

УДК 616.711-007-085-092.9

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ ПОЗВОНОЧНИКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ

Холодкова Е.Л., Цюрупа А.В., Садовская Ю.А., Горюк И.А.

Одесский национальный медицинский университет

В условиях возрастающей частоты распространения дорсопатий, поиск эффективного патогенетического лечения представляется актуальной задачей на сегодняшний день. В работе описаны основные принципы коррекции дегенеративно-дистрофического поражения позвоночника. На экспериментальной модели дегенеративно-дистрофического поражения позвоночника у крыс апробирован метод коррекции обогащенной тромбоцитами плазмой. Исследовано влияние нестероидных противовоспалительных средств (диклофенак натрия) на структуру межпозвоночного диска и позвонков. Выявлено, что при моделировании патологии имеются смещение студенистого ядра, расслоение фиброзного кольца, очаги фибронекроза и др. Доказано положительное влияние обогащенной тромбоцитами плазмы на структуру межпозвоночного диска и позвонков в условиях экспериментального дегенеративно-дистрофического поражения позвоночника.

Ключевые слова: дорсопатии; дегенеративно-дистрофические повреждения позвоночника; обогащенная тромбоцитами плазма; нестероидные противовоспалительные средства; коррекция; межпозвоночный диск.

Постановка проблемы. Распространенность дорсопатий по данным ВОЗ в развитых странах носит характер пандемии. Дорсопатии – это болевые синдромы и неврологические расстройства в области спины невисцеральной этиологии, связанные с дегенеративными и/или воспалительными заболеваниями позвоночника и прилегающих к нему мышц. В МКБ-10 дорсопатии выделены отдельно (M40–M54) [1, с. 1].

Актуальность проблемы дорсопатий состоит в морфологической многоликости форм, а также в высокой встречаемости среди населения. Дорсопатии являются ведущей причиной обращения за медицинской помощью, значительно снижая качество жизни и работоспособность населения средней возрастной группы, и являются одними из основных причин инвалидности [2, с. 779]. Боль в спине хотя бы раз в жизни испытывают 70–80% населения Земли. По данным эпидемиологических исследований, распространенность боли в спине достигает 40–80%. В течение жизни частота дорсопатии может достигать 80%, а годовой показатель колеблется от 25 до 60% в разных этнических группах [3, с. 272; 4, с. 404; 5, с. 105].

Комплексное лечение дорсопатии – актуальное направление современной медицины, интересующее невропатологов, ортопедов, хирургов, реабилитологов и врачей общей практики. Основными и наиболее частыми морфологическими проявлениями дорсопатий являются дегенеративно-дистрофические поражения позвонков (ДДПП) и межпозвоноковых дисков (МПД) [6, с. 6]. Именно поэтому влияние на эти образования и восстановление целостности поврежденных тканей представляется наиболее перспективным направлением лечения.

Анализ последних данных и публикаций. Процесс дегенерации межпозвоночного диска имеет мультифакториальную природу, однако существует ряд наиболее значимых факторов. Долгое время считалось, что чрезмерные нагрузки, курение и тучность являются причинами дегенеративно-дистрофического поражения позвоночника. В настоящее время в экспериментальных исследованиях установлено, что сами по себе эти факторы не приводят к дегенерации диска [7, с. 50]. Напротив, при рациональном уве-

личении физической нагрузки, увеличивается резистентность тканей благодаря увеличению синтеза протеогликанов [8, с. 1410].

Научные исследования свидетельствуют о большом значении генетической предрасположенности в формировании дегенеративно-дистрофических изменений в межпозвоноковых дисках, которые проявляются в 52–74% наблюдений [9, с. 395; 10, с. 166]. Генетические нарушения баланса матриксных белков, их синтеза, а также регуляции воспалительного процесса приводит к прогрессированию дегенеративных изменений в межпозвоночном диске. При существовании генетической предрасположенности травма может возникнуть даже под действием адекватных внешних факторов [11, с. 1974].

Одним из важнейших факторов, способствующих ДДПП, является нарушение поступления питательных веществ и выведения продуктов метаболизма клеток (в частности лактата). Было доказано, что при недостаточном поступлении глюкозы и кислорода в клетки диска и нарушении поддержания оптимального Ph окружения, клетки перестают вырабатывать молекулы протеогликана и погибают [12, с. 2548]. Как следствие, происходит дегидратация диска. Нарушение питания диска происходит после идиопатической потери сосудов в концевой пластинке, а также кальцификации кольцевой пластинки [13, с. 2635]. Реваскуляризация концевой пластинки и поступление факторов роста в поврежденные ткани, возможно, способствовало бы ускорению анаболических и торможению катаболических процессов в них.

В мировой и отечественной литературе есть данные об экспериментальном и клиническом применении обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП) (Platelet Rich Plasma – PRP), как эффективном средстве регенерации и реваскуляризации тканей. ОТП активно используется в трансплантологии [14, с. 238], при заживлении ран [15, с. 435], экспериментальном циррозе [16, с. 65] и др. [17, с. 1008; 18, с. 149]. Биологически активные вещества, выделяемые тромбоцитами, ингибируют ткани рубцов, подавляют апоптоз, стимулируют ангиогенез и повышают митотическую активность тканей, восстанавливая трофику и усиливая анаболические процессы в поврежден-

ной хрящевой ткани [19, с. 103]. Положительные результаты коррекции ДДПП в эксперименте были получены при использовании метода инъекционной формы ОТП [20, с. 157]. Было доказано, что использование обогащенной тромбоцитами плазмы в виде гидрогелевых микросхем из желатина является эффективным способом доставки ОТП в поврежденные ткани [21, с. 3727].

Среди медикаментозных препаратов для лечения дорсопатий часто используют нестероидные противовоспалительные средства (НПВС). Препаратом выбора является неселективный нестероидный противовоспалительный препарат – диклофенак натрия [22, с. 73].

Выделение нерешенных частей общей проблемы. В литературе нет детального описания морфологических изменений, возникших при дегенеративно-дистрофическом поражении позвоночника в эксперименте и после коррекции обогащенной тромбоцитами плазмой. Нет данных касательно влияния НПВС на процесс дегенерации диска.

Целью нашего исследования стало изучение морфофункциональных изменений в тканях МПД, возникших при экспериментальном дегенеративно-дистрофическом поражении позвоночника после коррекции обогащенной тромбоцитами плазмой и после коррекции НПВС.

Материалы и методы. В эксперименте были задействованы половозрелые крысы линии Вистар численностью 60 особей, разделенные на три группы: I группа – животные с ДДПП; II группа – животные с ДДПП и коррекцией НПВС; III группа – животные с ДДПП коррекцией ОТП. Отдельная группа животных служила интактным контролем.

Моделирование патологии ДДПП у экспериментальных животных осуществлялось путем формирования постоянной ассиметричной статической компрессии-дистензии хвостового отдела позвоночного столба согласно общим этическим принципам экспериментов на животных (I Национальный конгресс по биоэтике, 20.09.2001 г., г. Киев), закону Украины «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 27, ст. 230, от 2006 г. с изменениями, внесенными в соответствии с Законом N 1759-VI (1759-17) от 15.12.2009, ВВР, 2010 г., N 9, ст. 76, а так же Эти-

ческим кодексом ученого Украины (Национальная академия наук Украины, 2009 г.)

Наркоз животным осуществлялся путем введения ингаляций эфира. Для местной анестезии в основание хвоста вводили раствор лидокаина концентрацией 2% в дозе 0,4 мл. Шерсть в области операционного поля удаляли, кожу обрабатывали трижды раствором этанола концентрацией 70% и раствором йода 1%. Резекция хвоста была проведена на уровне СсXIV-СсXV. Культю четырьмя – пятью П-образными швами подшивали к мышцам и связкам пояснично-крестцового отдела позвоночника на уровне LIV-SI. (Рис. 1, 2) [23].

Выводили животных из эксперимента путем эвтаназии (ингаляционная передозировка эфиром). Оценку результатов проводили через 60 суток от начала моделирования патологии.

Получение обогащенной тромбоцитами плазмы было произведено путем её выделения из цельной крови на аппарате SmartPrep (фирма-производитель Harvester Corp, USA), свидетельство о государственной регистрации № 10179/2011 в соответствии с Указом Госклинической МОЗ Украины от 08 февраля 2011 г. № 69. В качестве НПВС использовали диклофенак натрия (Р.п. № UA/10237/01/01) из расчета 1 мг/кг длительностью 5 суток. НПВС и ОТП вводили в виде инъекций в основание хвоста.

Для патоморфологического исследования по стандартным методикам [24, с. 177] использовали материал позвонков и межпозвоночных дисков (МПД).

Результаты и обсуждение. При гистологическом исследовании срезов межпозвоночных дисков группы животных после моделирования ДДПП наблюдалась значительная асимметрия структур МПД, ярко выраженные патологические изменения в них. На стороне компрессии толщина фиброзного кольца значительно уменьшена, по сравнению с интактными животными. Значительное смещение студенистого ядра отмечается в сторону дистензии. Максимальные признаки дегенеративно-дистрофического поражения фиброзного кольца выявляли на стороне компрессии. Коллагеновые пластины фиброзного кольца были расслоены и сплюснены, с множеством полиморфных щелей и участками дезорганизации. В таких участках наблюдали множественные очаги фибронекроза, которые иногда доходили до эпифизов. Отмечалось снижение объема студенистого ядра, со стороны компрессии отмечалась вдавление части коллагеновых волокон в его полость, выраженная вакуолизация нотохондральных клеток, очаги некроза. Высота эпифизов на стороне компрессии была несколько выше, отмечают очаги хондронекроза (рис 3).

У животных после коррекции НПВС так же отмечались дегенеративно-дистрофические изменения в тканях позвонков и МПД. Степень асимметрии структур была неизменна по сравнению с патологией без коррекции. Несколько меньшая степень расслоения коллагеновых волокон и несколько большая толщина фиброзного кольца



Рис. 1. Моделирование ДДПП
Источник: разработано авторами



Рис. 2. Моделирование ДДПП
Источник: разработано авторами

на стороне компрессии соответственно. Количество очагов некроза оставалось неизменно (рис. 4).

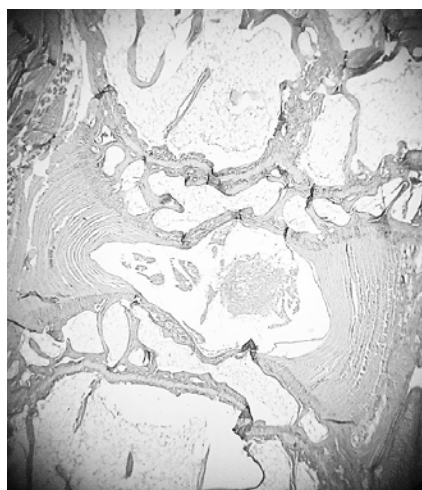


Рис. 3. Участок позвоночного столба, межпозвоночный диск после моделирования ДДПП, окраска гематоксилин-эозин ув. х 40

Источник: разработано авторами

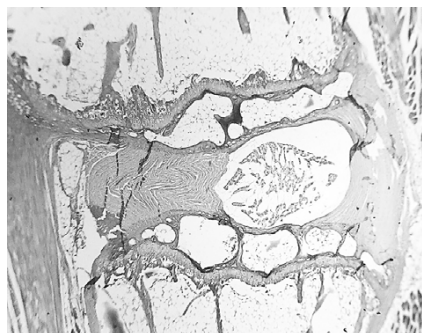


Рис. 4. Участок позвоночного столба, межпозвоночный диск после моделирования ДДПП и коррекции НПВС, окраска гематоксилин-эозин ув. х 40

Источник: разработано авторами

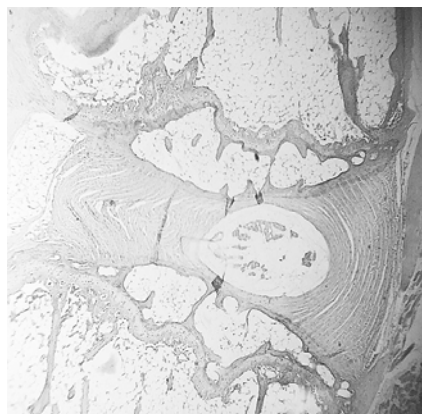
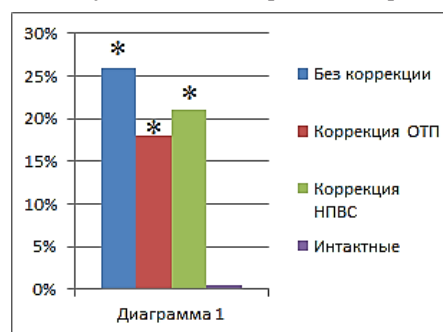


Рис. 5. Участок позвоночного столба, межпозвоночный диск после моделирования ДДПП и коррекции ОТП, окраска гематоксилин-эозин ув. х 40

Источник: разработано авторами

После коррекции ОТП отмечается достоверное снижение очагов фибронекроза, большая толщина фиброзного кольца на стороне компрессии, меньшая степень расслоения коллагеновых волокон. Несколько снижена асимметрия тканей между сторонами компрессии и дистензии. Незначительное снижение количества очагов некроза нотохон-

дральных клеток и изменение высоты эпифизов тел позвонков. Без изменений: асимметрия расположения студенистого ядра МПД (рис. 5).



* - разница достоверна относительно контроля ($p < 0,05$)

Таблица 1

Степень расслоения коллагеновых волокон

Группа	Степень
Без коррекции	2-3 степень
Коррекция НПВС	1-2 степень
Коррекция ОТП	0-1 степень
Интakтные	0 степень

При проведении морфометрического исследования определяли степень смещения студенистого ядра в сторону дистензии (Диаграмма 1) и степень расслоения коллагеновых волокон (Таблица 1).

Степень смещения студенистого ядра определяли относительно расположения студенистого ядра у интактных животных. В группе животных с ДДПП без коррекции отмечается смещение студенистого ядра в сторону дистензии на 26% ($p < 0,05$). В группах животных с коррекцией ОТП и с коррекцией НПВС отмечали смещение студенистого ядра на 18% и 21% соответственно ($p < 0,05$), при этом следует отметить, что полученные результаты практически, не отличаются при использовании различных методов коррекции.

Оценка степени расслоения коллагеновых волокон проводилась с использованием программы СИТО, по методике, разработанной сотрудниками кафедры анатомии человека ОНМедУ. Измерялось расстояние между волокнами в условных единицах (у. е.) с последующим присвоением степени расслоения. Нулевой степени соответствовало 0-2 у.е.; первой степени – 3-6 у.е.; второй степени – 7-10 у.е.; третьей степени – 11-18 у.е. Можно заметить, что использование ОТП и НПВС приводит к снижению степени расслоения коллагеновых волокон, при этом позитивный эффект более выражен в группе с применением ОТП.

Полученные нами данные демонстрируют высокую регенераторную активность ОТП, на что указывали авторы [14, с. 238; 15, с. 435; 16, с. 65; 17, с. 1008; 18, с. 149; 19, с. 103]. Факторы роста, высвобождающиеся в результате дегрануляции тромбоцитов, оказывают стимулирующее действие на процессы пролиферации фибробластов и других клеток, способствуя восстановлению структуры тканей окружающих МПД, и тормозя процесс дегенерации дисков. Подобные результаты были получены исследователями после локального введения недифференцированных аллогенных ме-

зенхимальных стволовых клеток в зону дефекта [25, с. 74] и после введения культивированных аутогенных клеток студенистого ядра [26, с. 33] при коррекции дегенеративно-дистрофического поражения позвоночника в эксперименте. НПВС не способствовали значительным регенеративным процессам в МПД. Следует отметить, что влияние ОТП и НПВС на смещение студенистого ядра были не столь различными и существенными. Возможно, это связано, с большим вкладом в развитие данной патологии механической составляющей.

Выводы. Обогащенная тромбоцитами плазма положительно влияет на регенеративные про-

цессы в тканях межпозвонковых дисков, что подтверждается уменьшением количества очагов фибронекроза, степени расслоения коллагеновых волокон, при этом наблюдается рост высоты фиброзного кольца и эпифизов тел позвонков.

Перспективы дальнейших исследований. Требуется детальное изучение формирования сосудистой сетки в зоне ДДПП. Необходимы дополнительные исследования касательно длительности положительного эффекта ОТП, отработка кратности и дозы введения ОТП в зону ДДПП. Необходима разработка методов восстановления расположения студенистого ядра в МПД.

Список литературы:

1. М 40 – М 54 Дорсопатії // МКБ – 10. – Женева: ВООЗ, 1988. – Т. 1. – Ч. 2. – С. 1.
2. Brooks P.M. The burden of musculoskeletal disease – a global perspective // Clin. Rheumatol. 2006. Vol. 25. P. 778–781
3. European Commission Special Eurobarometer // Eur. Commission. 2007. 272 p.
4. McBeth J., Jones K. Epidemiology of chronic musculoskeletal pain // Best Pract. Res. Clin. Rheumatol. 2007. Vol. 21. P. 403–425.
5. Louw Q.A., Morris L.D., Grimmer-Somers K. The prevalence of low back pain in Africa: a systematic review // BMC Musculoskelet. Disord. 2007. Vol. 8. P. 105.
6. Біль у спині: від синдрому до діагнозу / І. П. Катеренчук, Л. А. Ткаченко, Т. І. Ярмола. – Харків: «Золоті сторінки», 2013.
7. Batti M.C., Videman T., Kaprio J. et al. The Twin Spine Study: contributions to a changing view of disc degeneration // Spine J. – 2009. – V. 9, N1. – P. 47–59.
8. Videman T., Lev lahti E., Batti M.C. The effects of anthropometrics, lifting strength, and physical activities in disc degeneration // Spine. – 2007. – V. 32, № 13. – P. 1406–1413.
9. Heikkila J.K., Koskenvuo M., Heliovaara M. et al. Genetic and environmental factors in sciatica. Evidence from a nationwide panel of 9365 adult twin pairs // Ann. Med. – 1989. – V.21. – P.393–398.
10. MacGregor A.J., Andrew T., Sambrook P.N., Spector T.D. Structural, psychological, and genetic influences on low back and neck pain: a study of adult female twins // Arthritis Rheum. – 2004. – V 51. – P. 160–167.
11. Adams M.A., Dolan P. Spine biomechanics // J. Biomech. – 2005. – V. 38. – P. 1972–1983.
12. Horner H.A., Urban J.P.G. Effects of nutrient supply on the viability of cells from the nucleus pulposus of the intervertebral disc: 2001 Volvo Award in Basic Science // Spine. – 2001. – V. 26, № 23. – P. 2543–2549.
13. Boos N. Weissbach S., Rohrbach H. et al. Classification of age-related changes in lumbar intervertebral discs 2002 Volvo Award in Basic Science // Spine. – 2002. – V. 27, N 23. – P. 2631–2644.
14. The efficacy of platelet-rich plasma in grafted maxillae. A randomised clinical trial / M. Badr, P. Coulthard, R. Alissa, R. Oliver // European Journal Oral Implantology – 2010. – Vol. 3, № 3. – P. 233–244.
15. Fréchet J.-P. Platelet-rich Plasmas: Growth Factor Content and Roles in Wound Healing / J.-P. Fréchet, I. Martineau, G. Gagnon // Journal Dental Resistant. – 2005. – Vol. 84. – P. 434–438.
16. Холодкова О.Л., Горчаг Д.М. Можливості використання збагаченої тромбоцитами плазми при експериментальній терапії токсичного ураження печінки / О. Л. Холодкова, Д. М. Горчаг // Український морфологічний альманах. – 2013. – Т. 11, № 3. – с. 63–65.
17. Zhao Y. Research progress of platelet-rich plasma in promoting bone regeneration and repairing / Y. Zhao, W. Zhai // Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. – 2010. – Vol. 24, № 8. – P. 1004–1008.
18. Platelet-rich plasma injection for chronic Achilles tendinopathy: a randomized controlled trial / R. J. de Vos, A. Weir, H. T. van Schie et al. // JAMA. – 2010. – Vol. 303, № 2. – P. 144–149.
19. Регенеративная медицина на основе аутологичной плазмы / Р.Р. Ахмеров. – Одесса: «MultiMed», 2014 – рус.
20. Nagae M. Intervertebral disc regeneration using platelet-rich plasma and biodegradable gelatin hydrogel microspheres / M. Nagae, T. Ikeda, Y. Mikami, H. Hase, H. Ozawa, K. Matsuda, H. Sakamoto, Y. Tabata, M. Kawata, T. Kubo // Tissue Eng. – 2007. – Vol. 13. – P. 147–158.
21. Sawamura K. Characterization of in vivo effects of platelet-rich plasma and biodegradable gelatin hydrogel microspheres on degenerated intervertebral discs / K. Sawamura, T. Ikeda, Y. Mikami // Tissue Eng Part A. – 2009. – Vol. 15. – P. 3719–3727.
22. Восстановительное лечение остеохондроза позвоночника / И.Л. Пшетаковский, И.П. Шмакова. – Одесса: Астропринт, 2009. – 112 с. – Библиогр.: с. 111 – рус.
23. Пат. № 106085 / Спосіб моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хвостового відділу хребта у щурів / Заявл. 18.11.15/ Опубл. 11. 04. 16/ Бюл. № 7 / О.Л. Холодкова, О.В. Цюрупа, І.Ю. Бадьїн.
24. Методики морфологічних досліджень: монографія / М54 Багрій М.М., Діброва В.А., Попадинець О.Г., Гришук М.І.; за ред. М. М. Багрія, В.А. Діборови. – Вінниця: Нова книга, 2016. – 328 с. ISBN 978-978-966-382-594-6.
25. Юхта М.С. К вопросу о применении клеточной терапии при дегенеративно-дистрофических повреждениях межпозвонковых дисков / М.С. Юхта, В.И. Грищенко // Вісн. ортопедії, травматології та протезування. – 2010. – № 4. – С. 70–75.
26. Григоровский В.В. Влияние культивированных аутогенных клеток студенистого ядра на структуру межпозвонковых дисков хвостовых сегментов при моделировании остеохондроза у крыс / В.В. Григоровский, М.В. Хижняк, И.Г. Васильева // Український нейрохірургічний журнал. – 2013. – № 2. – С. 28–34.

Холодкова О.Л., Цюрупа О.В., Садовська Ю.О., Горюк І.А.

Одеський національний медичний університет

МОРФОЛОГІЧНІ ПРОЯВИ ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФІЧНИХ УРАЖЕНЬ ХРЕБТА В ЕКСПЕРИМЕНТІ ТА ПІСЛЯ КОРЕКЦІЇ

Анотація

За умов зростаючої частоти поширення дорсопатій, пошук ефективного патогенетичного лікування є актуальним завданням на сьогоднішній день. У роботі описані основні принципи корекції дегенеративно-дистрофічного ураження хребта. На експериментальній моделі дегенеративно-дистрофічного ураження хребта у щурів був апробований метод їх корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. Досліджено вплив нестероїдних протизапальних засобів (диклофенак натрію) на структуру міжхребцевого диска і хребців. Виявлено, що при моделюванні патології є зміщення драглистого ядра, розшарування фіброзного кільця, вогнища фибронекрозу та ін. Доведено, що збагачена тромбоцитами плазма має позитивний вплив на структуру міжхребцевого диска і хребців за умов експериментального дегенеративно-дистрофічного ураження хребта.

Ключові слова: дорсопатії; дегенеративно-дистрофічні ураження хребта; збагачена тромбоцитами плазма; нестероїдні протизапальні засоби; корекція; міжхребцевий диск.

Kholodkova O.L., Tsyurupa O.V., Sadovskaya Y.O., Goryuk I.A.

Odessa National Medical University

MORPHOLOGICAL MANIFESTATIONS OF DEGENERATIVE-DYSTROPHIC LESIONS IN THE SPINE IN THE EXPERIMENT AND AFTER THEIR CORRECTION

Summary

Because of increasing frequency of dorsopathies the search of an effective pathogenetic treatment seems to be an urgent task today. The paper describes the basic principles of correction of degenerative-dystrophic lesions in the spine. In an experimental model of degenerative-dystrophic spine lesions in rats the method of correction this pathological state with platelet-rich plasma is tested. The effect of non-steroidal anti-inflammatory medicaments (diclofenac sodium) on the intravertebral disc and vertebral structure has been researched. It was revealed that in the process of modeling the disease dislocation of nucleus pulposus, exfoliation of fibrous ring, local fibronectrotic and other changes are observed. The positive influence of platelet-rich plasma on the structure of the intravertebral disc and vertebrae in experimental degenerative-dystrophic lesion of the spine has been proved.

Keywords: dorsopathies; degenerative-dystrophic lesions of the spine; platelet-rich plasma; non-steroidal anti-inflammatory medicaments; correction; intravertebral disc.