

## Оригінальна стаття

УДК 616–001.33/.35–092.9:591.81:616.721.1

**Григоровский В.В.<sup>1</sup>, Хижняк М.В.<sup>2</sup>, Васильева И.Г.<sup>3</sup>, Шуба И.Н.<sup>3</sup>, Гафийчук Ю.Г.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Отдел патоморфологии с экспериментально-биологическим отделением, Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины, Киев, Украина

<sup>2</sup> Отделение малоинвазивной и лазерной спинальной нейрохирургии, Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины, Киев, Украина

<sup>3</sup> Отдел нейробиохимии, Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины, г. Киев, Украина

<sup>4</sup> Нейрохирургическое отделение, Военно-медицинский клинический центр Южного региона Министерства обороны Украины, Одесса, Украина

### **Влияние культивированных аутогенных клеток студенистого ядра на структуру межпозвоночных дисков хвостовых сегментов при моделировании остеохондроза у крыс**

**Вступление.** Нерешенность проблемы лечения дегенеративных изменений межпозвоночного диска и развитие новых клеточных технологий открывают новые возможности исследований в различных направлениях, одно из которых — восстановление структурно-функциональных свойств пораженных тканей.

**Материалы и методы.** В эксперименте на крысах, у которых моделировали постоянную и временную асимметричную статичную компрессию-дистензию (АСКД) хвостового отдела позвоночника, изучали в динамике гистологические изменения и морфометрические показатели тканей межпозвоночного диска (МПД), в том числе после имплантации культивированных аутогенных клеток студенистого ядра в виде суспензии.

**Результаты.** Установлено, что имплантация аутоклеток оказывает многостороннее положительное влияние на состояние тканей МПД: уменьшает степень их асимметрии при сравнении на стороне компрессии и дистензии, частоту возникновения крупных очагов некроза фиброзного кольца (ФК).

**Выводы.** Показатели, отражающие реакцию тканей МПД на механическое воздействие, умеренно зависят от имплантации аутоклеток, в то же время, показатели, отражающие состояние репарации тканей МПД после ишемического повреждения, в частности, величина очагов некроза ФК на стороне дистензии, количество некротизированных клеток в студенистом ядре, имеют тенденцию к оптимизации в дисках, в которые имплантировали аутоклетки.

**Ключевые слова:** позвоночник, остеохондроз, асимметричная компрессия-дистензия, аутогенные клетки межпозвоночного диска, имплантация, гистологические изменения, морфометрические показатели, эксперимент.

**Укр. нейрохирург. журн. — 2013. — №2. — С.28–34.**

*Поступила в редакцию 01.03.13. Принята к публикации 22.05.13.*

**Адрес для переписки:** Гафийчук Юрий Григорьевич, нейрохирургическое отделение, Военно-медицинский клинический центр Южного региона, ул. Пироговская, 2, Одесса, Украина, 04050, e-mail: gafyuchuk@rambler.ru

**Вступление.** Разработка методов лечения дегенеративно-дистрофического поражения позвоночника (ДДПП) осуществляется по различным направлениям, одно из которых — восстановление структурно-функциональных свойств пораженных тканей. Поскольку при ДДПП наиболее уязвимыми тканями позвоночника являются студенистое ядро (СЯ) и фиброзное кольцо (ФК) межпозвоночного диска (МПД), в последние годы исследователи большое внимание уделяют методам, направленным на восстановление поврежденных анатомических структур МПД, что должно положительно влиять на функциональные свойства и клинические симптомы ДДПП [1–5].

Установлены основные морфологические изменения в МПД человека, закономерно возникающие в его тканях и лежащие в основе характерных клинических симптомов ДДПП [6, 7]. В то же время, наиболее достоверные признаки как дистрофически-деструк-

тивных, так и репаративных изменений в тканях МПД могут быть установлены с помощью морфологических методов исследования на сравнимом, максимально стандартизованном биологическом материале, т.е. в условиях экспериментального моделирования на животных [8–10].

Одна из методик воспроизведения ДДПП в эксперименте на крысах предполагает фиксацию кончика частично ампутированного хвоста животного к его основанию, что обуславливает постоянную асимметричную статичную компрессию-дистензию (АСКД) анатомических структур хвостового отдела позвоночника и паравертебральных мягких тканей [10–13]. В литературе отсутствуют исследования последствий имплантации культивированных аутогенных клеток СЯ (аутоКлеткиСЯ) в ткани МПД у животных, которым моделировали поражение позвоночника путем постоянной и временной (с последующей релаксацией сегментов) АСКД.

**Цель исследования** — на основе изучения динамики морфометрических показателей тканей МПД хвостового отдела позвоночника крыс при моделировании постоянной и временной АСКД установить признаки повреждения, репарации тканей МПД хвостового отдела позвоночника и влияние на них имплантации культивированных аутоКлетокСЯ.

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты проведены на лабораторных крысах популяции экспериментально-биологического отдела ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины» массой тела 280 г (возраст 4 мес). Исследования выполнены в соответствии с современными требованиями биоэтики, правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных и Закона Украины «О защите животных от жестокого обращения» [14]. Крыс вводили в наркоз путем внутримышечной инъекции раствора калипсола (50 мг/кг) или ингаляции эфира. Местную анестезию осуществ-

ляли путем введения 2% раствора лидокаина (0,4 мл) в основание хвоста.

Экспериментальный материал (44 крысы) разделен на пять групп (**см. таблицу**). В I группе получали МПД интактных животных. Во II–V группах животным под наркозом кетаминном выполняли ампутацию трех последних сегментов, затем культю хвоста подшивали в области его основания по методике, описанной ранее [10–12]. Релаксацию хвостового отдела (III, IV группа) моделировали путем отсечения культы, ранее подшитой к основанию хвоста, при этом изгиб хвоста в некоторой степени свободно расправлялся; на раны в основании и на кончике хвоста накладывали узловые швы. В последующем животных содержали в обычных условиях вивария.

Клетки для культивирования извлекали из СЯ МПД резецированной части хвостового отдела позвоночника, помещали в среду Игла в стандартных условиях [15]. Через каждые 3–4 сут заменяли питательную среду на ½ объема. Через 20–30 сут

Материал исследования и условия эксперимента (в сериях экспериментов все методы воздействия и сроки наблюдения одинаковы)

Группы крыс и условия эксперимента	Параметры воздействия			Число животных в каждой серии	Число исследованных МПД
	общая длительность АСКД, сут	длительность релаксации после прекращения АСКД, сут	длительность персистенции аутоКлетокСЯ в МПД после начала АКД или релаксации, сут		
<b>I Интактные МПД</b>					
Интактные	—	—	—	2	4
Всего				2	4
<b>II Постоянная АСКД</b>					
Постоянная АСКД без дополнительных воздействий	60	—	—	10	28
Всего				10	28
<b>III Временная АСКД, затем релаксация</b>					
Временная АСКД с последующей релаксацией хвоста	60	30	—	2	5
	60	60	—	4	10
Всего				6	15
<b>IV Временная АСКД, затем релаксация и введение аутоКлетокСЯ</b>					
Временная АСКД с последующей релаксацией хвоста и введением в МПД культивированных аутоКлетокСЯ	60	30	30	7	18
	60	60	60	4	11
Всего				11	29
<b>V Постоянная АСКД, затем введение аутоКлетокСЯ</b>					
Постоянная АСКД, затем без релаксации введение в МПД культивированных аутоКлетокСЯ	90	—	60*	4	12
	150	—	90**	4	14
Всего				8	26
Итого...				37	102

*Примечание.* \* — культивированные ex vivo аутоКлеткиСЯ вводили в МПД через 30 сут после начала АСКД без релаксации хвостового отдела позвоночника; \*\* — аутоКлеткиСЯ вводили через 60 сут после начала АСКД без релаксации хвостового отдела позвоночника.

культивирования в культуре наблюдали плотный слой клеток высотой 3–5 клеточных тел, в котором определяли межклеточные контакты (**рис. 1**).

В соответствующие сроки опытным животным осуществляли аутотрансплантацию суспензии культивированных аутоКлетокСЯ в количестве  $5 \times 10^6$  путем инъекции в СЯ МПД хвостовых сегментов шприцем с делениями 0,001 мл в объеме 10–12 мкл, живые клетки в суспензии составляли 93–95% (**рис. 2**).

Через 30 и 60 сут после аутотрансплантации методом цепной реакции с полимеразой (ЦРП) определяли уровень транскрипта мРНК *aggrecan-1* и *collagen type II alpha 1* в ткани дисков контрольных и опытных животных. РНК выделяли стандартным методом с использованием набора «Рибо-сорб» («Amplisens», Россия) в соответствии с протоколом. Выход и чистоту препарата РНК оценивали по поглощению пробы при длине волны 260 и 280 нм. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием набора «Revertaidtm First strand cdna synthesis kit» («Fermentas», Литва) в соответствии с протоколом.



**Рис. 1.** Культура аутоКлетокСЯ, полученных из СЯ хвостового МПД крысы. Плотный слой клеток высотой 3–5 клеточных телец на 20-е сутки культивирования. Ув.  $\times 140$ .



**Рис. 2\*.** Пункционный метод введения суспензии культивированных аутоКлетокСЯ в СЯ МПД хвостового отдела позвоночника крысы. В шприце — суспензия аутоКлетокСЯ.

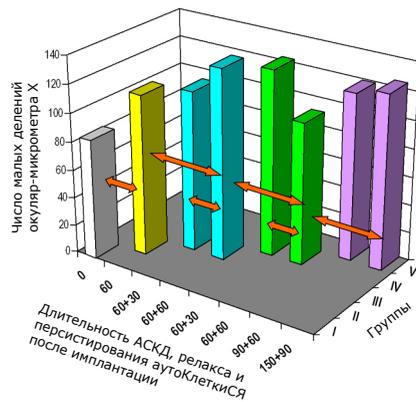
В качестве контрольного использовали ген глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы (GAPDH) по инструкции к набору. ЦРП проводили с использованием амплификатора «Терцик» (ДНК технология, Россия) набора для проведения классической ЦРП «Pcr-core» («GENPAQ», Россия). Экспрессию гена *collagen type II alpha 1* исследовали с использованием следующей пары праймеров («Fermentas», Германия): (for) 5'-caccgctaacgtccagatgac-3', (rev) 5'-ggaaggcgtgaggctcttctgt-3' (продукт амплификации 275 п.н.) по программе 60°C — 2 мин (1 цикл); 95°C — 1 мин, 53°C — 40 с, 74°C — 1 мин (42 цикла), 74°C — 1 мин [16]. Экспрессию гена, кодирующего *aggrecan-1*, исследовали с использованием следующей пары праймеров: (for) 5'-ccactggagaggactgcgtag-3', (rev) 5'-ggctctgtgcaagtattcgag-3' (продукт амплификации 244 п.н.) по программе 60°C — 2 мин (1 цикл); 95°C — 1 мин, 53°C — 40 с, 74°C — 1 мин (42 цикла), 74°C — 1 мин. Визуализацию продуктов амплификации проводили в 2% агарозном геле с использованием трис-ацетатного буфера.

Животных выводили из эксперимента путем внутрибрюшинной инъекции летальной дозы тиопентал-натрия. В плоскости наиболее выраженного изгиба хвоста вырезали блоки ткани, включавшие 2–4 сегмента позвоночника, которые после фиксации и декальцинации заливали в целлоидин, срезы толщиной 10 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а также гематоксилином и пикрофуксином по ван Гизон. Проводили гистологическое исследование, а также определяли параметрические и непараметрические показатели в структурах МПД крыс в отдельных сериях наблюдений, средние параметры или частоту отдельных патологических изменений. Достоверность различий средних величин для отдельных серий в группах сравнения определяли по критерию Стьюдента, достоверность различий частот — по критерию  $\chi^2$ .

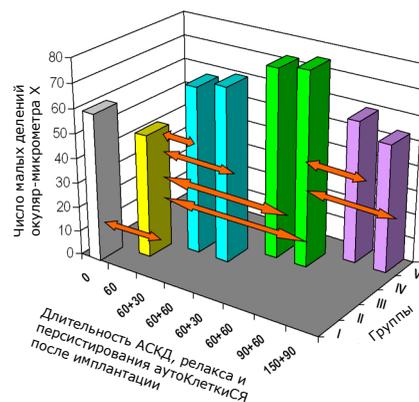
**Результаты и их обсуждение.** Результаты сравнительного морфометрического исследования толщины МПД на стороне дистензии и компрессии свидетельствуют (**рис. 3–6**), что через 60 сут постоянной компрессии (группы сравнения I, II) показатели: толщина ФК на стороне дистензии, величина очагов некроза ФК на стороне компрессии, степень смещения СЯ в сторону дистензии значительно увеличивались. Показатель толщины ФК на стороне компрессии был достоверно меньше, чем у интактных животных, а величина очагов некроза ФК на стороне дистензии — значительно меньше этого показателя на стороне компрессии. Количество некротизированных клеток в СЯ изменялось мало.

При применении релаксации хвостового отдела позвоночника (группа III) выявлены некоторые неожиданные изменения средних параметров изученных показателей. Так, толщина ФК на стороне дистензии еще более увеличивалась, что может быть обусловлено отеком и фиброзированием этого отдела, которые препятствуют расслаблению и сокращению коллагеновых пластин ФК после прекращения дистензии. Достоверному увеличению очагов некроза ФК на стороне дистензии через 30 и 60 сут после прекращения АСКД могут способствовать повторные нарушения микроциркуляции в этом отделе, чего не

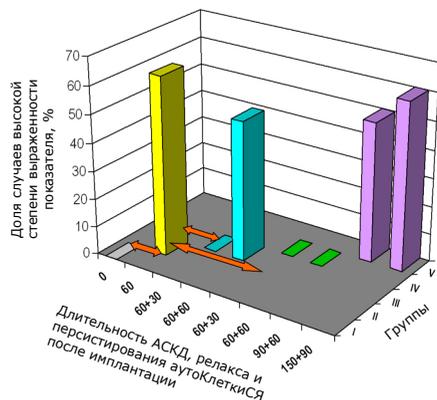
\* Изображение в печатной версии — в оттенках серого, в электронной — цветное.



**Рис. 3\*.** Толщина ФК на стороне дистензии. В группах IV и V учитывали параметры для МПД, где не вводили аутоКлеткиСЯ; стрелки указывают на достоверные различия ( $P < 0,05$ ). То же на рис. 4–10.



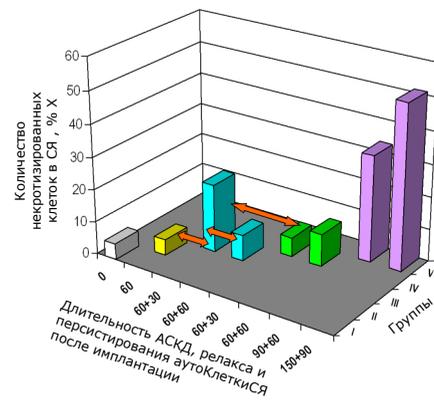
**Рис. 4\*.** Толщина ФК на стороне компрессии.



**Рис. 5\*.** Смещение СЯ в сторону дистензии ФК.

происходит на стороне компрессии, где нарушения трофики уже с ее начала достаточно распространены. Вторая волна нарушений микроциркуляции, регистрируемая после прекращения АСКД на стороне дистензии ФК, проявляется увеличением частоты крупных очагов некроза в МПД в сроки до 30 сут от начала релаксации и достоверным увеличением количества некротизированных клеток СЯ (**рис. 6**). Дальнейшее уменьшение средних величин этого показателя может быть обусловлено регенерацией хрящевых и НХК в СЯ.

Имплантация аутоКлетокСЯ в некоторые МПД хвостового отдела одновременно с его релаксацией (группа IV) оказывает влияние на динамику средних величин и частоты некоторых морфометрических показателей и тех МПД, в которые аутоКлеткиСЯ не вводили. При этом фактор релаксации (сравнить параллельные величины в группах IV и V) может оказывать существенное влияние на величину среднего параметра. Так, толщина ФК на стороне дистензии (**см. рис. 3**) при максимальном среднем параметре на 60-е сутки постоянной АСКД достоверно уменьшается к 60-м суткам релаксации, при продолжении АСКД повышенные средние величины этого показателя не снижаются. Сходная тенденция отмечена и для толщины ФК на стороне компрессии (**см. рис. 4**): в МПД, где клетки не имплантировали, в группе с ре-



**Рис. 6\*.** Количество некротизированных клеток в СЯ.

лаксацией средние параметры восстанавливаются, в группе, где АСКД продолжается, сниженные средние параметры сохраняются.

Для таких показателей состояния ФК, как величина очагов хондронекроза как на стороне дистензии, так и компрессии, частотные параметры в группе с релаксацией (группа IV) увеличивались, что подтверждает роль персистирующих нарушений микроциркуляции как важного патогенетического фактора и в период АСКД, и в период релаксации. При длительной постоянной АСКД (группа V) имплантация аутоКлетокСЯ в одних МПД способствовала улучшению состояния МПД, где не вводили клетки, что проявлялось снижением частотных параметров, особенно выраженным на стороне дистензии. Возможно, введение аутоКлетокСЯ в одни МПД способствует усилению регенерации структур ФК и в других дисках, в которые клетки не вводили.

Имплантация аутоКлетокСЯ, по-видимому, не влияет на степень смещения СЯ (**см. рис. 5**): при длительной постоянной АСКД (группа V) она была значительной, при релаксации (группа IV) — снижалась до 0. На количество некротизированных клеток СЯ (**см. рис. 6**) в МПД, куда не вводили аутоКлеткиСЯ, имплантация клеток в другие диски, очевидно, не влияет: при длительной постоянной АСКД (группа V) количество некротизированных клеток СЯ посте-

пенно увеличивалось, при релаксации после АСКД (группа IV) — существенно не изменялось.

Полученные данные позволяют дифференцировать роль механического (АСКД) и биологического (имплантация аутоКлетокСЯ) воздействия на структуры МПД. Так, некоторые органо- и гистометрические данные в большей степени зависят от непосредственного влияния механического фактора, а при его прекращении еще в течение длительного времени нарушения микроциркуляции сохраняются. Вероятно, в условиях действия грубых, чередующихся патогенетических факторов возможности влияния на регенерацию тканей ФК и СЯ ограничены. Все же имплантация аутоКлетокСЯ в МПД, даже в условиях продолжения АСКД, может способствовать улучшению состояния его тканей, в первую очередь, ткани ФК.

При сравнении средних величин таких показателей состояния МПД, как толщина ФК на стороне дистензии и компрессии в группах при временной (IV) и постоянной (V) АСКД (рис. 7, 8) установлено, что в группе V средняя толщина дисков, в которые вводили и не вводили аутоКлеткиСЯ, различалась весьма незначительно, в то же время, в группе IV средняя толщина ФК в МПД, в которые вводили аутоКлеткиСЯ, была достоверно меньше. Учитывая, что после прекращения АСКД, т.е. в период релаксации, ранее меньшая толщина восстанавливается и даже превышает среднюю величину в интактных дисках, что мы связываем с отеком и фиброзированием ткани ФК на стороне компрессии после повреждения, можно предположить, что имплантация аутоКлетокСЯ в МПД способствует восстановлению некоторых органо-метрических показателей в период релаксации. Средняя величина очагов хондронекроза на стороне дистензии в группе IV, где проводили релаксацию, существенно не изменялась, в группе V, при постоянной АСКД, под влиянием имплантации в МПД аутоКлетокСЯ значительно уменьшалась по сравнению с таковой в дисках, в которые клетки не имплантировали. Подобные различия показателя на стороне компрессии не отмечены. Степень смещения СЯ в сторону дистензии под влиянием имплантации аутоКлетокСЯ в МПД животных группы IV несколько увеличивалась (рис. 9), что может быть обусловлено механической травмой диска и введением определенного объема суспензии как фактора дополнительного смещения СЯ. Сходная тенденция отмечена и в дисках крыс, у которых применяли длительную АСКД (группа V).

Если у крыс, которым осуществляли релаксацию (группа IV), среднее количество некротизированных клеток СЯ было больше в МПД, в которые имплантировали аутоКлеткиСЯ (рис. 10), что может косвенно свидетельствовать о продолжении в период релаксации ишемических и дистрофических процессов, то у животных при постоянной АСКД (группа V) оно было значительно меньше, а в сроки наблюдения 90 сут АСКД и 60 сут после имплантации — достоверно меньше в МПД, в которые имплантировали аутоКлеткиСЯ, по сравнению с таковым в дисках, где имплантации не было.

Выявленные межгрупповые различия состояния тканей МПД при постоянной и временной АСКД, а также влияние имплантации аутоКлетокСЯ на патоло-

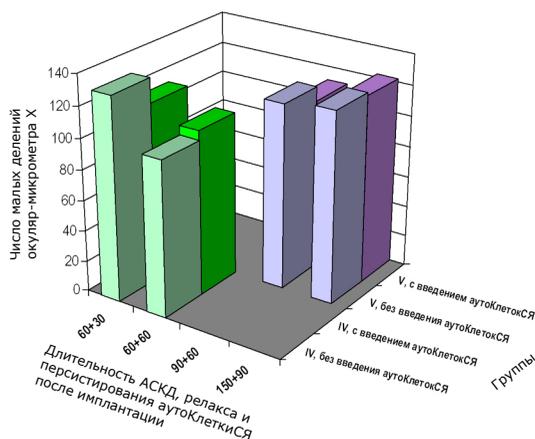


Рис. 7\*. Толщина ФК на стороне дистензии в группах IV и V для дисков, в которые вводили и не вводили аутоКлеткиСЯ.

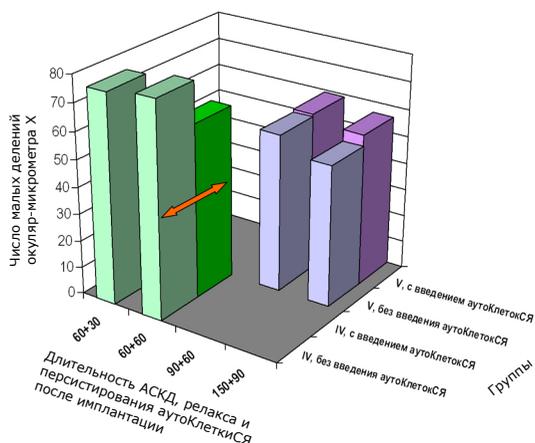


Рис. 8\*. Толщина ФК на стороне компрессии в группах IV и V для дисков, в которые вводили и не вводили аутоКлеткиСЯ.

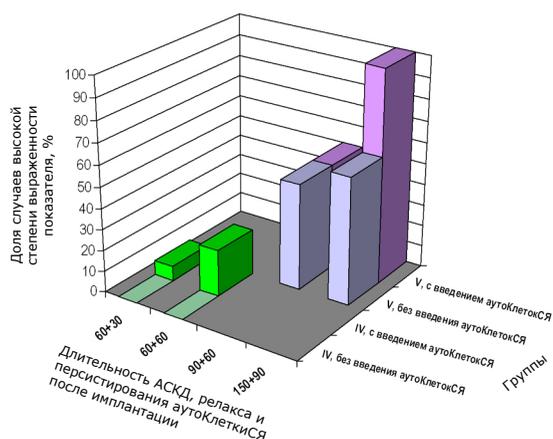
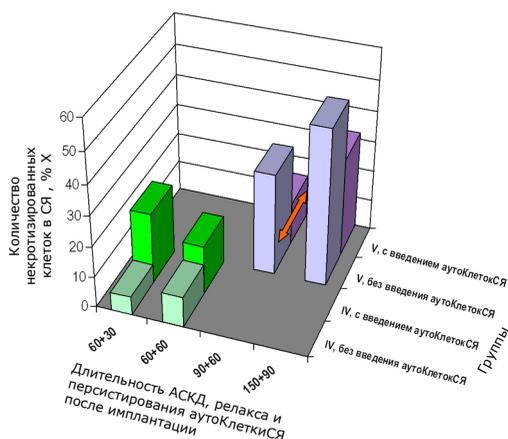


Рис. 9\*. Смещение СЯ в сторону дистензии ФК в группах IV и V для дисков, в которые вводили и не вводили аутоКлеткиСЯ.

гические изменения в основных компонентах МПД, в которых выполняли и не выполняли имплантацию, отражают разнонаправленные влияния факторов, обуславливающих повреждение тканей МПД, и факторов,



**Рис. 10\***. Количество некротизированных клеток в СЯ в группах IV и V для дисков, в которые вводили и не вводили аутоКлеткиСЯ.

способствующих репарации основных структурных компонентов дисков — ФК и СЯ. Выбранная модель ДДПП характеризуется выраженным повреждением прежде всего ткани ФК как на стороне компрессии, так и дистензии, при этом в СЯ возникают в основном вторичная деформация и смещение, а также постепенная некротизация клеток СЯ. Фактор релаксации в относительно малой степени способствует репарации поврежденных в период длительной АСКД структур ФК, но оказывает более заметное влияние на выраженность вторичных изменений: толщину ФК на стороне компрессии и смещение СЯ, в то же время ишемическое повреждение тканей ФК и СЯ в период релаксации в некоторой степени прогрессирует. Имплантация в МПД культивированных аутоКлетокСЯ в форме суспензии способствует репарации ишемически поврежденных тканей ФК и СЯ, что особенно четко проявляется в МПД сегментов позвоночника крыс при постоянной АСКД: в виде уменьшения частоты возникновения очагов хондронекроза высокой степени на стороне дистензии и уменьшения количества некротизированных клеток СЯ.

**Заключение.** Имплантация культивированных аутоКлетокСЯ оказывает многостороннее положительное влияние на ткани МПД, в том числе тех, в которые не имплантировали аутоКлеткиСЯ: уменьшается степень асимметрии тканей на стороне компрессии и дистензии, частота возникновения крупных очагов хондронекроза как на стороне компрессии, так и дистензии. С другой стороны, аутоКлеткиСЯ при постоянной АСКД не оказывают положительного влияния на такие показатели, как смещение СЯ в сторону дистензии и количество некротизированных клеток СЯ в МПД, в которые не имплантировали аутоКлеткиСЯ; смещение СЯ в сторону дистензии в большей степени уменьшается под влиянием релаксации хвостового отдела позвоночника.

Показатели, отражающие реакцию тканей МПД на механическое воздействие, его продолжение или прекращение, мало зависят от имплантации культивированных аутоКлетокСЯ, в то же время показатели, отражающие состояние репарации тканей МПД

после ишемического повреждения, обусловленного АСКД (величина очагов хондронекроза на стороне дистензии ФК и количество некротизированных клеток в СЯ), имеют тенденцию к оптимизации в дисках, в которые имплантировали аутоКлеткиСЯ. Уменьшение количества некротизированных клеток в СЯ в более короткие сроки при сохраняющейся АСКД достоверно.

#### Список литературы

1. Disc chondrocyte transplantation in a canine model: a treatment for degenerated or damages intervertebral disc / T. Ganey, J. Libera, V. Moos, O. Alasevic, K.G. Fritsch, H.J. Meise, W.C. Hutton // *Spine*. — 2003. — V.28, N23. — P.2609–2620.
2. Clinical experience in cell-based therapeutics: Disc chondrocyte transplantation. A treatment for degenerated or damaged intervertebral disc / H.J. Meisel, V. Siodla, T. Ganey, Y. Minkus, W.C. Hutton, O.J. Alasevic // *Biomol. Eng.* — 2007. — V.24, N1. — P.5–21.
3. Cell transplantation in lumbar spine disc degeneration discus / C. Hohaus, T.M. Ganey, Y. Minkus, H.J. Meisel // *Eur. Spine J.* — 2008, suppl.4. — P.492–503.
4. Дегенерация межпозвоноковых дисков и методы ее биологической коррекции / И.Г. Васильева, М.В. Хижняк, И.Н. Шуба, Ю.Г. Гафийчук // *Укр. нейрохирург. журн.* — 2010. — №1. — С.16–23.
5. Юхта М.С. К вопросу о применении клеточной терапии при дегенеративно-дистрофических повреждениях межпозвоноковых дисков / М.С. Юхта, В.И. Грищенко // *Вісн. ортопедії, травматології та протезування*. — 2010. — №4. — С.70–75.
6. Юмашев Г.С. Остеохондрозы позвоночника / Г.С. Юмашев, М.Е. Фурман. — М.: Медицина, 1984. — 382 с.
7. Цивьян Я.Л., Бурухин А.А. Патология дегенерирующего межпозвонокового диска / Я.Л. Цивьян, А.А. Бурухин. — Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 1988. — 126 с.
8. Intervertebral disc repair using adipose tissue-derived stem and regenerative cells: experiments in a canine model / T. Ganey, W.C. Hutton, T. Moseley, M. Hedrick, H.J. Meisel // *Spine*. — 2009. — V.34, N21. — P.2297–2304.
9. Compression-induced changes in intervertebral disc properties in a rat tail model / J.C. Iatridis, P.L. Mente, I.A. Stokes, D.D. Aronsson, M. Alini // *Spine*. — 1999. — V.24, N10. — P.996–1002.
10. Патоморфологические изменения межпозвоноковых дисков и тел позвонков хвоста крыс при асимметричной статической компрессии-дистензии в эксперименте / В.В. Григоровский, М.В. Хижняк, И.Г. Васильева, И.Н. Шуба, Ю.Г. Гафийчук // *Укр. нейрохирург. журн.* — 2011. — №3. — С.59–64.
11. Pazzaglia U.E. The effect of mechanical forces on bones and joints / U.E. Pazzaglia, L. Andriani, A. DiNucci // *J. Bone Joint Surg.* — 1997. — V.79-B, N6. — P.1024–1030.
12. Волков А.В. Морфологические изменения межпозвонокового 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.
13. Хижняк М.В. Експериментальна модель дегенерації міжхребцевих дисків хвостового відділу у щурів / М.В. Хижняк, В.В. Григоровський, Ю.Г. Гафійчук // *Укр. нейрохирург. журн.* — 2012. — №2. — С.58–61.
14. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 № 3447-IV // *Відомості Верховної Ради України (ВВР)*. — 2006. — N27. — С.230.
15. Культура животных клеток. Методы; под. ред. Р. Фрешни. — М.: Мир, 1989. — 302 с.
16. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, cartilage, and adipose tissue / L. Peng, Z. Jia, X. Yin, X. Zhang, Y. Liu, P. Chen, K. Ma, C. Zhou // *Stem Cells Dev.* — 2008. — V.17, N4. — P.761–773.

**Григоровський В.В.<sup>1</sup>, Хижняк М.В.<sup>2</sup>, Васильєва І.Г.<sup>3</sup>, Шуба І.М.<sup>3</sup>, Гафійчук Ю.Г.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Відділ патоморфології з експериментально-біологічним відділенням, Інститут травматології та ортопедії НАМН України, Київ, Україна

<sup>2</sup> Відділення малоінвазивної і лазерної спінальної нейрохірургії, Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України, Київ, Україна

<sup>3</sup> Відділ нейробіохімії, Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України, Київ, Україна

<sup>4</sup> Нейрохірургічне відділення, Міністерство оборони України, Військово-медичний клінічний центр Південного регіону, Одеса, Україна

**Вплив культивованих аутогенних клітин драглистого ядра на структуру міжхребцевих дисків хвостових сегментів при моделюванні остеохондрозу у щурів**

**Вступ.** Розробка методів лікування дегенеративно-дистрофічних пошкоджень хребта відбувається у різних напрямках, одним з яких є відновлення структурно-функціональних властивостей пошкоджених тканин.

**Матеріали і методи.** В експерименті на щурах, у яких моделювали постійну та тимчасову асиметричну статичну компресію-дистензію хвостового відділу хребта, вивчали у динаміці гістологічні зміни і морфометричні показники тканин міжхребцевого диска, у тому числі після імплантації культивованих аутогенних клітин драглистого ядра у вигляді суспензії.

**Результати.** Встановлено, що імплантація аутогенних клітин драглистого ядра справляє позитивний вплив на тканини міжхребцевого диска: зменшує ступінь асиметрії тканин при порівнянні на боці компресії та дистензії, а також частоту виникнення великих вогнищ некрозу у фіброзному кільці.

**Висновки.** Показники, що відображають реакцію тканин міжхребцевого диска на механічну дію, помірно залежать від імплантації аутогенних клітин драглистого ядра, в той же час, показники, що відображають стан репарації тканин міжхребцевого диска після ішемічного пошкодження, зокрема, величина вогнищ некрозу на боці дистензії фіброзного кільця і кількість некротизованих клітин в драглистому ядрі, мають тенденцію до оптимізації в дисках, в які імплантовані аутогенні клітини драглистого ядра.

**Ключові слова:** хребет, остеохондроз, асиметрична компресія-дистензія, аутогенні клітини міжхребцевого диска, імплантація, гістологічні зміни, морфометричні показники, експеримент.

Укр. нейрохірург. журн. — 2013. — №2. — С.28–34.

Надійшла до редакції 01.03.13. Прийнята до публікації 22.05.13.

**Адреса для листування:** Гафійчук Юрій Григорович, нейрохірургічне відділення, Військово-медичний клінічний центр Південного регіону, вул. Пироговська, 2, Одеса, Україна, 04050, e-mail: gafiychuk@rambler.ru

**Grigorovsky V.V.<sup>1</sup>, Khyzhnyak M.V.<sup>2</sup>, Vasilyeva I.G.<sup>3</sup>, Shuba I.N.<sup>3</sup>, Gafiychuk Yu.G.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Department of Pathomorphology with Bio-Experimental Unit, Institute of Traumatology and Orthopedics, NAMS Ukraine, Kiev, Ukraine

<sup>2</sup> Department of Miniinvasive and Laser Spinal Neurosurgery, Institute of Neurosurgery named after acad. A.P. Romodanov, NAMS Ukraine, Kiev, Ukraine

<sup>3</sup> Department of Neurobiochemistry, Institute of Neurosurgery named after acad. A.P. Romodanov, NAMS Ukraine, Kiev, Ukraine

<sup>4</sup> Neurosurgery Department, the Military Medical Clinical Center of Southern region, Ministry of Defense of Ukraine, Odessa, Ukraine

**The influence of cultivated autogenous nucleus pulposus cells on structure of intervertebral discs of caudal spine at osteochondrosis model in rats**

**Introduction.** The unsolved problem of treatment of intervertebral discs degenerative changes and new cellular technologies development open new possibilities for researches in the different directions, one of which is restoration of structurally-functional properties of the diseased tissues.

**Materials and methods.** In experiment in rats with model of constant and temporary asymmetric static compression-distension (ASCD) of caudal spine, dynamics of histological changes and morphometric values of intervertebral disc (IVD) tissues were studied, including after implantation of suspension of cultivated autogenous cells of nucleus pulposus.

**Results.** It was found that autocells implantation has multilateral positive influence on IVD tissues condition: reduces their asymmetry in comparison to the side of compression and distension, frequency of large foci of necrosis in anulus fibrosus (AF).

**Conclusions.** The parameters, reflecting IVD-tissues reactions on mechanical influence, depend moderately on autocells implantation, at the same time the parameters of IVD tissues condition after ischemic lesion in particular size of foci of AF necrosis on the side of distension and amount of necrotic cells in AF had a tends to optimization in discs with implanted autocells.

**Key words:** spine, osteochondrosis, asymmetric compression-distension, autogenic cells of intervertebral disc, implantation, histological changes, morphometric indices, experiment.

Ukr Neyrokhir Zh. 2013; 2: 28–34.

Received, March 01, 2013. Accepted, May 22, 2013.

**Address for correspondence:** Yuriy Gafiychuk, Neurosurgery Department, The Military Medical Clinical Center of Southern region, Pirogovskaya St, 2, Odessa, Ukraine, 65044, e-mail: gafiychuk@rambler.ru