

Metode biologice stimulative a procesului reparator osos

V. Nacu

Laboratorul Inginerie Tisulară și Culturi Celulare
Catedra Chirurgie Operatorie și Anatomie Topografică
Catedra Ortopedie, Traumatologie și Chirurgie în Campanie
USMF "Nicolae Testemițanu"

Biological Approaches to Bone Regeneration

Biological methods of bone regeneration are necessary to reverse bone loss resulting from various causes. Regenerative therapies could possibly utilize traditional autogenous and allogeneous bone grafting or composite grafts, resorbable 3D scaffolds and differentiated or undifferentiated cells. Cell grafts are taken from autogenous bone marrow cells or allogeneous cord blood stem cells. Gene expression systems may be combined with cells seeded in precise three-dimensional configurations on synthetic scaffolds to control both temporal and spatial distribution of regenerative factors. The natural processes of bone formation and repair require the coordinated expression of many molecules, growth factors, bone morphogenetic proteins, and specific transcription factors. Current knowledge of bone and fracture repair can explain tissue engineering and may mimic critical aspects of these natural processes. Approaches using gene therapy for bone regeneration are other means to promote good bone healing. These varied methods will eventually allow us to achieve a reconstruction of bone defects and stimulate bone healing.

Key words: bone regeneration, stem cells, fetal tissue, tissue engineering.

Биологические методы стимуляции регенерации костей

Биологические методы, использованные с целью костной регенерации, необходимы для восполнения потери костной ткани, вызванной различными факторами. В регенеративной терапии можно использовать традиционные аутологичные, аллогенные или комбинированные трансплантаты, включающие биодеградирующие 3D губки и дифференцированные или недифференцированные клетки. В качестве клеточного трансплантата могут быть использованы аутогенные костномозговые клетки или аллогенные – из пуповинной крови. Генно экспрессивные системы также могут быть комбинированы с тридименсиональными синтетическими структурами и с клетками для контроля временного и пространственного распределения регенеративных факторов. Натуральные процессы образования и восстановления кости требуют координированной экспрессии множества молекул, включающих факторы роста, морфогенетические белки и специфические транскрипционные факторы. Сегодняшние знания о регенерации кости позволяют стимулировать восстановительные процессы с помощью тканевой инженерии. Генная инженерия является новым направлением при попытке получения хорошего костного сращения. Такой подход, возможно, позволит добиться реконструкции костных дефектов и стимулировать костное сращение в случаях ее нарушения.

Ключевые слова: регенерация кости, стволовые клетки, эмбриональная ткань.

Introducere

Una dintre proprietățile unice, caracteristice țesutului osos al aparatului locomotor, este capacitatea de autoreparație. Reparația scheletului implică o avalanșă de evenimente care, într-un fel sau în altul, parcurg etapele dezvoltării embrionare. Deoarece țesuturile locomotorului evoluează din mezenchim, celulele mezenchimale nediferențiate au funcții genetic determinate în formarea scheletului și în procesul de reparație. În cazul procesului reparator, anumite citokine, factori de creștere fac ca aceste celule să se diferențieze în celule osteo-cartilagineoase [4, 24]. Osteogeneza reparatorie depinde nu doar de regiunea afectată, ci și de starea întregului organism. Totodată, osteogeneza este de durată. Astfel, încercările de a accelera procesele de regenerare, sunt supuse eșecului, deoarece acesta este un mecanism genetic determinat de fenotipul fiecărui organism. Metodele de stimulare a regenerării osului pot fi:

- 1) în funcție de locul de acțiune: generale și locale;
- 2) în funcție de factorul care acționează: fizice – mecanice, electromagnetice, prin ultrasunet; și biologice – grefe

osoase, factori de creștere, celule mezenchimale, grefe biologice compozite etc. În majoritatea cazurilor acești factori sunt utilizați pentru a acționa local, în regiunea cu osteogeneză deprimată.

Metodele locale de stimulare a consolidării osului pot fi: osteogenice, osteoconductive și osteoinductive. Metodele osteogenice includ utilizarea materialelor naturale, ca derivate ale măduvei osoase autologice, grefe osoase autologice sau alogene, matricea osoasă demineralizată. Autogrefele sunt prelevate de la persoana care necesită grefare, când donatorul și recipientul este una și aceeași persoană. Corespunzător structurii, ele pot fi corticale, corticospongioase, vascularizate și nevascularizate. Autogrefele nevascularizate sunt mai frecvent utilizate și au un spectru larg de indicații. Autogrefele osoase sunt net superioare celorlalte transplanturi din considerente biologice: ele nu provoacă reacții imune și asigură o integrare bună în loja recipientă, inclusiv comparativ cu alogrefele, care comportă riscul de rejeț și de infectare. Autogrefa spongioasă este considerată standardul de aur

(gold standard) între grefele osoase existente actualmente. Grefa spongioasă include țesutul osos spongios, recolectat mai frecvent din aripa osului iliac, care reprezintă sursa principală de țesut osos spongios din organism. Totodată, și trohanterul mare, condilii femurali pot servi ca surse de cantități acceptabile de os spongios. Oasele membrului toracic, de asemenea, pot furniza o cantitate mică de os spongios. Acestea pot fi porțiunea distală a radiusului, olecranonul. Din aceste oase pot fi colectate porțiuni mici de os în suplینirea defectelor și plastiile oaselor mici ale mâinii propriu-zise, însă calitatea mediocră a grefei face ca pentru colectarea grefei spongioase să fie recomandată aripa osului iliac. Mandibula (regiunea mentonieră), de asemenea, este o sursă de autogrefă. Cantitatea de os care poate fi prelevată este mică, dar poate fi colectată în operații reconstructive pe oasele scheletului facial. Craniul conține mai mult os cortical decât spongios, dar, de asemenea, poate oferi material osos pentru reconstrucția regiunii maxilofaciale.

Osul iliac, care este o regiune donatoare foarte convenabilă din considerentele că abordul chirurgical către el este simplu, pune la dispoziția chirurgului o cantitate remarcabilă de țesut osos. Modalitățile de prelevare sunt multiple și pot fi modificate în funcție de grefa necesară pentru transplantare, forma ei, proprietățile mecanice și cantitatea de țesut necesară pentru grefare: *grefă masivă tricorticală* – se prelevă creasta iliacă în totalitatea grosimii ei. Ea asigură nu numai substituirea defectului osos, dar, grație durității, și stabilizare la nivelul amplasării; *grefele bicorticale* sunt utilizate cu scop de stabilizare. Mai frecvent sunt utilizate pentru stabilizarea corpului vertebral, ca grefă de interpunere între fragmente în osteotomiile de varizare și valgizare; *grefa corticospongioasă unicorticală* reprezintă grefa în care se prelevă o jumătate din grosimea crestei iliace. Fața spongioasă a grefei asigură integrarea în loja recipientă, iar stratul cortical îi comunică duritate și contribuie la stabilizarea zonei grefei; *grefa corticospongioasă multiplă* se obține prin detașarea din creasta iliacă a mai multor piese osoase corticospongioase de dimensiuni mici. Ea poate fi prelevată cu o daltă canelată de diferite dimensiuni.

Grefa spongioasă reprezintă substanța osoasă spongioasă, colectată după decolarea lamelei corticale. Ea se mai numește grefă spongioasă morselată, utilizată pentru refacerea defectelor osoase, asigură o integrare rapidă și eficientă în regiunea administrării, dar nu și o stabilitate mecanică. Mai valoroasă este cea pur spongioasă, comparativ cu cea corticospongioasă [7].

Grefele osoase vascularizate, cu toate că par a fi grefe perfecte în sensul vascularizării și al integrării rapide în regiunea amplasării, se utilizează mai rar, în cazuri speciale, deoarece cantitatea de substanță osoasă pe care o posedă o astfel de grefă este mică. Ele sunt colectate din aripa osului iliac, fibulă, humerus sau din osul radial. Dimensiunile autogrefei care poate fi colectată oricum sunt limitate, locul donator suferă la colectarea transplantului, fiind un traumatism suplimentar pentru organism, fapt care nu poate fi subestimat. Autogrefa pe pedicul vascular necesită timp suficient pentru

integrare completă în loja recipientă și restabilirea biomecanicii la nivelul grefării, inclusiv și în regiunea donatoare.

Ar putea fi utilizate grefoane osoase pediculate mi-grante din coasta a XII-a pe mușchiul lat al spatelui, pentru suplینirea defectelor complexe de țesut al brațului la copii. Extremitatea distală a radiusului, de asemenea, servește drept un bun donator de grefă corticospongioasă pe pedicul vascular, fiind utilizată pentru reconstrucția oaselor carpiene și metacarpene. De asemenea, poate fi utilizată fibula, marginea medială a omoplatului pentru reconstrucția oaselor tubulare lungi [19].

Deficiențele grefării autologice sunt: morbiditatea regiunii donatoare după prelevare; sechele funcționale și estetice în caz de grefe tricorticale masive; cicatricea postoperatorie restantă după calea de abord. În caz că grefa autologică colectată nu acoperă volumul necesar de os, se practică combinarea cu grefele osoase alogene [7].

Grefa alogenă este atunci când donatorul și recipientul sunt de aceeași specie. Actualmente există câteva surse: prima – segmente osoase prelevate de la cadavre sau de la persoane decorticate cerebral; a doua – capurile femurale (reziduuri chirurgicale survenite în endoprotezările de șold), prelevate de la pacientul operat, cu consimțământul lui și păstrate în banca de os; a treia – grefoane rezultate în urma amputației membrului în caz de arterită sau traumatisme.

Primele loturi importante de grefe osoase au fost utilizate în pseudartroze și în artrodeze lombosacrate, în 1954, de către frații R. și J. Judet, Sicart-Mouly, Merle d'Aubigné (1966), M. Volkov (1970), C. E. Ottolenghi (1972) etc.

Odată cu dezvoltarea tehnicilor chirurgicale, utilizarea largă a endoprotezelor, perfecționarea tratamentului chirurgical în oncologie, direcționat spre păstrarea integrității membrului prin reconstrucția defectelor segmentare osoase, transplantul de os alogen a devenit un gest frecvent utilizat în intervențiile chirurgicale ortopedice. În Franța, în 2002, au fost implantate 11000 de grefe osoase alogene.

În funcție de sursa donatoare, alogrefele pot fi: *alogrefe corticale*, care sunt penetrate greu de granulațiile vasculare și integrarea redusă a lor în patul recipient, revascularizarea fiind posibilă exclusiv după osteoliza osului cortical și înlocuirea lui cu țesut osos nou. În interiorul grefei zone de țesut osos nou-format apar nu mai devreme de 12 săptămâni de la transplantare. Osteointegrarea are loc pe parcursul a mai multor ani, oricum ne fiind una completă, cauzată de particularitățile arhitecturale ale osului cortical. Consolidarea cu osul-gazdă are loc numai în regiunea suprafețelor de contact, ceea ce face dificilă integrarea totală a grefei osoase.

Grefe masive osoase se folosesc în cazul unor defecte masive de țesut osos, care survin mai frecvent în urma exciziilor tumorilor osoase. I. Marin, în 1981, a analizat minuțios rezultatele obținute în tratamentul a 521 de pacienți cu tumori osoase benigne de diferite localizări (durata supravegherii de la 2 la 19 ani), în tratamentul cărora au fost utilizate alogrefoane osoase conservate în soluții slabe de formaldehidă. Această metodă de conservare a oaselor a fost propusă în 1965 de către V. Parfenieva și coautorii și constă în utilizarea soluției de 0,25-0,75% de formalină cu pH 7,3-7,4. Astfel de grefoane

(alo- și xenotransplanturi) au fost utilizate în intervențiile chirurgicale pe coloana vertebrală (spondilodeză anterioară) și în artrodeza articulației șoldului prin utilizarea fixatoarelor osoase alo- și xenogene etc. [23].

Utilizarea grefelor osoase de dimensiuni mari este necesară și în defectele osoase paraacetabulare apărute, în ultimul timp, odată cu efectuarea mult mai frecventă a endoprotezării totale de șold. Decimentarea aseptică, mobilizarea (*loosening*) sau osteoliza reprezintă o complicație tardivă care, după decimentarea septică, este una dintre cele mai redutabile, limitând "viața și funcția" protezei. Defectele masive acetabulare constituie o problemă dificilă în cazurile în care este necesară o reintervenție în artroplastii coxofemorale nereușite [7].

De menționat că grefele sunt necesare pentru constituirea unui regenerat osos calitativ la nivel de implantare. Însă alotransplanturile, compacte și masive, produse din diafizele oaselor lungi, folosite în substituirea defectelor osoase mari, cu toate că se concresec cu loja recipientă, în decursul mai multor ani după transplantare, rămân nesubstituite de țesuturile recipientului, deformându-se din cauza resorbției țesutului osos. Procesele de osteogeneză în ele evoluează, de regulă, trenant și neuniform. Calitatea grefei osoase depinde în mare măsură de calitatea și de metoda utilizată pentru procesare, conservare și pentru păstrare. O altă soluție pentru amplificarea proprietăților morfoinductive ale alogrefelor ar putea fi utilizarea factorilor de creștere cum ar fi BMP și alții cu grefele osoase [10].

Necesitatea executării materialelor cu capacități morfoinductive pronunțate a făcut ca, în ultimele decenii, să fie elaborate numeroase studii în privința utilizării matricei osoase demineralizate. Materialul de bază al matricei este colagenul, care dispune de activitate antigenică redusă, este rezistent la acțiunea fermenților tisulari și este capabil să formeze componente complexe cu substanțe biologice active [11].

Matricea osoasă demineralizată reprezintă substratul organic al țesutului osos, compus din fibre de colagen de tipul I și substratul de bază glucidoproteic. Ea a fost propusă pentru prima dată de N. Senn, în 1889, ca remediu osteoinductiv. Matricea osoasă era obținută din os compact, demineralizat în soluție de acid clorhidric, ulterior fiind păstrată în soluție de alcool etilic. Rezultatele pozitive obținute i-au permis autorului să le implementeze în practica medicală la pacienți cu defecte osoase. Peste mai mulți ani, răstimp în care metoda propusă aproape a fost dată uitării, eminentul savant M. R. Urist a apreciat înalt acest tip de grefă. El a studiat și a elaborat metodele contemporane utilizate la prepararea matricei osoase demineralizate cu capacități osteoinductive majore. Capacitățile osteoinductive ale matricei osoase demineralizate au fost cercetate și de alți savanți, având ca scop ameliorarea capacităților osteoinductive ale biopreparatului, utilizând alte metode de conservare și de preparare sau modernizându-le pe cele existente.

Implantarea matricei osoase demineralizate în țesutul subcutanat conduce la o inducție osoasă locală. Acest model al morfogenezei osoase inițiază, promovează și menține condrogeneza, osteogeneza în țesuturile netipice țesutului osos.

Particularitățile arhitectonicii tisulare ar putea fi utilizate în ingineria tisulară, aplicând ulterior cunoștințele date pentru a influența procesul de regenerare a țesuturilor, inclusiv a celor osoase și cartilajinoase [15, 24].

Există părerea că, în recuperarea defectelor diafizare experimentale de dimensiuni mari cu matrice osoasă demineralizată, rezultatele sunt superioare comparativ cu cazurile când au fost utilizate autotransplanturi compacte. Matricea osoasă demineralizată cu dimensiunile particulelor de 70-420 μ are o capacitate osteoinductoare mai pronunțată în comparație cu autogrefa osoasă.

La inocularea subcutanată a matricei osoase în regiunea peretelui abdominal la șobolan, în cantitate de 0,5 cm³, după 4-8 săptămâni s-a format țesut osos nou. Aceiași autori utilizează matricea osoasă demineralizată în clinică la 39 de pacienți cu fractură de corp vertebral, la care au administrat grefa între corpii vertebrali cu o seringă specială. Consolidarea osoasă a corpurilor vertebrali vecini a fost determinată în 69% din cazuri. Preparatul a fost utilizat la copiii cu chisturi osoase și cu displazie fibroasă (73 de pacienți). Pe parcursul a 6-9 luni s-a constatat recuperarea deplină a chisturilor osoase la 100% dintre pacienți. La 45,5% dintre copiii cu displazie fibroasă au fost înregistrate rezultate satisfăcătoare. În defecte de craniu a fost utilizat os demineralizat perforat. La pacienți, cu consolidări lente și cu pseudartroze ale oaselor tubulare lungi (87 de pacienți), a fost constatăată formarea unui regenerat osos calitativ în 70% din cazuri. În același tip de defecte osoase au fost utilizate alogrefe osoase demineralizate, conservate prin diferite metode și combinate cu măduvă osoasă autologică sau cu culturi celulare obținute din celule recoltate din măduva osoasă.

Brefoplastia include folosirea în calitate de grefă a materialului obținut din țesut osos fetal. Mai multe surse bibliografice confirmă că grefele osoase de origine fetală sunt supuse resorbției, fiind substituite de țesut osos nou. Totodată, acest transplant este considerat mai eficace comparativ cu grefele osoase obținute de la donatorii adulți. Activitatea osteoinductivă a acestor grefe se explică prin existența în componența lor a substanțelor bioactive (citokine, factori de creștere etc.) care participă activ la stimularea proceselor metabolice și plastice, la procesele de sinteză a proteinelor de bază ale țesutului osos și colagen [24].

Deși materialul fetal posedă capacități osteoinductorii, dimensiunile mici, rezistența scăzută la efort, structura neomogenă și, nu în ultimul rând, aspectul etic al problemei determină utilizarea limitată a acestui material în chirurgia plastică.

Xenogrefele sunt prelevate mai frecvent de la viței, dar pot fi prelevate și de la porci, oi etc. La vițel, oasele sunt mai mari și, evident, cantitatea țesutului osos poate fi mai impunătoare. În practică, când este nevoie de o cantitate considerabilă de substanță pentru substituția defectului osos, poate fi asociată autogrefa spongioasă cu os demineralizat alogen sau xenogen (bovin), în proporție care nu trebuie să depășească o treime din cel autologic, ceea ce permite economisirea osului autologic [7].

Grefe celulare utilizate în vederea optimizării procesului de regenerare

Omul, ca organism pluricelular, este compus din multiple tipuri de celule diferențiate. Forma lor, capacitățile, proteinele exprimate în fiecare dintre ele sunt diferite, chiar dacă au aceeași origine – celulele predecesorii nediferențiate. În organismul matur mai persistă celule nediferențiate, pluripotente, care încă nu au fost selectate de programul genetic pentru diferențiere. Numite celule stem, ele se transformă în substratul celular necesar, caracteristic regiunii în care se implantează: în țesutul nervos ele dau naștere neuronilor; în țesutul muscular – mioblastelor (miocitelor); în cel osos – osteoblastelor (osteocitelor) etc.

Grefarea celulară reprezintă știința despre transplantarea celulelor în organismul bolnav cu scop de tratament și, totodată, una dintre metodele de bază utilizate actualmente în medicina regenerativă.

Pentru transplantarea celulară pot fi utilizate și celule stem (progenitoare) sau celule diferențiate (fibroblaste, osteoblaste, chondroblaste). În funcție de tehnica administrării, transplantarea poate fi sistemică sau locală. În maladiile scheletice mai frecvent este utilizată cea locală.

Este deja dovedit experimental că o cantitate mică de celule specializate poate compensa funcția organului lezat. Acest fapt denotă că cercetările în domeniul tehnologiilor celulare au perspective majore, inclusiv în înțelegerea expresiei fenotipice a diferitelor maladii, și pot conduce la elaborarea altor substanțe medicamentoase, care ar putea să minimalizeze efectul nefast al patologiilor cunoscute și chiar să prevină condițiile care determină instalarea lor [1, 16].

Culturile celulare autologice și alogene își manifestă caracteristicile osteoinducției la inocularea în regiunea osului cu osteogeneză suprimată, activează regenerarea osoasă, dar datorită caracterului lichid nu se mențin în locul inoculării, folosirea lor în substituția defectelor osoase de dimensiuni mai mari fiind dificilă.

Descoperirile de la finele secolului XX în biologia moleculară, celulară și în biotehnologii au făcut posibilă separarea și cultivarea celulelor din diverse țesuturi și organe. În ultimii ani, informațiile obținute despre celulele stem, care dispun de capacități plastice în cultivare, diferențiere și creștere *in vitro*, atrag atenția medicilor practicieni datorită posibilității de tratare a unui șir de patologii, actualmente greu de vindecat.

O perspectivă evidentă are cultivarea celulelor stem pluripotente și a celulelor predecesorii ale diferitelor structuri tisulare, separate din țesuturi embrionare, fetale și din organismul matur. Ghidarea diferențierii celulelor stem *in vitro* ar permite obținerea materialului biologic necesar pentru tratamentul de substituție tisulară în diferite maladii.

Actualmente, multiple cercetări au pus în evidență faptul că celulele medulare, crescute în laborator în condiții specifice, se dezvoltă în celule osoase, cartilajinoase, adipoase și musculare.

În funcție de capacitatea lor replicativă și de potențialul de diferențiere, celulele stem au fost clasificate în:

1. *Celule stem totipotente*. Acestea sunt celulele din care se poate dezvolta orice tip de celule prezente în organismul uman. După fecundarea ovulului, zigotul se divide, formând celule identice, fiecare dintre ele, dacă ar fi implantate în uter separat, ar putea da naștere unui embrion întreg și ar putea forma o placentă. Celule totipotente sunt și cele apărute după primele diviziuni ale ovulului fecundat. Acestea se pot diferenția în orice tip de celule.

2. *Celule stem pluripotente* sunt descendente ale celulelor totipotente. Se pot diferenția în toate tipurile celulare, cu excepția celor totipotente. Sunt capabile să formeze țesuturi derivate din toate cele trei foițe embrionare (endoderm, mezoderm și ectoderm). Celule pluripotente pot fi obținute nemijlocit din masa celulară internă a blastocitului sau de la embrion, din regiunea de unde are loc dezvoltarea gonadelor. Tulpinile celulare obținute prin cultivarea acestor celule sunt identice. Aceste celule se numesc embrionare.

3. *Celule stem multipotente* sunt acelea care produc celule dintr-o singură familie, progenitoare ale celulelor din diferite țesuturi. Drept exemplu pot servi celulele hematopoietice, responsabile de înnoirea continuă a celulelor sangvine, din care se dezvoltă eritrocitele, limfocitele, leucocitele etc. Ele au un potențial regenerativ imens și își reînnoiesc continuu populațiile celulare. Ca grefă poate servi măduva osoasă și celulele din sângele ombilicoplacentar.

4. *Celule stem unipotente*. Aceste celule pot produce un singur tip de celule, dar au proprietatea de a se reînnoi, ceea ce le diferențiază de celulele non-stem [5, 20].

Conform datelor recente, o anumită cantitate de celule stem poate fi găsită în toate organele, inclusiv în foliculul pielos, pulpa dentară, peretele vaselor, lichidul amniotic, placentă, cordon ombilical, piele, țesuturile muscular, nervos, sângele periferic. O utilizare practică o au țesuturile care conțin o cantitate mai mare de celule predecesoare – măduva osoasă, țesutul adipos, sângele și placentă.

Autocelulele stem mature (*Multipotent adult progenitor cells – MAPS sau mesenchymal stem cells – MSC*) sunt considerate actualmente unul dintre materialele cu cea mai mare perspectivă pentru terapia cu celule și pentru ingineria tisulară. Spre deosebire de celelalte celule embrionare, autocelulele au capacități de proliferare și de diferențiere mai limitate. Măduva osoasă este o sursă sigură de celule predecesorii; ea este bogată în celule de acest tip și mulți autori cercetează posibilitatea utilizării lor în optimizarea și în activizarea procesului reparativ tisular. Concomitent, există tehnologii de obținere a celulelor stem din sângele periferic, după administrarea prealabilă a preparatelor hematopoietice, care stimulează exodul celulelor stem din măduva osoasă în patul sangvin. Astfel, folosind utilaj special, are loc separarea și utilizarea lor pentru transplantare. Unii autori consideră că sângele periferic este sărac în celule stem mezenchimale. Avantajele utilizării autocelulelor osteomedulare sunt evidente: lipsește conflictul imun (rejetul grefei); este redusă la minim posibilitatea de contaminare a pacientului cu maladii hematotransmisibile; metoda este bine venită din punct de vedere moral și etic. Dezavantajul îl constituie limita de vârstă la care este rezonabil de cultivat autocelulele (până la 50 de ani). Se consideră că la

naștere unei celule stem îi revin 10000 de celule sangvine, la 15 ani – 1:100000, la 50 de ani – 1:500000. Separarea celulelor stem din țesutul adipos subcutanat poate fi efectuată și din țesutul eliminat în liposacție [21].

Din celulele stem mezenchimale localizate în stroma măduvei osoase se pot dezvolta în anumite condiții osteoblastele, fibroblastele, condroblastele și adipocitele. Injecția transcutanată a măduvei osoase proaspete în focar a fost propusă în tratamentul pseudartrozelor oaselor lungi, al chisturilor osoase simple și în necroza aseptică de cap femural. A fost stabilit că concentrația și cantitatea celulelor stem din transplant este direct proporțională cu activitatea grefei celulare. O astfel de grefă s-a utilizat pentru tratamentul neconsolidărilor osoase la pacienți cu tumori maligne și la copii cu osteogeneză imperfectă [20].

La autocelule, de asemenea, pot fi atribuite celulele din sângele cordonului ombilical care se colectează la nașterea fătului într-un container steril, din care se separă celulele stem și se crioconservează, păstrate la temperaturi joase timp îndelungat. În caz de necesitate, ele se utilizează pentru tratamentul donatorului [3].

Celulele embrionare cu informația genetică a recipientului pot fi considerate ca autocelule, deoarece conțin informația genetică a pacientului. Este vorba despre reconstituirea embrionară prin transferul nucleului din celula somatică a individului în oocitul enucleat [21].

Celulele alogene includ și celulele embrionare, care sunt obținute din blastocit la 4-5 zile de la fecundare și sunt colectate din conglomeratul celular din interiorul blastocitului. Din aceste celule pot fi obținute adevărate tulpini de celule stem embrionare cu o capacitate enormă de proliferare și mari posibilități de diferențiere. Totuși, cu toate că aceste celule au fost utilizate în tratamentul diferitelor patologii, folosirea lor în clinică generează mai multe discuții decât optimism. Problemele de origine etică nu sunt principalele. Pericolul folosirii acestor celule este legat de riscul de malignizare, reacții imune, inclusiv intoleranță. Anume din aceste celule, savanții americani au obținut tulpini imortale de celule stem [21].

Experimental, pe iepuri, au fost prelevate învelișurile amniotice, din acestea au fost separate și cultivate celule amniotice *in vitro* pe suport din colagen, folosite ulterior pentru acoperirea defectului amniotic, survenit în urma fetoscopiei [5].

O mare parte dintre celulele care constituie țesutul fetal sunt slab diferențiate, dispun de un grad mare de proliferare și sunt capabile să formeze colonii de celule, care participă la regenerarea organului. Celulele stem fetale, implantate în organismul recipientului, pot să-și modifice caracterul diferențierii, transformându-se în celule caracteristice lojei recipiente. Proliferarea celulelor corelează cu densitatea și cu viabilitatea lor. Concomitent cu celulele stem, se administrează un complex de citokine și factori de creștere, care stimulează regenerarea țesuturilor. De obicei, aceste celule sunt obținute din embrioni umani de 9-12 săptămâni. O altă sursă de celule fetale alogene, care nu suscită discuții privind problemele etice, o reprezintă celulele fetale obținute din sângele ombilical, lichidul amniotic și placentă.

Posibilitatea obținerii de celule izogene specifice pacientului prin transferarea nucleului din celula recipientului în celula donatoare ar putea soluționa problema deficitului de material donator, însă urmează să fie perfecționată tehnologia obținerii acestor tipuri de celule.

Culturile celulare alogene de la donatori maturi pot fi celulele compartimentelor hematopoietic și limfopoietic ale măduvei osoase reprezentate de celule stem pluripotente și celule adulte eritrocitare, granulocitare, trombocitare, monocitare, limfocitare și cele plasmatiche. Mai frecvent, cu acest scop, sunt transplantate celulele medulare alogene. Transplantarea celulelor alogene hematopoietice se utilizează de mai mult timp în tratamentul unor maladii sangvine – anemii congenitale, leucemii, unele maladii cu dereglări de metabolism, dereglări ale sistemului imun, precedate de insuficiență imunitară etc. O condiție dură, dificil de asigurat în efectuarea acestei transplantări, este corespunderea între sistemul HLA al recipientului și al donatorului. Din cauza polimorfismului sistemului HLA (*human leukocyte antigen*) au fost create bănci de țesut, în care se efectuează selectarea pacienților și a donatorilor, însă nu întotdeauna este posibilă selectarea donatorului potrivit.

Este relevantă posibilitatea utilizării celulelor stem prelevate din placentă și din cordonul ombilical. Acest sânge este bogat în celule predecesorii, care se pot diferenția în diverse țesuturi sub acțiunea unor factori specifici. Totodată, este posibilă crioconservarea pentru păstrarea un timp îndelungat a sângelui, care poate fi utilizat în cazul unui eventual transplant la copil sau la un alt membru al familiei. Pentru prima dată transplantarea celulelor stem, obținute din sângele ombilical de la soră, a fost efectuată în 1988 la un copil de 6 ani, cu anemie Fanconi. Este demonstrat că celulele limfoide ale sângelui ombilical sunt mai puțin imunoreactive și este admisibilă necorespunderea parțială după sistemul HLA la transplantarea celulelor hematopoietice, de asemenea, reacția grefă-gazdă se întâlnește mai rar comparativ cu transplantarea măduvei osoase.

Celulele sângelui ombilical au o capacitate majoră de a restabili practic integral sistemul hematopoietic distrus al pacientului. Cu toate că sângele ombilical conține mai puține celule stem comparativ cu măduva osoasă, calitatea grefei este superioară față de cea osteomedulară. În aceste cazuri este nevoie de 10 ori mai puține celule stem ombilicale pentru transplantare reușită, deoarece celulele ombilicale sunt mai tinere comparativ cu cele osteomedulare și cele obținute din sângele periferic [1].

Sângele din cordonul ombilical (SCO) prezintă următoarele avantaje: disponibilitate rapidă (SCO congelat poate fi ușor expedit și decongelat în caz de necesitate); un număr mare de donatori (grefa de SCO ar putea fi efectuată când gradul de incompatibilitate HLA este mult mai pronunțat decât în cazul grefei măduvei osoase de la un donator înrudit); risc vital minim la grefare, deoarece sângele ombilical se păstrează 3 luni sub carantină; risc vital minim la prelevare pentru mamă și făt. S-a constatat că sângele unui singur cordon ombilical ce conține de la 80 la 120 ml are același număr

de celule stem ca și 1200 ml de sânge prelevat din măduva osoasă [9].

Cu toate că majoritatea grefărilor de la donatori neînruțiți s-au făcut pe copii, în ultimii ani se înregistrează o creștere a recipienților adulți. Conform concluziilor a patru rapoarte referitoare la un lot de pacienți adulți (între 22 și 108 subiecți), majoritatea dintre aceștia au beneficiat de o grefă de SCO în cadrul unei terapii contra tumorilor maligne hematopoitice. Nivelul de acceptare a grefelor mieloide a oscilat între 81% și 90%, probabilitatea de manifestare a unei GVHD severe a variat între 3% și 40%; iar a unei GVHD cronice – între 16% și 40%. Probabilitatea de supraviețuire fără incidente a fost de 21%-53%, la un an, și 26%-76%, la 3 ani [9].

În ultimii ani, datorită succeselor obținute în cercetările fundamentale, care permit cultivarea diferitelor tipuri de celule, se dezvoltă transplantarea celulară nu numai sub aspectul cercetărilor fundamentale, dar și sub aspectul utilizării lor în terapia unei diversități considerabile de patologii ale organismului uman. Actualmente, transplantarea celulară în cercetări fundamentale se utilizează pentru: studierea procesului de diferențiere a țesuturilor și a celulelor; elucidarea embriogenezei țesuturilor și a organelor; studierea interacțiunii diferitelor celule; formarea organelor *in vitro*; modelarea diferitelor maladii genetice umane; studierea mecanismelor de îmbătrânire și posibilitatea întineririi țesuturilor; obținerea himerelor genetice pentru studierea mecanismelor imunității, rejetelor tisulare imune etc. În experiment s-a încercat tratamentul defectului critic de os femural prin injectarea celulelor stem mezenchimale modificate genetic, recoltate din țesutul adipos.

Prima bancă de celule stem a fost inaugurată în 1990 în SUA, actualmente în lume existând mai multe unități de acest fel. În pofida discuțiilor controversate referitoare la eficacitatea, siguranța și oportunitatea utilizării celulelor stem în terapia umană, se lărgeste spectrul de utilizare clinică: tratamentul maladiilor sangvine (leucemii, anemii, maladii metabolice); tratamentul maladiilor congenitale imunodeficiente; corecția stărilor imunodeficitare după chimioterapie și radioterapie; tratamentul maladiilor genetice (metabolice, degenerative); tratamentul insuficienței hepatice acute, cirozei, maladiilor congenitale metabolice ale ficatului; tratamentul miodistrofiilor; tratamentul maladiilor degenerative ale sistemului nervos, ictusului cerebral, parkinsonismului etc., tratamentul maladiilor genetice și degenerative ale sistemului reproductiv; tratamentul diabetului insulinodependent; tratamentul maladiilor degenerative ale pielii, mucoasei, osului, cartilajului etc. [20].

Tulpinile de celule stem mezenchimale pot fi obținute din biotatate ale măduvei osoase de la donator, din care se capătă aproximativ 1 mln de celule stem, care se multiplică prin cultivare până la 500 mln. Apoi aceste celule pot fi administrate în patul sangvin al pacienților după radio- sau chimioterapie, pentru a stimula formarea coloniilor de celule progenitoare în măduva osoasă a pacientului, în vederea restabilirii hematopoezei și a rezervelor de celule stem în măduva osoasă. Transplantarea acestor celule scade letalitatea și permite micșorarea costului tratamentului, care includea folosirea

factorilor de creștere și a citokinelor, foarte costisitoare [3].

De menționat că ideea utilizării culturilor celulare osteomedulare embrionare în tratamentul diferitelor afecțiuni ale aparatului locomotor a fost propusă în Republica Moldova în anii '70 ai secolului XX. În anul 1971, profesorul P. Cioabanu împreună cu conferențiarul N. Cereș și-au propus să încerce utilizarea celulelor fetale în calitate de stimulatori ai consolidării fracturilor. Au fost efectuate experimente *in vitro* și *in vivo* pe animale. Ulterior, celulele fetale au fost utilizate și în clinică, la pacienții cu consolidare lentă, pseudartroză și cu osteomielită posttraumatică a oaselor lungi.

Studierea capacităților celulelor stem, de proliferare și de diferențiere în cultură este în ascendență după ce, în 1998, cercetătorii Tompson D. și Gherhard D. au obținut tulpini imortale de celule stem. Totodată, este la început de cale utilizarea acestor celule pentru obținerea de biotransplanturi, care ar înlocui organele donatoare, destinate transplantării [3, 20].

Este cunoscută capacitatea celulelor stem de a se integra în structurile organismului, ceea ce confirmă perspectiva folosirii celulelor pentru terapia de substituție, totodată, capacitățile bioplastice majore ale brefomaterialului se datorează multiplicării nu numai a celulelor transplantate, inclusiv și a proteinelor specifice care se află în aceste celule și stimulează proliferarea celulelor nediferențiate.

Multiple molecule sunt implicate în dirijarea procesului de vindecare a fracturii, acționând ca factori care stimulează regenerarea și alt grup de factori care inhibă acest proces.

Căutarea continuă de noi preparate osteostimulatoare a condus la descoperirea proteinei morfogenetice osoase în substanța compactă a diafizelor oaselor tubulare (BMP – *Bone morfogenetic protein*). Multiple cercetări științifice au confirmat faptul că în țesutul interstițial al osului se găsește o substanță de origine proteică, numită proteină morfogenetică osoasă, capabilă să stimuleze procesele regenerării în țesutul osos, totodată, posedând capacitatea de a stimula formarea acestuia și în țesuturile extrascheletice. Această capacitate a fost denumită osteogeneză inductorie ectopică.

Familia proteinei morfogenetice osoase include acum 25 de membri care au o varietate de denumiri adiacente de BMP, cum ar fi „factori de creștere și de diferențiere”, „proteină osteogenică”. Aceste proteine sunt subgruppate în funcție de structura aminoacidă. OP-1 și BMP-7 primele au fost identificate că dispun de proprietăți osteoinductive și produse ca proteine recombinat. Inocularea locală în amestec cu matrice de colagen rezultă în regenerarea defectelor osoase într-o varietate de segmente osoase cum ar fi oasele lungi, oasele craniofaciale și vertebrele. rhBMP7 a fost folosit pentru tratamentul pseudartrozei inveterate a oaselor lungi în combinație cu tratamentul chirurgical cu rezultate bune.

Factorii de creștere reprezintă molecule de greutate mică de la 5 la 30 kDa, care sunt secretate de celule în anumite condiții și care exercită anumite acțiuni asupra lor, cu funcție-cheie în vindecarea țesuturilor sistemului osteoarticular [10].

Factorii de creștere stimulează proliferarea, migrarea, sinteza matricei și diferențierea celulelor. Mulți dintre acești

factori de creștere, incluzând factorul de creștere asemănător insulinei (IGF-1), factorul de creștere transformator- β (TGF- β), factorul de creștere de bază a fibroblastelor (b FGF), proteina morfogenică osoasă (BMP), factorul de creștere epidermal (EGF), factorul de creștere derivat din platelat (PDGF) și proteinele morfogenice derivate din cartilaj (CDMPs) pot influența metabolismul condrocitelor.

De altfel, aplicarea directă a proteinelor factorului specific de creștere are un efect benefic asupra procesului de vindecare *in vivo*, dar este incert că printr-o administrare de o singură dată a factorilor de creștere se poate obține un efect optim de reparare a țesutului. Din cauza perioadei relativ scurte de înjumătățire este necesară administrarea repetată a preparatului, pentru a obține un efect optim în restabilirea defectelor osteocondrale. Diverse strategii, cum ar fi: purtători de matrice, pompe, heparină au fost folosite pentru a obține o concentrație constantă a factorilor de creștere în segmentul vizat [10, 24].

S-a constatat că eritropoetina influențează și ea consolidarea osoasă prin mărirea capacității de osificare encondrală și a durtății mecanice a regeneratului.

În os sunt identificați multipli FC, care pot poseda acțiune locală, aparținând matricei osoase, cei sistemici și interleuchinele. La cei locali se referă factorii de creștere FGF (*Fibroblast Growth Factor*), IGF (*Insulin like Growth Factor*), TGF β (*Transforming Growth Factor*). La factorii de creștere din matricea osoasă se referă: FGF, IGF, TGF β , BMP (*Bone Morphogenetic Protein*). Familia factorilor sistemici este reprezentată de: IGF, PDGF (*Platelet-derived growth factor*), EGF (*Epidermal Growth Factor*).

Citochinele reprezintă un grup de proteine și peptide care, fiind utilizate în organism în calitate de componente-semnal, sunt similare hormonilor și facilitează comunicarea între celule. La ele se referă multiple proteine și glicoproteine de dimensiuni mici, cu masa 8-30 kDa. În os sunt prezente interleuchinele: IL-1 (*Interleukin-1*), IL-6 (*Interleukin-6*), TNF α (*Tumor necrosis factor*), PGE2 (*Prostaglandin E₂*), GM-CSF (*Granulocyte macrophage colony-stimulating factor*).

Factorii de creștere din matricea osoasă au un rol esențial în reglarea procesului de formare a țesutului osos. Fiind o derivată a aceluiași țesut, proteina morfogenetică osoasă este considerată capabilă de a genera formarea țesutului cartilajinos și osos extrascheletal: (mușchi, cavitatea peritoneală). BMP este produs de osteoblaste în curs de osteoformare și stocat în matricea extracelulară. În faza de resorbție, ele ies în spațiul înconjurător și stimulează celulele predecesorii spre dezvoltare osteoblastică. Cercetările științifice efectuate ulterior au elucidat mai multe derivate ale BMP (BMP-1, BMP-2 (BMP-2A), BMP-3 (osteogenină), BMP-4 (BMP-2B), BMP-5, BMP-6, BMP-7 – toate în superfamilia moleculelor TGF-beta), capabile, cu eficacitate individuală, să stimuleze formarea țesutului osos. BMP poate fi obținut prin extragere din osul uman (BMP uman) și prin metode genetice (rh-BMP recombinant). Spongia de collagen îmbibată cu proteină umană recombinată morfogenetică osoasă (rhBMP) a fost utilizată, experimental, pentru substituirea defectelor condrale, create în prealabil în depresiunea intercondilară a

femurului. S-a constatat o regenerare benefică a cartilajului în defectul substituit cu spongie de collagen, îmbibată cu rh-BMP, comparativ cu defectele în care a fost implantată numai spongie de collagen [10].

Unii autori consideră că organismul formează anticorpi în 5-20% din cazuri față de spongia de collagen, care conține collagen de tipul I și fală de BMP în 6-10%, însă titrele anticorpilor au fost mici și nu au influențat procesul de regenerare. În cercetările efectuate s-a constatat că BMP nu induce proliferarea celulelor tumorale, ci numai proliferarea lor în direcție osteoblastică.

Substanțele morfoinductive care influențează osteogeneza reparatorie sunt: proteina morfogenetică osoasă, factorul matricei extracelulare, factorul osteogenic intramembranic, factorul scheletic de creștere și osteonectina. VEGF stimulează angiogeneza și asigură resorbția coralului natural, folosit ca substituent osos în combinație cu acest factor de creștere. Este demonstrată corelația între gradul de vascularizare și eficacitatea regenerării osului [12].

Un alt factor de creștere care influențează osteogeneza este TGF- β – unul dintre cei mai activi factori de creștere (citokină) în matricea osoasă. El deține atât acțiune stimulatorie, cât și supresorie asupra procesului de regenerare osoasă însă aceste mecanisme nu sunt pe deplin elucidate.

Proteina osteogenetică-1 (OP-1, BMP-7) induce formarea țesutului osos *in vivo* și reglează expresia diferitelor gene. De exemplu, OP-1 reglează transcripția *insulin-like growth-binding protein-5* (IGFBP-5) în cultură primară a celulelor din craniu fetal de șobolan. Autorii au identificat două segmente responsabile (promotoare), care au un rol important în inducerea creșterii OP-1 și în reglarea IGFBP-5 și, respectiv, a genelor *aggrecan*.

Din diverse metode propuse pentru administrarea locală a factorilor de creștere, tehnicile de transfer genetic s-au dovedit a fi eficiente.

În ultimul timp are loc o dezvoltare ascendentă, accelerată a biotehnologiilor, inclusiv în medicină. Studiile aprofundate ale proceselor de regenerare a țesuturilor, încercările de a restabili funcțiile pierdute ale organelor sau înlocuirea lor au determinat apariția a noi domenii strâns legate de medicină și de biotehologii ca: ingineria tisulară, organogeneza, medicina regenerativă. Baza acestor științe noi este transplantarea, creșterea celulelor pe matrice tisulară. Unii autori consideră transplantarea locală celulară pe suport biologic drept o direcție separată în medicina regenerativă [18].

Matricea reprezintă un complex biologic sau sintetic, cu anumite caracteristici de rezistență și cu structură tridimensională, în care se pot dezvolta celulele inoculate în ea. Cerințele pentru acest tip de matrice sunt: lipsa citotoxicității, proprietățile adezive, care ar facilita instalarea, fixarea, proliferarea și diferențierea celulelor plasate pe suprafața ei. Contează mult proprietățile mecanice și corespunderea necesităților caracteristice fiecărei regiuni în care este utilizată. O altă proprietate importantă este biodegradarea, care se realizează prin căi metabolice obișnuite (fermentative sau hidroliză).

Materialele biodegradabile sintetice, datorită proprietăților care le posedă, pot obține diferite forme și structură variată – plase, spongii, pelicule etc. Plasele, de obicei, sunt folosite ca material pentru fortificare în grefe combinate (autoos spongios morcelizat, învelit în plasa biodegradabilă pentru substituția defectelor osoase), dar nu sunt utile pentru cultivarea celulelor prin lipsa unei structuri tridimensionale. Din ele se pot obține numai 2D construcții și pot fi utilizate în crearea grefelor pentru defecte ale pielii. Pentru crearea grefelor osteocondrale, se utilizează bioreactoarele în care pot fi create condiții de creștere mai apropiate de cele naturale.

Spongiile (materialele poroase) se obțin prin amestecarea polimerului cu substanțe (de exemplu, NaCl) care pot fi ulterior ușor dizolvate din spongie cu substanțe care nu acționează asupra polimerului (apa). Pot fi și alte combinații. După amestecarea polimerului cu NaCl și după polimerizarea lui, el se plasează în apă, în care are loc dizolvarea cristalelor; și polimerul capătă o structură poroasă [24].

Actualmente, există mai muți polimeri care se utilizează sau sunt cercetați ca potențiali candidați pentru a fi utilizați în biotehnologii cu diverse aspecte: PGA (*Poly(glycolic acid)*); PLLA (*Poly(L-lactic acid)*); PLDA (*Poly(D,L-lactic acid)*); PDLGA85/15 (*Poly(D,L-lactic-co-glycolic acid)*(85/15); PCL (*Poly(capro-lactone)*); *Poly(propylene fumarate)*. Fiecare dintre ele au proprietăți și biocompatibilitate diferită cu organismul, ca și perioadă de degradare în organism (de la o lună până la 24 de luni și mai mult). Actualmente, sunt mai bine cunoscuți poliesterii acidului lactic PLA și glicolic PGA, aprobați de *Food and Drug Administration* (FDA) ca materiale inofensive pentru organism și sunt recomandați pentru fabricarea construcțiilor tisulare ingineresti. Acești poliesteri sunt deja utilizați pentru producerea substituenților pielii, osului, cartilajului, tendoanelor, mușchilor striati etc.

Spongia resorbabilă de collagen (ASC *absorbable collagen sponge*) este un suport eficace pentru rhBMP-2 și grefă (INFUSE™ *bone graft*, *Medtronic Sofamor Danek*) și este admisă pentru utilizarea în spondilodeză și în fracturi tibiale recente. Deficiența spongiilor de collagen este rezistența mică la compresie, fapt ce limitează utilizarea lor în mai multe domenii chirurgicale. În acest scop a fost fabricată o matrice nouă, rezistentă la compresie CRM (*compression resistant matrix*): collagen + 15% HA; 85% TCP granule), care are o durată de resorbție mai mare și o eliberare de BMP mai lentă comparativ cu ACS [7].

Cercetătorii au utilizat spongie de collagen îmbibată în miere de albini (HC-COL) (*Honeycomb sponge*, *Koken, Japonia*), care este collagen reconstruit după prelucrare cu tripsină și conține multiple tunele drepte cu pereți semi-hexagonali, cu dimensiunile controlabile între 0,1 și 1,0 mm. HC-COL a fost tăiată în blocuri și prelucrată cu BMP *cocktail* purificat (0,5 mg BMP sau rhBMP-2 0,005 mg) și implantată în piele la șobolani. La două săptămâni a fost depistată o osteogeneză etajată concentrică acompaniată de câte un singur vas în centrul fiecărui tunel HC-COL/BMP. HAP-HC-COL, separat fără BMP, induce formarea

concentrică a țesutului fibros cu vas în centrul tunelului.

Suportul ideal pentru celule este cel biodegradabil, care are o porozitate ce permite infiltrarea celulară, servește ca o matrice osteoconducitivă pentru formarea țesutului osos, remite factorii de creștere treptat și are suficientă duritate, elasticitate ca să-și mențină forma. Au fost elaborate câteva suporturi ca hidroxiapatita, β-tricalcium fosfat și *poly-D,L-lactic-co-glycolic acid/gelatin sponge* cu astfel de proprietăți [6, 14].

Ingineria tisulară este o tehnică bazată pe dezvoltarea substituenților biologici pentru reparația, reconstrucția, regenerarea sau pentru înlocuirea țesuturilor biologice. Scopul este de a obține biomateriale care sunt biocompatibile, biodegradabile și capabile de a integra molecule ca factori de creștere sau celule. În general, țesutul care ne interesează poate fi folosit la obținerea celulelor pentru construcția țesutului bio-artificial sau în ingineria genică. Între timp, diverse ceramici, polimeri ai acizilor lactic sau glicolic, gelurile colagene și alți polimeri au fost testați *in vitro* și folosiți *in vivo* în situații experimentale [6, 16].

Medicina regenerativă contemporană presupune utilizarea grefelor compozite, multicomponente, care ar combina proprietățile mai multor grefe sau substanțe și crearea unei grefe morfoinductive pentru substituția defectelor osoase. Necesarul unui asemenea tip de material este enorm. Numai 10-20% dintre cei care necesită transplant de organ se tratează, 70-80% decedează fără a obține tratament, figurând pe lista de așteptare a transplanturilor. Este în interesul milioanelor de oameni efectuarea investigațiilor ce țin de acest domeniu [14].

Concluzii

Nu este încă elaborată o grefă care ar satisface cerințele ortopediei și ale traumatologiei în recuperarea defectelor osoase. Este la început de cale utilizarea celulelor complexului ombilicoplacentar, aproape nu se găsesc surse bibliografice care ar elucida eficacitatea utilizării acestor grefe pentru stimularea regenerării osului și a altor țesuturi. Nu este elucidată posibilitatea și eficacitatea celulelor ombilicoplacentare de a prolifera în comparație cu cele osteomedulare și posibilitatea utilizării în grefe compozite cu MOD pentru recuperarea defecelor osoase și tratamentul pseudartrozelor.

Acest articol a fost posibil de publicat prin suportul financiar acordat de proiectul instituțional 06.420.049A și grantul 117 IND; 08.819.09.01F.

Bibliografie

1. Ababii I., Nacu V., Friptu V., Ciobanu P., Nacu L., Revencu T. Ghid practic de prelevare a sângelui ombilico-placentar. Chișinău, 2008, 36 p.
2. Botez P. Tehnici avansate și biomateriale în ortopedie. Editura "Gr.T. Popa", Iași, 2008, 170 p.
3. Ciapetti G., Ambrosio L., Marletta G. et al. Human bone marrow stromal cells: In vitro expansion and differentiation for bone engineering, *Biomaterials*, 27 (2006), p. 6150-6160.
4. Ciobanu P. I. Activizarea osteogenezei repartoare prin celule osteomedulare. Dis. d. h. în med. Chișinău, 1994, 232 p.
5. De Coppi P., Bartsch G., M Minhaj Siddiqui., Tao Xu., Cesar C Santos., Laura Perin. et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy *Nature Biotechnology*, 25, 2007: 100-106.

6. Drosse I., Volkmer E., Capanna R., De Biase P., Mutschler W., Schieker M. Tissue engineering for bone defect healing: An update on a multi-component approach *Injury*, V. 39, Suppl. 2, September 2008, p. S9-S20.
7. Farge D. Les greffes. *Traité de Médecine* 4 edition, Paris, 2004, p. 3086-3145.
8. Fraser J. K., Wulur I., Alfonso Z., Hedrick M. H. Fat tissue: an underappreciated source of stem cells for biotechnology. *Trends Biotechnology*, 2006 Apr; 24(4): 150-154.
9. Fukuchi Y., Nakajima H., Sugiyama D. et al. Human placenta-derived cells have mesenchymal stem/progenitor cell potential. *STEM CELLS* 2004; 22: 649-658.
10. Gautschi O. P., Frey S. P., Zellweger R. Bone morphogenetic proteins in clinical applications, *ANZ. J. Surg.*, 77 (2007): 626-631.
11. Hak D. J. The Use of Osteoconductive Bone Graft Substitutes in Orthopaedic Trauma, *Am. Acad. Orthop. Surg.*, Vol. 15, No. 9, September 2007, p. 525-536.
12. Kanczler J. M., Oreffo R. O. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone, *Eur. Cell. Mater.*, 15 (2008): 100-114.
13. Malaval L., Wade-Guéye M. N., Boudiffa M., Jia Fei., Ralph Zirngibl., Frieda Chen., Laroche N., Roux J.-P. et al. Bone sialoprotein plays a functional role in bone formation and osteoclastogenesis *The Journal of Experimental Medicine*, 2008, Vol. 205, N. 5, p. 1145-1153.
14. Mutschler G. F., Nakamoto C., Griffith L. G. Engineering principles of clinical cell-based tissue engineering. *J. Bone. Joint. Surg. Am.*, 2004; 86: 1541-1558.
- 15) Nacu V. Composite morphoinductive grafts in healing of the experimental defect in short bones. *J. Morphology.*, Vol. 129: 4: 2006: 89-90.
16. Nacu V. Recuperarea defectului de dimensiune critică al osului parietal la iepure prin grefe compozite. *Curierul medical*, 2008, nr. 6, p. 66-72.
17. Popescu Negreanu T. Utilizarea bioceramicilor și materialelor compozite pe bază de biovitroceramică și collagen în ortopedie. *Revista de ortopedie și traumatologie* Vol. 11, 2001, nr. 1-2. p. 3 - 13.
18. Stangenberg L., Schaefer D. J., Buettner O. et al. Differentiation of osteoblasts in three-dimensional culture in processed cancellous bone matrix: quantitative analysis of gene expression based on realtime reverse transcription-polymerase chain reaction, *Tissue Eng.*, 11 (2005): 855-864.
19. Verega G. The lateral brachial osteofasciocutaneous flap: a new variant of distal migration. *Romanian Journal of Hand and Reconstructive Microsurgery*, vol. 7, no. 3- 4, a. 2002, p. 9-19.
20. Берсенев А. Б. Клеточная трансплантология – история, современное состояние и перспективы. *Журнал Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*; 2005, № 2, с. 56-61.
21. Владимирская Е. Б., Майорова О. А., Румянцев С. А., Румянцев А. Г. Биологические основы и перспективы терапии стволовыми клетками, ИД Медпрактика-М., М. 2005, 392 с.
22. Лаврищева Г. И., Карпов С. П., Бачу И. С. Регенерация и кровоснабжение кости. Кишинев, Штиинца, 1981.
23. Марин И. М. Хирургическое лечение доброкачественных опухолей костей. Кишинев “Штиинца”, 1981, 191 с.
24. Топор Б. М. Комбинированные пластические материалы из костного матрикса и эмбриональных тканей. *Дис. д-ра хаб. мед. наук*. М. 1991, 354 с.

Viorel Nacu, dr., conferențiar
Catedra Chirurgie operatorie și Anatomie topografică
USMF „Nicolae Testemițanu”
Chișinău, Ștefan cel Mare, 192
Tel.: 205242
E-mail: nacu_viorel@yahoo.com

Recepționat 25.05.2009

Limfangiogeneza normală și tumorală

L. Șaptefrăți

Catedra Histologie, Citologie și Embriologie, USMF „Nicolae Testemițanu”

Normal and Tumoral Lymphangiogenesis

In many malignant tumours the lymphatic system represents the main path for metastatic dissemination of the tumor cells in the lymph nodes. As is well known, the status of the lymph nodes is the prognostic factor in numerous human tumors and has great importance in establishing of the therapeutic strategy. Nevertheless, recent scientific data about lymphatic metastases, especially in the early stages of the tumoral proliferation, is insufficient. It is known that metastases of the tumour cells involve blood and lymphatic vascular systems. Tumoral cells influence these systems via secretion of growth factors necessary for formation of certain vascular networks which may facilitate the spread of metastasis. It is not yet clear, however, whether tumor cells invade the existent peripheral lymphatic vessels or invade the newly-created vessels which are formed during tumoral lymphangiogenesis. This is due to the later introduction of specific markers for lymphatic endothelium, insufficient knowledge of the factors which are implicated in the lymphangiogenesis, and the absence of experimental models which can permit the quantitative evaluation of metastases in the lymph nodes. Molecular control of the tumoral lymphangiogenesis and knowledge of the mechanism of lymphatic tumoral metastasis will offer new therapeutic tactics in treating human cancer. The aim of the study was the critical analysis of the literature regarding the structure, functions, and development of lymphatic vessels and their importance in tumoral pathology. Current understanding of the roles of lymphangiogenic factors, the mechanism of lymphatic metastases, and the inhibited therapeutic opportunity of lymphangiogenesis will also be presented.

Key words: lymphatic endothelial cell, lymphangiogenesis, cancer.

Нормальный и опухолевый лимфангиогенез

Лимфатические сосуды представляют собой главный путь метастатической диссеминации опухолевых клеток в региональные лимфатические узлы. Состояние лимфатических узлов является хорошо известным фактором прогноза онкологических заболеваний и имеет решающее значение при выборе тактики лечения. Тем не менее в современной научной литературе недостаточно данных, проливающих свет на процесс лимфатического метастазирования, особенно на ранних стадиях его развития. Диссеминация опухолевых клеток через кровеносное и лимфатическое русла на сегодняшний день является общепризнанным фактом. Злокачественные клетки