

Școala Doctorală în domeniul Științe medicale

Cu titlu de manuscris
CZU: 616.717/.718-089.844-092.9(043.2)

PAVLOVSKI Elena

**PLASTIA DEFECTELOR OSOASE TUBULARE CU
ALLOGREFĂ INCLUSĂ ÎN CIRCUITUL VASCULAR ADOPTIV
(studiu experimental)**

321.18 – ORTOPEDIE ȘI TRAUMATOLOGIE

Rezumatul tezei de doctor în științe medicale

Chișinău, 2026

Teza a fost elaborată în cadrul Catedrei Ortopedie și traumatologie, Laboratorului de Inginerie tisulară și Culturi Celulare, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” a Consorțiului fondator al Școlii doctorale în domeniul Științe medicale.

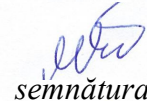
Conducător științific:

Verega Grigore, dr. hab. șt. med., conf. univ.


semnătura

Conducător științific prin cotutelă:

Nacu Viorel, dr. hab. șt. med., prof. univ.


semnătura

Membrii comisiei de îndrumare:

Caproș Nicolae,

dr. hab. șt. med., prof. univ.


semnătura


Croitor Gheorghe,

dr. hab. șt. med., prof. univ.


semnătura

Cociug Adrian,

dr. șt.med., asist. univ.


semnătura

Susținerea va avea loc la 29.04.2026, ora 14:00, în incinta USMF "Nicolae Testemițanu", bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, biroul 205 în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat, aprobată prin decizia Consiliului Științific al Consorțiului din 12.11.2025 (*proces verbal nr. 77*).

Componența Comisiei de susținere publică a tezei de doctor:

Jana Bernic,

dr. hab. șt. med., prof. univ., președinte:

semnătura

Verega Grigore,

dr. hab. șt. med., conf. univ., conducător de doctorat

semnătura

Nacu Viorel,

dr. hab. șt. med., prof. univ.,conducător prin cotutelă

semnătura

Caproș Nicolae,

dr. hab. șt. med., prof. univ., referent

semnătura

Buzu Dumitru,

dr. șt. med., SCTO, Chișinău, Republica Moldova, referent

semnătura

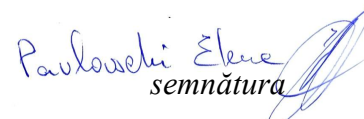
Puha Bogdan Florin,

dr. șt. med., conf. univ. UMF "Gr.T. Popa" Iași, România, referent

semnătura

Autor

Pavlovschi Elena


semnătura

© Pavlovschi Elena, 2026

INTRODUCERE

Utilizarea transplantului osos este o treaptă de succes în tratamentul unui număr mare de afecțiuni congenitale, degenerative, infecțioase, tumorale, traumatice și postrezeccionale ale aparatului osteoarticular [1, 14, 17, 19]. Actualmente, există numeroase metode de transplant osos, iar substituenți utilizați pentru plastia defectelor sunt implimentați ca metodă de bază, sau pot fi combinați cu: transportul osos (Ilizarov), alotransplantul osos crioconservat, autotransplantul osos vascularizat și nevascularizat, endoprotezarea și variante sintetice bioinerte sau bioactive [1, 3, 8, 13,78]. Defectele osoase critice (DOC), în mod deosebit cele ale oaselor tubulare lungi, localizate la nivelul diafizelor membrului pelvin, sunt o provocare serioasă pentru chirurgia contemporană reconstructivă a locomotorului [8, 15]. Autogrefa osoasă vascularizată este considerată de unii autori „standardul de aur” pentru proprietățile biologice ale osului păstrate integral [2, 4]. Alte studii susțin inexistența pentru moment, a unei soluții ideale în plastia acestor tipuri de defecte ale oaselor tubulare [5, 8, 14, 16].

Regenerarea osoasă este adecvată atunci când vascularizarea focarului de fractură (prin arterele intramedulare, vase periostale și metafizare) este optimă. *Arteria nutritia* joacă un rol major în consolidare pe tot parcursul procesului, inclusiv în perioada de modelare osoasă [3]. Anastomoza microchirurgicală a pediculului alogrefei permite crearea condițiilor optime pentru o revascularizare adecvată soldată cu o consolidare bună, rezistență și rigiditate sporită a segmentului grefat [21, 22]. Astfel, fiind demonstrat că grefele osoase vascularizate sunt net superioare, în special pentru reconstrucția defectelor critice ale oaselor tubulare, deoarece păstrează proprietatea de osteogeneză și sursa de vascularizare. Sursa de autogrefe osoase vascularizate este limitată, deci se impune cercetarea alogrefelor compozit [8, 9, 10, 16]. Interacțiunea celulelor sanguine imunocompetente cu endoteliul vascular al grefei reprezintă prima etapă din cascada ce induce ischemia, dereglarea reperfuziei și rejețul grefei; este considerată cauza principală în eșecul post-transplant [6, 7].

Imunosupresia marchează progresul în transplantologia contemporană [10, 12]. Transplantul membrelor, articulațiilor, țesutului osos nu este similar transplantului de organe parenchimotoase vitale, cum ar fi inima, ficatul, ș.a. În cazul țesutului muscular și osteoarticular necesitatea de medicație este de 2-3 ori mai mare ca doză decât în cazul transplantului de organ și necesită a fi de lungă durată pentru a omite complicații sistemice [9, 12]. Pe scară largă imunosupresia pe termen lung nu este argumentată pe fon de riscul indus de toxicitatea organică, malignitate sau alte complicații sistemice; astfel, devine nejustificată în aceste vital necritice situații [20, 21]. Drept compromis ar fi imunosupresia de scurtă durată [9], sau găsirea căii de a o omite în etapa posttransplant osos alogen vascularizat.

Studii recente *in vivo* demonstrează pe șobolani [5], iepuri New Zealand white rabbit-NZWR [20], porcine [16, 17, 21] posibilitatea inducerii neoangiogenezei terapeutice și chirurgicale similare gazdei în alogrefa osoasă vascularizată, pe fon de imunosupresie de scurtă durată (2 săptămâni), cu rezultate bune pe termen lung după caracteristicile mecanice și funcționale ale osului reconstituit [1, 5, 16, 18, 20, 21].

Decelularizarea presupune îndepărtarea celulelor și a antigenelor imunogene asociate din alogrefa osoasă vascularizată prin agenți fizici, chimici și enzimatici, cu menținerea integrității matricei extracelulare (ECM), inclusiv arhitectura peretelui vascular [94]. Un alt avantaj important al acestei tehnici constă în păstrarea integrității canalului vascular, care îl face potrivit pentru repopularea celulară (recelularizare) și pentru asigurarea migrării celulare și proliferare în perioada postoperatorie [58, 59, 60]. Omiterea imunosupresiei, chiar și cea de scurtă durată, prin crearea alogrefei vascularizate osoase fără potențial imunogenic, ar permite emiterea unui algoritm standardizat pentru grefarea eficientă a defectelor osoase largi.

Ar fi decelularizarea grefei una dintre soluții? Ar permite pediculul vascularizat, decelularizat prin metode eficiente pentru țesutul osos, manipulații microchirurgicale? Ar rezista la fluxul sanguin pentru revascularizare și repopularea grefei din interior cu celulele gazdei și obținerea tuturor proprietăților biologice ale osului? Urmează să studiem și să cercetăm.

Modalitatea de expunere a tezei a fost selectat conform tipului Tradițional Simplă.

Scopul: cercetarea premiselor de plastie a defectelor osoase tubulare cu allogrefe compozite decelularizate incluse în circuitul vascular gazdă prin metodă experimentală *in vivo* pentru aprecierea fezabilității.

Obiective:

1. Cercetarea anatomică a vascularizării membrului posterior la animal de laborator (NZWR) și stabilirea segmentului osos tubular lung cu pedicul vascular optim. 2. Elaborarea și testarea procedurii de prelevare și conservare a segmentului osos tubular lung cu pedicul vascular optim pentru decelularizare și includere în circuitul sanguin gazdă.

3. Aprecierea fezabilității metodei de anestezie și operatorie pentru plastia ortotopică *in-vivo* a defectului osos tubular lung cu alogrefă vascularizată compozită decelularizată.

4. Cercetarea și testarea *in-vivo* a vaselor decelularizate prin metodă mixtă (compatibilă pentru grefele osoase integrale compozite: os +vas), pentru studierea rezistenței mecanice la sutura microchirurgicală, TA, undă de puls în circuitul gazdă.

5. Cercetarea prin testarea *in-vivo* a țesutului osos decelularizat prin metodă mixtă (compatibilă pentru grefele osoase integrale compozite: os +vas) și revascularizat prin studierea manifestărilor clinice și paraclinice ale plastiei defectelor osoase tubulare.

Ipoteza de cercetare - metoda proprie elaborată de preparare și testare *in-vivo* a alogrefelor compozite decelularizate este fezabilă pentru transplantare (plastia defectelor osoase tubulare) și prezintă o imunoreactivitate redusă.

Sinteza metodologiei de cercetare și justificarea metodelor de cercetare alese: Studiul a fost efectuat în perioada 2017-2023, în cadrul studiilor postuniversitare prin doctorat în cadrul Școlii Doctorale în Domeniul Științe Medicale.

Etapile cercetării au corespuns cu obiectivele enumerate mai sus:

1. Analiza datelor bibliografice efectuate prin intermediul bazelor de date medicale Google Scholar, PubMed (Medline), Hinari database cu cercetarea celor mai relevante și recente articole și publicații, pentru acumularea volumului informațional teoretic (2017-2023), stocarea lor (peste 600 de articole și rezumate) în Paperpile-soft - Anexa 1.

2. Cercetarea anatomiei și a vascularizării membrului posterior la NZWR. Cercetarea modalității de recoltare a segmentelor diafizare de femur cu păstrarea surselor vasculare optime și suficiente ale osului tubular lung (a. nutricia)- am efectuat această etapă în cadrul Blocului morfologic și Catedrei Anatomie topografică și chirurgie operatorie a USMF „N. Testemițanu”, 2017-2019.

3. Studierea procedurii de conservare (la-840C) și de decelularizare a segmentului osos tubular lung cu pedicul vascular optim, cu păstrarea continuității vasculare pentru includerea ulterioară în circuitul vascular adoptiv. Elaborarea protocolului de anestezie și a celui intraoperator pentru osteosinteza ortotopică a alogrefelor femurale vascularizate decelularizate etapă efectuată în Laboratorul Inginerie Tisulară și Culturi Celulare al USMF „N. Testemițanu”, în cadrul proiectului de cercetare „Nanoarhitecturi în bază de GaN și matrici tridimensionale din materiale biologice pentru aplicații în microfluidică și inginerie tisulară”- 20.80009.5007.20 oferit de Agenția Națională de Cercetare Dezvoltare a Guvernului Republica Moldova, 2020-2022.

4. Cercetarea și testarea *in-vivo* a vaselor decelularizate prin metodă mixtă (compatibilă pentru grefele osoase integrale compozite: os +vas), pentru studierea rezistenței mecanice a vasului decelularizat la sutura microchirurgicală, TA, undă de puls în circuitul vascular gazdă. Etapă ce am efectuat-o în cadrul stagiului de cercetare doctorală în laboratorul de microchirurgie al Centrului Avansat de Cercetare- Dezvoltare în Medicină Experimentală ” Prof. Ostin C. Mungiu” al Universității de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa” Iași, România, prin intermediul bursei Agenției Universitare Francofone de cercetare doctorală „Eugen Ionescu”, 15.09.2021-15.02.2022.

5. Cercetarea prin testarea *in-vivo* a țesutului osos decelularizat prin metodă mixtă (compatibilă pentru grefele osoase integrale compozite - os +vas) și revascularizat prin studierea manifestărilor clinice și paraclinice ale organismului gazdă la animale de laborator medii

NZWR, cu elaborarea unui set de recomandări pentru utilizarea alogrefelor osoase compozite decelularizate, în etapa preclinică de tratament a defectelor osoase tubulare - Laboratorul Inginerie Tisulară și Culturi Celulare și Catedra Ortopedie și Traumatologie a USMF „N. Testemițanu”, 2022-2023.

Studiul a fost aprobat de Comitetul de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu”, fiind examinat la ședința din 21.05.2018, cu emiterea avizului favorabil nr. 75, și în cadrul Comisiei de etică a cercetării nr. 118/18.10.2021 a UMF „G.T.Popa” Iași, România, cu numărul de înregistrare 25807, din 19.10.2021. Autorizarea de proiect nr. 44/04.11.2021 a Direcției Sanitar Veterinară și Siguranța Alimentelor Iași, România.

Studiul chirurgical experimental pilot efectuat oferă informații preliminare valoroase preclinice, cu aprecierea fezabilității. Are limitări legate de eșantion și puterea statistică. Rezultatele trebuie validate ulterior într-un studiu preclinic extins, randomizat și controlat pentru a obține concluzii solide pentru etape clinice de testare a metodei de tratament.

Inovația și originalitatea științifică a rezultatelor obținute: integrarea metodei de conservare și decelularizare a alogrefelor osoase vascularizate cu tehnicile microchirurgicale avansate de revascularizare, prin conectarea grefelor compozit la circuitul vascular al gazdei, permite obținerea unui alotransplant osos ce păstrează integral proprietățile biologice ale osului (osteoconductive, osteoinductive și osteogenice), cu o vascularizare din interior spre exterior, pentru o consolidare osoasă eficientă, cu o imunoreactivitate redusă.

În baza cercetărilor efectuate în cadrul tezei de doctor în științe medicale, au fost dispuse 2 cereri de Inovație cu obținerea certificatelor de inovator în următoarele instituții - IP USMF „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova:

1. **Pavlovschi E.**, Stoian A., Nacu V., Verega Gr., „Alogrefele osoase vascularizate decelularizate ca metodă de tratament a defectelor osoase critice”. Certificat de inovație nr. 6052 din 16 mai 2023.

2. Stoian A., **Pavlovschi E.**, Verega Gr., Nacu V., „Metodă de decelularizare pentru grefele osoase compozite vascularizate”. Certificat de inovație nr. 6058 din 24 mai 2023.

Problemă științifică rezolvată: omiterea imunosupresiei, chiar și cea de scurtă durată, prin crearea alogrefei vascularizate osoase cu potențial imunogenic redus, permite emiterea unui algoritm standardizat preclinic și ulterior clinic pentru plastia ortotopică cu alogrefe osoase vascularizate decelularizate a defectelor segmentare și critice ale osului tubular.

Valoarea aplicativă a lucrării - lucrarea propune un algoritm complet de prelevare, conservare și plastie ortotopică a alogrefei osoase vascularizate decelularizate în condiții *in-vivo*. Analiza detaliată a rezultatelor experimentale *in-vivo*, clinice și paraclinice post-transplant, obținute în studiul pilot realizat pe animale de laborator (șobolani Winstar, iepuri domestici NZWR), fundamentează validarea modelului experimental propriu. Această abordare deschide perspectiva extinderii către plastia defectelor osoase tubulare cu alogrefe osoase vascularizate decelularizate la animale mari, cu potențial de translație în clinica umană, fără necesitatea imunosupresiei sau imunomodulației post-transplant.

Implementarea rezultatelor cercetării: impactul practic al prezentului studiu este util la etapa preclinică prin descrierea a unei tehnici inovatoare de tratament al defectelor osoase tubulare lungi în cadrul Laboratorului de Inginerie Tisulară și Cultură Celulară, departamentului Ortopedie și traumatologie al Universității de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemițanu, Chișinău, Republica Moldova. **Rezultatele obținute** (protocolul de prelevare, conservare și plastie osoasă ortotopică prin includere în circuitul sangvin gazdă al alogrefei osoase vascularizate decelularizate) au fost prezentate în cadrul ședințelor Laboratorului de Inginerie tisulară și culturi celulare, Catedrei de Ortopedie și traumatologie. Rezultatele obținute au fost implementate și în cadrul proiectelor de cercetare: 1. „Nanoarhitecturi în bază de GaN și matrici tridimensionale din materiale biologice pentru aplicații în microfluidică și inginerie tisulară” 20.80009.5007.20 oferit de Agenția Națională de Cercetare Dezvoltare a Guvernului Republica Moldova, 2. Proiect Bilateral: Grefoni osoși nanostructurați cu proprietăți predeterminate (2024-2026) (nr. 29ROMD din 20.05.2024) – Laboratorul de inginerie tisulară și

culturi celulare – Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” (Republica Moldova) și Centrul de Medicină Personalizată – Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București, România.

Inovațiile la tema tezei care au fost implementate în cadrul procesului științifico-practic al IP USMF „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova:

1.”Alogrefele osoase vascularizate decelularizate ca metodă de tratament a defectelor osoase critice”, act de implementare nr: 82 din 16.05.2023

2.”Metodă de decelularizare pentru grefele osoase compozite vascularizate”, act de implementare nr: 88 din 24.05.2023.

Materialele tezei au fost prezentate și discutate în cadrul ședințelor comune ale Laboratorului de Inginerie tisulară și culturi celulare, Catedrei de Ortopedie și traumatologie din 10.04.2025, proces verbal nr 9. La fel au fost discutate în cadrul ședinței Seminarului Științific de profil- 321 Medicină Generală, specialitățile: 321.19 Anesteziologie și terapie intensivă, 321.26 Urgențe Medicale, 321.18 Ortopedie și traumatologie, din 15.10.2025, proces verbal nr. 2, al Universității de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemițanu, Chișinău, Republica Moldova.

Publicații pe tema de cercetare: Materialele tezei au fost reflectate în 5 lucrări științifice publicate pe tema de cercetare, printre care: articole în reviste internaționale indexate în Web of Science– 2, articole în reviste din Registrul Național al revistelor de specialitate– 1, materiale/teze la conferințe internaționale (internațional conferințe)– 3, materiale/teze la conferințe internaționale (organizate în Republica Moldova)– 5, materiale/teze la conferințe 13(conferințe naționale)– 4. Rezultatele tezei au fost aprobate în cadrul ședințelor departamentului Ortopedie și traumatologie și al Laboratorului Inginerie tisulară și culturi celulare al Universității de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemițanu, Chișinău, Republica Moldova.

METODOLOGIE GENERALĂ DE CERCETARE

1. Caracteristica generală a studiului: etapele și designul studiului

Studiul experimental a fost efectuat în perioada 2017-2024, în cadrul studiilor universitare, ciclul III, doctorat, în cadrul Școlii doctorale în domeniul științe medicale al IP USMF „Nicolae Testemițanu”, specialitatea 321.18 Ortopedie și traumatologie, Catedra de ortopedie și traumatologie. Studiul a fost aprobat de Comitetul de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu”, fiind examinat la ședința din 21.05.2018, cu emiterea avizului favorabil nr. 75. În cadrul Comisiei de etică a cercetării nr. 118/18.10.2021 a UMF „G.T.Popa” Iași, România, cu numărul de înregistrare 25807, din 19.10.2021. Autorizarea de proiect nr. 44/04.11.2021 a Direcției Sanitar Veterinară și Siguranța Alimentelor Iași, România.

Structura tezei corespunde cu Ghidul de redactare a tezei de doctorat, redacția 02 din 2025, fiind structurată după tipul Tradițional Simplă.

Toate etapele și experimentele *in vitro* și *in vivo* au fost efectuate în cadrul Laboratorului Inginerie Tisulară și Culturi Celulare al USMF „N. Testemițanu”, Catedra de Anatomie și anatomie clinică, Catedra de Ortopedie și traumatologie a USMF „N. Testemițanu”, precum și în cadrul CEMEX UMF „G.T.Popa” Iași, România, prin intermediul Bursei de cercetare doctorală a AUF- „Eugen Ionescu”, efectuată în perioada 15.09.2021-15.02.2022.

Etapele cercetării au corespuns cu obiectivele enumerate mai sus:

1. Analiza datelor literaturii de specialitate efectuată prin intermediul bazelor de date medicale Google Scholar, PubMed (Medline), Hinari database, cu cercetarea și colectarea celor mai relevante și recente articole și publicații, pentru acumularea volumului informațional teoretic și aprecierea vectorului metodologiei contemporane de tratament al defectelor osoase vaste (2017-2023), stocarea a peste 600 articole și rezumate în Paperpile-soft.

2. Cercetarea anatomică a vascularizării membrului posterior la NZWR, precum și modalitatea de recoltare a segmentelor diafizare de femur pentru conservare (la-82,50C) și decelularizare cu păstrarea surselor de vascularizare suficiente ale osului tubular lung (a. nutricia). Etapă pe care am efectuat-o în cadrul Catedrei de Anatomie și anatomie clinică,

Laboratorului de Inginerie tisulară și Culturi Celulare al USMF „N. Testemițanu”, în perioada 2017-2019.

3. Stabilirea posibilităților de anestezie și a protocolului intraoperator pentru osteosinteza ortotopică a defectului osos tubular lung cu alogrefa osoasă vascularizată decelularizată și includerea acesteia în circuitul vascular adoptiv gazdă la modelul de animal de laborator NZWR etapă începută în cadrul Laboratorului de Inginerie tisulară și Culturi Celulare al USMF „N. Testemițanu” 2020-2021 și continuată prin intermediul bursei de cercetare doctorală „Eugen Ionescu” a AUF, în cadrul CEMEX din Universitatea de Medicină și Farmacie „G.T.Popa” Iași, România, în perioada 15.09.2021-15.02.2022.

4. Cercetarea posibilităților de anastomoze microchirurgicale și testarea in vivo a pediculului vascular decelularizat al alogrefelor osoase compozite (os+vas) prin metodă mixtă, pentru studierea rezistenței mecanice la sutura microchirurgicală, TA, undă de puls - etapă desfășurată în cadrul Bursei de cercetare doctorală AUF „Eugen Ionescu” în cadrul CEMEX Universitatea de Medicină și Farmacie „G.T.Popa” Iași, România, 15.09.2021-15.02.2022.

5. Cercetarea și testarea in vivo a țesutului osos decelularizat prin metodă mixtă (compatibilă pentru grefele osoase integrale compozite - os +vas) prin studierea manifestărilor clinice și paraclinice ale plastiei defectelor osoase tubulare - etapă efectuată în cadrul vivariului, Catedrei de Ortopedie și Traumatologie și a Laboratorului de Inginerie Tisulară și Culturi Celulare al IP USMF „N. Testemițanu” 01.05.-01.12.2022, cu elaborarea unui Set de Recomandări pentru utilizarea alogrefelor compozit decelularizate incluse în circuitul vascular al organismul adoptiv.

6. Finalizarea cercetării și prelucrarea statistică a rezultatelor, pregătirea materialului pentru inovație la tema de cercetare și prezentarea materialului primar spre examinare- 2023-2024.

2. Metode de cercetare a anatomiei și a vascularizării membrului posterior la NZWR, precum și modalitatea de recoltare a segmentelor diafizare de femur cu păstrarea surselor de vascularizare suficiente ale osului (a. nutricia) for conservation - efectuată pe cadavre a 20 iepuri adulți, modelului de animal de laborator NZWR, preluate din abator care deținea certificatul sanitar-veterinar de eutanasiere în mod obligator-”ECO-FER-MER” SRL. Vârsta medie a animalelor sacrificate a fost de 120 zile. Masa corporală a animalelor de laborator a fost în intervalul de 2,6 - 2,8kg. În cadrul catedrei Anatomie și anatomie clinică a IP USMF „N. Testemițanu” au fost cercetați din punct de vedere anatomic și al vascularizației arteriale și venoase ale membrului posterior 10 cadavre de iepuri NZWR. După aprecierea segmentului optim de os tubular cu pedicul vascular pentru alogrefă osoasă vascularizată, de la 10 din aceste 20 animale sacrificate în abator au fost prelevate 20 de grefe compozit de *os femoralis* (os+vas) care au fost stocate prin congelare la temperatura de -82.4°C.

3. Cercetarea angiografică a vascularizației membrului posterior la animalul de laborator NZWR a fost efectuată prin introducerea substanței de contrast (Urografin® 30%) în aorta abdominală. A fost injectat substanța de contrast-Urografin® 30% sub presiune în aorta abdominală, pentru vizualizarea și cercetarea traiectului arterial la membrul posterior la NZWR. Am cercetat micro-angiografic segmentele osoase vascularizate de os femural prin cateterizarea arterei iliace internă și introducerea substanței de contrast a sol. Urografin® 30% sub presiune. Examenul radiologic standard s-a efectuat la 1 min, 3 min și 5 minute după începerea introducerii substanței de contrast pentru aprecierea ariei de vascularizare a osului femural prin pediculul format de *Artera iliacă internă-Artera circumflexă laterală femurală- Arteria nutricia*, pentru vizualizarea vascularizării arteriale la osul femural.

4. Studiul morfologic al aortei dorsale, al arterei iliace interne și al segmentelor osoase de femur la animal de laborator NZWR. Pe segmente de artera și os prelevate de la cadavrele de animale de laborator NZWR, am efectuat cercetarea histologică la următoarele nivele: - aorta dorsală, - artera iliacă internă, - segmentele de os femural nativ. Studiul morfologic și examenul histologic prezintă cercetarea aspectului conținutului matricei extracelulare a vasului muscular la aceste nivele. Rezistența mecanică ulterioară la etapa de includere microchirurgicală în circulația sanguină a gazdei după procesul complex de decelularizare mixtă pentru grefe compozite

(os+vas) este în corelație cu grosimea peretelui vascular, respectiv al matricei extracelulare. Acești parametri sunt esențiali pentru succesul anastomozei microchirurgicale și menținerea patenței în circulația gazdei. Aspectul histologic al osului femural a fost cercetat pentru compararea cu rezultatul decelularizării țesutului osos cortical.

5. Stabilirea lungimii grefei în corelație cu definiția de defect osos critic. Noțiunea de defect osos masiv include defectul osos segmental sau/și cortical, cu o dimensiune critică a defectului – critical size defect (CSD). Astfel de defecte, în general, sunt acceptate ca fiind de $\geq 1,5$ -2 ori mai mari decât diametrul diafizar al osului lung, un defect circumferențiar $\geq 50\%$ sau pe o suprafață ≥ 2 cm², dar cifrele pot varia în funcție de os și pacient. Lungimea osului femural la animalul de laborator NZWR a fost măsurată la 10 subiecți ai etapei date de cercetare. Datele au fost înregistrate și prelucrate statistic cu IBM SPSS Statistics 26.0.0.1 FP001soft. În baza rezultatelor obținute a fost calculată lungimea grefei compozite (os+vas) necesară pentru plastia defectelor osoase critice.

6. Conservarea și decelularizarea grefelor compozite (os+vas). Am prelevat 20 de grefe osoase vascularizate de dimensiuni prestabilite de la ambele membre posterioare ale 10 animale de laborator, cu ulterioara lor stocare la $-82,5^{\circ}\text{C}$. Astfel, am obținut grefe compozite (os+pedicul vascularizat) conform criteriilor pentru plastia unui defect osos critic al osului tubular lung. Grefele au fost depozitate la $-82,54^{\circ}\text{C}$ pentru a fi ulterior supuse procesului de decelularizare prin metoda combinată eficientă pentru țesut osos cortical și spongios, și țesut moale-vas sanguin muscular (arteră). Fixarea grefelor pentru procesul de decelularizare a avut loc în boxă sterilă cu circuit închis, conectat la pompa peristaltică care a asigurat instantaneu procesul de spălare a grefelor cu soluțiile prestabilite conform protocolului de decelularizare în 9 etape.

7. Cercetarea posibilităților de anastomozare microchirurgicală și testarea *in-vivo* a pediculului vascular decelularizat al alogrefelor osoase compozite (os+vas). Testarea *in-vivo* a proprietăților mecanice ale arterei femurale a animalului de laborator NZWR, decelularizată prin metodă mixtă (eficientă și pentru țesut osos cortical și spongios), a fost aprobată în cadrul Comisiei de etică a cercetării nr. 118/18.10.2021 a UMF „G.T.Popa” Iași, România. Grefele decelularizate au fost incluse microchirurgical prin anastomoză termino-terminală în circuitul sangvin pe artera femurală la 5 șobolani (Wistar) în cadrul CEMEX, UMF „G.T.Popa” Iași, România.

8. Stabilirea protocolului de anestezie și operator pentru aprecierea fezabilității plastiei defectelor osoase tubulare prin osteosinteză ortotopică și includerea în circuitul vascular adoptiv al alogrefei compozite decelularizate.

Testarea *in-vivo* a protocolului de anestezie și a celui intraoperator pentru plastia defectelor osoase tubulare prin osteosinteză și includerea ulterioară în circuitul vascular adoptiv al alogrefei osoase vascularizate decelularizate la NZWR. La această etapă a fost efectuată cercetarea *in-vivo* pe 6 animale de laborator NZWR pentru:

I. Elaborarea protocolului de anestezie la animal de laborator NZWR, care ar permite efectuarea unei intervenții de lungă durată cu două etape chirurgicale de anastomoză microchirurgicală și osteosinteză ortotopică a unui os tubular lung -os femoralis la un animal de laborator de talie medie NZWR (sedare, inducție, menținere).

II. Elaborarea protocolului intra-operator de plastie *in-vivo* a defectelor osoase tubulare prin alogrefe vascularizate decelularizate reincluse în circuitul vascular adoptiv. În etapa dată a fost cercetat:

A. Abordul intermuscular lateral - pentru osteotomie și osteosinteză ortotopică a alogrefei osoase decelularizate

B. Abordul medial pentru anastomoză latero-terminală a pediculului decelularizat al alogrefei osoase cu artera femurală din circuitul gazdă

9. Studiarea manifestărilor postoperatorii locale și generale după plastia cu alogrefă osoasă vascularizată pe loturi de animale de laborator - NZWR. În perioada 06.2022-12.2022, au fost dislocate în cadrul vivariului USMF ”N. Testemițanu” 12 animale de laborator-

NZWR din lotul de animale finanțate de către Școala doctorală în domeniul științe medicale a USMF „Nicolae Testemițanu”.

Conform protocolului de anestezie și operator stabilit în etapa anterioară (abordul intermuscular lateral - pentru osteotomie și osteosinteză și abordul medial pentru anastomoza latero-terminală a pediculului cu artera femurală) în ultima etapă a cercetării a fost efectuată studierea comparativă pe 3 loturi a câte 4 animale de laborator iepuri NZWR:

- Lot 1- plastia defectelor osoase tubulare vaste cu autogrefă osoasă compozit.
- Lot 2- plastia defectelor osoase tubulare vaste cu alogrefă osoasă compozit nativă
- Lot 3- plastia defectelor osoase tubulare vaste cu alogrefă osoasă compozit decelularizată.

Cercetarea postoperatorie la fiecare subiect al studiului a implicat următorii parametri:

A. Manifestările locale postoperatorii:

- aspectul plăgii: *tumor, calor, rubor*, eliminări, cicatrizare- la 1-a, 5-a, 10-a, 15-a zi postoperator,

- funcționalitatea membrului operat: sprijin pe membru, mers, salt - la 1-a, 5-a, 10-a, 15-a zi postoperator.

B. Manifestări paraclinice postoperatorii:

- Analiza generală de sânge cu formula leucocitară - a fost efectuată după o prelevare de sânge intravenos din vena auriculară posterioară a NZWR cu depozitarea ulterioară în eprubete pentru examinare și determinarea manifestărilor de inflamație postgrefare.

- Analiza biochimică de sânge cu indicii osoși: Ca, P, Fosfataza Alcalină - ca indicii pentru examinarea gradului de integrare a grefei postransplant în loturile de studiu.

- Radiografia digitală standard a membrului posterior operat la 14 și 30 zile postoperator prin intermediul radiografiei digitale în una din două proiecții (antero-posterior sau lateral-oblică). Prin intermediul *System for Evaluation of the Fracture Healing of Bone Defects on* au fost selectate 4 criterii pentru cercetarea imagistică a rezultatelor grefării vascularizate a defectului osos tubular pe loturi de studiu : formarea de țesut osos, consolidare osoasă totală, resorbția țesutului osos al grefei, prezența joncțiunii osoase dintre grefă și țesut osos gazdă.

- Examinarea histologică a grefelor. Segmentele de grefă au fost prelevate pre- sau intraoperator și după sacrificarea animalului la 30 zile postoperator. Examine prin colorație hematoxilină-eozină a componentului osos și vascular. Osul femural al membrului operat la NZWR, după sacrificare, a fost rezeccionat, eliberat de țesuturi moi care nu prezentau interes și secționat segmentul grefat. Pentru cercetări histologice, piesele anatomice au fost fixate în soluție de formol neutralizat de 10%. Din locul defectului au fost secționate cu microtomul fragmente care, ulterior, au fost decalcificate în soluție de acid azotic de 15% și au fost plasate în parafină.

10. Metode matematice de sinteză a rezultatelor cercetării experimentale

Pentru a analiza datelor statistice din acest manuscris, a fost folosit metodele statisticii descriptive cantitative prin intermediul IBM SPSS Statistics 26.0.0.1 FP001- soft. Acest instrument a garantat o reproducibilitate totală a analizei statistice efectuate.

Rezultatele fiecărei etape a studiului, care corespund cu obiectivele acestuia, au fost cercetate statistic în corespundere cu tipul de date colectate și variabile utilizate. Acestea au fost examinate în baza bazelor de date, elaborate pentru fiecare etapă -3 baze de date în SPSS Statistics 26.0.0.1 FP001soft. Toate testele statistice au fost comparate cu valorile $P < 0.05$ pentru analizarea aspectului lor semnificativ statistic.

CERETAREA PREMISELOR PLASTIEI DEFECTELOR OSOASE TUBULARE CU ALOGREFE OSOASE VASCULARIZATE

1. Vascularizarea arterială a membrului posterior la animal de laborator

Cercetarea pe 10 cadavre de iepure NZWR a evidențiat arhitectura arterială și venoasă a membrului posterior. Artera iliacă comună se ramifică în artera ilio-lombară (pentru peretele dorsal), iliacă internă (pentru pelvis) și iliacă externă. Aceasta din urmă continuă cu artera femurală, care emite arterele circumflexe (laterală și medială) implicate în anastomoza

trohanterică. Principala arteră nutritivă a osului femural la NZWR provine din artera femurală circumflexă laterală, pătrunzând în diafiza medială sub trohanterul mic și asigurând 70-80% din fluxul sanguin al osului. Nutriția este completată de artera fosei trohanterice și arterele supracondiliene (geniculare). Osul tibial este vascularizat arterial de două artere nutritive principale derivate din artera tibială anterioară: una situată la 5 mm deasupra sinostozei tibio-fibulare și a doua chiar sub nivelul fuziunii. Osul fibular nu posedă o arteră nutritivă proprie.

Drenajul sangvin este asigurat de vene comitante, remarcându-se formarea cercurilor venoase condiliene și a venelor intercondiliene care converg în vena tibială anterioară. Distal, artera safenă se bifurcă în arterele plantare mediale și laterale.

2. Lungimea alogrefei compozit în corelație cu un defect osos critic

Analiza morfometrică pe 10 subiecți NZWR a stabilit o lungime medie a femurului de $96,53 \pm 3,61$ mm (89–107 mm), indicând o distribuție omogenă a eșantionului. Modulul (89 mm) și mediana (97,75 mm) confirmă o ușoară asimetrie negativă, dar o stabilitate structurală adecvată pentru studiu. Validarea modelului de defect osos critic a fost realizată prin compararea mediei lungimii femurului cu lungimea alogrefei de 42 mm. Testul t pentru eșantion unic a indicat o diferență înalt semnificativă statistic ($p < 0,001$, $df=9$). Grefa de 42 mm reprezintă aproximativ 43,5% din lungimea totală a segmentului femural, îndeplinind criteriile pentru un defect osos tubular critic: Suprafața de minim 2 cm²: La o lățime de 1 cm, suprafața defectului este de 4,2 cm². Capacitatea de regenerare a acestui defect depășește pragul fiziologic de auto-reparare a iepurelui. Concluzie: modelul experimental este valid, asigurând condițiile necesare pentru evaluarea integrării ortotopice a alogrefelor compozit decelularizate în defecte tubulare.

3. Testarea *in-vivo* a pediculului vascular decelularizat prin metodă mixtă

Viabilitatea grefelor arteriale decelularizate a fost monitorizată timp de 60 de minute pe un lot de 5 șobolani Wistar, după anastomoza microchirurgicală termino-terminală cu artera gazdă.

Rezultate funcționale și hemodinamice la intervalele de 10, 30 și 50 de minute de experiment *in-vivo* indică o patență imediată la 100% din cazuri, s-a menținut unda pulsatilă și tensiunea arterială (TA) la intervalele de timp cecetate, demonstrând rezistența matricei la presiunea sistemică a gazdei. Testul de patență (milking-test) efectuat în dinamică prezintă un flux sanguin distal constant până la minutul 50, moment în care s-a observat o diminuare a debitului (deși fără obstrucție completă), sugerând inițierea unui proces trombotic hemodinamic în lumenul grefei decelularizate. Pe tot parcursul examinării s-a atestat integritate macroscopică, grefele și-au păstrat arhitectura tisulară intactă, fără rupturi sau extravazări trans-parietale; sângerările la nivelul suturilor au fost minime și s-au autolimitat în 1–2 minute.

Analiza histologică post-implantare la microscop optic cu colorație HE a păstrarea structurii matricei extracelulare (MEC) și absența infiltratului inflamator acut (macrofage, limfocite), confirmând eficiența decelularizării. S-a identificat prezența unui trombus intralumenal distal, însă acesta **nu e aderent** la suprafața internă a grefei. Acest aspect indică faptul că suprafața decelularizată nu este intrinsec trombogenică, tromboza fiind o reacție hemodinamică, nu un răspuns imun sau de suprafață – figura 1.

Grefa vasculară decelularizată este capabilă să asigure perfuzia necesară viitoarei alogrefe osoase compozite, demonstrând stabilitate structurală și compatibilitate biologică imediată în tratamentul defectelor osoase critice.

4. Fezabilitatea plastiei defectelor osoase tubulare cu alogrefe osoase vascularizate decelularizate prin osteosinteză și includerea în circuitul vascular adoptiv la animal de laborator NZWR

Fezabilitatea studiului pilot chirurgical propus prevede aprecierea viabilității și a posibilităților practice de realizare a intervenției chirurgicale experimentale *in-vivo*. Am cercetat fezabilitatea tehnică pentru confirmarea replicării în condiții experimentale a protocolului elaborat.

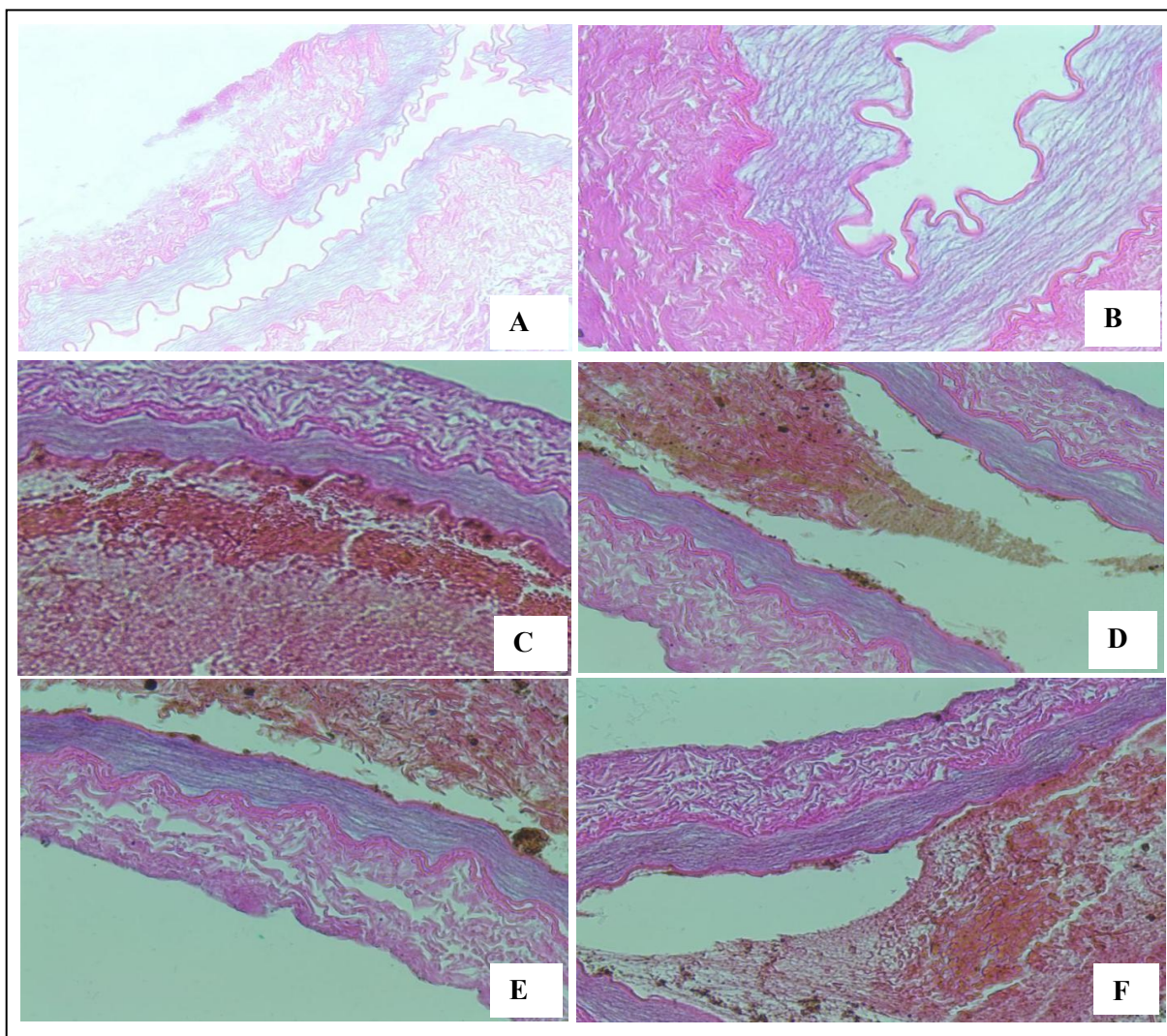


Figura 1. Examinare histologică a segmentelor de arteră decelularizată inclusă microchirurgical în circuitul vascular gazdă, colorație HE.

A, B - Examinarea histologică prin HE a segmentelor arteriale decelularizate de la animal de laborator NZWR denotă absența nucleelor celulare, păstrarea matricei extracelulare la nivel de 3 straturi din componența peretelui vascular arterial (endoteliu, tunica musculară, adventicea).

C, D, E, F- Peretele vascular al arterelor incluse microchirurgical în circuitul vascular adoptiv timp de 60 min- determinăm păstrarea structurii matricei extracelulare, prezența trombusului intralumenal neaderent la endoteliul decelularizat precum și absența materialului celular gazdă în matricea vasului decelularizat

Elementele concrete care definesc acest tip de fezabilitate sunt: accesibilitatea anatomică, stabilitatea mecanică a alogrefei osoase pentru a preveni tracțiunea sau torsionarea pediculului vascular. Am calculat indicatorii tendinței centrale a variabilelor prestabilite prin metodele de Statistică descriptivă cantitativă:- Abord lateral intermuscular: Medie de 19.17 min, cu valori între 14 și 25 min.

- Abordarea medială pentru anastomoză: Medie de 43.33 min, între 38 și 50 min.

- Alte manipulări: Medie de 15 min, între 10 și 20 min.

- Durata totală a operației: Medie de 88 min, cu un minim de 76 min și un maxim de 103 minunte.

Durata medie totală a procedurii a fost de 85 de minute, etapa principală fiind reprezentată de anastomoză microchirurgicală (medie 43,33 min). Analiza statistică prin testul ANOVA unidirecțional a demonstrat absența unor diferențe semnificative statistic între loturile studiate pentru toate etapele operatorii ($p = 0.212$ pentru durata totală, $p = 0.437$ pentru abordul lateral și $p = 0.203$ pentru cel medial).

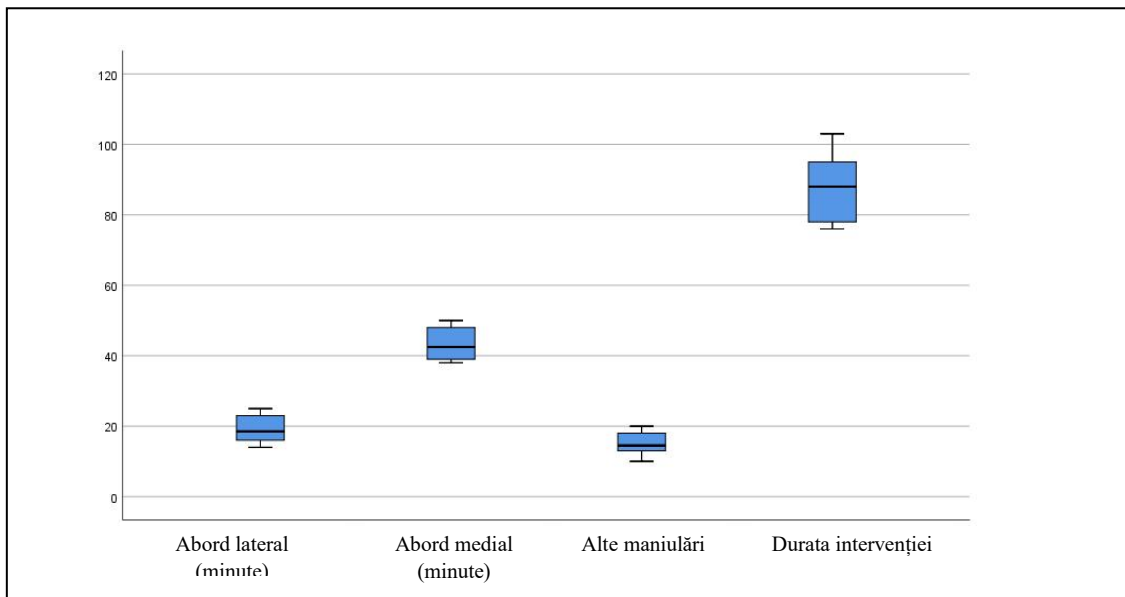


Figura 2. Reprezentare grafică Boxplot – variabila Durata intervenției chirurgicale (minute).

Aceste rezultate confirmă faptul că utilizarea grefelor decelularizate și protocoalele de anestezie aplicate nu influențează negativ timpul operator. S-a observat că variațiile de timp au fost condiționate exclusiv de complexitatea tehnică și managementul anestezic, nu de greutatea corporală a subiecților – figura 2.

În concluzie, modelul chirurgical experimental propus cu 2 aborduri chirurgicale ale coapsei medial și lateral, este tehnic fezabil, asigurând stabilitatea mecanică a alogrefei și un pasaj sanguin eficient din interiorul spre exteriorul grefei osoase, indicator esențial pentru succesul reconstrucției osoase vasculare.

5. Testarea *in-vivo* a țesutului osos decelularizat prin plastie cu grefe osoase vascularizate pe loturi de animale de laborator.

Conform protocolului de anestezie și operator stabilit (abordul intermuscular lateral - pentru osteotomie și osteosinteză și abordul medial pentru anastomoza lateral-terminală a pediculului cu artera femurală) în etapa a 3-a a cercetării, a fost efectuată cercetarea comparativă pe 3 loturi de studiu a câte 4 animale de laborator NZWR :

1. Lot 1 - plastie de defect osos critic cu autogrefă osoasă vascularizată
2. Lot 2 - plastie de defect osos critic cu alogrefă osoasă vascularizată (nativă)
3. Lot 3 - plastie de defect osos critic cu alogrefă osoasă vascularizată decelularizată.

Cercetarea postoperatorie la fiecare subiect din loturile de studiu a fost strict determinată.

1. Manifestări postoperatorii locale în a 1-a, a 5-a, a 10-a, a 15-a zi postoperatorie:

- aspectul plăgii: tumor, calor, rubor, eliminări plagă, cicatrizare plagă.

Pentru analiza comparativă a diferențelor dintre condițiile studiate, variabilele au fost codificată binar, unde „1” reprezintă succesul (de exemplu, prezența unui efect sau eveniment de interes - prezența *Tumor*), iar „2” reprezintă lipsa evenimentului de interes, la această etapă la nivelul plăgii postoperatorii a:

- *tumor* - tumefierii cicatricii și a țesuturilor vecine
- *calor* - hipertermie locală în regiunea cicatricii
- *rubor* - hiperemia locală în regiunea cicatricii
- eliminări plagă
- cicatrizare plagă.

Monitorizarea postoperatorie a celor 12 subiecți (greutate medie 3597,5 g) pe parcursul a 15 zile a evidențiat o dinamică favorabilă a vindecării plăgilor în toate loturile studiate. Analiza statistică a variabilelor binare (scara 1.00–2.00) a demonstrat o tranziție clară de la prezența semnelor inflamatorii în Ziua 1 (medii apropiate de 1.00, ex. *tumor* = 1.08) către absența acestora în Zilele 10 și 15 (medii tinzând spre 2.00, ex. *calor* = 1.91).

Tabelul 1. Examinarea recuperării pe loturi a funcționalității membrului operat.

Funcție	Ziua 1	Ziua 15	Observații
Sprijin	Foarte scăzut	Recuperare completă/cvasicompletă	Toate loturile se recuperează bine
Mers	Absent	Recuperare completă	Toate loturile se recuperează bine
Salt	Absent	Lot I: 3/4; Lot II: 0/4; Lot III: 3/4	<u>Diferență majoră</u> - Lotul II nu recuperează această funcție avansată.

Scăderea progresivă a secrețiilor și a eliminărilor din plagă (de la o medie de 1.08 la 1.91) confirmă închiderea procesului de cicatrizare și reducerea variabilității inter-individuale pe măsură ce rana evoluează. Rezultatele indică o remisie constantă a parametrilor de inflamație (*calor, rubor, tumor*) la toate cele trei loturi de observație, oferind un tablou numeric obiectiv al succesului terapeutic local în perioada critică postoperatorie.

2. Manifestările postoperatorii generale.

- funcționalitatea membrului operat: sprijin pe membru, mers, sărituri/salt.

Analiza dinamicii funcționale a membrului operat, evaluată binar (1 = succes/prezență; 2 = absență), a evidențiat o evoluție progresivă a capacităților motorii pe parcursul celor 15 zile de monitorizare. Dacă în Ziua 1 s-a înregistrat o incapacitate totală de locomoție (absența mersului și a saltului), începând cu Ziua 5 s-a observat reluarea sprijinului (media 1.16), urmată de o îmbunătățire considerabilă a mersului în Ziua 10. Până în Ziua 15, mersul a fost recuperat aproape complet la nivelul întregului eșantion, în timp ce saltul — funcția motorie cea mai complexă — a atins valoarea maximă a studiului (media 1.41), rămânând însă parametrul cu recuperarea cea mai lentă – tabelul 1.

Analiza comparativă pe loturi a demonstrat diferențe majore în calitatea recuperării:

Lotul I (autogrefă): A prezentat performanța optimă, cu cea mai rapidă remisie a inflamației și reluarea timpurie a saltului.

Lotul III (alogrefă decelularizată): A obținut rezultate intermediare, fiind cvasiegal cu lotul I în privința recuperării saltului (3/4 subiecți), în ciuda unei vindecări locale a plăgii ușor mai lente.

Lotul II (alogrefă vascularizată nativă): A înregistrat cele mai slabe rezultate, caracterizate prin persistența inflamației și eșecul total al recuperării funcției de salt până în ziua 15.

În concluzie, datele confirmă că alogrefa vascularizată decelularizată (Lotul III) reprezintă o soluție terapeutică eficientă, asigurând o recuperare funcțională net superioară alogrefelor convenționale și apropiată de standardul de aur reprezentat de autogrefă.

C. Manifestările postoperatorii paraclinice:

1. Analiza generală a sângelui - Evaluarea răspunsului inflamator sistemic prin monitorizarea formulei leucocitare la 14 și 28 de zile postoperator a evidențiat diferențe semnificative între loturile de studiu. Deși valorile medii ale leucocitelor totale (WBC) au prezentat o ușoară tendință de normalizare până în ziua 28 (de la 12,00 la 11,76 ×10³/μL), distribuția asimetrică spre dreapta înregistrată în etapa finală indică persistența unui răspuns inflamator prelungit la un subset de subiecți. – tabelul 2

Analiza comparativă a demonstrat un profil imunologic distinct în funcție de tipul grefei utilizate:

Lotul II (alogrefă vascularizată nativă): A prezentat cel mai accentuat răspuns inflamator, cu valori crescute ale leucocitelor, granulocitelor și limfocitelor la 28 de zile, sugerând o reacție imună susținută la prezența antigenelor alogene.

Lotul I (autogrefă) și Lotul III (alogrefă decelularizată): Au manifestat profiluri hematologice similare, caracterizate prin valori moderate și o stabilizare imunologică precoce.

Validarea statistică prin testul Kruskal–Wallis și analiza post-hoc (cu Corecția Bonferroni) a confirmat aceste observații. S-au identificat diferențe semnificative statistic între Lotul III și Lotul II (p-ajustat = 0,032), precum și între Lotul I și Lotul II (p-ajustat = 0,007).

Tabelul 2. Valorile medii și deviațiile standard pentru parametrii Leucocite, Granulocite, Limfocite și Monocite (zilele 14 și 28 -a pe loturile de studiu).

Parametru	Ziua	Lotul I	Lotul II	Lotul III
Leucocite	14	11.68 ± 4.20	14.31 ± 4.02	9.91 ± 0.89
	28	8.74 ± 1.37	11.77 ± 4.76	7.56 ± 3.20
Granulocite	14	6.83 ± 2.76	7.10 ± 2.89	6.21 ± 1.83
	28	6.46 ± 1.98	11.62 ± 4.39	6.17 ± 3.11
Limfocite	14	6.38 ± 2.52	8.53 ± 3.54	4.48 ± 1.37
	28	6.64 ± 2.36	10.86 ± 3.97	7.00 ± 3.46
Monocite	14	0.54 ± 0.50	0.35 ± 0.49	0.69 ± 0.35
	28	0.47 ± 0.44	0.75 ± 0.37	0.49 ± 0.36

Invers, comparația dintre Lotul III (decelularizat) și Lotul I (autogrefă) nu a evidențiat diferențe semnificative statistice (p -ajustat = 0,607), indicând faptul că alogrefa decelularizată induce un răspuns inflamator sistemic comparabil cu Lotul I de autogrefă.

2. Analiza biochimică a sângelui.

Evaluarea profilului biochimic la 14 și 28 de zile postoperator a evidențiat o dinamică intensă a metabolismului fosfo-calcic, reflectând procesele de remineralizare și consolidare osoasă. La nivelul întregului eșantion de studiu, s-a înregistrat o creștere semnificativă a valorilor medii pentru toți indicatorii monitorizați între cele două intervale de timp: calciul (de la 3,46 la 4,68 mg/dL), fosforul (de la 2,40 la 3,18 mg/dL) și fosfataza alcalină (ALP, de la 202,21 la 245,32 U/L).

Analiza comparativă pe loturi a evidențiat diferențe majore în intensitatea activității osteoblastice și a turnover-ului osos:

Lotul II (alogrefă vascularizată nativă): A prezentat cele mai ridicate niveluri pentru toți parametrii în ambele momente ale studiului. În ziua 28, acest lot a atins valori maxime de calciu (mediana ≈ 7,0 mg/dL) și ALP (mediana ≈ 400 U/L), depășind semnificativ celelalte grupuri. Această hiperactivitate biochimică, corelată cu dispersia mare a datelor, sugerează un proces de osteoliză și remodelare accelerată, specific reacției la țesut alogen nativ.

Loturile I (autogrefă) și III (alogrefă decelularizată): Au manifestat profiluri biochimice similare și mai echilibrate. În ziua 14, ambele grupuri au prezentat niveluri de ALP și fosfor semnificativ mai scăzute comparativ cu Lotul II, reflectând o activitate metabolică mai stabilă și o integrare biologică mai lină. Deși valorile au crescut până în ziua 28, confirmând osteogeneza activă, acestea s-au menținut în limite fiziologice mai strânse decât în cazul alogrefei native – tabelul 3.

Creșterea progresivă a markerilor osoși, în special a fosfatazei alcaline, confirmă viabilitatea grefelor și inițierea formării de os nou în toate grupurile. Totuși, profilul biochimic al Lotului III (decelularizat) este mai apropiat de cel al autogrefei (Lotul I), indicând faptul că eliminarea componentelor celulare reduce stresul metabolic și osteoliza reactivă, favorizând o consolidare osoasă mai fiziologică față de alogrefele vasculare clasice.

D. Radiografia membrului posterior operat. Analiza dinamicii regenerării osoase prin sistemul de scor standardizat (*System for Evaluation of the Fracture Healing of Bone Defects on Radiography*) a evidențiat diferențe semnificative între cele trei loturi experimentale la intervalele de 14 și 28 de zile, confirmând superioritatea structurală și biologică a grefelor decelularizate.

Formarea țesutului osos și consolidarea: Lotul III (alogrefă decelularizată) a înregistrat cea mai accelerată progresie a osteogenezei, crescând de la o medie de 1.75 în ziua 14 la 3.50 în ziua 28, depășind chiar și Lotul I (autogrefă, medie 3.25). În ceea ce privește consolidarea osoasă, Lotul III a atins punctajul maxim (3.0), indicând o maturare optimă a osului neoformat, în timp ce Lotul II (alogrefă nativă) a rămas la o valoare stagnantă de 1.0, demonstrând eșecul osteointegrării.

Tabelul 3. Rezultatele valorilor tendinței centrale și ale distribuției pentru variabilele analizei biochimice a sângelui pe loturile de studiu.

Parametru	Ziua 14	Ziua 28
Calciu seric (Ca)	Media: 3.69 ± 0.27 mg/dL Mediană: 3.58 mg/dL Range: 2.35 - 5.33 mg/dL	Media: 4.68 ± 0.53 mg/dL Mediană: 4.12 mg/dL Range: 2.21 - 7.98 mg/dL
Fosfor seric (P)	Media: 2.41 ± 0.35 mg/dL Mediană: 1.86 mg/dL Range: 1.31 - 4.86 mg/dL	Media: 3.18 ± 0.39 mg/dL Mediană: 3.14 mg/dL Range: 1.12 - 5.01 mg/dL
ALP (fosfatază alcalină)	Media: 202.21 ± 21.61 U/L Mediană: 186.35 U/L Range: 123.3 - 363.2 U/L	Media: 245.33 ± 35.85 U/L Mediană: 202.11 U/L Range: 114.3 - 441.4 U/L

Dinamica resorbției și joncțiunea osoasă: S-a observat un echilibru optim între resorbție și neoformare în Lotul III (menținut constant la 1.75), spre deosebire de Lotul II, unde resorbția excesivă și accelerată (2.50) a compromis integritatea grefei înainte de înlocuirea eficientă cu os nou. Joncțiunea osoasă dintre grefă și osul gazdă s-a format cel mai dinamic în Loturile I și III, ambele atingând scorul maxim de 3.0 la 28 de zile.

Validarea statistică: Testul Kruskal-Wallis a confirmat diferențe semnificative în favoarea Lotului III, sugerând că vascularizarea „din interior spre exterior” și absența antigenelor celulare favorizează o remodelare echilibrată – tabelul 4.

Rezultatele radiografice demonstrează că procesul de decelularizare (Lotul III) transformă grefonul într-o matrice osteoconductivă de înaltă performanță. Aceasta nu doar că egalează „standardul de aur” (autogrefa), dar prezintă o dinamică de consolidare superioară, evitând resorbția patologică specifică alogrefelor vasculare native (Lotul II).

E. Examinarea histologică a segmentelor de os: Evaluarea microscopică a segmentelor femurale grefate a evidențiat diferențe calitative majore între cele trei loturi, confirmând impactul metodei de preparare a grefei asupra răspunsului biologic al gazdei și biointergrarea țesutului osos.

Lotul I (Autogrefă vascularizată): A demonstrat o biocompatibilitate maximă, prezentând semne avansate de remodelare a traiectului haversian. S-a observat formarea de țesut osos imatur bogat în osteocite și fibre de colagen, care evoluează spre sisteme osteonice mature cu arhitectonică lamelară clasică. Prezența limfocitelor a fost sporadică, indicând un răspuns fiziologic de adaptare, nu unul patogen.

Lotul II (Alogrefă vascularizată nativă): A prezentat o dinamică deficitară, caracterizată prin predominanța resorbției osteoclastice asupra apoziției de os nou. Macroscopic și microscopic au apărut spații optice vide la nivelul corticalei, cauzate de degradarea rapidă a grefei.

Un element distinctiv a fost prezența unei reacții inflamatorii cronice granuloase gigantocelulare, confirmând imunogenitatea ridicată a grefei alogene netratate.

Lotul III (Alogrefă vascularizată decelularizată): S-a identificat repopularea celulară a matricei cu osteoblaste și osteocite, demonstrând absența citotoxicității. Remodelarea haversiană a fost prezentă, fiind ușor mai lentă decât în Lotul I, dar fără manifestări de inflamație cronică sau conglomerate gigantocelulare. Rezultatele au confirmat succesul metodei de decelularizare-figura 3, 4 ,5. Analiza componentei vasculare (Lotul III): Vasele decelularizate și-au menținut arhitectura celor trei tunici (intimă, medie și adventice), deși au prezentat o anumită dezorganizare structurală a matricei extracelulare. Lumenul a rămas permeabil pentru pasajul sangvin, fiind observate mase trombocitare neobstructive aderente la endoteliu. Prezența celulelor sangvine în peretele vascular la 30 de zile indică o integrare biologică progresivă a pediculului în circuitul gazdă. Decelularizarea (Lotul III) reușește să elimine reacția imună de respingere specifică alogrefelor native (Lotul II), transformând grefa într-o matrice osteoconductivă sigură, care facilitează o remodelare osoasă similară cu cea a autogrefelor, asigurând în același timp suportul vascular necesar nutriției "din interior spre exterior.

Tabelul 4. Rezultatele valorilor tendinței centrale și ale distribuției pentru variabilele cercetate imagistică pe loturile de studiu.

		Formare de țesut osos ziua 14	Consolidare osoasă ziua 14	Resorbția țes. osos al grefei ziua 14	Prezența jonc. osoase ziua 14	Formare de țesut osos ziua 28	Consolidare osoasă ziua 28	Prezența jonc. osoase ziua 28	Resorbția țes. osos al grefei ziua 24
Lot I	Media	1.75	1.50	1.25	2.0	3.25	2.5	3.0	1.0
	Deviația Std.	.957	.577	.50	.81	.50	.57	.00	.00
Lot II	Media	1.00	1.00	2.25	1.75	1.75	1.0	2.0	2.5
	Deviația Std.	.00	.000	.50	.50	.50	.00	.00	.57
Lot III	Media	1.750	1.500	1.750	1.50	3.50	3.00	3.00	1.75
	Deviația Std.	.500	.577	.50	.57	.57	.00	.00	.50

CONCLUZII

1. Metoda proprie de utilizare a grefelor compozit decelularizate în reconstrucția defectelor osoase tubulare are un caracter inovator, interdisciplinar și de pionierat, contribuind la extinderea domeniului ingineriei tisulare și al microchirurgiei reconstructive a locomotorului.

2. Structura vasculară matricială extracelulară a grefei osoase de femur la model de iepure NZWR asigură integrarea funcțională și plastia ortotopică a defectelor osoase tubulare lungi *in vivo* cu o lungime prestabilită de 40–45 mm cu pedicul vascular optim, de la artera nutriția până la artera iliacă internă.

3. Durata procedurii microchirurgicale de anastomoză vasculară cu vas decelularizat nu diferă de timpul necesar osteosintezei ortotopice a defectului osos, ceea ce demonstrează fezabilitatea tehnică a protocolului elaborat.

4. Metoda mixtă prestabilită de decelularizare asigură conservarea integrității arhitecturale a matricei extracelulare a vasului de tip muscular din grefa compozit. Grefele vasculare decelularizate mențin mecanic patența vasculară la anastomoza microchirurgicală *in vivo* cu o arteră nativă, asigurând un flux sanguin la interval de 60 minute.

5. Histologic peretele vasului decelularizat nu este infiltrat cu macrofage și limfocite, deci procesul de decelularizare a eliminat eficient potențialul imun, iar matricea endotelială nu este trombogenică.

6. Alogrefele osoase vascularizate decelularizate (Lotul III) utilizate în plastia defectelor osoase critice demonstrează un potențial de osteoconsolidare comparabil cu cel al autogrefelor (Lotul I). Succesul integrării biologice este susținut de dinamica ascendentă a Fosfatazei Alcaline (de la 202,21 U/L la 245,32 U/L) și de menținerea unui echilibru metabolic între resorbție și formare (indice stabil de 1,75), spre deosebire de dezechilibrul osteolitic observat în cazul alogrefelor native (Lotul II). Aceste biomateriale oferă o alternativă funcțională și structurală viabilă, asigurând o recelularizare *in vivo* din interior spre exterior eficientă și o remodelare haversiană organizată.

7. Metoda proprie de plastie cu alogrefe compozite decelularizate a defectelor osoase tubulare este fezabilă tehnic cu perspective aplicative în chirurgia reconstructivă și cu potențial de translație spre studiile preclinice și, ulterior, clinice. Această metodă oferă avantajul major de a elimina necesitatea terapiei imunosupresoare, deschizând noi perspective în chirurgia reconstructivă osoasă de mare complexitate.

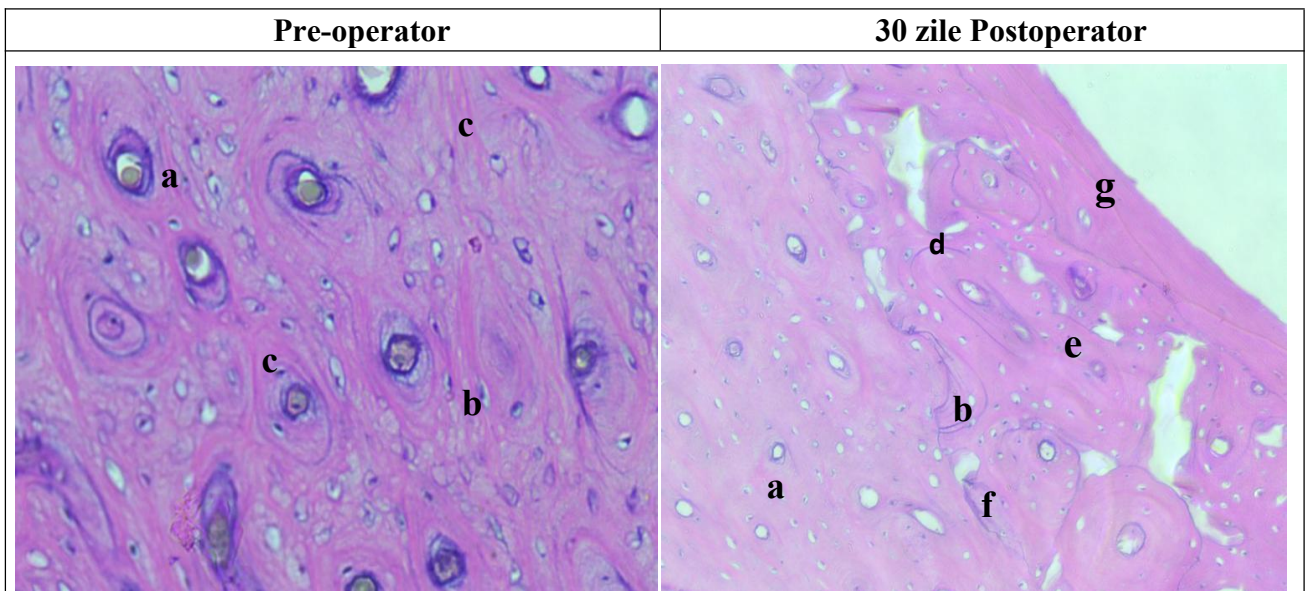


Figura 3. Examinare histologică Lot I - Autogrefă osoasă vascularizată

- A.** a. țesut osos haversian și vas haversian, b. prezența osteocitului în lacunele osoase, c. substanță fundamentală osoasă în volum normal,
- B.** a. țesut osos haversian și vas haversian, b. prezența osteocitului în lacunele osoase, d. substanță fundamentală osoasă rărită dar nemodificată cu fragmentarea trabeculelor osoase, e. țesut osos haversian nou format, f. linia Sharp, g. țesut osos imatur cu un număr mare de osteocite și fibre de collagen dezorganizate, H-EX90.

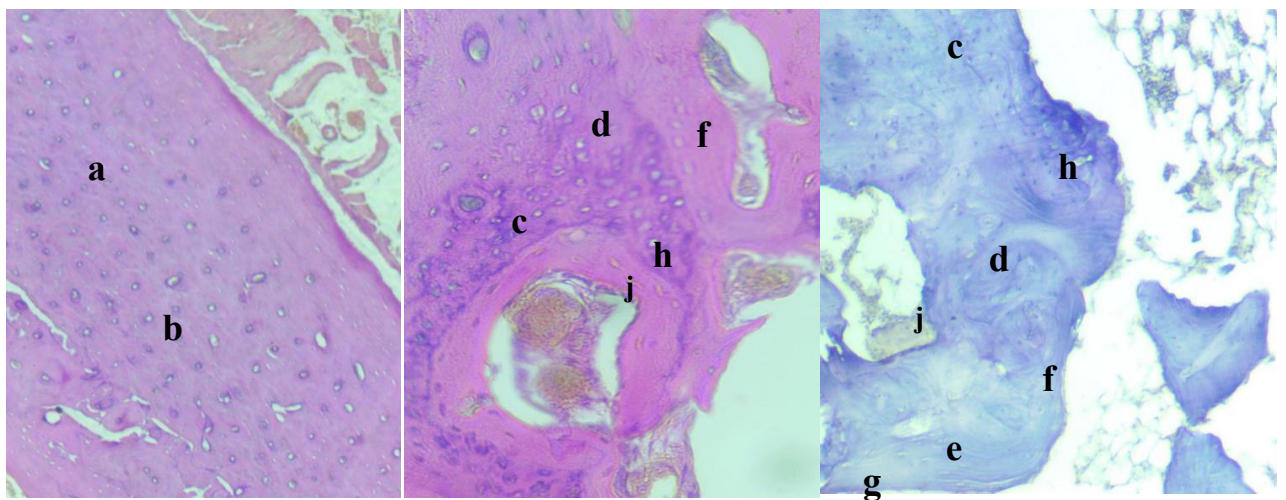


Figura 4. Examinare histologică Lot II - Alogrefă osoasă vascularizată

- a. epuizarea substanței fundamentale osoase, b. epuizarea osteocitelor din lacunele osoase, c. conglomerat de osteocite, d. zona de trabecule osoase noi și canale Haversiene incomplete, fragmentate, e. zona de necroză cu rezorbție osoasă, f. epuizarea substanței osoase, g. absența substanței osoase fundamentale, proces ischemic, h. spații optic vide la nivelul corticalei adiționate, j. reacție inflamatorie cronică granuloasă gigantomielocelulară, H-EX90, H-EX40

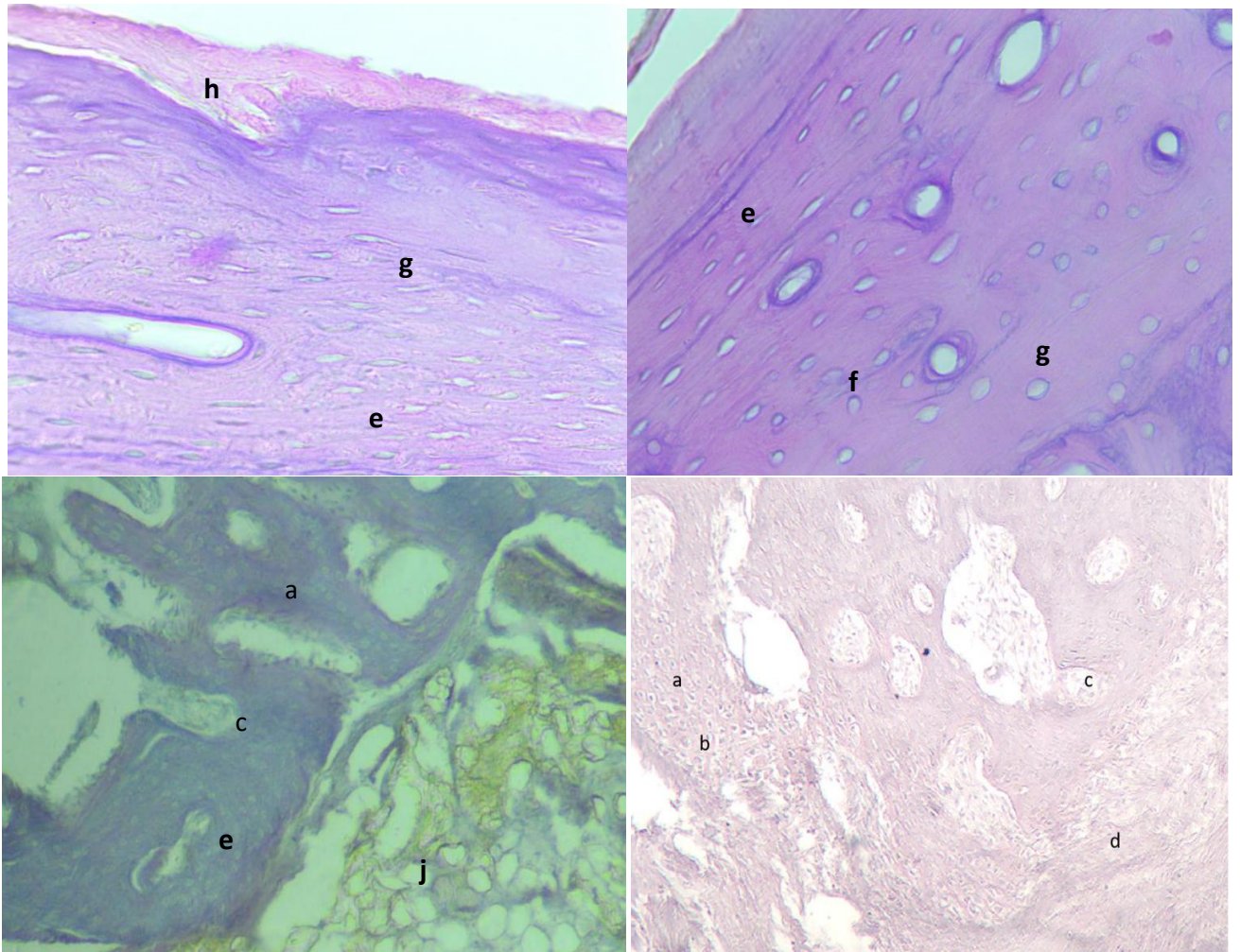


Figura 5. Examinare histologică Lot III - Alogrefă osoasă vascularizată decelularizată
 a. conglomerat de osteoblaste cu proliferare ce determină segmente de remodelare osoasă și repopulare celulară a grefei, b. cub formare de osteoid, c. rezorbție osoasă, d. fibroză, e. țesut osos haversian acelular, f. lacune osoase fără celule, g. epuizarea substanței osoase fundamentale, h. țesut fibro-conjunctiv decelularizat, j. țesut osos medular
 H-EX90, H-EX40

RECOMANDĂRI

În baza rezultatelor clinice, histologice și imagistice obținute în cadrul studiului experimental, se formulează următoarele recomandări pentru cercetarea preclinică și implementarea clinică viitoare:

- Strategia de modelare animală: Se recomandă o abordare ierarhică în selectarea modelelor animale (șobolani pentru etape exploratorii, iepuri NZWR pentru validare histologică și porcine pentru simularea condițiilor clinice umane), cu obligativitatea cartografierii prelabile a vascularizației osoase pentru optimizarea recoltării grefei.

- Protocolul de procesare a grefelor compozite: Conservarea grefelor os-vas la $-84,5^{\circ}\text{C}$ și decelularizarea complexă a unității intacte (fără separarea componentelor) sunt esențiale pentru menținerea integrității pediculului vascular nutritiv. Acest protocol asigură rezistența mecanică necesară suturilor microchirurgicale și fluxului pulsatil post-reintegrare.

- Optimizarea tehnicii chirurgicale: În reconstrucția defectelor femurale segmentare, se recomandă abordul chirurgical dublu (medial și lateral), metodă ce garantează expunerea completă și manipularea atraumatică a axului vascular și a structurilor osoase.

- Monitorizarea multimodală postoperatorie: Evaluarea succesului integrării trebuie să includă obligatoriu microangiografii seriate (la 7, 14 și 28 de zile) pentru validarea patenței

vasculare, alături de analize imunohistochimice pentru monitorizarea răspunsului imun și a procesului de remodelare osoasă.

- Dezvoltarea infrastructurii de cercetare: Extinderea validării experimentale necesită dotarea centrelor preclinice cu unități de microchirurgie avansată și terapie intensivă veterinară, capabile să susțină studii pe loturi mari de animale (8–12 subiecți) cu profil imunologic similar HLA-ului uman.

- Translația către mediul clinic poate avea, loc pentru utilizarea alogrefelor osoase vascularizate decelularizate ca alternativă viabilă la autogrefele compozite, după testări randomizate pe animale mari de laborator. Această metodă prezintă imunogenitate redusă, reducând riscurile de toxicitate sistemică și complicații infecțioase ale imunosupresiei, fără a compromite stabilitatea mecanică sau osteointegrarea.

Implementarea acestor recomandări fundamentează tranziția de la bioingineria experimentală la aplicațiile clinice în reconstrucția defectelor osoase critice prin utilizarea grefelor compozite vascularizate decelularizate.

BIBLIOGRAFIE

1. Bishop AT, Pelzer M. Vascularized bone allotransplantation: current state and implications for future reconstructive surgery. *Orthop Clin North Am.* 2007;38(1):109-122.
2. Garbuz DS, Masri BA, Czitrom AA. Biology of allografting. *Orthop Clin North Am.* 1998;29(2):199-204.
3. Cannada LK. Viable bone and circulatory factors required for survival of bone grafts. *Orthop Clin North Am.* 2010;41(1):5-13.
4. Yeoh JC, Taylor BA. Osseous healing in foot and ankle surgery with autograft, allograft, and other orthobiologics. *Orthop Clin North Am.* 2017;48(3):359-369.
5. Larsen M, Friedrich PF, Bishop AT. A modified vascularized whole knee joint allotransplantation model in the rat. *Microsurgery.* 2010;30(8):645-652.
6. Menger MD, Vollmar B. Role of microcirculation in transplantation. *Microcirculation.* 2000;7(5):291-306.
7. Korompilias AV, Paschos NK, Lykissas MG, et al. Recent updates of surgical techniques and applications of free vascularized fibular graft in extremity and trunk reconstruction. *Microsurgery.* 2011;31(3):171-175.
8. Randolph MA, Yaremchuk MJ, Moore JR, et al. Experimental vascularized bone allografting. *Microsurgery.* 1987;8(4):210-217.
9. Shigetomi M, Doi K, Kuwata N, et al. Experimental study on vascularized bone allografts for reconstruction of massive bone defects. *Microsurgery.* 1994;15(9):663-670.
10. Hofmann GO, Kirschner MH. Clinical experience in allogeneic vascularized bone and joint allografting. *Microsurgery.* 2000;20(8):375-383.
11. Amirlak B, Gorantla VS, Lehrman CR, et al. Hand Transplantation. *Medscape.* Updated January 3, 2017.
12. Kotsougiani D, Hundepool CA, Bulstra LF, et al. Recipient-derived angiogenesis with short term immunosuppression increases bone remodeling in bone vascularized composite allotransplantation: A pilot study in a swine tibial defect model. *J Orthop Res.* 2017;35(6):1242-1249.
13. Mattar T, Friedrich PF, Bishop AT. Effect of rhBMP-2 and VEGF in a vascularized bone allotransplant experimental model based on surgical neoangiogenesis. *J Orthop Res.* 2013;31(4):561-566.
14. Giessler GA, Zobitz M, Friedrich PF, Bishop AT. Transplantation of a vascularized rabbit femoral diaphyseal segment: mechanical and histologic properties of a new living bone transplantation model. *J Reconstr Microsurg.* 2008;24(4):291-299.
15. Kotsougiani D, Willems JI, Shin AY, et al. A new porcine vascularized tibial bone allotransplantation model: Anatomy and surgical technique. *Microsurgery.* 2018;38(4):401-409.

16. Hundepool CA, Nijhuis THJ, Kotsougiani D, et al. Optimizing decellularization techniques to create a new nerve allograft: an in vitro study using rodent nerve segments. *Neurosurg Focus*. 2017;42(3):E11.
17. Pelzer M, Larsen M, Friedrich PF, et al. Repopulation of vascularized bone allotransplants with recipient-derived cells: detection by laser capture microdissection and real-time PCR. *J Orthop Res*. 2009;27(11):1514-1520.
18. Kremer T, Giessler GA, Friedrich PF, et al. Surgical angiogenesis with short-term immunosuppression maintains bone viability in rabbit allogenic knee joint transplantation. *Plast Reconstr Surg*. 2013;131(2):148e-157e.
19. Kotsougiani D, Hundepool CA, Willems JJ, et al. Surgical angiogenesis in porcine tibial allotransplantation: A new large animal bone vascularized composite allotransplantation model. *J Vis Exp*. 2017;(126):55238.
20. Goorah S, Hindocha S. Therapeutic use of vascularized bone transfer for bone reconstruction. *Asian J Biomed Pharm Sci*. 2013;3(22):1-6.
21. Chandra P, Atala A. Engineering blood vessels and vascularized tissues: technology trends and potential clinical applications. *Clin Sci (Lond)*. 2019;133(9):1115-1135.
22. Vorotnikova E, McIntosh D, Dewilde A, et al. Extracellular matrix-derived products modulate endothelial and progenitor cell migration and proliferation in vitro and stimulate regenerative healing in vivo. *Matrix Biol*. 2010;29(8):690-700.
23. Badylak SF, Freytes DO, Gilbert TW. Extracellular matrix as a biological scaffold material: structure and function. *Acta Biomater*. 2009;5(1):1-13.
24. Țîmbalari T, Lozan O, Nacu V. History of tissue and cell transplantation's development. *Mold J Health Sci*. 2017;14:108-122.
25. Malcova T, et al. Mechanical and morphological characterization of decellularized umbilical vessels as tissue engineering scaffolds. In: Tiginyanu I, Sontea V, Railean S, eds. *ICNBME 2019. IFMBE Proceedings*, vol 77. Springer; 2020:589-593.

LISTA PUBLICAȚIILOR ȘI PARTICIPĂRILOR LA FORUMURI ȘTIINȚIFICE
la tema tezei de doctor în științe medicale „**Plastia defectelor osase tubulare prin alogrefaj inclus în circuitul vascular adoptiv**”- studiu experimental, specialitatea 321.18 Ortopedie și traumatologie.

I. Articole în reviste științifice:

• Articole în lucrările conferințelor științifice internaționale desfășurate în Republica Moldova:

1. Pavlovschi E., Stoian A., Verega Gr., Nacu V. The Critical Size Bone Defects - In-Vivo Experimental Method of the Treatment with the Decellularized Vascularized Bone Allografts. In: *Tiginyanu I., Sontea V., Railean S. (eds). Springer, Cham, 6th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering. ICNBME 2023; IFMBE Proceedings. 2023; vol 91: pp. 332-347. ISBN 978-3-031-42774-9 / ISBN: 978-3-031-42775-6 (online). DOI: 10.1007/978-3-031-42775-6_37 (SJR: 0.155, SCOPUS).*

2. Stoian A., Pavlovschi E., Capros N., Verega Gr., Nacu V. Effectiveness of tissue engineering in obtaining of the vascularized composite bone extracellular matrix. Experimental study. In: *Tiginyanu I., Sontea V., Railean S. (eds). Springer, Cham, 6th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering. ICNBME 2023; IFMBE Proceedings. 2023; vol 91: pp. 357-365. ISBN 978-3-031-42774-9 / ISBN: 978-3-031-42775-6 (online). DOI: 10.1007/978-3-031-42775-6_39 (SJR: 0.155, SCOPUS).*

3. Malcova T., Globa L., Vascan A., Țugui E., Stoian A., Nacu V. Evolution of the efficacy of decellularization treatment in preparing decellularized umbilical cord artery. In: *Tiginyanu I., Sontea V., Railean S. (eds). Springer, Cham, 4th International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering. ICNBME 2019. IFMBE Proceedings, 2020; vol. 77: pp. 589-593. ISBN: 1680-0737 / ISBN: 1433-9277 (electronic). ISBN 978-3-030- 31865-9 ISBN 978-3-030-31866-6 (eBook). DOI: 10.1007/978-3-030-31866-6 (SJR: 0.155, SCOPUS). (IF: 0.38)*

- **Articole în reviste științifice naționale acreditate:**

- ✓ **articole în reviste de categoria B+**

4. Pavlovschi E., Stoian A., Verega Gr., Nacu V. *In vivo* experimental study of the arterial supply of the rabbit posterior limb. In: *Moldovan Medical Journal*. 2021; 64(6): pp. 26-32. ISSN 2537-6373. DOI: 10.52418/moldovan-med-j.64-6.21.05.

- ✓ **articole în reviste de categoria C+**

5. Pavlovschi E., Verega Gr., Nacu V., Capros N., Cociug A. Decellularized bone allografts-premises for bone defect repair in dentistry. In: *Stomatological medicine*, 2024; 69(4) , pp. 41-49, ISSN 1857-1328, DOI: <https://doi.org/10.53530/1857-1328.24.4.05>

II. Teze în lucrările conferințelor științifice:

- ✓ **internaționale - desfășurate peste hotare**

6. Stoian A., Pavlovschi E., Verega Gr., Nacu V., Andree B., Hilfiker A. Experimental study in non/immunogen vascularized bone allograft. In: *Abstract book of 3in1 joint congress in plastic and reconstructive surgery*. Timișoara, România, 2022: p. 36. ISBN: 978-606-786-274-4.

7. Pavlovschi E., Stoian A., Verega Gr., Nacu V. The vascularized bone allotransplantation in vivo experiment. Preliminary report. In: *Abstract book of 4th international european conference on interdisciplinary scientific researcher*. Warsaw, Poland, 2021, p. 264. ISBN: 978-1-955094-13-9.

8. Pavlovschi E., Stoian A., Cobzac V., Verega Gr., Nacu V. The vascularized bone allotransplantation - can it be without an immunosuppression? In vivo experimental study. In: *Program book of National Congress Of "Romtransplant " Association*. 2020, România, p.11, on-line version.

9. Pavlovschi E., Stoian A., Verega Gr. Vascularized allotransplant, successful alternative for massive bone defects. In: *Abstract book of National Congress for Ortopedics*. Sibiu, România, 3-5 octombrie 2018, abstract book, p. 83

- ✓ **internaționale desfășurate în Republica Moldova**

10. Pavlovschi E., Stoian A., Mihaluta V. The vascularized allotransplant– successful alternative for massive bone defects. In: *Abstract book of Med Espera International Medical Congress 20 for Students and Young Doctors*. Chișinău, 2018, pp. 143-144. DOI: ibn.idsi.md/vizualizare_articol/114348.

11. Pavlovschi E., Stoian A. The vascularized bone allotransplantation - in a rabbit model, preliminary report. In: *Abstract Book. MedEspera: 2020: 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors*. Chișinău, 2020, pp. 115-116. ISBN 978-9975-151-11-5. DOI: ibn.idsi.md/vizualizare_articol/117306.

12. Mihaluta V., Stoian A., Pavlovschi E., Verega Gr. RECONSTRUCTION OF THE SCALP DEFECT WITH THE TRAPEZIUS MUSCLE FLAP (CLINICAL CASE) In: *Abstract book of VII-th International Medical Congress for Studnts and Young Doctors MedEspera 2018*. pp.32-33 https://ibn.idsi.md/ro/vizualizare_articol/112824

- ✓ **naționale cu participare internațională**

13. Pavlovschi E., Stoian A., Gardikiotis I., Verega Gr., Nacu V., Cernei G. The vascularized bone allotransplantation after decellularization process, in vivo testing. In: *Abstract Book. Conferința Științifică Anuală. Cells and tissues transplantation. Actualities and Perspectives*. Chișinău: 2023, p. 37. DOI: repository.usmf.md/handle/20.500.12710/24267.

14. Stoian A., Pavlovschi E., Verega Gr., Birgit A., Hilfiker A., Nacu V. Experimental study in obtaining of a vascularised composite bone extracellular matrix. In: *Abstract Book. Conferința științifică anuală. Cells and tissues transplantation. Actualities and Perspectives*. Chișinău: 2023, pp. 40. DOI: repository.usmf.md/handle/20.500.12710/24272.

- ✓ **Naționale**

15. Pavlovschi E., Stoian A., Malcova T., Iordăchescu R., Verega Gr. Decelularizarea combinată a allogrefei osoase vascularizate. etapă de studiu experimental in vivo. În: *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*, Chișinău. Chișinău: CEP „Medicina”, 2020, p. 519. DOI:

ibn.idsi.md/vizualizare_articol/126485.

16. Stoian A., Nacu V., **Pavlovschi E.**, Macagonova O., Malcova T., Mihaluta V. Perspectiva de viitor a alotransplantului osos vascularizat. În: *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”*. R, 21-23 octombrie 2020, Chișinău. Chișinău: CEP „Medicina”, 2020, p. 525. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/126554

17. **Pavlovschi E.**, Verega Gr., Stoian A., Nacu V. Surgery protocol of vascularized bone allotransplant. The next stage of in vivo experimental study. In: *Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță*. (R), 20-22 octombrie 2021, Chișinău. Chișinău: CEP „Medicina”, 2021, p. 333. ISBN 978-9975-82-223-7. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/144671

18. Stoian A., **Pavlovschi E.**, Nacu V., Sladic S., Andree B., Hilfiker A. Principles of decellularization for composite vascularized bone graft. În: *Cercetarea în biomedicină și sănătate: calitate, excelență și performanță*. (R), 20-22 octombrie 2021, Chișinău. Chișinău, Republica Moldova: 2021, p. 337. ISBN 978-9975-82-223-7. https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/144677

III. Brevete de invenții, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții:

19. **Pavlovschi E.**, Stoian A., Nacu V., Verega Gr., „*Alogrefele osoase vascularizate decelularizate ca metodă de tratament a defectelor osoase critice*”. Certificat de inovație nr. 6052 din 16 mai 2023.

20. Stoian A., **Pavlovschi E.**, Verega Gr., Nacu V., „*Metodă de decelularizare pentru grefele osoase compozite vascularizate*”. Certificat de inovație nr. 6058 din 24 mai 2023

21. Ficai A., Nacu V., Oprea O. C., Spoiala A., Motelica, L., Fosa D., Jian M., **Pavlovschi E.** - ”Nanostructured bone grafts with predetermined properties”, Proiect bilateral, Laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare - USMF „Nicolae Testemițanu și Centrul de medicină personalizată - Univ. de Știință și Tehnologie POLITEHNICA din București, România. În: Expoziția Europeană a Creativității și Inovării EUROINVENT 2025, ed. a XVII-a, **Medalie de Aur**.

IV. Participări cu postere la foruri științifice / expoziții

• **Internaționale:**

22. Malcova T., Globa L., Vascan A., **Țugui E.**, Stoian A., Nacu V. Evolution of the efficacy of decellularization treatment in preparing decellularized umbilical cord artery. In: *International Molecular Medicine Symposium by the Bosphorus*. Istanbul, Turcia, 16-18 mai 2019.

• **Naționale:**

23. Stoian A., Nacu V., **Pavlovschi E.**, Macagonova O., Malcova T., Mihaluta V. Perspectiva de viitor a alotransplantului osos vascularizat. În: *Congresul consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Ediție online. Chișinău, 21-23 octombrie 2020.

24. **Pavlovschi E.**, Stoian A., Malcova T., Iordăchescu R., Verega Gr., Nacu V. Decelularizarea combinată a alogrefei osoase vascularizate. Etapă de studiu experimental in vivo. În: *Congresul Consacrat aniversării a 75-a de la fondarea USMF „Nicolae Testemițanu”*. Ediție online, Chișinău, 21-23 octombrie 2020

V. Cursuri educaționale și programe de burse

25. Bursa de cercetare doctorală a Agenției Francofone Universitare ”Eugen Ionescu” 2021 - 15.09.2021-15.02.2022 laboratorul de microchirurgie a CEMEX UMF „G.T.Popa” Iași, România

26. Proiect de stat No. 20.80009.5007.20, Nanoarhitecturi în bază de GaN și matrici tridimensionale din materiale biologice pentru aplicații în microfluidă și inginerie tisulară. GA 810652. Chișinău, Ianuarie 2020-Iunie 2023.

27. Proiect bilateral: Nanostructured bone grafts with predetermined properties 2024-2026 - Laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare - USMF „Nicolae Testemițanu și Centrul de medicină personalizată - Univ. de Știință și Tehnologie POLITEHNICA din București, România.

ADNOTARE
Pavlovschi Elena

„Plastia defectelor oaselor tubulare prin alogrefe incluse în circuitul vascular adoptiv”
Teză de doctor în științe medicale, Chișinău, 2026

Lucrarea este expusă pe 136 pagini de text electronic și include: Introducere, III capitole, concluzii generale și recomandări practice. Indicele bibliografic citează 142 surse literare. Materialul ilustrativ este reprezentat în 17 tabele și 32 figuri. Rezultatele obținute sunt publicate în 5 lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: defect osos critic, alogrefă osoasă vascularizată, experiment *in-vivo*

Scopul: cercetarea premiselor de plastie a defectelor osoase tubulare cu alogrefe compozite decelularizate incluse în circuitul vascular gazdă prin metodă experimentală *in vivo* pentru aprecierea fezabilității.

Obiective: Cercetarea anatomică a vascularizării membrului posterior la animal de laborator (NZWR) și stabilirea segmentului osos tubular lung cu pedicul vascular optim; Elaborarea procedurii de prelevare și conservare a segmentului osos tubular lung cu pedicul vascular optim pentru conservare, decelularizare; Elaborarea protocolului de anestezie și intra-operator pentru plastia ortotopică *in-vivo* a defectului osos tubular lung cu alogrefă vascularizată compozită decelularizată; Cercetarea și testarea *in-vivo* a vaselor decelularizate prin metodă mixtă (compatibilă pentru grefele osoase integrale compozite- os+vas), pentru studierea rezistenței mecanice la sutura microchirurgicală, TA, undă de puls în circuitul gazdă la animal de laborator șobolani Wistar; Cercetarea prin testarea *in-vivo* a țesutului osos decelularizat prin metodă mixtă (compatibilă pentru grefele osoase integrale compozite- os+vas) revascularizat prin studierea manifestărilor clinice și paraclinice ale plastiei defectelor osoase tubulare.

Noutatea și originalitatea cercetării: implementarea în premieră a decelularizării alogrefelor vascularizate osoase cu tehnicile microchirurgicale, pentru includerea lor în circuitul vascular gazdă sau adoptiv, ar permite obținerea unei grefe ortotopice ce nu ar necesita imunosupresie, ar păstra integral vascularizarea, proprietățile biologice ale osului pentru consolidare și o funcție reparatorie eficientă.

Semnificația teoretică: cercetarea literaturii de specialitate a permis trasarea vectorului studiului spre tacticile de tratament experimental ale defectelor osoase tubulare prin alogrefe osoase vascularizate ortotopice, ce nu ar necesita imunosupresie postgrefare, testate *in-vivo* în premieră după procesul de decelularizare.

Valoarea aplicativă a lucrării: Elaborarea unui algoritm de prelevare și plastie a defectelor osoase tubulare *in-vivo* cu alogrefe osoase vascularizate decelularizate reincluse microchirurgical în circuitul adoptiv .

Implementarea rezultatelor științifice: rezultatele studiului experimental obținute au fost implementate în cadrul Laboratorului de Inginerie Tisulară și Culturi celulare, Catedra Ortopedie și Traumatologie a USMF N. Testemițanu. Rezultatele obținute au fost implementate în cadrul proiectulelor de cercetare: 1 „Nanoarhitecturi în bază de GaN și matrici tridimensionale din materiale biologice pentru aplicații în microfluidică și inginerie tisulară” - 20.80009.5007.20 oferit de Agenția Națională de Cercetare Dezvoltare a Guvernului Republica Moldova, 2. 2.Proiect Bilateral: Grefoni osoși nanostructurați cu proprietăți predeterminate (2024-2026) (nr. 29ROMD din 20.05.2024) – Laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare – Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” (Republica Moldova) și Centrul de Medicină Personalizată – Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București, România.

SUMMARY

Pavlovschi Elena

„Plasticity of tubular bone defects with allografts included in the adoptive vascular circuit” PhD thesis of medical sciences, Chişinău 2026

The work is presented on 136 pages of electronic text and includes: Introduction, III chapters, general conclusions and practical recommendations. The bibliographic index cites 142 literary sources. Illustrative material is represented in 17 tables and 32 figures. The results obtained are published in 5 scientific works. **Key words:** critical bone defect, vascularized bone allograft, in-vivo experiment.

The purpose of the work: researching the premises for the plasticity of tubular bone defects through the in-vivo experimental method with decellularized vascularized bone allografts included in the host vascular circuit in small and medium laboratory animals.

The objectives of the research: the research of the specialized literature with the appreciation of the contemporary methodology for the treatment of critical bone defects, - the anatomical research of the vascularization of the hind limb in laboratory animals (NZWR) and the establishment of the bone segment with the optimal vascular pedicle, - the development of the bone segment harvesting procedure with the vascular pedicle for preservation, decellularization and subsequent inclusion in the adoptive vascular circuit, - in-vivo testing of decellularized vessels by mixed method of composite bone grafts [bone+vessel], to study the mechanical resistance to microsurgical suture, BP, pulse wave, - the study of local and general postoperative manifestations after the placement of the vascularized bone allograft in the adoptive organism compared to the control groups, - the development of a set of recommendations for the use of revascularized decellularized bone allografts.

The novelty and originality of the research: combining the decellularization of vascularized bone allografts with microsurgical techniques, by including them in the host vascular circuit, would allow obtaining a graft that would not require immunosuppression, would fully preserve the vascularization, the biological properties of the bone for consolidation and an effective reparative function. **Theoretical significance:** the need for orthotopic vascularized bone allografting, which would not require post-grafting immunosuppression, is current.

Applicative value of the work: Development of an algorithm for sampling and plasticity of critical bone defects in-vivo with decellularized vascularized bone allografts.

Implementation of the scientific results: the results of the obtained experimental study were implemented within the Laboratory of Tissue Engineering and Cell Cultures, Department of Orthopedics and Traumatology of USMF N. Testemiţanu. The results obtained were implemented within the research project: 1. "GaN-based nanoarchitectures and three-dimensional matrices of biological materials for applications in microfluidics and tissue engineering" - 20.80009.5007.20 offered by the National Agency for Research and Development of the Government of the Republic of Moldova, 2. Bilateral Project: Nanostructured bone grafts with predetermined properties (2024–2026) (Grant No. 29ROMD/20.05.2024) – Laboratory of Tissue Engineering and Cell Cultures – “Nicolae Testemiţanu” State University of Medicine and Pharmacy (Republic of Moldova) and the Personalized Medicine Center – National University of Science and Technology POLITEHNICA Bucharest, Romania.