

УДК (617.559:616.721.1)-018.3

ЛЕВШИН О.А.

Державна установа «Інститут патології хребта та суглобів імені проф. М.І. Ситенка Національної академії медичних наук України», м. Харків

Науково-дослідний інститут травматології та ортопедії Донецького національного медичного університету ім. М. Горького

МОДЕЛЮВАННЯ ДЕГЕНЕРАТИВНИХ ЗМІН У ХРЕБТОВИХ РУХОВИХ СЕГМЕНТАХ ПОПЕРЕКОВОГО ВІДДІЛУ ХРЕБТА В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

Резюме. Доведено, що щільність кісткової тканини тіл хребців у поперековому відділі хребта вівці, свині й теляти в чотири рази вища, ніж у людини, що вказує на значно більше навантаження на поперековий відділ хребта в цих тварин порівняно з людиною. Існуючі експериментальні роботи доводять, що переважним об'єктом для моделювання дегенеративних змін у хребті є кролі, а також дрібні лабораторні тварини — щури та миші. Використовуючи їх, можна простежити розвиток вікових дегенеративних змін у міжхребцевих дисках у відносно короткі терміни, а також вивчити зміни в розташованих краніально і каудально суміжних хребтових рухових сегментах. У статті описано спосіб відтворення дегенеративних змін LV-LVI хребтових рухових сегментів поперекового відділу хребта у кролів.

Ключові слова: міжхребетний диск, дегенерація, експеримент, тварини.

Вступ

Дегенеративні захворювання хребта часто супроводжуються виснажливими больовими синдромами і неврологічними порушеннями, що значно знижують якість життя пацієнтів [1–3]. Незважаючи на значні успіхи у вивченні даної проблеми, глибоке розуміння патогенеза та патофізіології дегенерації міжхребетного диска (МХД) дотепер відсутнє [4, 5].

Великий внесок у вирішення вказаних проблем вносять медико-біологічні дослідження за участю тварин, що проводяться з метою вивчення факторів ризику розвитку дегенерації МХД, впливу різноманітних ендо- та екзогенних факторів на його стан, а також розробки нових методів лікування і профілактики дегенеративних захворювань хребта. Але дотепер існуючі експериментальні моделі дегенерації МХД за біомеханічними та морфологічними параметрами не дають змоги повною мірою екстраполювати отримані результати на людину. В той же час експериментальне моделювання на тваринах відіграє значну роль у розумінні патофізіологічних та патоморфологічних механізмів розвитку дегенерації МХД [6].

При проведенні експериментів на хребті тварин виникає питання про коректну інтерпретацію отриманих результатів дослідження з подібними дослідженнями, що проведені на хребті людини. Це пов'язано з існуючими розбіжностями в популяції клітин, складі тканин, анатомії диска та хребта, розвитку, фізіології та механічних властивостях між видами тварин та людиною [7].

На думку деяких авторів, переважним об'єктом для моделювання дегенеративних змін у хребті є кролики [8, 9], про що свідчить значна кількість статей із дослідження їх МХД [10–12].

Слід зазначити, що такий важливий біомеханічний параметр, як об'єм руху в поперековому відділі хребта, у кролів подібний до людського, внаслідок чого переважним є використання кролів для моделювання деструктивних порушень у МХД та вивчення змін, що виникають у суміжних сегментах [13].

Мета роботи: розробити експериментальну модель дегенерації міжхребетних дисків поперекового відділу хребта в експериментальних тварин.

Матеріали та методи

Дослідження проводились у лабораторії експериментального моделювання ДУ «Інститут патології хребта та суглобів імені проф. М.І. Ситенка НАМН України» (м. Харків).

Автором розроблена експериментальна модель дегенерації міжхребетного диска поперекового відділу хребта шляхом здійснення черезшкірної нуклеотомії декомпресором фірми Stryker (рис. 1) на рівні LV-LVI

Адреса для листування з автором:

Левшин О.А.

Levshyana@gmail.com

© Левшин О.А., 2015

© «Травма», 2015

© Заславський О.Ю., 2015

міжхребетних дисків. Усього було прооперовано 44 статевозрілих кролі породи велетні, віком від 3 до 4 місяців. Маса тіла тварин становила 1300–1500 г відповідно. За статтю експериментальні тварини розподілялись так: 20 самців та 24 самки.

Усі тварини утримувалися в однакових умовах експериментально-біологічної клініки. За тваринами проводили клінічне спостереження: загальний огляд, контроль післяопераційного стану, стан операційної рани, термометрія, зважування.

Операції проводили в асептичних умовах в операційній кімнаті. Усі 44 кролі були прооперовані в умовах загальної внутрішньовенної анестезії зі збереженням самостійного дихання. За 20 хвилин до налагодження венозного доступу тварини отримували премедикацію аміназином 10 мг/кг внутрішньом'язово. Аміназин у складі премедикації забезпечує седативну та помірну міорелаксуючу дію, що дає можливість комфортно встановити венозний доступ шляхом катетеризації вушної вени. Індукцію до анестезії проводили внутрішньовенним введенням кетаміну у дозі 5 мг/кг із подальшим підтриманням анестезії дозою кетаміну 15 мг/кг/год. Моніторинг під час анестезії забезпечувався вимірюванням частоти дихання, частоти серцевих скорочень, а також сатурації периферичної крові киснем за допомогою апарата UTAS 300. Під час анестезії усі тварини отримували кисень через маску, що дозволяло підтримувати сатурацію під час операції на рівні не нижче 90 %.

Після операції, за необхідності, тваринам вводили антибіотики (біцилін-5), стимулятори (кофеїн) та кардіотонічні (кордіамін) препарати. Для створення вертикального навантаження на хребет, зокрема на поперековий відділ, після нуклеотомії усім кролям, які утримуються у великих високих клітках, корм та поїлки підвищували на висоту, необхідну для того, щоб тварини постійно вертикалізувалися під час прийому води (30–40 раз/добу) та при прийомі їжі (3 рази/добу). Рентгенографію проводили до, після та через 1, 3, 6 місяців після операції. Виведення тварин з експерименту здійснювали відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних і інших наукових цілях» [14, 15].

Результати та їх обговорення

Моделювання способу дегенерації міжхребетного диска поперекового відділу хребта у кролів здійснювали так, як зазначено нижче.

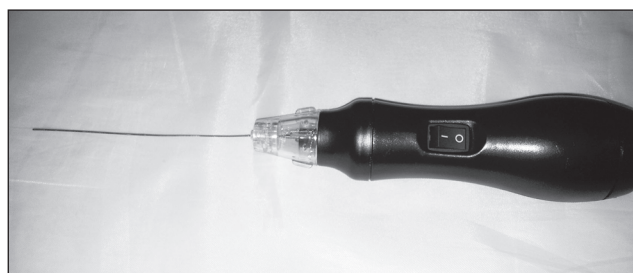


Рисунок 1. Зовнішній вигляд декомпресора фірми Stryker

У положенні тварини на животі з фіксацією лапок бинтами до операційного столу та підкладеним матерчатим валиком під крила клубових кісток (для зменшення поперекового лордозу) (рис. 2), після потрібної обробки операційного поля розчином бетадіну під контролем Сагм на рівні LV-LVI проводили місцеве знеболювання шкірного покриву 1% розчином лідокаїну в кількості 0,5 мл; через 3 хвилини робили пошаровий прокол шкіри, поперекової фракції, паравертебральних м'язів і фіброзного кільця міжхребетного диска зліва із задньобічного доступу спеціальною голкою з мандреном із набору декомпресора фірми Stryker.

Під постійним контролем на Сагм голку з мандреном встановлювали чітко посередині диска LV-LVI. Голку видаляли, а через мандрен вводили декомпресор, після чого протягом 30 с робили нуклеотомію (рис. 3а, б, в). На місце проколу шкіри накладали асептичну пов'язку. Даний метод експериментальної моделі дегенерації міжхребетного диска поперекового відділу хребта дозволив мінімізувати механічне ушкодження всіх тканин, м'язів, судин, фіброзного кільця, що, на наш погляд, максимально наближає цю модель до природного розвитку дегенерації поперекових міжхребетних дисків.

Запропонований, згідно з корисною моделлю, спосіб експериментального моделювання дегенерації міжхребетного диска поперекового відділу хребта випробувано на 44 статевозрілих кролях породи велетні (білі, сірі та чорні) масою 1300–1500 г. Виживаність становила 100 %. Рентгенологічні дослідження, проведені через 1, 3 і 6 місяців на кролях, підтвердили, що дегенерація міжхребетних дисків поперекового відділу хребта, на яких було здійснено хірургічне втручання, залишається регульованою. Після черезшкірної нуклеотомії через 3 місяці кролям було проведено МРТ (рис. 4а, б) та КТ (рис. 5а, б) поперекового відділу хребта, що підтвердила наявність дегенеративних змін у міжхребетних дисках LV-LVI. Побічних наслідків у результаті хірургічних втручань при здійсненні моделювання дегенерації міжхребетного диска поперекового відділу хребта запропонованим згідно з корисною моделлю способом не виявлено.



Рисунок 2. Укладання експериментальної тварини перед нуклеотомією

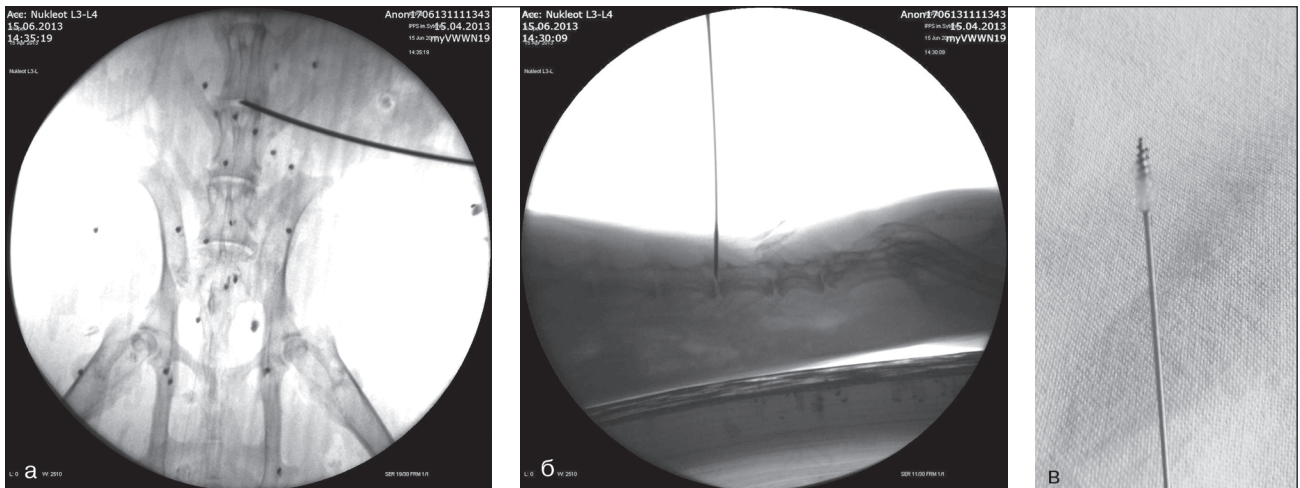


Рисунок 3. Етапи нуклеотомії на рівні міжхребетного диска LV-LVI: а) пряма проекція; б) бічна проекція; в) фрагмент міжхребетного диска LV-LVI після нуклеотомії

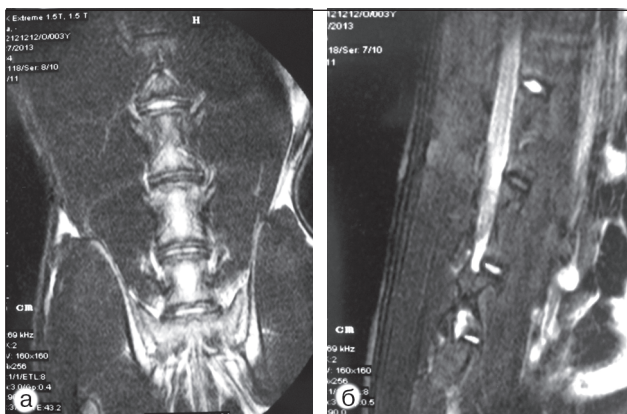


Рисунок 4. МРТ поперекового відділу хребта кроля з дегенеративними змінами у міжхребетному диску LV-LVI: а) пряма проекція; б) бічна проекція

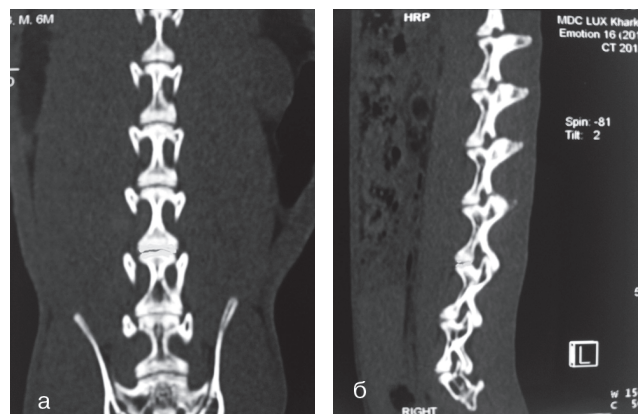


Рисунок 5. КТ поперекового відділу хребта кроля з дегенеративними змінами у міжхребетному диску LV-LVI: а) пряма проекція; б) бічна проекція

Отже, запропонований спосіб моделювання дегенерації міжхребетного диска поперекового відділу хребта дає можливість із високою точністю відтворити умови дегенерації міжхребетного диска поперекового відділу хребта, що реально існують у людини.

На запропонований спосіб моделювання дегенерації міжхребетного диска поперекового відділу хребта оформлено патент України за № u201413047 МПК А61В 17/56.

Висновки

Моделювання дегенерації міжхребетного диска поперекового відділу хребта в експерименті запатентованим способом дає можливість із високою точністю відтворити умови та зміни, що мають місце при дегенерації міжхребетного диска поперекового відділу хребта.

Список літератури

1. Радченко В.О., Федак В.І. Дегенеративні захворювання суміжних (до оперованого) сегментів хребта //

Український морфологічний альманах. — 2010. — Т. 8, № 2. — С. 172-175.

- Liu C.L., Zhong Z.C., Shih S.L., Hung C., Lee Y.E., Chen C.S. Influence of dynesys system screw profile on adjacent segment and screw // *Journal of Spinal Disorders and Techniques*. — 2010. — Vol. 23, № 6. — P. 410-417.
- Hudson W.R.S., Gee J.E., Billys J.B., Castellvi A.E. Hybrid dynamic stabilization with posterior spinal fusion in the lumbar spine // *SAS Journal*. — 2011. — № 5. — P. 36-43.
- Радченко В.А., Дедух Н.В., Левшин А.А., Бенгус Л.М. Моделирование спондиллодеза у животных (обзор литературы) // *Ортопедия, травматология и протезирование*. — 2015. — № 2. — С. 112-119.
- Малышкина С.В., Дедух Н.В., Левшин А.А., Костерин С.Б. Моделирование дегенерации межпозвоночного диска в эксперименте на животных (обзор литературы) // *Ортопедия, травматология и протезирование*. — 2015. — № 1. — С. 114-124.
- Animal model for spinal fusion / I.H. Drespe, G.K. Polzhofer, A.S. Turner, J.N. Grauer // *J. Spine*. — 2005. — Vol. 5, № 6. — P. 209-216.

7. Sandhu H.S. Animal models for preclinical assessment of bone morphogenetic proteins in the spine / H.S. Sandhu, S.N. Khan // *Spine*. — 2002. — Vol. 27, Suppl. 1. — P. 32-38.
8. Are animal models useful for studying human disc 110 disorders/degeneration? / M. Alini, M.S. Eisenstein, K. Ito [et al.] // *Eur. Spine*. — 2008. — Vol. 17. — P. 2-19.
9. Assessing the stiffness of spinal fusion in animal models / J.M. Cottrell, M.C. van der Meulen, J.M. Lane, E.R. Myers [et al.] // *J. HSS*. — 2006. — Vol. 2, № 1. — P. 12-18, doi: 10.1007/sl 1420-005-5123-7.
10. Intervertebral disc tissue engineering I: characterization of the nucleus pulposus / J.C. Gan, P. Ducheyne, E.J. Vresilovic [et al.] // *Clin. Orthop. Relat. Res.* — 2003. — Vol. 411. — P. 305-314.
11. Kim K.W. The origin of chondrocytes in the nucleus pulposus and histologic findings associated with the transition a notochordal nucleus pulposus to a fibrocartilaginous nucleus pulposus in intact rabbit intervertebral disc / K.W. Kim, T.H. Lim, J.G. Kim // *Spine*. — 2003. — Vol. 28. — P. 982-990.
12. Poiraudau S. Phenotypic characteristics of rabbit intervertebral disc cells. Comparison with cartilage cells from the same animal / S. Poiraudau, I. Monteiro, P. Anract // *Spine*. — 1999. — Vol. 24. — P. 837-844.
13. A biological approach to treating disc degeneration: not for today, but maybe for tomorrow / M. Alini, P.J. Roughley, J. Antoniou [et al.] // *Eur. Spine J.* — 2002. — Vol. 11. — P. 215-220.
14. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. — Офіц. веб-сайт. — (Міжнародний документ Ради Європи). — Режим доступу до документа: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137.
15. Закон України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження» (ст. 26).

Отримано 05.08.15 ■

Левшин О.А.

Государственное учреждение «Институт патологии позвоночника и суставов имени проф. М.И. Ситенко Национальной академии медицинских наук Украины», г. Харьков

Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького

МОДЕЛИРОВАНИЕ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПОЗВОНОЧНЫХ ДВИГАТЕЛЬНЫХ СЕКМЕНТАХ ПОЯСНИЧНОГО ОТДЕЛА ПОЗВОНОЧНИКА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Резюме. Доказано, что плотность костной ткани тел позвонков в поясничном отделе позвоночника овец, свиней и телят в четыре раза выше, чем у человека, что указывает на большие нагрузки на поясничный отдел позвоночника у этих животных по сравнению с человеком. Существующие экспериментальные работы доказывают, что преимущественным объектом для моделирования дегенеративных изменений в позвоночнике являются кролики, а также мелкие лабораторные животные — крысы и мыши. Используя этих животных, можно проследить развитие возрастных дегенеративных изменений в межпозвоночных дисках в относительно короткие сроки, а также изучить изменения в расположенных краниально и каудально смежных позвоночных двигательных сегментах. В статье описан способ моделирования дегенеративных изменений на уровне LV-LVI позвоночных двигательных сегментов поясничного отдела позвоночника у кролей.

Ключевые слова: межпозвоночный диск, дегенерация, эксперимент, животные.

Levshyn O.A.

State Institution «Institute of Spine and Joint Pathology named after professor M.I. Sytenko of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv

Research Institute of Traumatology and Orthopedics of Donetsk National Medical University named after M. Horky, Donetsk, Ukraine

MODELING OF DEGENERATIVE CHANGES IN VERTEBRAL MOTION SEGMENTS OF LUMBAR SPINE IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Summary. It was proved that the bone density of the vertebral bodies in the lumbar spine of a sheep, pig and calf is four times higher than in humans indicating a much greater strain on the lumbar spine in these animals compared with humans. The existing experimental works prove that a preferred object for modeling of degenerative spinal changes are rabbits, as well as small laboratory animals — rats and mice. Using them you can trace the development of age-dependent degenerative changes in intervertebral discs in a relatively short time, as well as to examine changes in the cranial and caudal adjacent vertebral motion segments. This article describes a method for reproduction of degenerative changes in LV-LVI vertebral motion segments of rabbits.

Key words: intervertebral disc, degeneration, experiment, animals.