana, IJS

Obnova poškodovanih kosti je pomembno področje tkivnega inženirstva, saj je regeneracija kosti potrebna pri številnih kliničnih indikacijah, kot so akutne poškodbe dolgih cevastih kosti, prirojene malformacije, benigni in maligni kostni tumorji ter kostne infekcije.

Za obnovo poškodovanih in obrabljenih kostnih struktur je v kirurgiji trenutno najpogostejša metoda izbire presadek avtologne kosti. Alternativno avtolognim in alogenim kostnim vsadkom predstavljajo različni biokompatibilni materiali. Tkivno-inženirski kostni nadomestek je namreč zgrajen iz (a) nosilca (biokompatibilnega in biorazgradljivega materiala), ki pospešuje pritrjanje celic, njihovo proliferacijo in diferenciacijo, (b) celic z osteogenim potencialom in opcijsko še (c) signalnih molekul, ki pospešujejo celično proliferacijo, diferenciacijo in obnovo.

Projekt je usmerjen v izdelavo biološkega nadomestka za kost, ki bi omogočil uspešno in hitro regeneracijo vitalnega kostnega tkiva z ustreznimi biomehanskimi lastnostmi. Končni cilj je priprava kostnih nadomestkov, naseljenih s pacientovimi avtolognimi celicami, za rekonstrukcijo poškodovanih kosti v parodontologiji, ortopediji in travmatologiji. Projekt sofinancira Agencija za raziskovalno dejavnost (šifra projekta:L4-6325)

Postavitev proizvodnega procesa za vzgojo avtolognih človeških hondocitov, gojenih in vitro

Vodja projekta: dr. Miomir Knežević

Sodelujoče organizacije: Educell, ZTM-CTT, KC Ljubljana-Ortopedska klinika

Tekom projekta je bila razvita prva generacija avtolognega celičnega produkta za zdravljenje poškodb kolenskega sklepnega hrustanca. Projekt je sofinanciralo Ministrstvo za znanost in tehnologijo (šifra projekta:R1-2979). Projekt se nadaljuje v smislu posodabljanja tehnologije, uporabe nosilnih materialov za celice in spremljanja kliničnih rezultatov zdravljenja, kar je omogočilo opredelitev ustreznih kliničnih indikacij za to terapijo.

Uporaba gojenih kožnih nadomestkov za zdravljenje kroničnih in akutnih ran

Vodja projekta: doc. dr. Matjaž Jeras

Sodelujoče organizacije: ZTM-CTT, KC Ljubljana, Educell

Kožni nadomestki se že vrsto let uporabljajo za zdravljenje opeklin in težko celečih ran. Na ZTM smo razvili tehnološko napreden postopek za pripravo avtolognega kožnega nadomestka. Le tega bomo tekom projekta še izpopolnili in prilagodili za zdravljenje posameznih kliničnih indikacij.

Projekt sofinancira Agencija za raziskovalno dejavnost (šifra projekta: L7-7457)

Vpliv 3D nosilcev na diferenciacijske sposobnosti hondocitov "in vitro"

Vodja projekta: dr. Ariana Barlič

Sodelujoče organizacije: Educell, KC Ljubljana, ZTM-CTT

Znano je, da pogoji okolja vplivajo na sposobnost celic za izražanje njihovega diferenciranega fenotipa. Pri hrustačnih celicah pride v kulturi do padca sinteze značilnih proteinov hrustančnega matriksa in do porasta sinteze nekaterih nespecifičnih proteinov, ki so značilni za vezivna tkiva. V projektu proučujemo vpliv nekaterih izbranih nosilnih materialov na diferenciacijske lastnosti hondocitov v kulturi. Predpostavljamo, da z zagotavljanjem čim bolj diferenciranega fenotipa celic pred implantacijo, povečamo možnost za tvorbo kakovostnega tkiva na mestu implantacije in s tem izboljšamo klinično uspešnost postopka.

Projekt sofinancira Agencija za raziskovalno dejavnost (šifra projekta: L7-7598)

Priprava kostnih čipov za potrebe maksilofacialne kirurgije

Vodja projekta: dr. Borut Sotošek

Sodelujoče organizacije: LN-MCP, ULMF, Specialistična ordinacija za Maksilofacialno in oralno kirurgijo, Celica, Zavod RS za transfuzijsko medicino, Inštitut Jožef Štefan

Za popravilo kostnih defektov se uporablja različne materiale, ki so inertni a neživi. Idealen material predstavlja avtologna kostnina, ki pa je žal pogosto nedostopna. Namen projekta je razviti kostne čipe, ki sestojijo iz avtolognih pro-osteoidnih celic, ki se jih nasaja na biokompatibilni matriks. Uporaba pripravkov poteka v okviru klinične študije. Projekt sofinancira Agencija za raziskovalno dejavnost RS.

Razvoj metod za določanje subcelularne koncentracije in mobilnosti označenih molekul v celicah

Vodja projekta: dr. Marko Kreft

Sodelujoče organizacije: LN-MCP, ULMF, Celica,

Pri evalvaciji delovanja tkiv in posameznih celic za potrebe temeljnih in aplikativnih raziskav je potrebno kvantitativno določiti parametre funkcije celic. V ta namen se uporabljajo različni fluorescenčni markerji, ki so povezani s specifičnimi celičnimi procesi in organeli. Namen projekta je pripraviti merilne metode za določanje relativne koncentracije fluorescenčnih markerjev in metod za spremljanje mobilnosti subcelularnih struktur v času.

Projekt sofinancira Agencija za raziskovalno dejavnost RS.

Razvoj in priprava imunohibridomov na podlagi spremljanja fuzije znotrajceličnih organelov

Vodja projekta: dr. Robert Zorec

Sodelujoče organizacije: LN-MCP ULMF, Celica, Zavod RS za transfuzijsko medicino

Novejše oblike zdravljenja rakavih obolenj temeljijo na ojačenju imunskega sistema s pripravo t.i. celičnih vakcin, hibridnih celic, ki sestojijo iz tomorske celice in antigen prezentirajočih celic. Ključna stopnja priprave teh vakcin je tehnologija fuzije celic in metode za evalvacijo kvantitete in kvalitete hibridnih celic. Projekt ima cilj uvesti evalvacijo nastanka hibridnih celic na temelju spremljanja biološko relevantnih procesov, ki so prisotni pri prezentaciji antigenov in na temelju teh procesov določiti tudi delež hibridnih celic. Projekt sofinancira Agencija za raziskovalno dejavnost RS.

Postdoktorski projekt: »**Obnova urotelija sečnega mehurja po poškodbi. In vitro modeli.**« Projekt financira Ministrstvo za visoko šolstvo, znanost in tehnologijo po pogodbi št. 3311-04-8236046.

Vodja projekta: prof.dr. Kristijan Jezernik

Bolezni sečnega mehurja spremenijo tkivno strukturo in vodijo v izgubo funkcionalnosti sečnega mehurja. Z uporabo *in vitro* modelov obnavljajočega urotelija po poškodbi, v tem projektu, preučujemo celično-molekularne mehanizme obnove urotelija. Na vzpostavljenih *in vitro* modelih študiramo tudi vplive različnih rastnih faktorjev na zdravljenje poškodovanega urotelija.

Raziskovalni program: »**Diferenciacija urotelijskih celic**« Projekt financira Ministrstvo za visoko šolstvo, znanost in tehnologijo po pogodbi št. P3-0108

Vodja projekta: prof.dr. Kristijan Jezernik

Namen raziskovalnega programa je preučevanje procesa diferenciacije urotelijskih celic *in vivo* in *in vitro*. Krvno-urinsko bariero, ki jo zagotavljajo le visoko diferencirane celice urotelija s svojo specifično apikalno plazmalemo in dobro razvitimi tesnimi stiki, preprečuje morebitno izmenjavo snovi med urinom in telesnimi tekočinami. Zaradi tehničnih in etičnih omejitev raziskav celične diferenciacije *in vivo*, smo vzpostavili visoko diferencirano kulturo eksplantata sečnega mehurja miši in kot prvi tudi sekundarno celično kulturo mišjih urotelijskih celic. Obe kulturi sta primerljivi z urotelijem *in vivo*.

Poročila s kongresov

TEČAJ KIRURŠKIH TEHNIK PRI ZDRAVLJENJU HRUSTANCA (ICRS SURGICAL SKILLS COURSE)

28. 9. do 1. 10. 2005, Dunaj, Avstrija

Matej Drobnič, Ortopedska klinika, KC Ljubljana

Na Anatomske inštitutu na Dunaju je konec meseca septembra letos potekal prvi tečaj kirurških tehnik, ki ga je organiziralo Mednarodno združenje za zdravljenje hrustanca (ICRS). Glavna organizatorja tečaja sta bila Stefan Nehrer z Dunaja in Christopher Ergellet iz Freiburga v Nemčiji. Uradni vodja tečaja je bil Mats Brittberg, častni predsednik pa Lars Peterson. Med udeleženci nas je bilo okoli 30. Namen tečaja, ki je potekal na kadavrskih preparatih je bil pokriti operativne tehnike in materiale, ki se uporabljajo pri obnovitvenih posegih na sklepem hrustancu.

Prva dva dni tečaja sta bila namenjena posegom na kolenu, tretji dan pa na gležnju. Vsak sklop smo pričeli s krajšimi predavanji, ki so bila namenjena izključno operativnim tehnikam in predavatelji niso govorili o rezultatih. Nadaljevali smo v vajalnici, kjer je na osrednji demonstracijski mizi operiral inštruktor, ki je določeno operativno tehniko uvedel oz. pa se z njo intenzivno ukvarja. Ostali smo bili zbrani za delovnimi mizami v skupinah po štiri. Vsaka miza je imela na voljo eno ekstremiteto in ves potreben kirurški inštrumentarij za odprto in artroskopsko kirurgijo.

Obnovili in dopolnili smo nekaj osnovnih operativnih tehnik kot so: odprti in artroskopski pristopi v koleno in gleženj, merjenje in čiščenje (debridement) hrustančne lezije ter odvzem hrustanca za gojenje. Obdelali smo tudi druge posege na sklepu, ki zagotavljajo njegovo biomehansko uravnoveženost in obvezno spremljajo zdravljenje hrustanca (šivanje meniskusa, valgizacijske osteotomije na golenici, naravnava pogačice ipd.). Sledile je artroskopska tehnika mikrofraktur in prenosa osteohondralnih čepov (OATS, Arthrex,

ZDA). Novost je uporaba umetnih dvokomponentnih čepov (Truefit, OBI, ZDA), ki so v Evropi v postopku registracije. Spodnji del čepa iz kalcijevega sulfata se sidra v kost, ki ga kasneje preraste, v povrhnji del iz PLG pa naj bi vraščalo hrustančno tkivo iz okolice. Pri ohranjanju meniskusa smo se posvetili donorskim alograftom, kjer je svojo tehniko prikazal Verdonk iz Belgije, ter novemu nadomestku pri delnih odstranitvah notranjega meniska iz govejih tetiv (CMI, ReGen Biologics, ZDA), kar je demonstriral Rodkey iz ZDA.

Najbolj koristen del tečaja je bila nedvomno uporaba različnih tehnik za vsaditev avtoloških gojenih hrustančnih celic, saj je bilo na enem mestu zbranih kar osem različnih materialov, ki se za ta namen uporabljajo. Vse je bilo moč prijeto v roko, delati z njimi in jih vsaditi v sklep. To je bilo zame prvič, da sem toliko tehnik lahko med seboj neposredno primerjal. Preizkusili smo tako klasično tehniko s periostalnim pokrovom ali kolagensko membrano (Chondro-Gide, Geistlich, Nemčija) v kombinaciji s celično supenzijo in pa različne nosilce: hialuronam (Hyalograft, Fidia, Italija), fibrinogen (BioCartII, Prochon, Izrael), kolagen 1 (CaReS, Ars Arthro, Nemčija), dvokomponentna kolagenska membrana (MACI, Genzyme, Nemčija) ter poliglikolni/polilaktatni kopolimer (Bioseed, BioTissue, Nemčija). Vsi novejši nosilci imajo strukturo bolj ali manj trdne želatine. Večina nosilcev zahteva pri vsaditvi dodaten nanos fibrinskega lepila, nekateri pa celo šive. Edini nosilec, kjer avtorji ne uporabljajo dodatnega lepila je Hyalograft, ki naj bi imel že sam dobro vezavo na na kost na mestu lezije.

Za dva izmed opisanih nosilcev je izdelan inštrumentarij za artroskopsko vsaditev.

Bioseed je pritrjen s kostnimi šivi, vendar pa je tehnika pritrditve zelo zamudna in operaterju neprijazna in bo verjetno počasi pozabljena. Veliko bolj obetavna in enostavna je artroskopska vsaditev Hyalografta, kjer vse inštrumenti za pripravo hrustančen lezije uvajajo preko vodilne žice. Lezijo je potrebno očistiti rahlo v kost (zgornjo plast odbrusijo, da sprožijo krvavitev, ki je za dobro pričvrstitev obvezna), nato pa izpraznijo iz sklepa tekočino ter po posebnem tulcu vanjo pritisnejo nosilec. Potrebno je poudariti, da je artroskopska tehnika vsaditve možna le pri zelo ozkem izboru lezij, ki ležijo na dostopnih mestih. Sicer je danes, tudi pri ostalih nosilcih,

uveljavljeni pristop v koleno s čim manjšim rezom, t. i. mini artrotomija.

Tečaj je bil po oceni vseh udeležencev odlično pripravljen. Organizatorji so zbrali večino strokovnjakov s področja zdravljenja hrustanca iz številnih držav, ki posamezno tehniko obvladajo. Poleg tega je bilo med udeleženci tečaja kar precej mlajših ortopedov iz okolišnje Evrope, s katerimi sem ob obveznem večernem pivu navezal pomembne stike za bodoče sodelovanje. Z vodstvom ICRS smo se tudi pogovarjali o ustanovitvi slovenskega nacionalnega združenja za hrustanec pod njihovim okriljem.

4. KONGRES EVROPSKEGA ZDRUŽENJA ZA TKIVNO INŽENIRSTVO

31.8.-3.9.2005, München, Nemčija

Mirjam Froelich, Educell d.o.o.

Od 31.8.-3.9.2005 je v Münchnu potekalo četrto letno srečanje ETES-a (European Tissue Engineering Society), katerega glavni namen je bil pregled aktualnih tem na področju tkivnega inženirstva. Predsednik organizacijskega in znanstvenega komiteja, prof. dr. Ralph Huss, je v uvodnem nagovoru tkivno inženirstvo opredelil kot enega ključnih elementov na področju regenerativne medicine, katere namen je nadomestiti poškodovane, obolele ali izrabljene dele telesa s funkcionalnimi tkivi in organi. Mnogi novi in učinkovitejši pristopi tkivnega inženirstva temeljijo na novih spoznanjih hitro napredujočih področij kot so: genska terapija, biomateriali, zarodne celice, rastni faktorji ipd., na temo katerih se je na konferenci predstavilo več kot 340 udeležencev. Prispevki so bili razdeljeni na nekaj obširnejših sklopov: biomateriali, dobra laboratorijska/proizvodnja praksa (GLP/GMP), zarodne celice, zdravljenje poškodb sklepov in hrustanca, kosti, ledvic, jeter, trebušne slinavke in srčno-žilnega sistema.

Kot posledica vse aktualnejših raziskav na področju zarodnih celic (tako embrionalnih, kot odraslih), je bilo kar nekaj tem naslovljenih na zaenkrat še neenotno in neurejeno zakonodajo omenjenega področja, ter na etične

in moralne dileme v zvezi z uporabo embrionalnih zarodnih celic. Perspektivo za zdravljenje degenerativnih sprememb in poškodb mnogo raziskovalcev vidi v odraslih zarodnih celicah, saj vse več raziskav kaže na njihov »transdiferencijski« potencial, obenem pa njihova uporaba ne predstavlja nikakršnih moralnih zadržkov in zakonskih omejitev. Nekaj prispevkov je predstavljalo izolacijo in karakterizacijo (temelječ na morfologiji, antigenih) zarodnih celic, pridobljenih iz različnih odraslih tkiv ter diferencijske zmožnosti le-teh. Zarodne celice naj bi bile ravno zaradi svoje fenotipske plastičnosti primerne za nadomestitev skoraj kateregakoli tkiva, uporabne torej za zdravljenje hrustančnih in kostnih defektov, urogenitalnih, srčnih, živčnih bolezni itd.

V zvezi z gojenjem oziroma želeno diferenciacijo celic *in vitro* je bil največji poudarek na gojenju celic v bioreaktorskih sistemih in na uporabi specifičnih rastnih faktorjev v kombinaciji z različnimi 3D nosilci (alginat, PLGA, kolagen...). Ker ima 3D okolje pomembno vlogo pri diferenciaciji celic, raziskovalci še vedno iščejo biomaterial, ki bi ustrezal vsem glavnim kriterijem za idealen 3D nosilec: biorazgradljivost, biokompatibilnost,

pozitiven vpliv na diferenciacijo celic, omogočanje oblikovanja v želeno obliko (npr. po meri poškodbe), enostaven nanos na mesto poškodbe... Predstavili so nekatere nove - tako naravne, kot sintetične - biomateriale in uporabo le-teh, zdi pa se, da nosilec, ki združuje vse zelene lastnosti, še vedno iščemo. Pomemben vpliv na diferenciacijo - predvsem celic, ki naj bi izražale hrustančni, kostni in fenotip celic medvretenčne ploščice - predstavlja tudi hidrostatski pritisk, ki ga izvajamo med gojenjem celic na nosilcu,

seveda v ustreznih časovnih, jakostnih in frekvenčnih intervalih.

Nekaj prispevkov na temo popravila poškodb kolenskega hrustanca, je bilo predstavljenih kot pregled in kritična obravnava različnih pristopov zdravljenja (mozaikoplastika, mikrofrakture, ACI), predstavili pa so tudi nekatere pomembne kriterije za evalvacijo popravljenih hrustančnih defektov.

Naslednje letno srečanje ETES-a bo v Rotterdamu od 8.-11.10.2006.

TISSUE ENGINEERING AND REGENERATIVE MEDICINE – COMERCIALIZING FUTURE LIFE SAVER

Bruselj, 8.-9. november

Nevenka Kregar Velikonja, Educell d.o.o.

Konference so se udeležili predvsem predstavniki podjetij, ki se v Evropi ukvarjamo s področjem tkivnega inženirstva in regenerativne medicine, pa tudi predstavniki klinik in inštitutov, ki želijo svoje razvojne dosežke uveljaviti v klinični praksi. Na simpoziju so razpravljali pretežno o strategijah razvoja tkivnega inženirstva in regenerativne medicine, zlasti z vidika razvijajočih se pravnih okvirov in komercializacije razvojnih dosežkov.

Večina predstavljenih projektov je še v razvojni fazi in so financirani s strani tveganega kapitala ter državnih ali evropskih projektov. Vsa podjetja so tesno povezana z raziskovalnimi inštitucijami, nekatera so celo nastala s pomočjo univerzitetnih skladov za razvoj novih podjetij, kot na primer belgijsko podjetje TiGenix.

Ivan Martin je predstavil tkivno-inženirske projekte Univerzitetne bolnice v Bazlu, ki sodeluje z več biotehnološkimi podjetji. Predstavil je vrsto znanstvenih izzivov, ki so vezani na klinično uporabo tkivno-inženirskih produktov: od problema variabilnosti bioloških vzorcev, definiranja ustreznih nosilcev, vprašanja potrebe po rediferenciaciji celic v tkivnem pripravku pred implantacijo, problema integracije implanta v okolišnje tkivo do

razvoja različnih bioreaktorskih sistemov, ki podpirajo pripravo tkivnih konstruktov. Predavanje je prikazalo smiselno zaokroženost raziskav te skupine.

Podjetje Cell&Tissue systems se je specializiralo za optimizacijo postopkov za krioprezervacijo celic in tkiv. Razvijajo tudi novo tehnologijo z vnosom posebnih sladkorjev v celico, za kar so idejo dobili pri malih živalcah tardigradih, ki lahko preživijo tudi izjemno nizke temperature.

Med obetavnimi tehnologijami so bili predstavljeni zlasti projekti, ki se osredotočajo na embrionalne zarodne celice. Švedsko podjetje Cellartis iz neuporabljenih embrijev pripravlja celične linije, ki se spontano diferencirajo v določeno celično vrsto ali jih lahko tako usmerijo z diferenciacijskimi postopki. ReNewron pa pri tehnologijah embrionalnih zarodnih celic uporablja še posebno tehnologijo, s katero vplivajo na telomerase in tako kontrolirajo proliferacijski potencial teh celic.

Predstavljen je bil tudi (žal) neuspešen projekt za izdelavo tkivno-inženirskih zaklopk, ki naj bi nadomestile okvarjene srčne zaklopke pri novorojenčkih. Žal je živalska študija na jagenčkih po prvih obetavnih rezultatih pokazala, da se uporabljeni biomaterial prehitro razgradi in povzroči odpoved

zaklopke. To je botrovalo tudi zaprtju biotehnološkega podjetja Symetis, ki je bilo ustanovljeno za izpeljavo tega projekta.

Nekatere prezentacije smo dobili tudi v elektronski obliki, tako da jih lahko posredujem tistin, ki jih obravnavane teme zanimajo.

Žal se zaradi neurejenih pravnih podlag za to področje, ki imajo za posledico zelo različne nacionalne zakonodaje oz. obravnavo tovrstne dejavnosti po različnih kriterijih, multinacionalke umikajo s področja tkivnega inženirstva oz. ukinjajo produkte (npr. Smiths&Nephew so predstavili vzroke za ukinitvev tkivno inženirskih programov za kožne nadomestke). To v veliki meri odvrča tudi tvegani kapital, da bi vlagal v razvoj tkivnega inženirstva. Predlagana zakonodaja bo verjetno otežila sodelovanje industrije z Univerzami in inštituti, saj so nekatere zahteve

glede vodenja razvoja izjemno stroge. V nekaterih državah, na primer v Nemčiji, se tkivno inženirstvo obravnava po farmacevtskih standardih, kar je v okviru tovrstne dejavnosti izjemno težko doseči. V Belgiji veljajo za podjetja podobne zahteve kot v Nemčiji, medtem ko le-teh javnim zavodom ni potrebno upoštevati; to je botrovalo selitvi nekaterih programov iz podjetij nazaj v javne zavode. Edina država v Evropi, ki ima že urejeno zakonodajo in tudi ustrezne tehnične zahteve za področje tkivnega inženirstva je Francija.

V zadnjem delu konference so nastajajočo zakonodajo predstavili in komentirali predstavniki Evropske komisije v panelni diskusiji s predstavniki organizacije EuropaBio, ki zastopa interese industrije, ki se ukvarja s področjem biotehnologije. Predlog zakona za področje naprednih terapij naj bi bil predan v evropski parlament do konca tega leta.

Aktualno Aktualno

Kongresi v letu 2006

6th Symposium of ICRS 2006 in San Diego

8. -11. Januar, 2006, San Diego, CA, ZDA
<http://www.cartilage.org>

5th Annual Meeting of ETES

8. – 11. oktober 2006, Rotterdam, Nizozemska
<http://www.etes2006.org>.

2006 Regenerate: World Congress on Tissue Engineering and Regenerative Medicine

24.-27. April 2006, Pittsburg, Pennsylvania
<http://www.regenerate-online.com/index.html>

FiberMed06: International Conference on Fibrous Products in Medical and Health Care

7.- 9. junij 2006, Tampere Hall, Finska
<http://www.tut.fi/index.cfm?MainSel=11236&Sel=11273&Show=12514&Siteid=124>

Cartilage & Joint Repair.

26. – 29. junij 2006, Congress Centre, Davos, Švica
http://www.ecmjournal.org/ecm_meetings

International Society for Stem Cell Research: 4th Annual Meeting

29. junij – 1. julij 2006, Toronto, Ontario, Kanada
<http://www.isscr.org/meetings/abstracts.htm>

BioDevice Partnering 2006 - Building Convergent Medical Technologies

13.-14. junij 2006, Edinburgh, Škotska
<http://www.ebdgroup.com/biodevice/>

2nd International Symposium "Interface Biology of Implants

17. – 19. maj 2006, Rostock, Nemčija.
<http://www.esb-news.org/main/events.php?category=%25>

Dodatne informacije o konresih s področja tkivnega inženirstva tudi na spletni strani:

<http://www.biomaterials.org/Calendar/calendar.htm>

Povzetki aktualnih objav

[Spine J.](#) 2005 November - December;5(6S):S297-S303.
Cell-based therapy for disc repair.

[Anderson DG](#), [Risbud MV](#), [Shapiro IM](#), [Vaccaro AR](#), [Albert TJ](#).

Graduate Program in Tissue Engineering and Regenerative Medicine and Department of Orthopaedic Surgery, Thomas Jefferson University, 925 Chestnut Street, Philadelphia, PA 19107, USA; Rothman Institute, Thomas Jefferson University,

925 Chestnut Street, Philadelphia, PA 19107, USA.

BACKGROUND CONTEXT: One of the most promising therapies for symptomatic disc degeneration involves the implantation of therapeutic cells into the degenerative disc. **PURPOSE:** In this article, the rationale and approaches for cell-based tissue engineering of the intervertebral disc are discussed. **STUDY DESIGN:** The scientific literature related to cell-based tissue engineering of the intervertebral disc is reviewed. **METHODS:** A variety of cell types have been used in various

research models to affect matrix repair of the intervertebral disc. The use of cellular scaffolds and growth factors or genes also appears promising for achieving meaningful tissue repair of the intervertebral disc. **RESULTS:** Disc tissue engineering is a promising approach for achieving repair of the intervertebral disc. Using cell-based approaches, various research models suggest that improvements in the complex matrix of the disc may be achieved. **CONCLUSION:** A cell-based approach to repair of the intervertebral disc appears promising. More research is needed to define the optimal cell type, cellular scaffold and mixture of growth factors that may allow meaningful repair of the human symptomatic degenerative disc.

[Trends Biotechnol.](#) 2005 Nov 9; [Epub ahead of print] **To engineer is to create: the link between engineering and regeneration.**

[Williams DF.](#)

UK Centre for Tissue Engineering, University of Liverpool, Liverpool, UK, L69 3GA.

Tissue engineering is a radically different approach to reconstruction of the body following degenerative diseases, trauma or chronic debilitating conditions. Although there have been some successes, tissue engineering is not yet delivering significant progress in terms of clinical outcomes and commercialization. Part of the problem is that we have failed to understand what tissue engineering really means and to appreciate that engineering is synonymous with creation. These processes involve many different phases and there has been minimal integration of these phases within tissue-engineering paradigms. The conventional concept, based upon a temporal sequence from sourcing cells through to the incorporation of generated tissue into a host, has to be transformed by a systems engineering approach in which all biological and technological phases, and the inter-relationships between them, are fully integrated. It might be that real success will not be achieved until systems biology is superimposed onto this systems engineering paradigm.

[Cell Transplant.](#) 2005;14(7):469-79.

Human serum for culture of articular chondrocytes.

[Tallheden T, van der Lee J, Brantsing C, Mansson JE, Sjogren-Jansson E, Lindahl A.](#)

Department of Clinical Chemistry and Transfusion Medicine, Sahlgrenska University Hospital, Gothenburg University, Sweden. tommy.tallheden@medic.gu.se

In the field of cell and tissue engineering, culture expansion of human cells in monolayer plays an important part. Traditionally, cell cultures have been supplemented with serum to support attachment and proliferation, but serum is a potential source of foreign protein contamination and viral protein transmission. In this study, we evaluated the use of human serum for experimental human articular chondrocyte expansion and to develop a method for preparation of large volumes of high-quality human serum from healthy blood donors. Human autologous serum contained high levels of epidermal-derived growth factor and platelet-derived growth factor-AB and supported proliferation up to 7 times higher than FCS in primary chondrocyte cultures. By letting the coagulation take place in a commercially available transfusion bag overnight, up to 250 ml of growth factor-rich human serum could be obtained from one donor. The allogenic human serum supported high proliferation rate without losing expression of cartilage-specific genes. The expanded chondrocytes were able to redifferentiate and form cartilage matrix in comparable amounts to autologous serums. In conclusion, the transfusion bags allow preparation of large volumes of growth factor-rich human serum with the capacity to

support in vitro cell expansion. The data further indicate that by controlling the coagulation process there are possibilities of optimizing the release of growth factors for other emerging cell therapies.

[J Am Coll Cardiol.](#) 2005 Nov 1;46(9):1651-8.

Regeneration of human infarcted heart muscle by intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in chronic coronary artery disease: the IACT Study.

[Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Bartsch T, Schannwell C, Antke C, Sorg RV, Kogler G, Wernet P, Muller HW, Kosterling M.](#)

Department of Internal Medicine, Division of Cardiology, Pneumology and Angiology, Heinrich-Heine-University, Dusseldorf, Germany. strauer@med.uni-duesseldorf.de

OBJECTIVES: Stem cell therapy may be useful in chronic myocardial infarction (MI); this is conceivable, but not yet demonstrated in humans. **BACKGROUND:** After acute MI, bone marrow-derived cells improve cardiac function. **METHODS:** We treated 18 consecutive patients with chronic MI (5 months to 8.5 years old) by the intracoronary transplantation of autologous bone marrow mononuclear cells and compared them with a representative control group without cell therapy. **RESULTS:** After three months, in the transplantation group, infarct size was reduced by 30% and global left ventricular ejection fraction (+15%) and infarction wall movement velocity (+57%) increased significantly, whereas in the control group no significant changes were observed in infarct size, left ventricular ejection fraction, or wall movement velocity of infarcted area. Percutaneous transluminal coronary angioplasty alone had no effect on left ventricular function. After bone marrow cell transplantation, there was an improvement of maximum oxygen uptake (VO₂max, +11%) and of regional 18F-fluor-deoxy-glucose uptake into infarct tissue (+15%). **CONCLUSIONS:** These results demonstrate that functional and metabolic regeneration of infarcted and chronically avital tissue can be realized in humans by bone marrow mononuclear cell transplantation.

[Circulation.](#) 2005 Nov 1;112(18):2857-66. Epub 2005 Oct 24.

Functional recovery of damaged skeletal muscle through synchronized vasculogenesis, myogenesis, and neurogenesis by muscle-derived stem cells.

[Tamaki T, Uchiyama Y, Okada Y, Ishikawa T, Sato M, Akatsuka A, Asahara T.](#)

Division of Basic Clinical Science, Department of Regenerative Medicine, Tokai University School of Medicine, Kanagawa 259-1193, Japan. tamaki@is.icc.u-tokai.ac.jp

BACKGROUND: Recent studies have shown that skeletal muscle-derived stem cells (MDSCs) can give rise to several cell lineages after transplantation. However, the potential therapeutic uses of MDSCs, the functional significance of the transplanted tissue, and vasculogenesis, myogenesis, and reconstitution of other tissues have yet to be investigated in detail. In addition, the relationship between MDSCs and mesenchymal bone marrow cells is of interest. **METHODS AND RESULTS:** We developed a severe-damage model of mouse tibialis anterior muscle with a large deficit of nerve fibers, muscle fibers, and blood vessels. We investigated the potential therapeutic use of freshly isolated CD34⁺/45⁻ (Sk-34) cells. Results showed that, after transplantation, implanted cells give rise to myogenic, vascular (pericytes, vascular smooth muscle cells, and endothelial cells), and neural (Schwann) cells, as well as contributing to the synchronized reconstitution of blood vessels, muscle fibers, and peripheral nerves, with significant recovery of both mass and

contractile function after transplantation. Investigation of Sk-34 cell transplantation to the renal capsule (nonmuscle tissue) and fluorescence in situ hybridization analysis for the transplanted muscle detecting the Y chromosome revealed the intrinsic plasticity of the Sk-34 cell population. In addition, there were no donor-derived Sk-34 cells in the muscle of lethally irradiated bone marrow-transplanted animals, indicating that the Sk-34 cells were not derived from bone marrow. **CONCLUSIONS:** These findings indicate that freshly isolated skeletal muscle-derived Sk-34 cells are potentially useful for reconstitution therapy of the vascular, muscular, and peripheral nervous systems. These results provide new insights into somatic stem and/or progenitor cells with regard to vasculogenesis, myogenesis, and neurogenesis.

[Tissue Eng.](#) 2005 Sep-Oct;11(9-10):1574-88.

Fabrication and endothelialization of collagen-blended biodegradable polymer nanofibers: potential vascular graft for blood vessel tissue engineering.

[He W.](#), [Yong T.](#), [Teo WE.](#), [Ma Z.](#), [Ramakrishna S.](#)

Division of Bioengineering, National University of Singapore, Singapore.

Electrospun collagen-blended poly(L-lactic acid)-co-poly(in-caprolactone) [P(LLA-CL), 70:30] nanofiber may have great potential application in tissue engineering because it mimicks the extracellular matrix (ECM) both morphologically and chemically. Blended nanofibers with various weight ratios of polymer to collagen were fabricated by electrospinning. The appearance of the blended nanofibers was investigated by scanning electron microscopy and transmission electron microscopy. The nanofibers exhibited a smooth surface and a narrow diameter distribution, with 60% of the nanofibers having diameters between 100 and 200 nm. Attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectra and X-ray photoelectron spectroscopy verified the existence of collagen molecules on the surface of nanofibers. Human coronary artery endothelial cells (HCAECs) were seeded onto the blended nanofibers for viability, morphogenesis, attachment, and phenotypic studies. Five characteristic endothelial cell (EC) markers, including four types of cell adhesion molecule and one EC-preferential gene (von Willebrand factor), were studied by reverse transcription-polymerase chain reaction. Results showed that the collagen-blended polymer nanofibers could enhance the viability, spreading, and attachment of HCAECs and, moreover, preserve the EC phenotype. The blending electrospinning technique shows potential in refining the composition of polymer nanofibers by adding various ingredients (e.g., growth factors) according to cell types to fabricate tissue-engineering scaffold, particularly blood vessel-engineering scaffold.

[Int J Periodontics Restorative Dent.](#) 2005 Apr;25(2):129-37.
Clinical case reports of injectable tissue-engineered bone for alveolar augmentation with simultaneous implant placement.

[Ueda M.](#), [Yamada Y.](#), [Ozawa R.](#), [Okazaki Y.](#)

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Nagoya University Graduate School of Medicine, Showa-Ku, Nagoya 466-8550, Japan. mueda@med.nagoya-u.ac.jp

This clinical study was undertaken to evaluate the use of tissue-engineered bone, mesenchymal stem cells, platelet-rich plasma, and beta-tricalcium phosphate as grafting materials for maxillary sinus floor augmentation or onlay plasty with simultaneous implant placement in six patients with 3- to 5-mm alveolar crestal bone height. All 20 implants were clinically stable at second-stage surgery and 12 months postloading. A mean increase in mineralized tissue height of 7.3+/-4.6 mm was

evident when comparing the pre- and postsurgical radiographs. Injectable tissue-engineered bone provided stable and predictable results in terms of implant success.

[Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.](#) 2005 Sep;13(6):451-7. Epub 2004 Oct 16

Early postoperative adherence of matrix-induced autologous chondrocyte implantation for the treatment of full-thickness cartilage defects of the femoral condyle.

[Marlovits S.](#), [Striessnig G.](#), [Kutscha-Lissberg F.](#), [Resinger C.](#), [Aldrian SM.](#), [Vecsei V.](#), [Trattinig S.](#)

Department of Traumatology, Medical University of Vienna, Waehringer Guertel 18-20, 1090 Vienna, Austria. stefan.marlovits@akh-wien.ac.at

Matrix-induced autologous chondrocyte implantation (MACI) is a tissue-engineering technique for the treatment of full-thickness articular cartilage defects and requires the use of a three-dimensional collagen type I-III membrane seeded with cultured autologous chondrocytes. The cell-scaffold construct is implanted in the debrided cartilage defect and fixed only with fibrin glue, with no periosteal cover or further surgical fixation. In a clinical pilot study, the MACI technique was used for the treatment of full-thickness, weight-bearing chondral defects of the femoral condyle in 16 patients. All patients were followed prospectively and the early postoperative attachment rate, 34.7 days (range: 22-47) after the scaffold implantation, was determined. With the use of high-resolution magnetic resonance imaging (MRI), the transplant was graded as completely attached, partially attached, or detached. In 14 of 16 patients (87.5%), a completely-attached graft was found, and the cartilage defect site was totally covered by the implanted scaffold and repair tissue. In one patient (6.25%), a partial attachment occurred with partial filling of the chondral defect. A complete detachment of the graft was found in one patient (6.25%), which resulted in an empty defect site with exposure of the subchondral bone. Interobserver variability for the MRI grading of the transplants showed substantial agreement ($\kappa=0.775$) and perfect agreement ($\kappa(w)=0.99$). In conclusion, the implantation and fixation of a cell-scaffold construct in a deep cartilage defect of the femoral condyle with fibrin glue and with no further surgical fixation leads to a high attachment rate 34.7 days after the implantation, as determined with high resolution MRI.

[Osteoarthritis Cartilage.](#) 2005 Oct;13(10):896-905. Epub 2005 Jul 12

Development and remodeling of engineered cartilage-explant composites in vitro and in vivo.

[Tognana E.](#), [Padera RF.](#), [Chen F.](#), [Vunjak-Novakovic G.](#), [Freed LE.](#)

Division of Health Sciences and Technology, Massachusetts Institute of Technology, 77 Massachusetts Avenue, Cambridge, MA 02139, USA.

OBJECTIVE: Development and remodeling of engineered cartilage-explant composites were studied in vitro and in vivo. **DESIGN:** Individual and interactive effects of cell chondrogenic potential (primary or fifth passage bovine calf chondrocytes), scaffold degradation rate (hyaluronan benzyl ester or polyglycolic acid), and adjacent tissue cell activity and architecture (vital trabecular bone (VB), articular cartilage (AC), devitalized bone (DB) or digested cartilage (DC)) were evaluated over 8 weeks in vitro (bioreactor cultures) and in vivo (ectopic implants). **RESULTS:** In vitro, significant effects of cell type on construct adhesive strength ($P<0.001$) and scaffold type

on adhesive strength ($P<0.001$), modulus ($P=0.014$), glycosaminoglycans (GAG) ($P<0.001$), and collagen ($P=0.039$) were observed. Chondrogenesis was best when the scaffold degradation rate matched the extracellular matrix deposition rate. In vivo, adjacent tissue type affected adhesive strength ($P<0.001$), modulus ($P<0.001$), and GAG ($P<0.001$) such that 8-week values obtained for bone (VB and DB) were higher than for cartilage (AC). In the AC/construct group, chondrogenesis appeared attenuated in the region of the construct close to the AC. In contrast, in the VB/construct group, a 500 microm thick zone of mature hyaline-like cartilage formed at the interface, and signs of active remodeling were present in the bone that included osteoclastic and osteoblastic activity and trabecular rebuttoning; these features were not present in the DB group or in vitro. CONCLUSIONS: Development and remodeling of composites based on engineered cartilage were mediated in vitro by cell chondrogenic potential and scaffold degradation rate, and in vivo by type of adjacent tissue and time.

[Clin Orthop Relat Res](#). 2005 Apr;(433):233-42.

Indentation stiffness of repair tissue after autologous chondrocyte transplantation.

[Vasara AI](#), [Nieminen MT](#), [Jurvelin JS](#), [Peterson L](#), [Lindahl A](#), [Kiviranta I](#).

Department of Orthopedics and Traumatology, Helsinki University Hospital, HUS, Helsinki, Finland. anna.vasara@finnet.fi

Our main hypothesis was that indentation stiffness of the repair tissue approaches the values of adjacent cartilage 1 year after autologous chondrocyte transplantation. We also wanted to investigate the differences between osteochondritic lesions and full-thickness lesions. Thirty patients with cartilage lesions were operated on with autologous chondrocyte transplantation. The repair was evaluated arthroscopically, indentation stiffness was measured, and clinical evaluations were done. The stiffness of the repair tissue improved to 62% (mean 2.04 ± 0.83 N, mean \pm SD) of adjacent cartilage (3.58 ± 1.04 N). Fifty-three percent of the patients graded their knee as excellent or good and 47% of the patients graded their knee as fair at the followup. In six patients the normalized stiffness was at least 80%, suggesting hyaline-like repair. The indentation stiffness of the osteochondritis dissecans lesion repairs (1.45 ± 0.46 N; $n = 7$) was less than that of the nonosteochondritis dissecans lesion repair sites (2.37 ± 0.72 N; $n = 19$). Gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging of the cartilage (dGEMRIC) during followup of four patients suggested proteoglycan replenishment, although all grafts showed low indentation values. Low stiffness values may indicate incomplete maturation or predominantly fibrous repair. The indentation analysis showed that the repair tissue stiffness could, in some cases, reach the same level as the adjacent cartilage, but there was a large variation among the grafts.

[J Bone Joint Surg Br](#). 2005 Sep;87(9):1285-91.

Impact loading of articular cartilage during transplantation of osteochondral autograft.

[Whiteside RA](#), [Jakob RP](#), [Wvss UP](#), [Mainil-Varlet P](#).

Department of Mechanical and Materials Engineering, McLaughlin Hall, Queen's University, Kingston K7L 3N6, Canada.

Surgical reconstruction of articular surfaces by transplantation of osteochondral autografts has shown considerable promise in the treatment of focal articular lesions. During mosaicplasty, each cylindrical osteochondral graft is centred over the recipient hole and delivered by impacting the articular surface. Impact loading of articular cartilage has been associated with structural damage, loss of the viability of chondrocytes and subsequent degeneration of the articular cartilage. We have examined the relationship between single-impact loading and chondrocyte death for the specific confined-compression boundary conditions of mosaicplasty and the effect of repetitive impact loading which occurs during implantation of the graft on the resulting viability of the chondrocytes. Fresh bovine and porcine femoral condyles were used in this experiment. The percentage of chondrocyte death was found to vary logarithmically with single-impact energy and was predicted more strongly by the mean force of the impact rather than by the number of impacts required during placement of the graft. The significance of these results in regard to the surgical technique and design features of instruments for osteochondral transplantation is discussed.

PMID: 16129760 [PubMed - indexed for MEDLINE]

[Arthritis Res Ther](#). 2005;7(3):R560-8. Epub 2005 Mar 3.

Proliferation and differentiation potential of chondrocytes from osteoarthritic patients.

[Tallheden T](#), [Bengtsson C](#), [Brantsing C](#), [Sjogren-Jansson E](#), [Carlsson L](#), [Peterson L](#), [Brittberg M](#), [Lindahl A](#).

Department of Clinical Chemistry and Transfusion Medicine, Sahlgrenska University Hospital, Gothenburg, Sweden. tommi.tallheden@medic.gu.se

Autologous chondrocyte transplantation (ACT) has been shown, in long-term follow-up studies, to be a promising treatment for the repair of isolated cartilage lesions. The method is based on an implantation of in vitro expanded chondrocytes originating from a small cartilage biopsy harvested from a non-weight-bearing area within the joint. In patients with osteoarthritis (OA), there is a need for the resurfacing of large areas, which could potentially be made by using a scaffold in combination with culture-expanded cells. As a first step towards a cell-based therapy for OA, we therefore investigated the expansion and redifferentiation potential in vitro of chondrocytes isolated from patients undergoing total knee replacement. The results demonstrate that OA chondrocytes have a good proliferation potential and are able to redifferentiate in a three-dimensional pellet model. During the redifferentiation, the OA cells expressed increasing amounts of DNA and proteoglycans, and at day 14 the cells from all donors contained type II collagen-rich matrix. The accumulation of proteoglycans was in comparable amounts to those from ACT donors, whereas total collagen was significantly lower in all of the redifferentiated OA chondrocytes. When the OA chondrocytes were loaded into a scaffold based on hyaluronic acid, they bound to the scaffold and produced cartilage-specific matrix proteins. Thus, autologous chondrocytes are a potential source for the biological treatment of OA patients but the limited collagen synthesis of the OA chondrocytes needs to be further explained.

Vabilo novim članom

Poziv k sodelovanju

Društvo za celično in tkivno inženirstvo vabi vse, ki se ukvarjate z uporabo tkivno inženirskih metod v medicini, s celičnimi tehnologijami, biomateriali in sorodnimi vedami, ki so pomembne pri raziskavah in uvajanju celičnega in tkivnega inženirstva v klinično prakso, da se nam pridružite in prispevate k uresničevanju ciljev društva.

S plačilom članarine društva v višini 2500 sit, ki jo nakažete na račun društva (DCTIS, Zaloška cesta 9, Ljubljana, št. računa: 02014-0254997735), postanete član društva. Lahko pa nam pošljete izpolnjeno pristopno izjavo, na podlagi katere vam bomo poslali položnico.

-----✂-----

Pristopna izjava

Podpisani _____, rojen _____ se želim včlaniti v Društvo za celično in tkivno inženirstvo.

Informacije o delovanju društva želim prejemati na naslov: _____

oz. na elektronski naslov: _____

Navedene osebne podatke dovolim uporabljati za namen delovanja društva.

Podpis:
