

BANCA DE  
ȚESUTURI ȘI CELULE UMANE: ISTORIC,  
ACTUALITĂȚI ȘI PERSPECTIVE

Viorel NACU<sup>1</sup>,  
Ion BACIU<sup>2</sup>, Anatolie TARAN<sup>1</sup>, Adrian COCIUG<sup>2</sup>,  
<sup>1</sup>USMF N. Testemițanu,  
<sup>2</sup>IMSP Spitalul Clinic de Traumatologie și Ortopedie

**Summary**

**Tissue and cellular bank: history, actualities and perspectives**

*The article presents the literary review on the problems of the human tissue and cells banking and transplantation, the history of the human tissue banking and cellular transplantation in Moldova. The global and national priority directions in human tissue engineering and cells transplantation are shown.*

**Key words:** human tissue, tissue banking, stem cells.

**Резюме**

**Банк человеческих тканей и клеток: история, актуальность и перспективы**

*Статья представляет собой обзор актуальных проблем, связанных с консервацией и трансплантацией клеток и тканей, истории консервации и трансплантации клеток и тканей в Молдове. Также изложены современные мировые и национальные тенденции в тканевой инженерии и клеточной трансплантации.*

**Ключевые слова:** человеческие ткани, консервация тканей, стволовые клетки.

**Actualitatea temei**

Odată cu dezvoltarea tehnicilor chirurgicale, utilizarea largă a endoprotezelor, perfecționarea tratamentului chirurgical în oncologie, direcționat spre păstrarea integrității membrilor prin reconstrucția defectelor segmentare osoase, transplantul de os alogen a devenit o metodă utilizată frecvent în intervențiile chirurgicale ortopedice. În Franța, în 2002, au fost implantate 11000 de grefe osoase alogene, iar în Republica Moldova anual – peste 300 de grefe.

Stocarea de grefe osoase a devenit un element important pentru medicina contemporană, deoarece aceste alogrefe sunt utilizate în calitate de substituent al osului sau de supliment la autogrefarea osoasă. Metodele de conservare utilizate în Banca de țesuturi și celule se realizează în condiții de siguranță aseptică și de evitare a transmiterii diverselor maladii.

Au fost elaborate criteriile-standard pentru selectarea donatorilor, tehnicile de prelevare, facilitățile corespunzătoare și condițiile de păstrare. Cercetarile curente pot oferi mai multe abordări eficiente pentru a menține celulele viabile în timpul depozitării alogrefelor osteocondrale.

Osteogeneza mai activă este asigurată de osul spongios, cum ar fi cel din creasta iliacă. Deși nu este la fel de trainic ca osul cortical, osul spongios este înlocuit mai rapid de țesutul osos propriu, comparativ cu cel cortical, prin permiterea pătrunderii prin trabeculele osoase a elementelor celulare ale recipientului.

O alogrefă este cea mai bună alegere atunci când cantitatea de os necesară nu poate fi acoperită din rezervele pacientului. Alogrefa oferă de obicei mai mult sprijin structural și mai puțină osteogeneză. În cazul în care se necesită și sprijin structural, și osteogeneză pot fi combinate autogrefele cu alogrefele.

L. Ollier a prezentat pentru prima dată, în 1858, la Lyon, o lucrare științifică referitoare la utilizarea grefelor osoase, în particular a xenogrefelor. Prima alogrefă osoasă la om a fost utilizată de Mac Even în 1878, la Glasgow, Marea Britanie, dar nu s-a bucurat de succes din cauza complicațiilor de natură infecțioasă. E. Lexer, în anul 1925, a raportat despre utilizarea a 34 de alogrefe articulare, constatând rezultate pozitive în 50% din cazuri. 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. [4, 6, 8].

În Republica Moldova, transplantul de țesuturi se practică din anul 1960, preponderent al segmentelor de os tubular și spongios, supuse congelării sau liofilizării și importate din laboratoarele respective ale Centrelor ortoped-traumatologice din Kiev, Harkov și Moscova. Aceste transplanturi au fost folosite în intervențiile chirurgicale cu substituirea defectelor osoase în urma diverselor procese displazice, tumorale sau posttraumatice.

În anul 1962, conform recomandărilor lui L. Gladărevski și N. Testemițanu, a fost fondat Laboratorul de conservare a țesuturilor în cadrul Stației Republicane de Transfuzie a Sângelui (șef de laborator – Igor Ivanenco, 1962-1992) în conformitate cu Ordinul Ministerului Sănătății RM nr. 46 din 28.02.1962. În luna mai 1966 acest laborator a fost transferat la Spitalul Clinic de Traumatologie și Ortopedie. În perioada 1993-2011, în calitate de șef al Laboratorului de conservare a țesuturilor a activat dr. în medicină Ion Baciu.

Laboratorul de recoltare și conservare a țesuturilor alogene de la 1 noiembrie 2011, cu concursul Ministerului Sănătății și al Agenției de Transplant, a fost redenumit în *Banca de Țesuturi și Celule* în cadrul IMSP SCTO, prin reutilizarea și reamplasarea lui într-un local adaptat pentru un astfel de gen de activitate (filtru

de intrare, cameră curată, sector de stocare, sector de distribuire etc.), fiind dotat cu utilaj care permite diversificarea metodelor de conservare și lărgirea spectrelor grefelor prezervate (cornee, vase, valve cardiace, sânge ombilical etc.). Ea este unica Bancă de Țesuturi din Republica Moldova și este destinată asigurării IMSP din republică cu grefele tisulare necesare pentru tratamentul pacienților cu deficiențe tegumentare [12].

Începând cu anul 1970, în Republica Moldova, pentru prima dată în fosta URSS, s-a propus o metodă nouă de conservare a țesuturilor în cadrul Catedrei *Chirurgie Operatorie și Anatomie Topografică* a USMF *Nicolae Testemițanu* (V. Parfentieva, D. Razvodovschi, V. Dmitrienco) [10] în formaldehidă de 0,5%, pH de 7,3-7,4. Odată cu implementarea metodei respective de conservare a țesuturilor, cheltuielile pentru pregătirea și păstrarea grefelor de țesuturi în acest conservant au devenit mai mici. Argumentarea științifică a utilizării grefelor formalizate pentru diferite regiuni ale aparatului locomotor a fost elucidată în multiple teze de doctor și doctor habilitat realizate în cadrul Catedrei *Chirurgie Operatorie și Anatomie Topografică*: I. Brus, teza de doctor (1972), O. Bedencov, teza de doctor (1980), B. Topor, teza de doctor și de doctor habilitat (1980, 1992), L. Chiroșca, teza de doctor habilitat (1989), V. Remizov, teza de doctor (1979), V. Nacu, teza de doctor (2001), și în cadrul Catedrei *Ortopedie și Traumatologie*: I. Marin, teza de doctor habilitat (1984), L. Iacunina (1983) [9, 10, 11].

În 50 de ani de activitate, în Laboratorul Spitalului Clinic de Ortopedie și Traumatologie au fost preparate alogrefe pentru chirurgia reconstructivă și plastică – peste 30 de mii de grefe din os cortical și spongios, tendon-os-tendon, grefe de cartilaj, alotendoane și semiarticulații. Numai pentru tratamentul bolnavilor cu procese oncologice benigne și displazice osoase profesorul Ion Marin a efectuat peste 600 de intervenții chirurgicale, folosind alogrefe corticale osoase cu rezultate finale pozitive în 95% cazuri la distanță de peste 40 de ani, inclusiv 22 pacienți la extremități articulare mari. Conform datelor clinice, pe parcurs de peste 40 de ani la pacienți nu s-au înregistrat reacții adverse [4].

Banca de Țesuturi este o parte componentă a serviciului de ortopedie și are ca scop nu numai depozitarea pieselor osoase destinate transplantării, dar și colectarea, conservarea, testarea la diverse maladii și distribuirea lor instituțiilor medicale care le necesită. O bancă de țesuturi modernă trebuie să fie o unitate autonomă, dotată cu utilaj modern de prelevare, conservare și depozitare a grefelor osoase, ce corespunde cerințelor înaintate de structurile de profil ale Uniunii Europene și serviciile sanitare naționale autorizate.

Din momentul prelevării și până la transplantarea grefei se parcurg o serie de etape sistematizate după un anumit protocol, structurat în funcție de sursa folosită pentru prepararea ei. Fiecare grefon în parte este înregistrat în banca de date informatizată,

specificându-se: data recoltării; proveniența (specia, circumstanțele recoltării, regiunea anatomică); forma; lungimea; lățimea; diametrul; radiografia grefonului; greutatea; fișa de analize obligatorii ale donatorului și rezultatele testării lui.

Pentru grefa osoasă este foarte importantă metoda de conservare, prelucrare și păstrare, pentru menținerea intactă a elementelor sale morfoinductive. Cea mai eficientă, la moment, este considerată congelarea într-un mediu crioprotector, care asigură supraviețuirea celulelor osteogene și proteinelor morfogenetice osoase, grefa demineralizată poate fi liofilizată pentru a asigura pastrarea ei ulterioară [5, 7, 8].

Grefele destinate congelării, după testare, se introduc în stabilizatorul de temperatură pentru 2 ore la temperatura - 40C<sup>0</sup>, după care se transferă în refrigeratorul criogenic, unde pot fi păstrate până la 2 ani. Grefoanele pot fi conservate în stare uscată sau în pungă specială cu antiseptice.

Studiile recente arată că o metodă efectivă de alternativă pentru sterilizarea materialelor biologice și a utilajului medical este SC-CO<sup>2</sup> (*super critical carbon dioxide*). Acest proces este unul protejant, menținând ultrastructura, morfologia și profilul proteic al țesuturilor.

Prelucrarea cu scop de sterilizare a grefei poate include sterilizarea prin metode fizice – cu raze β sau γ, utilizarea temperaturii ridicate, degreasarea cu etanol; solvenți; denaturanți proteici pentru excluderea particulelor proteice de origine infecțioasă care pot fi în transplant.

Organismul matur posedă capacități de autoreparare și, în acest sens, un rol important este atribuit celulelor stem capabile, în caz de necesitate, să stea la baza formării diferitelor țesuturi. Pioneratul, în efectuarea acestor cercetări, îi aparține savantului rus A. Fridenștein, care a inițiat studiul acestor celule nu numai în calitate de predecesoare hematopoietice, dar a început și lucrul de elucidare a rolului lor în regenerarea altor țesuturi [1].

Actualmente multiple cercetări au pus în evidență faptul că celulele medulare, crescute în laborator în condiții specifice, se dezvoltă în celule osoase, cartilagineoase, adipoase și musculare. Astfel, celulele măduvei osoase sunt o sursă nu numai pentru celulele hemopoietice, ci și pentru cele mezenchimale, dezvoltarea cărora poate fi direcționată în formarea *in vitro* a celulelor necesare. Probabil, după prelucrarea corespunzătoare și inocularea în mediul respectiv, aceste celule pot fi capabile să restabilească integritatea morfologică și cea funcțională a țesuturilor în regiunea administrării [1, 2, 5].

Prima bancă de celule stem a fost creată în 1990 în SUA, în prezent existând în lume mai multe unități de acest fel. În pofida discuțiilor controversate privitor la eficacitatea, siguranța și oportunitatea utilizării celulelor stem în terapia umană, se lărgeste spectrul lor în clinică: Hematologie (leucemiile); Cardiologie (infarctul miocardic); Endocrinologie (diabetul); Der-

matologie (bolile țesutului conjunctiv); Oncologie (leucemiile); domeniul Sistemului Nervos central și celui Periferic (traumatisme cranio-cerebrale cu afectarea țesutului neural); Hepatologie (ciroza hepatică, hepatitele cronice); Oftalmologie; Otorinolaringologie; Ortopedie și Traumatologie (consolidări lente, pseudoartroze, artroze deformante, osteomielite etc.) [2, 3, 5].

Firma biotehnologică *Osiris Therapeutics* a obținut tulpini de celule stem mezenchimale din biotate ale măduvei osoase de la donatori. Din biotat se obțin aproximativ 1 mil. de celule stem, care se multiplică prin cultivare până la 500 mil. Apoi aceste celule sunt administrate în fluxul sangvin al pacienților după radio-chimioterapie, pentru a stimula formarea coloniilor de celule progenitoare în măduva osoasă a pacientului, întru restabilirea hematopoiezei și rezervelor de celule stem în măduva osoasă.

Trebuie de menționat că ideea utilizării culturilor celulare osteomedulare embrionare în tratamentul diferitelor afecțiuni ale aparatului locomotor a fost propusă la noi în țară încă în anii '70 ai secolului XX. În 1971, Pavel Ciobanu, împreună cu Nicolae Cereș, și-au propus să încerce utilizarea celulelor fetale în calitate de stimulatori ai procesului de consolidare a fracturilor. În anul 1975, problema în cauză a fost obiectul analizei la Consiliul Științific al Institutului de Cercetări Științifice în Traumatologie și Ortopedie (Moscova, 12.01.1975), la care a fost evaluată drept metodă de perspectivă, recomandând continuarea cercetărilor în cadrul USMF *Nicolae Testemițanu*, numind și consultanți științifici: G. I. Lavrișceva și V. I. Govallo. Au fost efectuate experimente *in vitro* și *in vivo* pe animale. Ulterior metoda a fost utilizată și în clinică, la pacienții cu consolidare lentă a fracturilor, pseudoartroze și osteomielită posttraumatică a oaselor lungi [1].

O atenție deosebită atrag celulele stem după ce, în 1998, cercetătorii Tompson D. și Gherhard D. au obținut tulpini imortale de celule stem. În 1999, revista *Sciens* a apreciat această descoperire ca fiind a treia după importanță după descifrarea spiralei de ADN și genomului uman. Concomitent, diverse companii activitatea cărora este legată de biotehnologii au obținut mai mult de 1500 de patente ce vizează utilizarea, cultivarea celulelor stem. Totodată, este la început de cale utilizarea acestor celule pentru obținerea biotransplanturilor care ar înlocui organele donatoare, destinate transplantării. Necesitățile medicinei în acest tip de material sunt enorme. Numai 10-20% din cei care necesită transplant de organ se tratează, 70-80% decedază fără a obține tratamentul necesar, fiind pe lista de așteptare a transplantelor.

Băncile publice prelevează și conservează unități de sânge ombilico-placentar (SOP) pentru o posibilă necesitate. În lume există sute de bănci de SOP, repartizate în felul următor: 40% în Europa, 30% în Statele Unite ale Americii și în Canada, 20% în Asia și 10% în Australia. Stocurile mondiale dispun

de mai mult de 145.000 de donări de SCO ce deja au furnizat mai mult de 3.000 de grefări (în majoritatea cazurilor pentru patologiile sangvine).

## Concluzii

1. Alogrefele de țesuturi sunt folosite pe larg în chirurgia reconstructivă și plastică la adulți și copii: în traumatologie și ortopedie, oncologie, neurochirurgie, oftalmologie etc.

2. Actualmente terapia cu celule este o direcție prioritară în medicina modernă. Utilizarea acestui tip de transplant celular este o alternativă a tratamentului medicamentos și reprezintă o cale posibilă de soluționare a problemelor legate de insuficiența cantitativă a materialului destinat transplantării.

3. Pentru dezvoltarea acestei direcții științifico-practice, este necesar de a concentra potențialul experimental și clinic actual în efectuarea cercetărilor fundamentale și clinice.

## Bibliografie

1. Ababii I., Cibanu P., Ghidirim Gh., Nacu V., Șroit I. *Optimizarea regenerării reparatorii a țesuturilor și imunogenezei locale în contextul funcționării nanosistemelor naturale*. Chișinău, 2011, 336 p.
2. Deans R. J., Moseley A. B. *Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses*. În: *Exp. Hematol.*, 2000, v. 28, p. 875-884.
3. Glucman E. *Hematopoietic Stem-Cell transplants using umbilical-cord blood*. În: *N. Engl. J. Med.*, 2001, nr. 344(24), p.1860-1861.
4. Marin I., Vuculov V., V. Dmitrienco, Baciuc I., Moraru A., Spânu L. *Aloplastia defectelor restante la pacienții operați pe fond de tumori benigne și leziuni pseudo-tumorale ale oaselor. Rezultatele la distanță*. *Revista de Traumatologie și Ortopedie*, București, 1997, vol. 7, nr.1, p. 29-32.
5. Nacu V. *Optimizarea regenerării osoase posttraumatice dereglate*. Chișinău: Tipografia Sirius, 2010. 188 p.
6. Sicard A., Mouly R. *Conservation des greffons osseux (banque d'os). Technique, résultats expérimentaux et cliniques*. Paris: Ed. Masson, 1954.
7. Stevenson S. *Biology of bone grafts*. În: *Orthop. Clin. N. Am.* 1999, nr. 30(4), p. 543-551.
8. Urist M. R. *Surface decalcified allogenic bone implants*. În: *Clinical Orthopedy*, 1968, vol. 56, p. 37-50.
9. Брус И. Г., Топор Б. М., Беденкова О. Е. *Костная пластика формализованными трансплантатами*. Кишинэу, 1989, 116 с.
10. Парфентьева В. Ф. *Формализованный алло- и ксеногенный материал в трансплантологии*. Кишинэу: Штиинца, 1986, 135 с.
11. Савельев В. И. *К вопросу жизнеспособности формализованных биотрансплантатаов*. В: *Ортопедия, травматология и протезирование*, 1981, с. 55-57.
12. *Legea privind transplantul de organe, țesuturi și celule umane nr. 42-XVI din 06.03.2008*. În: *Monitorul Oficial al RM*, nr. 81/273 din 25.04.2008.

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

USMF N. Testemițanu, Chișinău, Ștefan cel Mare 192

Tel.: 227782, 069118444, E-mail: nacu\_viorel@yahoo.com