

Proiect nr. 852, Cod SMIS 14676
Centrul de Terapii Genice și Celulare în Tratamentul Cancerului – ONCOGEN
POSCCE-A2-O2.2.1-2009-4



EXPERIENȚA ÎN PROIECTE DE CERCETARE FP7

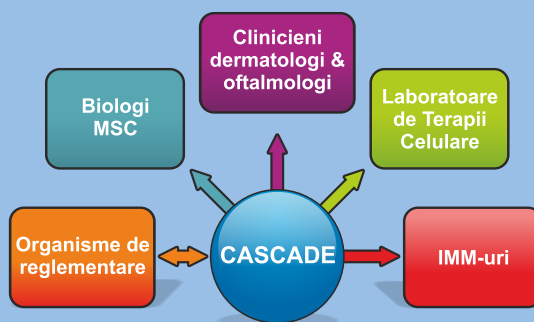
Cultivated Adult Stem Cells as Alternative for Damaged tissue - CASCADE

Număr identificare: FP7-223236,
CE (Call FP7-Health-2007-1.4-7)
Perioada de derulare: 1.12.2008 - 30.11.2011
Coordonator proiect: Luc Sensebé (Franța)
și Hermann Eichler (Germania)
Coordonator pentru România: Carmen Bunu Panaitescu
(cbunu@umft.ro)

Parteneri:

Franța: EFS (coordonator), INSERM, CNRS, ABCELL-BIO, OTR3, ALCIMED; **Germania:** DRK, Universitatea Saarland, UULM, Universitatea Heidelberg; **Italia:** Policlinico Milano, Universitatea Verona, Biotrack; **România:** UMFVB Timișoara; **UK:** Universitatea Oxford, CellTran Ltd-Universitatea Sheffield.

Structura generală a consorțiului CASCADE



Echipa de proiect a UMFVBT:

Carmen Bunu Panaitescu, Virgil Paunescu, Gabriela Tanasie, Alexandra Enache, Cristina Dragomirescu, Mihaela Galanton, Carmen Tatu, Daciana Nistor, Florina Bojin, Erika Deak, Calin Muntean, Laura Marusciac, Gabriela Basaraba, Carmen Pitic.

Obiective:

Principalul obiectiv al proiectului este de a dezvolta metode GMP (bune practici de producție) standardizate de cultivare a celulelor stem mezenchimale (MSC) adulte pentru aplicații clinice în repararea țesuturilor umane lezate. Se vor studia MSC derivate din diferite surse: măduvă osoasă (BM), sânge din cordonul ombilical (CB), țesut adipos (AT) sau membrană amniotică (AM). Potențialul terapeutic și funcțiile MSC cultivate vor fi evaluate extensiv in vitro și in vivo. Consorțiul urmărește dezvoltarea de protocoale clinice pentru aplicațiile MSC în vindecarea leziunilor cronice de țesut conjunctiv (ulcer varicos și ulcer de corne).

Work package 3 Aspecte etice, de reglementare, legale și diseminare

WP 0 Management și administrație

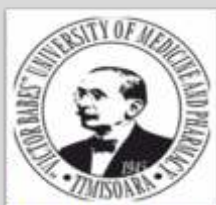
WP 1
C&D
translațională
și producție GMP

WP 2
Mecanisme
de reparare
și validare

WP 3
Aspecte etice, de reglementare,
legale și diseminare

WP 4
Ținte
clinice și
definire
protocoale

Rezultat final



Aspecte etice

Analizarea activității WP1 și WP4 pentru a corespunde reglementărilor etice și legale implementate la nivel național și european.

Aspecte de reglementare

Aplicarea pentru autorizarea de către autoritățile de reglementare la nivel național și european. Organizarea de workshop-uri anuale cu participarea unor reprezentanți cheie ai autorităților de reglementare naționale și europene și a unor experți în domeniul eticii.

Aspecte legale

Examinarea ghidurilor, regulamentelor și legilor în domeniul terapiilor celulare și discutarea problemelor identificate cu autoritățile naționale și europene.

Diseminarea cunoștințelor

Examinarea și aplicarea pentru obținerea de patente, instituirea unui program educațional, organizarea de workshop-uri internaționale anuale pe tema MSC și informarea publicului.



Proiect nr. 852, Cod SMIS 14676
Centrul de Terapii Genice și Celulare în Tratamentul Cancerului – ONCOGEN
POSCCE-A2-O2.2.1-2009-4



PARTENERI CASCADE



Activitățile se desfășoară pe 4 pachete de lucru (WP):

WP1

Cercetare-dezvoltare translațională și producție GMP - Leader: Policlinico Milano

- Materia primă și separarea celulelor stem (BM, CB, AT, AM);
- Cultivarea celulelor stem în condiții GMP;
- Verificare (sterilitate, identitate, stabilitate genetică, potență, reactivitate imunologică, validarea donatorilor).

WP2

Mecanisme de reparare și validare - Leader: DRK

- Testarea funcțiilor și eficacității MSC cu ajutorul modelelor *in-vitro* și *in-vivo*:
 - *in vitro*: culturi de MSC pe collagen de tip I-3D; utilizarea AM pentru repopularea cu MSC; coculturi MSC-celule epiteliale corneene;
 - *in vivo*: vindecarea rănilor induse prin MSC la șoareci nuzi nediabetici și diabetici, patch de AM, model murin cu deficiență de $\beta 2$ -integrină;
 - interacțiunea MSC-EPC (celulă endotelială progenitoare);
- Consecințele imunologice ale utilizării celulelor stem (MSC și sistemul imunitar înăscut,
- MSC și răspunsul imun adaptativ);

WP3

Aspecte etice, de reglementare, legale și diseminare - Leader: UMFVB Timișoara

- Aspecte etice și legale în utilizarea celulelor stem în cercetarea fundamentală și clinică;
- Aspecte de reglementare națională în țările UE legate de terapiile cu celule stem;
- Diseminarea și exploatarea cunoștințelor.

WP4

Spre studii clinice asupra siguranței și eficacității transplantării de celule stem mezenchimale pentru tratarea ulcerărilor cronice de piele și cornee - Leader: INSERM

- Crearea rețelelor clinice europene CASCADE în dermatologie și oftalmologie;
- Validarea țințelor clinice în vindecarea leziunilor cronice în dermatologie (ulcer varicos) și oftalmologie (ulcer de cornee cronic);
- Redactarea de protocoale de studii clinice pentru validarea de către comitetele de etică și autoritățile competente.

Proiect nr. 852, Cod SMIS 14676
Centrul de Terapii Genice și Celulare în Tratamentul Cancerului – ONCOGEN
POSCCE-A2-O2.2.1-2009-4



EXPERIENȚA ÎN PROIECTE DE CERCETARE FP7

Regenerating Bone defects using New biomedical Engineering approaches - REBORNE

Număr identificare: FP7-241879

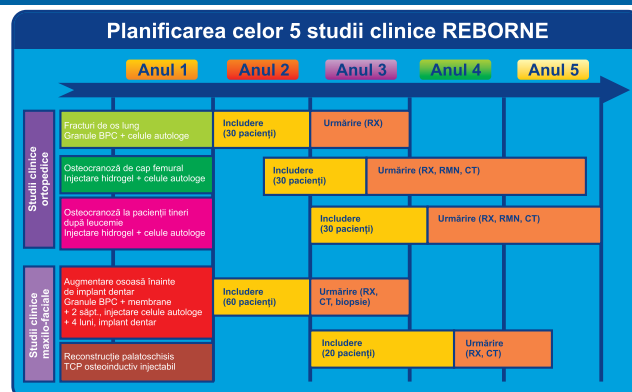
(call HEALTH-2009-1.4-2)

Perioada de derulare: 1.01.2010-31.09.2014

Coordonator proiect: Pierre Layrolle (Franța)

și Luc Sensebé (Franța)

Coordonator pentru România: Prof. Dr. Carmen Bunu Panaitescu (cbunu@umft.ro)



Parteneri:

Franța: INSERM (coordonator), EFS, BIOMATLANTE, CEA, CHU NANTES, CHU TOURS, AP-HP, ALCIMED;

Italia: Policlinico Milano, UNIMORE, Universitatea Verona, IOR, AOU MEYER; **Belgia:** KITO, Universitatea

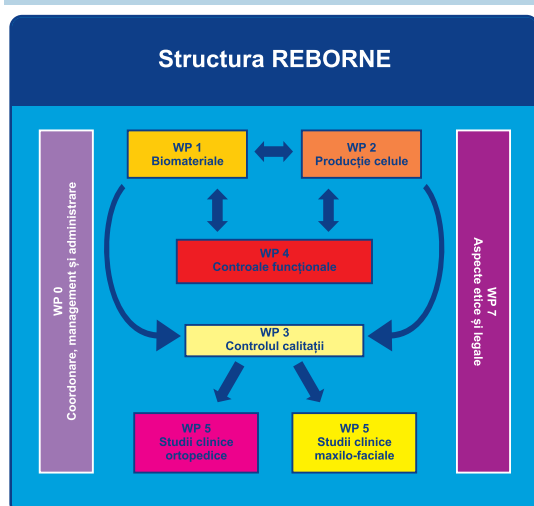
Liege; **Olanda:** XPAND, UMC UTRECHT; **Spania:** UPC, UAM; **România:** UMFVBT; **Germania:** UNITUE,

UULM, Institutul Max Planck; **Norvegia:** Universitatea Bergen

Echipa de proiect a UMFVBT:

Carmen Bunu Panaitescu, Virgil Paunescu, Gabriela Tanasie, Carmen Tatu, Daciana Nistor, Florina Bojin, Laura Marusciac, Fabian Tatu, Dinu Vermesan, Mihaela Galanton, Cristina Dragomirescu, Gabriela Basaraba, Carmen Pitic

Structura REBORNE



Obiective:

Obiectivul REBORNE este de a realiza studii clinice utilizând biomateriale avansate și celule care induc procesul de vindecare osoasă. Pentru a atinge acest scop, se propun cinci studii clinice de faza II, cu 20 de pacienți, în 12 centre clinice din 8 țări europene. Sunt prevăzute trei studii clinice ortopedice legate de tratamentul fracturilor de os lung și osteonecroza capului femural la adulți și copii, bazate pe utilizarea de bioceramici, hidrogel pentru injectare percutană și celule stem din surse autologe sau alogene. Cercetarea clinică va privi și chirurgia maxilo-facială cu augmentare osoasă înainte de implanturile dentare și reconstrucția palatului despicat la copii. Siguranța și eficiența noilor terapii va fi evaluată clinic folosind radiografii, coputer-tomografii și RMN, precum și prin histologia biopsiilor.

Cele șapte pachete de lucru (WP) se vor concentra pe diferite aspecte:

WP1

Biomateriale – Leader: UPC

- Cercetarea și dezvoltarea de ceramică de fosfat de calciu utilizată ca scaffold în ingineria țesuturilor osoase;
- Cercetarea și dezvoltarea de substitute osoase injectabile cu proprietăți osteoinductive;
- Cercetarea și dezvoltarea de materiale compozite osteoinductive, angiogenice, rezistente și resorbabile.

Proiect nr. 852, Cod SMIS 14676
Centrul de Terapii Genice și Celulare în Tratamentul Cancerului – ONCOGEN
POSCCE-A2-O2.2.1-2009-4



EXPERIENȚA ÎN PROIECTE DE CERCETARE FP7

WP2

Producție de celule – Leader: EFS

- Definirea condițiilor GMP (bune practici de producție) comune pentru culturi celulare pentru primul studiu clinic;
- Alegerea celului mai eficient protocol pentru studiile clinice intermediare;
- Stabilirea protocoalelor GMP pentru culturi celulare utilizând MSC de la nou-născuți;
- Stabilirea protocoalelor GMP de crioprezervare;
- Compararea celor 3 surse de MSC pentru utilizarea alogenă;
- Furnizarea de celule certificate GMP pentru studiile clinice.

WP3

Control de calitate (CC) – Leader: POLICLINICO

- CC asupra stabilității genotipice al celulelor stem mezenchimale (MSC) din măduvă osoasă (BM), țesut adipos (AT) și sânge din cordonul ombilical (CB);
- CC asupra funcționalității MSC din BM, AT și CB pentru regenerarea osoasă;
- CC asupra profilului fenotipic al MSC din BM, AT și CB;
- CC asupra proprietăților imunosupresive ale MSC din BM, AT și CB;
- CC asupra combinației MSC-biomateriale;
- Testare în vederea perfecționării.

WP4

Controale funcționale – Leader: UNIMORE

- Elaborarea de teste de potență pentru celule mezenchimale progenitoare (MP) produse în condiții GMP cu biomateriale;
- Unificarea condițiilor de cultură a MP animale;
- Explorarea potențialului osteogenic al MP umane native în combinații cu biomateriale;
- Combinarea angiogenezei și osteogenezei pentru o regenerare osoasă îmbunătățită;
- Impactul imunologiei și regenerării osoase: aprecierea critică a MP vandabile;
- Simularea de studii clinice privitoare la regenerarea osoasă pe modele animale.

WP5

Studii clinice ortopedice – Leader: UAM

- Primul studiu clinic ortopedic: Evaluarea eficienței MSC autologe combinate cu biomateriale pentru îmbunătățirea vindecării osoase la pacienții cu consolidare întârziată după fractura de diafiză a unui os lung care necesită apozitia grefonului;
- Al doilea studiu clinic ortopedic: Evaluarea eficienței MSC autologe pentru îmbunătățirea vindecării osoase la pacienții cu necroză avasculară precoce de cap femural;
- Al treilea studiu clinic ortopedic edic trial: Evaluarea eficienței MSC alogene în îmbunătățirea vindecării osoase la pacienții cu necroză avasculară precoce și boală malignă hematologică anterioară cu imunosupresie.

WP6

Studii clinice maxilo-faciale – Leader: CHU NANTES

- Augmentarea osului vertical și sagital din maxilar și mandibulă utilizând granule de fosfat de calciu, membrane și MSC autologe înainte de implanturile dentare;
- Reconstrucția palatului osos la adulți sau copii cu palatoschizis, utilizând un substitut osos injectabil osteoinductiv.

WP7

Aspecte etice, de reglementare și legale și diseminare – Leader: UMFVBT

- Aspecte de reglementare;
- Aspecte etice;
- Aspecte legale;
- Diseminare și exploatarea cunoștințelor.

Proiect nr. 852, Cod SMIS 14676
Centrul de Terapii Genice și Celulare în Tratatamentul Cancerului – ONCOGEN
POSCCE-A2-O2.2.1-2009-4



MEDICINA REGENERATIVĂ

Aplicații clinice ale celulelor stem hematopoietice (CSH) în infarctul miocardic

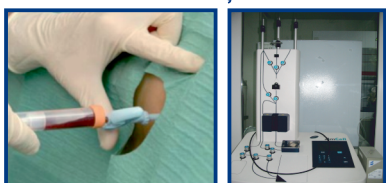
Proiecte:

- Dezvoltarea de terapii celulare în diabetul zaharat - BETASTEM, Program VIASAN, contract nr. 314/2004 (2004-2006).
- Terapia cu celule stem pentru regenerare și reconstrucție vasculară - ANGIOSTEM, Program CEEX- VIASAN, contract nr. 44/2005 (2005-2008).
- Dezvoltarea de tehnici de bioinginerie tisulară pentru reconstrucția miocardică - CARDIOSTEM, Program VIASAN, contract nr. 311/2004 (2004-2006).

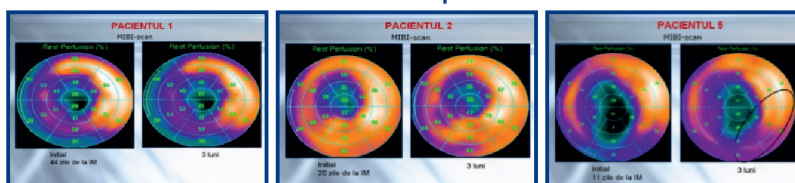
Primul trial clinic din România în colaborare cu Institutul de Boli Cardiovasculare Timișoara

- izolare CSH cu CliniMACS
- administrare infarctul miocardic acut, intracoronarian
- analiza recuperării: scintigrafie

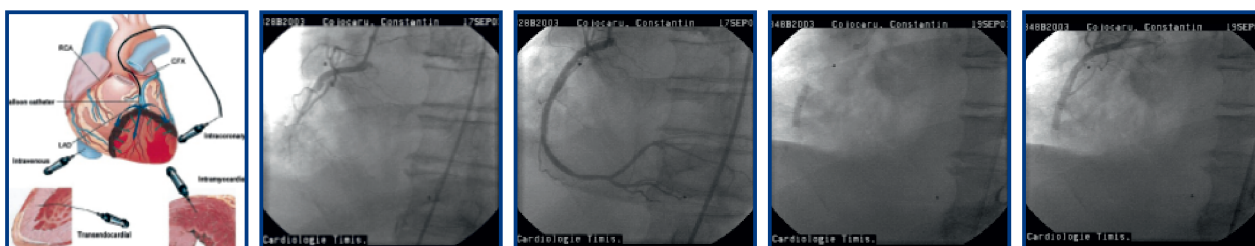
Recoltare măduvă și izolare CSH



Analiza recuperării



Administrarea intracoronariană a CSH AC133+



Studii *in vitro* pentru evaluarea potențialului celulelor stem mezenchimale în regenerarea osteoarticulară

Proiecte:

- Dezvoltarea de terapii inovative reconstrucția osteoarticulară - CELLART, Program CEEX - VIASAN, contract nr. 45/2005 (2005-2008).
- Dezvoltarea de tehnici inovative de bio-ortopedie - BIOART, Program CEEX - VIASAN, contract nr. 70/2006 (2006-2008).
- Reconstrucția defectelor segmentare osoase prin matrici biomimetice colonizate cu celule osteogenice - RECON-OS, Program Parteneriate în Domeniile Prioritare, contract nr. 41-091/2007 (2007-2009).

Proiect nr. 852, Cod SMIS 14676
Centrul de Terapii Genice și Celulare în Tratatamentul Cancerului – ONCOGEN
POSCCE-A2-O2.2.1-2009-4

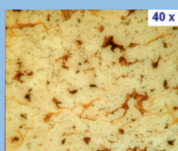


MEDICINA REGENERATIVĂ

CSM sunt celule progenitoare pluripotente cu capacitatea de a se diferenția în diferite celule de tip scheletal, ca osteoblastele și condrocitele.

Studii preliminare *in vitro* și *in vivo* certifică potențialul acestora de a fi utilizate în aplicații clinice în afecțiunile osteo-articulare

DIFERENȚIEREA *IN VITRO* A MSC SPRE LINIA OSTEOLASTICĂ



colorație Von Kossa

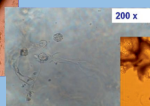


RT-PCR (14 zile)

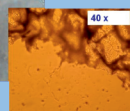
DIFERENȚIEREA *IN VITRO* A MSC SPRE LINIA OSTEOLASTICĂ



Siliciu nanoporos

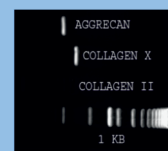


P-GlcNAc

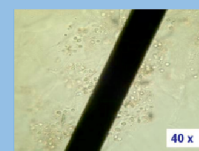


poliGly-poliLactic

DIFERENȚIEREA *IN VITRO* A MSC SPRE LINIA CONDOCITARĂ



RT-PCR (21 zile)



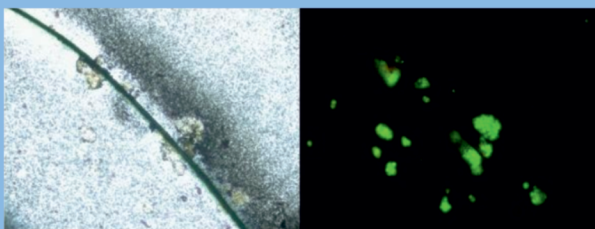
Celule crescute în jurul unei tije metalice (titan)

Studii de biocompatibilitate *in vitro*

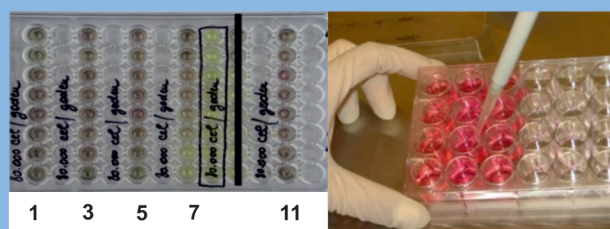
Proiecte:

- Obținerea prin metode alternative de nanocristale de TiO₂ dopate cu ioni metalici. Studiul aplicațiilor pentru sănătate, biologie și mediu, CEEX - MATNANTECH Program, contract nr. 3/2005 (2005-2008).
- Nanocontrol și multifuncționalitate în materiale, microstraturi și arhitecturi cu memorie a formei, Program CEEX - MATNANTECH, contract nr. 7/2005 (2005-2008).
- RONANOMED** - rețeaua națională integrată de nanomedicină, Program CEEX - MATNANTECH, contract nr. 42/2005 (2005-2007).
- Cercetări complexe privind obținerea și proprietățile magnetice ale sistemelor de nanoparticule feromagnetice de Co₃Fe₂O₄ surfactate/n surfactate și biocompatibile cu potențiale aplicații în terapia cancerului - **NANOPART**, proiect 071-025, finanțat prin PNCDI-II, Program Parteneriate, 2008-2010.

În colaborare cu parteneri români s-au dezvoltat și sunt sub standardizare metode pentru studiile de biocompatibilitate *in vitro*.



Celule HEK pe aliaj NiTi. Celulele sunt atașate, vii și proliferante.
Stânga - lumină vizibilă, dreapta - fluorescență, ob. 10x



Teste de biocompatibilitate

Proiect nr. 852, Cod SMIS 14676
Centrul de Terapii Genice și Celulare în Tratamentul Cancerului – ONCOGEN
POSCCE-A2-O2.2.1-2009-4



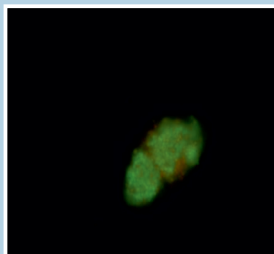
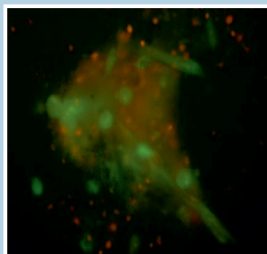
TERAPII INOVATIVE ÎN CANCER

Izolarea și caracterizarea celulelor tumorale

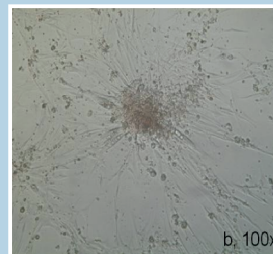
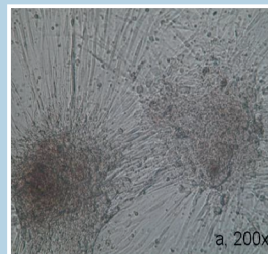
Proiecte:

- Studii experimentale asupra celulelor stem mezenchimale umane transfectate în scopul dezvoltării unei strategii terapeutice inovative a glioblastomului - **GLIOSTEMCELL**, program CEEX Modulul I, contract nr. 176/2006 (2006-2008)
- Celulele stem neurale tumorale: o nouă țintă terapeutică în cadrul tratamentului multimodal al gliomelor cerebrale maligne - TUMORSTEM, proiect 041-035, finanțat prin PNCDI-II, Program Parteneriate, 2008-2010

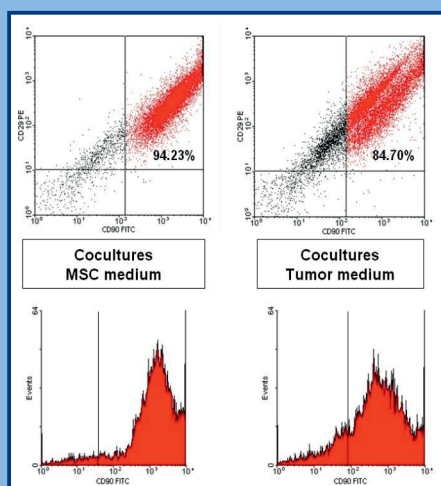
- Celulele au fost izolate din tumori solide prin diferite tehnici enzimatice
- Caracterizare complexă: imunofenotipare, coculturi cu CSM, profil secretor, aderență, teste de proliferare și apoptoză



Colorație vitală a celulelor tumorale



Coculturi de celule. Aspect morfologic după 1 săptămână, respectiv două săptămâni



Proiect nr. 852, Cod SMIS 14676
Centrul de Terapii Genice și Celulare în Tratamentul Cancerului – ONCOGEN
POSCCE-A2-O2.2.1-2009-4

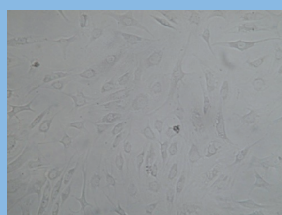


TERAPII INOVATIVE ÎN CANCER

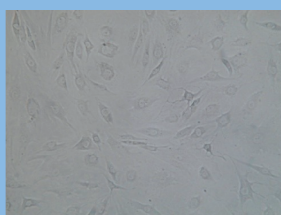
Izolarea și caracterizarea complexă a TAF (tumor associated fibroblasts)

Proiect:

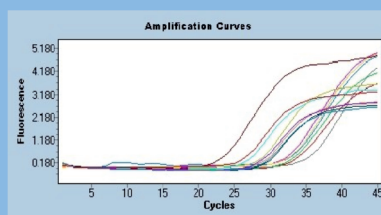
- Ingineria genetică a celulelor stem tumorale în perspectiva modulării răspunsului imun în cancere de origine non-virală - **ONCOSTEM**, program PN II – Parteneriate, contract nr. 41-019/2007 (2008-2010)
- Caracterizarea complexă a TAF: imunofenotipare, profil secretor, aderență, capacitate pluripotentă, aspecte ultrastructurale



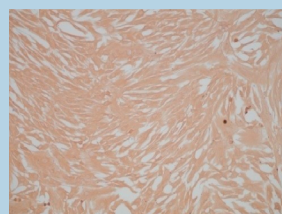
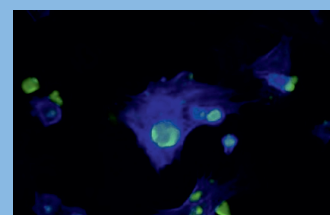
MSC



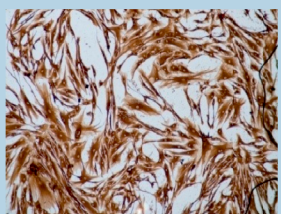
TAF



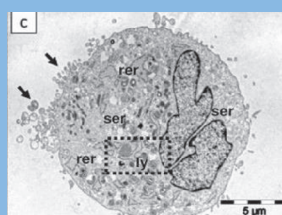
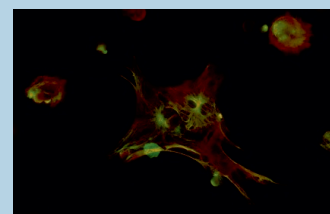
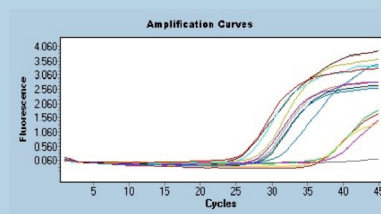
Nanog



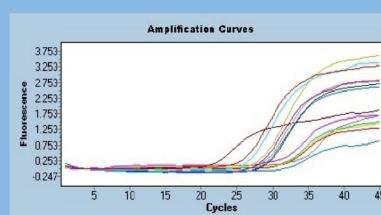
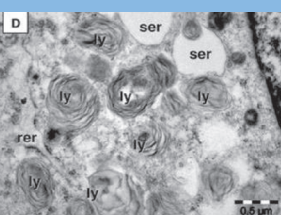
Expresia vimentinei



Sox2



Aspecte ultrastructurale



Oct-4

TAF: capacitatea pluripotentă

