

## **Bibliografie**

1. Andreozzi G.M., Cordova R.M., Scomparin A., Martini R., D'Eri A., Andreozzi F. et al. Quality of life in chronic venous insufficiency - An Italian pilot study of the Triveneto Region. *Int Angiol* 2005; 3:272-277
2. Beale R.J., Gough M.J. Treatment options for primary varicose veins – a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005; 1:83-95
3. Bergan J.J., Kumins N.H., Owens E.L., Sparks S.R. Surgical and endovascular treatment of lower extremity venous insufficiency. *J Vasc Interv Radiol* 2002; 6:563-568
4. Bergan J.J. The vein book, 2007, www.books.elsevier.com
5. Callam M.J. Epidemiology of varicose veins. *Br J Surg* 1994; 2:167-173
6. Ceulen R.P., Bullens-Goessens Y.I., Venne S.J., Nelemans P.J., Veraart J.C., Sommer A. Outcomes and side effects of duplex-guided sclerotherapy in the treatment of great saphenous veins with 1% versus 3% polidocanol foam: results of a randomized controlled trial with 1-year follow-up. *Dermatol Surg* 2007; 3:276-281
7. Enzler M.A., Van den Bos R.R. A new gold standard for varicose vein treatment? *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2010; 1:97-98
8. Evans C.J., Fowkes F.G., Ruckley C.V., Lee A.J. Prevalence of varicose veins and chronic venous insufficiency in men and women in the general population Edinburgh Vein Study. *J Epidemiol Community Health* 1999; 3:149-153
9. Fischer R., Chandler J.G., De Maeseneer M.G., Frings N., Lefebvre-Vilarbedo M., Earnshaw J.J. et al. The unresolved problem of recurrent saphenofemoral reflux. *J Am Coll Surg* 2002; 1:80-94
10. Magnusson M.B., Nelzen O., Risberg B., Sivertsson R. A colour Doppler ultrasound study of venous reflux in patients with chronic leg ulcers. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2001; 4:353-360
11. Kalra M., Gloviczki P. Endovenous Ablation of the Saphenous Vein - Perspectives. *Vascular Surgery and Endovascular Therapy* 2008; 4:371-380
12. Margolis D.J., Bilker W., Santanna J., Baumgarten M. Venous leg ulcer: incidence and prevalence in the elderly. *J Am Acad Dermatol* 2002; 3:381-386
13. Van den Bos R.R., Kockaert M.A., Neumann H.A.M., Nijsten T. Technical Review of Endovenous Laser Therapy for Varicose Veins. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2008; 1:88-95
14. Van den Bos R., Arends L., Kockaert M., Neumann M., Nijsten T. Endovenous therapies of lower extremity varicosities: a meta-analysis. *J Vasc Surg* 2009; 1:230-239
15. Weiss R.A., Feied C.F., Weiss M. Vein diagnosis and treatment: A comprehensive approach. McGraw-Hill Medical, USA, 2001, p.200-249

## **TERAPIA CELULARĂ - CALE ALTERNATIVĂ ÎN TRATAMENTUL ANGIOPATIILOR PERIFERICE**

**Sergiu Vişnevschi**

Laboratorul Inginerie tisulară și Culturi celulare,  
Catedra Anatomie Topografică și Chirurgie Operatorie, USMF „Nicolae Testemițanu”

### **Summary**

#### ***Cell therapy – An alternative way in peripheral angiopathies treatment***

In this article we describe the recent advances in the understanding stem cells properties, the mechanisms of differentiation depending on the origin, methods and sources of obtaining. Being the one of the perspective method at present, cell therapy is used in the treatment of chronic peripheral angiopathies, especially of the lower limbs. The mesenchymal adult autologous cells utilization with the aim to reach the number of capillaries (angiogenesis), and of vessels of higher caliber (vasculogeneza) are a promising approach too.

## Rezumat

În această lucrare sunt elucidate efectele celulelor progenitoare, căilor și surselor de obținere, particularitățile de diferențiere a celulelor stem în dependență de origine tip și cale de administrare. Aspectele și perspectivele terapiei celulare, în tratamentul agiopatilor cronice periferice, în deosebi ale membrilor inferioare. Fiind una din cele mai de perspectivă metode de tratament la etapa actuală, cu utilizare celulelor mezenchimale mature autologe, cu scopul de a mări numărul de capilare (angiogeneza), și vaselor de calibru mai mare (vasculogeneza).

## Actualitatea

Celulele stem sunt definite de trei caracteristici principale. În primul rând, acestea nu sunt celule specializate (spre deosebire de celulele, din care sunt alcătuiți mușchii, creierul, sângele), în al doilea rând, celulele stem sunt capabile de a se diviza o lungă perioadă de timp, și, ca urmare a divizării, se formează două celule identice. Cea de-a treia proprietate importantă a celulelor stem este că acestea pot să se diferențieze în diverse tipuri de celule specializate, așa cum sunt celulele musculare, endoteliale, nervoase, etc. Celulele stem sunt unitatea de bază a organismului, din ele se produc toate 240 de tipuri de celule specializate și țesuturi ale organismului. Un mare număr de celulele stem se conțin în sângele din cordonul ombilical, în embrionul uman, în complexul placentar, în măduva osoasă a adulților. Principală caracteristică a acestora este capacitatea de autosusținere [13]. Terapia celulară sau de regenerare a permis obținerea rezultatelor clinice de nouă calitate în diverse domenii ale medicinei: gerontologie, oncologie, ginecologie, hematologie, imunologie, endocrinologie, cardiologie, obstetrică, psihiatrie, neurologie și neurochirurgie, chirurgie, traumatologie.

Sursele de obținere a celulelor progenitoare:

- Celulele stromale din măduvă osoasă (Bone 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).

După origine celulele progenitoare (stem) sunt repartizate în două grupuri:

1. Celule embrionare, fetale.
2. Celule mezenchimale mature.

Cele mai frecvente surse a celulele embrionare este blastocistul. Capacitatea de diferențiere a acestora este descrisă de un spectru destul de larg, aceste celule pot da naștere oricărei linii celulare a organismului în condițiile respective.

Dezavantaje: pot provoca apariția tumorilor de geneză embrionară (teratoame).

### Avantaje:

1. Prezintă multipotență pronunțată.
2. Sursă a acestora poate servi placenta și cordonul ombilical din care pot fi izolate aceste celule apoi crioconservate și pastrate pe durata vieții individului.
3. Posedă o slabă încărcătură antigenică.

Cu toate că sângele ombilical conține un număr mai mic de celule stem comparativ cu măduva osoasă, calitatea greșii este superioară față de cea din măduva osoasă.

Celulele progenitoare mezenchimale mature:

- Pot fi izolate din măduva osoasă a pacientului.
- Sunt o subpopulație a celulelor din măduvă osoasă.
- Se diferenciază într-un șir larg de celule în vitro și in vivo.
- Nu formează teratome.

**Dezavantaje:** Nu posedă multipotența celulelor embrionare. În unele cazuri pot exista contraindicații pentru recoltarea acestor celule cum ar fi alcoolismul cronic, tabagismul,

tratamente cu citostatice și glucocorticosteroizi, intoleranța la proteinele de origine animală și citochine specifice, pacienți cu maladii renale cronice și diabet. Cu cât vârsta este mai înaintată cu atât mai mult rezerva acestor celule scade [14,15].

#### **Efectele celulelor progenitoare**

- Normalizează și stimulează metabolismul;
- Mărește activitatea sistemelor imunitar și neuroendocrin;
- Posedă efect exprimat antitumor;
- Reține îmbătrânirea prematură, întinerind multifuncțional organismul;
- Are un efect terapeutic pronunțat pentru o gamă largă de patologii;
- Antiinflamator;
- Imunomodulator;
- Efect angiogenic, ameliorează vascularizarea;
- Stimulează regenerarea celulelor;
- Înlocuiește țesutul afectat.

#### **Obiectivele**

- 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 asociere 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.

**Esența metodei de terapie celulară** constă în efectul activ de substituție și stimulare asupra celulelor și țesuturilor funcțional deficiente în unele organe și sisteme separate, stimularea proceselor reparative și metabolice, imunocorecția și imunostimularea cu ajutorul celulelor stem [17]. La baza tehnologiilor dezvoltate de fabricare a preparatelor din celulele stem, de crioconservare și tratament este prevederea cu privire la necesitatea de păstrare de către obiectele biologice a viabilității, adică posibilităților lor de funcționare după decongelare și introducerea în organism, ce asigură înalte rezultate clinice [1]. Mecanismul de acțiune al materialelor viabile biologice este bazat pe păstrarea de către celulele stem a valorii depline după decongelare și prezența în ele a substanțelor metabolice active de origine naturală, cu efect polifarmacologic de orientare specifică și nespecifică. Avantajul terapiei celulare este primirea de către pacient a unui număr de compuși biologic activi și echilibrați de origine naturală, care pot influența asupra varietății de metabolizare a organismului integru, și, de asemenea, celulele stem, care sunt capabile de a îndeplini funcții de înlocuire [2].

#### **Rolul celulelor endoteliale progenitoare (EPC) în terapia celulară**

În 1997, T. Asahara a descoperit în circulația periferică celulele progenitoare endoteliale (EPC), care, după izolarea și multiplicarea ex vivo sunt în măsură să stimuleze angiogeneza post-ischemică [3]. Seria EPC de origine medulară și care exprimă antigenul CD34+, joacă un rol important în timpul vasculogenezei post-natale, în condiții fiziologice și patologice. Celule stem hematopoietice și EPC, derivate din măduva osoasă sau sânge periferic, contribuie la procesul de neovascularizare postischemică la adulți [4]. Este elucidat faptul că țesut afectat de ischemie declanșează o creștere a concentrației factorilor de creștere sistemici pro-angiogenici (VEGF-A, PlGF-1, SDF-1, EPO), astfel induce mobilizarea celulelor progenitoare din măduva osoasă în circulație periferică. Aceste celule stem, ajungând la teritoriul ischemic ("homing"), aderă la endoteliu, unde sunt încorporate în grupuri noi care apoi se diferențiază în celule endoteliale. Mai mult decât atât, celule progenitoare secreta factori capabili de a stimula angiogeneza și remodelare vasculară. Cu toate acestea, mecanismele moleculare celulare ale acestor etape sunt în mare parte puțin cunoscute. Într-adevăr, diverse fenomene, cum ar fi mecanismele de direcționare ("homing") către locul de neovascularizare, natura acestor semnale, implicarea factorilor de creștere, rolul moleculelor de adeziune sunt studiate în continuare. Descoperirea EPC de origine medulară în sângele periferic la adulți a permis dezvoltarea

strategiilor de terapie celulara proangiogenică în boli ischemice. Administrarea de EPC sau de celulele ale măduvei osoase, intravenos sau direct pe teritoriul ischemic, contribuie la stimularea procesului de neovascularizare în diferite modele experimentale pe animale [5]. În mod similar, injectarea de celule CD34 + îmbunătățește semnificativ angiogeneza post-ischemică într-un model de ischemie cardiacă și a membrilor inferioare [5, 9]. Terapia cu celule stem poate fi, de asemenea, bazată pe administrarea de celule mononucleare din maduva osoasa. Transplantul autolog de celule mononucleare derivate din măduva osoasă stimulează neovascularizarea în membrul inferior sau în inima infarctizată la specii al diferitor animale [8]. În cele din urmă, administrarea de celule stem mezenchimale favorizează procesul de neovascularizare post-ischemică. Aceste celule sunt implicate în procesul de revascularizare cresc secreția numeroșilor factori pro-angiogenici (VEGF, bFGF, PlGF-1 și MCP-1) [10]. Toate studiile preclinice demonstrează o neovascularizare locală, cu un efect funcțional, în special sub formă de creștere a fluxului sanguin și a numărului de vase noi formate.

Rezultatele utilizării terapiei celulare pe modele experimentale de ischemie a membrilor inferioare, în marea majoritate efectuate pe șoareci și șobolani, și de asemenea pe animale mai mari au demonstrat posibilitățile și eficacitatea terapiei celulare în restabilirea fluxului sanguin a membrului ischemizat. Este demonstrată creșterea numărului celulelor endoteliale progenitoare circulante (*endothelial progenitor cells*, EPC) ca răspuns la ischemia experimentală [11]. Și ulterior demonstrarea experimentală a pătrunderii acestor celule în capilare și arteriole țesutului afectat.

**Sistemul antiangiogenic** reprezintă un grup de molecule active care are ca scop inhibarea procesului de angiogeneză. În țesutul normal există un echilibru bine stabilit între procesul de angiogeneză și antiangiogeneză care menține numărul de vase sanguine constant în dependență de necesitățile funcționale ale țesutului respectiv [12]. Ca factori anti angiogenici pot servi și unele medicamente: carboxyamidotriazole, itraconazolul, preparatele citostatice utilizate în tratamentul tumorilor maligne cu scop de inhiba sau stopa angiogeneza tumorală [16]. Elementele figurate ale lanțului antiangiogenic și mecanismele acestora sunt reprezentate în tabel:

### Inhibitorii angiogenezei

Inhibitors	Mechanism
soluble <u>VEGFR-1</u> and <u>NRP-1</u>	<u>decoy receptors</u> [2] for <u>VEGF-B</u> and <u>PlGF</u>
<u>Angiopoietin 2</u>	antagonist of <u>angiopoietin 1</u>
<u>TSP-1</u> and <u>TSP-2</u>	inhibit <u>cell migration</u> , <u>cell proliferation</u> , <u>cell adhesion</u> and survival of <u>endothelial cells</u>
<u>angiostatin</u> and related molecules	inhibit <u>cell proliferation</u> and induce <u>apoptosis</u> of <u>endothelial cells</u>
<u>endostatin</u>	inhibit <u>cell migration</u> , <u>cell proliferation</u> and survival of <u>endothelial cells</u>
<u>vasostatin</u> , <u>calreticulin</u>	inhibit <u>cell proliferation</u> of <u>endothelial cells</u>
<u>platelet factor-4</u>	inhibits binding of <u>bFGF</u> and <u>VEGF</u>
<u>TIMP</u> and <u>CDAI</u>	inhibit <u>cell migration</u> of <u>endothelial cells</u>
<u>Meth-1</u> and <u>Meth-2</u>	
<u>IFN-<math>\alpha</math></u> , <u>-<math>\beta</math></u> and <u>-<math>\gamma</math></u> , <u>CXCL10</u> , <u>IL-4</u> , <u>-12</u> and <u>-18</u>	inhibit <u>cell migration</u> of <u>endothelial cells</u> , downregulate <u>bFGF</u>

<u>prothrombin (kringle domain-2), antithrombin III fragment</u>	inhibit <u>cell proliferation</u> of <u>endothelial cells</u>
<u>prolactin</u>	inhibit <u>bFGF</u> and <u>VEGF</u>
<u>VEGI</u>	affects <u>cell proliferation</u> of <u>endothelial cells</u>
<u>SPARC</u>	inhibit binding and activity of <u>VEGF</u>
<u>osteopontin</u>	inhibit <u>integrin</u> signalling
<u>maspin</u>	inhibits <u>proteases</u>
<u>canstatin</u>	
<u>proliferin-related protein</u>	
<u>restin</u>	

### Concluzii

Terapia celulară angiogenică, actualmente prezintă o metodă terapeutică și în acelaș timp o inovație, care reprezintă un progres tehnologic în conceptul tratamentului bolilor ischemice, în deosebi ale membrelor inferioare și cardiovasculare, cu îmbunătățirea prognosticului acestor pacienți. Această metodă vine să substituie metodele convenționale de tratament al acestor maladii, care până la moment se declară a fi puțin eficiente sau chiar ineficiente, și concomitent face un pas important în progresul terapeutic, care îmbogățește și mai mult arsenalul metodelor de tratament medicale. Studiile preclinice au descoperit mai multe surse de celule stem hematopoietice din: măduva osoasă, celule stem mezenchimale, stem embrionare (ES), care vor face această metodă practică și accesibilă în utilizarea clinică.

### Bibliografie

1. Hirsh A. T., Criquit M. H., Treat-Jacobson D., Regensteiner J. G., Creager M. A., Olin J. W., et al. Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care. JAMA2001; 286, p.1317-1324.
2. Рекомендации Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов «Диагностика и лечение больных с заболеваниями периферических артерий». М. 2007, 112с.
3. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. Science 1997 ; 275 : 964-7.
4. Rafii S, Lyden D. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration. Nat Med 2003 ; 9 : 702-12.
5. Losordo DW, Dimmeler S. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for ischemic disease : part II : cell-based therapies. Circulation 2004 ; 109 : 2692-7.
6. Kalka C, Masuda H, Takahashi T, et al. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. Proc Natl Acad Sci USA 2000 ; 97 : 3422-7.
7. Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. Nat Med 2001 ; 7 : 430-6.
8. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, et al. Augmentation of postnatal neovascularization with autologous bone marrow transplantation. Circulation 2001 ; 103 : 897-903.
9. Murohara T, Ikeda H, Duan J, et al. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. J Clin Invest 2000 ; 105 : 1527-36.
10. Kinnaird T, Stabile E, Burnett MS, et al. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. Circulation 2004 ; 109 : 1543-9.

11. Nikol S., Baumgartner I., Van Belle E. et al. Therapeutic angiogenesis with intramuscular NV1FGF improves amputation-free survival in patients with critical limb ischemia. *Mol. Ther.* 2008; 16(5):972–8.
12. Hayden, Erika C. (2009-04-08). "Cutting off cancer's supply lines". *Nature* 458 (7239): 686–687.
13. Murohara T, Ikeda H, Shintani S, Sasaki KI, Eguchi H, Onitsuka I, Matsui K, Imaizumi T. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. *J Clin Invest* 2000 ; 105 : 1527-35.
14. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, Magner M, Isner JM, Asahara T. Ischemia – and cytokine – induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 1999 ; 5 : 434-8.
15. Davani S, Marandin A, Mersin N, Royer B, Kantelip B, Hervé P, JP Etievent, JP Kantelip. Mesenchymal progenitor cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a rat cellular cardiomyoplasty model. *Circulation* 2003 ; 108 : II-253-II-258.
16. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Sasaki K, Duan J, Imaizumi T. Augmentation of postnatal neovascularization with autologous bone marrow transplantation. *Circulation* 2001 ; 103 : 897-902.
17. Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Harteley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK, Goodel MA. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 2001 ; 107 : 1395-402.

## DUODENOSTAZA ȘI IMPACTUL EI ASUPRA CĂILOR BILIARE EXTRAHEPATICE. REVISTA BIBLIOGRAFICĂ

**Artur Hurmuzache**

LCȘ “Chirurgia reconstructivă a tractului digestiv”, USMF “N. Testemițanu”

### **Summary**

#### *Duodenostasis and its impact on biliary duct. Literature review*

Duodenostasis is an element of pathogenetic chain responsible for the pathology of the hepatobiliopancreatic zone. This article is a synthesis of publications dedicated to this problem. We examined 198 scientific papers related to duodenostasis and biliary disorders. In the end we established that the role of duodenostasis in biliary pathology is under evaluated, especially in the patients that underwent surgery for improvement or reestablishment of biliary flow.

### **Rezumat**

Duodenostaza este unul din elementele lanțurilor patogenetice implicate în patologia zonei hepatobiliopancreatice (HBP). Acest articol este conceput ca o sinteză a literaturii de specialitate dedicată acestei probleme. Am examinat 198 lucrări științifice ce ating tematica duodenostazei și tulburărilor biliare. În final am constatat că rolul duodenostazei în patologia biliară este subevaluat, mai ales la pacienții care au fost supuși intervențiilor chirurgicale cu scop de ameliorare sau restabilire a fluxului biliar.

### **Introducere**

Afecțiunile căilor biliare extrahepatice se clasează pe unul dintre primele locuri printre alte maladii ale cavității peritoneale.

În structura morbidității biliare, boala litiazică constituie 98% și este prezentată preponderent de colecistita litiazică (Angelescu N., 2001). Boala litiazică este foarte răspândită în lume. De exemplu, 15% dintre americani suferă de colecistită cronică calculoasă. Anual în SUA se efectuează 650-700 mii de colecistectomii (Cynthia W.K., 2002). Tratamentul de elecție