

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ**  
**ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України»**

**ГАФІЙЧУК ЮРІЙ ГРИГОРОВИЧ**

УДК 616-089.843:616.721.1-092.9

**ВПЛИВ АУТОГЕННОЇ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ  
КЛІТИН СТРУКТУР МІЖХРЕБЦЕВОГО ДИСКУ  
НА ПЕРЕБІГ ОСТЕОХОНДРОЗУ В УМОВАХ  
ЙОГО ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО  
МОДЕЛЮВАННЯ**

14.01.05 — нейрохірургія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

**Київ – 2014**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України».

### **Наукові керівники:**

доктор мед. наук **Хижняк Михайло Віталійович**, ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», завідувач відділення малоінвазивної і лазерної нейрохірургії з рентгеноопераційною;

доктор мед. наук **Григоровський Валерій Володимирович**, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», головний науковий співробітник відділу патоморфології з експериментально-біологічним відділенням.

### **Офіційні опоненти:**

доктор мед. наук, професор **Зорін Микола Олександрович**, ДЗ «Дніпропетровська державна медична академія МОЗ України», професор кафедри нервових хвороб та нейрохірургії ФПДО;

доктор мед. наук, професор **Данчин Олександр Георгійович**, Головний військово-клінічний госпіталь Міністерства оборони України, начальник клініки нейрохірургії та неврології.

Захист відбудеться «03» червня 2014 р. о 12<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.557.01 в ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» за адресою: 04050, м. Київ, вул. П. Майбороди, 32.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» (04050, м. Київ, вул. П. Майбороди, 32).

Автореферат розісланий «25» квітня 2014 р.

**Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
д.мед.н., с.н.с.**

**О.Є. Скобська**

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність дослідження.** Остеохондроз — одне з найбільш поширених захворювань, яке у загальній структурі захворюваності посідає друге місце. В Україні щороку з приводу остеохондрозу в лікувально-профілактичні заклади звертаються 900–950 тис. осіб. У країнах Західної Європи з приводу болю у поперековому відділі хребта (ПВХ) по медичну допомогу звертаються майже 80% дорослого населення; дегенеративні захворювання хребта є значущою медико-соціальною проблемою, супроводжуються суттєвими економічними витратами та високим рівнем інвалідизації (Kong M.H. et al., 2008; Richardson S.M. et al., 2006). Частота первинного встановлення інвалідності при остеохондрозі у хворих працездатного віку становить 15–17% в структурі загальної інвалідності (Зозуля Ю.А., Педаченко Є.Г., Слинько Є.І., 2006).

Однією з основних причин виникнення хронічного больового синдрому у попереково-крижовому відділі хребта є нейрокомпресійний синдром внаслідок дегенеративно-дистрофічного процесу у міжхребцевих дисках (МХД), що потребує тривалого комплексного лікування, яке, на жаль, на сьогоднішній день не є достатньо ефективним.

Таким чином, проблема дегенеративних змін хребта та їх наслідків є актуальною. Для їх лікування використовують різні оперативні мініінвазивні методи: хемонуклеоліз, дерцепцію МХД, мікродискектомію, черезшкірну пункційну нуклеотомію, вакуумекстракцію МХД, ендоскопічну моно- і біпортальну нуклеотомію, проте, використання даних методів лікування не забезпечує відновлення структури МХД, а лише сприяють стабілізації міжхребцевого сегменту (Maroon J.C., 2002).

Найсучасніші медичні технології спрямовані на відновлення функцій МХД. Відновити хрящ і фрагменти кістки намагалися шляхом алотрансплантації або використання синтетичних матеріалів (Oakes B.W., 2004). Сучасні технології спрямовані на використання біологічних матеріалів, проте, у реконструктивній клітинній терапії переважають експериментальні розробки, результати яких є неоднозначними.

Клітини МХД понад 10 років (пілотний проект програми EuroDiSC) (Meisel H.J. et al., 2007) використовують в експерименті на тваринах з метою вивчення оптимізації його структури та функції. Відзначені позитивні результати використання прямих внутрішньодискових ін'єкцій суміші матриксних компонентів (т.зв. розчин МХД) (Klein R.G. et al., 2003), імплантації аутогенних клітин драглистого ядра (ДЯ) (Pluijm S.M. et al., 2004; Takegami K. et al., 2005), фібро- та хондробластів (Horner H.A. et al., 2004; Noronen-Nietala N. et al., 2003), хондроцитів (Weiler C. et al., 2005). Деякі автори відзначали позитивний ефект застосування великих концентрацій культивованих мезенхімальних клітин (Костицька О.М. і співавт., 2010).

На сьогоднішній день для вивчення морфо- та патогенезу дегенеративних змін хребта розроблено велику кількість експериментальних моделей, на яких досліджували механізми виникнення остеохондрозу

(Alini M. et al., 2008; Gunzburg R. et al., 2002; Melrose J. et al., 2008). З урахуванням деяких анатомо-фізіологічних і біомеханічних відмінностей хребта людини і лабораторних тварин, при оцінці змін, отриманих за експериментальних умов, не можна не відзначити низку морфологічних особливостей виявлених порушень і видових особливостей дегенеративного змін хребта (Alini M. et al., 2008; Melrose J. et al., 2008).

Необхідність підвищення ефективності лікування дегенеративних змін хребта і розвиток нових клітинних технологій є актуальними і відкривають нові можливості обґрунтування відновної репарації МХД, що свідчить про соціально-економічну доцільність досліджень у цьому напрямку.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана в рамках планової НДР ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» «Розробити інноваційні біотехнології репарації міжхребцевих дисків після поперекових мікродискектомій та оцінити їх ефективність (експериментальне та клінічне дослідження)» за № держреєстрації 0113U000292 (2013–2015 рр.).

**Мета роботи:** дослідити ефективність аутогенної трансплантації клітин структур міжхребцевого диску на перебіг остеохондрозу в умовах його експериментального моделювання.

**Завдання дослідження.**

1. Удосконалити експериментальну модель відтворення дегенеративно-дистрофічного процесу хвостового відділу хребта у щурів.
2. Дослідити структурні особливості хвостового відділу хребта на моделі постійної та тимчасової асиметричної статичної компресії-дистензії.
3. Проаналізувати рівні експресії генів агрекану та колагену за постійної та тимчасової асиметричної статичної компресії-дистензії, а також за постійної та тимчасової асиметричної статичної компресії-дистензії в умовах трансплантації культивованих аутогенних клітин структур міжхребцевого диску.
4. Порівняти особливості морфологічних змін у групах тварин, у яких використовували та не використовували трансплантацію культивованих аутогенних клітин структур міжхребцевого диску, за тимчасової та постійної асиметричної статичної компресії-дистензії у різні терміни.
5. Обґрунтувати доцільність застосування аутогенної трансплантації клітин структур міжхребцевого диску при дегенеративно-дистрофічних захворюваннях хребта.

**Об'єкт дослідження** — міжхребцевий диск з модельованим дегенеративно-дистрофічним пошкодженням.

**Предмет дослідження** — аутогенна трансплантація клітин структур міжхребцевого диску.

**Методи дослідження.** Експериментальні методи застосовані для оцінки розвитку остеохондрозу (моделювання асиметричної статичної компресії-дистензії у хвостовому відділі хребта (ХВХ) щурів з подальшою аутогенною трансплантацією клітин структур МХД); комплексне морфологічне дослідження: топографо-анатомічні методи з

мікрохірургічним препаруванням патологічно змінених структур; гістологічні (загально оглядові, спеціальні) — для визначення структурних ушкоджень і змін будови МХД; молекулярно-генетичні методи (аналіз експресії генів (aggrecan-1) і колагену (collagen type II alpha 1); морфометричні методи — для об'єктивізації виявлених змін будови певних клітин і елементів; статистичні методи — для оцінки достовірності отриманих результатів.

Експерименти на тваринах проведені з дотриманням вимог біомедицини та згідно з правилами Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Удосконалено модель постійної та тимчасової асиметричної статичної компресії-дистензії (АСКД) з метою дослідження дегенеративних захворювань хребта та визначення можливості їх корекції за даними комплексних морфологічних і молекулярно-генетичних методів дослідження.

Досліджено характерні морфологічні особливості зміни структури міжхребцевого диску (МХД) в умовах експериментального моделювання остеохондрозу.

Доведено, що аутогенна трансплантація клітин структур МХД з використанням релаксації сприяє компенсаторно-відновним процесам репарації в дегенеративно-змінених МХД.

Вперше обґрунтовано гіпотезу можливого лікувального ефекту аутогенної трансплантації клітин структур МХД на перебіг остеохондрозу в умовах його експериментального моделювання.

Отримані дані сприяють розширенню уявлення про окремі ланки патогенезу дегенеративно-дистрофічних захворювань хребта.

**Практичне значення одержаних результатів.** Експериментально обґрунтовано метод лікування остеохондрозу на основі використання аутогенної трансплантації клітин структур МХД, що дозволяє підвищити ефективність лікування дегенеративних уражень хребта в експерименті та створює перспективу розробки нових клінічних, більш ефективних способів лікування цієї патології.

Запропоновано новий спосіб моделювання постійної та тимчасової статичної асиметричної компресії на міжхребцевих дисках у щурів (Патент України на корисну модель №71697 від 25.07.2012).

Розроблені методичні підходи впроваджені в практичну роботу лабораторії експериментальної нейрохірургії ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України».

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є власним науковим дослідженням автора. Сумісно з науковими керівниками: д.мед.н. Хижняком М.В. і д.мед.н. Григоровським В.В. сформульовані мета та основні завдання дослідження. Автор проаналізував наукову літературу за темою дисертації, розробив дизайн дослідження, провів патентно-інформаційний пошук.

Автор самостійно удосконалив експериментальну модель постійної та

тимчасової АСКД, виконав експериментальне дослідження.

Автор самостійно проаналізував і узагальнив отримані результати, виконав статистичну обробку даних, сформулював висновки і практичні рекомендації.

Усі розділи роботи написані і оформлені автором особисто.

Автор щиро вдячний за допомогу у виконанні досліджень співробітникам відділу нейробіохімії ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» під керівництвом к.б.н. Васильєвої І.Г.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертації оприлюднені на науково-практичній конференції нейрохірургів України за участю НДІ нейрохірургії ім. акад. М.Н. Бурденка РАМН «Проблеми реконструктивної та відновної нейрохірургії» (АР Крим, Партеніт 2010), науково-практичній конференції «Сучасні дослідження в ортопедії та травматології» (Харків, 2011), 14<sup>th</sup> European Congress of Neurosurgery (Rome, 2011), XVI з'їзді ортопедів-травматологів України (Харків, 2013).

Апробація дисертації відбулася на засіданні вченої ради ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» сумісно з кафедрами нейрохірургії Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця МОЗ України та Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика МОЗ України 29 березня 2013 р., протокол № 10/2.

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 12 робіт, у тому числі 7 статей, з них 4 — у фахових періодичних виданнях, рекомендованих МОН України, у т.ч. 4 публікації у виданнях, включених до міжнародної наукометричної бази, 2 — у виданнях іноземної держави, 1 патент України на корисну модель, 4 тези доповідей.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертація складається з вступу, огляду літератури, 5 розділів власних досліджень, підсумку, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних літературних джерел. Робота викладена на 174 сторінках машинописного тексту, ілюстрована 31 рисунком, містить 23 таблиці. Список використаних літературних джерел містить 164 посилань, з них 17 — кирилицею, 147 — латиною.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріал і методи досліджень.** Дисертаційне дослідження виконане на 122 білих лабораторних щурах-самцях лінії Wistar (масою тіла 250–300 г віком 5–6 міс), розведення віварію ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», яких утримували у стандартних умовах.

Тварини були розподілені на 5 груп експерименту та 9 серій.

I група (n=10) — інтактні тварини (група порівняння), у яких визначали рівень експресії генів *aggrecan-1* і *collagen type II alpha 1* — серія 1;

II група (n=47) — тварини, яким проводили постійну АСКД впродовж

3, 7, 14, 30 і 60 діб. Рівень експресії генів aggrecan-1 і collagen type II alpha 1 визначали на 30-ту та 60-ту добу після АСКД — відповідно серія 2 і 3;

III група (n=19) — тварини, яким проводили тимчасову АСКД впродовж 60 діб з подальшою релаксацією хвоста протягом 30 і 60 діб. Рівень експресії генів aggrecan-1 і collagen type II alpha 1 визначали на 30-ту та 60-ту добу після релаксації — відповідно серія 4 і 5;

IV група (n=26) — тварини, яким проводили тимчасову компресію ХВХ впродовж 60 діб з подальшою релаксацією та трансплантацією аутогенних клітин структур МХД на 30-ту та 60-ту добу. Рівень експресії генів aggrecan-1 і collagen type II alpha 1 визначали на 30-ту і 60-ту добу після аутогенної трансплантації клітин МХД — відповідно серія 6 і 7;

V група (n=20) — тварини, у яких використовували постійну компресію ХВХ впродовж 90 і 150 діб, трансплантація аутогенних клітин структур МХД здійснена відповідно на 30-ту і 60-ту добу. Рівень експресії генів aggrecan-1 і collagen type II alpha 1 досліджували на 60-ту та 90-ту добу після аутогенної трансплантації клітин структур МХД — відповідно серія 8 і 9.

В якості моделі дистрофічно-деструктивного процесу використана модифікована нами модель постійної та тимчасової АСКД ХВХ. Хірургічні втручання виконували під загальним знеболенням (внутрішньоочеревинне введення суміші розчину ксилазину (Sedazin, Biowet, Польща)) і кетаміну (Calypsol, Gedeon Richter) з розрахунку відповідно 15 і 70 мг/кг маси тіла тварини.

Рівень резекції хвоста визначали шляхом його згинання без додаткових зусиль та прикладання до поперекового відділу хребта (ПВХ) тварини на рівні LIV–LV — місця подальшої фіксації. На основу хвоста накладали тимчасову лігатуру з метою профілактики кровотечі, циркулярно розрізали шкіру хвоста на рівні СХІІІ–СХІV хребців, ще один розріз робили на 1 см проксимальніше. Ділянку шкіри між розрізами висікали. Резекцію 2/5 дистальної частини ХВХ здійснювали по МХД, який знаходився в центрі операційної рани. Потім розрізали шкіру на рівні LIV–LV хребців, тобто на 1,5 см проксимальніше остистих відростків останніх хребців ПВХ і формували підшкірний тоннель. На дистальний кінець ХВХ накладали фіксуєчу лігатуру Prolen (Jonson&Jonson, USA), якою захоплювали зв'язки та м'язи ПВХ, формуючи П-подібний шов. Таким чином, формували надійний вигин ХВХ, діаметр внутрішнього кільця якого становив 15–17 мм. Антибактеріальну терапію здійснювали шляхом одноразового введення біциліну-3 або біциліну-5.

Релаксацію ХВХ здійснювали під загальним знеболенням за описаною вище методикою — відсікали дистальний кінець хвоста від ПВХ. Рани у поперековому та дистальному відділах хребта зашивали вузловими швами лігатурою Prolen (Jonson&Jonson, USA). Аутогенні клітини структур МХД вводили в ділянку найбільшого вигину хвоста (2–3 МХД) за допомогою інсулінового шприца, місце ін'єкції вимірювали від основи хвоста за допомогою сантиметрової стрічки (у мм).

Аутогенні клітини структур МХД щурів культивували у стандартних

умовах (Фрешни Р., 1989); суміш для культивування містила середовище ІГЛА (фірма РАА, Австрія) з додаванням 5% ембріональної сироватки (фірма РАА, Австрія). Суспензію розливали в стерильні чашки Петрі з поліетиленіміновим покриттям (Janssen, Голандія), вміщували у інкубатор при температурі 37°C і концентрації CO<sub>2</sub> 5%. Після культивування впродовж 30 і 60 діб клітини відмивали від поживного середовища та готували суспензію для трансплантації. Кількість живих і мертвих клітин підраховували в камері Горяєва. Живих клітин у суспензії було 93–95%. Пункційним шляхом за допомогою інсулінового шприца в стерильних умовах здійснювали аутогенну трансплантацію клітин структур МХД в кількості 5×10<sup>6</sup> кл/мл, в об'ємі 8–10 мкл.

Для порівняння висоти МХД після трансплантації наприкінці дослідження використовували інтактних щурів такого саме віку і маси тіла.

Морфологічні дослідження проводили після виведення тварин з експерименту. В площині найбільшого вигину хвоста вирізали блоки (2–3 сегменти), які після фіксації обробляли за стандартними методиками. Серійні гістологічні зрізи товщиною 10 мкм (структури МХД — ДЯ та фіброзне кільце (ФК)) забарвлювали за оглядовими методиками. Гістологічні дослідження з фотореєстрацією проводили методом світлого поля та в поляризованому світлі на мікроскопі OLYMPUS CX-41 та МБС-2.

Молекулярні дослідження рівнів транскриптів мРНК aggrecan-1 і collagen type II alpha 1 проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). РНК виділяли стандартним методом (набір «Рибо-сорб», Amplisens, Росія). Для реакції зворотної транскрипції використовували набір «RevertAid<sup>tm</sup> First strand cDNA synthesis kit» (Fermentas, Литва). В якості позитивного контролю використали ген гліцерадегід-3-фосфат-дегідрогенази (GAPDH) згідно інструкції. ПЛР проводили з використанням ампліфікатора «Терцик» (ДНК технологія, Росія) та набору «Pcr-core» (GENPAQ, Росія). Рівні експресії гену COL II досліджували з використанням пар праймерів (Fermentas, Німечина): (for) 5'-ccactggagaggactgcgtag-3', (rev) 5'-ggctctgtgcaagtgattcgag-3' (продукт ампліфікації 275 п.н.) за програмою 60°C — 2 хв (1цикл), 95°C — 1 хв, 53°C — 40 с, 74°C — 1 хв (42 цикли), 74°C — 1 хв. Експресію гену aggrecan-1 досліджували за допомогою відповідної пари праймерів: (for) 5'-ccactggagaggactgcgtag-3', (rev) 5'-ggctctgtgcaagtgattcgag-3' (продукт ампліфікації 244 п.н.) за програмою 60°C — 2 хв (1 цикл), 95°C — 1 хв., 53°C — 40 с, 74°C — 1 хв (42 цикли), 74°C — 1 хв. Електрофорез проводили у 2% агарозному гелі з трисацетатним буфером. Візуалізація продуктів ампліфікації здійснена за допомогою трансилюмінатора УВТ-1 (Віокот, Росія) та комп'ютерної програми VitRan. Дані електрофореграм обробляли з урахуванням інтенсивності реакції ампліконів, перераховували на кількість клітин і виражали в ум.од.

Статистичний аналіз отриманих даних здійснений за допомогою пакету прикладних програм Statistica (StatSoft Inc., США), версія 6 (2001) та пакету електронних таблиць Excel 2003. Для з'ясування спрямованості виявлених статистично-вірогідних відмінностей розраховували ранговий коефіцієнт



кореляції для порівняння двох незалежних (незв'язаних) груп — метод Манна-Уїтні, критерій  $\chi^2$ , а також параметричний t-критерій Стьюдента. Відмінності між групами вважали статистично достовірними при  $P \leq 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** Модифікація моделі постійної та тимчасової АСКД дозволила нам оцінити ефективність впливу аутогенної трансплантації клітин структур МХД на структуру диску.

За даними гістологічного дослідження МХД у тварин групи порівняння відзначали симетричність тканинних компонентів; ДЯ мало округлу або овальну форму з ущільненим краєм, що відділяв його від ФК. Колагенові волокна симетрично обмежували зону ДЯ, формували чіткий перехід від щільних колагенових структур внутрішніх відділів ФК до відносно пухких. Колагенові волокна ФК з обох боків ДЯ розташовувалися майже симетрично, утворюючи хвилястість, яка містила фібро- та хондроцити. Ділянки ФК ближче до краю ДЯ були пухкими. З боку замикальних пластинок хребців ДЯ було обмежене тонким прошарком фіброзної тканини та волокнистим хрящем. ДЯ складалося з скупчень блідо-базофільної міжклітинної речовини, які складали 60–85% об'єму його порожнини і розподілені в ньому клітин. Структура ДЯ була однорідна, з поодинокими великими полігональними нотохордальними клітинами (НХК) з об'ємною вакуолізованою цитоплазмою, які утворювали солідні структури (скупчення клітин формували суцільну масу), трабекулярно-сітчасті (клітини розміщені у вигляді сітчастих тяжів), трабекулярно-острівцеві (крім сітчастих структур виявляли багато комплексів клітин у вигляді окремих острівцевих скупчень). У ДЯ виявляли еозинофільні глобулярні утворення, які були розцінені нами як некробіотично змінені НХК (1–2% загальної кількості НХК). Тіла хребців побудовані з губчастої кісткової тканини, по їх краях у кістково-мозкову порожнину проникають судини. Зони тіл хребців розподілені прошарками хрящової тканини різної товщини, в якій серед хрящового матриксу виявляли клітинні колонки та кластери хондроцитів. Тіла хребців побудовані з кісткової тканини, що утворює кортекс та спонгіозні зони, в кістково-мозкових проміжках якої міститься клітини кісткового мозку.

Постійна АСКД призводить до структурних змін хребців хвоста щурів, які є найбільш вираженими у МХД.

На 3-тю добу після АСКД відзначали асиметрію структур ФК, а також незначне зміщення ДЯ у бік дистензії ( $P_{(I-II)} < 0,001$ ) — ці зміни були мало вираженими. Між колагеновими волокнами ФК як на боці компресії, так і дистензії відзначали вогнища некрозу фіброцитів і хондроцитів (ділянки які займали до 10% площі ФК в зрізі — за розміром вогнища некрозу вважали незначно вираженими, якщо вогнища некрозу перевищували 10% площі ФК в зрізі — вважали вираженими). На боці дистензії відзначали дрібні вогнища хондронекрозу (невиражене ураження), на боці компресії у більшості МХД спостерігали крупні хондронекрози (виражене ураження). На боці дистензії колагенові волокна розташовувалися паралельно, на боці компресії відзначали їх деформацію, розволоknення, дезорганізацію, які не сягали

максимального ступеня вираженості.

На 7-му добу постійної АСКД відзначали високий ступень зміщення та асиметрію ДЯ у 50% досліджених МХД ( $P_{(I-II)} < 0,1$ ). У ФК на 3-тю добу спостерігали розшарування колагенових волокон на боці компресії, виражені хондронекрози виявлені у 50% МХД ( $P_{(I-II)} < 0,1$ ). Вогнища хондронекрозу у ФК на боці компресії виявляли переважно у зовнішніх пластинах кільця. По краю вогнищу хондронекрозу клітини були збільшеними, округлими, з великими гіперхромними ядрами, також виявляли двоядерні проліферуючі хондроцити.

На 14-ту добу АСКД виражене зміщення ДЯ у бік дистензії спостерігали у 40% МХД ( $P_{(I-II)} < 0,1$ ). У ці терміни на боці дистензії хондронекрози у виявляли понад 20% МХД, на боці компресії — поширені вогнища некрозу відзначали у 75% МХД ( $P_{(I-II)} < 0,025$ ). У вогнищах хондронекрозу на боці дистензії відзначали неформлену щільну сполучну тканину, фокальну проліферацію хондробластів.

Через 30 і 60 діб від початку АСКД у МХД відзначали виражену асиметрію основних структурних компонентів: значне збільшення товщини ФК на боці дистензії та її зменшення — на боці компресії, масивні вогнища хондронекрозу на боці компресії ( $P_{(I-II)} < 0,01$ ), виражене зміщення ДЯ у бік дистензії ( $P_{(I-II)} < 0,025$ ). У ДЯ МХД виявляли поодинокі НХК, розміщені дифузно або вогнищево, у стані некробіозу.

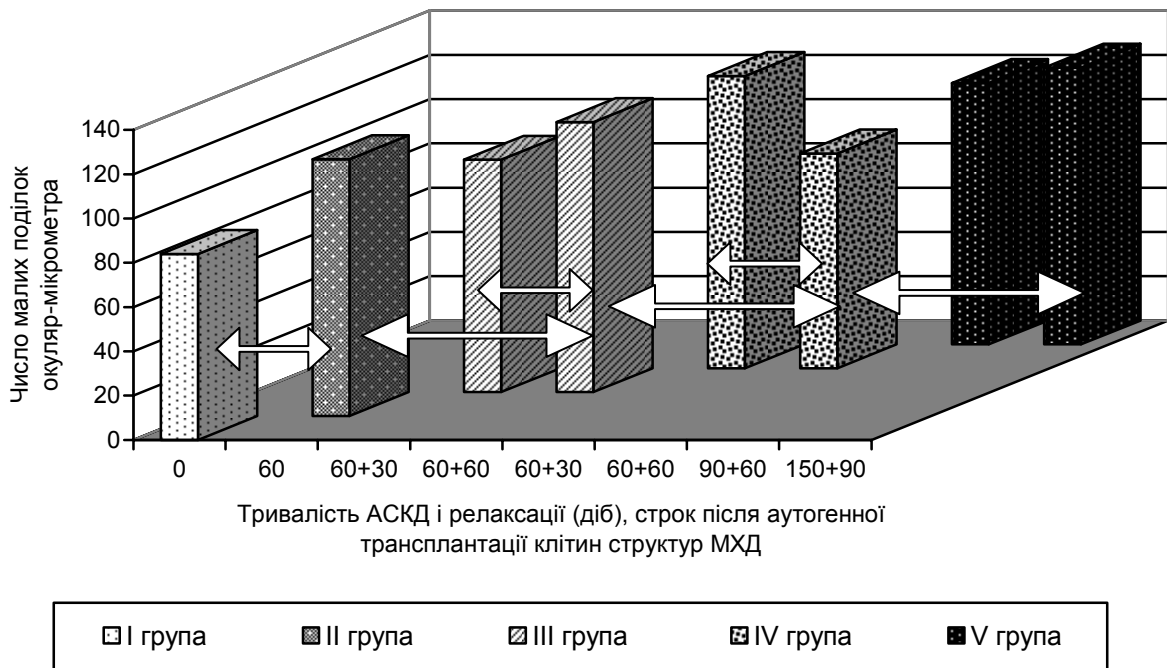
У сегментах ХВХ щурів, яким проводили тимчасову АСКД впродовж 60 діб з подальшою релаксацією протягом 30 діб за даними гістологічного дослідження виявлені: менш виражена асиметрія структур МХД, незначне зміщення ДЯ у бік дистензії ( $P_{(II-III)} < 0,01$ ), відновлення товщини ФК на боці компресії ( $P_{(II-III)} < 0,001$ ); проте, набагато частіше, ніж у кінцевому терміні спостереження після АСКД, спостерігали скупчення клітин ДЯ МХД у стані некробіозу (т.зв. «клітини-тіні») ( $P_{(II-III)} < 0,1$ ).

У сегментах ХВХ щурів, яким проводили тимчасову АСКД впродовж 60 діб з подальшою релаксацією протягом 60 діб відзначали збільшення товщини ФК на боці дистензії ( $P_{(II-III)} < 0,001$ ), відновлення товщини ФК на боці компресії ( $P_{(II-III)} < 0,001$ ), виражене зміщення ДЯ ( $P_{(III)} < 0,1$ ). Некротизованих клітин у МХД було менше порівняно з попередньою групою ( $P_{(II-III)} < 0,1$ ), але майже стільки як і за постійної АСКД впродовж 60 діб. Отже, вираженість змін корелювала з зоною компресії, її тривалістю та тривалістю релаксації.

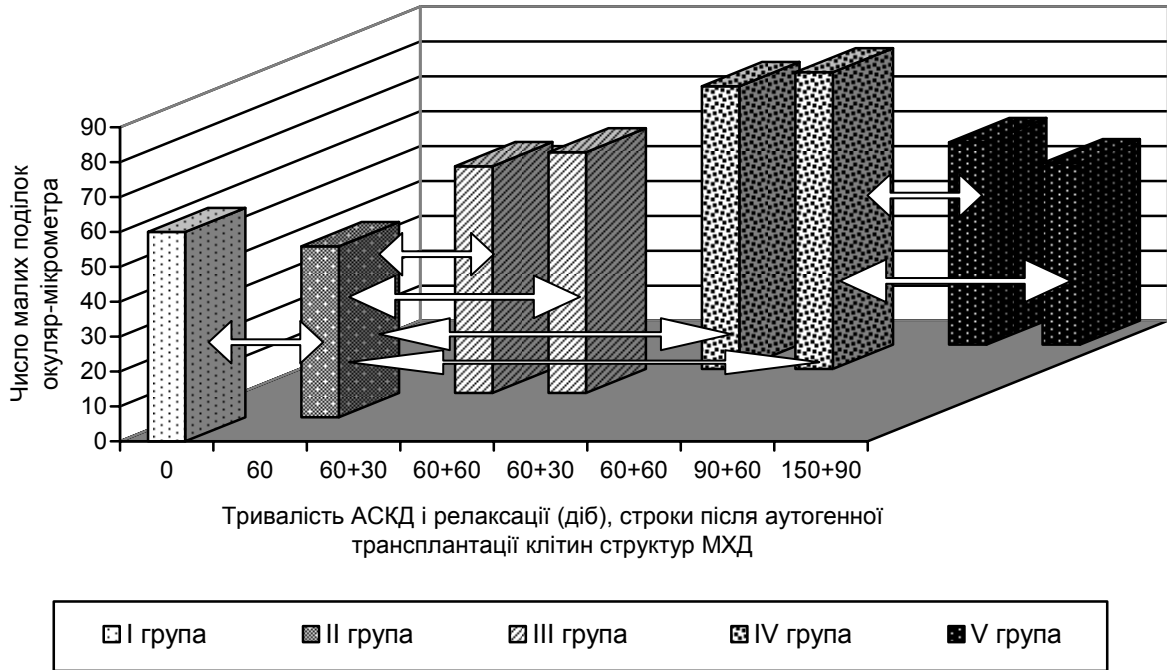
Проведений порівняльний аналіз результатів аутогенної трансплантації клітин структур МХД у різних підгрупах з урахуванням морфометричних кількісних та якісних показників: товщини ФК на боці дистензії та компресії, розмірів вогнищ хондронекрозу у ФК на боці дистензії та компресії, змін структури колагенових волокон ФК на боці дистензії, зміщення ДЯ у бік дистензії, загальної кількості клітин ДЯ, частки некробіотично змінених НХК у ДЯ, товщини кісткової пластинки на боці компресії та дистензії, товщини покривного хряща на боці компресії та дистензії.

Товщина ФК на боці дистензії після АСКД та релаксації продовжувала

збільшуватись і на 60-ту добу релаксації була достовірно більшою, ніж за тривалої постійної компресії; у тварин, яким проводили аутогенну трансплантацію клітин структур МХД товщина ФК достовірно зменшувалася ( $P_{(I-II)} < 0,025$ ). За тривалої постійної АСКД з аутогенною трансплантацією клітин структур МХД товщина ФК була збільшеною (рис. 1). Товщина ФК на боці компресії після АСКД та релаксації продовжувала відновлюватись, у тварин, яким проводили аутогенну трансплантацію клітин структур МХД відновлення було найбільш активним: збільшувалась кількість хондробластів, зменшувалася площа некрозів. В тривалі терміни – товщина ФК була достовірно меншою ( $P \leq 0,05$ ) (рис. 2).



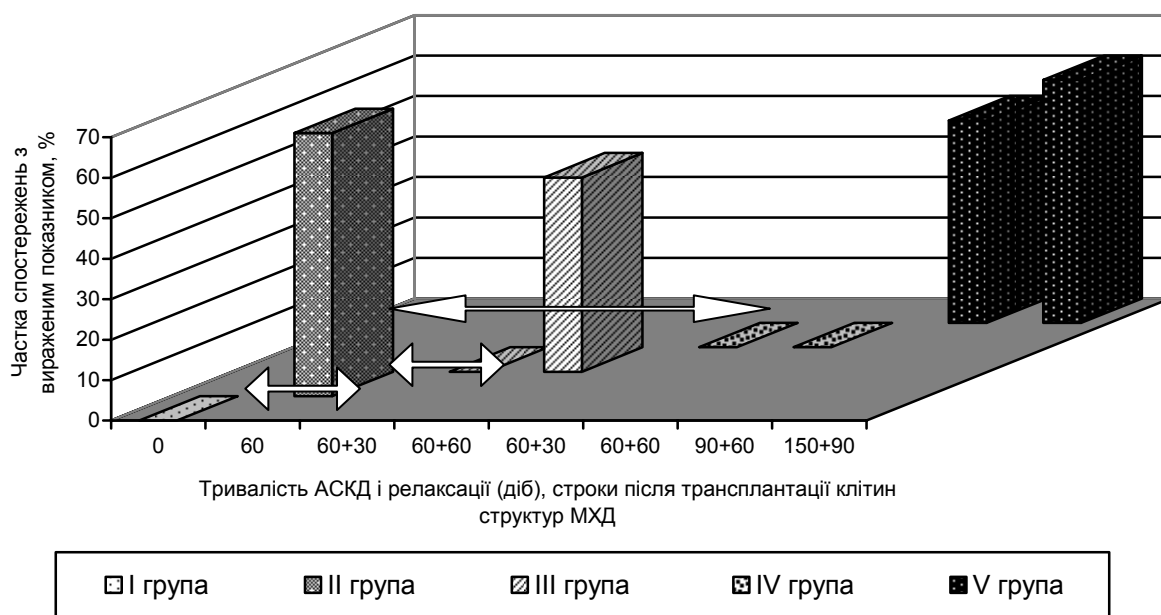
**Рис. 1.** Графічне зображення показників товщини ФК на боці дистензії. I група — інтактні тварини; II група — постійна АСКД; III група — тимчасова АСКД і релаксація; IV група — тимчасова АСКД, релаксація та аутогенна трансплантація клітин структур МХД; V група — постійна АСКД і аутогенна трансплантація клітин структур МХД. Стрілки між стовпчиками середніх параметрів груп вказують на достовірність похибки ( $P \leq 0,05$ ).



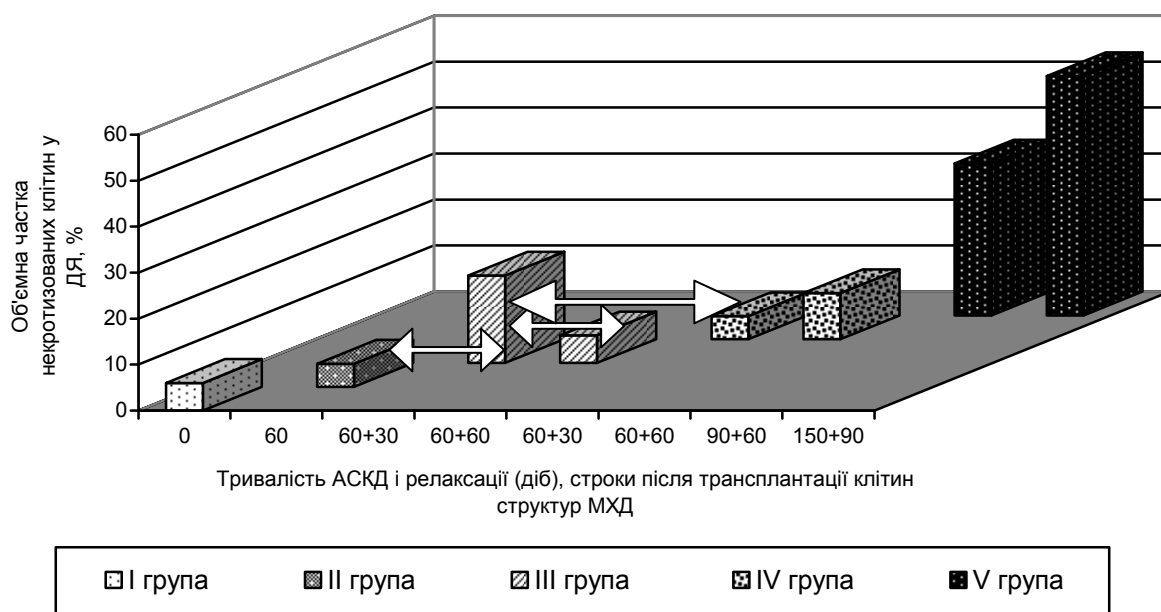
**Рис. 2.** Графічне зображення показників товщини ФК на боці компресії. I група — інтактні тварини; II група — постійна АСКД; III група — тимчасова АСКД і релаксація; IV група — тимчасова АСКД, релаксація та аутогенна трансплантація клітин структур МХД; V група — постійна АСКД і аутогенна трансплантація клітин структур МХД. Стрілки між стовпчиками середніх параметрів груп вказують на достовірність похибки ( $P \leq 0,05$ ).

Зміщення ДЯ у бік дистензії ФК було найбільш вираженим на 60-ту добу постійної АСКД, після релаксації впродовж 60 діб значне зміщення ДЯ зберігалось. Після аутогенної трансплантації клітин структур МХД у різні строки виражене зміщення ДЯ не виявлене. За тривалої АСКД зміщення ДЯ зберігалось, незважаючи на проведення аутогенної трансплантації клітин структур МХД (рис. 3).

Кількість некротизованих клітин ДЯ на 60-ту добу АСКД достовірно не збільшувалася, а після релаксації впродовж 30 діб — збільшувалася, 60 діб — зменшувалася. Після аутогенної трансплантації клітин структур МХД кількість дегенеративно змінених клітин ДЯ зменшувалася (рис. 4).



**Рис. 3.** Графічне зображення показників зміщення ДЯ у бік дистензії ФК. I група — інтактні тварини; II група — постійна АСКД; III група — тимчасова АСКД і релаксація; IV група — тимчасова АСКД, релаксація та аутогенна трансплантація клітин структур МХД; V група — постійна АСКД і аутогенна трансплантація клітин структур МХД. Стрілки між стовпчиками середніх параметрів груп вказують на достовірність похибки ( $P \leq 0,05$ ).



**Рис. 4.** Графічне зображення показників кількості клітин у зоні некробіозу у зоні ДЯ. I група — інтактні тварини; II група — постійна АСКД; III група — тимчасова АСКД і релаксація; IV група — тимчасова АСКД, релаксація та аутогенна трансплантація клітин структур МХД; V група — постійна АСКД і аутогенна трансплантація клітин структур МХД. Стрілки між стовпчиками середніх параметрів груп вказують на достовірність похибки ( $P \leq 0,05$ ).

Рівень експресії гена *aggrecan-1* у тварин, яким проводили постійну АСКД впродовж 30 діб, достовірно знижувався відносно такого у групі порівняння ( $P_{\text{серії 1-2}} < 0,05$ ). За постійної АСКД впродовж 60 діб зниження рівня транскриптів мРНК *aggrecan-1* було ще більш значним ( $P_{\text{серії 2-3}} < 0,01$ ). У групі тимчасової АСКД впродовж 60 діб з подальшою релаксацією протягом 30 діб відзначене підвищення рівня активності транскриптів відносно таких у групі тимчасової АСКД з релаксацією та подальшою трансплантацією клітин структур МХД ( $P_{\text{серії 3-4}} < 0,02$ ). Релаксацію хвоста протягом 60 діб після тимчасової АСКД впродовж 60 діб суттєво не повпливала на рівень активності транскриптів мРНК гену *aggrecan-1*.

Після введення тваринам аутогенних клітин структур МХД після АСКД впродовж 60 діб і релаксації тривалістю 30 діб відзначали відновлення рівня активності транскриптів мРНК гену *aggrecan-1* до такого у контролі. Також дані значення були достовірно більшими за відповідні у групі тварин, яким не трансплантували аутогенні клітини структур МХД ( $P_{\text{серії 4-6}} < 0,05$ ). У тварин, яким проводили тимчасову АСКД впродовж 60 діб, але за більш тривалого спостереження після трансплантації клітин структур МХД (через 60 діб) також виявлений високий рівень експресії гену *aggrecan-1*, який перевищував аналогічний показник у групі шурів, яким трансплантацію не проводили ( $P_{\text{серії 5-7}} < 0,1 > 0,05$ ).

Таким чином, отримані результати свідчать про вплив аутогенних клітин структур МХД на активність синтезу агрекану за умови проведення релаксації; за постійної компресії (впродовж 90 і 150 діб) без релаксації активність експресії гену *aggrecan-1* була низькою, аналогічно такою у групах тварин з постійною АСКД (протягом 30 і 90 діб). Рівень експресії мРНК був достовірно нижчим, ніж у групах тварин, яким проводили трансплантацію аутогенних клітин структур МХД ( $P_{\text{серії 6-8}} < 0,01$ ).

Отримані результати є свідченням активації процесів відновлення після припинення АСКД, покращення трофіки клітин ДЯ, що супроводжувалося збільшенням експресії гену *aggrecan-1* майже на 23% відносно такого у контролі. Значно більше на рівень експресії цього гену впливає аутогенна трансплантація клітин структур МХД на фоні релаксації та після припинення АСКД. Отримані нами результати свідчать про те, що введення в зону ДЯ аутогенних клітин структур МХД сприяє продукції агрекану, який має велике значення для підтримання гідратації ДЯ МХД.

Визначення рівнів експресії гену collagen type II alpha 1 показало, що у тварин, яким проводили постійну АСКД впродовж 60 діб, рівень ампліконів знижувався в 1,8 рази відносно такого у інтактних тварин ( $P_{\text{серії 1-2}} < 0,05$ ). За умов постійної АСКД впродовж 30 діб також відзначали зниження рівня експресії гену collagen type II alpha 1. Зниження рівня експресії гену collagen type II alpha 1 було більш вираженим за більш тривалої (60 діб) компресії. У групі тварин з тимчасовою АСКД впродовж 30 діб з подальшою релаксацією протягом 30 діб відзначали відновлення рівня експресії гену collagen type II alpha 1 до контрольного значення ( $P_{\text{серії 3-4}} < 0,02$ ). За умов тимчасової АСКД впродовж 60 діб з подальшою релаксацією протягом 60 діб рівень ампліконів

мРНК гену collagen type II alpha 1 був вищим, ніж у контролі, проте, різниця показників була недостовірною ( $P_{(серії\ 3-5)} \leq 0,1$ ).

У тварин за тимчасової АСКД впродовж 30 діб, яким після релаксації ВХХ у зону ДЯ МХД вводили культивовані протягом 30 діб аутогенні клітини структур МХД, спостерігали значне збільшення рівня експресії гену collagen type II alpha 1 порівняно з таким у контролі ( $P_{(серії\ 5-6, 4-6)} < 0,05$ ). У тварин за тимчасової АСКД впродовж 60 діб з подальшою релаксацією та введенням культивованих протягом 60 діб аутогенних клітин структур МХД рівень експресії гену collagen type II alpha 1 був таким самим, як у інтактних щурів. Введення культивованих аутогенних клітин структур МХД за умов постійної АСКД впродовж 90 і 150 діб не впливало на рівень експресії гену, а рівень транскриптів мРНК гену collagen type II alpha 1 був таким самим, як і за постійної АСКД впродовж 30 і 60 діб.

На підставі отриманих даних можна припустити, що тривала компресія МХД (впродовж 60 діб) спричиняє порушення трофіки, внаслідок чого частково некротизуються клітини ДЯ, що в подальшому призводить до дегенерації МХД, а клітини, які залишились живими, продовжують синтезувати молекули агрекану та колагену. Ми вважаємо, що виявлене нами у відповідних групах тварин збільшення синтезу агрекану та колагену за рахунок трансплантованих в зону ДЯ культивованих аутогенних клітин структур МХД теоретично свідчить про покращення гідрофільності диску, тобто, про відновлення його структури. Релаксація покращує результати процесів відновлення за рахунок відновлення трофіки, про що свідчить збільшення рівнів активності ампліконів мРНК.

Ми дійшли висновку, що трансплантація аутогенних клітин структур МХД має позитивний, проте, неоднозначний ефект на відновні процеси у МХД, а релаксація підвищує загальну результативність відновлення за експериментального дегенеративного ураження МХД.

## ВИСНОВКИ

У дисертації представлене теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання нейрохірургії — експериментальне обґрунтування відновних процесів репарації міжхребцевого диску шляхом використання аутогенної трансплантації клітин структур міжхребцевого диску.

1. На сьогоднішній день існує багато методів лікування дегенеративних змін хребта, проте, всі вони спрямовані на усунення причини захворювання, а не на відновлення структури міжхребцевого диску та припинення його дегенерації, тому пошук нових підходів до лікування остеохондрозу залишається вельми актуальним.

2. Удосконалена та модифікована експериментальна модель постійної та тимчасової асиметричної статичної компресії-дистензії, яка за даними морфологічного дослідження структур міжхребцевого диску, є

адекватною для динамічного дослідження дегенеративних захворювань хребта та визначення можливості їх корекції.

3. В експериментальній моделі остеохондроз проявляється формуванням характерних структурних змін: збільшенням товщини фіброзного кільця на боці дистензії, її зменшенням — на боці компресії, зміщенням драглистого ядра у бік дистензії, некрозами фіброзного кільця, розтягненням та дезорганізацією його колагенових волокон, збільшенням кількості некробіотично змінених клітин у драглистому ядрі.

4. Аутогенна трансплантація клітин структур міжхребцевого диску з використанням релаксації активізує компенсаторно-відновні процеси дегенеративно змінених міжхребцевих дисків, що проявляється відновленням товщини фіброзного кільця на боці дистензії та зменшенням середньої кількості некробіотично змінених клітин у диску.

5. При аутогенній трансплантації клітин структур міжхребцевого диску з використанням релаксації впродовж 30 і 60 діб виявлено збільшення експресії гену *aggrecan-1* відповідно на 20 і 40%, збільшення експресії гену *collagen type II alpha 1*.

6. При аутогенній трансплантації клітин структур міжхребцевого диску в умовах постійної АСКД впродовж 30 і 60 діб експресія генів *aggrecan-1* і *collagen type II alpha 1* не змінюється.

7. Тимчасова АСКД, за показниками активності генів *aggrecan-1* і *collagen type II alpha 1*, забезпечує умови репаративної регенерації та сприяє активації синтетичних і трофічних процесів у міжхребцевому диску.

## **ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. Запропоновано спосіб моделювання статичної асиметричної компресії на міжхребцеві диски у щурів (патент України на корисну модель №71697 від 25.07.2012), що є адекватним для подальшого дослідження результатів лікування дегенеративно-деструктивних змін міжхребцевого диску.

2. Подальша розробка методів лікування дегенеративних уражень хребта шляхом використання аутогенної трансплантації клітин структур міжхребцевого диску створює перспективу застосування методу у клінічній практиці при лікуванні означеної патології.



## СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Дегенерация межпозвонковых дисков и методы ее биологической коррекции / И.Г. Васильева, М.В. Хижняк, И.Н. Шуба, Ю.Г. Гафийчук // Укр. нейрохірург. журн. — 2010. — № 1. — С.16–22.

(Особистий внесок дисертанта полягає у проведенні інформаційно-патентного пошуку, аналізі літературних джерел, узагальненні даних щодо біологічної корекції дегенерації міжхребцевих дисків і можливості їх клінічного використання).

2. Патоморфологические изменения межпозвонковых дисков и тел позвонков хвоста крыс при асимметричной статической компрессии – дистензии в эксперименте / В.В. Григоровский, М.В. Хижняк, И.Г. Васильева [и др.] // Укр. нейрохірург. журн. — 2011. — №3. — С.59–64.

(Особистий внесок дисертанта полягає у виконанні експерименту, аналізі результатів гістологічного дослідження міжхребцевих дисків).

3. Хижняк М.В. Экспериментальная модель дегенерации межхребцевых дисков хвостового отдела у шурив / М.В. Хижняк, В.В. Григоровський, Ю.Г. Гафийчук // Укр. нейрохірург. журн. — 2012. — №2. — С.58–61.

(Особистий внесок дисертанта полягає в моделюванні та удосконаленні моделі остеохондрозу у шурив, аналізі результатів гістологічного дослідження міжхребцевих дисків).

4. Васильева І.Г. Экспрессия генов aggrecan-1 та COL II при аутоотрансплантации хондробластов в міжхребцеві диски в експериментальній моделі остеохондрозу / І.Г. Васильева, Ю.Г. Гафийчук, І.М. Шуба // Зб. наук. праць Укр. військ.-мед. академії «Проблеми військової охорони здоров'я». — К., 2012. — Т.2, вип.34. — С.425–431.

(Особистий внесок дисертанта полягає у виконанні експериментального дослідження, участі у біохімічному аналізі міжхребцевих дисків після трансплантації клітин у різні строки спостереження).

5. Григоровский В.В. Морфометрические показатели межпозвонковых дисков хвостового отдела позвонка крыс при моделировании постоянной и временной асимметричной компрессии–дистензии / В.В. Григоровский, М.В. Хижняк, Ю.Г. Гафийчук // Рос. нейрохірург. журн. им. А.Л. Поленова. — 2013. — №2. — С.10–18.

(Особистий внесок дисертанта полягає в моделюванні остеохондрозу в експерименті, аналізі результатів гістологічного дослідження).

6. 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 [и др.] // Укр. нейрохірург. журн. — 2013. — №2. — С.28–34.

(Особистий внесок дисертанта полягає у виконанні експерименту, аналізі результатів гістологічного дослідження міжхребцевих дисків).

7. Григоровский В.В. Морфологические изменения межпозвонковых дисков хвостового отдела позвоночника криси при постоянной и временной асимметричной компрессии – дистензии / В.В. Григоровский, М.В. Хижняк, Ю.Г. Гафийчук // Морфология. — 2013. — Т.144, №4. — С.65–71.

(Особистий внесок дисертанта полягає у виконанні експерименту, аналізі результатів гістологічного дослідження міжхребцевих дисків).

8. Пат. 71697 Україна, МПК G09B 23/28, A61B 17/00. Спосіб моделювання статичної асиметричної компресії на міжхребцеві диски у щурів / М.В. Хижняк, Ю.Г. Гафійчук; заявник і патентовласник ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України». — №u2001115512; заявл. 28.12.11; опубл. 25.07.12; Бюл. №14.

(Особистий внесок дисертанта полягає в проведенні інформаційно-патентного пошуку, створенні моделі остеохондрозу).

9. Експресія генів aggrecan-1 і COL II при аутогрансплантації хондробластів в міжхребцеві диски в умовах асиметричної компресії в експерименті / І.Г. Васильєва, М.В. Хижняк, І.М. Шуба [та ін.] // Укр. нейрохірург. журн. — 2010. — №3: Матеріали наук.-практ. конф. нейрохірургів України за участю НДІ нейрохірургії ім. акад. М.Н. Бурденка РАМН «Проблеми реконструктивної та відновної нейрохірургії» (АР Крим. Партеніт, 7–8 жовт. 2010 р.). — С.13.

(Особистий внесок автора полягає в моделюванні остеохондрозу у міжхребцевому диску щурів, трансплантації культивованих клітин, аналізі результатів молекулярно-біологічних методів дослідження).

10. Auttransplantation of chondroblasts into intervertebral discs condition of asymmetrical compression in experiment / I. Vasilyeva, S. Shuba, M. Khyzhnyak [et al.] // Materials of the EANS Congress (Rome, October 9–14, 2011).

(Особистий внесок автора полягає в моделюванні остеохондрозу у міжхребцевому диску щурів, трансплантації культивованих клітин, аналізі результатів гістологічного дослідження).

11. Патоморфологические изменения межпозвонковых дисков и тел позвонков хвоста крыс при асимметричной статичной компрессии-дистензии в эксперименте / В.В. Григоровский, М.В. Хижняк, И.Г. Васильева [и др.] // Матеріали наук.-практ. конф. «Сучасні дослідження в ортопедії та травматології» (Харків, 6 – 7 жовт., 2011 р.). — С.73–74.

(Особистий внесок автора полягає в моделюванні остеохондрозу у міжхребцевому диску щурів, трансплантації культивованих клітин, аналізі результатів дослідження).

12. Григоровский В.В. Морфометрические показатели межпозвонковых дисков хвостового отдела позвоночника крыс при моделировании постоянной и временной асимметричной статичной компрессии-дистензии / В.В. Григоровский, М.В. Хижняк, Ю.Г. Гафийчук //

Зб. наук. праць XVI з'їзду ортопедів-травматологів України (Харків, 3–5 жовт., 2013 р.). — 2013. — С.123–124.

(Особистий внесок автора полягає в моделюванні остеохондрозу у міжхребцевому диску щурів, аналізі результатів дослідження).

### АНОТАЦІЯ

**Гафійчук Ю.Г.** Вплив аутогенної трансплантації клітин структур міжхребцевого диску на перебіг остеохондрозу в умовах його експериментального моделювання. — Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук зі спеціальності 14.01.05 — нейрохірургія. — ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України», Київ, 2014.

Дисертація присвячена питанням відновної корекції дегенеративного захворювання хребта — остеохондрозу в експерименті. Експериментальне дослідження виконане на 122 лабораторних щурах-самцях лінії Wistar масою тіла 280–300 г віком 5–6 міс, у яких моделювали постійну та тимчасову (різної тривалості) асиметричну статичну компресію-дистензію хвостового відділу хребта та здійснювали модифіковану нами релаксацію різної тривалості з подальшою аутогенною трансплантацією клітин структур міжхребцевого диску (МХД). Досліджений та доведений позитивний вплив релаксації та аутогенної трансплантації клітин структур МХД на репаративні процеси у диску у щурів. За рівнями експресії активності генів *aggrecan-1* і *collagen type II alpha 1* встановлено, що аутогенні трансплантати мають трофічно-регенераторну дію, їх доцільно використовувати в оптимізації репарації структур МХД. Асиметрична статична компресія-дистензія спричиняє дегенеративно-дистрофічні зміни МХД, а трансплантація клітин структур МХД за умов релаксації оптимізує регенерацію та дозволяє зупинити прогресування деструктивних змін дисків.

*Ключові слова:* остеохондроз, експеримент, структури міжхребцевого диску, аутогенна трансплантація культивованих клітин, регенерація.

### АННОТАЦИЯ

**Гафийчук Ю.Г.** Влияние аутогенной трансплантации клеток структур межпозвонкового диска на течение остеохондроза в условиях его экспериментального моделирования. — Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.05 — нейрохирургия. — ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины», Киев, 2014.

Нерешенность проблемы лечения дегенеративных изменений межпозвонкового диска (МПД), а также современные клеточные технологии открывают новые возможности исследований восстановления структурно-

функциональных свойств пораженных тканей. Экспериментальное исследование выполнено на 122 лабораторных крысах-самцах линии Wistar массой тела 280–300 г в возрасте 5–6 мес. В эксперименте моделировали постоянную и временную асимметричную статичную компрессию-дистензию (АСКД) хвостового отдела позвоночника крыс с последующей релаксацией и аутогенной трансплантацией клеток структур МПД. Аутологичные клетки выделяли из МПД резецированной части хвостового отдела позвоночника животных, их культивировали в стандартных условиях, а затем трансплантировали в дистрофически-деструктивно пораженные МПД хвоста этих же крыс. Животные распределены на несколько групп.

I группа (группа сравнения) — 10 интактных крыс, у которых определяли уровень экспрессии генов *aggrecan-1* и *collagen type II alpha 1* — серия 1.

II группа — 47 животных, которым проводили постоянную АСКД в течение 3, 7, 14, 30 и 60 сут. Уровень экспрессии генов *aggrecan-1* и *collagen type II alpha 1* определяли на 30-е и 60-е сут после АСКД — соответственно 2 и 3 серии.

III группа — 19 крыс, которым проводили временную АСКД в течение 60 сут с дальнейшей релаксацией хвоста до 3 и 60 сут. Уровень экспрессии генов *aggrecan-1* и *collagen type II alpha 1* определили на 30-е и 60-е сут после релаксации — соответственно 4 и 5 серии.

IV группа — 26 животных, которым проводили временную компрессию хвостового отдела позвоночника в течение 60 сут с дальнейшей релаксацией и имплантацией аутогенных клеток структур МПД на 30-е и 60-е сут. Уровень экспрессии генов *aggrecan-1* и *collagen type II alpha 1* определяли на 30-е и 60-е сут после аутогенной трансплантации клеток структур МПД, соответственно серии 6 и 7.

V группа — 20 крыс, у которых использовали постоянную компрессию хвостового отдела позвоночника в течение 90 и 150 сут, имплантация аутогенных клеток структур МПД осуществлена соответственно на 30-е и 60-е сут. Уровень экспрессии генов *aggrecan-1* и *collagen type II alpha 1* изучали на 60-е и 90-е сут после аутогенной трансплантации. В динамике изучали гистологические, молекулярно-биологические изменения структур МПД, морфометрические показатели, в т.ч. после имплантации культивированных аутогенных клеток структур МПД.

Установлено, что аутогенная трансплантация клеток структур МПД позитивно влияет на состояние его тканей: уменьшается степень их асимметрии на стороне компрессии и дистензии, сокращается число крупных очагов некроза фиброзного кольца и некротизированных клеток в студенистом ядре, повышается активность генов *aggrecan-1* и *collagen type II alpha 1*, способствующих репаративным процессам.

*Ключевые слова:* остеохондроз, эксперимент, структуры межпозвоночного диска, аутогенная трансплантация культивированных клеток, регенерация.

**SUMMARY**

**Gafiychuk Yu.G.** — The effect of autologous transplantation of cells of the intervertebral disc structures on osteochondrosis flow at it's experimental modeling. — The manuscript.

Thesis for maintaining of scientific degree of candidate of medical sciences on speciality 14.01.05 — neurosurgery. SI “Institute of neurosurgery named after acad. A.P. Romodanov NAMS Ukraine”, Kyiv, 2014.

The thesis deals with the renewing correction at spine degenerative disease (osteochondrosis) in experiment. The experimental study was performed on 122 laboratory male rats (Wistar) weighing 280–300 g, aged 5–6 months at whom permanent and temporary (of different lengths) asymmetric static compression-dystension of caudal spine was modeled and modified relaxation of varying duration was performed, followed by autologous transplantation of cell structures of the intervertebral disc (IVD). Researched and proven positive effects of relaxation and autogenous transplantation of cells of IVD structures on reparative processes in the disc of rats. Expression levels of aggrecan-1 and collagen type II alpha 1 showed that autografts make trophic-regenerative effects, they should be used to optimize repair of IVD structures. Asymmetric static compression-dystension causes degenerative-dystrophic IVD changes, autologous transplantation of cells of IVD structures under relaxation optimizes regeneration and stops progression of IVD destructive changes.

Key words: osteochondrosis, experiment, structure of intervertebral disc, autologous transplantation of cultured cell, regeneration.

**СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

АСКД	— асиметрична статична компресія-дистензія
ДЯ	— драглисте ядро
МХД	— міжхребцевий диск
НХК	— нотохордальні клітини
ПВХ	— поперековий відділ хребта
ФК	— фіброзне кільце
ХВХ	— хвостовий відділ хребта