

## Sprawozdanie z XXXII Kongresu *European Society for Artificial Organs*

Piotr Wilczek

Fundacja Rozwoju Kardiologii, Zabrze

Kardiologia i Torakochirurgia Polska 2005; 2 (4): 93–96



Już po raz 32. odbył się Międzynarodowy Kongres *Europejskiego Stowarzyszenia Sztucznych Narządów (ESAO)*. Dla naukowców reprezentujących różne dziedziny wiedzy, a zajmujących się zagadnieniami z zakresu biotechnologii, bioinżynierii i nanotechnologii, jak zwykle stał się on okazją do wymiany doświadczeń oraz prezentacji swoich osiągnięć w tym zakresie.

Tegoroczny kongres odbywał się od 5 do 8 października we włoskiej Bolonii. Miasto to już po raz czwarty gościło uczestników konferencji ESAO. Biorąc pod uwagę historię miasta, należy stwierdzić, że jest to miejsce szczególne i wyjątkowe. To tutaj ok. 1088 r. powstał najstarszy w Europie uniwersytet (Uniwersytet Boloński). W gmachach tej uczelni tworzyli swoje dzieła wybitni uczeni, tacy jak fizyk Alessandro Volta czy Luigi Galvani, lekarz, fizyk i fizjolog, którego eksperymenty elektrofizjologiczne stały się podstawą późniejszego diagnozowania chorób mięśnia sercowego i mózgu (ryc. 1). *Potęga wyobraźni* to chyba najlepsze określenie, charakteryzujące atmosferę panującą w tym mieście. Towarzyszyła ona również uczestnikom sesji naukowych.

Podczas tegorocznego kongresu mocno akcentowano zagadnienia związane z tzw. medycyną regeneracyjną, dotyczące wykorzystania terapii komórkowych, inżynierii tkankowej, bioreaktorów i nowoczesnych materiałów biodegradowalnych, mogących służyć zarówno jako rusztowanie do tworzenia bioprotez, jak i system wolnego i kierunkowego uwalniania leków. O tym, że powyższa tematyka wzbudza coraz większe zainteresowanie badaczy, mogą świadczyć chociażby tematy wykładów plenarnych: *What new developments in biotechnology will replace organ replacement?*, *System biology and regenerative medicine: a dream to become all centenarians?*, *Nanotechnology in medical applications: dreams and promises*, czy wreszcie *Current concepts in biomaterial research: have dreams come true?* Także wiele sesji naukowych poświęconych zostało tej te-

matyce: *Cell therapy, Bioreactors, Polymers and Scaffolds, Tissue engineering, Nanotechnology* czy *Promising concepts*.

W sesji poświęconej terapii komórkowej na szczególną uwagę zasługiwała praca Neuenschwandra i wsp. (*Department of Surgical Research, University Hospital, Zurich*) [1], której autorzy badali zależności pomiędzy wiekiem dawcy (dorosłe komórki endotelialne, miofibroblasty izolowane z naczyń krwionośnych) a przydatnością jego komórek do terapii z zużyciem izolowanych komórek autologicznych. Badania morfologiczne oraz charakterystyka wzrostu komórek pochodzących od dawców zróżnicowanych wiekowo nie wykazały istotnych różnic w obrębie badanych cech. A zatem terapia z wykorzystaniem komórek autologicznych może być z powodzeniem wykorzystywana w leczeniu także chorych starszych. Ciekawym rozwiązaniem jest również wykorzystanie w terapii komórek progenitorowych izolowanych z krwi pępowinowej. W zaproponowanym przez Schmidta i wsp. [2] modelu doświadczenia badacze izolowali, a następnie różnicowali komórki progenitorowe pochodzące z krwi pępowinowej. Po określeniu ich fenotypu, sprawdzano ich zdolności do wzrostu na w pełni biodegradowalnej macierzy. Po 21 dniach hodowli komórki utworzyły warstwę neoendotelium, zaobserwowano również tworzenie się prawidłowej morfologicznie macierzy zewnątrzkomórkowej. Wydaje się więc, że komórki progenitorowe z krwi pępowinowej mogą być z powodzeniem wykorzystywane w leczeniu wrodzonych wad serca. Interesującym rozwiązaniem było także zaproponowane przez Yanga i wsp. [3] ze Szpitala Uniwersyteckiego w Genewie zastosowanie w leczeniu niewydolności serca metody kombinowanej: rewaskularyzacji z użyciem lasera – CO<sub>2</sub> w połączeniu z terapią wykorzystującą mezenchymalne komórki macierzyste (MSC – *Mesenchymal Stem Cells*) izolowane ze szpiku. Stosując tego rodzaju terapię kombinowaną, stwierdzono wyraźne przyspieszenie procesów angiogenezy, a jednocze-

**Adres do korespondencji:** dr Piotr Wilczek, Fundacja Rozwoju Kardiologii, 41-800 Zabrze, ul. Wolności 345a, tel. 0320 373 56 00, e-mail: mildes@post.pl

śnie utrzymującą się po 4 tyg. od terapii wysoką żywotność komórek w miejscu ich wszczepienia. W pracy prezentowanej przez Tekawy i wsp. (*Cardiovascular Research Center, Massachusetts General Hospital, Boston*) [4] zaproponowano z kolei zastosowanie wspomagania lewokomorowego



Ryc. 1. Luigi Galvani – pionier elektrofizjologii (Bologna)

(LVAD) w połączeniu z terapią komórkami mezenchymalnymi. W grupie chorych leczonych w ten sposób po 5 tyg. wystąpił wzrost frakcji wyrzutowej lewej komory serca z początkowych 41 do 47%, podczas gdy w grupie chorych, u których zastosowano jedynie LVAD, nie zaobserwowano poprawy frakcji wyrzutowej. Zastosowanie terapii komórkowej w połączeniu ze wspomaganiami lewokomorowymi może więc stanowić pomost w przywracaniu prawidłowej funkcji skurczowej serca.

Innym istotnym zagadnieniem dla inżynierii tkankowej jest poszukiwanie właściwych matryc, które mogłyby być wykorzystywane jako rusztowanie do osadzania komórek w tworzeniu bioprotez. Zastosowanie mają tutaj zarówno rusztowania oparte na tkankach acellularnych, jak i materiały syntetyczne biodegradowalne. Jeżeli w konstrukcji bioprotez wykorzystywane są tkanki acelluluarne ludzkie, ważne jest przede wszystkim usunięcie z tkanki komórek dawcy, z jednoczesnym zachowaniem natywnej struktury macierzy zewnątrzkomórkowej. W wypadku materiału ksenogennego również ważne jest natomiast, aby nie wykazywał on istotnej immunogenności. W tej kwestii interesujące rozwiązanie zostało zaprezentowane przez Iwasaki [5] (*Institute of Biomedical Engineering, Waseda University, Tokyo*). Do przygotowania bezkomórkowych matryc zastawek aortalnych zastosowano specjalnej konstrukcji bioreaktor, wykorzystujący mikrofałę do usuwania komórek. Dodatkowo zastawka aortalna użyta do eksperymentu umieszczona była w komorze, w której generowano pulsacyjny przepływ płynów. Dzięki zastosowaniu tej techniki możliwe było całkowite usunięcie komórek oraz antygenu  $\alpha$ 1-3-galaktozowego, odpowiedzialnego za nadostre odrzucanie w wypadku przeszczepu człowiekowi tkanek świńskich, z zachowaniem natywnej struktury kolagenu i elastyny. Ponadto w sesji poświęconej bioreaktorom, w pracy prezentowanej przez Szentivanyi (*Helmholz-Institute for Biomedical Engineering, RWTH Aachen University*) [6], przedstawiono model dwuosioowego bioreaktora do pre-kondycjonowania tkanek, który mógłby być z powodzeniem wykorzystywany w konstrukcji bioprotez sercowo-naczyniowych. Konstrukcja bioreaktora zapewnia właściwą stymulację mechaniczną, niezbędną do prawidłowego wzrostu i różnicowania komórek oraz do kształtowania właściwości biomechanicznych bioprotez.

W sesji poświęconej inżynierii tkankowej prezentowano natomiast prace dotyczące możliwości różnicowania w warunkach *in vitro* komórek macierzystych i progenitorowych w kardiomiocyty. Na uwagę zasługiwała praca Lukash i wsp. (*Institute of Molecular Biology and Genetics of National Academy of Science, Ukraine*) [7], w której autorzy różnicowali w kardiomiocyty ludzkie płodowe i dorosłe komórki progenitorowe, izolowane ze szpiku. Wyniki tej pracy mogą stanowić ciekawe rozwiązanie metodyczne, pozwalające na lepsze zrozumienie funkcji i mechanizmów różnicowania się

tej grupy komórek mięśniowych. Z kolei praca Bollini i wsp. [8] (*Stem Cell Processing Laboratory, Department of Oncohematology, University of Padua*) wskazuje nowe źródło komórek macierzystych, którym może być płyn owodniowy. Materiał ten stanowi, wg autorów, relatywnie bogate źródło komórek macierzystych, jest również łatwo dostępny poprzez szeroko akceptowaną diagnostykę prenatalną. Autorzy wykazują, że zastosowanie właściwych mediów hodowlanych suplementowanych czynnikami wzrostu pozwala na różnicowanie wyizolowanych z płynu owodniowego komórek macierzystych w kardiomiocyty. W przyszłości metoda ta znajdzie być może zastosowanie w leczeniu wrodzonych wad serca.

Interesujące zagadnienie zostało również zaprezentowane przez zespół badaczy pod kierunkiem prof. Walpoth (*Department of Cardiovascular Surgery, University Hospital Geneva*) [9]. W swoich badaniach, w warunkach *in vivo*, autorzy zastosowali śródoperacyjne pobranie komórek mezenchymalnych szpiku, które zostały również śródoperacyjnie osadzone na biodegradowalnej protezie naczyniowej. Zdaniem autorów jest to metoda bezpieczna, ponieważ nie obserwowano trombogenności ani immunogenności tak konstruowanych protez. Po 3 tyg. od wszczęcia naczynia na powierzchni protezy stwierdzono obecność żywych komórek, które prezentowały morfologię komórek endotelialnych. Praca ta wskazuje również na tendencję, jaką daje się zauważyć w metodach inżynierii tkankowej oraz technikach terapii komórkowych, gdzie komórki bezpośrednio po pobraniu i izolacji w warunkach śródoperacyjnych są stosowane w terapii z pominięciem etapu hodowli *in vitro*, wykorzystując w tym momencie organizm biorcy jako swoisty bioreaktor.

W trakcie kongresu zaprezentowane zostały również wstępne wyniki badań wspólnego projektu Śląskiego Centrum Chorób Serca w Zabrzu (Katedra i Oddział Kliniczny Kardiologii i Transplantologii) oraz Pracowni Biotechnologii Fundacji Rozwoju Kardiologii (FRK) w Zabrzu [10]. Celem pracy było stworzenie biologicznej łąki pokrywanej komórkami mięśniówki gładkiej, która mogłaby być wykorzystana w zabiegach chirurgicznej rekonstrukcji lewej komory serca. Jako rusztowanie do osadzania komórek wykorzystano perikardium, z którego metodą enzymatyczną usunięto komórki. Następnie z fragmentów naczynia żylnego izolowano komórki mięśniówki gładkiej. W dalszej kolejności izolowane komórki nahodowywano na przygotowane wcześniej matryce acellulane oraz badano właściwości biomechaniczne tak przygotowanej bioprotezy. Wstępne wyniki wskazują, że wzrost komórek na bezkomórkowej łące perikardialnej przebiega prawidłowo. Również właściwości biomechaniczne protezy nie odbiegają istotnie od tkanki natywnej. Praca została dobrze przyjęta, a prof. Walpoth, który był przewodniczącym sesji, wyraził nadzieję, że na przyszłorocznym kongresie *ESAO* zaprezentowane zostaną wyniki badań *in vivo*.



Ryc. 2. Prof. Mariastella Scandola i dr Piotr Wilczek w trakcie pobytu na Uniwersytecie Bolońskim

Podczas kongresu zaprezentowano również osiągnięcia Pracowni Sztucznego Serca FRK w Zabrzu (kierowanej przez mgr. inż. R. Kustosza) oraz Pracowni Biocybernetyki (kierowanej przez dr. Z. Nawrata). Dotyczyły one m.in. nowych hybrydowych jednostek elektro-hydropneumatycznych (mających zastosowanie w jednostkach wspomagania lewokomorowego), przedstawiono również prace z zakresu modelowania przepływów i prace dotyczące Polskiego Telemanipulatora Kardiologicznego – rodziny *Robin Heart*.

Pobyt w Bolonii był również dla autora artykułu pretekstem do wizyty w *Dipartimento di Chimica* Uniwersytetu Bolońskiego, w zakładzie kierowanym przez prof. Mariastellę Scandolę (ryc. 2.). Dzięki wcześniejszej współpracy między Pracownią Biotechnologii a Centrum Chemii Polimerów PAN, którego dyrektorem jest prof. M. Kowalczyk, nawiązana została trójosrodkowa współpraca w zakresie możliwości wykorzystania materiałów biodegradowalnych jako nośników leków. W trakcie wizyty przedstawione zostały wstępne wyniki badań polimerów biodegradowalnych, pozyskanych zarówno w Centrum Chemii Polimerów PAN w Zabrzu, jak również z *Dipartimento di Chimica* Uniwersytetu Bolońskiego. Badania dotyczyły głównie biokompatybilności i cytotoksyczności tych materiałów. Ponadto omówiono dalsze kierunki badań i współpracy.

## Piśmiennictwo

1. Neuenchwander S, Holdener S, Schmidt D, Cummings I, Genoni M, Zung G, Hoerstrup SP: The role of cell donor age for the cardiovascular tissue engineering concept. *Int J Artif Organs* 2005; 28: 880.
2. Schmidt D, Mol A, Neuenchwander S, Breyman C, Gossi M, Weber A, Zund G, Turina M, Hoerstrup SP: Umbilical cord blood derived progenitor cells – a new cell source for pediatric cardiovascular tissue engineering. *Int J Artif Organs* 2005; 28: 880.

3. Yang S, Cikiricioglu M, Tille J-C, Pache J-C, Kalangos A, Walpoth BH: Stem cell enhanced laser myocardial revascularization. *Int J Artif Organs* 2005; 28: 881.
4. Tekawa Y, Teanaka Y, Tatsumi E, Nagaya N, Kansaku R, Ota K, Homma A, Mizuno T, Kitamura S, Takano H, Hajjar R: Mesenchymal stem cell transplantation improves cardiac function of failing heart supported with LVAD. *Int J Artif Organs* 2005; 28: 881.
5. Iwasaki K, Ozaki S, Kawai T, Moriyama Y, Ohzeki Y, Umezu M: Microwave treatment combined with pulsatile circulation can completely remove cells and  $\alpha$ 1-3 galactose antigen. *Int J Artif Organs*. 2005; 28: 886.
6. Szentivanyi A, Rau G, Glasmacher B, Klein M, Ghodsizad A: Evaluation of biaxial cell stretching device for cardiovascular tissue engineering. *Int J Artif Organs* 2005; 28: 887.
7. Lukash LL, Bazika DA, Belyaeva LV, Kovalenko OA, Pidpala OV, Yatsishina AP: Tissue engineering in vitro: differentiation of stem cells to cardiomyocytes. *Int J Artif Organs*. 2005; 28: 891.
8. Bolloni S, Chiavegato A, Pozzobon M, Piccoli M, Slanzi E, Castello F, Zanon GM, Carli M, Sartore S, De Coppi P: In vitro cardiomyocyte differentiation of amniotic fluid stem cells. *Int J Artif Organs* 2005; 28: 890.
9. Cikiricioglu M, Yang S, Tille JC, Kalangos A, Walpoth BH: In vivo stem cell seeding of synthetic vascular grafts. *Int J Artif Organs* 2005; 28: 891.
10. Wilczek P, Barańska A, Religa Z, Przybylski R, Nożynski J, Zembala M: Viable bioengineered vascular smooth muscle grafts – promising tool for use in surgical left ventricle restoration. *Int J Artif Organs*. 2005; 28: 894.