

# Aplicațiile clinice ale celulelor stem (terapia celulară)

**Dr.h.m., profesor  
Viorel Nacu**

# Potential uses of **Stem cells**



Stroke  
Traumatic brain injury  
Learning defects  
Alzheimer's disease  
Parkinson's disease

Stroke

Traumatic brain injury

Learning defects

Alzheimer's disease

Parkinson's disease

Missing teeth

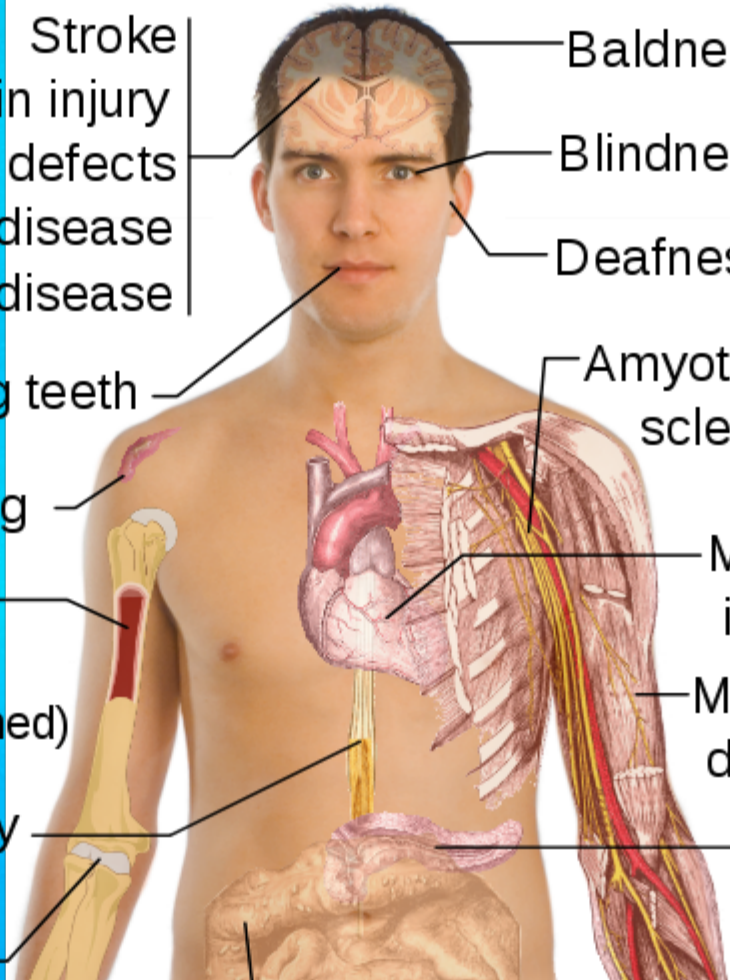
Wound healing

Bone marrow  
transplantation  
(currently established)

Spinal cord injury

Osteoarthritis

Rheumatoid arthritis



Baldness

Blindness

Deafness

Amyotrophic lateral-  
sclerosis

Myocardial  
infarction

Muscular  
dystrophy

Diabetes

Crohn's disease

**Chelia**

**Orbire**

**Surditate**

Multiple sites:

Cancers



# Piața ingineriei tisulare și terapiei celulare in Japan

## Cell therapy market in Japan

50-60 million US\$

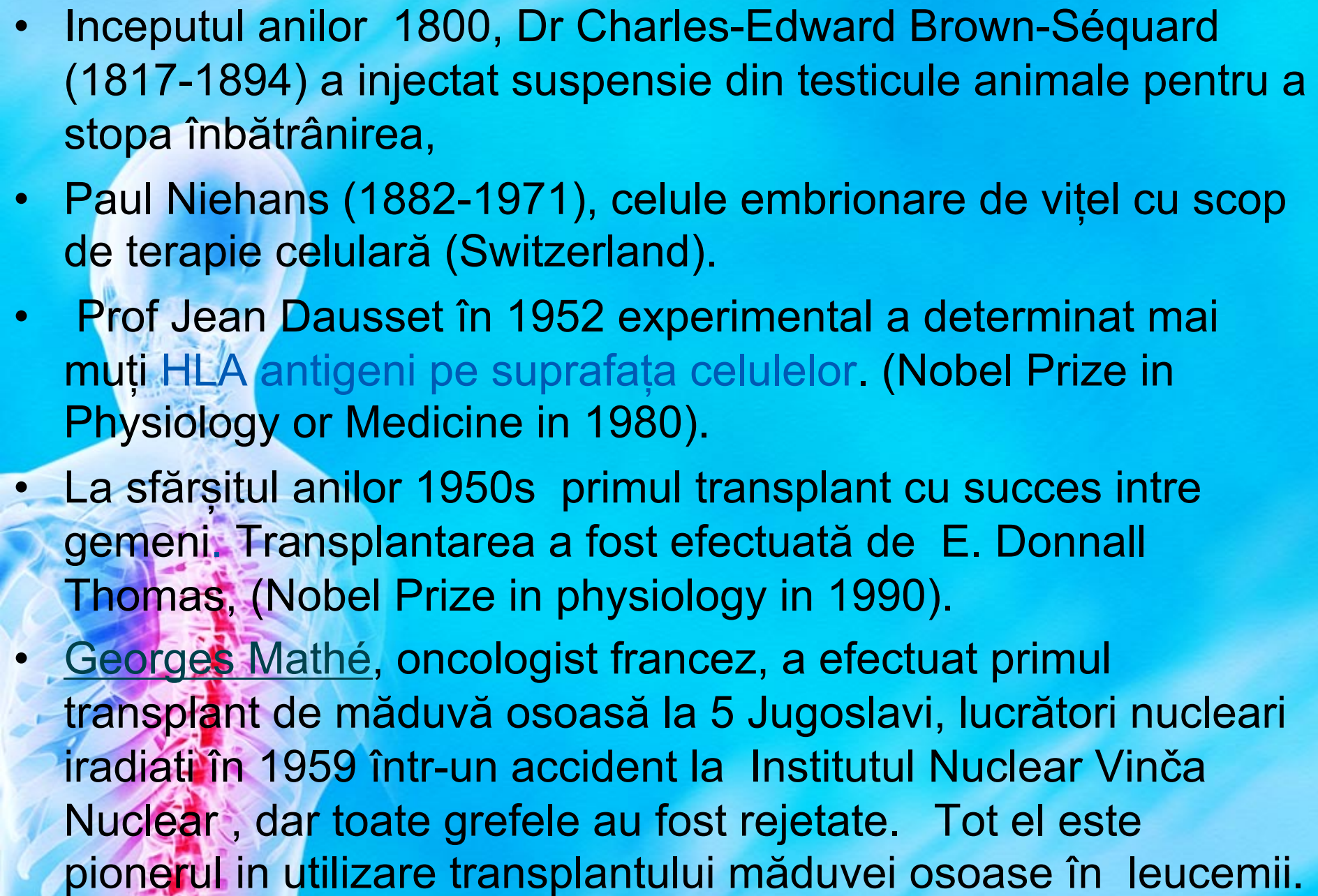
PBSC (peripheral blood stem cell) transplantation.

- Tissue engineering

Market, Research Institute, Company in Japan

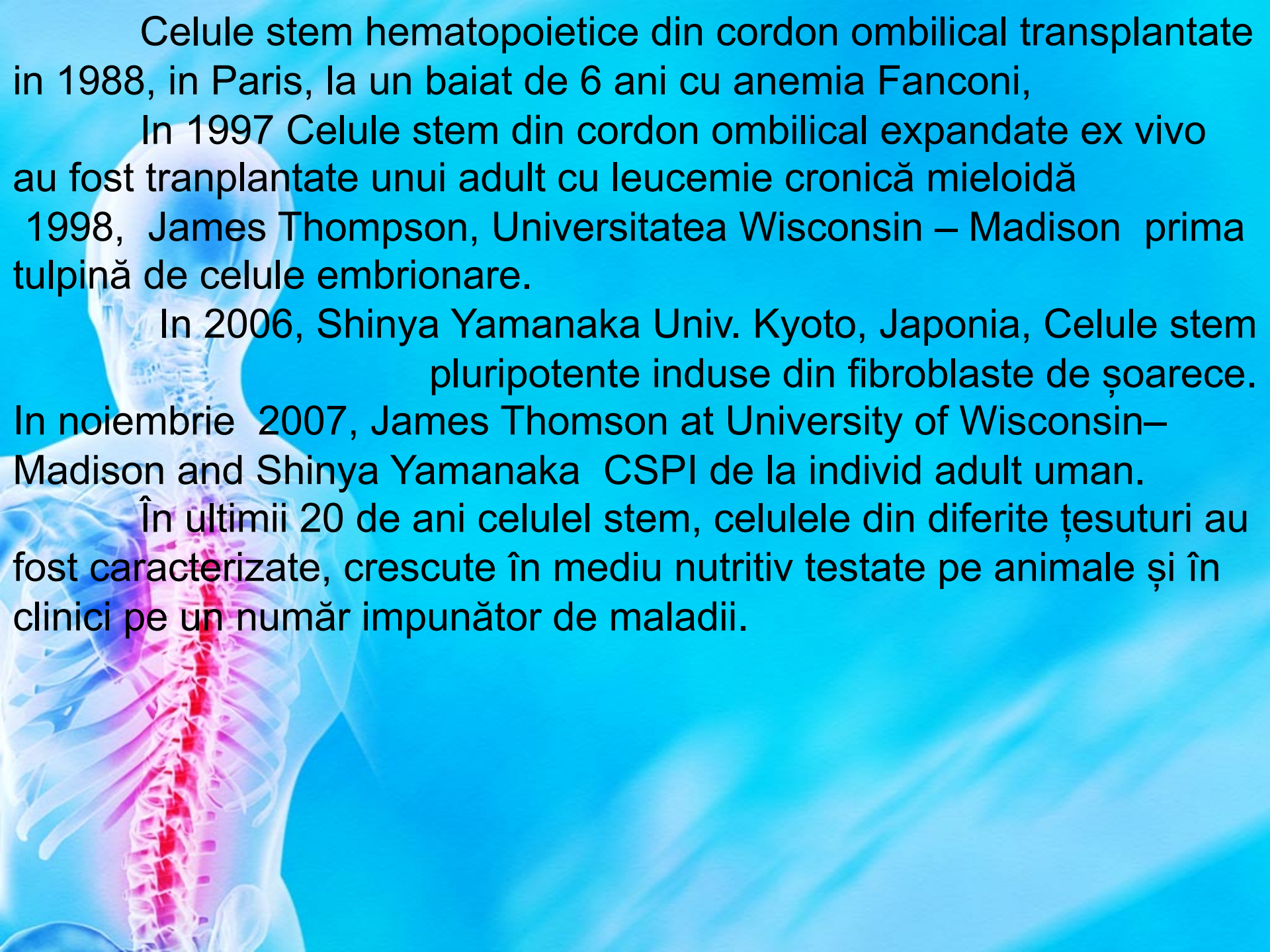
Market Start year 2002

3000 million US\$ (2010)

- 
- Inceputul anilor 1800, Dr Charles-Edward Brown-Séguard (1817-1894) a injectat suspensie din testicule animale pentru a stopa îmbătrânirea,
  - Paul Niehans (1882-1971), celule embrionare de vițel cu scop de terapie celulară (Switzerland).
  - Prof Jean Dausset în 1952 experimental a determinat mai muți **HLA antigeni pe suprafața celulelor**. (Nobel Prize in Physiology or Medicine in 1980).
  - La sfârșitul anilor 1950s primul transplant cu succes între gemeni. Transplantarea a fost efectuată de E. Donnall Thomas, (Nobel Prize in physiology in 1990).
  - Georges Mathé, oncologist francez, a efectuat primul transplant de măduvă osoasă la 5 Jugoslavi, lucrători nucleari iradiati în 1959 într-un accident la Institutul Nuclear Vinča Nuclear , dar toate grefele au fost rejetate. Tot el este pionerul in utilizare transplantului măduvei osoase în leucemii.

- In 1968, in Minnesota, primul transplant reușit de măduvă osoasă alogenă, urmat alt transplant de măduvă osoasă alogenă în 1973, când un băiat cu imunodeficiență a congenitală care a primit o grefă de la o Bancă din Danemarca.





Celule stem hematopoietice din cordon ombilical transplantate in 1988, in Paris, la un baiat de 6 ani cu anemia Fanconi,

In 1997 Celule stem din cordon ombilical expandate ex vivo au fost transplantate unui adult cu leucemie cronică mieloidă

1998, James Thomson, Universitatea Wisconsin – Madison prima tulpină de celule embrionare.

In 2006, Shinya Yamanaka Univ. Kyoto, Japonia, Celule stem pluripotente induse din fibroblaste de șoarece.

In noiembrie 2007, James Thomson at University of Wisconsin–Madison and Shinya Yamanaka CSPI de la individ adult uman.

În ultimii 20 de ani celulele stem, celulele din diferite țesuturi au fost caracterizate, crescute în mediu nutritiv testate pe animale și în clinici pe un număr impunător de maladii.



- **Terapia noului mileniu - stimularea pe cale naturala a celulelor stem adulte**

Cercetarea in domeniul utilizarii terapeutice a celulelor stem adulte are un trecut de aproximativ 3 decenii. In 1978 E. Donall Thomas si colaboratorii sai au introdus intravenos celule stem extrase din maduva osoasa, la pacienti cu leucemie. Pentru aceasta descoperire epocala au primit Premiul Nobel.

**Dr. Alexandra Bardas** Terapia noului mileniu - stimularea pe cale naturala a celulelor stem adulte., **REVISTA MEDICALĂ ROMÂNĂ – AN 2009, VOL. LVI, NR. 2, p.**



- Terapia celulară reprezintă știința despre transplantarea celulelor în organismul bolnav cu scop de tratament.





## **Trialuri clinice**

- **Maladii cardiace**
- **Diabetul**
- **Scleroza multiplă**
- **Distrofie musculară**
- **Maladia Parkinson**
- **Leziuni ale măduvei osoase**
- **Ictusul**

# Sursele pentru terapia celulară

Cell Therapy: sources

- **Celulele stromale din măduvă osoasă** (Marrow stromal cells)
- **Celule multipotente progenitoare** Multipotent adult progenitor cells (MAPC)
- **Celule stem ombilicale** Human umbilical cord stem cells
- **Celule stem hematopoietice** Hematopoietic stem cells
- **Celule stem neurale** Neural stem cells
- **Celule stem embrionare** Embryonic stem cells
- **Transplantare nucleară celule stem embrionare** Nuclear transplantation/embryonic stem cells

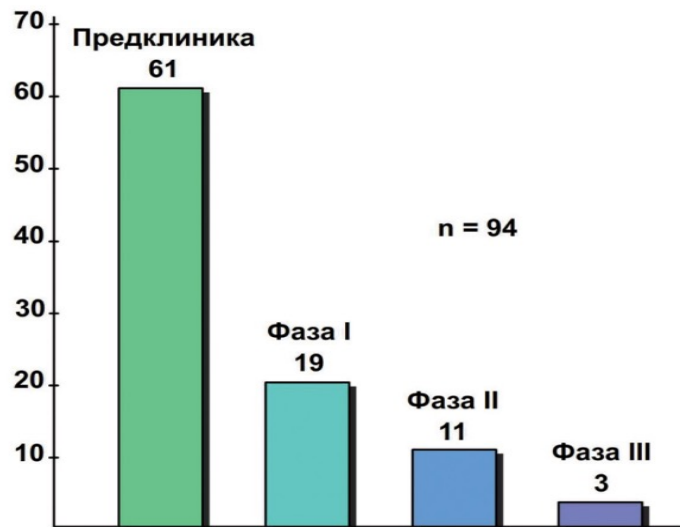


# Acțiunea celulelor stem:

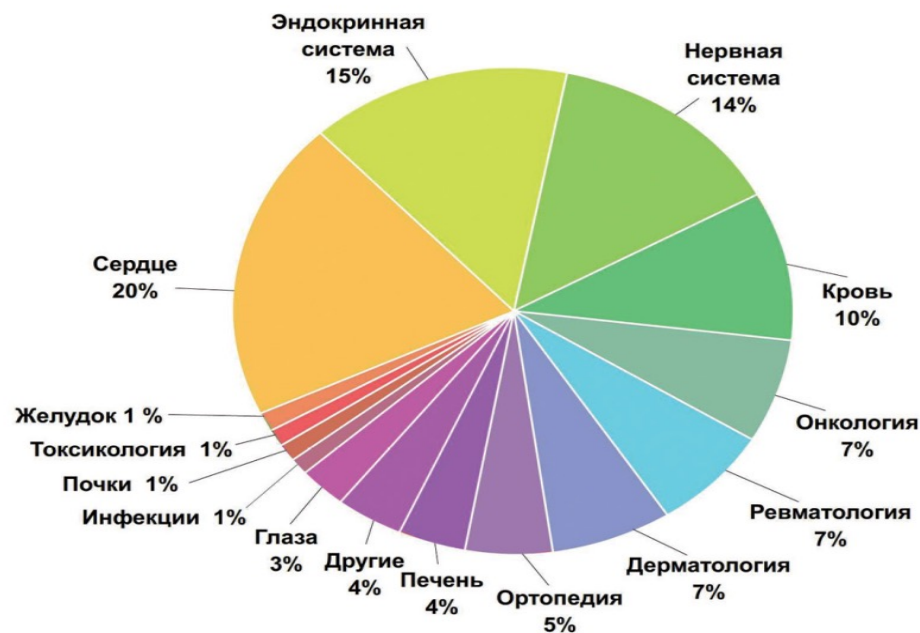
- Antiinflamator;
- Imunomodulator;
- Efect angiogenic, ameliorează vascularizarea;
- Stimulează regenerarea celulelor;
- Înlocuiește țesutul afectat.



Распределение по стадии разработки:

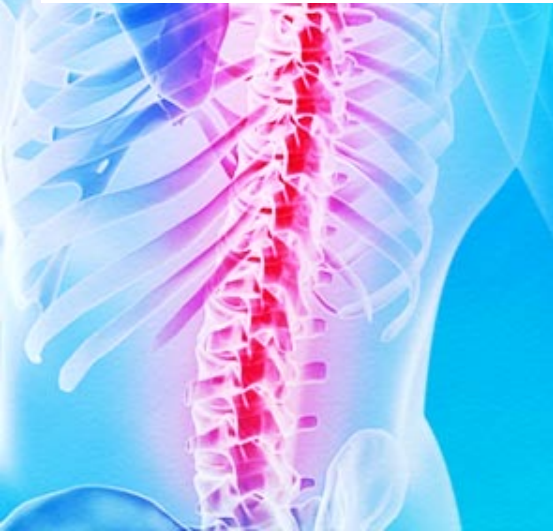
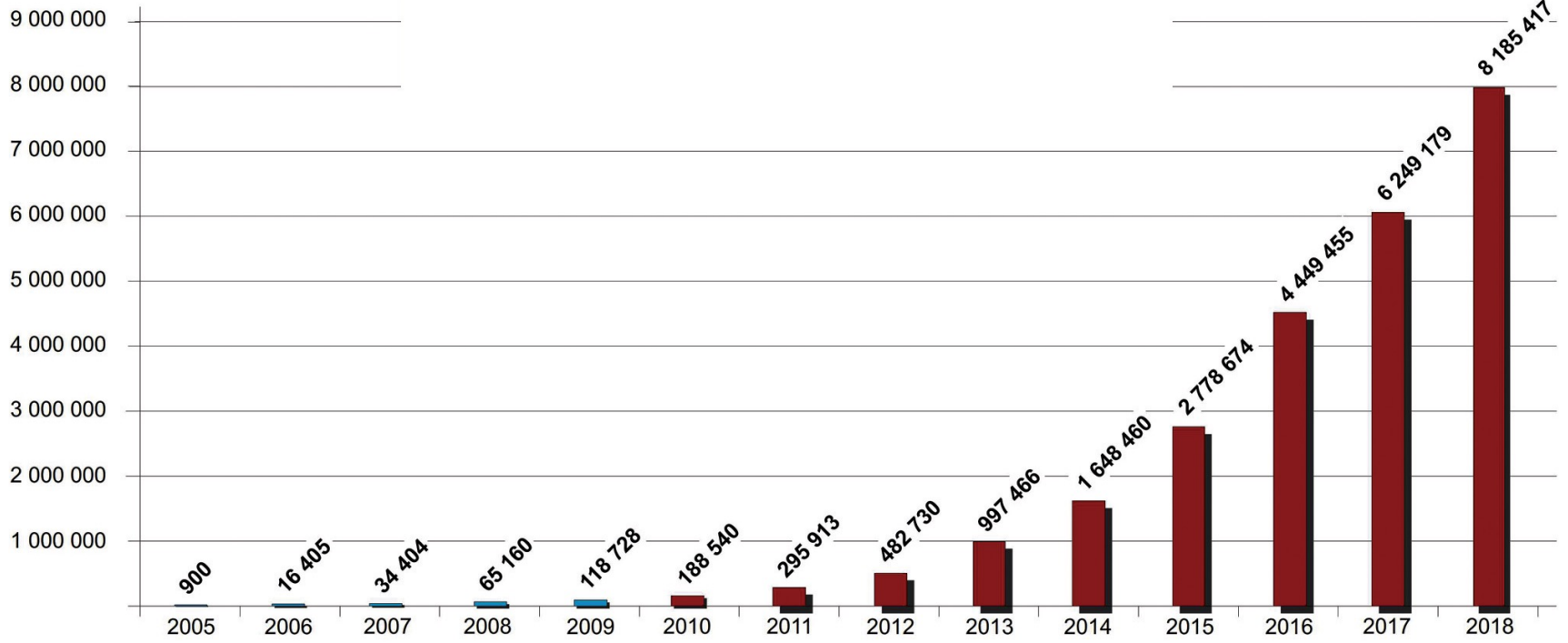


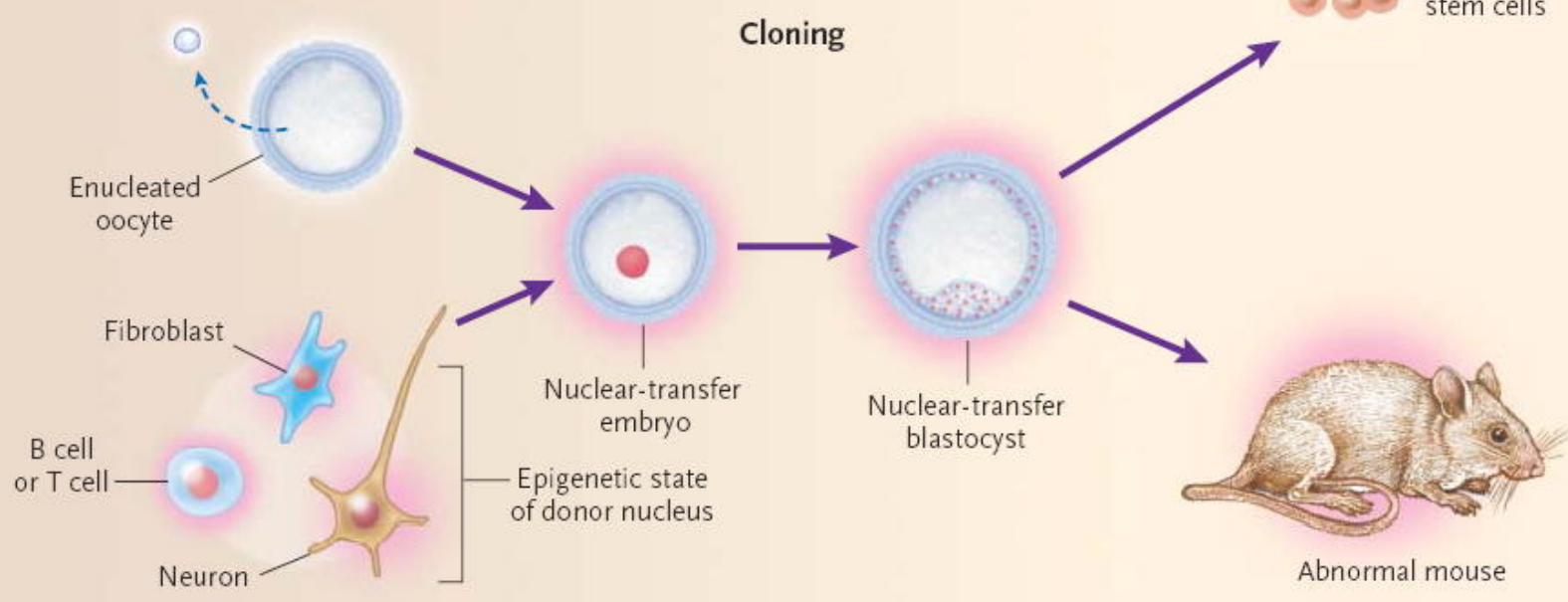
Распределение по областям клинического применения:

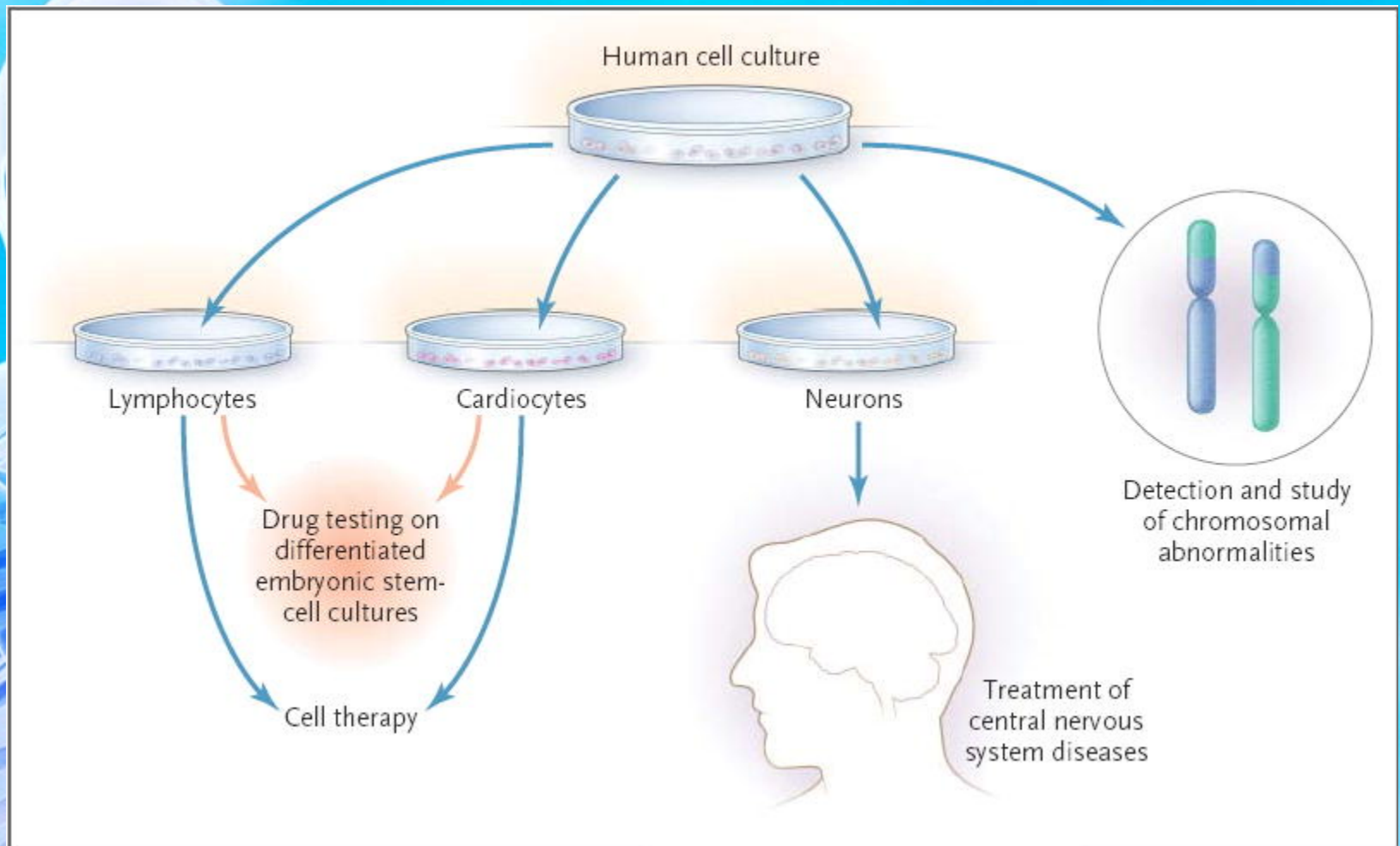


Распределение по компаниям:

Компания	Количество разработок	Компания	Количество разработок
Geron	6	Osiris	2
Living Cell	4	ReNeuron	2
Isolagen	3	Saneron	2
Bioheart	2	Sangamo	2
Cellerant	2	StemCells	2
Cellmed	2	TiGenix	2
Freserius	2	Другие	47
Gamida	2		







NEJM 2003;349:272

# Probleme cu celulele stem embrionare

Problems with embryonic

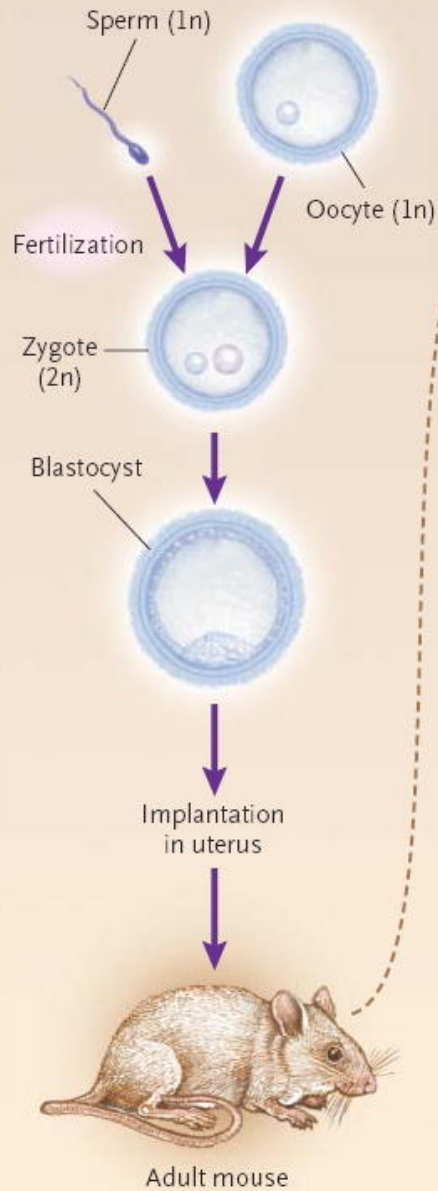
stem cells

- **Rejetul grefei** Rejection (seen as foreign by host)
- **Formează teratome** Form teratomas

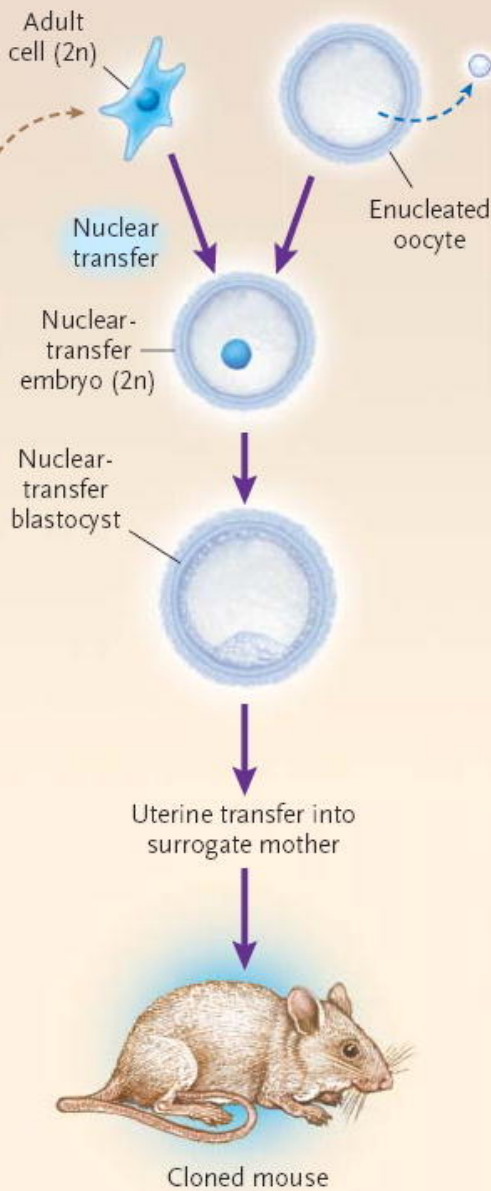




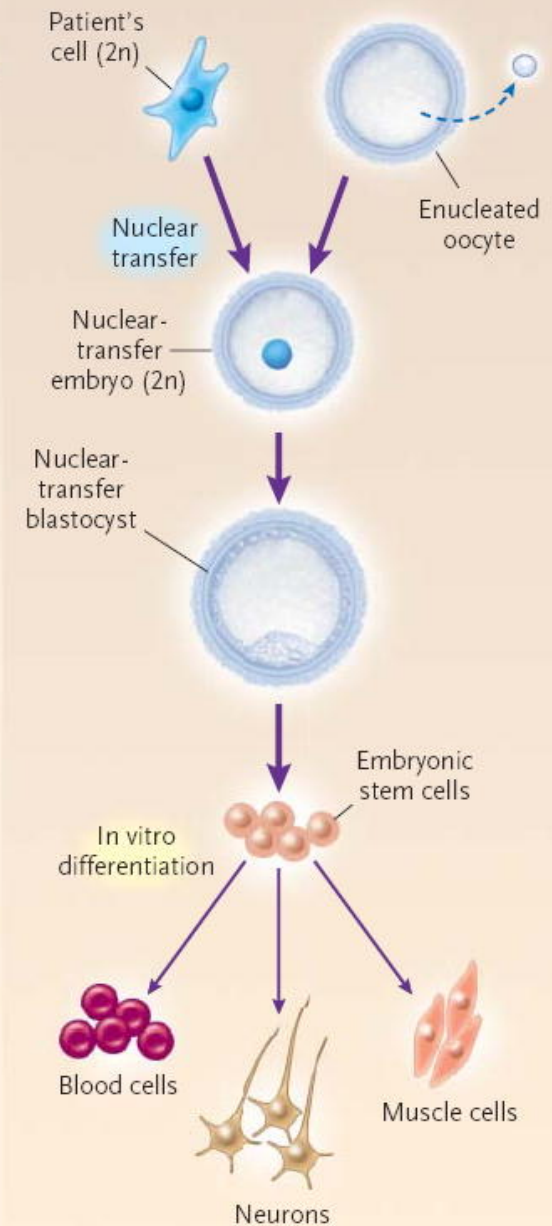
**A Normal Development**



**B Reproductive Cloning**



**C Therapeutic Cloning**

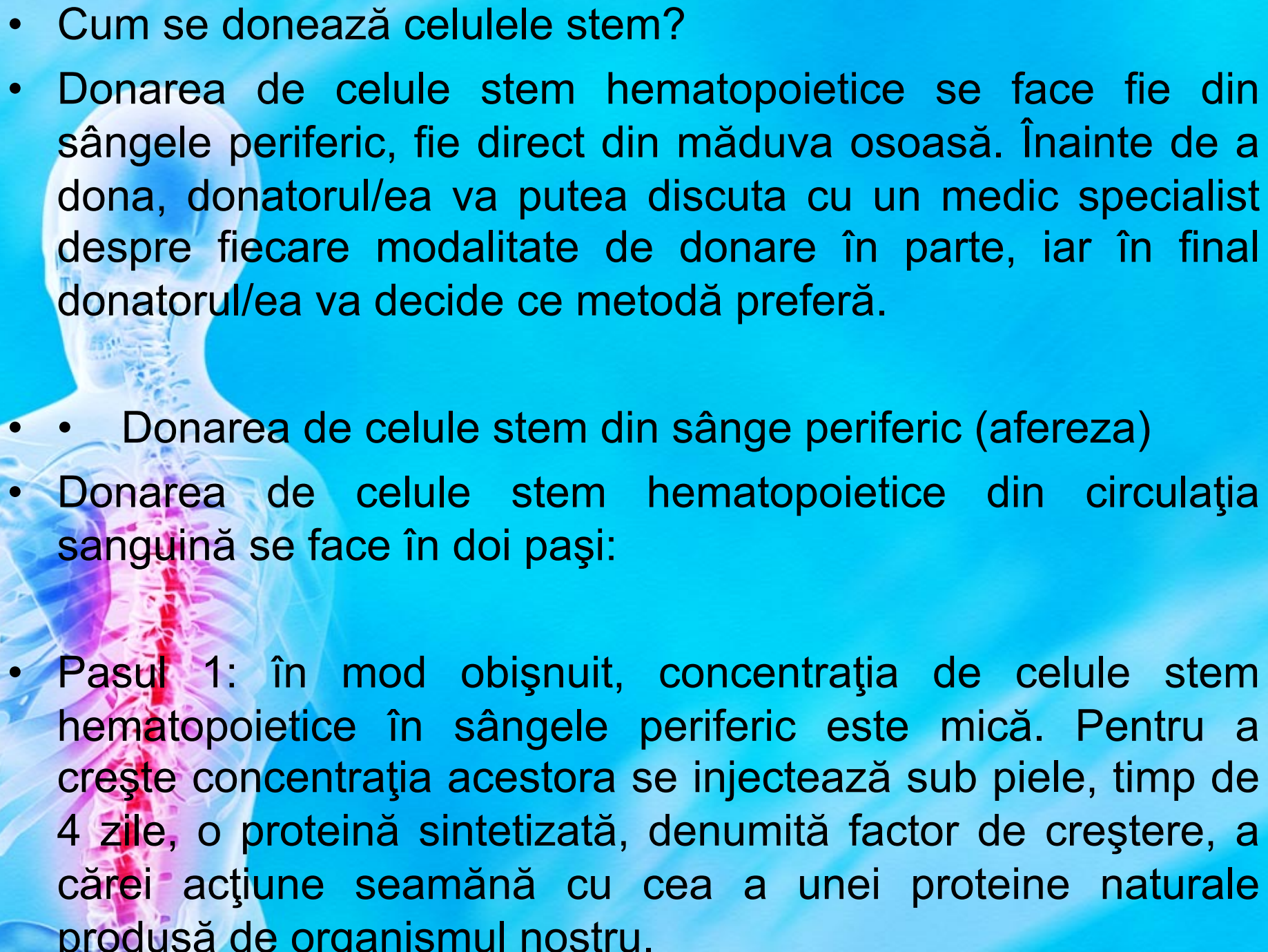




# Celulele multipotente progenitoare adulte

Multipotent adult progenitor cells

- Izolate din măduva osoasă Isolated from human bone marrow
- O subpopulație a celulelor din măduvă osoasă A subpopulation of marrow stromal cells
- Se diferenciază orice tip de celulă *in vitro* și *in vivo*. Differentiate into virtually every cell type *in vitro* and *in vivo*
- Toate atributele celulelor stem embrionare. All the positive attributes of embryonic stem cells
- Nu formează teratome Do not form teratomas

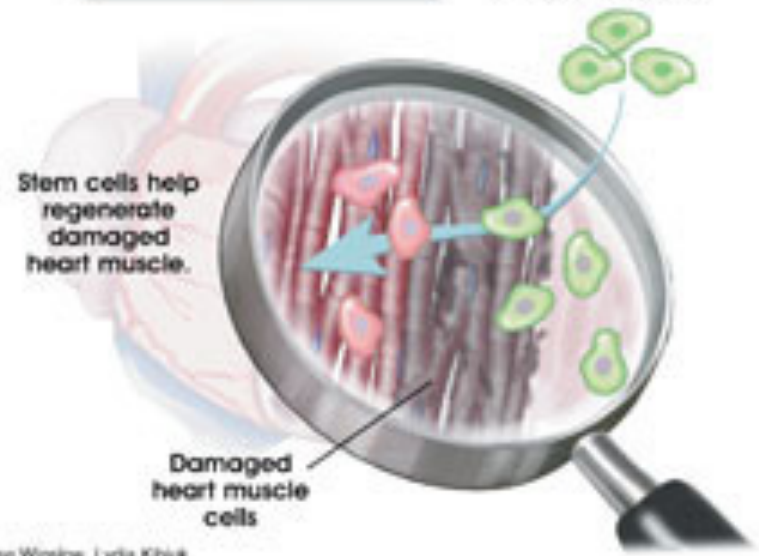
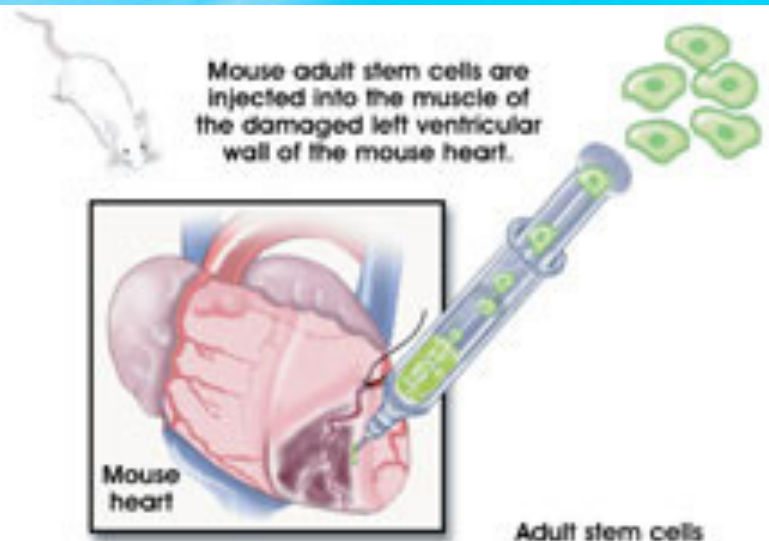
- 
- Cum se donează celulele stem?
  - Donarea de celule stem hematopoietice se face fie din sângele periferic, fie direct din măduva osoasă. Înainte de a dona, donatorul/ea va putea discuta cu un medic specialist despre fiecare modalitate de donare în parte, iar în final donatorul/ea va decide ce metodă preferă.
  - Donarea de celule stem din sânge periferic (afereza)
  - Donarea de celule stem hematopoietice din circulația sanguină se face în doi pași:
    - Pasul 1: în mod obișnuit, concentrația de celule stem hematopoietice în sângele periferic este mică. Pentru a crește concentrația acestora se injectează sub piele, timp de 4 zile, o proteină sintetizată, denumită factor de creștere, a cărei acțiune seamănă cu cea a unei proteine naturale produsă de organismul nostru.

# Surse de celule stem hematopoietice

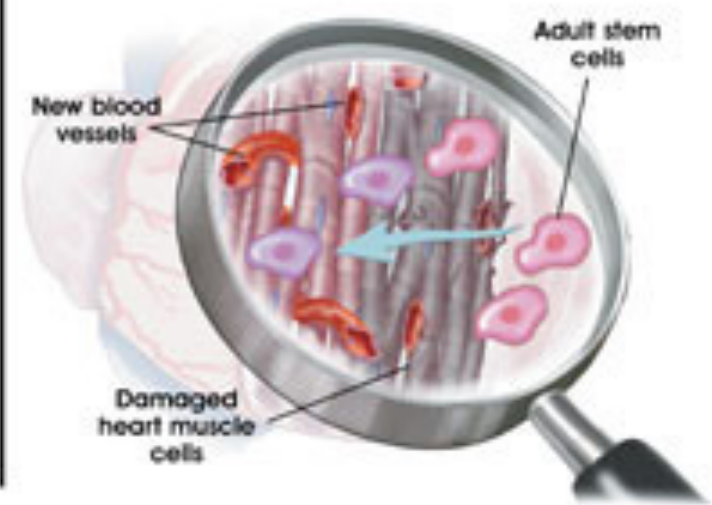
Bone marrow/blood sources of stem cells



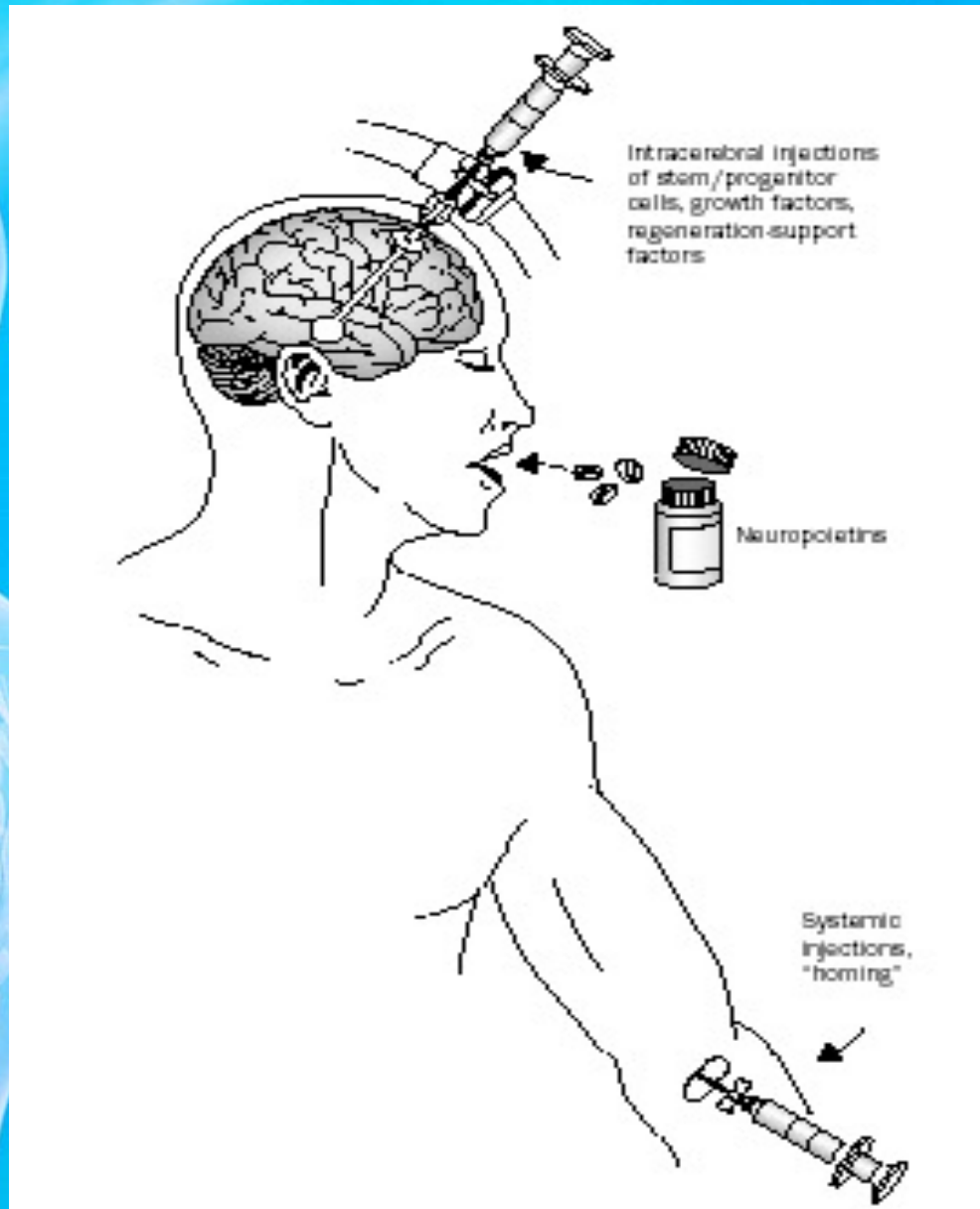
- **Celule stem ale cordonului ombilical** Umbilical cord stem cells
- **Celule multipotente adulte progenitoare** Multipotent Adult Progenitor Cells
- **Celule stromale din măduva osoasă** Marrow stromal cells
- **CD34, CD133 celule mobilizate din sângele periferic** CD34, CD133 cells mobilized into peripheral blood



The stem cells induce new blood vessel formation in the damaged heart muscle and proliferation of existing vasculature.



© 2001 Teresa Winslow, Lydia Kibick



Cell and Restorative Therapy of Stroke Patient (Lancet 2002;359:1047-54)

# Dezavantajele celulelor stem adulte

Disadvantages (criticism) of adult stem cells



- Nu sunt pluripotente ca celulele stem embrionare
- Some “plasticity” or “transdifferentiation” may be simply a result of cell fusion Not as “pluripotent” as embryonic stem cells

# Scopul terapiei celulare

- este substituția țesutului sau unei populații de celule afectate de boală sau nefuncționale
- terapia cu celule poate fi utilizată ca metodă separată de tratament sau în asocierie cu terapia genică, ingineria tisulară.
- dacă tratamentul se realizează numai prin inocularea simplă a celulelor în focarul patologic, atunci este corect să o numim terapie celulară.





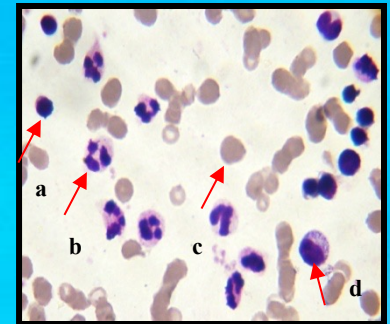
# Etapele de preparare și utilizare a autogrefei celulare din măduvă osoasă:

1. Colectarea măduvei osoase;
2. Prelucrarea *ex vivo*: Separarea celulelor predecesoare (curățarea, fracționarea);
3. Cariotiparea;
4. Cultivarea celulelor pe mediu nutritiv până la obținerea cantității de 100-200 mln celule, aceasta s-a realizat efectuând până la 3-4 pașaje pentru fiecare caz concret; modificarea genică.
5. Cariotiparea la sfârșitul cultivării;
6. Teste bacteriologice la sterilitate;
7. La necesitate, în caz de defecte osoase mici, cultivarea celulelor osteomedulare sau a celor ombilicale în prezența matricei osoase (inginerie tisulară);
8. Transplantarea (inocularea în organismul recipientului) celulelor obținute sau a grefei mixte recipientului sub control radiologic sau RX-tv.



# Nu se colectează măduvă osoasă de la indivizi:

- Cu intoleranță la proteinele și citochine specifice;
- Care fac abuz de alcool;
- Care au folosit timp îndelungat corticosteroizi și preparate antiinflamatorii;
- Cu maladii renale cronice și diabet;
- Cu tabacism pronunțat.

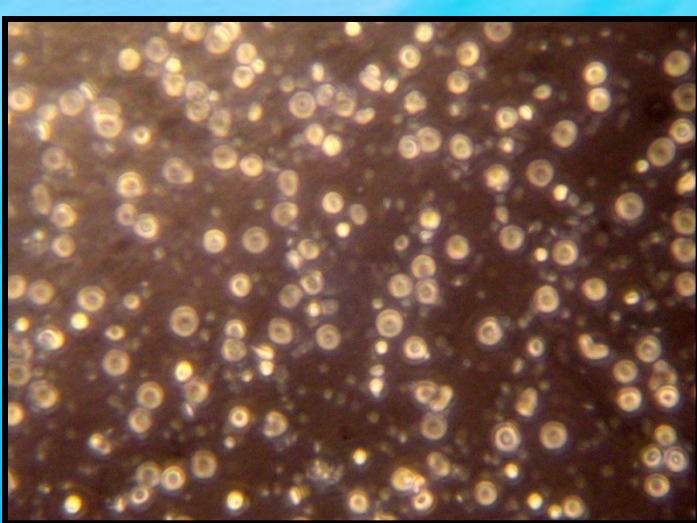


a) marcată proiecția spinei iliace posterioare superioare. b) frotiu din măduva osoasă. Colorația hematoxină eosină. x100.

Matthew L., Jimenez, 2006



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

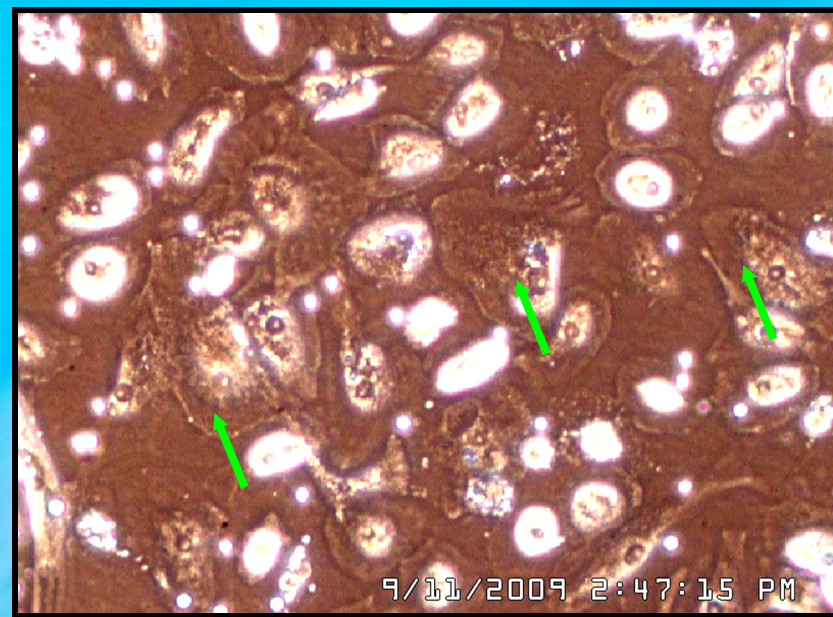
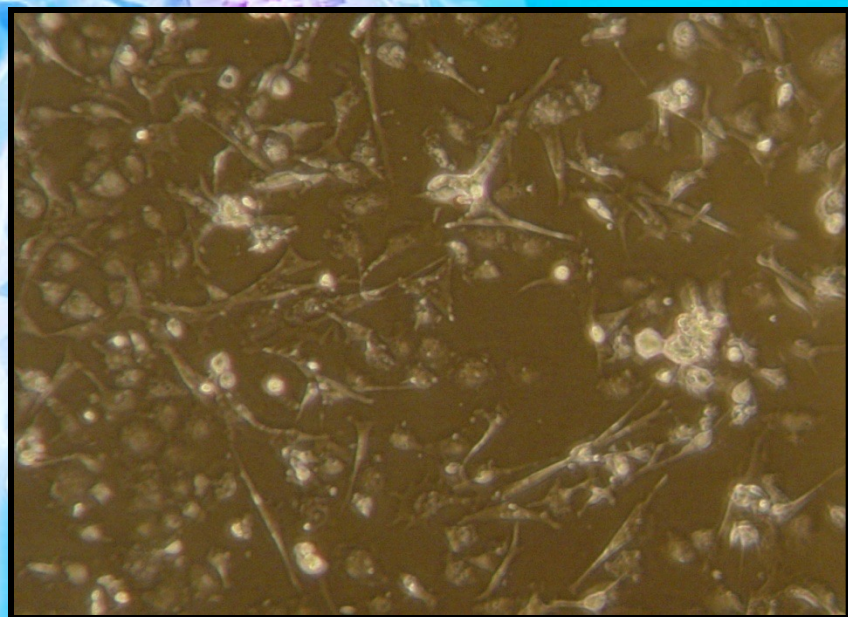


**Celule din  
măduvă  
osoasă**

**Celule stem  
mesenchimale**

Vit C; dexametazonă, Ca glicerofosfat

**Osteoblaste**



**Celule din  
măduvă osoasă**

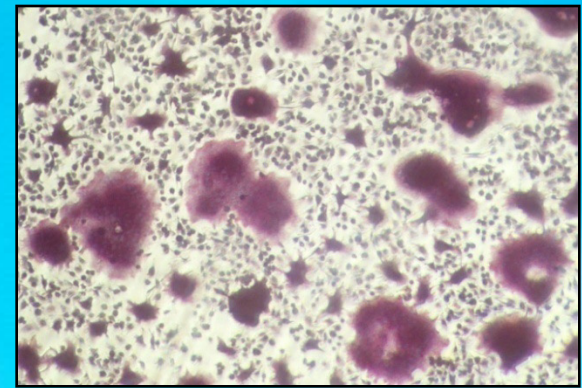
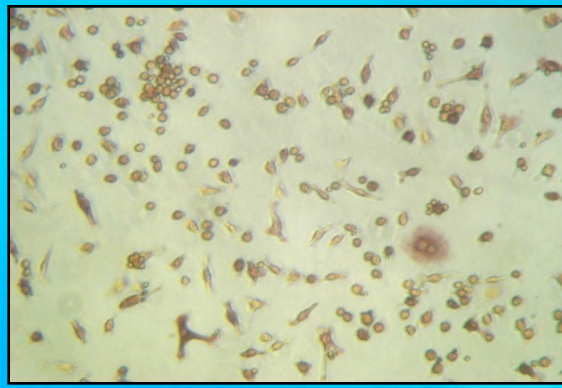
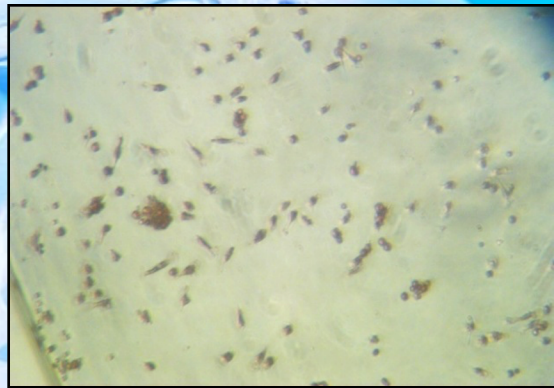
**Celule  
stem**

CSF1

**Monocite  
macrofage**

CSF1+ RANKL

**Osteoclaste**



# Modalitățile de inoculare a grefelor celulare

- 1. în patul sangvin
- 2. în focarul patologic,
- 3. intraosos (în măduva osoasă)



## Terapii curente

- Pentru unele boli sunt singura terapie, pentru altele se folosesc doar in cazul in care tratamentele uzuale nu au avut succes sau daca afectiunea este foarte agresiva.
- 1. Leucemii – Leucemia este un cancer al sistemului imunitar, al leucocitelor.
- Acestea sunt boli pentru care HSCT (transplaturi cu celule stem hematopoetice, celulele stem izolate din sangele cordonului ombilical ) sunt un tratament standard.
- 1.1. Leucemii Acute
- Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) Acute Myelogenous Leukemia (AML) Acute Biphenotypic Leukemia, Acute Undifferentiated Leukemia
- Non-Hodgkin's Lymphoma Burkitt's Lymphoma



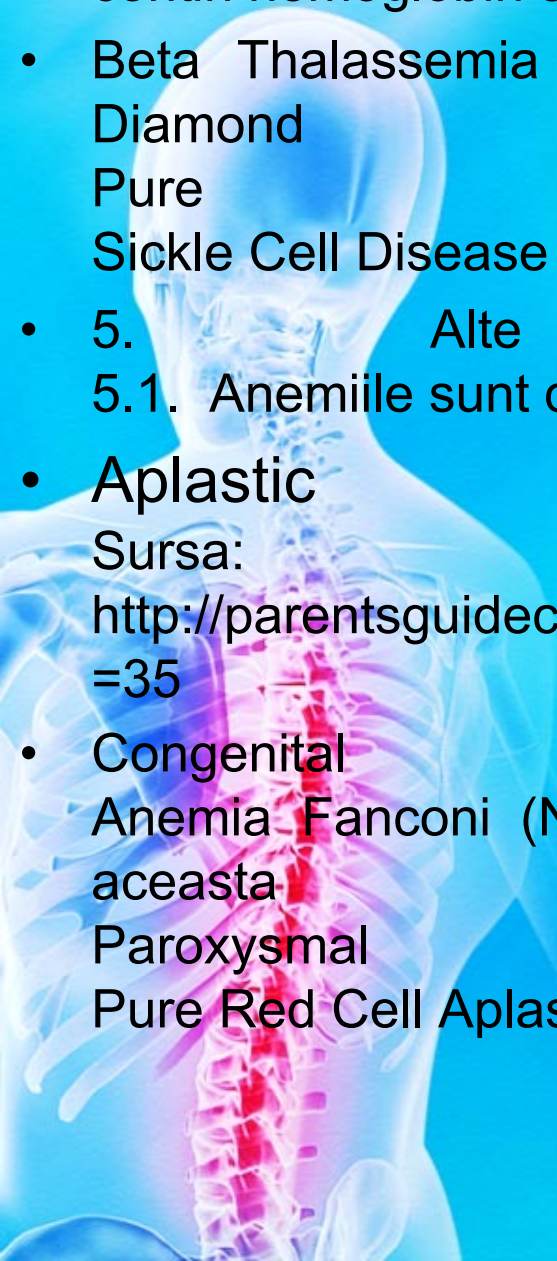


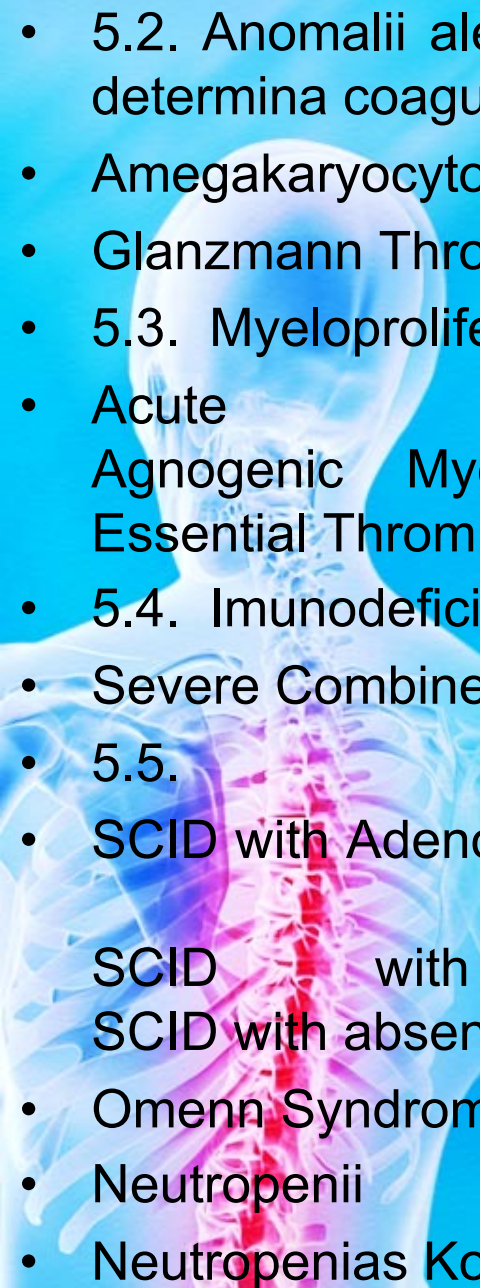
- 1.2. Leucemii Cronice

- Chronic Myelogenous Leukemia (CML)
- Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL)
- Juvenile Chronic Myelogenous Leukemia (JCML)
- Juvenile Myelomonocytic Leukemia (JMML)
- Sindroamele Mielodisplazice - Mielodisplazia este denumita și pre-leucemie Refractory Anemia (RA)
- Refractory Anemia with Ringed Sideroblasts (RARS)
- Refractory Anemia with Excess Blasts (RAEB)
- Refractory Anemia with Excess Blasts in Transformation (RAEB-T)
- Chronic Myelomonocytic Leukemia (CMML)
- Limfoame - Limfomul este un cancer al leucocitelor din sange si limfa Hodgkin's Lymphoma.



- 4. Anomalile mostenite ale eritrocitelor - Eritrocitele sunt Celulele rosii care contin hemoglobin si tranporta oxigenul in organism
- Beta Thalassemia Major (also known as Cooley's Anemia) Blackfan-Diamond Anemia  
 Pure Red Cell Aplasia  
 Sickle Cell Disease
- 5. Alte afectiuni ale sangelui  
 5.1. Anemiile sunt deficiente sau malformatii ale celulelor rosii
- Aplastic Anemia severa  
 Sursa:  
<http://parentsguidecordblood.org/content/usa/medical/diseases.shtml?navid=35>
- Congenital Dyserythropoietic Anemia  
 Anemia Fanconi (Nota: primul transplant care a avut loc a fost pentru aceasta afectiune)  
 Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (PNH)  
 Pure Red Cell Aplasia



- 
- 5.2. Anomalii ale trombocitelor - Trombocitele sunt celulele sangelui care determina coagularea)
  - Amegakaryocytosis / Congenital Thrombocytopenia
  - Glanzmann Thrombasthenia
  - 5.3. Myeloproliferative Disorders
  - Acute Myeloid Metaplasia (Myelofibrosis) Polycythemia Vera  
Essential Thrombocythemia
  - 5.4. Imunodeficiente combinate
  - Severe Combined Immunodeficiency (SCID)
  - 5.5.
  - SCID with Adenosine Deaminase Deficiency (ADA-SCID) SCID which is X-linked  
SCID with absence of T & B Cells  
SCID with absence of T Cells, Normal B Cells
  - Omenn Syndrome
  - Neutropenii
  - Neutropenias Kostmann Syndrome Myelokathexis

## 5.6. Alte tulburari ale sistemului imunitar mostenite

- Ataxia-Telangiectasia
- Bare Lymphocyte Syndrome
- Common Variable Immunodeficiency
- DiGeorge Syndrome
- Leukocyte Adhesion Deficiency
- Lymphoproliferative Disorders (LPD)
- Lymphoproliferative Disorder, X-linked (also known as Epstein-Barr Virus Susceptibility)
- Wiskott-Aldrich Syndrome

## • 5.7. Tuburari fagocitare

( Fagocitele sunt celule ale sistemului imunitar care pot ucide organismele

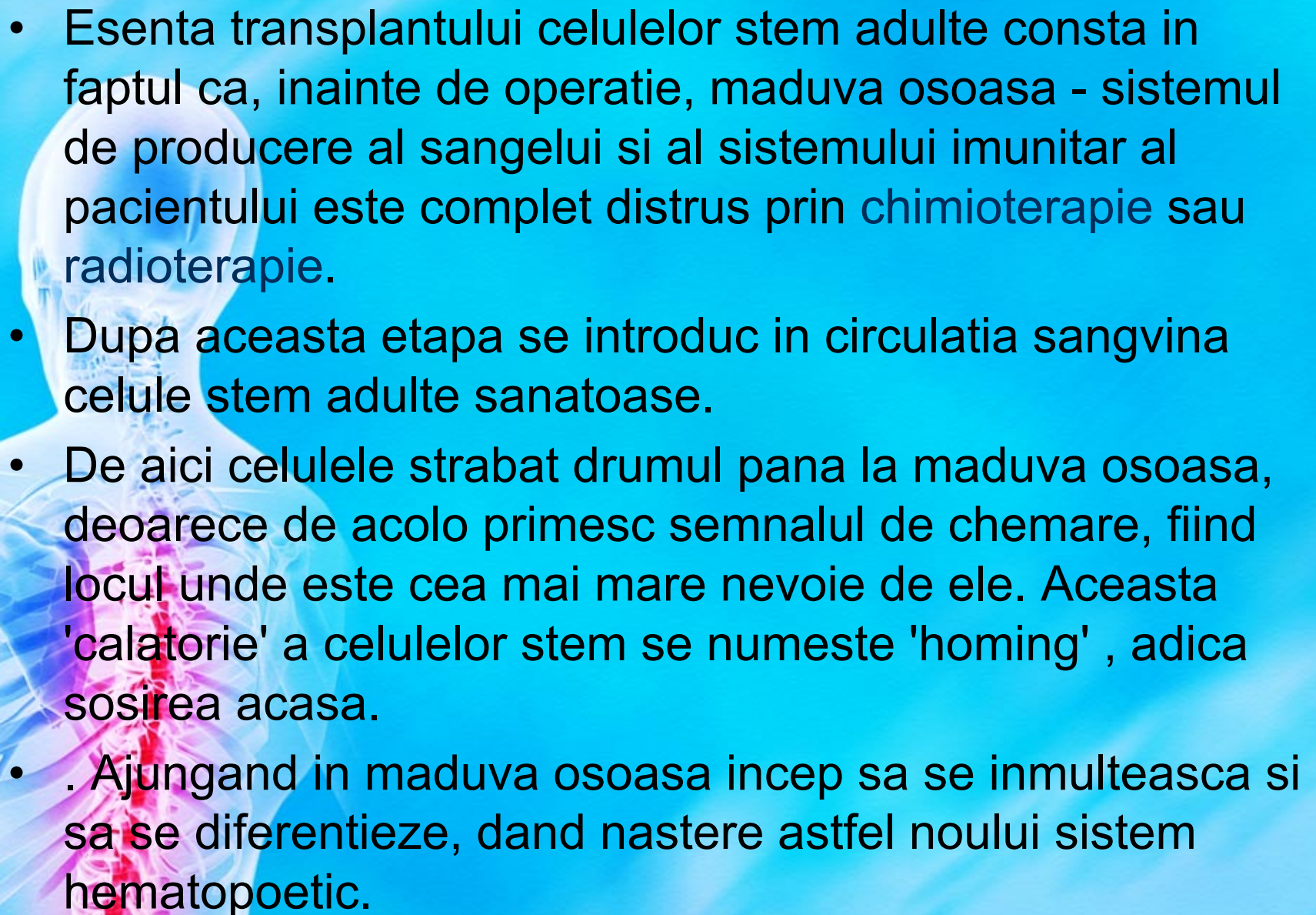
- straine)
- Chediak-Higashi Syndrome
- Chronic Granulomatous Disease Neutrophil Actin Deficiency Reticular Dysgenesis

# Cancere ale maduvei osoase

Sursa:

<http://parentsguidecordblood.org/content/usa/medical/diseases.shtml?navid=35>

- Plasma Cell
- Multiple Myeloma
- Plasma Cell Leukemia
- Waldenstrom's Macroglobulinemia
- Solid tumors Neuroblastoma
- Retinoblastoma
- Tulburari mostenite in crearea sistemului imunitar si ale altor organe  
Immune System & Other Organs
- Cartilage-Hair Hypoplasia  
Gunther's Disease (Erythropoietic Porphyria) Hermansky-Pudlak  
Syndrome  
Pearson's Syndrome  
Shwachman-Diamond Syndrome  
Systemic Mastocytosis
- Tulburari metabolice mostenite

- 
- Esenta transplantului celulelor stem adulte consta in faptul ca, inainte de operatie, maduva osoasa - sistemul de productie al sangelui si al sistemului imunitar al pacientului este complet distrus prin chimioterapie sau radioterapie.
  - Dupa aceasta etapa se introduc in circulatia sangvina celule stem adulte sanatoase.
  - De aici celulele strabat drumul pana la maduva osoasa, deoarece de acolo primesc semnalul de chemare, fiind locul unde este cea mai mare nevoie de ele. Aceasta 'calatorie' a celulelor stem se numeste 'homing' , adica sosirea acasa.
  - . Ajungand in maduva osoasa incep sa se inmulteasca si sa se diferentieze, dand nastere astfel noului sistem hematopoetic.

## Inherited Disorders – Other

### Lesch-Nyhan Syndrome Osteopetrosis

- Sursa: <http://parentsguidecordblood.org/content/usa/medical/diseases.shtml?navid=35>
- Terapii in studii clinice
- Pentru alte boli, tratamentul cu celule stem poate fi o cura, dar doza optimă și utilizarea celulelor stem este încă în curs de investigare.
- Boli auto-imune
- Boala Crohn: Faza 1: Transplant heterolog cu celule stem placentare , Faza 2 transplant autolog: transplant de celuls stem, Faza 3, transplant heterolog: celule stem mezenchimale (celule stem recoltate din maduva osoasa), Faza 3 Transplat autolog: ASTIC
- Dianet de tip 1 (Diabet juvenil): Transpalt autolog: Sange placentar, Transplant heterolog: PROCHYMAL[tm] mesenchymal cells
- Lupus

# Repararea sistemului nervos

- Paralizie cerebrală, hipoxie, encefalopatie Paralizie cerebrală, Hipoxie, Encefalopatie Scleroză multiplă: (European study review, Canadian news )  
Leziune a măduvei spinării  
Leziuni cerebrale traumatice
- Tulburări ale Metabolice
- Fibroza chistică: (Australia research web page & article)  
Histiocytic Disorders  
Epidermolysis Bullosa
- Terapie Genetice
- Glanzmann Thrombasthenia  
Severe Combined Immunodeficiency (SCID) SCID with Adenosine Deaminase Deficiency (ADA-SCID), SCID which is X-linked



# Maladia Parkinson

Parkinson's disease

→ **Se pierd neuronii care produc dopamină**  
Loss of dopamine  
producing neurons

→ **Stem cells** → differentiate  
into dopamine producing neurons

→ inject into brain

→ restore production of dopamine







- **Name: Kara Anderson**
- **Sex: Female**
- **Country: USA**
- **Age: 9**
- **Diagnosis: Cerebral palsy (paralizie cerebrală)**
- **Admission Date: 2009-12-16**
- **Days Admitted to the Hospital: 38**
- Kara was born with the umbilical cord wrapped around her neck. Soon after her birth she had cyanosis, and about 2 minutes later, she cried. She was then put on a special diet. Her family members found that her upper left limb was often flexed onto her chest region and she was unable to turn over. The head CT scan showed that she had cerebral palsy. Kara received rehabilitation training, and afterwards was able to turn over when she was 9 months old. She was able to sit up when she was 15 months old, and crawl when she was 2 years old.
- **Treatment:** Then we gave her a total of four stem cell transplantations and stem cell activation treatment to repair the damage to the neurons. She received treatment to improve the blood circulation in order to increase the blood supply to the damaged nerves and to nourish the neurons.





**Name: Saber Lofty Mohammed Owes**

**Sex: Male**

**Country: Egypt**

**Age: 39**

**Admission Date: 2010-04-21**

**Diagnoses: Sechele posttraumatice ale măduvei spinării.**

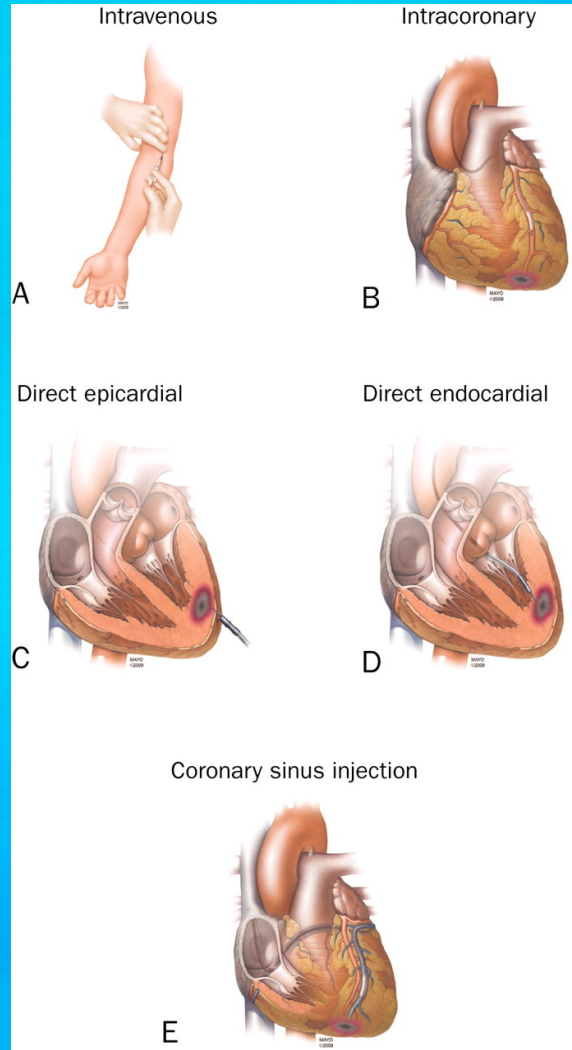
Sequelae of spinal cord injury post trauma, diabetes type 2

Days Admitted to the Hospital: 35



- Saber is a 39-year-old male who was involved in a car accident, then shortly after developed a sensory disorder and had difficulty moving for the past 9 months.
- Saber was sent to a local hospital immediately; where it was discovered that he had a spinal fracture at the C6-7 segments

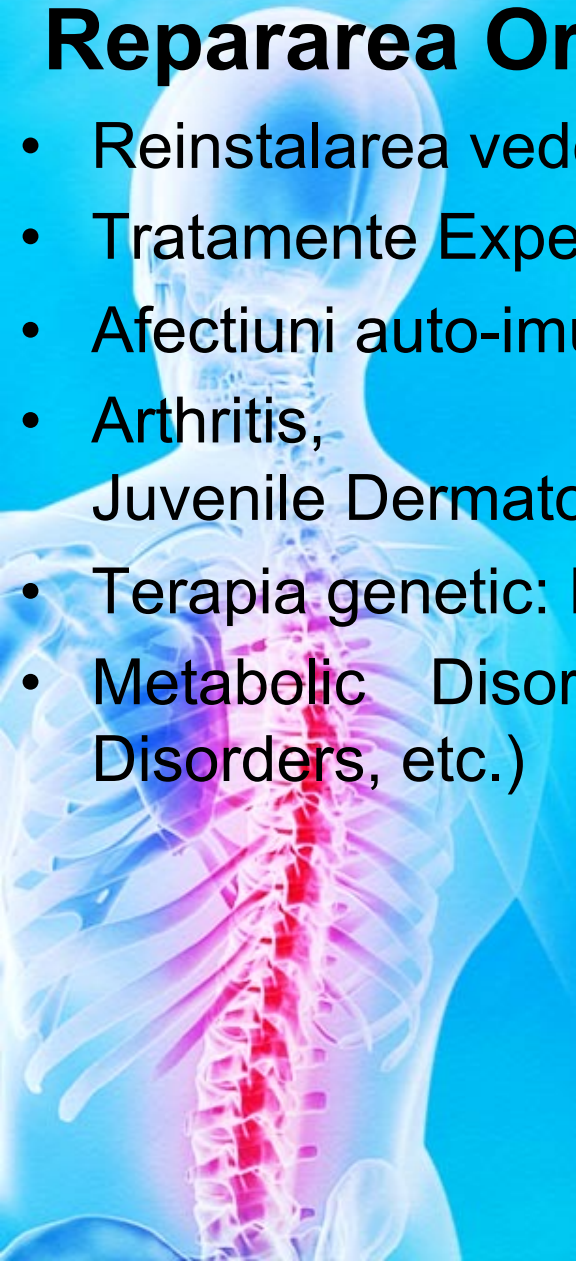
metodele de inoculare a celulelor în cord. Methods of cell delivery for cardiac implantation. **A, intravenous administration; B, intracoronary infusion using a balloon catheter after restoration of arterial patency; C, transepicardial injection via thoracotomy into the border zone of the infarct; D, transendocardial approach using electromechanical voltage mapping to define tissue viability; and E, intravenous injection into the coronary veins via the coronary sinus, enabling cell delivery into myocardial areas sub served by occluded coronary vessels.**



Gersh B J et al. Mayo Clin Proc. 2009;84:876-892

# Repararea Organelor

- Reinstalarea vederii ca urmare a cresterii unei noi cornee
- Tratamente Experimentale
- Afectiuni auto-imune Arthritis, Juvenile
- Arthritis, Rheumatoid Evan Syndrome  
Juvenile Dermatomyositis Scleroderma
- Terapia genetic: Fanconi's Anemia
- Metabolic Disorders (Leukodystrophy Diseases, Storage Disorders, etc.)



# Repararea celulelor nervoas

## Boli ale sistemului nervos central

- Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS, or "Lou Gehrig's disease")  
Huntington's Disease  
Parkinson's Disease
- Alzheimer's Disease
- 3.2. Alte boli ale sistemului nervos  
Hearing loss (transplant autolog) medical journal, newsletter1, newsletter2  
Stroke recovery (transplant autolog)

## Repararea organelor. Rinichi.

- Combinarea transplantului de rinichi cu cel de celule stem hematopoetice (din sangele cordonului omblical)  
Cresterea numarului de celule renare ca urmare a unui tranplant de celule stem

# Ficat

- Cresterea numarului de celule ale ficatului prin transplant de celule stem
- Acestea sunt bolile pentru care tratamentul cu celule stem nu s-au dovedit a avea nici o eficacitate pentru ființele umane. În Faza I a studiului clinic, scopul este de a afla dacă tratamentul face nici o
- diferență în cursul bolii, în comparație cu un grup de control. În cercetarea experimentală, nu este întotdeauna clar dacă o terapie ar fi autoloagă sau alogenă.

- Sursa: <http://parentsguidecordblood.org/content/usa/medical/diseases.shtml?navid=35>

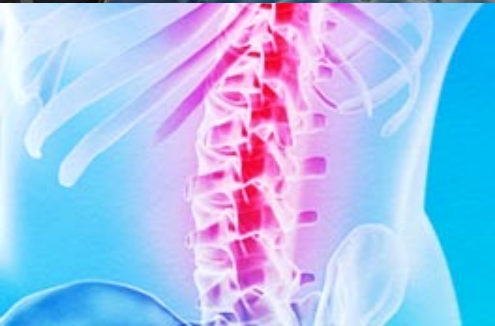
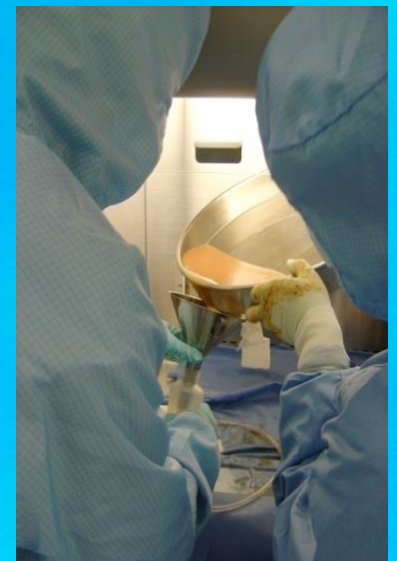
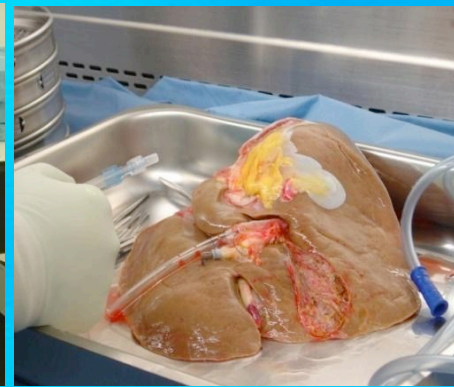
- Repararea cirozei hepatice prin transplant de celule stem

## Plamani

- Cresterea epiteliului cailor respiratorii din celule stem din maduva osoasa.

- Sursa: <http://parentsguidecordblood.org/content/usa/medical/diseases.shtml?navid=35>

# Transplantul de celule hepatice, alogene



# Transplantul de hepatocite mature



- Posibil de restabilit funcția Transfer of missing or deficient function possible
- Repopularea prin inocularea grefei celulare
- Pot produce suficiente enzime pentru a schimba calitatea vieții și controlul metabolic Can bring sufficient enzyme activity to change quality of life and metabolic control
- Posibilitatea infuziei prin vena porta. Technical feasibility of

portal vein cell infusion –safety



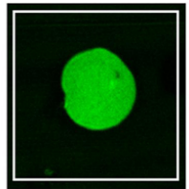


Luc Douay

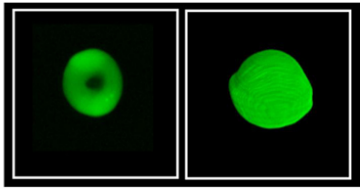
Hôpital Trousseau, Service d'Hématologie Biologique, Paris

# Prima transplantare de eritrocite cultivate (2011)

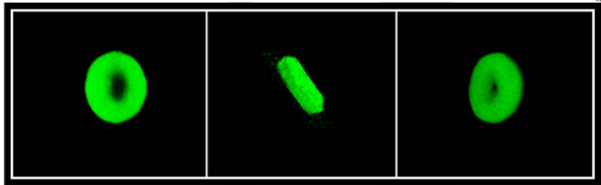
- Luc Douay spitalul Trousseau, Paris
- Din celule CD34 de la pacient, cultivate 18 zile până cantitatea lor s-a mărit de 61 mii ori.



Полученный in vitro эритроцит - перед инъекцией

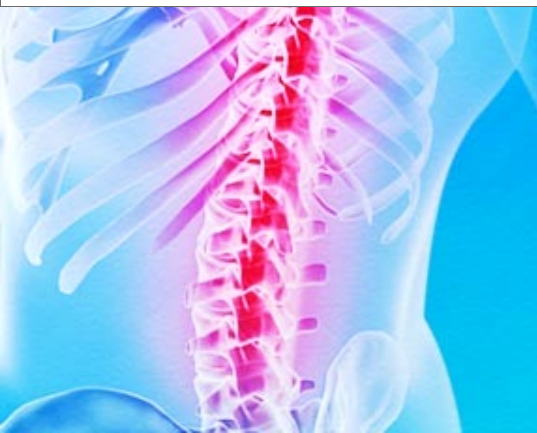


Нативный эритроцит    Нативный ретикулоцит



Культированный эритроцит - 3 дня после инъекции

Bibliografie: Giarratana M.C., Rouard H., Dumont A. et al. Proof of principle for transfusion of in vitro generated red blood cells. Blood. 2011 Sep 1. [Epub ahead of print].



# GENERAL INTRODUCTION

- Cell Osteoarthritis Treatments are being studied for their efficacy in improving the complications in patients with OA, through the use of stem cells. These procedures may help patients who don't respond to typical drug treatment, want to reduce their reliance on medication or are looking to try stem cell therapy before starting drug treatment

[http://volonterydzhandy.com/news/pravda\\_i\\_vymysly\\_stvolovye\\_kletki/2015-05-27-2228](http://volonterydzhandy.com/news/pravda_i_vymysly_stvolovye_kletki/2015-05-27-2228)).

- Stem cells have tremendous potential for treating disease and replacing or regenerating the diseased tissue.

Tissue Eng Part A (2013) Repair of Cartilage Defects in Arthritic Tissue with Differentiated Human Embryonic Stem Cells. (PubMed: 24028447)



# KINDS OF CELLS USED IN OA

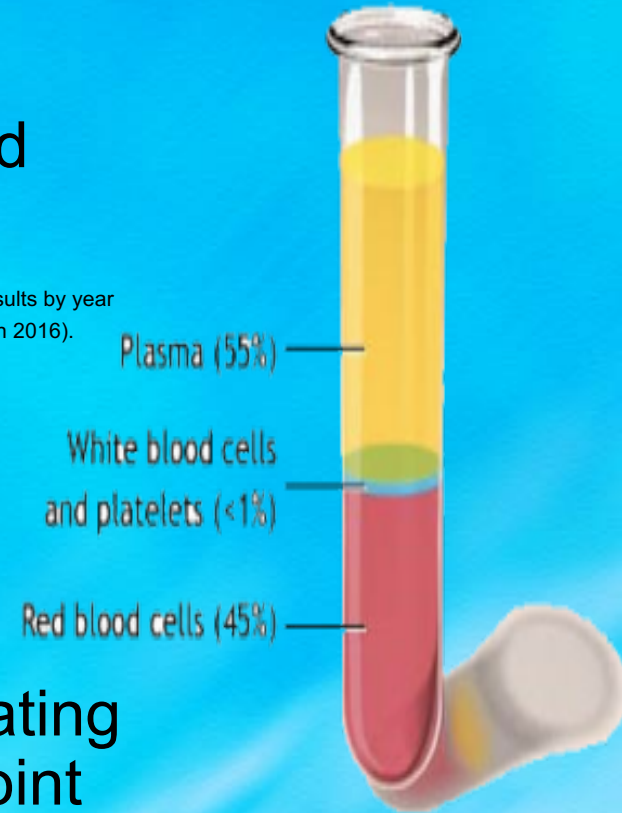
- Platelet-rich plasma - is blood plasma enriched with platelets. Platelets are irregularly shaped cell fragments derived from precursor megakaryocytes, and contain many growth factors

(platelet-rich plasma evidence Results by year graph, PubMed.gov, National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, retrieved 23 March 2016).

Platelet-rich plasma might:

1. Inhibit inflammation and slow down the progression of osteoarthritis.
2. Stimulate the formation of new cartilage.
3. Increase the production of natural lubricating fluid in the joint, thereby easing painful joint friction.
4. Contain proteins that alter a patient's pain receptors and reduce pain sensation

(Van Buul GM, Koevoet WLM, Kops N, et al. Platelet-rich plasma release inhibits inflammatory processes in osteoarthritic chondrocytes).



# Adipose (Fat) derived Stem Cells

## HOW THE TREATMENT WORKS

**1** Small amounts of fat are siphoned off from around the stomach

**2** Mesenchymal cells – a type of stem cell – are extracted and grown in a laboratory for two weeks

**3** The cells are then injected into the knee

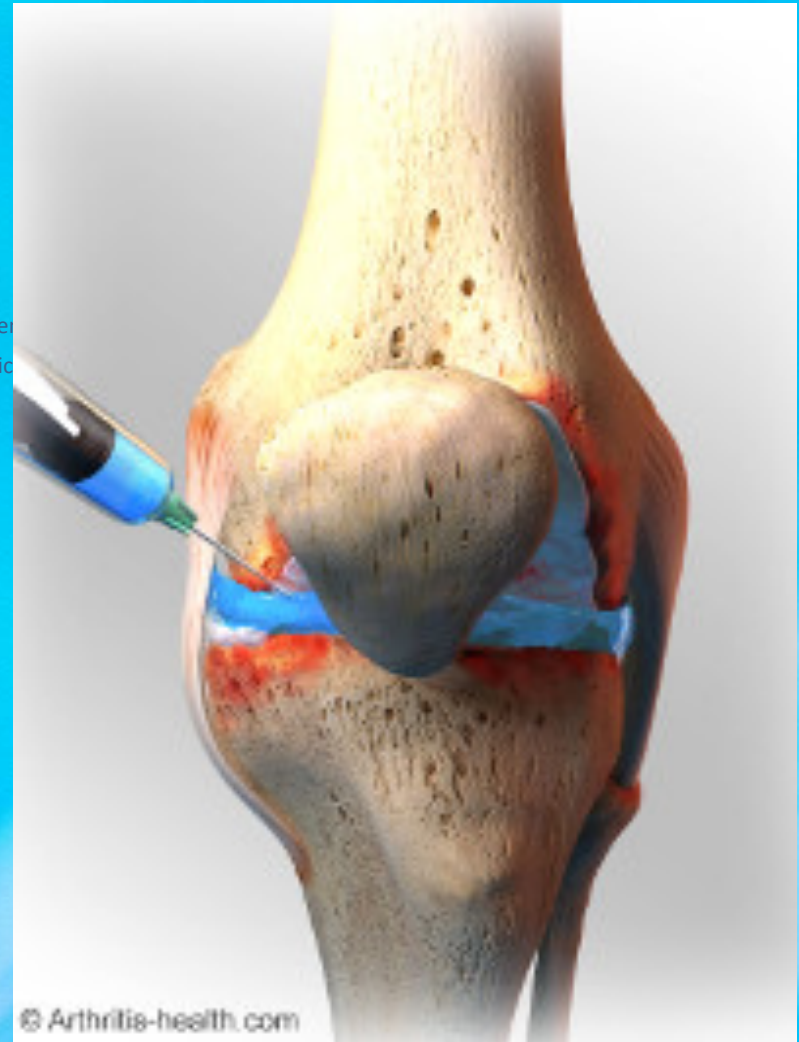
They grow into new cartilage, slowing and even stopping tissue from being destroyed **4**

The cells migrate to the joint lining, where they help halt inflammation **5**

# HOW ARE THE STEM CELLS ADMINISTERED?

- The stem cells are administered into the affected joint(s) (intra-articular injection) and intravenously

(Lee KB et al. (2007) Injectable mesenchymal stem cell therapy for large cartilage defects—a porcine model. *Stem Cells* 25: 2964–2971 | [Article PubMed](#) | ).



# MALADII ALE TRACTULUI GASTRO - INTESTINAL

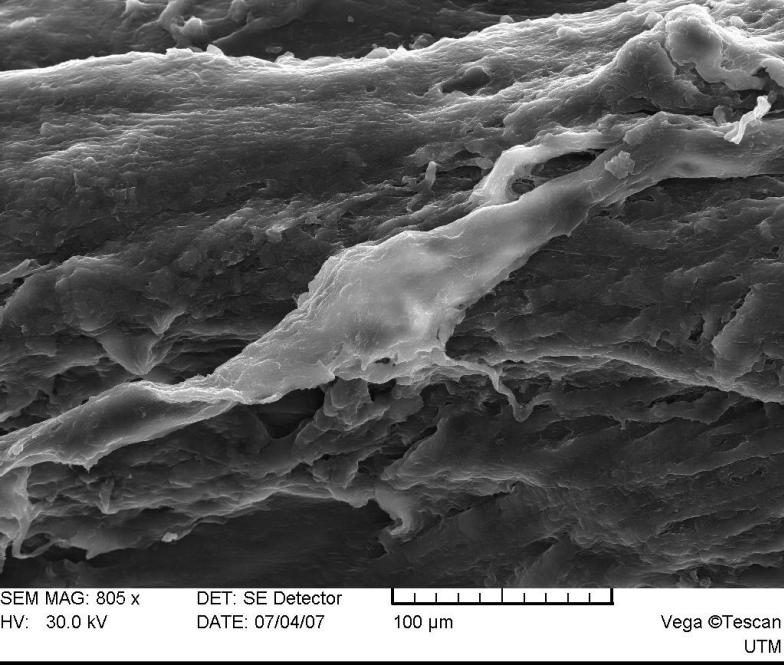
IBD bowel disease

Maladia Chron,  
Colită ulcerativă,



# Ortopedie și traumatologie





Grefe compozite:

Matrice osoasă demineralizată + COP

Matrice osoasă demineralizată + CMO

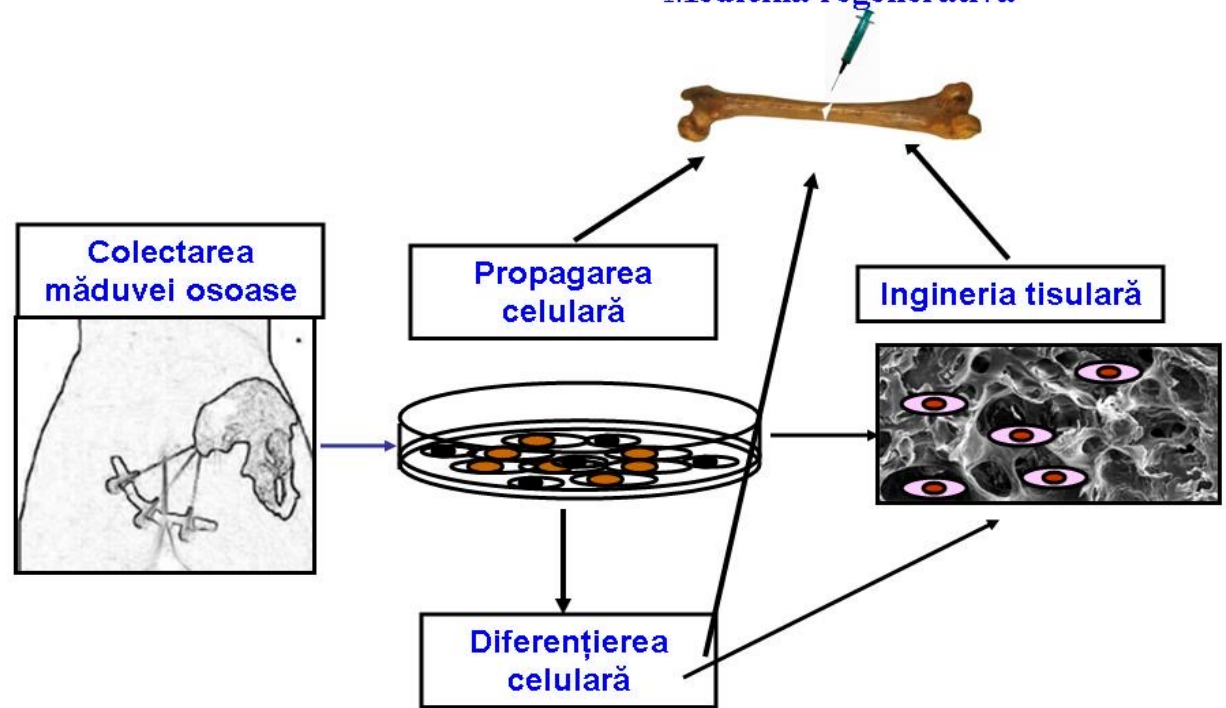
Obținute prin două modalități:

- 1) Amestecul a două componente *ex vivo*
- 2) Cultivarea în prezența particulelor de MOD *in vitro*



# Transplantarea celulelor autologice din măduvă osoasă

## Medicina regenerativă

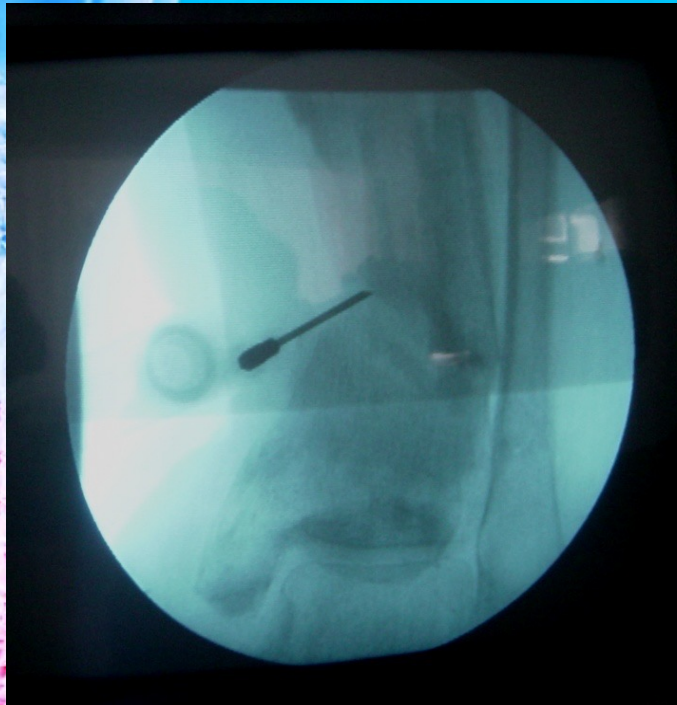


**Schema obținerii și transplantării grefei autocelulare din măduvă osoasă**



Pacientul P., 20 de ani:

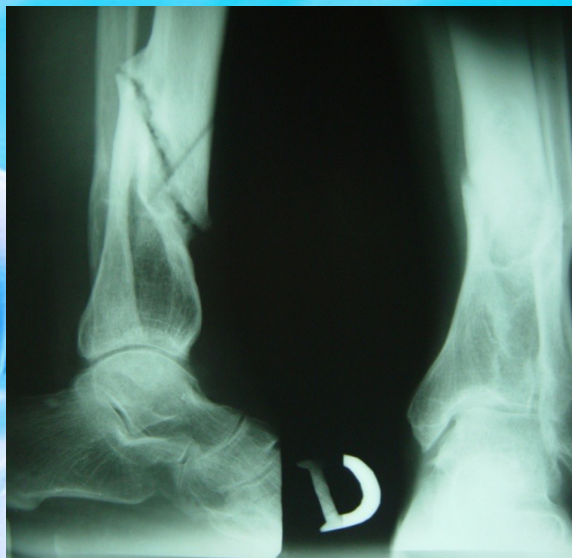
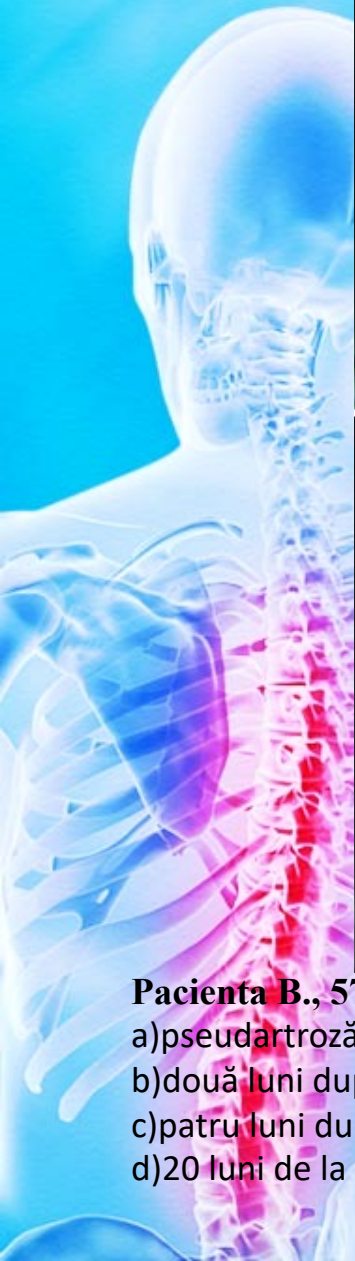
a) stare după recuperarea defectului tegumentar cu lambou radial; b) la opt luni de la traumatism, pseudartroză oligotrofică, 1/3 distală tibia gambei stângi.



Inocularea grefei complexe MOD cu celule din măduvă osoasă în focarul fracturii: din stânga imagine RX pe monitor și pe imaginea din dreapta inoclarea grefei cu seringă printr-un ac de puncție osoasă.

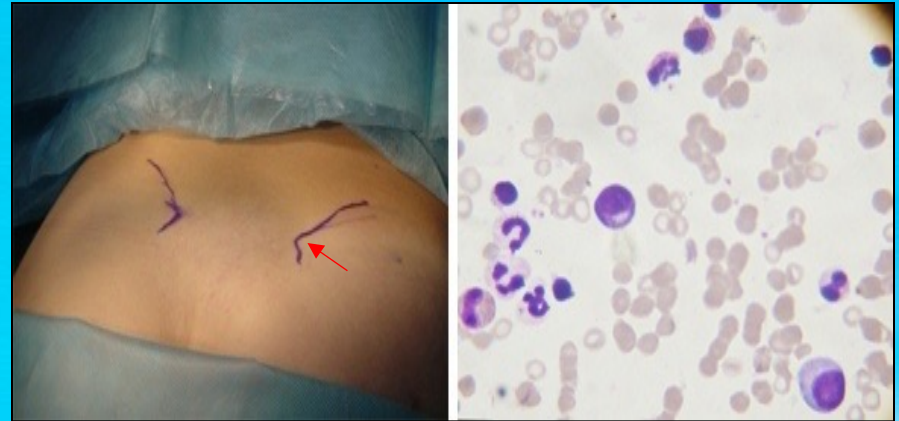
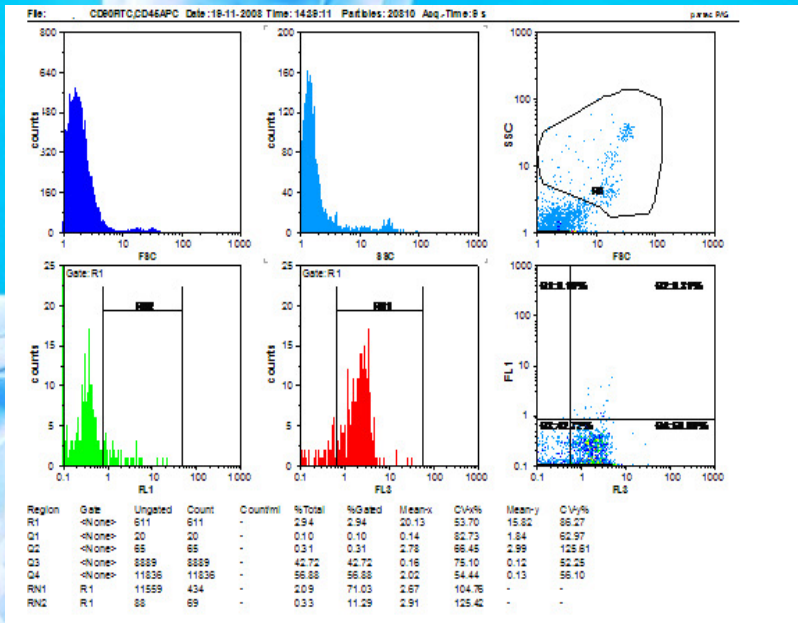


a) la patru luni după inocularea grefei; b) șase luni după inoculare se constată consolidarea fragmentelor.

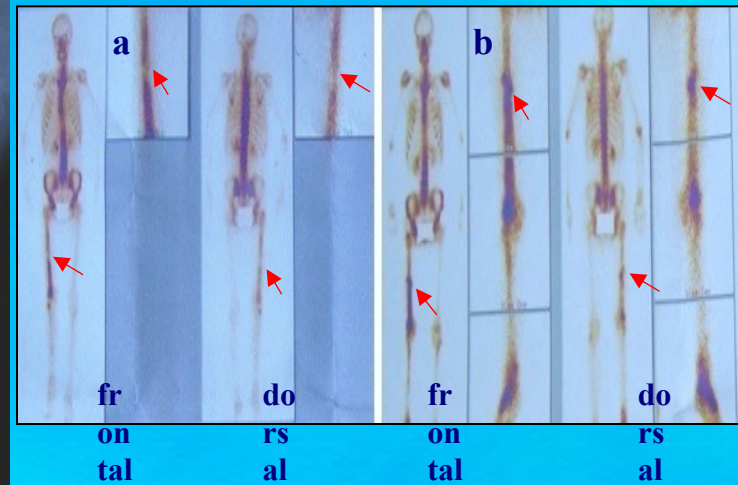


**Pacienta B., 57 ani, 54 luni după traumatism (MOD+COP)**

- a) pseudartroză oligotrofică tibia gambei drepte 1/3 distală;
- b) două luni după inocularea grefei celulare complexe;
- c) patru luni după grefare;
- d) 20 luni de la terapia celulară, pseudartroza e tratată, faza de remodelare.



Pacienta B., 23 ani, 14 luni după traumatism Citometrie prin flux a suspensiei celulare din măduvă osoasă autologică. **CD 45** -  $1,2 \pm 0,2 \times 10^6$  ( $p < 0,05$ ), și **CD 90** -  $0,45 \pm 0,1 \times 10^6$  ( $p < 0,05$ ).



### Aceeași pacientă

a) scintigrafie până la inocularea grefei celulare. Se constată o acumulare redusă de radiofarmaceutic la nivelul pseudartrozei femurului drept;

b) scintigrafie la două luni după inocularea grefei celulare. Se constată o acumulare excesivă de radiofarmaceutic la nivelul pseudartrozei femurului drept

- a) radiografie – pseudartroză oligotrofică a femurului drept;
- b) la două luni de la terapia celulară;
- c) la cinci luni de la transplantare;
- d) la 7 luni de la terapia celulară se constată consolidarea pseudartrozei

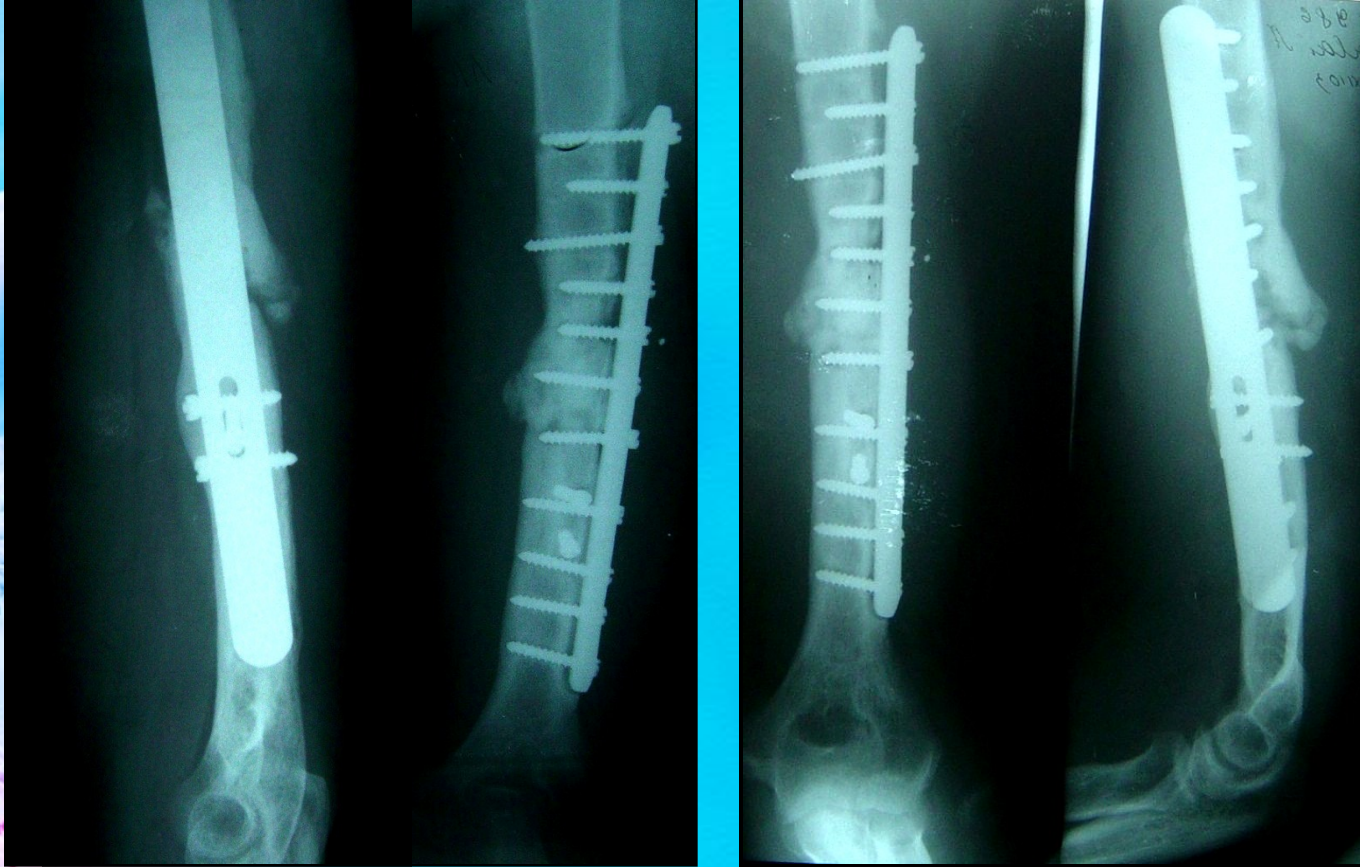


Trei luni  
după terapia celulară

M., ♂, 26 ani.

10 luni după traumatism,  
pseudartroză a osului scafoid pe stânga în  
1/3 medie.





**B., 27 ani,**

a) **16 luni după traumatism** (scorul Mattis 34);

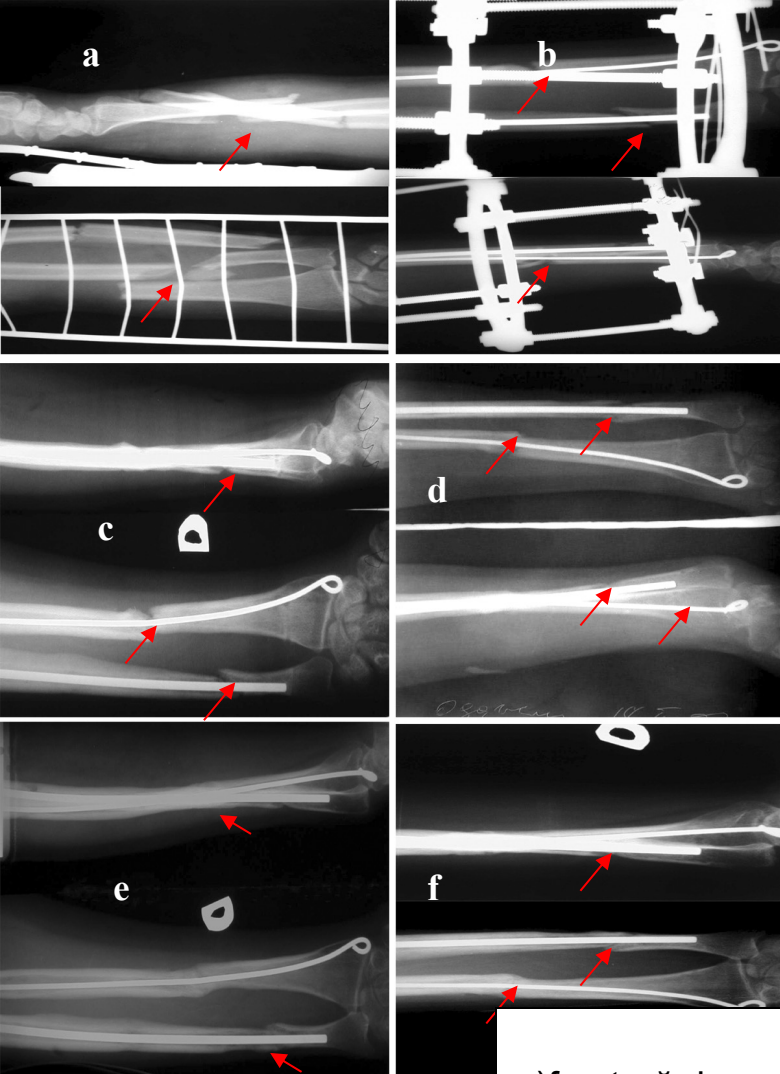
b) **2 luni după inocularea culturilor celulare**



5 luni după  
terapia celulară

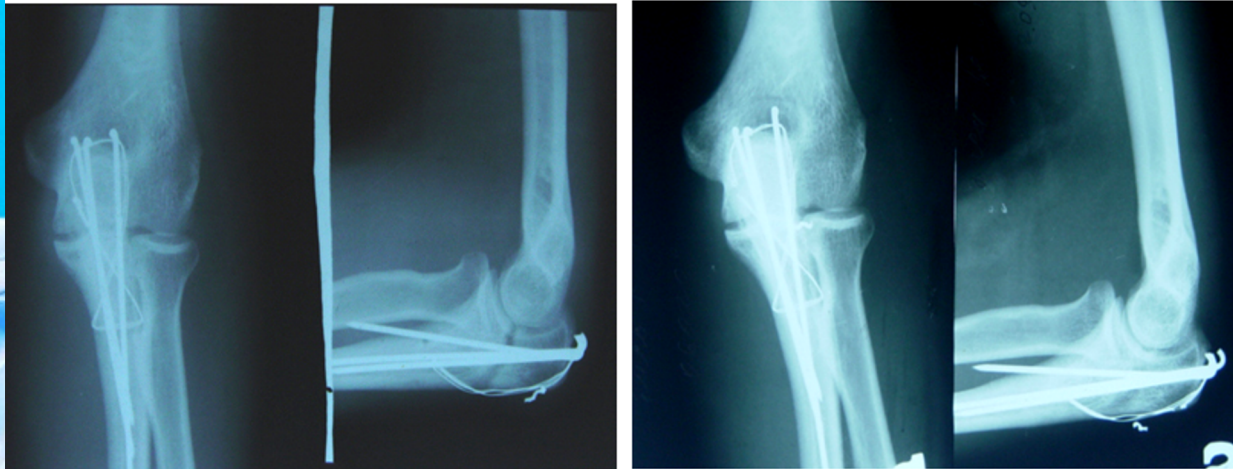
10 luni





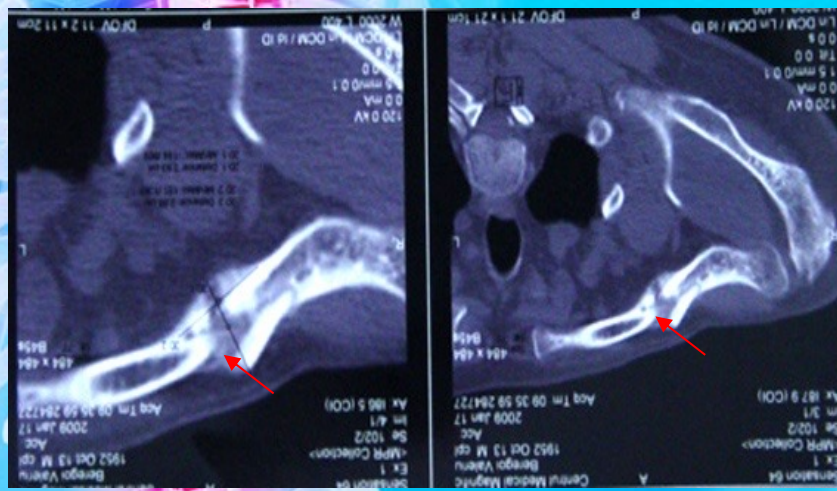
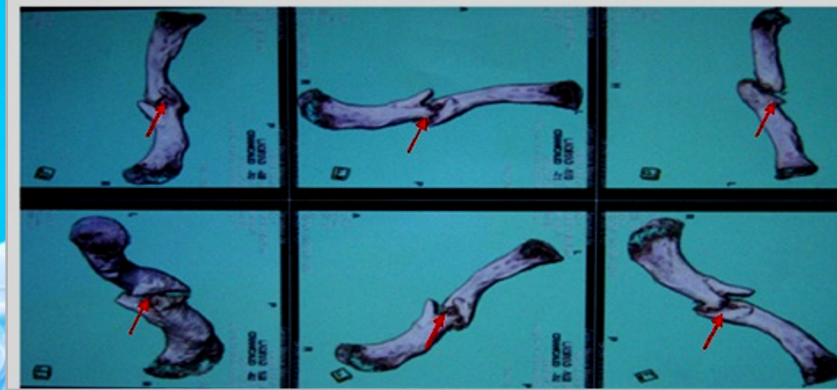
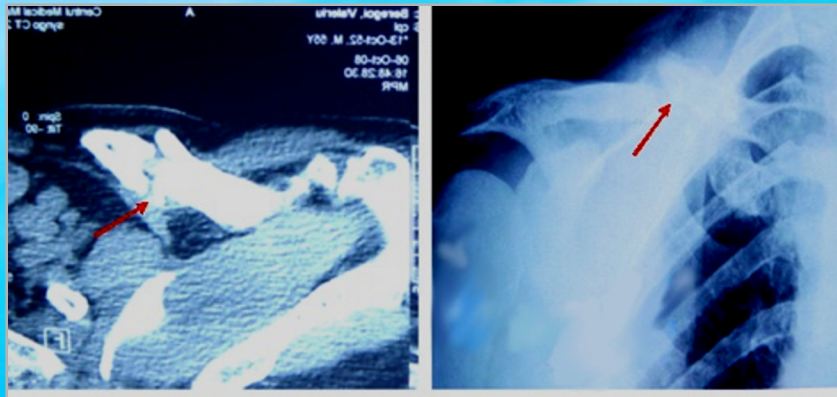
### Pacienta O.T., 21 ani:

- a) fractură de os radial drept 1/3 distală și dublă a ulnei cu deplasarea fragmentelor;
- b) osteosinteză combinată centromedulară cu tije Bogdanov și extrafocară în aparatul Ilizarov;
- c) la 6 luni după traumatism – pseudartroză oligotrofică a ambelor oase ale antebrațului drept 1/3 distală;
- d) la o lună după terapie celulară;
- e) la două luni după grefare celulară;
- f) la trei luni după grefare, se constată consolidarea fragmentelor;
- g) la 18 luni după aplicarea tijeilor centromedulare



## Pacientul L. A., 26 de ani:

- a) pseudartroză a olecranonului pe stânga;
- b) verificarea radiologică a poziției acului la inoculare;
- c) la 2 luni după inoculare celulară, spațiul interfragmentar diminuat;
- d) la 4 luni după terapia celulară se constată consolidarea fragmentelor;
- e) la 4 ani după tratament celular flexia în articulația cubitală a constituit  $45^{\circ}$ ; extensia  $175^{\circ}$ .



# Transplantare de piele alogena

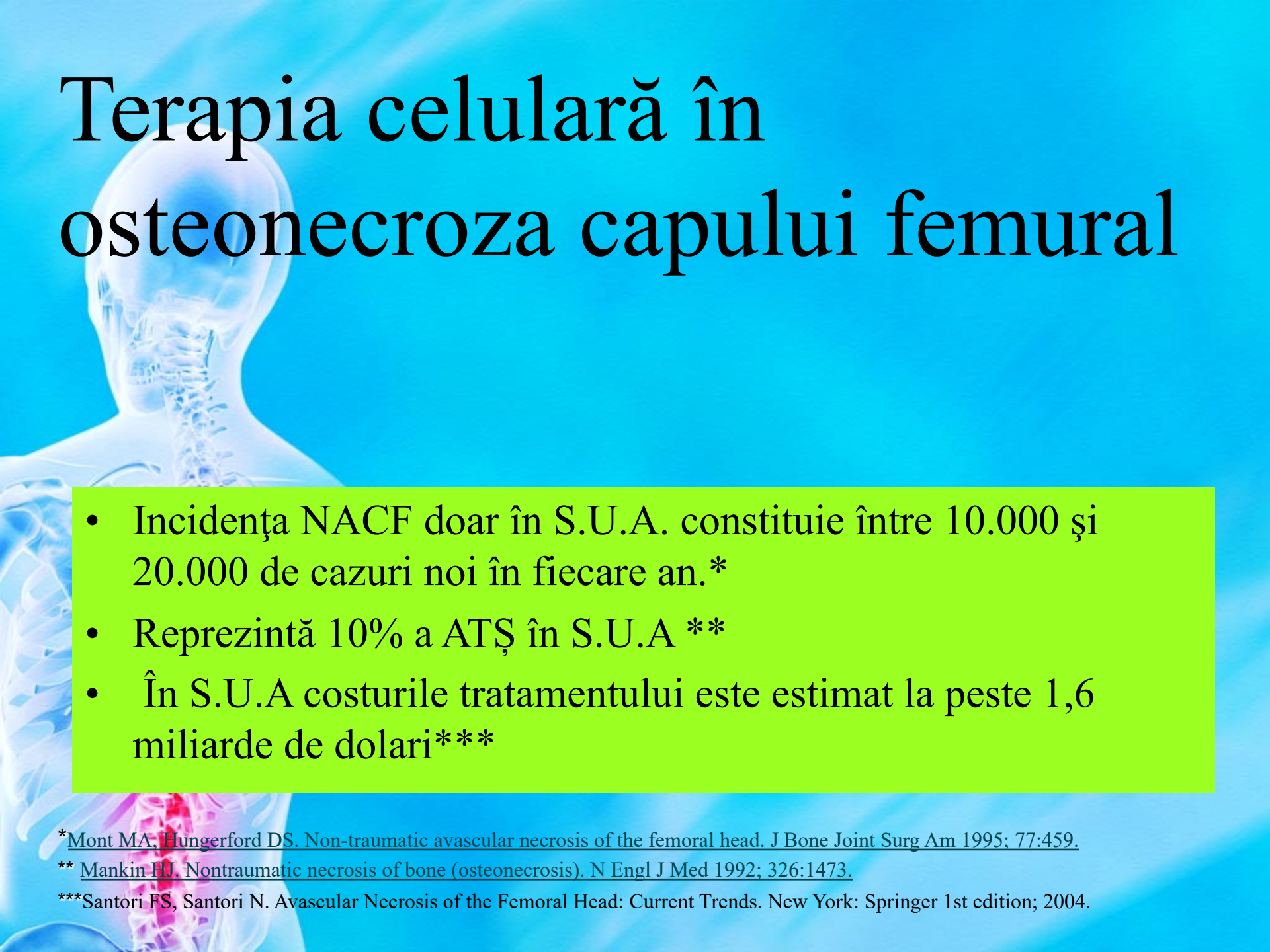








# Terapia celulară în osteonecroza capului femural



- Incidența NACF doar în S.U.A. constituie între 10.000 și 20.000 de cazuri noi în fiecare an.\*
- Reprezintă 10% a ATȘ în S.U.A \*\*
- În S.U.A costurile tratamentului este estimat la peste 1,6 miliarde de dolari\*\*\*

\*Mont MA, Hungerford DS. Non-traumatic avascular necrosis of the femoral head. J Bone Joint Surg Am 1995; 77:459.

\*\* Mankin HJ. Nontraumatic necrosis of bone (osteonecrosis). N Engl J Med 1992; 326:1473.

\*\*\*Santori FS, Santori N. Avascular Necrosis of the Femoral Head: Current Trends. New York: Springer 1st edition; 2004.

# Actualitatea

- Afectează preponderent populația tânără (vârsta medie 35-40 ani).
- Mai frecvent la **bărbați**, raport 4:1
- **70 - 80%** procese bilaterale, însă asimetrice .
- Evoluție brutală (invalidizare la 3-5 ani).



# Colectarea măduvei osoase



- Se efectuează cu ajutorul unui ac pentru puncție osoasă, conectat la o seringă, din spina iliacă postero-superioară în volum de 40 ml.



# Materiale și metode

## Multiplicarea celulelor

Materiale și metode

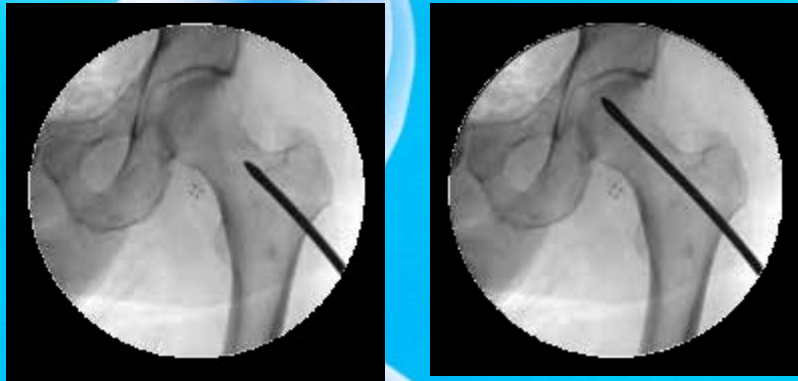
Numărarea celulelor



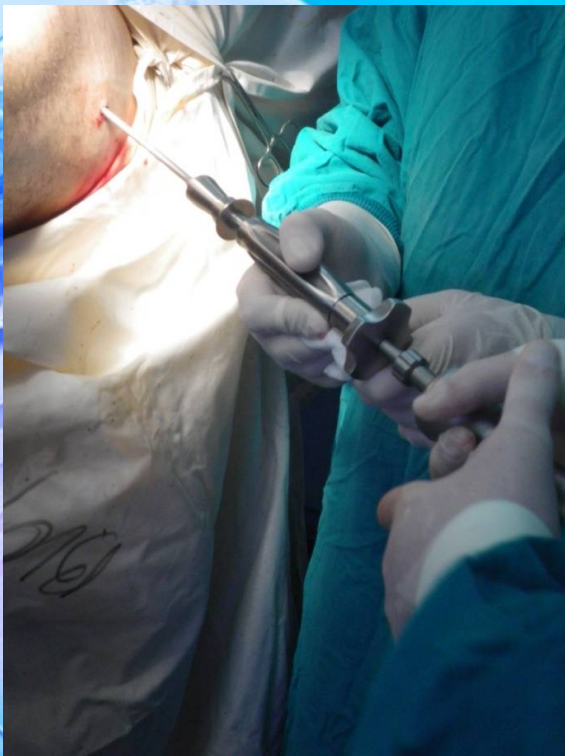
- Timp de **5-6 zile** obținem suspensia de autocelule nucleate din măduva osoasă în număr necesar până la  **$12,6 \pm 1,5 \times 10^6$  celule/ml.**

# Materiale și metode

## Tehnica chirurgicală



Sub control fluoroscopic se efectuează o incizie (~1 cm) pe suprafața laterală a șoldului, cu avansarea ulterioară treptată a trefinei cu canula pînă în focarul necrotic, după care se înlătură trefina astfel inițial prin canulă se realizează decompresia.



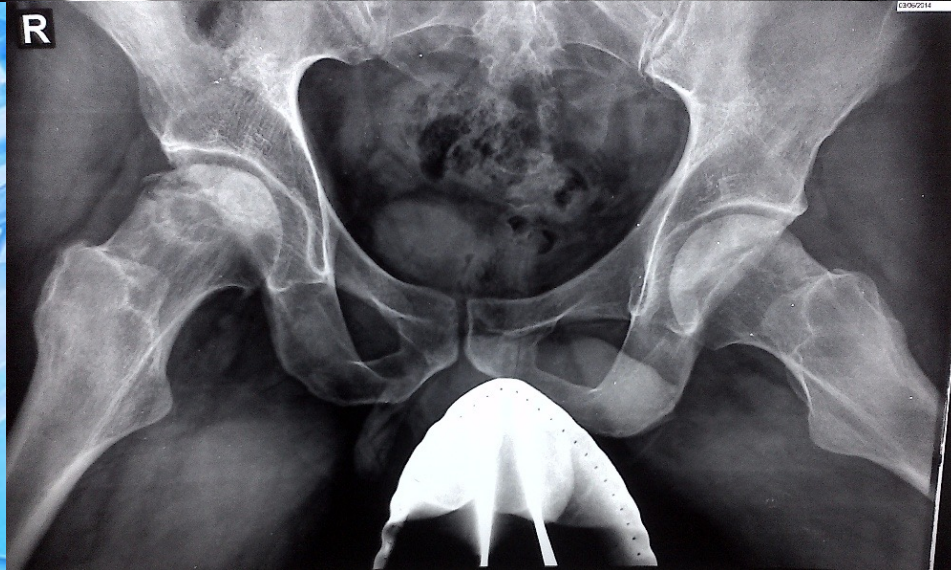
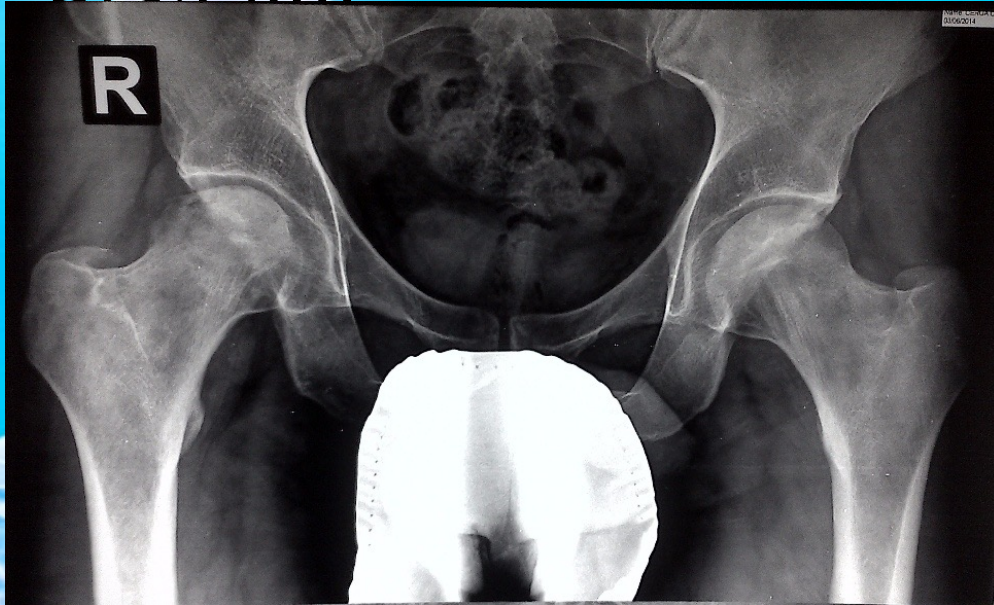
# Materiale și metode

## Tehnica chirurgicală



- Ulterior prin canulă (dotată cu valvă pentru a preveni extravazarea suspensiei celulare) se injectează suspensia de autocelule în focarul necrotic (20 ml, concentrația  $12,6 \pm 1,5 \times 10^6$  celule/ml).
- Înlăturarea canulei
- Suturarea plăgii.

724 ani



- NACF bilaterală,  
gr. IV pe dreapta,  
gr. II pe stânga (Ficat-  
Arlet)



**Va multumesc  
pentru atenție!**