

УДК 591.4:591.497:59.08

Григоровский В.В., Хижняк М.В., Васильева И.Г., Шуба И.Н., Гафийчук Ю.Г.

### Патоморфологические изменения межпозвоноковых дисков и тел позвонков хвоста крыс при асимметричной статичной компрессии-дистензии в эксперименте

Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины, г. Киев

Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины, г. Киев

Военно-медицинский клинический центр Южного региона Министерства обороны Украины, г. Одесса

Биологическое моделирование остеохондроза позвоночника и его осложнений – распространенных заболеваний человека — является актуальной задачей экспериментальной медицины и патологии. Наиболее часто при изучении различных аспектов остеохондроза позвоночника используют биологические модели, воспроизводимые на животных *in vivo* [1]. Несмотря на принципиальное сходство строения сегментов позвоночника у человека и животных: наличие дифференцированных структур фиброзного кольца (ФК) и студенистого ядра (СЯ), замыкательных хрящевых пластинок (ЗХП) на поверхности эпифиза тел позвонков, существуют значительные различия биологии и биомеханики, обуславливающие выраженные различия дистрофически-деструктивного поражения позвоночника (ДДПП) у разных биологических видов [2]. Важнейшими этиологическими факторами ДДПП у человека, отсутствующими у животных, являются естественная осевая нагрузка с ее основной составляющей — массой тела, а также, длительность (десятилетия) нагрузки на позвоночник [3, 4]. Сочетание этих факторов обуславливает, с одной стороны, значительную выраженность данной патологии, с другой — большее разнообразие топографии поражения структур сегментов позвоночника.

Приведенные данные объясняют многие технические трудности создания адекватных моделей ДДПП у животных, которые приходится преодолевать во время их разработки. В связи с изложенным становится понятным, что воспроизвести у животных комплекс патологических изменений в сегментах позвоночника, топография и динамика которых полностью соответствовали бы таковым у человека, невозможно. Еще проблематичнее моделировать у лабораторных животных характерные осложнения ДДПП, часто возникающие у человека: пролапс ткани СЯ, грыжу дисков, спинальные неврологические расстройства и т.п. [5, 6]. Основными требованиями к экспериментальным моделям ДДПП является получение предсказуемых, стандартно повторяющихся патологических изменений ФК и СЯ, по сущности, топографии и динамике отражающих таковые соответствующих анатомических структур у человека [1, 2, 7].

В настоящее время научные центры, разрабатывающие проблемы лечения ДДПП, используют несколько моделей на животных разных биологических видов. Основные методы воздействия на сегменты позвоночника опытных животных — статичная и динамичная компрессия и острая травма ФК и СЯ (табл. 1). Некоторые экспериментальные воздействия: острая травма связочного аппарата, приводящая к спондилолистезу, острое нарушение

кровоснабжения позвонков в большей степени отражают последствия травмы позвоночника и лишь по некоторым параметрам повреждения и реакции тканей соответствуют ДДПП у человека [5, 6, 8–11].

Хотя принцип воспроизведения ДДПП у животных путем динамической компрессии в этиологическом отношении представляется наиболее адекватным патологии у человека, технически он оказывается достаточно трудно осуществим [12], к тому же, часто противоречит принципам гуманного обращения с животными (биопедализм) [1]. Моделирование статичной компрессии сегментов поясничного отдела позвоночника у кролей и собак также технически сложно, учитывая, что поддержание параметров компрессии с помощью аппарата типа Илизарова требует постоянного контроля и коррекции; кроме того, сохраняется угроза возникновения у животных воспалительного процесса в костях и мягких тканях, что может значительно изменить результаты эксперимента. Использование для моделирования ДДПП собак и мини-свиной экономически не выгодно, они требуют тщательного ухода [6, 7, 9, 13].

Одной из наиболее удачных в отношении изучения этиологии и патогенеза и удобной в использовании можно считать модель на крысах, у которых воспроизводят длительную АСКД сегментов хвостового отдела позвоночника [1, 14]. Экспериментальное воздействие достаточно стереотипно, не требует сложных устройств и, по описаниям, патологические изменения в МПД и телах позвонков по ряду признаков соответствуют ДДПП у человека. Однако, учитывая комплексный характер воздействия патологических факторов на структуры сегментов хвостового отдела позвоночника крыс при АСКД, динамика морфологических изменений структур МПД, в частности ФК и особенно — тел позвонков в этой модели недостаточно изучена, неясен также исход воздействия АСКД после ее прекращения, т.е. релаксации хвостового отдела позвоночника.

**Целью** исследования было: в эксперименте на крысах, у которых воспроизводили АСКД хвостового отдела позвоночника, изучить особенности поражения структур ФК МПД и эпифиза тел позвонков.

Материалом исследования являлись сегменты хвостового отдела позвоночника 11 крыс, у которых под наркозом кетаминном выполняли ампутацию трех последних сегментов, а затем подшивали культю хвоста в области его основания по методике, описанной Паззаглиа – Волковым [1, 3] (рис. 1 *цветной вкладки*). Крыс содержали в обычных условиях вивария. Местных осложнений операции (прорезывание швов, некроз мягких тканей, инфицирование операционной раны) не было; спонтанный падеж жи-

**Таблиця 1.** Сводная таблица публикаций, посвященных моделированию дистрофически-деструктивных и иных патологических изменений в межпозвоночных дисках (МПД) в эксперименте

Авторы [источник]	Вид животных, отдел позвоночника, на котором проведен эксперимент	Вид экспериментального воздействия и сроки наблюдения	Результаты экспериментов, патоморфологические изменения в МПД и телах позвонков
Волков А.В. [1]	Крысы, хвостовой отдел позвоночника	Асимметричная статичная компрессия	Асимметричное уменьшение высоты МПД, уменьшение количества НХК и содержания агреканов в СЯ
Григоровский В.В., Улещенко В.А. [5]	Кроли, поясничный отдел позвоночника	Перевязка сегментарных поясничных артерий и вен, дополнительно острая травма ФК	Очаговые ишемически-некротические изменения ФК и дистрофически-некротические — СЯ, опережающие возрастную убыль НХК СЯ
Юхта М.С., Грищенко В.И. [14]	Крысы, хвостовой отдел позвоночника	Асимметричная компрессия хвостового отдела, 60 сут	Расслоение и фрагментация пучков КВ, трещины и щели в ФК, участки, на которых отсутствуют фиброхондроциты, в СЯ — лизированные НХК
Carrello R. и соавт. [7]	Собаки с хондродистрофией	Собаки, у которых в естественных условиях возникает остеохондроз МПД	По мере старения значительно уменьшается количество крупных НХК, нарушается синтез ПГ и их распределение в матриксе СЯ
Erwin W.M., Inman R.D. [13]	Собаки с хондродистрофией	In vitro получали среду, кондиционированную НХК, затем воздействовали на монослойную культуру бычьих ХЦ диска	Среда, кондиционированная НХК в культуре, усиливает продукцию ПГ даже независимо от того, что они не адгезируются к поверхности in vitro
Ganey T. и соавт. [9]	Собаки, поясничный отдел позвоночника	Частичная нуклеотомия на 3 уровнях поясничных сегментов, 6 нед репарации, затем подсадка клеток, культивированных из жировой ткани, носитель ГК + контроль 12 мес	В МПД, куда имплантировали аутоадипогенные клетки, структура и другие свойства в большей степени соответствовали таковым в норме, чем в контроле, что подтверждается биохимическим анализом содержания коллагена II типа и агреканов
Нее Н.Т. и соавт. [15]	Кроли, поясничный отдел позвоночника	Модель компрессии с использованием внешнего аппарата 2 нед, затем дистракция 8 нед в сочетании с имплантацией костномозговых МСК	Нарушения трофики тканей МПД, вызванные компрессией. Положительное воздействие сочетания дистракции и МСК на регенерацию МПД
Hohaus C. и соавт. [16]	Собаки, поясничный отдел позвоночника	Испытаны для имплантации в эксперименте аутоХЦ и клетки жировой ткани (оптимально!)	Имплантированные регенерирующие клетки дифференцируются в СЯ-фенотип в среде, подобной матриксу МПД. Их преимущество в том, что не обязательно культивирование
Kroeber M.W. и соавт. [4]	Кроли, поясничный отдел позвоночника	Модель компрессии с использованием внешнего аппарата 2 нед, затем дистракция 8 нед в сочетании с имплантацией костномозговых МСК, сроки нагрузки 1, 17, 28 сут, также 28 сут нагрузки и 28 сут разгрузки	На 14-е и 28-е сутки нагрузки — признаки дезорганизации в ФК и концевых пластинках, с увеличением количества некротизированных клеток, за 28 сут разгрузки не восстанавливались
MacLean J.J. и соавт. [12]	Крысы, хвостовой отдел позвоночника	Иммобилизация (72 ч) и динамическая компрессия (2 ч) с использованием устройства типа аппарата Илизарова, а также их последовательным сочетанием. Определение активности анаболических и катаболических генов (тПЦР)	При обоих взаимодействиях изменяется активность анаболических и катаболических генов, коллагенов I и II типа, повышается активность агреканызы
Murrell W. и соавт. [10]	Крысы, поясничный отдел позвоночника	Аспирация с помощью СЯ в двух МПД, в один из них — подсадка культивированных стволовых клеток слизистой оболочки обонятельной зоны	Нарушения трофики СЯ, обусловленные механической травмой МПД. Имплантированные стволовые клетки слизистой оболочки обонятельной зоны приобретают фенотип клеток СЯ
Omlor G.W. и соавт. [6]	Мини-свиньи, поясничный отдел позвоночника	Частичное (около 10%) удаление СЯ путем нуклеотомии, 3 и 24 нед	Через 3 нед высота МПД уменьшилась на 26%, через 24 нед — на 32%. Степень дегенеративных изменений в баллах увеличивалась. В норме по маркеру ЦК8 доля НХК и ХЦ-подобных клеток в СЯ примерно одинакова, после нуклеотомии количество НХК менее 10%. Повышение активности матриксных генов, как и ММП 13 и 3, их ингибиторы угнетены
Pazzaglia U.E. и соавт. [3]	Крысы, хвостовой отдел позвоночника	АСКД	Асимметричное уменьшение высоты МПД. Изучены в основном изменения тел позвонков в зоне компрессии-дистракции
Sheikh H. и соавт. [11]	Кроли, поясничный отдел позвоночника	Чрескожная пункция МПД с помощью иглы, 2, 6, 8 нед. В пораженные диски вводили клеточную культуру мышечных ЭСК, выращенных в особых условиях, для получения линии ХЦ, срок после имплантации 8 нед	После пункции сохранение ФК и значительная дезорганизация СЯ с фиброзом. После имплантации ЭСК обнаружены витальные НХК без признаков воспалительной реакции и иммунного ответа тканей в ложе имплантации
Sobajima S. и соавт. [8]	Кроли, поясничный отдел позвоночника	Прокол иглой передних отделов МПД на глубину 5 мм, от 3 до 24 нед	Уменьшение количества НХК, фибрирование СЯ. Тенденция к спонтанному восстановлению отсутствовала. Остеоциты — через 6 нед, мостовидные — через 24 нед

*Примечание.* ГК — гиалуроновая кислота; КВ — коллагеновые волокна, ММП — матриксные металлопротеиназы; МСК — мезенхимальные стволовые клетки; НХК — нотохордальные клетки; ПГ — протеогликаны; тПЦР — транскрипционная полимеразная цепная реакция; ХЦ — хондроциты; ЭСК — эмбриональные стволовые клетки.

вотных не наблюдали. После моделирования АСКД в течение 1 мес наблюдали 2 крысы, 2 мес — 5, 3 мес — 4. Одно животное, соответствовавшее по возрасту выведенным из опыта через 3 мес после АСКД, послужило контрольным как интактное (табл. 2). После выведения крысы из эксперимента в плоскости наиболее выраженного изгиба хвоста вырезали блоки тканей, включавшие 2 сегмента позвоночника, которые после фиксации и декальцинации заливали в целлоидин. Срезы толщиной 10 мкм, полученные на разных уровнях блока, просматривали для оценки репрезентативности структур диска (СЯ, ФК) и тел позвонков. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, гематоксилином и пикрофуксином по ван Гизон. Гистологические исследования и микрофотографирование проводили по методу светлого поля и в поляризованном свете с помощью микроскопов Olympus CX-41 и МБС-2.

**Гистологические особенности сегментов хвостового отдела позвоночника крысы.** В МПД отчетливо различаются ФК и СЯ, имеющие отчетливые границы. ФК состоит из однотипных коллагеновых пластин, прикрепленных к эпифизу смежных позвонков; в наружных отделах ФК коллагеновые пластины и фиброциты, расположенные между ними, имеют характер плотной оформленной волокнистой соединительной ткани, во внутренних отделах, граничащих с СЯ, и в большей мере соответствуют волокнистому хрящу, а клетки — хондроцитам. Части ФК, окружающие СЯ, выглядят как симметричные структуры, расстояние между симметричными зонами прикрепления волокнистых пластин к эпифизу тел позвонков практически одинаково. Симметрично расположены также границы ФК и СЯ с обеих сторон МПД. СЯ представляет собой образование с рыхлым матриксом, в нем среди хлопьеобразного миксоидного матрикса в большем или меньшем количестве содержатся НХК. В большинстве интактных МПД НХК выглядят как крупные формы с округлым ядром стереотипных размеров, образующие сетчато-тяжистые, гнездовые, местами солидные структуры. Ядра НХК средних размеров и плотности, цитоплазма большая мелко- или крупно-вакуолизированная. По краям эпифиза тел позвонков, прилежащих к ткани СЯ,

располагаются ЗХП в виде тонких прослоек гиалинового хряща. При использовании обычных методов окраски гистологических срезов в интактных МПД некротизированные клетки не обнаружены.

**Гистологические изменения МПД крысы при длительной АСКД.** В структурах МПД хвостового отдела позвоночника определяли выраженные патологические изменения. При малом увеличении во все сроки исследования наблюдали заметную асимметрию структур МПД: расстояние между поверхностью эпифиза в местах прикрепления пластин ФК, расположение и форма полости, занимаемой СЯ, структуры участков ФК на стороне АСКД заметно различались. Практически во всех исследованных МПД СЯ было смещено в сторону отделов ФК, подвергшихся дистензии (рис. 2 цветной вкладки), при этом пластины ФК выглядели натянутыми, а в местах прикрепления их к эпифизу обнаружены очаги дистрофических изменений с кистообразованием и обызвествлением. В некоторых наблюдениях среди пластин внутренних отделов ФК на стороне дистензии выявляли отдельные и расположенные мелкими группами хондроциты. Максимально выраженные патологические изменения выявляли в отделах ФК на стороне компрессии (рис. 3 цветной вкладки). Коллагеновые пластины ФК были сплюснены, с выпуклостями, обращенными кнаружи МПД и внутрь, в сторону СЯ. В центральных участках сплюснения наблюдали выраженную дезорганизацию и механическое разрушение коллагеновых пластин с множеством полиморфных щелей. В этих участках выявлены распространенные очаги фибронекроза коллагеновых пластин, доходившие до мест прикрепления их к эпифизу. Перифокально от участков фибронекроза ФК в ткани располагались крупные округло-овальные клетки, лежащие обособленно и в виде кластеров — пролиферирующие хондроциты (рис. 4 цветной вкладки). По данным поляризационно-оптического исследования выявлены особенности физических свойств пластин ФК на стороне компрессии: выраженная неоднородность анизотропии поврежденных, некротизированных пластин, в некоторых из них — сильная анизотропия, в других, наоборот, низкая степень анизотропии (рис. 5 цветной вкладки). Выпуклые части ФК на стороне

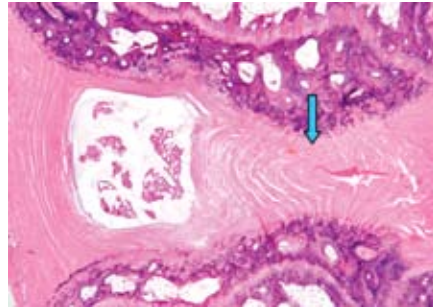
Таблица 2. Условия эксперимента, материалы исследования, основные результаты

Группы крыс и формула эксперимента	Длительность компрессии, мес	Число животных	Изменения ФК	Изменения СЯ	Изменения эпифиза, эпифизарного хряща, тел позвонков
Интактные	—	1	Практически не выражены	Практически не выражены	Отсутствуют
АСКД	1	2	Типичные на стороне компрессии во всех наблюдениях	Некроз до 10% НХК у одного животного	Типичные на стороне компрессии во всех наблюдениях
АСКД	2	5	То же	Некроз до 10% НХК у 3 животных	Типичные на стороне компрессии у 4 животных
АСКД	3	4	То же	Некроз до 5–10% НХК у 3 животных	Типичные на стороне компрессии у 1 животного
Всего животных		12	У большинства животных	У 7 из 11 животных, в большинстве — некроз до 5–10 % НХК в срезе	У 9 из 11 животных различные изменения

*Григоровский В.В., Хижняк М.В., Васильева И.Г., Шуба И.Н., Гафийчук Ю.Г.*  
**Патоморфологические изменения межпозвоночных дисков и тел позвонков хвоста крыс при асимметричной статичной компрессии-дистензии в эксперименте**

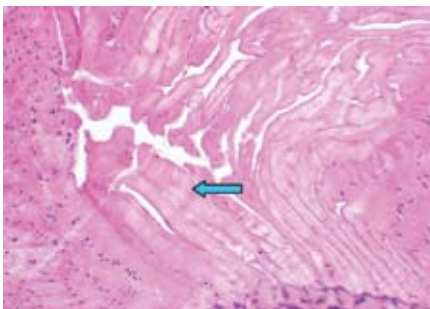


**Рис. 1.** Крыса с культей хвоста, подшитой к его основанию.



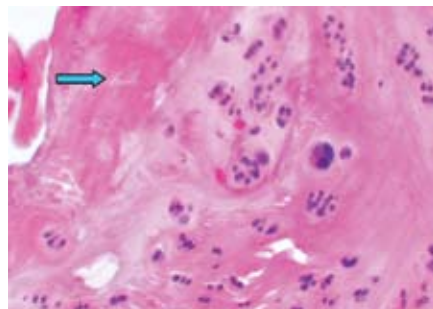
**Рис. 2.** Микрофото. Асимметрия структур МПД. СЯ смещено в сторону дистензии, на стороне компрессии ФК сплющено (указано стрелкой),

с трещинами, высота эпифиза увеличена. Срок АСКД 2 мес. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×25.



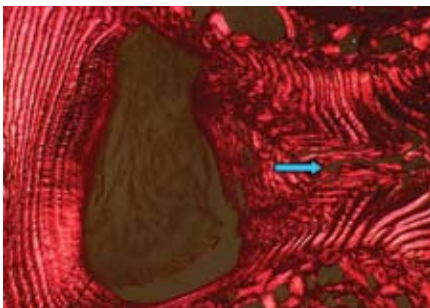
**Рис. 3.** Микрофото. Участки фибро-некроза (указано стрелкой), расслоение и разрыв пластин ФК на стороне компрессии. Срок АСКД 2 мес.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×80.



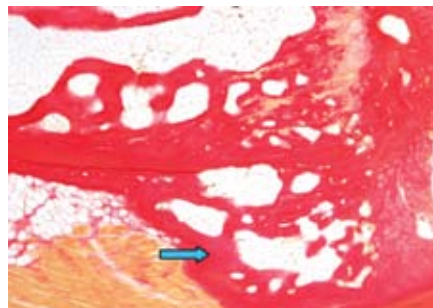
**Рис. 4.** Микрофото. Проллиферация хондроцитов (в центре) ФК перифокально от очага фибро-некроза (указан стрелкой). Срок АСКД

1 мес. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×160.



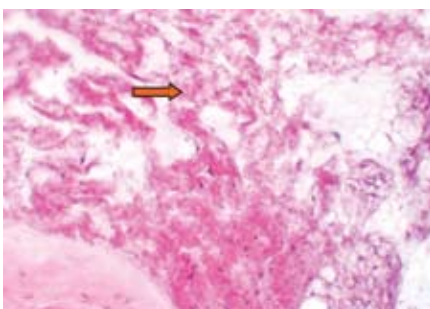
**Рис. 5.** Микрофото. Неоднородность поврежденных коллагеновых пластин ФК на стороне компрессии (указано стрелкой), часть их с высокой

степенью анизотропии, другие — с низкой. Слева — нормальная анизотропия пластин на стороне дистензии. Срок АСКД 3 мес. Окраска гематоксилином и пикрофуксином по ван Гизон, поляризационная микроскопия. Ув.×25.

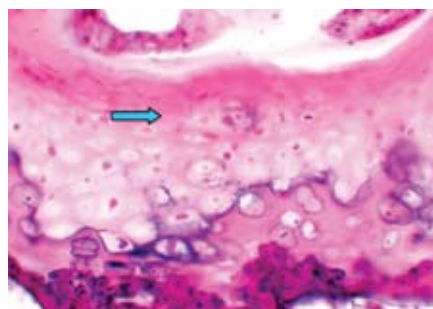


**Рис. 6.** Микрофото. Крупный органотипически перестроенный остеофит (указан стрелкой), прилежащий к эпифизу и телу позвонка на стороне дис-

тензии. Срок АСКД 3 мес. Окраска гематоксилином и пикрофуксином по ван Гизон. Ув.×25.



**Рис. 7.** Микрофото. Некроз (указан стрелкой) части НХК СЯ МПД. Срок АСКД 3 мес. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×160.



**Рис. 8.** Микрофото. Хондронекроз (указан стрелкой) замыкательной хрящевой пластинки эпифиза позвонка. Срок АСКД 1 мес.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув.×160.

компрессии, обращенные кнаружи, отесняют наружную связку позвоночника, а в некоторых сегментах по краям эпифиза определяют полиморфные краевые костные разрастания, иногда в виде крупных ассимилированных, компактизованных и перестроенных остеофитов (*рис. 6 цветной вкладки*).

В СЯ МПД после АСКД также выявляли патологические изменения: полость, занимаемая СЯ, обычно уменьшена, со стороны компрессированного отдела ФК в полость СЯ выбухают выпуклые части внутренних коллагеновых пластин. В самом СЯ изменения разнородны. В части МПД СЯ построены из солидных скоплений НХК, в части — из тяжистых комплексов, местами отмечена выраженная вакуолизация цитоплазмы НХК. Некоторые клетки некротизированы, ядра их гипохромны; количество некротизированных клеток среди видимо интактных чаще невелико, в большинстве наблюдений не превышает 5–10%, лишь в некоторых МПД — 20% или более (*рис. 7 цветной вкладки*). В одном МПД через 3 мес после АСКД СЯ отсутствовало, замещено неравномерно набухающим волокнистым хрящом, в толще которого видны четко контурированные щели неправильной формы, НКХ на месте ранее существовавшего СЯ отсутствовали, высота МПД была снижена.

В ЗХП эпифиза тел позвонков, непосредственно прилежащих к полости, занимаемой СЯ, во многих наблюдениях определяли очаги хондронекроза, распространявшиеся вглубь на все зоны хряща (*рис. 8 цветной вкладки*). Небольшие участки остеомиеллярного некроза выявляли также в костной ткани эпифиза. В отдаленные сроки после моделирования АСКД очаги хондронекроза обнаруживали также в эпифизарном хряще позвонков — преимущественно на стороне компрессии. Высота эпифиза тел, прилежащих к тканям МПД на стороне АСКД, была неодинакова: в отдельных сегментах хвостового отдела наблюдали как уменьшение высоты костного эпифиза, так и увеличение; в некоторых наблюдениях асимметрия высоты частей эпифиза была незаметна.

**Обсуждение результатов.** При моделировании АСКД на хвостовом отделе позвоночника крыс путем подшивания культи хвоста к позвонкам его основания возникает комплекс характерных патологических изменений во всех структурах его сегментов: МПД, ЗХП, эпифизе тел, эпифизарном хряще. Постоянно выявляли очаговые некротические изменения в ткани ФК на стороне компрессии, сопровождавшиеся признаками дезорганизации и механического разрушения коллагеновых пластин, с перифокальной репаративной реакцией хондроцитов ФК, что, однако, не завершалось его регенерацией в условиях АСКД в течение 3 мес наблюдения. Менее выраженные и не столь регулярные изменения отмечали в СЯ, ЗХП, эпифизе и эпифизарном хряще. Длительная АСКД проявлялась значительными стереотипными нарушениями топографии основных структур сегментов позвоночника: асимметрией высоты МПД, вариацией высоты костного эпифиза, натяжением коллагеновых пластин ФК на стороне дистензии, сплющиванием на стороне компрессии, смещением и деформацией полости, занимаемой СЯ, в сторону натянутых пластин ФК на стороне дистензии. Мы не

смогли подтвердить закономерное увеличение доли некротизированных НХК от их общего количества в СЯ МПД при АСКД. Не отмечено также закономерное уменьшение высоты частей костного эпифиза и эпифизарного хряща на стороне компрессии, которое наблюдали другие авторы [1, 3]: если в сроки 1–2 мес АСКД эти изменения регистрировали во всех или в большинстве сегментов, то через 3 мес — лишь в отдельных из них.

В настоящее время многие исследователи для воспроизведения дистрофически-деструктивных изменений в МПД животных используют различные принципы и подходы. Нам представляется, что целесообразно оценивать модели ДДПП по степени подобия динамики, топографии и выраженности отдельных изменений в МПД животных изменениям, наблюдаемым в МПД человека, их повторяемости у отдельных животных, технической доступности методики, отсутствию осложнений. Практически ни одна из моделей на животных по характеру и динамике изменений в полной мере не соответствует ДДПП человека, при котором в течение десятилетий прогрессируют дистрофические, механически-травматические, дисциркуляторные, регенераторные и фиброзирующие изменения во всех анатомических компонентах МПД [2]. Во всех существующих моделях удавалось добиться подобия патологии у человека лишь по некоторым показателям, причем в относительно короткие сроки. Вероятно, компоненты МПД у животных, особенно СЯ, достаточно устойчивы к патогенным воздействиям, имитирующим таковые у человека. По нашему мнению, основным достоинством данной модели является частота воспроизводимости у животных некоторых элементов патологии, а также стереотипность параметров патологических изменений. Поскольку модели используют в эксперименте для сравнительной оценки различных методов лечебных воздействий, по ряду показателей (асимметричное уменьшение высоты МПД, очаговое некротическое поражение ФК, некроз ЗХП, образование краевых остеофитов) модель АСКД хвостового отдела позвоночника крыс обеспечивает воспроизводимость патологии у человека. Относительная доступность крыс в качестве лабораторных животных, простота воспроизведения методики и отсутствие осложнений также свидетельствуют в пользу модели Паззаглиа – Волкова [1, 3].

Модель, основанная на АСКД хвостового отдела позвоночника, предоставляет возможность дальнейшего исследования в динамике после прекращения АСКД (период релаксации). При этом можно ожидать преобладания репаративных изменений. Представляет интерес также изучение динамики некоторых качественных и количественных показателей поражения и восстановления структур МПД в условиях применения некоторых воздействий: влияния физических факторов, имплантации аутологичных клеток СЯ, мезенхимальных стволовых клеток, адипогенных стромальных клеток и т.п. [15, 16].

#### **Выводы**

1. При длительной АСКД сегментов хвостового отдела позвоночника у крыс в МПД и телах позвонков возникают характерные патологические изменения, преимущественно ишемически-дистрофические.

2. Наиболее выраженный и постоянный компонент поражения дисков при АСКД — крупноочаговый некроз клеток коллагеновых пластин ФК на стороне компрессии, сопровождающийся сминанием, значительным разволокнением и растрескиванием структур ФК, с перифокальной зоной пролиферации хондроцитов, что, однако, в пределах сроков наблюдения не сопровождалось замещением очага поражения.

3. В структурах СЯ и ЗХП тел позвонков при моделировании АСКД непостоянно выявляли участки некроза НХК и хондроцитов, а в эпифизе и эпифизарном хряще тел позвонков — мелкие очаги остеодегенеративного некроза.

4. Изменение высоты костного эпифиза и эпифизарного хряща позвонков, прилежащих к МПД в участках компрессии и дистензии ФК, а также краевые осификаты тел позвонков непостоянны и не имеют закономерного характера.

### Список литературы

1. Волков А.В. Морфологические изменения межпозвоночного диска крысы в условиях асимметричной статической компрессии: дис. ... канд. мед. наук: спец. 03.00.25. — гистология, цитология, клеточная биология / А.В.Волков. — М., 2008. — 133 с.
2. Quint U. Grading of degenerative disk disease and functional impairment: imaging versus pathoanatomical findings / U. Quint, H.-J. Wilke // Eur. Spine J. — 2008. — V.17. — P.1705-1713.
3. Pazzaglia U.E. The effects of mechanical forces on bones and joints. Experimental study on the rat tail / U.E. Pazzaglia, L. Andriani, A.Di Nucci // J. Bone Joint Surg. — 1997. — V.79-B, N6. — P.1024-1030.
4. New in vivo animal model to create intervertebral disc degeneration and to investigate the effects of therapeutic strategies to stimulate disc regeneration / M.W. Kroeber, F. Unglaub, H. Wang [et al.] // Spine. — 2002. — V.27, N23. — P.2684-2690.
5. Григоровский В.В. Изменения в межпозвоночных дисках и телах позвонков при нарушении сегментарного кровоснабжения и дополнительной острой травме в эксперименте / В.В. Григоровский, В.А. Улещенко // Ортопедия, травматология. — 1985. — №3. — С.21-24.
6. A new porcine in vivo animal model of disc degeneration: response of annulus fibrosus cells, chondrocyte-like nucleus pulposus cells, and notochordal nucleus pulposus cells to partial nucleotomy / G.W. Omlor, A.G. Nerlich, H.J. Wilke [et al.] // Spine. — 2009. — V.34, N25. — P. 2730-2739.
7. Notochordal cells produce and assemble extracellular matrix in a direct manner, which may be responsible for the maintenance of healthy nucleus pulposus / R. Cappello, J.L. Bird, D. Pfeiffer [et al.] // Spine. — 2006. — V.31, N8. — P.873-882.
8. A slowly progressive and reproducible animal model of intervertebral disc degeneration characterized by MRI, X-ray, and histology / S. Sobajima, J.F. Kompel, J.S. Kim [et al.] // Spine. — 2005. — V.30, N1. — P.15-24.
9. Intervertebral disc repair using adipose tissue-derived stem and regenerative cells: experiments in a canine model / T. Ganey, W.C. Hutton, T. Moseley [et al.] // Spine. — 2009. — V.34, N21. — P.2297-2304.
10. Olfactory stem cells can be induced to express chondrogenic phenotype in a rat intervertebral disc injury model / W. Murrell, E. Sanford, L. Anderberg [et al.] // Spine J. — 2009. — V.9, N7. — P.585-594.
11. In vivo intervertebral disc regeneration using stem cell-derived chondroprogenitors / H. Sheikh, K. Zakharian, R.P. De La Torre [et al.] // J. Neurosurg. Spine. — 2009. — V.10, N3. — P.265-272.
12. Effects of immobilization on intervertebral disc cell gene expression in vivo / J.J. MacLean, C.R. Lee, S. Grad [et al.] // Spine. — 2003. — V.28, N10. — P.973-981.
13. Erwin W.M. Notochord cells regulate intervertebral disc chondrocyte proteoglycan production and cell proliferation / W.M. Erwin, R.D. Inman // Spine. — 2006. — V.31, N10. — P.1094-1099.
14. Юхта М.С. К вопросу о применении клеточной терапии при дегенеративно-дистрофических повреждениях межпозвоночных дисков / М.С. Юхта, В.И. Грищенко // Вісн. ортопедії, травматології та протезування. — 2010. — №4. — С.70-75.
15. Effects of implantation of bone marrow mesenchymal stem cells, disc distraction and combined therapy on reversing degeneration of the intervertebral disc / H.T. Hee, H.D. Ismail, C.T. Lim [et al.] // J. Bone Joint Surg. — 2010. — V.92-B, N5. — P.726-736.
16. Cell transplantation in lumbar spine disc degeneration discus / C. Hohaus, T.M. Ganey, Y. Mincus [et al.] // Eur. Spine J. — 2008. — Suppl.4. — P.492-503.

Отримано 24.06.2011

**Григоровський В.В., Хижняк М.В., Васильєва І.Г., Шуба І.М., Гафійчук Ю.Г.**

### Патоморфологічні зміни міжхребцевих дисків і тіл хребців хвоста щурів при асиметричній статичній компресії-дистензії в експерименті

Інститут травматології та ортопедії НАМН України, м. Київ,

Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України, м. Київ,

Військово-медичний клінічний центр Південного регіону Міністерства оборони України, м. Одеса

В експерименті на щурах відтворювали постійну асиметричну статичну компресію-дистензію (АСКД) сегментів хвостового відділу хребта шляхом підшивання куки хвоста до його основи. У строки спостереження 1-3 міс з використанням гістологічного методу встановлено, що при АСКД в міжхребцевих дисках і тілах хребців виникають характерні патологічні зміни, переважно ішемічно-дистрофічні. Найбільш постійний та гістологічно виражений компонент ураження дисків — великовогнищевий некроз клітин колагенових пластин фіброзного кільця на боці компресії, що супроводжується зібганням, значним разволокненням і розтріскуванням пластин, з перифокальною зоною проліферації хондроцитів, проте, у вивчені строки спостереження заміщення вогнища ураження не спостерігали. В структурах драглистого ядра та замикальних пластин тіл хребців постійно виявляли ділянки некрозу нотохордальних клітин, в епіфізі та епіфізарному хрящі тіл хребців — дрібні остеодегенеративні зони некрозу. Зміни висоти кісткового епіфіза та епіфізарного хряща хребців, що прилягають до диска, в ділянках АСКД фіброзного кільця, а також крайові осифікати тіл хребців постійні і не мають закономірного характеру.

**Ключові слова:** остеохондроз, дегенерація міжхребцевого диска, драглисте ядро, фіброзне кільце, некроз, хондроцити, нотохордальні клітини.

*Григоровский В.В., Хижняк М.В., Васильева И.Г., Шуба И.Н., Гафийчук Ю.Г.*

**Патоморфологические изменения межпозвоночных дисков и тел позвонков хвоста крыс при асимметричной статичной компрессии-дистензии в эксперименте**

Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины, г. Киев,  
Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины, г. Киев,  
Военно-медицинский клинический центр Южного региона Министерства обороны Украины, г. Одесса

В эксперименте на крысах воспроизводили постоянную асимметричную статичную компрессию-дистензию (АСКД) сегментов хвостового отдела позвоночника путем подшивания культи хвоста к его основанию. В сроки наблюдения 1–3 мес с использованием гистологического метода установлено, что при АСКД в межпозвоночных дисках и телах позвонков возникают характерные патологические изменения, преимущественно ишемически-дистрофические. Наиболее постоянный гистологически выраженный компонент поражения дисков — крупноочаговый некроз клеток коллагеновых пластин фиброзного кольца на стороне компрессии, сопровождающийся сминанием, значительным разволокнением и растрескиванием пластин, с перифокальной зоной пролиферации хондроцитов, однако в изученные сроки наблюдения замещение очага поражения не обнаружено. В структурах студенистого ядра и замыкательных пластинках тел позвонков непостоянно выявляли участки некроза нотохордальных клеток, в эпифизе и эпифизарном хряще тел позвонков — мелкие остеомерулярные зоны некроза. Изменения высоты костного эпифиза и эпифизарного хряща позвонков, прилежащих к диску, в участках АСКД фиброзного кольца, а также краевые оссификаты тел позвонков непостоянны и не имеют закономерного характера.

**Ключевые слова:** *остеохондроз, дегенерация межпозвоночного диска, студенистое ядро, фиброзное кольцо, некроз, хондроциты, нотохордальные клетки.*

*Grygorovsky V.V., Khyzhnyak M.V., Vasilyeva I.G., Shuba I.N., Gafiychuk Yu.G.*

**Pathomorphological changes of rat's tail intervertebral disks and vertebrae bodies at asymmetric static compression-distension in the experiment**

Institute of Traumatology and Orthopedics  
of National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev,  
Institute of Neurosurgery named after acad. A.P. Romodanov  
of National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev,  
Military Medical Clinical Center of South region of Ministry of Defense of Ukraine, Odessa

Constant asymmetric static compression-distention (ASCD) of tail segments of the spine was performed in rats by tail stump sewing to its base in the experiment. In period of 1–3 months using histological method it was fixed that ASCD led to pathological changes in intervertebral disks and vertebrae bodies, mainly caused by ischemia and dystrophy. The most constant histologically expressed component of intervertebral disks' damage — is macrofocal cell necrosis in collagen plate of the fibrous ring on the side of compression, accompanied by crumple, significant fiber prevalence and cracking of the plates with perifocal zone of chondrocyte proliferation, but these changes didn't result in substitution of focal damage in terms of observation. Zones of notochordal cells necrosis were inconstantly noted in the structures of nucleus pulposus and closing plates of vertebrae bodies and small osteomedullary zones of necrosis — in epiphysis and epiphyseal cartilages of the vertebrae bodies. Changes of osseous epiphyses and epiphyseal cartilages height, adjoining to disk in ASCD zones of fibrous ring and also vertebrae bodies marginal ossificates were inconstant and had no correct character.

**Key words:** *osteochondrosis, intervertebral discs' degeneration, nucleus pulposus, fibrous ring, chondrocytes, necrosis, notochordal cells.*

**Коментарій**

к статье В.В. Григоровского и соавторов "Патоморфологические изменения межпозвоноковых дисков и тел позвонков хвоста крыс при асимметричной статичной компрессии-дистензии в эксперименте"

Представленная работа посвящена углубленному исследованию патоморфологических изменений в различных анатомических структурах межпозвоноковых дисков (МПД) и тел позвонков хвостового отдела позвоночника крыс при моделировании асимметричной статичной компрессии-дистензии (АСКД) сегментов этого отдела позвоночника. Как следует из приведенного анализа литературы, данная экспериментальная модель с наибольшей полнотой и в наибольшем приближении воспроизводит аналогичную патологию у человека по ряду показателей, в отличие от большинства существующих моделей дистрофически-деструктивного поражения позвоночника (ДДПП), которые в большинстве технически трудно осуществимы, имеют ряд существенных недостатков и не обеспечивают всей полноты проявлений этой патологии, наблюдаемой у человека. В связи с этим представляет практический интерес вопрос о том, каков механизм реализации компрессии-гипотензии позвоночника крыс при ампутации его последних сегментов в условиях этой модели и можно ли выразить количественно силу этого воздействия на МПД и тела позвонков?

Актуальность патоморфологического аспекта исследований позвоночника крыс с моделированной АСКД обоснована недостаточной изученностью изменений в МПД и телах позвонков при данной патологии. Результаты работы в большой мере восполняют этот пробел.

В работе наглядно показано, что в ответ на АСКД в структуре фиброзного кольца (ФК), студенистого ядра (СЯ), а также замыкательных хрящевых пластинок (ЗХП) хвостового отдела позвоночника крыс возникает сложный комплекс клеточно-тканевых изменений во всех тканевых компонентах. Это подтверждают прекрасно выполненные микрофотограммы высокого качества. Дистрофически-дегенеративный процесс в указанных анатомических структурах позвоночника крыс имеет тенденцию к прогрессированию по мере увеличения длительности воздействия АСКД.

Применение сочетанной светооптической и поляризационно-оптической микроскопии при исследовании экспериментального материала позволило авторам обнаружить признаки нарушения пространственной архитектоники и топографии основных анатомических структур сегментов позвоночника — ФК и СЯ, появление очагов дистрофических изменений с участками кистообразования и обызвествления, деформацию коллагеновых пластин ФК с признаками их дезорганизации и механического разрушения, что сопровождалось образованием множественных полиморфных щелей, а также распространенных и множественных очагов некроза. В то же время представляет интерес появление на стороне АСКД перифокальной очаговой репаративной пролиферации хондроцитов среди пластин ФК в виде кластеров, прилежащих к очагам некроза. Однако даже через 3 месяца эксперимента ожидаемого процесса регенерации с последующим замещением очага поражения наблюдать не удалось.

Благодаря использованию метода поляризационно-оптического исследования экспериментального материала

в структурах МПД и позвонках при АСКД установлены изменения физических свойств коллагеновых пластин ФК на стороне компрессии-дистензии в виде выраженной неоднородности анизотропии. На рис. 8 показано изменение анизотропии без разъяснения — в сторону усиления или снижения этого параметра. Кроме того, логично было бы привести возможную трактовку значимости таких изменений в функциональном отношении.

Богатый детально проиллюстрированный патоморфологический материал, представленный в работе, помимо приведенного анализа, по нашему мнению, содержит резервы для более расширенного обсуждения полученных результатов. Так, большой интерес и дополнительную информацию могло бы представить сравнительное сопоставление выраженности гистологических изменений, индуцированных АСКД, во всех анатомических компонентах МПД, в динамике исследования — в сроки наблюдения 1, 2 и 3 мес в соответствии со степенью изменений качественных и количественных критериев. Имеются также основания для привлечения морфометрического метода оценки вариаций высоты костного эпифиза и эпифизарного хряща в опытных группах по сравнению с таковой в контрольных. Не ясно, учитывали ли поведенческие реакции крыс по сравнению с таковыми у интактных животных.

Представление обобщенных результатов патоморфологических исследований в виде таблицы 1 весьма схематично, упрощенно и, с нашей точки зрения, нуждается в текстуальном сопровождении.

Исключительно важное значение имеет тот факт, что обнаруженные авторами изменения при моделированной ДДПП в хвостовом отделе позвоночника крыс по ряду показателей имеют большое сходство с аналогичным патологическим процессом в позвоночнике человека, характеризуются высокой воспроизводимостью и однотипностью результатов. Это является веским обоснованием пригодности данной модели для возможного тестирования эффективности различных способов лечения дегенеративно-дистрофических процессов в позвоночнике, в частности, апробации методов заместительной клеточной и тканевой терапии.

Таким образом, представленная работа, основанная на исследовании достаточного количества экспериментального материала, имеет безусловную научную новизну и большую практическую ценность.

Полученные авторами результаты вносят существенный вклад в углубленную характеристику патогенеза дистрофически-дегенеративных заболеваний позвоночника, что имеет важное значение для дальнейшей разработки и совершенствования тактики лечения нейрохирургических больных. Использованные методические подходы и экспериментальное обеспечение адекватны и современны.

Представленный в работе иллюстративный материал в виде микрофотограмм убедительно объективизирует результаты проведенных исследований.

*В.М. Семенова, доктор мед. наук, профессор зав. лабораторией культивирования тканей*

*Института нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины*