

УДК 616.721-001.6-092.9

Моделирование спондилолистеза у мелких лабораторных животных

В.А. Куценко, Г.В. Иванов, **А.И. Продан**

ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М.И. Ситенко НАМН Украины», Харьков

The purpose of the present work was to study radiological changes in spinal motor segments (SMS) of white rats after degenerative spondylolisthesis had been modelled. The above modelling was carried out in 115 animals by destabilization of the anterior and posterior support complexes of their vertebral column (patent of Ukraine № 50829). The majority of rats (79.7%) developed antelisting by the suggested method. Antelisting in young rats developed fast, increasing later gradually and on an average only by 6%. The extent of angle remodelling in young rats was significantly larger. When spondylolisthesis was modelled in rats, SMS deformities (ventrolisting, anteflexia, remodelling of the ventrocranial angle of the underlying vertebra) were almost the same as in people in conditions of LV spondylolisthesis (antelisting, anteflexia, remodelling of the anterosuperior angle of SI body) and degenerative spondylolisthesis (remodelling of joint facets).

Мета роботи — вивчити рентгенологічні зміни хребтових рухових сегментів (ХРС) у білих щурів після моделювання дегенеративного спондилолістезу, яке здійснено у 115 тварин шляхом дестабілізації переднього і заднього опорного комплексів хребта (патент України № 50829). У більшості щурів (79,7%) завдяки запропонованому способу реалізувався антелістез. У молодих щурів він відбувався швидко, а в подальшому збільшувався повільно і тільки в середньому на 6%. Ступінь кутового ремоделювання суттєво більший у щурів молодого віку. Деформації ХРС за моделювання спондилолістезу у щурів (вентролістез, антефлексія, ремоделювання вентрокраніального кута тіла нижче розташованого хребця) майже такі ж, як у людини за умов диспластичного спондилолістезу L V (антелістез, антефлексія, ремоделювання передньоверхнього кута тіла SI) та дегенеративного спондилолістезу (ремоделювання суглобових фасеток).

Ключевые слова: моделирование, спондилолистез, рентгенометрия

Введение

Спондилолистез характеризуется передним смещением позвонков и некоторыми связанными с антелистезом деформациями позвоночных сегментов.

Экспериментальными исследованиями с использованием моделирования спондилолистеза у молодых животных с незрелым скелетом установлено, что спондилолистез может быть своеобразным эпифизеолизом [1], но дальнейшее ремоделирование позвоночных сегментов при диспластическом спондилолистезе не изучено, а работы, посвященные экспериментальному моделированию дегенеративного спондилолистеза, единичны.

Впервые моделирование переднего смещения позвонков у крыс в возрасте 4 недель проведено японскими исследователями [2–4]. Авторы задним доступом выполняли ламинэктомию позвонка L VI

и гистологические исследования тканей позвоночного двигательного сегмента (ПДС) в сроки 1, 3, 5 и 7 суток после операции. Доказано, что у животных происходит вентральное смещение позвонка до 7% через 7 суток. Ранее смещение позвонков не отмечалось.

Цель работы — изучить рентгенологические изменения ПДС белых крыс после моделирования у них дегенеративного спондилолистеза.

Материал и методы

Авторами разработана модифицированная экспериментальная модель дегенеративного спондилолистеза. При планировании эксперимента ставили две задачи:

— ослабление межпозвонкового диска L VI–L VII

передним доступом с помощью офтальмологического скальпеля до пульпозного ядра;

- ослабление заднего опорного комплекса путем удаления остистого отростка позвонка L VI и срединного пересечения дуги L VI конусовидным бором.

Таким образом, первым этапом моделировали дегенеративный процесс (остеохондроз) в межпозвоночном диске (МПД), а вторым — дегенеративный спондилолистез [5].

Эксперименты выполнены согласно требованиям «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для исследовательских и других научных целей» (Страсбург, 1986) [6] и Закона Украины «Про захист тварин від жорстокого поводження» (ст. 26).

Белые лабораторные крысы содержались в одинаковых условиях экспериментально-биологической клиники. За животными проводили клинические наблюдения: общий осмотр, контроль послеоперационного состояния, мониторинг послеоперационной раны, термометрия, взвешивание. Все хирургические вмешательства у крыс проведены под общим обезболиванием (аминазин — 10 мг/кг; кетамин — 50 мг/кг живой массы внутримышечно) в условиях асептики и антисептики. Эвтаназию животных осуществляли путем передозировки тиопентала.

Общее количество животных составило 115 крыс (табл. 1).

Рентгенографию всем экспериментальным животным выполняли в боковой и переднезадней проекциях после хирургического вмешательства и на момент выведения животного из эксперимента — через 1, 2, 3, 4, 6, 7, 11 и 12 мес после операции. Дополнительные рентгенографические исследования проводили в соответствии с индивидуальными планами наблюдения за экспериментальными группами. Так, при сроке наблюдения, превышающем

3 мес, первое рентгенологическое исследование было выполнено спустя 3 мес после операции (под наркозом), а второе — после выведения из эксперимента. Кроме того, рентгенография выполнена у 10 крыс, погибших в ранние сроки после операции (1-3 недели). Таким образом, рентгенологические исследования проведены в сроки от 1 недели до 12 мес после операции по моделированию спондилолистеза. Для контроля деформации позвоночника выборочно у 3 крыс снимки сделаны спустя 7 дней после операции. Все рентгенограммы сканировали на компьютере, увеличивали изображение и измеряли величину линейного вентрального смещения в процентах к величине вентродорзального размера каудального позвонка L VII или S I и угловую деформацию в оперированном сегменте (рис. 1).

Результаты и их обсуждение

У 16 животных экспериментальное моделирование спондилолистеза выполнено в возрасте 3 мес: у троих срок наблюдения — 4 мес, у остальных 13 срок наблюдения после операции — 12 мес.

У 18 крыс экспериментальное моделирование дегенеративного спондилолистеза выполнено в возрасте 6 мес, а срок наблюдения составил 3 мес (шесть крыс), 4 мес (три) и 6 мес (девять). Двух крыс оперировали в возрасте 15 мес (срок наблюдения 2 мес). Остальным 69 животным операцию моделирования дегенеративного спондилолистеза выполнили в 12-месячном возрасте со сроками наблюдения от 1 до 11 мес.

У всех 16 крыс относительно молодого возраста (3 мес) экспериментальное моделирование спондилолистеза состоялось в течение первых 1–2 недель, достигая величины антелистеза от 80 до 100% от конечного смещения при выведении из эксперимента через 3 мес. Дополнительное увеличение антелистеза состоялось в среднем на 9,7%.

Таблица 1. Материал экспериментальных исследований

Количество крыс	Возраст крыс (мес)	Характер операции	Срок наблюдения (мес)
6 (-1)	12	ляминэктомия	11
12	12	ляминэктомия+дискэктомия	1
9	12	ляминэктомия+дискэктомия	2
21	12	ляминэктомия+дискэктомия	3
6 (-2)	12	ляминэктомия+дискэктомия	4
1	12	ляминэктомия+дискэктомия	6
8 (-4)	12	ляминэктомия+дискэктомия	7
16 (-3)	12	ляминэктомия+дискэктомия	11
2	15	ляминэктомия+дискэктомия	2
6	6	ляминэктомия+дискэктомия	3
3	6	ляминэктомия+дискэктомия	4
9	6	ляминэктомия+дискэктомия	6
13	3	ляминэктомия+дискэктомия	12
3	3	ляминэктомия+дискэктомия	4

Примечание: цифры в скобках — количество умерших после операции крыс

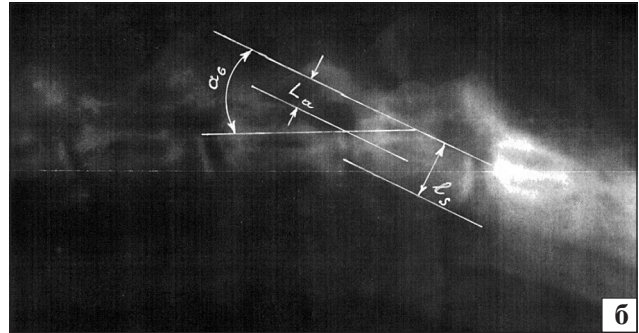
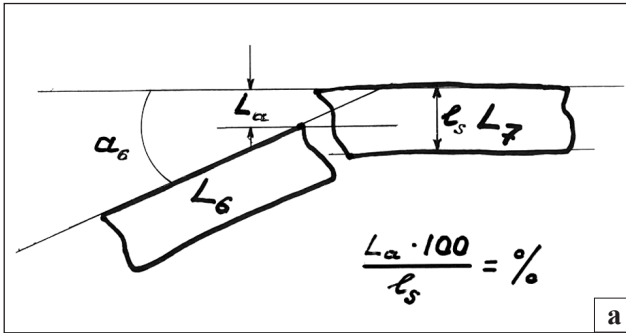


Рис. 1. Схема расчета величины линейного (L_{α} , %) и углового (α_6) смещения позвонков у крыс: а) на рисунке; б) на профильной рентгенограмме

Из 18 животных, оперированных в возрасте 6 мес, у двух вентральное смещение позвонка не превышало ошибки измерения. У остальных 16 вентральное смещение варьировало от 1 до 3 мм, в среднем составило 26,8%.

Среди животных, которым операцию моделирования спондилолистеза выполнили в возрасте 12 мес, у 14 (20,3%) антелистез не состоялся. Считаем, что предварительное экспериментальное моделирование дегенеративного процесса в МПД привело к быстрой рестаблизации ПДС из-за уменьшения высоты диска почти до полного фиброза и образования остеофитов тел позвонков. На рентгенограмме (рис. 2) в боковой проекции через 11 мес после экспериментального моделирования спондилолистеза в сегменте L VI–L VII наблюдали резкое снижение высоты диска, остеофиты по передним краям тел позвонков, но антелистеза не выявлено.

У большинства животных (79,7%) дегенеративный спондилолистез состоялся. Во время рентгенологического обследования, выполненного через 3 мес после операции, величина антелистеза в среднем составила 20%, а угловая деформация — 3,9°. Через 11 мес после операции антелистез до-

полнительно увеличился только на 6,2% (26,2% в среднем), а угловая деформация дополнительно увеличилась до 5,2° (33,3%).

Можно утверждать, что антелистез при экспериментальном моделировании у животных в возрасте 3 и 12 мес сначала происходит втрое динамичнее (первые три месяца наблюдения), а в дальнейшем (наблюдения до 11 мес после операции) увеличивается медленно и в среднем только на 6%.

С другой стороны, величина дополнительной угловой деформации увеличивается существенно (на треть), что связано с более активным ремоделированием ПДС, а именно — краниоventрального угла тела позвонка L VII (лежащего ниже смещенного). Такое ремоделирование ПДС может вообще отсутствовать или совпадать с угловой деформацией (рис. 3). На рентгенограмме (рис. 3) через 3 мес после экспериментального моделирования дегенеративного спондилолистеза у крыс 12 мес наблюдался спондилолистез 42%, угловая деформация 8°, ремоделирование тел позвонков не установлено.

На рентгенограмме (рис. 4) представлены результаты экспериментального моделирования дегенеративного спондилолистеза у 3-месячной крысы через 3,5 мес после операции (животное выведено



Рис. 2. Фотоотпечаток боковой рентгенограммы пояснично-крестцового отдела 23-месячной крысы (11 мес после операции). Антелистез не наблюдается

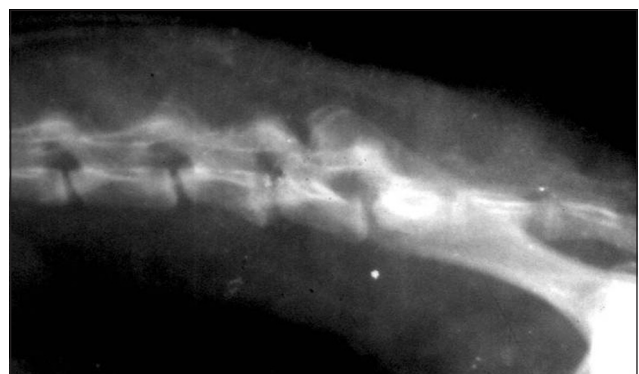


Рис. 3. Фотоотпечаток боковой рентгенограммы пояснично-крестцового отдела крысы через 3 мес после операции. Спондилолистез 42%, угловая деформация 8°



Рис. 4. Фотоотпечаток боковой рентгенограммы пояснично-крестцового отдела крысы через 3,5 мес после операции. Антелистез 43%, угловая деформация 15°

из эксперимента в возрасте 6,5 мес). Наблюдали антелистез 43%, угловую деформацию 15°, которые совпадают с угловым ремоделированием кранио-вентрального угла тела позвонка L VII.

Степень углового ремоделирования у 15-месячных животных (рис. 5) была более выраженной по сравнению с 23-месячными животными (рис. 6). На рентгенограмме (рис. 5) показаны результаты экспериментального моделирования дегенеративного спондилолистеза у 12-месячных животных через 3 мес после операции (суммарный возраст животных — 15 мес). Наблюдали антелистез 27%, угловую деформацию 18°, которая совпадает с ремоделированием кранио-вентрального угла тела позвонка L VII.

На рентгенограмме (рис. 6) представлены результаты экспериментального моделирования дегенеративного спондилолистеза у 12-месячной крысы через 11 мес после операции (суммарный возраст — 23 мес). Наблюдали антелистез 47%, угловую деформацию 8°, ремоделирование кранио-вентрального угла тела позвонка L VII.



Рис. 5. Фотоотпечаток боковой рентгенограммы пояснично-крестцового отдела крысы через 3 мес после операции. Антелистез 27%, угловая деформация 18°



Рис. 6. Фотоотпечаток боковой рентгенограммы пояснично-крестцового отдела крысы через 11 мес после операции. Антелистез 47%, угловая деформация 8°

Напомним, что у людей ремоделирование L V и S I при диспластическом спондилолистезе в подростковом возрасте значительно больше, чем при дегенеративном спондилолистезе у взрослых.

Дегенеративные изменения МПД существенно снижают жесткость переднего опорного комплекса и ПДС в целом и повышают риск спондилолистеза, но дегенеративные изменения не причина, а следствие диспластического спондилолистеза [7–10].

Дегенеративные изменения диска на уровне смещения возникают при действии избыточных компрессионных и сдвиговых нагрузок, возникающих в вертикальном положении тела (сидение, стояние, ходьба), но на основе экспериментов К. Osterman и Н. Osterman [11] пришли к выводу, что вертикализация тела не является обязательной для формирования спондилолистеза. К. Saigo и соавт. исследовали механизм переднего смещения на препаратах позвонков молодых телят и показали, что устойчивость к прямому сдвигу не зависит от рассечения диска, а смещение происходит в ростковой зоне, на границе костных и хрящевых замыкательных пластин [2]. Позже эти авторы сообщили об экспериментах на препаратах позвонков молодых бабуинов с незавершенным ростом и получили аналогичные результаты: смещение всегда происходит по зоне роста [3]. При этом устойчивость к переднему сдвигу зависит, при прочих равных условиях, от возраста [12]. У годовалых телят повреждающая нагрузка составляет около 2000 Н, что вдвое больше, чем у 5-месячных телят, и в десять раз больше, чем у новорожденных. Авторы пришли к выводу, что диспластический спондилолистез при незавершенном созревании скелета может быть связан со своего рода физиологием, т.е. разъединением и смещением в ростковой зоне.

Впервые гипотезу о спондилолистезе как своего рода эпифизиолизе высказали Н.Ф. Farfan и соавт.

[13] и Н.И. Хвисяк с соавт. [14]. Эта гипотеза подтверждена несколькими доказательствами. Кроме приведенных выше данных, имеются сообщения Т. Иката и соавт. [1, 15], где показано, что у детей и подростков, по результатам ЯМР-томографии, при спондилолистезе смещение позвонка происходит не по диску, а между костной и хрящевой замыкательными пластинами.

Прямым подтверждением того, что диспластический спондилолистез можно рассматривать как своего рода эпифизеолиз, можно считать и данные В.В. Фендрикова [16], который на основе анализа большого количества дискограмм у больных спондилолистезом установил, что смещение позвонка L V происходит, как правило, либо над диском, когда нижняя замыкательная пластина позвонка остается с диском; либо с диском, т.е. вместе с верхней замыкательной гиалиновой пластинкой позвонка S I, но крайне редко через середину диска.

Тело позвонка не имеет эпифиза, поэтому разделение и смещение вдоль ростковой зоны правильнее называть фizeолизом.

Интересные и важные исследования, подтверждающие гипотезу о фizeолизе как каузативном факторе диспластического спондилолистеза у детей и подростков, проведены группой ученых, возглавляемой K.S. Sairyo, выполнивших эксперименты *in vitro* [2, 12] и *in vivo* [3, 4, 17]. Т. Sakamaki и соавт. [4] сообщили результаты рентгенологического и гистологического исследований позвоночных сегментов после экспериментального моделирования дестабилизации L V–L VI (ламинэктомия L V и билатеральная фасетэктомия L V–L VI) у молодых крыс (возраст 4 недели) и у взрослых (возраст 26 недель). Спустя 1–3 недели после операции у молодых крыс рентгенологически выявили антелистез L V–L VI в среднем на 7,2%, а у взрослых смещения не было (0%). У молодых крыс выявлено ремоделирование переднекраниальной части тела L VI, напоминающее куполообразную деформацию проксимальной поверхности крестца у детей и подростков с развивающимся диспластическим спондилолистезом. Поясничный индекс с 91,7% сразу после операции уменьшился до 74% спустя 3 недели.

У взрослых крыс смещения кпереди L V и ремоделирования тела L VI не обнаружено. Гистологически через 3 недели у молодых крыс выявлены признаки стрессового отделения ростковой пластины от тел позвонков, а у взрослых отделения хрящевой пластины не было, но выявлены признаки дегенерации диска L V–L VI. Эта же группа исследователей позже доказала, что фizeолиз и ан-

телистез L V позвонка происходит еще до начала дегенеративных изменений дисков, т.е. дегенерация последних не обязательна для формирования спондилолистеза [3]. В условиях моделирования спондилолистеза у молодых крыс введение ингибитора циклооксигеназы-2 (этодолак), существенно задерживающего процесс сращения костей, значительно увеличивается величина смещения до III степени, по сравнению с контрольной группой подопытных животных (смещение I–II степени). Авторы пришли к выводу, что основным детерминантом прогрессирования спондилолистеза у детей и подростков служит снижение активности костного сращения.

Деформации ПДС при моделировании спондилолистеза у крыс (вентролистез, антефлексия, ремоделирование вентрокраниального угла тела нижележащего позвонка) почти такие же, как у человека при диспластическом спондилолистезе L V (антелистез, антефлексия, ремоделирование передневерхнего угла тела S I) и как при дегенеративном спондилолистезе (ремоделирование суставных фасеток) [18].

Результаты экспериментального моделирования спондилолистеза позволяют сделать ряд важных выводов:

1. Моделирование спондилолистеза запатентованным способом вызвало антелистез у большинства животных (79,7%).
2. У 14 (20,3%) половозрелых крыс антелистез не состоялся, т.к. моделирование дегенеративного процесса в МПД привело к быстрой рестаблизации ПДС из-за уменьшения высоты диска почти до полного фиброза и образования остеофитов тел позвонков.
3. У крыс относительно молодого возраста (3 мес) экспериментальное моделирование спондилолистеза состоялось в течение первых двух недель, достигая величины антелистеза от 80 до 100% от конечного смещения при выведении из эксперимента через 3 мес. Дополнительное увеличение антелистеза состоялось в среднем на 9,7%.
4. Ремоделирование краниоventрального угла тела позвонка L VII более выражено у животных молодого возраста по сравнению со старыми.

Литература

1. Lesions of the lumbar posterior end-plate in children and adolescents. A MRI study / T. Ikata, T. Morita, S. Katoh et al. // J. Bone Joint Surg. — 1995. — Vol. 77-B. — P. 951–955.
2. The pathomechanism of isthmic lumbar spondylolisthesis. A biomechanical study of immature calf spines / K. Sairyo, V.K. Coel, L.J. Grobler et al. // Spine. — 1998. — Vol. 23, № 13. — P. 1442–1446.
3. Vertebral forward slippage in immature lumbar spine occurs

- following epiphyseal separation and its occurrence is unrelated to disk degeneration in the pediatric spondylolisthesis a physis stress fracture of vertebral body? / K. Sairyo, S. Katoh, T. Sakamaki et al. // *Spine*. — 2004. — Vol. 29. — P. 524–527.
4. The pathogenesis of slippage and deformity in the pediatric lumbar spine A radiographic and histological study using a new rat in vivo model / T. Sakamaki, K. Sairyo, S. Katoh et al. // *Spine*. — 2003. — Vol. 28, № 7. — P. 645–651.
 5. Пат. 50829 У Україна, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання спондилолістезу в експерименті / Продан О.І., Куценко В.О., Іванов Г.В. (UA); заявник та патентовласник ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка АМН України». — № u200913427; заявл. 23.12.2009; опубл. 25.06.2010, Бюл. № 12.
 6. European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe. 18.03.1986. — Strasbourg, 1986. — 52 p.
 7. DeWald R.L. Severe spondylolisthesis — introduction / R.L. DeWald // *Severe spondylolisthesis: Pathology, Diagnosis, Therapy* / Harms J., Sturs H. — Springer, 2003. — P. 1–13.
 8. Harms J. Spondyloptosis and sagittal profile / J. Harms // *Severe spondylolisthesis: Pathology, Diagnosis, Therapy* / Harms J., Sturs H. — Steinkopff-Darmstadt, 2003. — P. 107–129.
 9. McKinley L.M. The mechanics of severe spondylolisthesis / L.M. McKinley // *Severe spondylolisthesis: Pathology, Diagnosis, Therapy* / Harms J., Sturs H. — Springer, 2003. — P. 75–91.
 10. Oxland T.R. Biomechanics of the L V–S I junction and the effect of spondylolisthesis and spondyloptosis / T.R. Oxland // *Severe spondylolisthesis: Pathology, Diagnosis, Therapy* / Harms J., Sturs H. — Springer, 2003. — P. 53–67.
 11. Osterman K. Experimental lumbar spondylolisthesis in growing rabbits / K. Osterman, H. Osterman // *Clin. Orthop.* — 1996. — Vol. 332. — P. 274–280.
 12. The pathomechanism of spondylolitic spondylolisthesis in immature primate lumbar spines in vitro and finite element assessments / R.J. Konx, V.K. Goel, L.J. Grobber et al. // *Spine*. — 2001. — Vol. 26, № 4. — P. 38–49.
 13. Farfan H.F. The mechanical etiology of spondylolysis and spondylolisthesis / H.F. Farfan, V. Osteria, C. Lamy // *Clin. Orthop.* — 1976. — Vol. 117, № 1. — P. 40–55.
 14. Информативность дискографии при спондилолістезе по данным патоморфологических исследований / Н.И. Хвисьюк, В.В. Фендриков, М.И. Завеля, Н.Н. Сак // *Ортопед. травматол.* — 1978. — № 11. — С. 18–24.
 15. Pathomechanism of sport-related spondylolisthesis in adolescents: Radiographic and magnetic resonance imaging study / T. Ikata, R. Miyake, S. Katoh et al. // *Am. J. Sports Med.* — 1996. — Vol. 24. — P. 94–98.
 16. Фендриков В.В. Обоснование и клиничко-биомеханическая оценка открытого вправления позвонков при спондилолістезе: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.21 / В.В. Фендриков. — Харьков, 1979. — 23 с.
 17. High grade slippage of the lumbar spine in a rat model of spondylolisthesis: Effects of cyclooxygenase-2 inhibitor on its deformity / S. Komatsubara, K. Sairyo, S. Katoh et al. // *Spine*. — 2006. — Vol. 31. — P. E528–E534.
 18. Куценко В.А. Поясничный спондилолістез (патогенез, диагностика, прогнозирование и лечение): дис. ... докт. мед. наук / В.А. Куценко. — Харьков, 2009. — 555 с.