

## Моделирование компрессионной патологии межпозвонковых дисков и оценка эффективности клеточной терапии

М.С. ФИЛИППОВА<sup>1</sup>, Н.А. ВОЛКОВА<sup>1</sup>, В.Н. КУЦЫН<sup>2</sup>, В.В. ВОРОБЬЕВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

<sup>2</sup>Харьковская областная клиническая больница

## Modeling of Compression Pathology of Intervertebral Discs and Assessment of Cell Therapy Efficiency

M.S. FILIPPOVA<sup>1</sup>, N.A. VOLKOVA<sup>1</sup>, V.N. KUTSIN<sup>2</sup>, V.V. VOROBYEV<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

<sup>2</sup>Kharkov Regional Clinical Hospital, Kharkov, Ukraine

Применение клеточных биотехнологий с позиций доказательной медицины требует проведения доклинических экспериментов на модели животных, максимально приближенной к патологии, формирующейся у человека. В настоящее время существует множество моделей дегенеративных повреждений тканей межпозвонковых дисков (МПД), но они имеют недостатки и в полной мере не повторяют компрессионный механизм их формирования у человека.

Цель работы – изучение эффективности клеточной терапии на новой экспериментальной модели.

Исследование проведено на 50 взрослых крысах-самцах массой 300–350 г. У всех животных под кетаминным наркозом проводили резекцию 2/5 длины хвостового отдела позвоночника на уровне  $C_{xx-xi}$ , образовавшуюся культуру подшивали под кожу спины краниальнее люмбально-сакрального сочленения. Мезенхимальные стромальные клетки культивировали по общепринятой методике на протяжении 14 суток. Животным контрольной группы через 6 недель после создания компрессии в зону поражения вводили по 0,25 мл солевого физраствора, животным опытной группы –  $10^6$  МСК. Манипуляции проводили в соответствии с “Общими принципами экспериментов на животных”, одобренными II Национальным конгрессом по биоэтике (20.09.2004 г., Киев, Украина). Эффективность моделирования патологии и терапевтический эффект оценивали при помощи спиральной компьютерной томографии (КТ) и гистологических методов исследования.

По данным КТ на 60-е сутки определялось уменьшение высоты МПД на уровне  $C_{v,viii}$  по сравнению с таковой до формирования компрессии. Микроскопически наиболее выраженные изменения как со стороны фиброзного кольца, так и пульпозного ядра определялись на том же уровне. В краевых отделах фиброзного кольца наблюдались расслоение и фрагментация пучков коллагеновых волокон, обширные трещины и щели. В таких областях плотность фиброхондроцитов была снижена, а на окружающих щели участках фиброхондроциты вообще отсутствовали. Пульпозное ядро было расширено, на участках, прилегающих к внутренним отделам пульпозного ядра, плотность нотохордальных клеток была снижена, обнаружено большое количество лизированных клеток. Морфометрические исследования гистологических препаратов зоны повреждения МПД животных с терапией МСК показали, что на 30-е сутки высота МПД увеличилась вместе с плотностью фиброхондроцитов в фиброзном кольце по сравнению с таковыми в контроле.

Таким образом, нами получена адекватная модель дегенеративно-дистрофических повреждений МПД и показана положительная терапевтическая тенденция применения МСК при данной патологии.

Application of cell biotechnology based on evidential medicine demands the carrying-out of pre-clinical experiments in animal model, maximally close to pathology forming in human. Nowadays there are many models of degenerative damages of intervertebral disc (IVD) tissues, but they have short-comings and do not repeat fully the compressive mechanism of their formation in human.

The research aim was to study the efficiency of cell therapy in a new experimental model.

The study was carried out in 50 adult male rats of 300–350g weight. The resection of 2/5 length of caudal part of the spine at the level of  $C_{xx-xi}$  was carried out in all the animals under ketamine narcosis and the forming stump was stitched subcutaneously on the back more cranially with respect to lumbar-sacral joint. Mesenchymal stromal cells (MSCs) were cultured according to traditional methods for 14 days. In 6 weeks the 0.25 ml of salt physiological solution was introduced into the damage zone to the animals of the control group, the animals of experimental group were injected with  $10^6$  MSCs. Manipulations were carried out according to “General principles of experiments in animals” approved by the II National Congress on Bioethics (20.09.04 Kiev, Ukraine). Modelling efficiency for pathology and therapeutic effect were estimated with spiral computer tomography (CT) and histological research methods.

According to the CT data to the 60th day there was found the reduced height of IVD at the level of  $C_{v,viii}$  if compared with that prior to compression formation. Microscopically the most manifested changes both from the side of fibrous ring and pulpal core were found at the same level. In marginal parts of fibrous ring the stratification and fragmentation of collagen fibre bundle, big cracks and slits were observed. In these areas the density of fibrochondrocytes was reduced and on the areas surrounding slits the fibrochondrocytes were absent at all. Pulpal core was widened, the density of notochoral cells was decreased on the sites adjacent to inner parts of pulpal core, large quantity of lysed cells was found. Morphometric studies of histological preparations of IVD damage zone of animals with MSC therapy have shown that to the 30th day the IVD height was increased together with the density of fibrochondrocytes in fibrous ring if compared with that ones in the control.

Thus, we have obtained an adequate model of degenerative dystrophic damages of IVD and positive therapeutic tendency of MSCs application at this pathology has been shown.