**Στοιχεία διδακτορικής διατριβής της κτηνιάτρου Ανθής Ανατολίτου**

**Τίτλος διδακτορικής διατριβής:** Συγκριτική μελέτη της θεραπευτικής εφαρμογής βλαστοκυττάρων από αυτόλογους δότες ιστούς στην ανάπλαση του αρθρικού χόνδρου σε πειραματικό μοντέλο κόνικλου

**Ονοματεπώνυμο υποψήφιου διδάκτορα:** Ανθή Ανατολίτου

**Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή**

* Νικήτας Πράσινος: *επιβλέπων*
* Ανδρέας Μαυρογένης: *μέλος*
* Αικατερίνη Σιδέρη: *μέλος*

**Περίληψη**

Ο αρθρικός χόνδρος λόγω εγγενών χαρακτηριστικών του διαθέτει μικρή δυνατότητα αυτόματης αναγέννησής, με αποτέλεσμα οι κακώσεις του αρθρικού συχνά να καταλήγουν σε οστεοαρθρίτιδα. Έχουν προταθεί ποικίλες μέθοδοι επιδιόρθωσης αυτών των κακώσεων, με πιο καινοτόμα αυτή της χρήσης βλαστοκυττάρων. Η ως τώρα βιβλιογραφία περιορίζεται σε προκλινικές κυρίως μελέτες πειραματοζώων που αφορούν την χρήση ενός δότη ιστού βλαστοκυττάρων για την αντιμετώπιση ιστικών κακώσεων. Η συγκεκριμένη ερευνητική πρόταση επιδιώκει μέσω της χρήσης πειραματοζώων να συγκρίνει τα βλαστοκύτταρα μεσεγχυματικής προέλευσης συγκεκριμένα λιπώδη ιστού (ΑCSs), μυελού των οστών (BM-MSCs) και αρθρικού θυλάκου (SDSCs) ως προς το θεραπευτικό τους αποτέλεσμα στην αναγέννηση των κακώσεων του αρθρικού χόνδρου, με σκοπό την εκτίμηση των πλεονεκτημάτων και των μειονεκτημάτων τους σε βάθος χρόνου και τη μεταξύ τους συσχέτιση. Επίσης, η παρούσα ερευνητική πρόταση επιδιώκει να αναδείξει κατά πόσο η συνδυαστική χρήση κόλλας ινικής με βλαστοκύτταρα επηρεάζει την εξέλιξη αυτής της αναγέννησης. Στην μελέτη θα συμπεριληφθούν 56 υγιής, ένηβοι, θηλυκοί κόνικλοι Νέας Ζηλανδίας, οι οποίοι θα χωριστούν σε 4 ομάδες. Η ομάδα Α θα έχει 8 ζώα και οι ομάδες Β, Γ, Δ από 16 ζώα. Σε αμφότερα τα γόνατα των ζώων θα δημιουργηθεί κυλινδρικό έλλειμμα στον αρθρικό χόνδρο με κατάλληλου, ανάλογα με την ομάδα, διαμετρήματος ήλους Steinmann και προεπιλεγμένο βάθος 3 mm. Στην ομάδα Α το χόνδρινο έλλειμμα θα παραμείνει κενό και στα δύο άκρα. Στο δεξιό άκρο θα έχει διάμετρο κρίσιμου μεγέθους (3 mm) ενώ στο αριστερό μικρότερη (2 mm). Στην ομάδα Β το χόνδρινο έλλειμμα διαμέτρου κρίσιμου μεγέθους (3 mm), στο δεξιό άκρο θα πληρούται μόνο με ικρίωμα, ενώ στο αριστερό άκρο θα πληρούται με ικρίωμα και ACSs. Στην ομάδα Γ*,* το χόνδρινο έλλειμμα διαμέτρου κρίσιμου μεγέθους (3 mm), στο δεξιό άκρο θα πληρούται μόνο με ικρίωμα, ενώ στο αριστερό άκρο θα πληρούται με ικρίωμα και BM-MSCs. Στην ομάδα Δ το χόνδρινο έλλειμμα διαστάσεων κρίσιμου μεγέθους (3mm), στο δεξιό άκρο θα πληρούται μόνο με ικρίωμα , ενώ στο αριστερό άκρο θα πληρούται με ικρίωμα και SDSCs. Ως ικρίωμα θα χρησιμοποιηθεί κόλλα ινικής, που είναι βιοδιασπώμενο υλικό. Η διαδικασία λήψης βλαστοκυττάρων, θα ολοκληρώνεται κατόπιν συλλογής λίπους από τα ζώα της ομάδας Β, μυελοκέντησης των ζώων της ομάδας Γ και συλλογής αρθρικού υμένα από τα ζώα της ομάδας Δ, καθώς το πειραματικό μοντέλο θα είναι αυτόλογο. Στα ζώα όλων των ομάδων, 12 εβδομάδες μετά την έναρξη του πειραματισμού, θα γίνεται ευθανασία και θα ακολουθεί έλεγχος και των δύο γονάτων με μια τροποποιημένη κλίμακα International Cartilage Repair Society. Εκτός από την μακροσκοπική εκτίμηση του βάθους του ελλείμματος του αρθρικού χόνδρου που θα έχει παραμείνει και την εμφάνιση του σημείου περιμετρικά του ελλείμματος καθώς και του συνόλου του αρθρικού χόνδρου, θα συνυπολογίζεται η ιστολογική εικόνα του νεοσχηματισμένου χόνδρου, της περιφέρειάς του και του υποχόνδριου οστού καθώς και η ανοσοϊστοχημική μέτρηση της κολλαγενάσης ΙΙ και της αγκεκάνης στο νεοσχηματισμένο χόνδρο. Η τελική συνολική κλίμακα θα κυμαίνεται από 0 έως 24. Επίσης θα γίνει μέτρηση γαλακτικής δεϋδρογανάσης στο αρθρικό υγρό και στο αίμα ως πρώιμου δείκτη οστεοαρθρίτιδας.

**PhD title:** Comparative study of articular cartilage regeneration with autologous mesenchymal stem cells in a rabbit model

**PhD candidate name:** Anthi Anatolitou

**Three member advisory committee**

* Nikitas Prassinos: *supervisor*
* Andreas Mavrogenis: *member*
* Aikaterini Sideri: *member*

**ABSTRACT**

The articular cartilage due to its inherent characteristics has limited-regeneration capability. Joint trauma often results in osteoarthritis. Various methods of repairing articular injuries have been proposed, but the most innovative is with the use of stem cells in the affected area. The majority of published data is limited to preclinical animal studies with one type of stem cell. The subject of the present study is to compare the effect of adipose tissue derived stem cells (ACSs), bone marrow derived stem cells (BM-MSCs) and synovial membrane derived stem cells (SDSCs) in the regeneration process of an injured cartilage. Additionally, it will assess the advantages and disadvantages of each stem cell type over time. Finally, it will investigate the potential benefits of their, combined use with fibrin glue to the cartilage regeneration. For this purpose 56 healthy, female, adult New Zealand rabbits will be selected. They will be divided in 4 groups. Group A will include 8 animals. Groups B, C and D will include 16 animals, each. On each animal’s knee, a cartilage defect will be surgically induced with a suitable Steinmann pin and a 3 mm depth stopper. In group A the cartilage defect will remain empty at both limbs. On the right limb the defect will have a critical size diameter (3 mm) while on the left the diameter will be smaller (2 mm). In group B the critical size cartilage defect (3 mm), on the right limb will be filled with scaffold, while on the left it will be filled with scaffold and ACSs. In Group C, the critical size cartilage defect (3 mm), on the right limb will be filled with scaffold, while on the left limb it will be filled with scaffold and BM-MSCs. In Group D, the critical size defect (3 mm), on the right limb will be filled with scaffold, while on the left limb it will be filled with scaffold and SDSCs. Fibrin glue which is biodegradable will be used as a scaffold. The experimental model will be autologous. The stem cell harvesting procedure will be completed after fat aspiration from animals in Group B, bone marrow aspiration from animals in Group C and the synovial membrane collection from animals in Group D. After twelve weeks all animals will be euthanized. Both knees will be examined and marked according to a modified International Cartilage Repair Society scale. In addition to the macroscopic assessment of the cartilage defect coverage and the gross appearance of the neocartilage, the histological characteristics and the immunohistochemical measurement of collagenase II and aggrecan will be co-evaluated. The total score will range from 0 to 24. Lactate dehydrogenase will also be measured in synovial fluid and blood as an early marker of osteoarthritis.