

УДК 616.721.1:591.471.32:616-092.9.259.

Хижняк М.В.<sup>1</sup>, Григоровський В.В.<sup>2</sup>, Гафійчук Ю.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Відділення малоінвазивної і лазерної спінальної нейрохірургії, Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України, м. Київ, Україна

<sup>2</sup> Відділ патоморфології з експериментально-біологічним відділенням, Інститут травматології та ортопедії НАМН України, м. Київ, Україна

<sup>3</sup> Відділення нейрохірургії, Військово-медичний клінічний центр Південного регіону Міністерства оборони України, м. Одеса, Україна

## Експериментальна модель дегенерації міжхребцевих дисків хвостового відділу у щурів

**Вступ.** Представлені основні групи експериментальних моделей дегенеративно-дистрофічних змін у міжхребцевих дисках.

**Матеріали і методи.** Запропонована експериментальна модель для вивчення послідовності формування дегенеративних змін у міжхребцевих дисках.

**Результати.** Морфологічні зміни вивчали через 30 днів, 2 і 3 міс. Встановлено, що компресійний чинник має ключове значення у формуванні дегенеративно-дистрофічних процесів у міжхребцевих дисках.

**Висновки.** Отримані результати підтверджують адекватність створеної експериментальної моделі остеохондрозу.

**Ключові слова:** міжхребцевий диск, дегенеративні зміни, експериментальна модель.

**Вступ.** Однією з не вирішених проблем сучасної вертебології та неврології є комплекс захворювань, пов'язаних з дегенеративними змінами у міжхребцевих дисках. Розвиток клітинних технологій, біологічне моделювання остеохондрозу та його ускладнень відкривають нові можливості для припинення й регресу дегенерації в хрящовій тканині. Причини дегенерації та особливості репаративних можливостей міжхребцевого диска не розкриті, внаслідок чого лікування дегенеративного ураження хребта не є патогенетично обґрунтованим, питання відновлення структури міжхребцевого диска актуальні.

У людини важливим чинником виникнення дегенеративних змін є прямоходіння (біпедалізм), у зв'язку з чим тиск на міжхребцевий диск, особливо у поперековому відділі хребта, на який припадає основне навантаження, підвищений. Тому зменшення кількості нотохордальних клітин у людини відбувається відносно рано у порівнянні з такою у більшості ссавців [1, 2]. Важливу роль у зменшенні кількості нотохордальних клітин у людини відіграють травматичні чинники, шкідливості, професійні заняття спортом [3]. Відтворити адекватну модель дегенеративних змін хребта на тваринах досить складно. Існуючі експериментальні моделі дегенеративних захворювань міжхребцевих дисків можна розподілити на групи. Перша група включає модель, в основу якої покладений механічний вплив на міжхребцевий диск у вигляді його дестабілізації шляхом руйнування зв'язкового апарату, пошкодження драглистого ядра гострими предметами (голками) або його аспірації [4, 5].

Друга група включає модель, основу на руйнуванні драглистого ядра хімічними реагентами, в тому числі протеолітичними ферментами або апоптогенами. Основу даної моделі складають хімічні речовини, що спричиняють загибель нотохордальних клітин шляхом індукції апоптозу чи некрозу [6, 7].

Оптимальним способом впливу під час моделювання остеохондрозу могли б бути принципи механічної компресії міжхребцевого диска. Оскільки у

людини хребтовий стовп розташований вертикально, основним пошкоджуючим чинником може бути компресія, а його фізіологічні кривини зумовлюють її асиметрію. На цьому принципі основана третя група експериментальних робіт — моделювання компресії міжхребцевого диска [1, 8, 9].

З експериментальних моделей, що імітують тиск вище розташованого відділу хребта на міжхребцевий диск, основою є моделювання біпедалізму, або прямоходіння [10]. Симулювати процес прямоходіння та компресії можна з використанням спеціальних механічних конструкцій, що забезпечують стискання міжхребцевого диска. Так, дослідники використовували зовнішні металеві фіксатори, оснащені гвинтом для регулювання ступеня навантаження, які прикріплювали до поперекових хребців вищого та нижчого рівня [11]. Більш доступний з технічної точки інший зору спосіб моделювання симетричної компресії [12]. Як об'єкт дослідження обрані міжхребцеві диски хвостового відділу щура віком 4–5 міс. На рівні  $C_{c_{VIII}}-C_{c_{IX}}$  встановлювали систему, сконструйовану за типом апарату Ілізарова, що дозволяло здійснювати регульовану компресію на міжхребцевий диск.

Оскільки людина перебуває у положенні стоячи періодично, запропоновано використовувати періодичну, або циклічну, компресію [13].

Результати з використанням експериментальної моделі з зовнішніми фіксаторами (спицями) апарату Ілізарова свідчили, що таке пошкодження спричиняло патологічні процеси в міжхребцевому диску, проте, наявність сторонніх предметів безпосередньо біля об'єкту дослідження може негативно впливати на результати дослідження. Крім того, існує потенційний ризик інфікування ранових каналів і кістки (шпигівий остеомиєліт), особливо у віддалений період, що іноді унеможливило спостереження протягом тривалого часу.

Однією з найбільш вдалих моделей вважають модель на щурах з асиметричною статичною компресією хвостового відділу хребта [14, 15]. Моделювання не потребує складних пристроїв, патологічні зміни в

міжхребцевих дисках і тілах хребців за деякими ознаками відповідають дегенеративним змінам у людини. Проте, зважаючи на комплексний характер взаємодії патогенетичних чинників на структури сегментів хвостового відділу хребта щурів при асиметричній компресії, динаміка морфологічних змін міжхребцевого диска у фіброзному кільці та тіл хребців в цій моделі недостатньо вивчені. Одним з недоліків моделі Pazzaglia [14] є ненадійність фіксації хвостового відділу дротом, а також можливість порушення кровопостачання; моделі Волкова [15] — ненадійність фіксації хвостового відділу до шкіри спини, у зв'язку з чим можливе зміщення клаптя шкіри, що, відповідно, зумовлює не завжди адекватну асиметричну статичну компресію у хвостовому відділі хребта.

**Мета дослідження:** розробити експериментальну модель остеохондрозу.

**Матеріали і методи дослідження.** Експериментальна модель відпрацьована на 11 білих лабораторних щурах популяції експериментально-біологічної клініки ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», маса тіла — від 280 г, вік 6–7 міс. Дослідження з лабораторними тваринами проведені за протоколом експериментів, відповідають сучасним вимогам біоетики, затвердженим Комітетом з біоетики Інституту, правилами Європейської конвенції захисту хребетних тварин та закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Евтаназію тварин здійснювали шляхом передозування (інгаляційно) ефіру.

Тварин вводили в наркоз шляхом внутрішньом'язової ін'єкції розчину калісолу 50 мг/кг або інгаляції ефіру. Для місцевої анестезії тваринам вводили 2% розчин лідокаїну 2% 0,4 мл в основу хвоста. Шерсть в ділянці операційного поля видаляли, шкіру обробляли тричі 70% розчином етанолу та 1% розчином йоду (**рис. 1**).

Рівень резекції хвоста визначали шляхом його згинання без додаткового зусилля та прикладання до попереково-крижового відділу хребта на рівні  $L_{IV}-S_1$  — до місця фіксації, що відповідало рівню  $C_{C_{XIV}}-C_{C_{XV}}$  (**рис. 2**).

Під загальним знеболюванням в умовах антисептики накладали резиновий джгут на основу хвоста для попередження кровотечі за можливого пошкодження судин. Виконували циркулярний розріз шкіри хвоста на рівні  $C_{C_{XIII}}-C_{C_{XIV}}$  хребців хвостового відділу хребта, та ще один — на 1 см краніальніше. Ділянку шкіри між двома розрізами висікали до сухожилля. Резекцію 2/5 дистальної частини хвостового відділу хребта здійснювали по міжхребцевому диску, розташованому в центрі операційної рани. В подальшому на кінцевий хвостовий хребець накладали циркулярний шов та підшивали П-подібним швом до зв'язок і м'язів попереково-крижового відділу хребта на рівні  $L_{IV}-S_1$  ниткою Vicril 3/0 (Jonson&Jonson,USA). У такий спосіб формували надійний вигин хвостового відділу хребта (**рис. 3**).

Операційну рану обробляли 1% розчином йоду. Тварин вміщували в теплий контейнер до пробудження, потім переносили в клітку. Тварини після операції перебували під постійним наглядом.

Клітини вилучали для культивування з міжхребцевих дисків резекованої частини хвоста за відповідною методикою.

Динаміку патологічних змін структури міжхребцевих дисків хвостового відділу щура в умовах статичної асиметричної компресії вивчали на 3, 7, 14 та 30, 60-ту і 90-ту добу; процес репарації у міжхребцевих дисках після трансплантації та усунення провокуючого чинника вивчали через 30 і 60 діб, залежно від поставленого завдання.

**Результати та їх обговорення.** В розробленій нами експериментальній моделі через 30 діб після компресії хвостового відділу хребта за даними гістологічного дослідження (зб.×32) відзначали сплюснення, фібрoneкроз, розшарування колагенових пластин на боці компресії, проліферацію хондроцитів



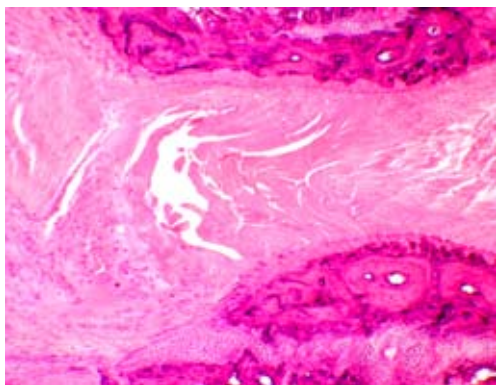
**Рис. 1.** Визначення рівня резекції хвоста.



**Рис. 2.** Хід операції. Етап підшивання кукси кінцевого хвостового хребця П-подібним швом до зв'язок та м'язів попереково-крижового відділу хребта на рівні  $L_{IV}-L_V$ .



**Рис. 3.** Сформований вигин хвостового відділу хребта.



**Рис. 4.** Мікрофото через 1 міс компресії. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.×160.

фіброзного кільця навколо вогнища некрозу на боці компресії (рис. 4).

Через 2 міс компресії в гістопрепараті (зб.×25) спостерігали зміщення драглистого ядра, сплюснення його на боці компресії, тріщини, збільшення висоти епіфізів. При збільшенні ×80 відзначали фібрoneкроз, розшарування та розрив пластин фіброзного кільця на боці компресії.

Через 3 міс компресії виявляли некроз частини нотохордальних клітин драглистого ядра (зб.×160), а також неоднорідність пошкодження колагенових пластин фіброзного кільця на боці компресії, перебуваний остеофіт.

Перевагами запропонованої моделі є простота її відтворення, немає потреби у застосуванні складних пристроїв, відсутність ускладнень, що дозволяє в повному обсязі оцінити дегенеративні зміни в міжхребцевих дисках в різні періоди спостереження.

**Висновки.** 1. Отримані дані свідчать, що осьове навантаження справляє пошкоджувальний вплив на міжхребцевий диск, спричиняє в ньому дегенеративні зміни, що підтверджує адекватність створеної експериментальної моделі остеохондрозу.

2. Принциповою відмінністю створеної моделі є простота її відтворення, відсутність ускладнень.

#### Список літератури

1. Lotz J.C. Animal models of intervertebral disc degeneration: lessons learned / J.C. Lotz // Spine. — 2004. — V.29, N23. — P.2742–2750.
2. Roughley P.J. Biology of intervertebral disc aging and degeneration: Involvement of the extracellular matrix / P.J. Roughley // Spine. — 2004. — V.29, N23. — P.2691–2699.
3. Hunter C.J. The functional significance of cell clusters in the notochordal nucleus pulposus: survival and signaling in the canine intervertebral disc / C.J. Hunter, J.R. Matyas, N.A. Duncan // Spine. — 2004. — V.29, N10. — P.1099–1104.
4. The relationship between apoptosis of endplate chondrocytes and aging and degeneration of the

- intervertebral disc / K. Ariga, S. Miyamoto, T. Nakase [et al.] // Spine. — 2001. — V.26. — P.2414–2420.
5. Successful in vivo gene transfer to intervertebral discs in a slowly progressive and reproducible animal model of disc degeneration / J.S. Kim [et al.] // 50th Ann. Meeting of the Orthopaedic Research Society. — San Francisco, 2004.
6. Chemonucleolytic effects of chondroitinase ABC on normal rabbit intervertebral discs: Course of action up to 10 days postinjection and minimum effective dose / T. Takahashi, H. Kurihara, S. Nakajima [et al.] // Spine. — 1996. — V.21. — P.2405–2411.
7. An in vivo model of degenerative disc disease / J.P. Norcross, G.E. Lester, P. Weinhold, L.E. Dahners // J. Orthop. Res. — 2003. — V.21, N1. — P.183–188.
8. Changes in nuclear composition following cyclic compression of the intervertebral disc in an in vivo rat-tail model / C.T. Ching, D.H. Chow, F.Y. Yao, A.D. Holmes // Med. Eng. Phys. — 2004. — V.26, N7. — P.587–594.
9. Stokes I.A. Mechanical conditions that accelerate intervertebral disc degeneration: Overload versus immobilization / I.A. Stokes, J.C. Iatridis // Spine. — 2004. — V.29, N23. — P.2724–2732.
10. A study of the effects of bipedism and upright posture on the lumbosacral spine and paravertebral muscles of the Wistar rat / J.D. Cassidy, K. Yong-Hing, W.H. Kirkaldy-Willis, A.A. Wilkinson [et al.] // Spine. — 1988. — V.13, N3. — P.301–308.
11. 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 // Spine. — 2002. — V.27. — P.2684–2690.
12. Compression-induced changes in intervertebral disc properties in a rat tail model / J.C. Iatridis, P.L. Mente, I.A. Stokes [et al.] // Spine. — 1999. — V.15, N24(10). — P.996–1002.
13. The effect of cyclic compression on the mechanical properties of the inter-vertebral disc: an in vivo study in a rat tail model / C.T. Ching, D.H. Chow, F.Y. Yao [et al.] // Clin. Biomech. (Bristol, Avon). — 2003. — V.18. — P.182–189.
14. 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.
15. 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.

Надійшла до редакції 02.04.12

Прийнята до публікації 17.05.12

#### Адреса для листування:

Хижняк Михайло Віталійович  
04050, Київ, вул. Платона Майбороди, 32  
Інститут нейрохірургії  
ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України  
відділення малоінвазивної і лазерної  
спінальної нейрохірургії  
e-mail: khyzhnyak@voliacable.com

Хижняк М.В.<sup>1</sup>, Григоровский В.В.<sup>2</sup>, Гафийчук Ю.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Отделение малоинвазивной и лазерной спинальной нейрохирургии, Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины, г. Киев, Украина

<sup>2</sup> Отдел патоморфологии с экспериментально-биологическим отделением, Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины, г. Киев, Украина

<sup>3</sup> Отделение нейрохирургии, Военно-медицинский клинический центр Южного региона Министерства обороны Украины, г. Одесса, Украина

#### Експериментальна модель дегенерації міжхребцевих дисків хвостового відділу у крыс

**Вступлення.** Представлені основні групи експериментальних моделей розвитку дегенеративно-дистрофічних змін у міжхребцевих дисках.

**Матеріали і методи.** Предложена експериментальна модель для вивчення послідовності формування дегенеративних змін у міжхребцевих дисках.

**Результати.** Морфологічні зміни вивчені через 30 сут, 2 і 3 міс. Установлено, що компресійний фактор має ключове значення у формуванні дегенеративно-дистрофічних процесів у міжхребцевих дисках.

**Висновки.** Отримані результати підтверджують адекватність створеної експериментальної моделі остеохондроза.

**Ключові слова:** міжхребцевий диск, дегенеративні зміни, експериментальна модель.

Поступила в редакцію 02.04.12

Прийнята к публікації 17.05.12

Адрес для переписки:

Хижняк Михаил Витальевич  
04050, Киев, ул. Платона Майбороды, 32  
Институт нейрохирургии  
им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины  
отделение малоинвазивной и лазерной  
спинальной нейрохирургии  
e-mail: khyzhnyak@voliacable.com

Khyzhnyak M.V.<sup>1</sup>, Grygorovskyy V.V.<sup>2</sup>, Gafiychuk Yu.G.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Miniinvasive and Laser Spinal Neurosurgery, Institute of Neurosurgery named after acad. A.P. Romodanov NAMS Ukraine, Kiev, Ukraine

<sup>2</sup> Department of Pathomorphology with Bio-Experimental Unit, Institute of Traumatology and Orthopedics of NAMS of Ukraine, Kiev, Ukraine

<sup>3</sup> Department of Neurosurgery, Military Medical Clinical Center of South Region of Ministry of Defense of Ukraine, Odessa, Ukraine

#### Experimental model of intervertebral discs degeneration in rat's tail

**Introduction.** Main groups of experimental models of degenerative and trophic changes in intervertebral discs are given.

**Materials and methods.** An experimental model for study of sequence of degenerative changes forming in intervertebral discs was proposed.

**Results.** Morphological changes were studied after 30 days and 2 and 3 months. It is established that compression factor plays a key role in degenerative and trophic changes of intervertebral discs.

**Conclusions.** The obtained results confirm adequacy of the created experimental model of osteochondrosis.

**Key words:** intervertebral disc, degenerative changes, experimental model.

Received April 02, 2012

Accepted May 17, 2012

Address for Correspondence:

Mikhail Khyzhnyak  
04050, 32 Platon Mayboroda St, Kiev, Ukraine  
Institute of Neurosurgery  
named after acad. AP Romodanov NAMS of Ukraine,  
Department of Miniinvasive and Laser  
Spinal Neurosurgery  
e-mail: khyzhnyak@voliacable.com

#### Коментарій

к статье Хижняка М.В. и соавторов «Експериментальна модель дегенерації міжхребцевих дисків хвостового відділу у щурів»

Остеохондроз позвоночника — весьма распространенное заболевание. В этом контексте стоит вспомнить фразу о том, что «остеохондроз является расплатой современного общества за прямохождение». Его медико-социальные последствия крайне болезненны для современного общества: второе место по количеству дней нетрудоспособности, миллиарды долларов, суммарно затрачиваемых на покупку препаратов и выполнение операций.

В последнее время идет поиск и активное внедрение новых технологий по лечению заболевания. Вопросы профилактики и исследование причин остеохондроза отходят на второй план, что по сути неправильно. В работе коллективом авторов приведен обзор существующих моделей по изучению факторов

формирования дегенеративно-дистрофических изменений в межхребцевых дисках, описаны результаты проведенных экспериментов на животных. В предложенной авторами модели создавалась чрезмерная нагрузка на соответствующие отделы межхребцевых дисков в области хвоста подопытных животных. Полученные данные подтверждают ранее существовавшие теории о важной роли компрессионного фактора в формировании дегенеративно-дистрофических изменений в позвоночнике. Также положительным моментом является легкость воспроизведения предложенной экспериментальной модели. Работа имеет несомненную научно-практическую ценность и описывает малоизученные аспекты распространенной проблемы остеохондроза.

Ю.Е. Педаченко, канд. мед. наук,  
ассистент кафедры нейрохирургии Национальной медицинской академии  
последипломного образования имени П.Л. Шупика МЗ Украины