

REZUMAT

Teza de doctorat intitulată „**Cercetări privind auto și allo-terapia regenerativă osteoarticulară la câine și șobolan**” a fost elaborată în cadrul Școlii Doctorale de Medicină Veterinară a Universității de Științele Vieții „Ion Ionescu de la Brad” din Iași.

Lucrarea cuprinde 175 pagini și este alcătuită, conform normativelor aflate în vigoare, din două părți principale. Pentru redactarea tezei au fost consultate 285 de surse bibliografice din literatura de specialitate națională și internațională, relevante pentru tema de cercetare. Datele acumulate au fost prezentate în 41 figuri și 8 tabele.

Originalitatea cercetărilor rezultă din elaborarea unui protocol de izolare și de cultivare a celulelor stem mezenchimale din măduvă, la două specii, respective câine și șobolan. Spre deosebire de alte teze de doctorat din România la care studiile au fost efectuate pe linii celulare standardizate umane, teza de față descrie atât procesul de izolare a celulelor stem mezenchimale, cât și prelucrarea acestora, până la obținerea unor culturi stabile, ce prezintă caracteristicile celulelor stem mezenchimale (aderența la plastic, diferențierea spre linii condrogenice, prezența markerilor specifici).

Tot ca o noutate, am evaluat capacitatea de grefare a acestor celule, prin evaluare histopatologică, la șobolan.

În plus, ca urmare a activității clinice desfășurate în cadrul a două clinici de animale mici din Regatul Unit, am descris utilizarea terapiei cu plasma îmbogățită cu trombocite și a terapiei cu celule stem mezenchimale de origine adipoasă în tratamentul pacienților canini diagnosticați cu osteoartrită.

Prima parte, intitulată „Stadiul actual al cunoașterii” cuprinde trei capitole (29 de pagini) cumulând informații prezente în literatura de specialitate referitoare la patogeneza osteoartritei și la metodele de diagnostic utilizate în medicina veterinară. Unul dintre capitole însumează datele acumulate la nivel mondial în domeniul medicinei regenerative, iar ultimul capitol descrie opțiunile actuale existente în medicina veterinară utilizate în managementul și tratamentul osteoartritei.

Partea a II-a, intitulată „Cercetări proprii”, este structurată pe șapte capitole (82 de pagini) și prezintă scopul și obiectivul cercetărilor, materialele și metodele de lucru, rezultatele obținute, precum și interpretarea rezultatelor, dar și discuții și concluzii enunțate pe seama acestora.

În teză se regăsesc și date proprii, publicate în reviste de specialitate din țară și din străinătate.

Primul capitol din partea a doua a tezei (Capitolul IV) prezintă scopul și obiectivele cercetării, precum:

- evaluarea incidenței afecțiunilor osteoarticulare la carnivorele domestice dintr-o populație studiată;
- stabilirea metodelor de diagnostic utilizate în osteoartrită;
- obținerea unor protocoale experimentale de recolate și izolare a celulelor stem de la câine și șobolan;
- descrierea comparativă a două protocoale de cultivare a celulelor stem mezenchimale;
- evidențierea capacității de grefare și caracterizarea culturii celulare obținute;
- descrierea protocolului de terapie cu celule stem mezenchimale în osteoartrită la câine;
- evaluarea cazurilor clinice în care s-a aplicat terapia cu plasmă îmbogățită cu trombocite, ca parte a protocolului de tratament în osteoartrita la câine;

Capitolul V, denumit „CERCETĂRI PRIVIND INCIDENȚA AFECȚIUNILOR OSTEOARTICULARE LA CÂINE” a avut scopul de a evalua care este incidența și distribuția pe specii a

afecțiunilor locomotorii la carnivorele domestice, urmărindu-se o evaluare a morbidității în funcție de rasă și sex la câine. În vederea atingerii acestui obiectiv, au fost analizate datele din registrul de consultație a unei clinici din Marea Britanie, pe o perioadă de 19 luni. Datele analizate au cuprins informații legate de distribuția pe patologii a cazurilor ce au beneficiat de un examen radiologic, majoritatea cazurilor cu afecțiuni locomotorii fiind diagnosticate cu osteoartrită.

Rezultatele au evidențiat faptul că din numărul total de pacienți luați în studiu, majoritatea afecțiunilor locomotorii au fost semnalate la câine, populația interesată fiind de vârstă medie spre înaintată și sex feminin.

Capitolul VI, intitulat „CERCETĂRI PRIVIND DIAGNOSTICUL RADIOLOGIC AL OSTEOARTRITEI LA CÂINE” a urmărit evidențierea aspectelor radiologice caracteristice afecțiunilor locomotorii cel mai frecvent diagnosticate la câine. Studiul subliniază utilitatea examenului radiologic în stabilirea diagnosticului de osteoartrită la câine, prin evidențierea informațiilor câștigate pe seama acestuia, precum: modificări ale suprafețelor articulare, spațiu articular redus, creșterea densității osoase sau deformări articulare. În plus, pentru obținerea unui diagnostic de certitudine, cele mai multe cazuri beneficiază de examene complementare precum: profilul hematologic și biochimic, evaluarea cantitativă a proteinei C reactive, examen citologic și microbiologic al lichidului sinovial și examen histopatologic.

Capitolul VII, intitulat „CERCETĂRI IMUNOHISTOCHIMICE ȘI HISTOPATOLOGICE LA ȘOLAN” este structurat pe trei subcapitole.

În primele două subcapitole, scopul studiului a fost obținerea unor culturi celulare mezenchimale stabile, pornind de la primul pas, respectiv recoltarea și izolarea acestora. Studiul descrie metodele diferite de recoltare a măduvei atât de câine, cât și de la șobolan. Pentru ambele specii, recoltarea s-a realizat în condiții de maximă sterilitate, o condiție primordială, deoarece culturile celulare nu posedă imunitate proprie.

Al treilea subcapitol, denumit „Cercetări privind cultivarea celulelor stem mezenchimale, caracterizarea lor, inocularea pe modele experimentale și evaluarea capacității de grefare” descrie comparativ două metode de cultivare a celulelor stem mezenchimale de la șobolan. În urma obținerii unor culturi celulare stabile, prin efectuarea a patru pasaje, sunt evaluate caracteristicile acestora, precum: aderența la plastic, morfologia inițial fibroblastiformă, apoi stelată. Pentru a demonstra potențialul regenerativ cartilagininos al celulelor stem mezenchimale utilizate ca allo-grefă, am creat o leziune cartilaginoasă pe trohlea femurală la șobolani, unde am inoculat celule stem, urmărind potențialul regenerativ cartilagininos prin intermediul examenului histopatologic.

De asemenea, un alt scop al studiului a fost identificarea sau absența unor markeri de diferențiere celulară specifici celulelor stem mezenchimale de șobolan, aspect evidențiat prin imunohistochimie.

Capitolul VIII, „CERCETĂRI PRIVIND TERAPIA AUTOLOGĂ CU CELULE STEM MEZENCHIMALE DE ORIGINE ADIPOASĂ LA CÂINE” reprezintă sumarul clinic al cazurilor la care, din protocolul de tratament pentru osteoartrită a făcut parte și auto-transplantul de celule stem mezenchimale. Studiul s-a desfășurat pe o perioadă de trei ani și 10 luni, în cadrul unei clinici private de animale de companie din Marea Britanie. În prezentul studiu, am descris tehnica de recoltare a țesutului adipos cât și tehnica de inoculare a suspensiei celulare obținute. De asemenea, am urmărit în dinamică modul în care s-a ameliorat gradul de șchiopătură, prin examen clinic corelat cu observațiile proprietarilor. Acest protocol a fost descris anterior în literatura de specialitate din Marea Britanie, însă nu am găsit nici un echivalent în țară.

Pe baza acestui studiu, am enunțat concluzii privind vârsta medie a pacienților afectați de osteoartrită, care în acest studiu a fost de 6,15 ani, cel mai tânăr pacient suferind de osteoartrită având 3 ani,

iar cel mai în vârstă 9 ani, distribuția pe sexe: în studiul de față, procentul de masculi afectați (62.5%) fiind mai crescut decât cel al femelelor (37.5%), care sunt articulațiile cele mai frecvent afectate, respectiv articulația genunchiului (50%), urmată de articulația cotului (37.5%) și eficiența clinică a acestui tratament: la 50% dintre pacienții luați în studiu, terapia autologă cu celule stem adipoase a rezultat în eliminarea șchiopăturii la 2 luni după administrare, iar în celelalte cazuri a fost înregistrată a diminuare semnificativă a gradului de șchiopătură.

Pentru capitolul IX, intitulat „CERCETĂRI PRIVIND UTILIZAREA PLASMEI ÎMBOGĂȚITĂ CU TROMBOCITE ÎN MEDICINA VETERINARĂ”, studiul a fost efectuat pe o perioadă de aproximativ 6 ani, respectiv octombrie 2018- septembrie 2024, subiecții analizați fiind pacienți din cadrul a două clinici de animale mici din Marea Britanie: Black Sheep Vets din Louth, Lincolnshire și Fivelands Veterinary Centre din Birmingham.

În acest studiu sunt descrise două metode de obținere a plasmei îmbogățite cu trombocite: sistemul V-PET (PALL Life Sciences) și sistemul PRP-HA (cell therapy sciences), ce sunt licențiate pentru a fi folosite la câine. Sistemul V-PET separă plasma îmbogățită cu trombocite prin filtrarea sângelui utilizând gravitația și un filtru special, în timp ce sistemul PRP-HA, o formulă care are în plus acid hialuronic este bazat pe centrifugare.

La pacienții din studiul prezent, sexul predominant afectat a fost cel masculin, în procent de 57,14%, rezultatul obținut fiind diferit de literatura de specialitate, unde femelele au fost descrise ca fiind afectate mai frecvent de osteoartrită. Rasa cea mai des afectată a fost Labrador Retriever, în procent de 21,42%, urmată de Golden Retriever și Shih Tzu, ambele având un procent de 14,28%. Toate cele trei rase sunt populare în Marea Britanie, dar și frecvent afectate de osteoartrită. Îmbunătățirea gradului de șchiopătură a variat între pacienți, la 64,28 % dintre aceștia gradul de șchiopătură fiind 0 la 2 luni după administrare, în timp ce la 35,72% dintre pacienți șchiopătura s-a redus la gradul 1 (mers normal la pas, cu șchiopătură ușoară la trap).

Capitolul X, intitulat „Concluzii generale” prezintă cele mai importante concluzii care au fost evidențiate în urma cercetărilor efectuate, precum și sugestii și recomandări pentru medicii veterinari interesați să ofere standarde ridicate de tratament pacienților suferind de osteoartrită, dar și medicilor pasionați de laborator și de studiul celulelor stem mezenchimale.