

REZUMAT

Modelul experimental de transplant celular sau tisular cu potential regenerativ din sistemul olfactiv si din mucoasa sinusurilor frontale sau din măduva osoasă hematopoietică include mai multe faze: recoltarea de mucoasă olfactivă sau cultivarea de celule stem cu selectarea celulelor cu potențial regenerativ și procedeul de implant al țesutului recoltat sau al celulelor cu potențial regenerativ selectate prin cultura celulară.

Transplantul se realizează prin abord direct microchirurgical la nivelul leziunii medulare sau se poate efectua prin introducerea pe calea lichidului cefalo-rahidian, prin puncție rahidiană, sau implantul poate fi realizat prin administrarea pe cale sanguină.

Curativ, decompresia MS și crearea unei breșe osoase ce va permite vizualizarea perfectă a leziunii la câine s-a realizat prin hemilaminectomie și/sau laminectomie.

Pentru pregătirea transplantului s-a realizat examenul histologic al mucoasei olfactive în Celulele receptoare olfactive sunt neuroni bipolari cu corpul celular localizat în treimea mijlocie a epiteliului olfactiv. Procesele dendritice se află la polul apical al celulelor olfactive sub forma unor vezicule din care se desprind aproximativ 20 cili modificați, extrem de lungi, organizați pe modelul 2+9 dublete periferice în partea proximală și foarte subțiri distal, cu un număr variabil de microtubuli. La polul bazal, celulele olfactive dau naștere unui singur axon fin, nemielinizat, care penetrează membrana bazală, pentru a realiza sinapse cu neuronii. Axonii celulelor olfactive trec prin aproape 20 de orificii ale osului etmoid pentru a ajunge la bulbul olfactiv și de aici la scoarța cerebrală, unde se realizează sinapsă cu neuronii senzitivi.

Metoda de recoltare și izolare a celulelor stem mezenchimale de la nivelul sângelui ombilical reprezintă o sursă practică și neinvazivă de celule stem necesare terapiei regenerative.

În cazul loturilor nr. I și II, utilizarea clorurii de amoniu a permis obținerea unor culturi celulare destul de omogene, fără hematii. Utilizarea mediului α MEM a permis atașarea precoce a celulelor stem mezenchimale ombilicale la recipientele de cultură, existând doar un număr redus de celule în suspensie, cu modificări de morfologie la 2 zile de cultivare și apariția celulelor fibroblastoide la 3 (I) respectiv 4 (II) zile de cultivare. Utilizarea mediului DMEM a indus atașarea mai tardivă a celulelor stem mezenchimale ombilicale, cu un număr crescut de celule în suspensie, celule fibroblastoide la 4 (III) ,respectiv 5 (IV) zile. Mediul α MEM a avut efecte

benefice asupra viabilității și proliferării celulelor în cultură, la lotul I constatându-se o confluență de 70% la 7 zile, iar la lotul II la 8 zile. Mediul DMEM a avut efecte benefice asupra viabilității celulare, însă cu o rată mai scăzută de proliferare, constatându-se o confluență de 65% la 8 zile în cazul lotului III și la 9 zile în cazul lotului IV. Prin testarea viabilității celulare după decongelare s-a constatat o rată de supraviețuire mai crescută în cazul loturilor de celule cultivate cu mediul α MEM (I și II). S-a observat o viabilitate și proliferare celulară mai crescută pe mediul α MEM (loturile I și II) față de mediul DMEM (loturile III și IV).

Celulele aderente prezintă un fenotip de celule stem mezenchimale caracteristice, aceste celule având formă fusiformă cu bipolaritate accentuată. Prin pasaje seriate se poate obține o cultură pură de celule stem mezenchimale adulte cu posibilitatea de a efectua congelări la pasaje seriate ce duc la omogenizarea morfologiei celulare tipice celulelor stem mezenchimale ombilicale, obținându-se în toate loturile procente mai mari de celule fibroblastoide.

Stocurile decongelate la diferite intervale de timp pot fi utilizate pentru evidențierea viabilității celulare și a normalității genetice, iar prin diferențierea specifică pot servi ulterior ca materie primă pentru terapia regenerativă.

Recomandăm tehnica de obținere a celulelor stem mezenchimale ombilicale prin recoltarea sângelui de la nivelul cordonului ombilical, considerând-o o tehnică relativ ușor de realizat, cu implicații practice atât în cadrul terapiei regenerative autoloage cât și a celei heteroloage.

Rezultate obținute

1. Modelul experimental pentru transplantul celulelor neurale din mucoasa olfactivă și a celulelor stem în leziunile medulare la câine
2. Metodologie de cultivare a celulelor stem mezenchimale ombilicale.
3. Articole indexate ISI – 2; articole indexate BDI – 2; capitol carte – 1.