



UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA

Catedra de Anatomie topografică și chirurgie operatorie
Laboratorul Inginerie tisulară și culturi celulare
USMF „Nicolae Testemițanu”

LECTURI AGEPI 2022

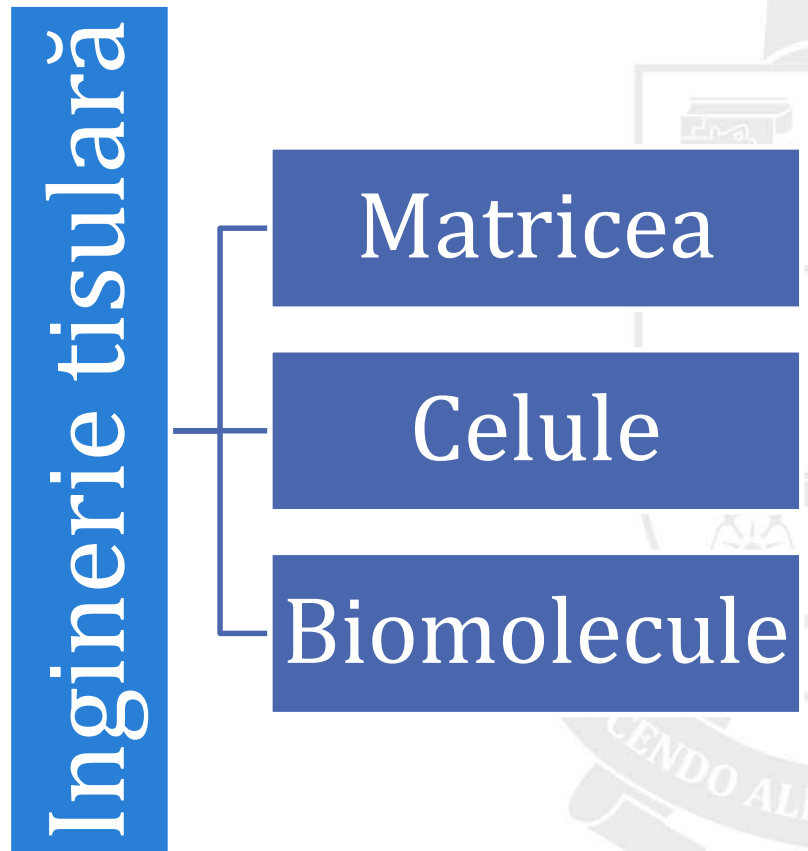
DISPOZITIVE ȘI METODE BREVETATE CU UTILIZARE ÎN INGINERIA TISULARĂ

Autori: Mariana Jian , cercetător științific, Vitalie Cobzac, cercetător științific, Viorel Nacu, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, șef laborator de Inginerie tisulară și culturi celulare al USMF „Nicolae Testemițanu”



ACTUALITATEA

Termenul de inginerie tisulară în cadrul conferinței de bioinginerie, National Science Foundation, 1987, Washington.





ACTUALITATEA

Aplicație terapeutică

- Crearea de țesut (os cartilaj, mușchi, vase sanguine, piele) sau organe (inimă, rinichi, vezică urinară, pancreas) care sunt crescute *in vivo* sau *in vitro* și ulterior transplantate.

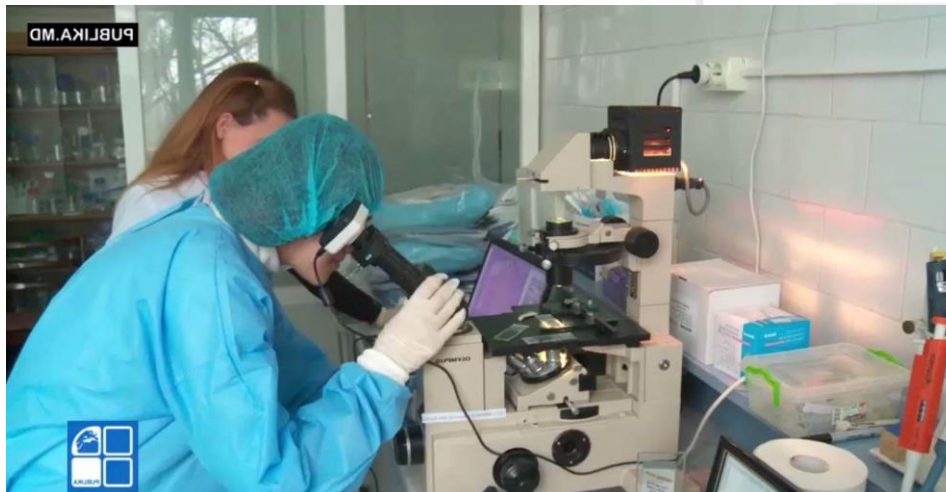
Aplicație diagnostică

- Țesutul, organul este crescut *in vitro* și este utilizat pentru testarea toxicității și patogenității unor substanțe medicamentoase, chimice.



Laboratorul de Inginerie tisulară și culturi celulare

- Fondat în 2007, șef laborator profesorul universitar, Viorel Nacu





MATERIALE ȘI METODE

Ficat

Țesut cartilaginos

Fibroblaste

Spongii de colagen din tendon Ahile de bovină

Metode de reticulare a biomaterialelor

De obținere a celulelor și grefelor pentru transplantare



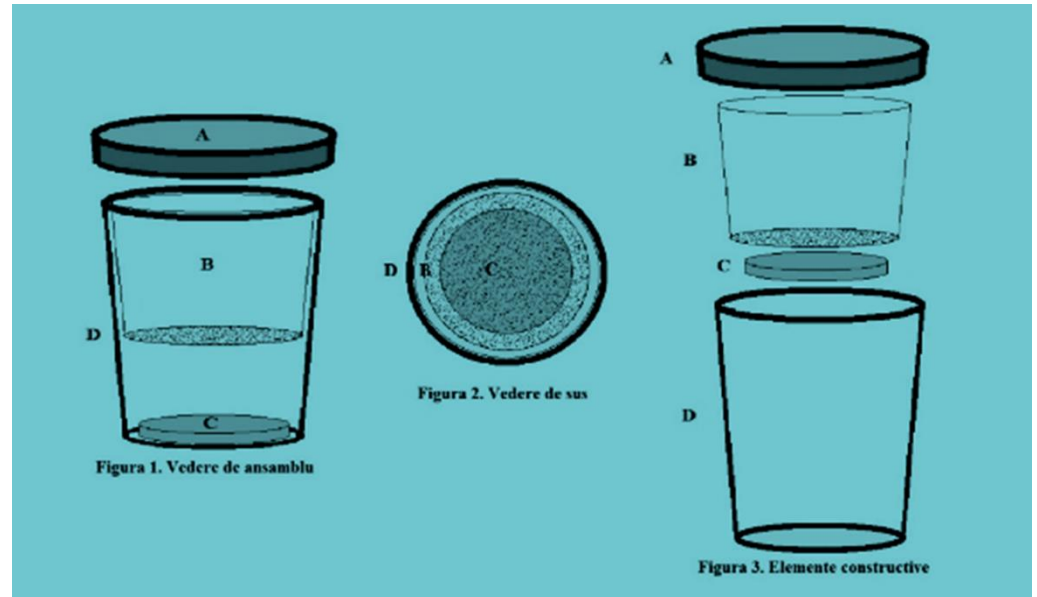
Dispozitiv pentru reticularea spongiei de collagen cu vapori de glutaraldehidă – BI SD MD 1137



Spongie nereticulată



Spongie reticulată



Dispozitiv pentru reticularea spongiei de collagen cu vapori de glutaraldehidă. (A) – capac, (B) - plasă perforată situată la 3 cm de la baza containerului, cu orificii de diametru 0,5 mm, (C) - burete din poliuretanic îmbibat cu glutaraldehidă, (D) - container.



Metodă de obținere a spongiei de colagen - BI SD MD 1169

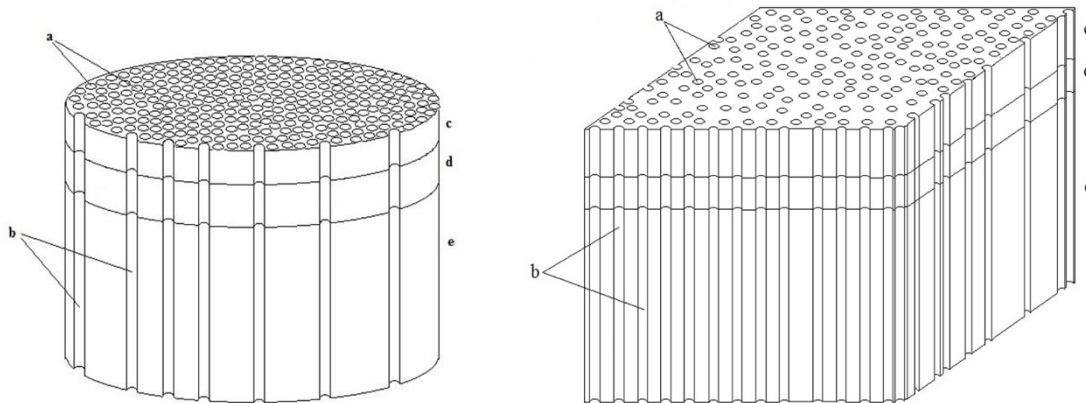


Metoda dată permite crearea unei spongii din colagen de un diametru, formă și grosime dorită, dar și permite detașarea spongiei de suportul utilizat după finalizarea liofilizării fără a o deteriora

Metodă de obținere a spongiei de colagen, care constă în aceea că se toarnă soluție de colagen într-un cilindru închis etanș la un capăt cu un capac acoperit din interior cu o folie de staniol, după care cilindrul cu soluția de colagen se amplasează în camera vidată a unui liofilizator și se congelează la temperatura de -60°C , timp de 30 - 40 min, apoi se extrage din liofilizator pentru 20 - 40 s, se întoarce cilindrul cu colagenul în sus, se scoate capacul și se înlătură folia de staniol, după care cilindrul se amplasează repetat în camera vidată a liofilizatorului pentru 24 - 30 ore.



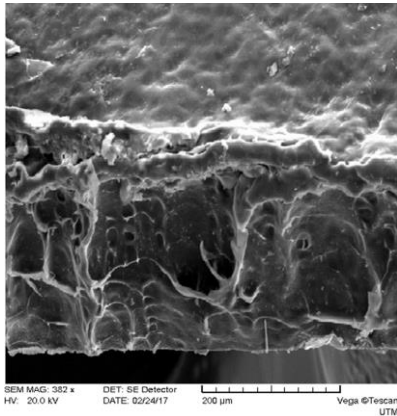
Grefă pentru restabilirea defectului osteocondral - BI SD MD 1177



Reprezentarea schematică a grefei osteocondrale demineralizate-decelularizate perforate (GODDP): a – orificiile perforate de pe suprafața cartilajului; b – canalele paralele care străbat grefa în toată lungimea; c – cartilajul articular decelularizat; d – osul subcondral demineralizat; e – os spongios demineralizat.



GODDP de tip cilindru



SEM a țesutului osteocondral demineralizat și decelularizat



Transplantarea GODDP îmbibată cu celule stem mezenchimale într-un defect osteocondral experimental la iepure.



Umplerea defectului osteocondral cu țesut regenerat la termen de 12 săptămâni.



Metodă de izolare a culturilor celulare - BI SD MD 1584

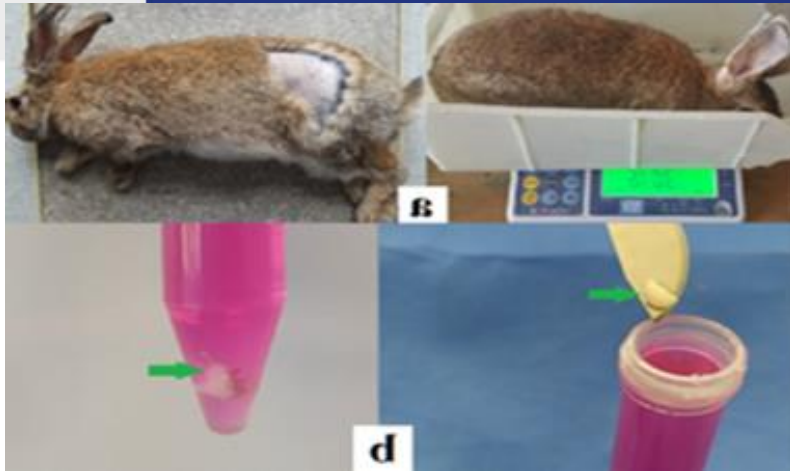


Fig.1 Anesthesia (a) and harvesting of small piece of derma (green arrow) from rabbit (b).

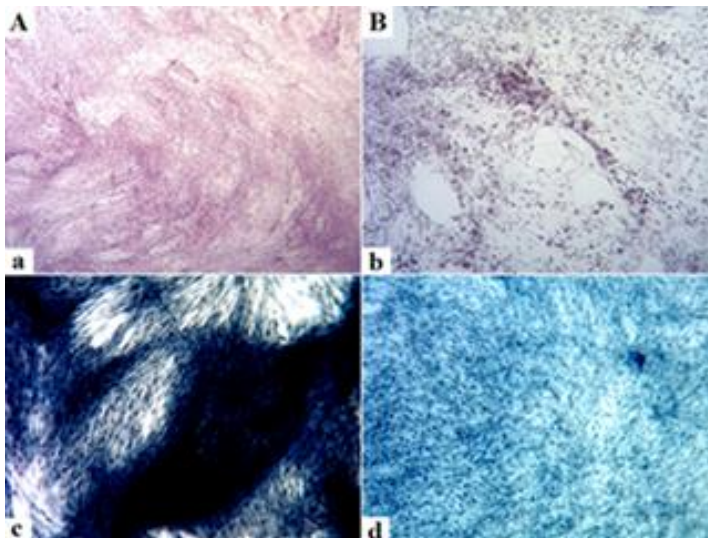


Fig. 3. Fibroblasts identification of isolated cells (A) cultured in over confluence for 21 days, MSC used as control (B). The isolated cells are stained in red with Hematoxylin-Eosin (a) and deep blue by Masson Trichrome (c). The specific staining of control is absent (b and d).

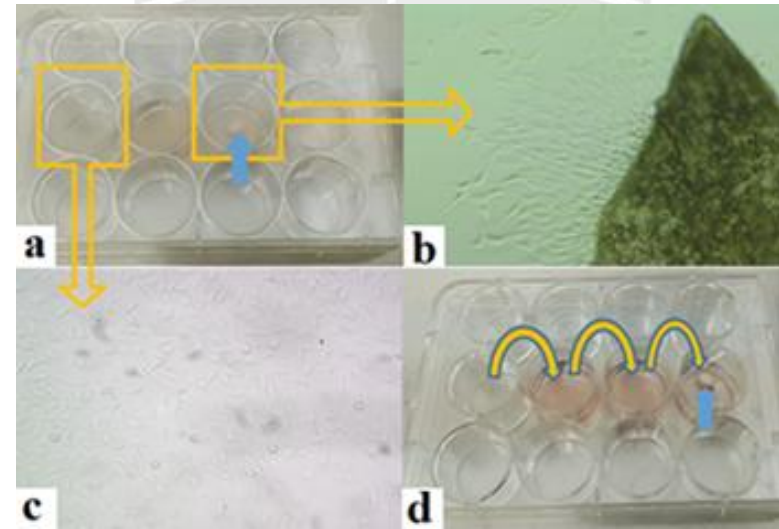
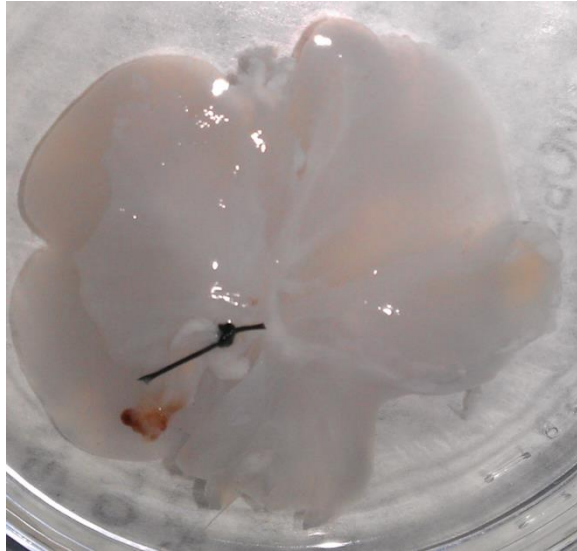


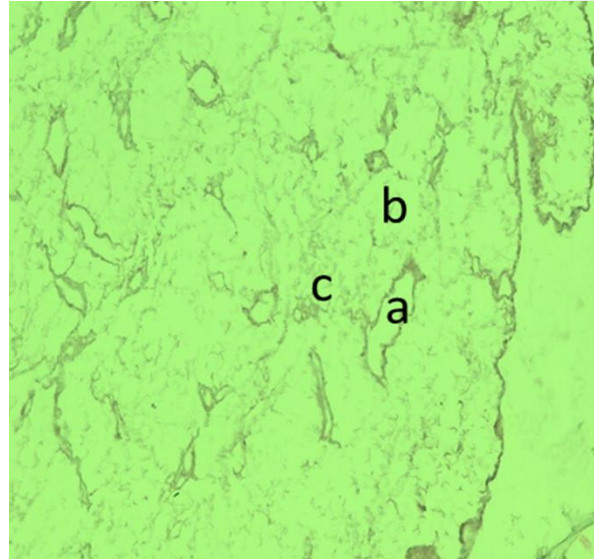
Fig. 2. Explant (blue arrow) transfer from a well of 12 well plate to another (yellow inflected arrow) during fibroblast isolation by cycles of volumetric regulation. The explant adherence in 3rd cycle of volumetric regulation for fibroblast isolation (a), the adhered explant and the fibroblasts migrated from it (b), 70-80% cellular confluency after explant extraction, (d) initiation of 4th cycle for fibroblasts isolation



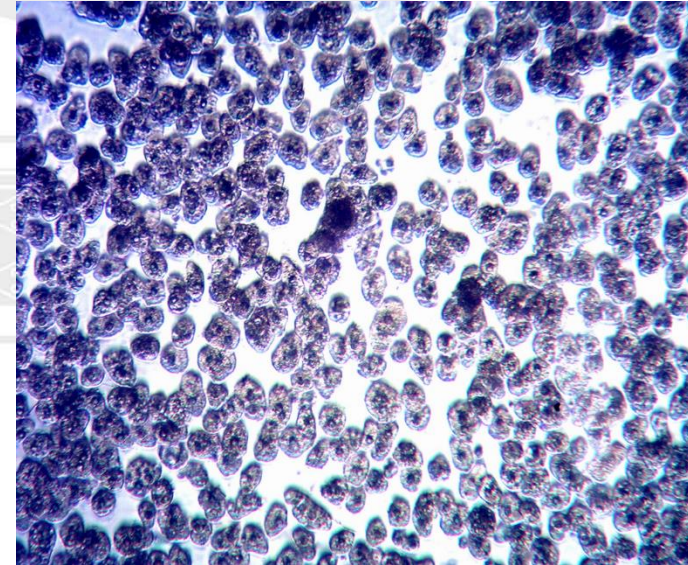
Metodă de prelucrare a matricei decelularizate a ficatului pentru sporirea adeziunii celulare - BI SD MD 1171



Matrice hepatică decelularizată



Ficat decelularizat. Vena centrolobulară cu contur subțiat cu fibrele conjunctive conturate (a), carcasa triadei hepatice subțiate (b), arhitectonica conjunctivă păstrată (c). H-E x 90.



Hepatocite viabile la a 3 zi de la izolare utilizate pentru popularea matricei hepatice decelularizate



Dispozitiv pentru separarea pastei osoase demineralizate - BI SD MD 1582

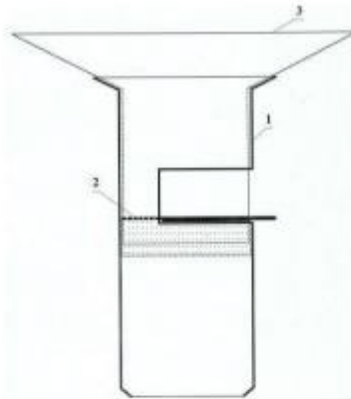


Fig. 1

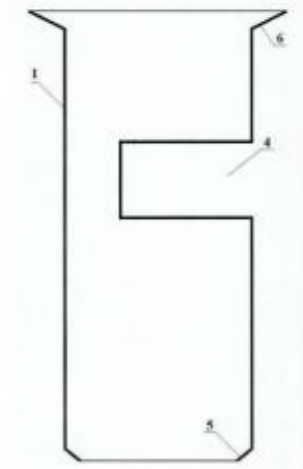


Fig. 2

Dispozitivul poate fi utilizat cu siguranță în condiții sterile, prezintă o eficiență înaltă în păstrarea unui volum important de pastă osoasă în timpul schimbării lichidelor pentru procesare, iar construcția sa simplă îl face ușor în utilizare.

Dispozitivul pentru separarea pastei osoase demineralizate constă dintr-un tub, un capăt al căruia este executat în formă de con trunchiat, iar capătul opus - în formă de pâlnie.



Concluzii

Dispozitivele și metodele brevetate pentru utilizare în ingineria tisulară au fost concepute pentru obținerea rezultatelor calitative și veridice și prezintă o serie de avantaje precum sunt:

1. Eficiența înaltă în păstrarea unui volum important de pastă osoasă în timpul schimbării lichidelor pentru procesare,
2. Izolarea mai rapidă, mai ieftină și mai sigură a tipului de celulele dorit prin metoda de explant.
3. Risc minim de rejet datorită cartilajului decelularizat a grefei ce poate fi alo- sau xenogenă, cu capacitate rapidă de integrare în țesutul-gazdă.
4. Ameliorarea și majorarea vitezei procesului de recelularizare a ficatului prin sporirea adeziunii matricei extracelulare hepatice.
5. Eficientă, siguranță, economie și lejeritate în implementare cu posibilitatea unei liofilizări mai rapide și uniforme a soluției de colagen, obținerea unei forme și dimensiuni dorite de spongie din colagen, dar și păstrarea integrității acesteia la detașare.



Mulțumesc pentru atenție !

