

- cells transplantation with brain-derived neurotrophic factor into the spinal cord injured rat. *Acta Neurochir. (Wien)* 2005, 147: p.985-992.
- 20) Lee R.H., Kim B., Choi I. *et al.*, Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue, *Cell Physiol Biochem* 14 (2004), pp. 311–324.
 - 21) Luyten F.P., Del’Accio F., Bari C., Skeletal tissue engineering, opportunities and challenges. *Best Practice and Research, Clin. Rheumatology*, Vol 15, No. 5, 759-770, 2001
 - 22) Mageed A.S., Pietryga D.W., DeHeer D.H. *et al.*, Isolation of large numbers of mesenchymal stem cells from the washings of bone marrow collection bags: characterization of fresh mesenchymal stem cells, *Transplantation* 83 (2007), p. 1019–1026.
 - 23) Maillet M., *Biologie cellulaire*, Masson, Paris, 2002, p.10-31.
 - 24) Masquelet Alain-Charles *Chirurgie orthopédique*. Paris, 2004, pp. 69-79; 219-253; 363-369.
 - 25) PHILLIPS A. T. M., BROWN D. T., ORAM T. Z., HOWIE C. R., USMANI A. S. The elastic properties of morsellised cortico-cancellous bone graft are dependent on its prior loading, *Journal of biomechanics* 2006, vol. 39, Nr.8, p.1517-1526.
 - 26) Popescu Negreanu T. Utilizarea bioceramicilor și materialelor compozit pe bază de biovitroceramică și colagen în ortopedie. *Revista de ortopedie și traumatologie* Vol.11, 2001, nr. 1-2. p. 3 - 13.
 - 27) Theoleyre S., Wittrant Y., Tat S. K. *et al.* The molecular triad OPG/RANK/RANKL: Involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004;15: p. 457–475.
 - 28) Trueta J. Blood supply and the rate of healing of tibial fractures. *Clin Orthoped Related Research*, 1974, 105: p. 11 – 26.
 - 29) Топор Б. М. Комбинированные пластические материалы из костного матрикса и эмбриональных тканей. Дис. Д-ра хабилитата мед.наук. – М., 1991, 354 с.
 - 30) Фриденштейн А. Я., Лалыкина К. С. Индукция костной ткани и остеогенные клетки-предшественники. *М. Медицина*, 1973, - 224 с.

**CERCETAREA COMPATIBILITĂII BIOLOGICE ȘI PROPRIETĂȚILOR
FUNȚIONALE A IMPLANTELOR DIN MATERIALE MODERNE PE BAZĂ DE
ALIAJE DIN TITAN**

Gheorghe Croitor, Nacu Viorel, Alexandru Bețîșor, Roman Croitor

Catedra Traumatologie, ortopedie și chirurgia de campanie, Catedra de anatomie topografică și
chirurgie operatorie USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

***The research of biocompatibility and functional properties of implants
from modern materials made from titanium alloys***

Our study established the biocompatibility of the nitinol implants in the embryonic cultures, for the first time. On the basis of the positive result obtained, the morphological changes in living tissues and bones at their contact region with the implants have been determined. Thus any presence of citotoxicity and of the negative effect upon reparatory osteogenesis was not detected. Our next step was to determine the anthropometric and physicommechanical properties of the coraco-clavicular ligaments in fresh cadavers. Finally, we suggested a brand new nitinol implant having similar to coraco-clavicular ligaments properties. Our innovation has been patented.

Rezumat

În acest studiu pentru prima dată a fost determinată biocompatibilitatea implantelor de nitinol cu ajutorul culturilor celulare embrionare. Obținînd un rezultat pozitiv, s-a efectuat

cercetarea schimbărilor morfologice în regiunea de contact a implanturilor cu țesuturile moi și osul in vivo. Astfel, s-a demonstrat lipsa citotoxicității acestora și a efectului negativ asupra osteogenezei reparatorii. Apoi a urmat aprecierea pe cadavre a caracteristicilor antropometrice și fizico-mecanice a ligamentelor coraco-claviculare. În final am propus un fixator inovator din nitinol, cu capacități fizico-mecanice analogice ligamentelor coraco-claviculare, care a fost brevetat.

Actualitatea

Tendențele actuale ale cercetării în domeniul traumatologiei-ortopediei și ingineriei materialelor se îndreaptă, din ce în ce mai mult, către dezvoltarea unor materiale metalice noi cu performanțe superioare, care să răspundă exigențelor medicinei moderne. O importanță deosebită se acordă materialelor a căror proprietăți se apropie de cele ale țesuturilor vii, care ar permite confecționarea implanturilor și aplicarea unor metode și tehnici chirurgicale minim invazive de maximă eficiență.

În ultimii ani, atenția cercetătorilor tot mai des este îndreptată spre examinarea posibilităților confecționării noilor implante traumatologice din diferite aliaje de titan. În chirurgia modernă un deosebit interes a apărut către aliajele cu memorie termică și îndeosebi către nitinol care a fost descoperit în anul 1962 de William Buehler și colaboratorii săi [1]. Numele deplin al nitinolului este – Nickel Titanium Naval Ordinance Laboratory [2]. Acest aliaj specific este obținut prin topirea a 55% nickel și 45% titanium, având proprietatea de memorie termică a formei și o înaltă rezistență la solicitările de oboseală ce depășește 400 mln. cicluri [3,4].

Obiective

1. Determinarea biocompatibilității implantelor de nitinol cu ajutorul culturilor celulare embrionare.
2. Cercetarea schimbărilor morfologice în regiunea de contact a acestora cu țesuturile moi și osul în experimente pe iepuri pentru a demonstra lipsa citotoxicității acestora și a efectului negativ asupra osteogenezei reparatorii.
3. Studiu cadaveric pentru aprecierea caracteristicilor antropometrice și fizico-mecanice a ligamentelor coraco-claviculare.
4. Propunerea unui fixator inovator cu memorie termică din nitinol, cu capacități fizico-mecanice analogice ligamentelor coraco-claviculare.

Material și metode de cercetare

Așa materiale ca inoxul sau titanul luate aparte, sunt foarte dure și rigide, având un răspuns foarte mic la presiunea exercitată de țesuturile moi din organism. Proprietățile extraordinare de elasticitate ale Nitinol-ului conferă acestui aliaj proprietăți biomecanice asemănătoare cu cele ale țesuturilor vii (Fig. 1). Această asemănare biomecanică a dat posibilitatea de a fi folosit la confecționarea implantelor de șold, „spacer-ilor” osoase, ancorelor osoase și plăcuțelor craniene. Implantele din materiale simple au o elasticitate liniară și se supun convențional analizei finite de elemente, pe când „Nitinol-ul”, ca un material biologic, se comportă neliniar și astfel este mult mai greu de a fi modelat. În ultimii 5 ani se face fac noi cercetări pentru a îmbunătăți metodele de modelare ale Nitinol-ului [4].

Testarea biocompatibilității implantelor medicale la etapa preliminară conform FOCT-ului se petrece pe cord izolat de broască și spermatozoizi de bovină. Neajunsul acestor metode este laboriozitatea și timpul îndelungat al cercetărilor. Totodată aceste testări nu pot tinde la o precizie deosebită deoarece prin aceste metode nu se testează implanturile, ci mediul lichid în care se află acestea. Pentru o precizie mai mare a studiului noi am modificat metodologia experimentului folosind în locul spermei de bovine și inimilor izolate de broască tulpini de celule embrionare. Experiențele au fost efectuate în laboratorul de țesuturi embrionare a USMF. În calitate de celule embrionare au fost folosite tulpinile de celulele stromale ale măduvei osoase de iepure.

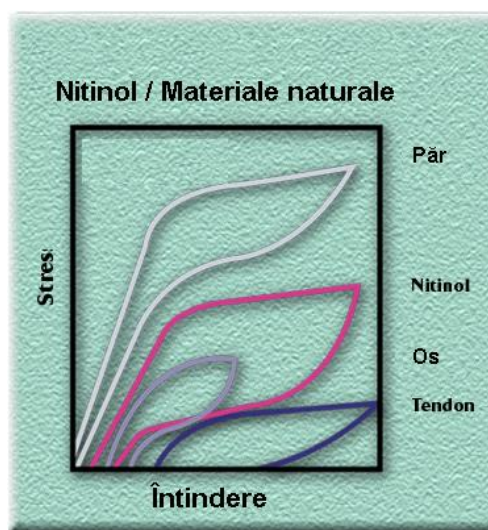


Figura 1. Proprietățile biomecanice ale nitinol-ului și altor materiale naturale.

Pentru separarea celulelor stromale din osul spongios (pelvis) fragmentele prelevate au fost secționare în piese mici, apoi spălate în PBS (fosfat bufer salin) și supuse tratamentului enzimatic secvențial cu hialuronidază, tripsină și colagenază tip IA. Însămânțarea și multiplicarea în monostrat s-a efectuat conform metodei elaborate de Goldring (1996). Ca medii de cultură s-au folosit: DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), iar sedimentul final s-a resuspendat în mediul de cultură de creștere (aceiași DMEM – conținând 10% ser fetal de vițel, 100U/ml penicilină, 100 micrograme/ml amfotericină B). Celulele stromale au fost însămânțate la o densitate celulară de aproximativ 106 celule/ml. Pe fundul flacoanelor cu tulpini celulare au fost plasate obiectele de studiu (bucățele de nitinol, inox și alotransplant cortical conservat în soluție 0,5% formalină).

Bucățelele de nitinol și cele de inox au fost sterilizate în prealabil iar alotransplantatele au fost menținute 20 minute în ser fiziologic. Încubarea s-a efectuat într-un incubator special cu $t=37$ grade C și mediu umed cu CO₂ 5% (BINDER).

La ziua 12 de cultivare suprafețele implanturilor din flacoane au fost examinate la Microscopia electronică prin (Microscopul TESCAN, Laboratorul de testare a materialelor, UTM). În toate cazurile pe suprafața implanturilor studiate au fost depistate celule stromale.

Rezultate obținute și discuții

La examinarea a flacoanelor cu ajutorul microscopiei în contrast de fază - KXD, aderarea celulelor la suport și etalarea au durat 2-3 zile. Examinarea microscopică s-a efectuat la schimbarea mediului de cultură care a avut loc la fiecare 3 zile. Prin această metodă a fost depistată o bună dezvoltare a monostratului de celule stromale în imediata apropiere a implantelor de nitinol.

Aceste experimente au fost repetate cu 5 tulpini de celule embrionale și în toate cazurile semne de citotoxicitate la implantatele de nitinol nu au fost observate.

Particularitățile regenerației reparatorii a țesutului osos în prezența fragmentelor de nitinol au fost apreciate în experiențe pe animale. Pentru aceasta au fost operați 8 iepuri la care sub anestezie generală au fost formate la nivelul 1/3 medii a osului radial defecte circulare subperiostale cu lungimea de circa 2 cm. La 4 iepuri, în defectele formate au fost plasate implante de nitinol, la ceilalți 4, defectele rămânând libere formând grupa de control. După o perioadă de 3 luni animalele au fost scoase din experiment. Membrele toracice fiind prelevate și examinate. La studiul macroscopic și radiologic semne de influență nocivă a implanturilor de nitinol nu au fost observate.

Experiența clinică a demonstrat că artrosinteza rigidă a articulației acromio-claviculare nu este fiziologică, deoarece blocarea mișcărilor în această articulație duce la diminuarea

amplitudinei de mișcare a brațului. Din acest motiv ne-am propus de a încerca posibilitatea confecționării unui fixator cu proprietăți fizico-mecanice apropiate de cele ale ligamentelor coraco-claviculare.

Pentru aceasta am inițiat un studiu cadaveric la Biroul Republican de medicină legală unde pe 19 cadavre proaspete. S-a constatat că lungimea ligamentelor coraco-claviculare variază între 1.4 și 1.8 cm iar întindere acestea cedează prin avulsie sau rupere la 500 (± 134) N, posedând o elasticitate de 103 (± 30) N/mm și elongare pînă la cedare de 7.7 (± 1.9) mm.

Totodată pe cadavre a fost modelată o proteză pentru ligamentele coraco-claviculare, care actualmente se află la stadiul de testare clinică.

Concluzii

În testele cu utilizarea implantelor de NiTi, creșterea celulelor a fost la fel ca și în flacoanele de control. Celulele aderă strîns pe implantele de NiTi ce denotă lipsa citotoxicității acestora.

Osteogeneza reparatorie nu este dereglată de prezența implantelor de NiTi și la acestea nu au fost depistate semne de toxicitate sau degradare după implantarea în organismul viu.

Bibliografie

1. Brady George Stuart, Henry R. Clauser, John A. Vaccari. Materials Handbook (15 ed.). McGraw-Hill Professional. 2002, p. 633.
2. Sang David, Peter Ellis, Lawrie Ryan, Jane Taylor, Derek McMonagle, Louise Petheram, Phil Godding. Scientifica (Illustrated ed.). Nelson Thornes. 2005, p. 80.
3. Jones Gail, Michael R. Falvo, Amy R. Taylor, Bethany P. Broadwell. "Nanomaterials: Memory Wire". Nanoscale science (Illustrated ed.). NSTA Press. 2007, p. 109.
4. Ильин А.А., Колачѳв Б.А., Полькин И.С. Титановые сплавы. Состав, структура, свойства. ВИС-МАТИ. Москва 2009, 519 с.

APLICATIILE CULTURILOR DE KERATINOCITE IN ACOPERIREA MARILOR DEFECTE TEGUMENTARE LA ARSI (Revista literaturii)

Anatolie Taran¹, Constantin Furtuna²

Catedra Traumatologie, ortopedie si chirurgie de campanie¹,
Laboratorul cultura celulara si inginerie tisulara² USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

Keratinocyte culture applications in covering the biggest tegumental defects of people suffering from burn

This work proposes an important subject that has always incited the medical thought, and especially, that of the last 30 years: the discovery of some practical solutions for covering tegumental defects, resulted from various traumatism.

Urgent clinical needs for tegumental material of substitution have proved the indisputable value of the epithelial tissues obtention, through the culture and the inestimable benefits that are brought by them, through the utilization in current medical practice, and namely in the case of the vast cutaneous damage.

This work wants to describe the traumatic lesions, that are caused by cutaneous destructions on large surfaces, with a high vital risk, and to present different therapeutic modalities that modern medicine tries to hinder their devastating consequences.

This work tries to enlighten the remarkable value of the new medical success, which is already clinically verified, although the culture epithelium presents some drawbacks, that are in the investigator's attention, who tries to remedy them.