

МОДЕЛЬ ПОЯСНИЧНОГО СПІНАЛЬНОГО СТЕНОЗА В ЕКСПЕРИМЕНТЕ

А. І. Продан¹, О. А. Перепечай², А. Г. Чернышов¹, В. В. Подлипенцев³,
Г. В. Иванов¹, С. Л. Елисеєв⁴, Н. Ю. Новиков⁴

¹ГУ “Институт патологии позвоночника и суставов
им. проф. М. И. Ситенко АМН Украины”, г. Харьков

²ГУ “Институт травматологии и ортопедии АМН Украины”, г. Киев

³ЧП Клиническая больница, г. Симферополь, Украина

⁴Центр патологии позвоночника и суставов “Genesis”, г. Симферополь, Украина

MODEL OF LUMBAR SPINAL STENOSIS IN EXPERIMENT

A. I. Prodan, O. A. Perepechai, A. H. Chernyshev, V. V. Podlipentsev,
H. V. Ivanov, S. L. Yeliseiev, N. Yu. Novikov

The experimental model of lumbar spinal stenosis in 20 rats was described. The main point of experiment was in the symmetrical incision of bow plates to internal thin plates of the cortical layer and then the latters were incised. The middle part of the bow together with the spinous process of the vertebra was separated from rest parts of the bow and articular processes. The separated part of the bow together with attached yellow ligaments were displaced to the vertical direction making the space of the spinal canal smaller and fixing contacting bone edges by bone cement. Degenerative changes of nerve roots were histologically evaluated according to the evidence of endoneural and epineural changes using a score scale from 1 to 7 by G. Byrod et al.

In examined group of rats 7 days later after modelling of the spinal canal stenosis dystrophic changes of nerve fibres appeared but they were not very significant and there were no signs of endoneural inflammation. There were pronounced epineural changes what was evidence of epineural inflammatory process. One month later dystrophic and degenerative changes of the most nerve fibres (more than 75%) were revealed. In remote terms (three months later) endoneural changes practically were the same as one month after surgery, epineural lesions remained, groups and solitary fibroblasts appeared as a sign of epineural fibrosis as well as zones of new growth of connective tissue and hyalinosis.

Key words: lumbar spinal stenosis, experimental model.

МОДЕЛЬ ПОПЕРЕКОВОГО СПІНАЛЬНОГО СТЕНОЗУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

А. І. Продан, О. О. Перепечай, О. Г. Чернышов, В. В. Подліпенцев,
Г. В. Иванов, С. Л. Єлисеєв, Н. Ю. Новіков

Представлено опис експериментальної моделі поперекового спінального стенозу на 20 щурах. Суть експерименту полягала в симетричному розтині пластин дуг до внутрішніх тонких пластинок кортикального шару, і потім останні розтинають. Середня частина дуги разом з остистим відростком хребця відділяються від решти частин дуги і суглобових відростків. Відокремлену середню частину дуги разом з прикріпленими жовтими зв'язками зміщують у вентральному напрямку, зменшуючи в розмірах порожнину хребетного каналу, і фіксують контактуючі кісткові краї кістковим цементом. Дегенеративні зміни нервових корінців оцінювали гістологічно за мірою вираженості ендоневральних і епіневральних змін, використовуючи 7-бальну шкалу G. Byrod та ін.

У дослідженій групі тварин через 7 днів після моделювання стенозу хребетного каналу з'являються дистрофічні зміни нервових волокон, але ступінь їх невелика, й ознак ендоневрального запалення практично немає. В епіневрії визначаються виражені або грубі зміни, що свідчить про епіневральний запальний процес. Через 1 міс. виявлялись дистрофічні і дегенеративні зміни переважної більшості нервових волокон (понад 75%). У пізніші терміни (3 міс.) ендоневральні зміни залишались практично такими ж, як і через 1 міс. після операції, епіневральні порушення зберігались, з'являлись групи і одиничні фібробласти як ознака епіневрального фіброзу, а також ділянки новоутворень сполучної тканини і гіаліноз.

Ключові слова: поперековий спінальний стеноз, експериментальна модель.

Введение

Поясничный спинальный стеноз (ПСС) служит одной из основных причин патологических изменений элементов конского хвоста, вызывающих *тяжелые неврологические синдромы*: радикулопатии, радикуломиелоишемии и нейрогенную перемежающуюся хромоту.

Для изучения патоморфологии и патофизиологии элементов конского хвоста используют экспериментальное моделирование стеноза позвоночного канала (ПК). Адекватная экспериментальная модель необходима также для *испытания эффектов лекарственных препаратов и способов лечения стеноза ПК*.

Структурные изменения в ПК и его содержимого (конский хвост и спинномозговые корешки, сосуды) исследуются преимущественно в острых опытах с компрессией спинномозговых корешков в течение лишь нескольких часов [7]. У крупных животных (собака, свинья) проводят дозированную компрессию конского хвоста с помощью баллончиков в течение от 7 дней до 3 мес. [1].

К. Yashihara et al. [2, 3] моделировали стеноз ПК у кошек путем эпидурального введения силиконовой пленки. Авторы выполняли ламинэктомию L₄ и под дугу L₅ позвонка в заднее эпидуральное пространство вводили квадратный фрагмент силиконовой пленки толщиной 0,3 мм и стороной квадрата 3,5 мм.

В последние годы М. Sekiguchi et al. [5], а затем К. Watanabe et al. [6] модифицировали метод получения стеноза ПК у крыс. Способ включает вскрытие из заднего доступа межзаставных частей дуг двух соседних нижних позвонков L₄ и L₅ и механическое сжатие содержимого ПК путем принудительного локального уменьшения его поперечного сечения. Затем удаляют желтую связку между позвонками L₄ и L₅ и вводят в ПК, в эпидуральное пространство, под дугу позвонка L₅, через промежуток между дугами позвонков силиконовый блок длиной 4 мм, шириной 1 мм и толщиной 0,9 мм так, чтобы он занял приблизительно половину переднезаднего диаметра ПК.

Способ К. Yashihara et al. имеет существенные недостатки.

- *Во-первых*, хирургические манипуляции в полости ПК, связанные с удалением желтой связки и введением в ПК силиконового блока, травмируют его содержимое, в том числе эпидуральную жировую клетчатку, эпидуральные сосуды и элементы спинного мозга, что приводит к нежелательным побочным эффектам:

- кровоизлияния;
- образование спаяк;
- травматические изменения структуры и функции спинного мозга.

- *Во-вторых*, помещенный в ПК силиконовый блок ничем не закреплен и может свободно перемещаться вдоль ПК и поперек его, вследствие чего часто происходит неконтролируемое изменение локализации и степени стеноза ПК.

Хотя силикон считается биологически инертным материалом, но уже спустя 3 нед. после операции фор-

мируется соединительнотканная капсула вокруг силиконового блока, введенного в эпидуральное пространство [6]. В последующем, вызванный силиконом эпидуральный фиброз существенно изменяет течение стеноза ПК.

Вышеназванные недостатки этого способа существенно снижают точность его воспроизведения и воссоздания контролируемых необходимых реальных условий стеноза ПК.

Цель работы – создать такой способ получения экспериментальной модели стеноза позвоночного канала на мелких лабораторных животных, который обеспечивал бы топографически точное воссоздание реальных условий этой патологии позвоночника за счет минимизации травмирующих хирургических вмешательств, исключал бы повреждение содержимого позвоночного канала и степень риска образования эпидурального фиброза.

Материалы и методы

Предложенный способ экспериментального моделирования стеноза ПК апробирован на 20 половозрелых крысах линии Вистар.

При предложенном способе экспериментального моделирования стеноза ПК *выживаемость* составляет 95%.

Рентгенологические и гистологические исследования, проведенные через 1 неделю, 1 мес. и 3 мес. подтвердили, что формирующийся в условиях нашей модели стеноз ПК строго локализован, а его степень регулируется.

Побочных последствий в результате хирургических вмешательств при выполнении моделирования стеноза ПК предложенным способом не выявлено.

Технология предложенного способа экспериментального моделирования ПСС у крыс

Анестезия интраперитонеальным введением одного из барбитуральных препаратов (тиопентал, пентобарбитал) в дозе 30–50 мг/кг.

Продольный разрез кожи над остистыми отростками (≈ 20 мм) L₄–L₆ позвонков.

Скелетируют дугу L₅ позвонка. Цилиндрической фрезой справа и слева от остистых отростков продольно рассекают пластину дуги L₅ симметрично под углом 15–35° относительно сагиттальной плоскости (рис. 1). Симметричные рассечения пластин дуги выполняют в два этапа: цилиндрической фрезой делают канавки вплоть до внутренних тонких пластинок кортикального слоя, а затем с помощью микрохирургических ножниц последние рассекают. Таким образом, средняя часть дуги вместе с остистым отростком позвонка отделяются от остальных частей дуги и суставных отростков.

Отделенную среднюю часть дуги вместе с прикрепленными желтыми связками смещают в вентральном направлении, уменьшая в размерах полость ПК на величину, определенную упором боковых краев отдельной части дуги в боковые края оставшейся части дуги,

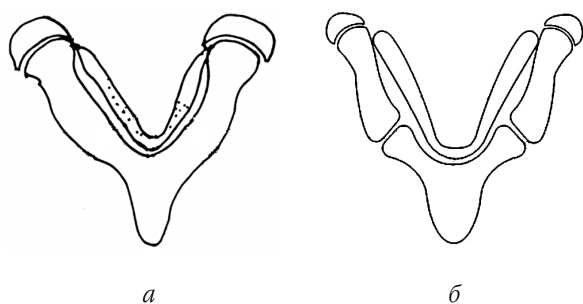


Рис. 1. Схема способа моделирования стеноза позвоночного канала:
а – общий вид дуги в аксиальной проекции;
б – срединная отделенная часть дуги

и фиксируют контактирующие костные края костным цементом (рис. 1б).

Величину вентрального смещения *S* срединной отделенной части дуги рассчитывают по формуле:

$$S = b \sin \alpha,$$

где *S* – величина вентрального смещения срединной отдельной части дуги, которая определяет степень созданного стеноза ПК; *b* – ширина каждого из двух сечений пластин дуги; α – угол наклона плоскости каждого из двух сечений пластин дуги к сагиттальной плоскости.

Смещение *S* срединной отделенной части дуги позвонка приводит к уменьшению поперечного сечения ПК. При этом уменьшается переднезадний размер как центральной части ПК, так и его латеральных отделов (на рисунке не показаны), что дает возможность моделировать центральный и латеральный стеноз ПК.

Желтые связки во время рассечения дуги позвонка и во время вентрального смещения отделенной срединной части дуги не травмируются. Хирургические манипуляции в полости ПК при этом минимальны и травма его содержимого исключается.

Выбор угла наклона α плоскости каждого из двух разрезов пластин дуги к сагиттальной плоскости в пределах от 15 до 35° и шириной каждого из этих разрезов в пределах от 1,0 до 1,5 мм позволил регулировать степень стеноза ПК в достаточно широком диапазоне – от 15 до 75%, что значительно расширяет функциональные возможности способа моделирования стеноза ПК.

Результаты и их обсуждение

На рис. 2 показан L₅ позвонок крысы в аксиальной проекции до моделирования (рис. 2а) и после моделирования стеноза ПК (рис. 2б).

В качестве иллюстрации адекватности модели представлены аксиальные компьютерные томограммы L₅ позвонка одной из крыс до и после операции моделирования (рис. 3).

Дегенеративные изменения нервных корешков оценивали *гистологически* по степени выражен-

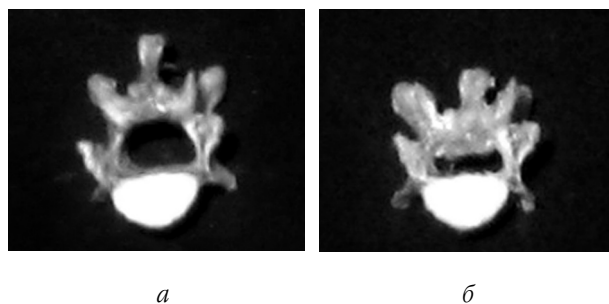


Рис. 2. Препараты L₅ позвонка крысы:
а – до моделирования стеноза ПК;
б – после моделирования (уменьшение площади поперечного сечения ПК на 50%)

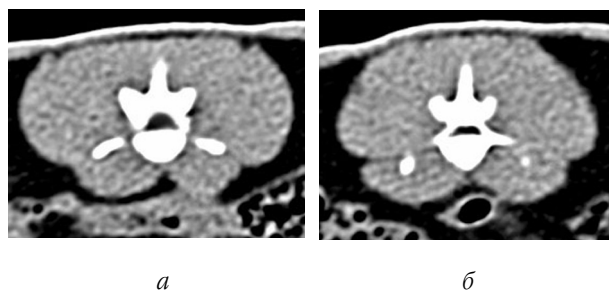


Рис. 3. Аксиальные компьютерные томограммы L₅ позвонка крысы: до моделирования (*а*) и после моделирования стеноза ПК (*б*)

ности эндоневральных и эпинеуральных изменений, используя 7-бальную шкалу G. Byrod et al. [4]:

- 0 степень – повреждения нервных волокон отсутствуют;
- 1 степень – повреждение единичных нервных волокон;
- 2 степень – повреждение около 10% нервных волокон;
- 3 степень – повреждение 11–25% нервных волокон;
- 4 степень – повреждение 26–50% нервных волокон;
- 5 степень – повреждение 51–75% нервных волокон;
- 6 степень – повреждение 76–100% нервных волокон.

Другие гистологические изменения оценивали по 5-ти бальной шкале:

- 0 степень – изменений нет;
- 1 степень – минимальные изменения;
- 2 степень – легкие изменения;
- 3 степень – значительные изменения;
- 4 степень – грубые изменения.

К эндоневральным изменениям относятся:

- 1) лейкоцитарная инфильтрация;
- 2) кровоизлияние;
- 3) гиперемия;
- 4) отек шванновских клеток.

К эпидуральным изменениям относятся:

- 1) гиперемия;
- 2) кровоизлияние;
- 3) фибробласты;
- 4) тучные клетки;
- 5) лейкоцитарная инфильтрация.

Таблиця

Средние значения количественных эндоневральных и эпиневральных изменений спинномозговых корешков (в баллах) у крыс контрольной и опытной группы в различные сроки после моделирования стеноза ПК

Изменения спинномозговых корешков	Группы животных			
	Контрольная (n=2)	Опытная (n=5)		
		7 дней	1 мес.	3 мес.
<i>Эндоневральные:</i>				
поражение нервных волокон	0	2,6	6,0	6,0
лейкоцитарная инфильтрация	0	0	2,6	3,0
кровоизлияния	0	1,4	1,6	0
гиперемия	2,0	2,4	3,6	3,6
отек шванновских клеток	0	1,2	4,0	3,0
<i>Эпидуральные:</i>				
гиперемия	3,0	4,0	4,0	4,0
кровоизлияния	2,0	3,6	3,0	4,0
фибробласты	0	0	3,6	3,2
тучные клетки	0	2,4	4,0	3,6
лейкоцитарная инфильтрация	2,0	3,2	4,0	3,6

• *Эпидуральные изменения* заключались в распространенных кровоизлияниях.

Выраженная очаговая лейкоцитарная инфильтрация, моноциты и тучные клетки выявлялись в единичных препаратах.

Эпидуральный фиброз проявляется формированием соединительной ткани с очагами гиалиноза.

• *Эндоневральные изменения* проявляются признаками дегенерации нервных волокон задних и передних корешков, отеком шванновских клеток, признаками гиперемии и тромбоза эндоневральных сосудов (рис. 4).

Отмечаются так же признаки эндоневрального воспаления – лейкоцитарная инфильтрация, наличие единичных фибробластов, тучных клеток.

В таблице показаны средние значения количественных гистологических эндоневральных и эпиневральных изменений спинномозговых корешков в *контрольной* и *опытной* группе животных в различные сроки после моделирования стеноза ПК.

Контрольная группа

Из таблицы видно, что в *контрольной группе* крыс определяется лишь легкая гиперемия интраневральных и эпиневральных сосудов, легкие эпиневральные кровоизлияния и легкая лейкоцитарная инфильтрация клетчатки, связанные с хирургической травмой во

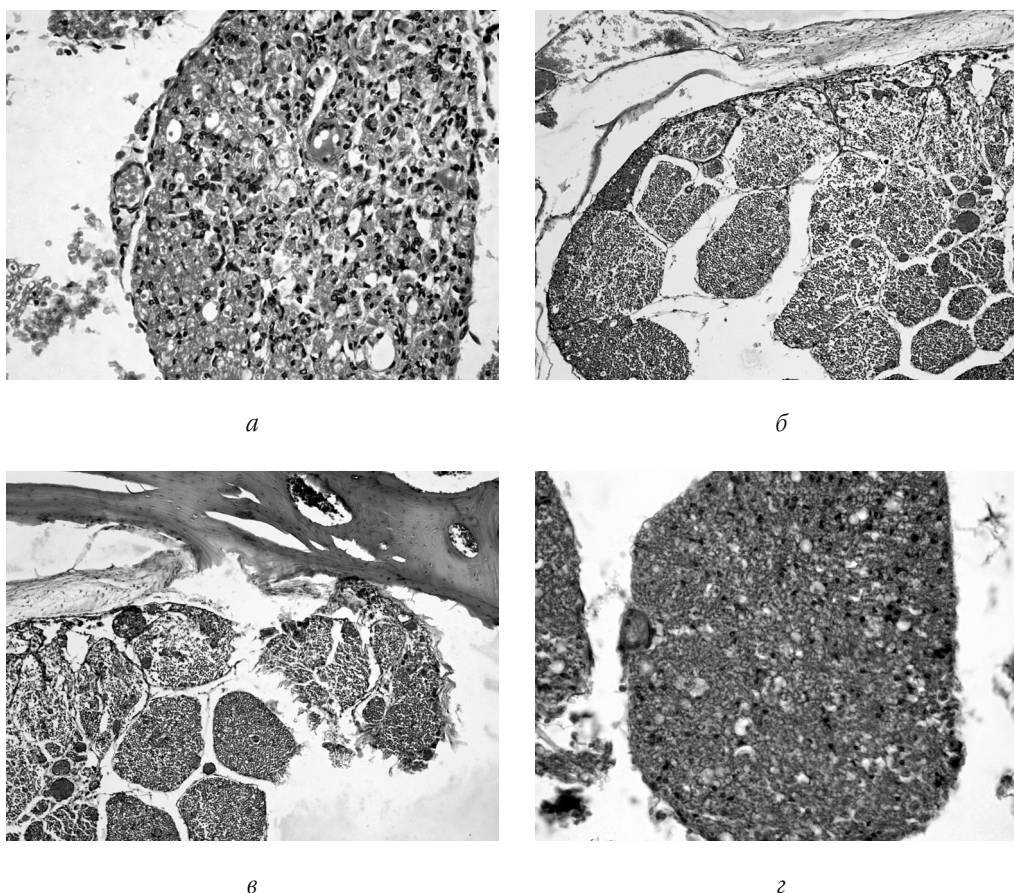


Рис. 4. Гистология эндоневральных изменений:
а – лейкоцитарная инфильтрация; *б* – гиперемия; *в* – отек шванновских клеток;
г – фибробласты и тучные клетки. Гематоксилин-эозин. ×100 (*а*) и ×40 (*б-г*)

время ламинэктомии для извлечения дуральной трубки с элементами конского хвоста.

Опытная группа

• Эндоневральные изменения

В опытной группе животных спустя 7 дней после моделирования стеноза ПК появляются дистрофические изменения нервных волокон, но степень их невелика. Признаков эндоневрального воспаления практически нет (отсутствует лейкоцитарная инфильтрация), но появляется диапедезные кровоизлияния и отек шванновских клеток.

Спустя 1 мес. после моделирования стеноза ПК имеются дистрофические и дегенеративные изменения значительного большинства нервных волокон (более 75%), появляется лейкоцитарная инфильтрация, нарастают диапедезные кровоизлияния, стаз и гиперемия эндоневральных сосудов, местами с кровяными сгустками, значительно возрастает отек шванновских клеток.

В более поздние сроки (3 мес.) эндоневральные изменения остаются практически такими же, как и спустя 1 мес. после операции.

• Эпиневральные изменения

Спустя 7 дней после моделирования стеноза ПК в эпинеурии определяются выраженные или грубые изменения: гиперемия, венозный стаз, кровяные сгустки и тромбы; выраженные диапедезные кровоизлияния; появляются тучные клетки и лейкоцитарная инфильтрация, что свидетельствует об эпиневральном воспалительном процессе.

В более поздние сроки (1 и 3 мес.) тяжелые эпиневральные нарушения сохраняются, появляются группы и единичные фибробласты как признак эпиневрального фиброза. Видны участки новообразований соединительной ткани и гиалиноз (рис. 5).

Выводы

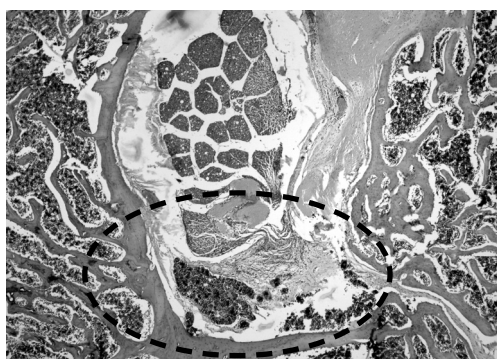
Представленная экспериментальная модель поясничного стеноза позвоночного канала позволяет регу-

лировать степень стеноза, существенно снижает риск неконтролируемого повреждения содержимого ПК и формирования эпидурального фиброза.

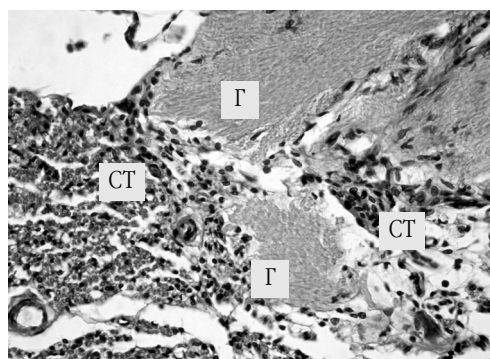
Способ легко репродуцируется, что позволяет использовать его не только для изучения патогенеза стеноза ПК, но и для экспериментальной оценки эффективности лекарственных препаратов и способов лечения.

Литература

1. A model for chronic nerve root compression studies : presentation of porcine model for controlled, slow-onset compression with analyses of anatomical aspects, compression onset rate, and morphologic and neurophysiologic effects / *Corneljod M., Sato K., Olmarker K., Rydevik B.* // *Spine.* – 1997. – Vol. 22. – № 9. – P. 946–957.
2. Behavioral and morphologic studies of the chronically compressed cauda equina : experimental model of lumbar spinal stenosis in the rat / *Yamaguchi K., Murakami M., Takabachi K. [et al.]* // *Spine.* – 1999. – Vol. 24. – P. 845–851.
3. Chronic compression model of the cauda equine : morphological and electrophysiological study / *Yashihara K., Murakami M., Takabachi K. [et al.]* // *J. Orthop. Science.* – 1996. – Vol. 1. – P. 376–383.
4. Early effect of nucleus pulposus application on spinal root morphology and function / *Byrod G., Rydevik B., Nortborg C., Olmarker K.* // *Eur. Spine J.* – 1998. – Vol. 7. – P. 445–449.
5. *Sekiguchi M.* Experimental spinal stenosis relationship between degree of the cauda equina compression, neuropathology and pain // *Sekiguchi M., Kikuchi S., Myers R. R.* // *Spine.* – 2004. – Vol. 29. – P. 1105–1111.
6. Spinal stenosis : assessment of motor function, VEGF expression, and angiogenesis in an experimental model in the rat / *Watanabe K., Komoto S., Sekiguchi M., Kikuchi S.* // *Eur. Spine J.* – 2007. – Vol. 16. – P. 1913–1918.
7. Vasogenic edema induced by compression injury to the spinal root : distribution of intravenously injected protein tracers and gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging / *Kobayashi S., Yoshizawa H., Hachiya Y. [et al.]* // *Spine.* – 1993. – № 18. – P. 1410–1424.



а



б

Рис. 5. Микрофотография. Фиброзная соединительная ткань с явлениями гиалиноза в позвоночном канале (обведено линией): СТ – новообразованная соединительная ткань; Г – очаги гиалиноза. Стаз, тромбоз и лейкодиапедез в сосудах ПК и конского хвоста. Гематоксилин-эозин. ×100 (а) и ×200 (б)