

Фундаментальні дослідження

УДК: 616.711.-089.22:599.323.4

ОБОСНОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ МЕЖТЕЛОВОГО СПОНДИЛОДЕЗА У КРЫС

Д. Е. Петренко, Г. В. Иванов, А. А. Мезенцев

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

Целью данного исследования явилась разработка и оценка хирургической методики инструментального моделирования межтелового спондилодеза у крыс. Для проведения исследования было отобрано 18 лабораторных крыс, которые были разделены на 2 группы. В первой группе межтеловой спондилодез моделировали в поясничном отделе позвоночника, а во второй группе — в хвостовом отделе позвоночника. Экспериментальное моделирование вентрального спондилодеза в поясничном отделе позвоночника привело к смертельному исходу у всех оперированных животных. Инструментальный межтеловой спондилодез хвостового отдела позвоночника у крыс обеспечивает стабильность фиксации позвоночника на протяжении 4 недель после хирургического вмешательства.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экспериментальное моделирование, межтеловой спондилодез, инструментальный спондилодез

ОБҐРУНТУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ МІЖТІЛОВОГО СПОНДИЛОДЕЗУ У ЩУРІВ

Д. Є. Петренко, Г. В. Іванов, А. О. Мезенцев

ДУ «Інститут патології хребта та суглобів імені проф. М. І. Ситенка НАМН України», м. Харків,
Україна

Метою даного дослідження є розробка та оцінка хірургічної тактики інструментального моделювання міжтілового спонділодезу у щурів. Для проведення було відібрано 18 лабораторних щурів, які були поділені на 2 групи. В першій групі міжтіловий спонділодез моделювали в поперековому відділі хребта, а в другій - у хвостовому відділі хребта. Експериментальне моделювання вентрального спонділодезу в поперековому відділі хребта призвело до смерті всіх прооперованих тварин. Інструментальний спонділодез хвостового відділу хребта забезпечив стабільність фіксації на протязі 4 тижнів після хірургічного втручання.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальне моделювання, міжтіловий спонділодез, інструментальний спонділодез

VALIDATION OF THE EXPERIMENTAL MODEL FOR INTERBODY BONE FUSION IN RATS

D. E. Petrenko, G. V. Ivanov, A. A. Mezentsev

State Institution «Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine

Purpose of this study is to develop and to assess surgical tactic of the instrumented interbody fusion modeling. 18 rats were selected and divided into two groups. In the first group anterior interbody fusion of the lumbar spine was performed and in the second group tail was instrumented. Experimental modeling of the lumbar spine results in death in all operated animals. Instrumented interbody fusion of the tail provides stable fixation during 4 weeks after surgery.

KEY WORDS: experimental modeling, interbody fusion, instrumented spinal fusion

Экспериментальное моделирование спондилодеза у животных — необходимый этап изучения и разработки новых методов хирургических вмешательств на позвоночнике. Именно моделирование в период предклинической апробации метода хирургического лечения позволяет многократно, в контролируемых условиях реализовать современные теоретические представления о спондилодезе [1].

Одной из актуальных задач вертебральной хирургии является изучение особенностей созревания костного блока при инструментальной вентральной коррекции сколиотической деформации позвоночника [2].

Существующие модели [1–9] не позволяют решить данную задачу в полной мере, так как большинство из выполненных экспериментальных исследований были направлены на изучение межтеловых имплантатов (эндопротезы, биоматериалы, аллотрансплантаты) в инструментальной фиксации позвоночника.

Цель работы — разработать экспериментальную модель межтелового спондилодеза у крыс, пригодную для исследования методик межтелового спондилодеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследования взяли 18 лабораторных крыс породы Вистар в возрасте 6–8 мес. В зависимости от методики хирургического вмешательства животных разделили на 2 группы. Согласно разработанным нами методикам, в первой группе (6 крыс) межтеловой инструментальной спондилодез моделировали в поясничном отделе позвоночника, а во второй группе (12 животных) — в хвостовом отделе позвоночника.

Уровень операций, выполненных в экспериментально-биологической клинике института, в полной мере соответствовал требованиям комиссии по биоэтике [10].

Методика операции в первой группе животных заключалась в следующем. В положении на спине после внутривенной инъекции анестетиков проводили разрез по срединной линии живота. Послойно рассекали мягкие ткани передней брюшной стенки, брюшину. Тонкий кишечник сдвигали краинально и визуализировали передние отделы поясничного позвоночника. Осуществляя гемостаз, по ходу операции рассекали предпозвоночную плевру, переднюю продольную связку и проводили резекцию межпозвоночного диска. Затем при помощи металлической пластины осуществляли фиксацию позвонков, смежных с удаленным диском. Рану послойно ушивали, предва-

рительно осуществив местную обработку антибиотиком.

Во второй группе животных хирургическое вмешательство проводили по следующей методике. После проведения внутривенного обезболивания, в положении животного на животе, проводили разрез кожи по срединной линии хвоста над планируемым уровнем спондилодеза. Послойно рассекали мягкие ткани, выделяли межпозвоночный диск и два прилежащих к нему тела позвонка. Тупым и острым путем удаляли фиброзное кольцо, пульпозное ядро межпозвоночного диска, а также замыкательные пластины. Смежные позвонки фиксировали при помощи металлической пластины. После аппликации антибактериального препарата рану послойно зашивали, осуществляя гемостаз по ходу.

В послеоперационном периоде наблюдали за общим состоянием животных и состоянием послеоперационных ран. По клиническим показаниям проводили перевязки и при необходимости вводили кардиотонические препараты.

Рентгенконтроль проводили непосредственно после хирургического вмешательства, а также через 2, 4 и 6 недель. Животных выводили из эксперимента посредством передозировки внутривенных наркотических препаратов по 4 особи в сроки 2, 4 и 6 недель после операции. Затем непосредственно в месте хирургического вмешательства исследовали положение и стабильность имплантата. Полученные данные фиксировали на фотокамеру и регистрировали в журнал наблюдений.

Критериями выбора методики экспериментального моделирования считали сохранение отсутствие зон остеолита в области винтов, сохранение стабильности имплантата, на протяжении 4 недель после хирургического вмешательства, определяемой рентгенологически и визуально при обследовании зоны операции после выведения из эксперимента, а также выживаемость животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первой группе животных во всех случаях удалось осуществить тотальную дискэктомию и установить металлическую пластину. Время проведения операции находилось в пределах 75–120 мин. Два животных пало во время операции в результате массивного кровотечения из ветвей брюшной аорты, одно животное не вышло из наркоза и три пали в течение первых суток после операции, несмотря на проводимую терапию.

Во второй группе животных не наблюдалось ни одного летального исхода. Продолжительность операции составляла 30–80 мин. В трех случаях было кровотечение из хвостовых сосудов, которое удалось успешно остановить. У всех крысы раны зажили первичным натяжением. Через 2 недели после инструментального спондилодеза при изучении рентгенограмм (рис. 1 и 2) и макропрепаратов ни у одного животного не обнаружено нестабильности имплантата,

зон остеолиза вокруг винтов на рентгенограммах не выявлено, при исследовании зоны хирургического вмешательства непосредственно после выведения животных из эксперимента пластины были стабильными. Через 4 недели после хирургического вмешательства конструкции оставались стабильными, что было подтверждено как рентгенологически (рис. 3), так и при непосредственном изучении зоны фиксации тел позвонков (рис. 4).

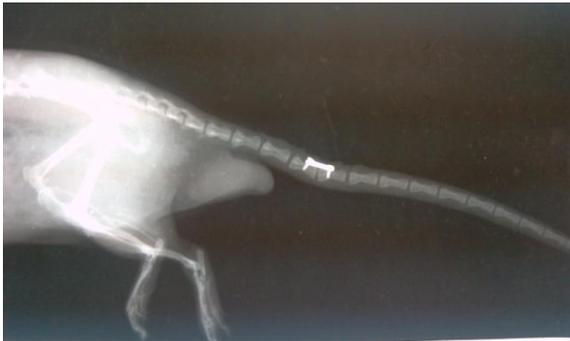


Рис. 1. Фотоотпечаток рентгенограммы хвостового отдела позвоночника у крысы после хирургического вмешательства

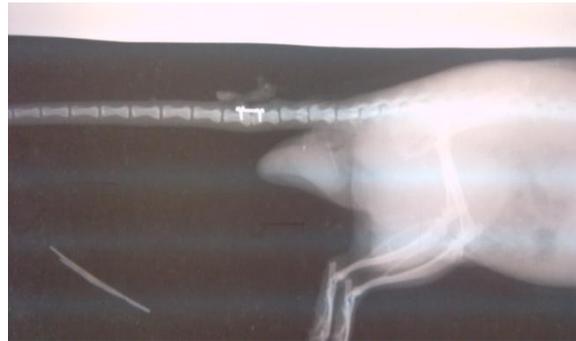


Рис. 2. Фотоотпечаток рентгенограммы хвостового отдела позвоночника у крысы через 2 недели после хирургического вмешательства



Рис. 3. Фотоотпечаток рентгенограммы хвостового отдела позвоночника у крысы через 4 недели после хирургического вмешательства



Рис. 4. Фотография фиксированной пластиной позвоночного сегмента после выведения животного из эксперимента через 4 недели после хирургического вмешательства

Через 6 недель после операции у двух животных была выявлена нестабильность имплантата (рис. 5), рентгенологически характеризующаяся наличием зон остеолиза вокруг фиксирующих винтов, смещением имплантата на рентгенограмме и при изучении зоны хирургического вмешательства. Еще у двух животных возникло нагноение мягких тканей в области разреза, что послужило причиной исключения их из эксперимента.

Большинство существующих на сегодня экспериментальных моделей межтелового спондилодеза предусматривают изучение особенностей формирования костного блока при использовании имплантатов различной

конструкции, биоматериалов обладающих остеоиндукционными свойствами, а также сравнительный анализ существующих методов применения имплантатов.

Так, Muschik M. с соавторами моделировали межтеловой спондилодез посредством введения морфогенетического протеина в межпозвонковые диски кроликам. Двадцать четыре животных были разделены на три группы. В первой и второй группе варьировали дозу введения препарата (100 и 150 мкг соответственно), а третья группа была контрольной. Животных исследовали рентгенологически и выводили из эксперимента через 3, 6 и 12 недель после операции.



Рис. 5. Фотоотпечаток рентгенограммы хвостового отдела позвоночника у крысы через 6 недель после хирургического вмешательства

В результате эксперимента было установлено, что в первой и во второй группе животных достигнут межтеловой спондилодез, при этом отмечалась прямая корреляционная связь между дозой введения и качеством созревания костного блока [3].

Li Haisheng и др. проводили экспериментальное изучение переднего поясничного спондилодеза у 12-ти голландских свиней. С этой целью животным в межтеловые промежутки в поясничном отделе позвоночника имплантировали кейджи. При этом в одной группе животных кейджи были заполнены аутокостью, а во второй группе — остеоиндуктивным коллагеновым протеином Colloss. Через 12 недель животных исследовали при помощи компьютерной томографии и выводили из эксперимента с последующим гистологическим исследованием. В результате данной работы было установлено, что использование как аутотрансплантата, так и Colloss в обеих группах животных привело к спондилодезу в 80 % случаев [4].

Sucato D. J., Hedequist D. et al. проводили моделирование вентрального спондилодеза у 22 свиней. Всем животным при помощи торакоскопии проводили вентральную инструментацию позвоночника а также дискэктомию на 5 уровнях. В случайном порядке свиньи были разделены на пять групп. В первой группе были контрольные животные, во второй группе в межтеловой промежуток укладывали ауторребро, в третьей — губчатый аутотрансплантат, взятый из крыла подвздошной кости, в четвертой — рекомбинантный человеческий морфогенетический протеин вместе с переносчиком в виде гидроксилалатит-трикальцийфосфатной керамики и в пятой группе — только керамику. Всех животных вывели из эксперимента через 4 месяца после операции. Качество спондилодезного блока верифицировали томографически и гистологически.

Дополнительно спондилодезированные участки позвоночника тестировали на стенде. Авторы работы установили, что наиболее качественный спондилодез был достигнут в четвертой группе животных, где использовался морфогенетический протеин [5].

Sidhu S. S. с соавторами проводили моделирование переднего спондилодеза шейного отдела позвоночника у овец. Восемь животных были разделены на две равные группы. В первой группе после передней дискэтомии в шейном отделе позвоночника устанавливали танталовый кейдж, а во второй группе танталовый кейдж заполненный морфогенетическим протеином. Через 12 недель животных выводили из эксперимента и рентгенологически и гистологически сравнивали качество спондилодеза. Было установлено, что во второй группе по сравнению с первой отмечается большее вращение костной ткани кейдж [6].

Группа ученых из Турции [7] осуществили передний межтеловой спондилодез и инструментальную фиксацию на уровнях L3-L4 и L4-L5 у двенадцати растущих свиней. После операции при помощи компьютерной томографии авторы работы изучали формирование позвоночного канала на спондилодезированных уровнях. В качестве контрольного замера был принят диаметр канала на вышележащих уровнях. В ходе работы выявлено, что вентральный спондилодез у растущих животных приводит к замедлению поперечного роста канала спинного мозга.

Elliott D. M. и Sarver J. J. проводили биомеханические исследования межпозвоночных дисков у крыс и мышей для сравнения полученных данных с механическими свойствами межпозвоночного диска человека с целью обоснования дальнейших экспериментальных исследований. Авторами было установлено, что биомеханические свойства

межпозвоночного диска у грызунов соответствуют таковым у человека. Это позволило сделать вывод о возможном использовании в экспериментальном моделировании хирургических вмешательств на позвоночнике крыс и мышей [8].

К аналогичному выводу пришел Espinoza Orías A. A. с соавторами, которые при помощи циклической нагрузки исследовали межпозвоночные сегменты в хвостовом отделе позвоночника у крыс [9].

В нашем исследовании в первой группе животных все хирургические вмешательства привели к летальному исходу, что было связано с высокой травматичностью манипуляций, длительным наркозом и кровопотерей и послужило причиной отказа от данной методики моделирования. Во второй группе животных проведение межтелового инструментального спондилодеза посредством дискэктомии и фиксации металлической пластиной позволило сохранить стабильность имплантата на протяжении 4 недель после операции. Расшатывание имплантата и инфицирование мягких тканей через 6 недель после операции было связано с длительностью фиксации, которая привела к негативным результатам.

Так как большинство хирургических вмешательств на передних отделах позвоночника при коррекции сколиотической дефор-

мации не предусматривают введение имплантатов в межтеловой промежуток, моделирование межтелового спондилодеза по предложенной нами методике позволяет достичь стабильной фиксации позвоночного сегмента, необходимого для экспериментального изучения спондилодезирующих операций на вентральных отделах позвоночника.

ВЫВОДЫ

1. Модель экспериментального воспроизведения инструментального вентрального межтелового спондилодеза у крыс в поясничном отделе позвоночника через трансперитонеальный доступ является высоко-травматичной манипуляцией, приводящей к смертельному исходу у всех оперированных животных.

2. Модель инструментального межтелового спондилодеза хвостового отдела позвоночника у крыс обеспечивает выживаемость животных, а также стабильность фиксации позвоночника на протяжении 4 недель после хирургического вмешательства.

Модель межтелового инструментального спондилодеза хвостового отдела позвоночника у крыс может быть использована для изучения и обоснования методик передней инструментальной фиксации позвоночника, применяемых при коррекции сколиотической деформации позвоночника.

ЛИТЕРАТУРА

1. Braun J. T. The use of animals models in fusionless scoliosis investigations / J. T. Braun, E. Akyuz, J. W. Olgilvie // *Spine*. — 2005 Sep 1. — № 30 (17 Suppl). — S. 35—35.
2. Kawakami N. Animal models of scoliosis / N. Kawakami, M. Deguchi, T. Kanemura // *Animals models in orthopaedic research*, Chapter 5. — 1999. — Vol. 30. — P. 549—564.
3. Muschik M. Experimental anterior spine fusion using bovine bone morphogenetic protein : a study in rabbits / [M. Muschik, D. Schlenzka, V. Ritsilä, C. Tennstedt] // *J Orthop Sci*. — 2000. — Vol. 5 (2). — P. 165—70.
4. Haisheng L. Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Enhances Anterior Spinal Fusion in a Thoracoscopically Instrumented Animal Model / [L. Haisheng, Z. Xuenong, C. Woo, D. Ming] // *Spine*. — 2005. — Vol. 30. — Iss. 8. — P. 890—896.
5. Sucato D. Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Enhances Anterior Spinal Fusion in a Thoracoscopically Instrumented Animal Model / [D. Sucato, D. Hedequist, H. Zhang, W. A. Pierce] // *JBJS*. — 2009. — Vol. 34. — Iss. 15. — P. E501—E506.
6. Sidhu K. S. Anterior cervical interbody fusion with rhBMP-2 and tantalum in a goat model / K. S. Sidhu, T. D. Prochnow, P. Schmitt, J. Fischgrund, S. Weisbrode, H. N. Herkowitz // *Spine*. — 2001. — № 1 (5). — P. 331—340.
7. Pekmezci M. The Effect of Anterior Spinal Fusion on Spinal Canal Development in an Immature Porcine Model / M. Pekmezci, G. Yilmaz, K. Daglioglu, M. Gulsen, A. Alanay // *Spine*. — 2009. — Vol. 34. — Iss. 15. — P. E501—E506.
8. Elliott D. M. Young investigator award winner : validation of the mouse and rat disc as mechanical models of the human lumbar disc / D. M. Elliott, J. J. Sarver // *Spine*. — 2004. — Vol. 29. — P. 713—722.
9. Espinoza Orías A. A. Rat disc torsional mechanics : effect of lumbar and caudal levels and axial compression load / A. A. Espinoza Orías, D. M. Elliott // *Spine*. — 2009. — Vol. 3. — P. 204—209.
10. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року : офіційний переклад [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. — (Міжнародний документ Ради Європи). — Режим доступу до ресурсу : http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137.