

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. М. І. ПИРОГОВА

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Цюрупа Олександр Володимирович


УДК: 616.721.1-003.8/-007.17-091-085.382

ДИСЕРТАЦІЯ

**«МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ ТКАНИН
МІЖХРЕБЦЕВИХ ДИСКІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ
ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФІЧНОМУ УРАЖЕННІ ХРЕБТА ТА
ПІСЛЯ ЙОГО КОРЕКЦІЇ ЗБАГАЧЕНОЮ ТРОМБОЦИТАМИ
ПЛАЗМОЮ»**

14.03.01 – нормальна анатомія

(Охорона здоров'я)

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне
джерело.  О.В. Цюрупа

Науковий керівник Апфельханс Олена Леонідівна, доктор медичних наук,
професор., завідувачка кафедри нормальної та патологічної клінічної
анатомії Одеського національного медичного університету.

Одеса – 2021

АНОТАЦІЯ

Цюрупа О.В. **Морфологічні особливості будови тканин міжхребцевих дисків при експериментальному дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта та після його корекції збагаченою тромбоцитами плазмою.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія. Одеський національний медичний університет, Одеса, 2020.

Дисертаційна робота присвячена комплексному морфологічному вивченню тканин міжхребцевих дисків за умов моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта та після його корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. Актуальність дисертаційного дослідження полягає у великій частоті розповсюдження дегенеративно-дистрофічного ураження хребта серед людей працездатного віку за відсутності ефективного відновлювального лікування. Ускладнення цієї патології призводять спочатку до тимчасової, а згодом і постійної втрати працездатності.

Метою роботи є з'ясування особливостей будови тканин міжхребцевих дисків при експериментальному дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта та після його корекції збагаченою тромбоцитами плазмою.

Для досягнення мети була відпрацьована експериментальна модель дегенеративно-дистрофічного ураження хвостового відділу хребта у щурів. Вона полягала в підшиванні кукси хвоста до зв'язок та м'язів крижового відділу хребта на рівні LIV-SI. В наслідок чого в тканинах найбільшого вигину хвостового відділу хребта утворювалися умови, подібні до осьового навантаження хребта у людини. В експерименті було задіяне 7 експериментальних груп умовно здорових щурів лінії Wistar загальною численністю 140 тварин: I група (n = 20) – контроль (інтактні тварини);

II група (n = 20) – щури з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб без корекції;

III група (n = 20) – щури з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб без корекції;

IV група (n = 20) – щури з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб з корекцією дегенеративно-дистрофічного ураження хребта нестероїдними протизапальними засобами;

V група (n = 20) – щури з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб з корекцією дегенеративно-дистрофічного ураження хребта нестероїдними протизапальними засобами;

VI група (n = 20) – щури з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб з корекцією збагаченою тромбоцитами плазмою.

VII група (n = 20) – щури з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб з корекцією збагаченою тромбоцитами плазмою.

Підготовка тварин, усі втручання, знеболювання та виведення з експерименту здійснювалися згідно основних положень Закону України № 3447– IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006 р.), Директиви ЄС про захист тварин, що використовуються з науковою метою № 63 (від 22.09.2010 р.), наказів МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. та МОН України № 249 від 01.03.2012 р. Комісією з біоетики Одеського національного медичного університету. Порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 24 від 07 грудня 2020 р.).

Дослідження особливостей будови тканин міжхребцевих дисків здійснювали на мікроскопі Leica DM750 з використанням звичайної мікроскопії та методик морфометрії. При дослідженні морфології

оцінювали: стан організації пластин фіброзного кільця; матрикс драглистого ядра; стан клітин фіброзного кільця, драглистого ядра та замикальної пластинки. Були виміряні основні морфометричні параметри: товщина фіброзного кільця на боці компресії та дистензії, площа драглистого ядра на зрізі, кут між замикальними пластинками. Ультрамiкроскопія проводилася за допомогою електронного мiкроскопа ПЕМ-100м. Фото досліджуваних препаратів одержували з використанням цифрової відеокамери Baumer/optronic Тур: СХ 05 с. При ультрамiкроскопічному дослідженні вимірювали товщину пластинок та діаметри колагенових волокон зовнішнього й внутрішнього шарів фіброзного кільця.

Дослідження впливу нестероїдних протизапальних засобів на дегенеративно-дистрофічний процес в тканинах диску вивчали за допомогою введення диклофенаку натрію (Р.п. № UA/10237/01/01) у розрахунку 1мг/кг один раз на добу впродовж п'яти дiб в основу хвоста з боку дистензії. Введення збагаченої тромбоцитами плазми у кількості 0,1 мл проводили дворазово з інтервалом у сім дiб в основу хвоста з боку дистензії. Отримання збагаченої тромбоцитами плазми було здійснено шляхом її виділення з цільної крові на апараті SmartPrep (фірма-виробник Harvester Corp, USA), свідоцтво про держреєстрацію № 10179/2011 згідно з Наказом Держлікінспекції МОЗ України від 08 лютого 2011 р. № 69. Визначення достовірності відмінностей між двома вибірками проводили із використанням параметричного критерію Стюдента. Відмінність вважали достовірною, якщо ймовірність випадкової різниці не перевищувала 0,05 ($p \leq 0,05$).

Основні результати дослідження. У тварин з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта впродовж 60 дiб спостерігаються асиметрія та дегенеративні зміни тканин диску. Товщина фіброзного кільця з боку компресії знижена на 30,3 % ($p=0,01$) від інтактних тварин. Пластини фіброзного кільця зазнають розшарування та

ущільнення, між ними розташовані поліморфні щілини та вогнища некрозу. Товщина пластин зовнішнього та внутрішнього шарів фіброзного кільця зменшені на 13,5 ($p=0,001$) та 8,6 % ($p=0,01$) відповідно. Колагенові волокна мають виражену дезорганізацію та розриви. Їх діаметр у зовнішньому шарі фіброзного кільця зменшився на 27,8 % ($p=0,001$), у внутрішньому – на 17,7 % ($p=0,01$) від інтактних тварин. Клітини фіброзного кільця зменшені у розмірі та деформовані. Драглисте ядро значно зменшене у розмірі та зміщене в бік дистензії. Його площа в центральній частині зменшена на 43,7 % ($p=0,001$) від інтактних тварин. Нотохордальні клітини мають ознаки синтетичної активності; кластерна структура їх розташування здебільшого збережена. Замикальні пластинки втрачають свій паралельний хід та містять вогнища некрозу та заплінення. Кут між замикальними пластинками становить ($24,71 \pm 1,38$) градусів.

Дослідження тварин з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта впродовж 90 діб виявило прогресування дегенеративних змін зазначених терміном раніше (60 діб). Товщина фіброзного кільця на боці компресії зменшилася на 64 % ($p=0,001$) від інтактних тварин. Візуально збільшилися кількість та розміри поліморфних щілин та вогнищ некрозу фіброзного кільця. Прогресує зниження товщини пластин фіброзного кільця: у зовнішньому шарі на 34 % ($p=0,001$), у внутрішньому – на 16,7 % ($p=0,001$) від інтактних тварин. Діаметри колагенових волокон також значно знижені в обох шарах фіброзного кільця: у зовнішньому – на 41,5 % ($p=0,001$), у внутрішньому – на 28,6 % ($p=0,001$) від інтактних тварин. Площа драглистого ядра на зрізі у центральній частині диску зменшилася на 78,4 % ($p=0,001$) від площі інтактних тварин. Кластери нотохордальних клітин переважно зруйновані, клітини зазнають дегенеративних та некротичних змін. У замикальних пластинках спостерігається збільшення вогнищ некрозу та заплінення. Кут між замикальними пластинками складає в середньому ($30,16 \pm 1,5$) градусів.

Дослідження тварин з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 діб з наступним введенням диклофенаку натрію в дозі 250 – 300 мкг один раз на добу в основу хвоста щурам впродовж п'яти діб через 14 діб виявило позитивний вплив на структуру та організацію колагенових волокон зовнішнього шару фіброзного кільця, збільшення їх діаметру на 20 % ($p \leq 0,05$) та збільшення товщини фіброзних пластинок на 9,7 % ($p \leq 0,05$) у порівнянні з групою патології без корекції. Однак, через 28 діб після останнього введення диклофенаку натрію позитивний вплив на тканини був відсутній. Введення диклофенаку натрію тваринам з патологією 90 діб не виявило змін в обох термінах спостереження (через 14 та 28 діб) у порівнянні з групою без корекції.

Дослідження тварин з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 діб з наступним введенням збагаченої тромбоцитами плазми виявило відновлення морфології диску: зменшення розшарування пластин фіброзного кільця, відсутність вогнищ некрозу та заплінення, ознаки збільшення синтетичної активності клітин диску, поява нових нотохордальних клітин у драглистому ядрі, а також морфометричних показників диску. Через 14 діб після введення збагаченої тромбоцитами плазми морфометричні показники фіброзного кільця статистично не відрізняються від інтактної групи тварин. Площа драглистого ядра збільшена на 25,3 % ($p \leq 0,05$) у порівнянні з групою патології без корекції, однак лишається на 36,6 % ($p \leq 0,05$) меншою від інтактних тварин. Через 28 діб після введення збагаченої тромбоцитами плазми структура тканин диску збережена, у клітинах диску наявні ознаки синтетичної активності, статистичної різниці морфометричних показників дисків у порівнянні з попереднім терміном спостереження не має.

Дослідження тварин з введенням збагаченої тромбоцитами плазми за відповідною схемою після моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта впродовж 90 діб виявило менш ефективний позитивний вплив на морфологію тканин диску ніж у попередньому терміні

моделювання патології. Кількість розривів пластинок фіброзного кільця та розміри вогнищ некрозу на боці компресії були візуально меншими ніж в інших групах цього терміну моделювання патології. Через 14 діб після останнього введення збагаченої тромбоцитами плазми товщина фіброзного кільця на боці компресії збільшена на 25,8 % ($p \leq 0,01$); товщина пластинок зовнішнього шару фіброзного кільця збільшена на 13,8 % ($p = 0,01$); діаметр колагенових волокон зовнішнього шару збільшений на 30,9 % ($p \leq 0,01$); площа драглистого ядра збільшена на 29,7 % ($p \leq 0,05$) від групи без корекції. Через 28 діб після останнього введення збагаченої тромбоцитами плазми позитивний вплив на тканини диску зберігається, а морфометричні показники статистично не відрізняються від попереднього терміну спостереження.

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертації наведено теоретичне узагальнення і вирішення актуального наукового медичного завдання – зроблено комплексне морфологічне вивчення міжхребцевих дисків при експериментальному дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта на мікроскопічному та ультрамікроскопічному рівнях на різних термінах перебігу патологічного процесу, а також після застосування різних способів корекції. Запропоновані нові теоретичні підходи до прогнозування перебігу та лікування модельованого дегенеративно-дистрофічного ураження хребта. Новизна розробки експериментальної моделі підтвержена патентом на винахід «Спосіб моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хвостового відділу хребта у щурів» (патент № 112399 від 25.08.2016 р.).

Ключові слова: дегенеративно-дистрофічне ураження, міжхребцевий диск, корекція, збагачена тромбоцитами плазма, диклофенак натрію.

SUMMARY

Tsiurupa OV Morphological features of the structure of the tissues of the intervertebral discs during experimental degenerative-dystrophic damage of the spine and after its correction by platelet-rich plasma. -

Qualified scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences in specialty 14.03.01 – Normal anatomy. Odessa National Medical University, Odessa, 2021.

The dissertation is devoted to complex morphological study of tissues of intervertebral discs under the conditions of modeling of degenerative - dystrophic damage of the spine and after its correction by platelet-rich plasma. The relevance of the dissertation research is the high frequency of the spread of degenerative-dystrophic spine lesions among people of working age in the absence of effective restorative treatment. Complications of this pathology lead initially to temporary and then permanent disability.

The purpose of this work is to find out the morphological features of the structure of the tissues of the intervertebral discs during experimental degenerative-dystrophic damage of the spine and after its correction by platelet-rich plasma.

To achieve this goal, an experimental model of degenerative-dystrophic lesions of the caudal spine in rats was developed. It consisted of suturing the tail stump to the ligaments and muscles of the sacral spine at the LIV-SI level. As a result, the tissues of the largest bend of the caudal spine formed conditions similar to the axial load of the spine in humans. The experiment involved 7 experimental groups of conditionally healthy Wistar rats with a total population of 140 animals: Group I (n = 20) - control (intact animals);

Group II (n = 20) - rats with simulated degenerative-dystrophic lesions of the spine for 60 days without correction;

Group III (n = 20) - rats with simulated degenerative-dystrophic lesions of the spine for 90 days without correction;

Group IV (n = 20) - rats with simulated degenerative-dystrophic lesions of the spine for 60 days with correction of degenerative-dystrophic lesions of the spine with nonsteroidal anti-inflammatory drugs;

Group V (n = 20) - rats with simulated degenerative-dystrophic lesions of the spine for 90 days with correction of degenerative-dystrophic lesions of the spine with nonsteroidal anti-inflammatory drugs;

Group VI (n = 20) - rats with simulated degenerative-dystrophic lesions of the spine for 60 days with correction of Platelet-Rich Plasma.

Group VII (n = 20) - rats with simulated degenerative-dystrophic lesions of the spine for 90 days with correction of Platelet-Rich Plasma.

Preparation of animals, all interventions, anesthesia and withdrawal from the experiment were carried out in accordance with the Law of Ukraine "On the Protection of Animals from Cruelty" No. 27, Article 230, from 2006, as amended by Law N 1759-VI (1759-17) dated 15.12.2009, OVR, 2010, N 9, Art. 76, as well as the general ethical principles of animal experiments (1st National Congress on Bioethics, September 20, 2001, Kyiv) and the Code of Ethics of the Scientist of Ukraine (National Academy of Sciences of Ukraine, 2009).

The study of the structure of the tissues of the intervertebral discs was carried out on a Leica DM750 microscope using conventional microscopy and morphometry techniques. In the study of morphology evaluated: the state of organization of the plates of the fibrous ring; the matrix of the nucleus pulposus; the state of the cells of the fibrous ring, the nucleus pulposus and the endplate. The basic morphometric parameters were measured: the thickness of the fibrous ring on the side of compression and distension, the area of the jelly-like nucleus on the slice, the angle between the endplates. Ultramicroscopy was performed using a PEM-100m electron microscope. Photos of the investigated drugs were obtained using a Baumer / optronic Typ: CX 05 digital video camera. The ultramicroscopic examination measured the thickness of the plates and the diameters of the collagen fibers of the outer and inner layers of the fibrous ring.

Investigation of the effect of nonsteroid anti-inflammatory drugs on the degenerative-dystrophic process in disc tissues was studied by the introduction of diclofenac sodium (RP No. UA / 10237/01/01) at a rate of 1 mg / kg once a day for five days at the base of the tail on the side of distension. The introduction of platelet-rich plasma in an amount of 0.1 ml was carried out twice at seven-day intervals also at the base of the tail on the side of distension. Receiving platelet-rich plasma was performed by extracting it from whole blood using SmartPrep (manufacturer Harvester Corp, USA), state registration certificate No. 10179/2011 according to the Order of the State Inspectorate of the Ministry of Health of Ukraine dated February 08, 2011 No. 69. The significance of the differences between the two samples was determined using the Student's parametric criterion. The difference was considered significant if the probability of a random difference did not exceed 0.05 ($p \leq 0.05$).

The main results of the study. Animals with modeling of degenerative-dystrophic spine lesion have asymmetry and degenerative disc tissue changes within 60 days. The thickness of the fibrous ring on the compression side was reduced by 30.3% ($p = 0.01$) from intact animals. The plates of the fibrous ring undergo stratification and compaction, between them are polymorphic gaps and foci of necrosis. The thickness of the outer and inner layers of the fibrous ring was reduced by 13.5 ($p = 0.001$) and 8.6% ($p = 0.01$), respectively. Collagen fibers have a pronounced disorganization and breaks. Their diameter in the outer layer of the fibrous ring decreased by 27.8% ($p = 0.001$), in the inner - by 17.7% ($p = 0.01$) from intact animals. The cells of the fibrous ring are smaller in size and deformed. The nucleus pulposus is significantly reduced in size and displaced toward the distension. Its area in the central part is reduced by 43.7% ($p = 0.001$) from intact animals. Notochordal cells have signs of synthetic activity; the cluster structure of their location is largely preserved. The endplates lose their parallel course and contain necrosis and calcification foci. The angle between the endplates is (24.71 ± 1.38) degrees.

Animal studies with modeling of degenerative-dystrophic spine lesions within 90 days revealed a progression of the degenerative changes indicated by the term earlier (60 days). The thickness of the fibrous ring on the compression side decreased by 63.8% ($p = 0.001$) from intact animals. The number and size of polymorphic clefts and foci of necrosis of the fibrous ring increased visually. The thickness of the fibrous ring plates progresses: 34% ($p = 0.001$) in the outer layer, 16.7% ($p = 0.001$) of the intact animals in the inner layer. The diameters of collagen fibers are also significantly reduced in both layers of the fibrous ring: in the outer - by 41.5% ($p = 0.001$), in the inner - by 28.6% ($p = 0.001$) from intact animals. The area of the nucleus pulposus in the cut in the central part of the disk decreased by 78.4% ($p = 0.001$) from the area of intact animals. Notochordal cell clusters are mostly destroyed, cells undergo degenerative and necrotic changes. Increasing necrosis and calcification foci are observed in the closure plates. The angle between the endplates averages (30.16 ± 1.5) degrees.

The study of animals with modeling of degenerative-dystrophic spine lesion for 60 days, followed by the introduction of diclofenac sodium at a dose of 250 - 300 mcg once a day as a basis for the tail of rats for five days after 14 days revealed a positive effect on the structure and organization of collagen fibers of the outer layer of fibrous ring and increase of their diameter by 20% ($p \leq 0.05$) and increase of thickness of fibrous plates by 9.7% ($p \leq 0.05$) in comparison with the pathology group without correction. However, 28 days after the last injection of diclofenac sodium, there was no positive effect on the tissues. Administration of diclofenac sodium to animals with a pathology of 90 days revealed no change in both follow-up periods (14 and 28 days) compared with the non-correction group.

Animal studies with simulation of degenerative-dystrophic lesions of the spine for 60 days, followed by the introduction of platelet-enriched plasma revealed a regeneration of disc morphology: reduction of fibrous ring stratification, fibrous ring stratification necrosis and calcification, signs of increased synthetic activity of disc cells, appearance of new notochordal cells in

the nucleus pulposus and morphometric indices of the disc. 14 days after the introduction of platelet-rich plasma, the morphometric parameters of the fibrous ring were not statistically different from the intact group of animals. The area of the nucleus pulposus increased by 25.3% ($p \leq 0.05$) compared to the non-correction pathology group, but remained 36.6% ($p \leq 0.05$) less than intact animals. 28 days after the introduction of platelet-rich plasma structure of the tissue of the disk is preserved, in the cells of the disk there are signs of synthetic activity, there is no statistical difference in the morphometric parameters of the disks compared to the previous observation period.

The study of animals with the introduction of platelet-rich plasma by an appropriate scheme after modeling degenerative-dystrophic spine lesions for 90 days revealed a less effective positive effect on disc tissue morphology than in the previous pathology modeling period. The number of discontinuities of the fibrous ring plates and the dimensions of the necrosis foci on the compression side were visually smaller than in the other groups of this pathology modeling period. 14 days after the last injection of platelet-rich plasma, the thickness of the fibrous ring on the compression side increased by 25.8% ($p \leq 0.01$); the thickness of the plates of the outer layer of the fibrous ring increased by 13.8% ($p = 0.01$); the diameter of the collagen fibers of the outer layer increased by 30.9% ($p \leq 0.01$); the area of the nucleated nucleus increased by 29.7% ($p \leq 0.05$) from the group without correction. 28 days after the last injection of platelet-rich plasma, the positive effect on the disc tissue remains, and the morphometric parameters are not statistically different from the previous observation period.

Scientific novelty of the obtained results. The theoretical generalization and solution of the actual scientific medical problem is given in the dissertation. For the first time, a comprehensive morphological study of the condition of the tissues of the intervertebral discs under the conditions of correction of degenerative-dystrophic damage of the spine by non-steroidal anti-inflammatory drugs. For the first time, the effectiveness of the use of platelet-rich plasma for the correction of experimental degenerative-dystrophic spine damage was

studied. New theoretical approaches to predicting the course and treatment of a modeled degenerative-dystrophic spine lesion are proposed. The novelty of the development of the experimental model is confirmed by a patent for the invention "A method of modeling degenerative-dystrophic lesions of the caudal spine in rats" (patent No. 112399 of 25.08.2016).

Keywords: degenerative-dystrophic lesions, intervertebral disc, correction, platelet-rich plasma, diclofenac sodium.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Холодкова О.Л., Бадьїн І.Ю., Цюрупа О.В. Перспективи використання клітинних технологій при експериментальному остеохондрозі. *Biomedical and biosocial antropology*. 2015; (24): 233-7. (Здобувачу належить проведення пошуку та аналізу літературних джерел, описання отриманих результатів, приймав участь в обговоренні результатів та підготовці статті до друку).

2. Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ, Бадьїн ІЮ. Порівняльна характеристика патологічних змін у міжхребцевих дисках хвостових сегментів щурів за умов моделювання постійної асиметричної компресії-дистензії та після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2015; 4: 66-8. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення мікроскопічного та морфометричного досліджень, описання отриманих результатів, приймав участь в обговоренні результатів, підготував статтю до друку).

3. Холодкова ЕЛ, Цюрупа АВ, Садовская ЮА, Горюк ИА. Морфологические проявления дегенеративно-дистрофических поражений позвоночника в эксперименте и после коррекции. *Молодий вчений*. 2016 лип; 7 (34): 291-5. (Особистий внесок здобувача: брав участь у проведенні

експерименту, провів гістологічні та морфометричні дослідження, інтерпретацію результатів підготував статтю до друку).

4. Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ. Ультрамiкроскопiчні змiни хребта за умов експериментальної компресiї-дистензiї та пiсля корекцiї. Вiсник морфологiї. 2017; 1(23): 23-8. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення морфометричного дослідження, описання отриманих результатiв, приймав участь в обговореннi результатiв, пiдготував статтю до друку).

5. Zaporozhan VM, Appelhans OL., Tsyurupa OV. Effectiveness of the platelet-rich plasma application at different simulation periods of degenerative disc disease in rats. Свiт медицини та бiологiї. 2020. № 1 (71): 183-7. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення мiкроскопiчного та морфометричного досліджень, описання отриманих результатiв, приймав участь в обговореннi результатiв, пiдготував статтю до друку).

6. Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ, Бадьїн ЮО, винахiдники; Одеський нацiональний медичний унiверситет, патентовласник. Спосiб моделювання дегенеративно-дистрофiчного ураження хвостового вiддiлу хребта у щурiв. Патент України на винахiд № 112399 2016 лип. 28. (Особистий внесок здобувача: розробив методологiю експерименту, провiв написання та оформлення патенту, брав участь в статистичнiй обробцi, аналізi та обговореннi результатiв).

Науковi працi, в яких опублiкованi основнi науковi результати дисертацiї у зарубiжних спецiалiзованих виданнях:

7. Kholodkova YL, Tsiurupa AV, Comparison of platelet-rich plasma and nonsteroidal antiinflammatory drugs effectiveness for correction of degenerative dystrophic changes in the vertebra and intervertebral discs. Deutscher wissenschaftsherold. 2016; 3: 68-70. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення мiкроскопiчного

та морфометричного досліджень, описання отриманих результатів, приймав участь в обговоренні результатів, підготував статтю до друку).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. Цюрупа ОВ. Использование клеточных технологий при экспериментальном остеохондрозе. Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для студентів та молодих вчених): наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвячена 155-річчю з дня народження

М.О. Ясиновського. Одеса, 24-25 квітня 2014р. С. 29.

9. Цюрупа ОВ, Горюк ІА, Садовська ЮО, Терновий ДП. Вплив збагаченої тромбоцитами плазми на структуру міжхребцевих дисків хвостових сегментів за умов моделювання постійної асиметричної компресії-дистензії. «Медична наука в практику охорони здоров'я»: всеукраїнська наук.-практ. конф. Полтава, 20 листопада 2015 р. С. 50. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення мікроскопічного та морфометричного досліджень, описання отриманих результатів, приймав участь в обговоренні результатів, підготував тези до друку).

10. Цюрупа ОВ, Горюк ІА, Садовська ЮО, Терновий ДП. Ефективність збагаченої тромбоцитами плазми при корекції дегенеративно-дистрофічних змін у міжхребцевих дисках в експерименті. Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для студентів та молодих вчених): наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвячена 150-річчю з дня народження Д. К. Заболотного Одеса, 21-22 квітня 2016 р. С. 23-24. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення мікроскопічного дослідження, описання отриманих результатів, приймав участь в обговоренні результатів, підготував тези до друку)

11. Цюрупа ОВ. Морфологічні зміни хребців та міжхребцевих дисків у щурів при експериментальній компресії-дистензії. Прикладні

аспекти морфології : наук.-практ. конф. Тернопіль, 20-21 жовтня 2016 р. С. 188-189.

12. Цюрупа ОВ, Горюк І А, Садовська ЮО, Терновий ДП. Ультрамiкроскопiчнi змiни у мiжхребцевих дисках хвостових сегментiв щурiв за умов моделювання постiйної асиметричної компресiї-дистензiї. Сучаснi теоретичнi та практичнi аспекти клiнiчної медицини (для студентiв та молодих вчених): наук.-практ. конф. з мiжнар. участю, присвячена 100-рiччю з дня народження I. Г. Герцена, Одеса, 27-28 квітня 2017 р. С. 25. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, аналіз результатів, написання, приймав участь в обговоренні результатів та оформленні тези).

13. Холодкова О.Л., Цюрупа О.В. Оцiнка дiаметру колагенових волокон фiброзного кiльця при корекцiї дегенеративно-дистрофiчного ураження хребта в експериментi. Перспективи розвитку медичної науки та освiти: всеукраїнська наук.-метод. конф., присвяченiй 25-рiччю Медичного iнституту СумДУ. Суми, 16-17 листопада 2017 р. С. 40. (Особистий внесок здобувача: провiв експерименти, статистичну обробку, аналіз та узагальнення результатiв, написання та оформлення тези, приймав участь в узагальненнi результатiв).

14. Цюрупа ОВ, Головашич ЮО, Горюк І А, Терновий ДП. Морфологiчнi особливостi будови мiжхребцевих дискiв при дегенеративно-дистрофiчному ураженнi хребта в динамiцi. Сучаснi теоретичнi та практичнi аспекти клiнiчної медицини (для студентiв та молодих вчених): наук.-практ. конф. з мiжнар. участю, присвячена 100-рiччю з дня народження С.І. Корхова. Одеса, 19-20 квітня 2018 р. С. 25. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення мiкроскопiчного та морфометричного досліджень, описання отриманих результатiв, приймав участь в обговореннi результатiв та оформленнi тези).

ЗМІСТ

Анотація.....	2
Перелік умовних скорочень.....	19
Вступ.....	20
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	27
1.1. Етіологія дегенеративно-дистрофічного ураження хребта.....	28
1.2. Морфологія та патогенез дегенеративно-дистрофічного ураження хребта. Відомі експериментальні моделі.....	30
1.3. Перспективи застосування клітинної терапії для корекції дегенеративно-дистрофічного ураження хребта.....	35
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	47
2.1. Розподілення тварин на групи.....	47
2.2. Моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта у щурів.....	48
2.3. Анатомічні, гістологічні та морфометричні методи дослідження міжхребцевих дисків.....	49
2.4. Ультрамiкроскопічне дослідження.....	50
2.5. Методи корекції дегенеративно-дистрофічного ураження хребта. Отримання збагаченої тромбоцитами плазми.....	51
2.6. Методи статистичного аналізу.....	52
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ АНАТОМІЇ МІЖХРЕБЦЕВИХ ДИСКІВ ЗА УМОВ ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФІЧНОГО УРАЖЕННЯ ХРЕБТА.....	53
3.1. Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків щурів інтактної групи щурів.....	53
3.2. Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків за умов дегенеративно-дистрофічного ураження хребта 60 діб	57

3.3. Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків за умов дегенеративно-дистрофічного ураження хребта 90 діб	63
РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ КОРЕКЦІЇ	
ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФІЧНОГО УРАЖЕННЯ ХРЕБТА	
ДИКЛОФЕНАКОМ НАТРІЮ.....	71
4.1. Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків за умов дегенеративно-дистрофічного ураження хребта 60 діб та введення диклофенаку натрію.....	71
4.2. Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків за умов дегенеративно-дистрофічного ураження хребта 90 діб та введення диклофенаку натрію.....	78
РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ КОРЕКЦІЇ	
ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФІЧНОГО УРАЖЕННЯ ХРЕБТА	
ЗБАГАЧЕНОЮ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМОЮ.....	86
5.1. Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків за умов дегенеративно-дистрофічного ураження хребта 60 діб та введення збагаченої тромбоцитами плазми	86
5.2. Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків за умов дегенеративно-дистрофічного ураження хребта 90 діб та введення збагаченої тромбоцитами плазми.....	95
РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	
ДОСЛІДЖЕНЬ.....	105
ВИСНОВКИ.....	130
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	133
ДОДАТОК А.....	158
ДОДАТОК Б.....	163
ДОДАТОК В.....	169

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ДДУХ	– дегенеративно-дистрофічне ураження хребта
ДЯ	– драглисте ядро
ЗТП (PRP)	– збагачена тромбоцитами плазми (Platelet-Rich Plasma)
ЗП	– замикальна пластинка
ІІ	– інтерлейкін
КВ	– колагенові волокна
МХД	– міжхребцевий диск
МСК	– мезенхімальні стовбурові клітини
НПЗЗ	– нестероїдні протизапальні засоби
НХК	– нотохордальні клітини
ФК	– фіброзне кільце
EGF	– epidermal growth factor (епідермальний фактор росту)
FGF	– fibroblast growth factor (фактор росту фібробластів)
IGF1	– Insulin-like growth factor (інсуліноподібний фактор росту-1)
MMP	– matrix metalloproteinases (матричні металопротеїнази)

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Біль у спині є дуже частим явищем серед людей середнього та похилого віку та поступається за частотою лише головному болю та гострим респіраторним захворюванням [1, 2, 3].

Дорсопатії (M40-M54) – це сукупне поняття, що згідно Міжнародній класифікації хвороб (МХБ) 10-го перегляду від 2007 року відносять до складу «Хвороб м'язово-скелетної системи та сполучної тканини», та включає безболісні та болючі захворювання ділянки спини. До складу дорсопатій належать деформуючі дорсопатії (M40-M43), спонділопатії (M45-M49) та інші дорсопатії (M50-M54). Саме до складу деформуючих дорсопатій відноситься: кіфоз та лордоз (M40), сколіоз (M41), остеохондроз хребта (M42) та інші деформуючі дорсопатії (M43). Поширеність дорсопатій в розвинених країнах за даними Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я (ВООЗ) має характер пандемії [4,5, 6]. Близько 84 % людей працездатного віку хоча б раз у житті відчували біль у спині, 65% – упродовж останнього року, 60% населення страждає від приступів болю тривалістю три та більше діб [7]. Частота захворювання збільшується з віком, сягаючи 97 % у 40-50 років та 100 % у осіб старіше за 60 років [4, 8, 9]. У 90 % випадків дорсопатії викликані дегенеративно-дистрофічними змінами у хребті різного ступеня виразності [4, 10, 11, 12, 13]. Больові синдроми при дегенеративно-дистрофічних захворюваннях хребта частіше вражають людей працездатного віку (75-90 % захворюваності) та посідають друге місце серед причин тимчасової втрати працездатності. Вони є найчастішою причиною інвалідності серед людей до 45 років [2, 14]. Дегенеративно-дистрофічні ураження хребта відносяться до найбільш розповсюдженої патології серед уражень хребта, та становлять значну частку усіх захворювань периферичної нервової системи. Найбільш тяжкою формою дегенеративно-дистрофічного ураження хребта є остеохондроз хребта. В основі цього захворювання

лежать первино розвинені процеси дистрофії, дегенерації та деструкції тканин міжхребцевих дисків з наступним ураженням суміжних хребців та зв'язкового апарату хребта [15].

Активація досліджень з діагностики, лікування та профілактики дорсопатій є одним із пріоритетних напрямів, рекомендованих ВООЗ. «Декада кісток та суглобів» (The Bone and Joint Decade 2000-2010 pp.) проведена у Женеві під егідою Організації Об'єднаних Націй за підтримки урядів 120 країн світу і понад 750 міжнародних організацій, привертає увагу усього світу на цю актуальну проблему сучасності.

Стандартизовані методи лікування дорсопатій спрямованні на зменшення або зникнення больового синдрому, корінцевих проявів, збільшення обсягу рухів в ураженому відділі хребта, покращення самопочуття та клінічного одужання або поліпшення, та є недостатньо ефективними. Згідно лікувальної програми клінічного протоколу надання медичної допомоги на дорсалгії (наказ МОЗ України від 17.08.2007 № 487) до основних класів препаратів медикаментозного лікування входять нестероїдні протизапальні засоби. Серед них диклофенак натрію вважається «Золотим стандартом» у купірованні болю при дорсалгії. Ці препарати не спрямовані на відтворення анатомічної цілісності міжхребцевих дисків, однак, за рахунок протизапальної дії, можуть впливати на дегенеративний процес у дисках, що обумовлює актуальність дослідження цього питання.

В останнє десятиліття активно досліджується ефективність клітинної терапії у відтворенні морфології тканин. Є дані вчених щодо позитивного використання аутологічних хондробластів та мезенхімальних стовбурових клітин для корекції дегенеративно-дистрофічних змін у хребцях [5, 16]. Також є багато робіт, присвячених регенеративним властивостям збагаченої тромбоцитами плазми, як альтернатива мезенхімальним стовбуровим клітинам [17, 18, 19]. Між тим, в літературі

відсутні дані щодо використання збагаченої тромбоцитами плазми для корекції дегенеративно-дистрофічного ураження хребта.

У зв'язку з цим, виникає необхідність вивчення морфологічного стану тканин хребців при дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта та після його корекції збагаченою тромбоцитами плазмою в експерименті на тваринах.

Мета дослідження: Встановлення особливостей будови тканин міжхребцевих дисків при експериментальному дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта та після його корекції збагаченою тромбоцитами плазмою.

Завдання дослідження:

1. Розробити вдосконалену модель дегенеративно-дистрофічного ураження хребта у щурів.
2. Провести комплексний морфологічний аналіз структурних компонентів міжхребцевого диску інтактних щурів.
3. Встановити морфологічні особливості тканин міжхребцевих дисків при дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта через 60 та 90 діб моделювання процесу.
4. Встановити морфологічні особливості тканин міжхребцевих дисків за умов корекції експериментального дегенеративно-дистрофічного ураження хребта диклофенаком натрію.
5. Виявити морфологічні особливості тканин міжхребцевих дисків за умов корекції експериментального дегенеративно-дистрофічного ураження хребта збагаченою тромбоцитами плазмою.

Об'єкт дослідження: морфологічні зміни у структурній організації тканин міжхребцевих дисків при експериментальному дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта та після його корекції.

Предмет дослідження: волокна пластинок фіброзного кільця, міжклітинна речовина драглистого ядра, замикальна пластинка та клітини

міжхребцевого диску при експериментальному дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта та після його корекції.

Методи дослідження: експериментальне моделювання, анатомічний, гістологічний, ультрамікроскопічний, морфометричний, статистичний.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведене комплексне морфологічне дослідження стану тканин міжхребцевих дисків при експериментальному дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта (Патент на винахід: № 112399 від 25.08.2016 р.) на мікроскопічному та ультрамікроскопічному рівнях через 60 та 90 діб після моделювання патологічного процесу.

Вперше доведено, що після застосування моделі компресії-дистензії в тканинах міжхребцевих дисків з'являються характерні морфологічні ознаки дегенеративно-дистрофічного ураження хребта та погіршуються морфометричні показники.

Вперше виявлено, що застосування ін'єкції диклофенаку натрію тваринам з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта на ранній стадії моделювання призводить до тимчасового часткового відтворення товщини пластин й колагенових волокон зовнішнього шару фіброзного кільця. Вперше доведено : диклофенак натрію майже не чинить впливу на морфологію тканин внутрішнього шару фіброзного кільця, драглистого ядра, замикальної пластинки та морфометричні показники диску.

Вперше з'ясовано, що застосування збагаченої тромбоцитами плазми тваринам з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта позитивно впливає на відтворення морфології фіброзного кільця: збільшується синтетична активність клітин, що призводить до збільшення його товщини, а також товщини пластин та волокон на боці компресії диска. При застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми на ранній стадії дегенеративного процесу відбувається повне відтворення товщини

фіброзного кільця на боці компресії. Доведено, що введення збагаченої тромбоцитами плазми призводить до відтворення морфології драглистого ядра, за рахунок чого відбувається статистичне збільшення його площі у центральній частині диску. Виявлено відсутність впливу плазми на: усунення асиметричного розташування драглистого ядра у диску та кут між замикальними пластинками сусідніх хребців.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук, здійснено планування роботи, вивчено мету і задачі дослідження, методичні підходи, проведено моделювання патології, гістологічні та морфометричні дослідження, статистичне опрацювання одержаних результатів. Здобувачем особисто написано та проілюстровано всі розділи дисертації. Аналіз результатів, основні наукові положення і висновки сформульовані разом із науковим керівником. У наукових роботах, опублікованих у співавторстві, участь здобувача є визначальною.

Автор висловлює щіру вдячність за допомогу у проведенні морфологічних досліджень співробітникам патологоанатомічного відділення університетської клініки ОНМедУ, у проведенні ультрамікроскопічних досліджень співробітникам кафедри морфології медичного інституту Сумського державного університету.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи представлені на міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини», присвяченій 155-річчю з дня народження М. О. Ясиновського (Одеса, 2014), всеукраїнській науково-практичній конференції (Полтава, 2015), міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини», присвяченій 150-річчю з дня народження Д. К. Заболотного (Одеса, 2016), науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології» (Тернопіль, 2016),

міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 100-річчю з дня народження І.Г. Герцена (Одеса, 2017), всеукраїнській науково-методичній конференції, присвяченій 25-річчю Медичного інституту СумДУ «Перспективи розвитку медичної науки та освіти» (Суми, 2017), міжнародній конференції молодих вчених та студентів «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини», присвяченій 100-річчю з дня народження С.І. Корхова (Одеса, 2018).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 14 наукових робіт, у тому числі 6 статей, з яких 5 статей у наукових фахових виданнях, рекомендованих ДАК України, 1 – у виданні, що є в науковій базі Web of Science. Опубліковано 7 тез доповідей у збірниках наукових робіт. Отримано патент України на винахід.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 173 сторінках комп'ютерного тексту, з них 113 сторінок основного тексту, і складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу результатів досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Робота ілюстрована 68 рисунками та містить 6 таблиць. Список використаних джерел літератури включає 201 джерела, з яких 38 – кирилицею та 163 – латиницею.

Зв'язок роботи з науковими планами, програмами, темами. Дисертація виконана відповідно до плану НДР зареєстрованого в МОЗ України і є фрагментом теми «Біологічні ефекти збагаченої тромбоцитами плазми за фізіологічних умов та при експериментальному індукуванні патологічного процесу» (№ держреєстрації 0111U010172), яка виконувалась на кафедрі анатомії людини Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) МОЗ України. Дисертант був співвиконавцем даної НДР.

Практичне значення одержаних результатів. З'ясований морфологічний стан хвостового відділу хребта за умов дегенеративно-

дистрофічного ураження та після його корекції. Розроблений і впроваджений в теоретичну та практичну медицину метод корекції ураження міжхребцевих дисків за допомогою збагаченої тромбоцитами плазми, що дозволить покращити стан міжхребцевих дисків за умов дегенеративно-дистрофічного ураження.

Основні положення та висновки дисертаційної роботи впровадженні в навчальний процес і науково-дослідницьку роботу кафедри оперативної хірургії з топографічною анатомією Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри анатомії людини Івано-франківського національного медичного університету, кафедри гістології, цитології та ембріології Тернопільського національного медичного університету І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедри анатомії людини імені М.Г. Туркевича ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», кафедри медико-біологічних дисциплін Національного університету фізичного виховання і спорту України МОН України.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Міжхребцевий диск (МХД) складається з драглистого ядра (ДЯ), розташованого у центрі, та оточуючого його фіброзного кільця (ФК). З боків диску знаходяться гіалінові пластинки, що розташовані на замикальних пластинках (ЗП) сусідніх хребців [20 - 25]. Структура та біохімічний склад диску визначає його механічні властивості.

Матрикс ДЯ здебільшого складається з колагену II типу, протеогліканів, гіалуронової кислоти та неколагенових білків [22, 23]. Колагенові волокна (КВ) формують своєрідний каркас для компонентів міжклітинної речовини, зокрема для протеогліканів. Одним із найголовніших протеогліканів матриксу ДЯ є агрекан. Агрекан – це крупний структурний протеоглікан, який складається зі стержневої серцевини та прикріплених до нього ланцюгів хондроїтинсульфатів та кератансульфатів. Він представляє собою гідрофільну негативно заряджену макромолекулу, що забезпечує високий осмотичний тиск у ДЯ, необхідний для нормальної роботи клітин та протидії компресійним впливам [25 - 27]. Також, агрекан відіграє важливу роль у взаємовідношеннях «клітина – клітина» та «клітина – матрикс» завдяки здатності з'єднуватися з колагеном та гіалуроновою кислотою. Агрекан пригнічує проростання нервів та міграцію ендотеліальних клітин [24 - 26, 28]. При втраті агрекану в диск проростають судини та нерви, що посилюють його дегенерацію. Також, до структури ДЯ входять радіально орієнтовані еластичні волокна. Вони відповідальні за відтворення форми диску після припинення навантаження [20, 28].

Клітини ДЯ є двох типів: великі нотохордальні клітини (НХК) та дрібні хондроцитоподібні клітини. Відомо, що НХК експресують ряд компонентів матриксу ДЯ та беруть участь у його формуванні. В той же час, хондроцитоподібні клітини відповідальні за регуляцію молекулярного

складу міжклітинної речовини та підтримування гомеостазу між процесами синтезу та руйнування у ДЯ [20, 24, 29].

Фіброзне кільце складається з 20-25 колагенових кілець, які розташовані паралельно та під кутом у 60 градусів до вертикальної вісі і утворені здебільшого колагеном I типу. Пропорційна вага колагену I типу серед колагенів інших типів знижується від периферії до центру, таким чином, що внутрішні шари мають перехідний склад від ФК до ДЯ [30, 31]. У ФК виділяють фібробластоподібні та хондроцитоподібні клітини. Фібробластоподібні клітини розташовані переважно у периферичних шарах, хондроцитоподібні клітини – ближче до центру. Як в ДЯ, так і в ФК присутні також еластичні волокна, які відповідальні за відтворення форми диску після припинення навантаження. В ДЯ вони орієнтовані радіально, а в ФК – вздовж колагенових пучків [20, 28].

Головною особливістю будови міжхребцевих дисків є відсутність в їх складі кровоносних судин. Васкуляризація має місце лише під час активного росту міжхребцевого диску. Після 12-13 років починається поступове зниження кількості судин з повною їх втратою у 23-25 років, коли припиняється ріст хребта. Після 25 років МХД не мають судин, та їх живлення здійснюється за рахунок дифузії через гіалінові пластинки. [16, 22, 31].

1.1. Етіологія дегенеративно-дистрофічного ураження хребта

В літературі описано ряд чинників, що викликають дегенеративно-дистрофічні зміни в міжхребцевих дисках та хребцях. Серед них найсуттєвіші: механічний фактор, порушення живлення та генетична схильність [16, 29, 32 - 34]. Надмірні навантаження, паління та ожиріння тривалий час посідали перше місце серед інших чинників [35]. Однак, на сьогоднішній день в епідемічних та експериментальних дослідженнях встановлено, що власне ці фактори не завжди призводять до дегенерації дисків [15, 31]. Механічний фактор є дуже важливим, як основний, що

викликає надмірне навантаження на міжхребцевий диск. Однак, згідно отриманих даних, великі фізичні навантаження та велика маса тіла призводять до зменшення міжхребцевих проміжків без дегідратації власне дисків [32, 35]. При адекватному зростанні фізичної загрузки зростає і синтез протеогліканів [29].

Недостатня кількість поживних речовин, що надходять в міжхребцевий диск, та порушення виведення продуктів життєдіяльності клітин є одним із головних етіологічних чинників у виникненні дегенеративних уражень тканин МХД [35 - 39]. За умов відсутності судин живлення у МХД відбувається за рахунок дифузії через його замикальну пластинку [31, 38, 40]. Під час її кальцифікації відбувається порушення надходження глюкози та кисню у диск. Також порушується виведення продуктів метаболізму, в першу чергу лактату, що приводить до його критичного накопичення в диску та порушення рН середовища: відбувається його "закислення" [29, 31, 40]. При недостатньому надходженні поживних речовин та порушенні рН середовища відбувається загибель клітини диска [29, 31, 37, 39]. За умов дегенерації диску, при загибелі значної кількості клітин різко знижується загальна кількість продукції протеогліканів. Як наслідок, знижується осмотична щільність середовища, яка необхідна клітинам для нормальної життєдіяльності. Таким чином дегенеративні процеси стають незворотними. Крім того, в місцях гіпоксії розвивається хронічний запальний процес, який підсилює вплив інших негативних чинників [29].

Генетична схильність до дегенерації МХД полягає у поліморфізмі генів, що кодують білки позаклітинного матриксу [41, 42]. Був знайдений зв'язок між поліморфізмом генів, що кодують структуру колагенів I, II та IX типу, та підвищенням ризику розвитку дегенерації МХД [43, 44]. При поліморфізмі гену, що відповідає за синтез агрекану, зростає ризик розвитку дегенерації МХД у більш ранньому віці [43]. Є зв'язок між мутаціями в цитокінах інтерлейкін-1(ІЛ-1) та інтерлейкін-6 (ІЛ-6) та

підвищеним ризиком дегенеративних змін [35, 45, 46]. ІЛ-1 являє собою прозапальний цитокін, який бере участь в запальних процесах та індукції апоптозу у відповідь на пошкодження клітин [46, 47, 48, 49]. Його сімейство складається з трьох членів: ІЛ-1 альфа, ІЛ-1 бета та антагоніст рецептору ІЛ-1 (ІЛ-1 RA). Відомо, що ІЛ-1 альфа та ІЛ-1 бета беруть участь у інгібуванні синтезу протеогліканів та збільшенні синтезу матриксних металопротеїназ (ММР) [50]. ІЛ-6 також є одним з прозапальних та катаболічних цитокінів. Він продукується активованими моноцитами, макрофагами, ендотеліальними клітинами або фібробластами, у відповідь на пошкодження тканин [47]. Відомо про підвищення рівню ІЛ-6 у тканинах міжхребцевої кили [35, 45]. Збільшення продукції прозапальних цитокінів призводить до синтезу клітинами фіброзного кільця простагландину E2 та збільшенню секреції фосфоліпази A2, що викликає підвищення чутливості тканин до болю [45]. Також є дані про зв'язок між мутацією у гені, що кодує рецептор вітаміну D та розвитку патології [44]. Вітамін D позитивно впливає на перебіг дегенеративного процесу у дисках [51]. При мутації у відповідному гені спостерігається схильність до прояву дегенеративного ураження у більш ранньому віці, більш тяжкому перебігу [44]. За наявності генетичної схильності до дегенеративно-дистрофічних уражень хребта пошкодження може виникнути й за умов нормального впливу інших чинників [44].

1.2. Морфологія та патогенез дегенеративно-дистрофічного ураження хребта. Відомі експериментальні моделі

При дегенеративно-дистрофічних змінах в тканинах МХД відбувається дисбаланс між процесами синтезу та розпаду матриксу [52]. Хондроцитоподібні клітини драглистого ядра синтезують фактори росту та фактори розпаду тканин [52]. До факторів росту належать морфогенетичний протеїн кістки, трансформуючий та інсуліноподібний фактори росту [33, 53]. Серед факторів розпаду виділяють ІЛ-1, ІЛ-6 та

фактор некрозу пухлин [35, 47, 48]. Фактори росту стимулюють синтез білків матриксу, а фактори розпаду його пригнічують та стимулюють синтез MMP [52, 54]. На ранній стадії дегенерації диску у ДЯ відбувається підвищення синтезу колагену II типу, як захисна реакція на пошкодження [56 - 58]. Однак, при прогресуванні дегенеративних процесів у драглистому ядрі рівень колагену II типу знижується [29, 57, 58]. Одночасно підвищується рівень колагену I типу та накопичення колагену X типу, який в нормі тут взагалі відсутній [55, 59]. Між тим, у поверхневих шарах фіброзного кільця рівень колагенів міняється навпаки: зростає рівень колагену II і знижується рівень колагену I типу. Змінюється синтез протеогліканів: відбувається зниження синтезу агрекану, підвищення синтезу версикану, бігликану та декорину [26, 59, 60]. В структурі глікозаміногліканів порушується співвідношення між хондроїтинсульфатами та кератинсульфатами у бік останніх, що приводить до зниження гідrataції глікозаміногліканів [59, 61]. Руйнування матриксу та дегідrataція міжхребцевого диску порушують живлення клітин, тому що швидкість дифузії нутрієнтів залежить від властивостей міжклітинної речовини. В свою чергу зниження живлення клітин, порушення виведення продуктів обміну та «закислення» середовища призводить до зниження кількості функціонуючих клітин та руйнування матриксу [13, 57, 62]. Формується замкнуте патологічне коло. Таким чином, кількість хондроцитоподібних клітин, які синтезують фактори росту знижується, що призводить до посилення дегенерації диска [53, 63]. Нами не було знайдено опису розвитку дегенеративних змін в хребцях та міжхребцевих дисках в різних термінах перебігу патології на мікроскопічному та ультрамікроскопічному рівні, який необхідний для розробки стратегії корекції патології.

Для відтворення подібної до людської моделі ДДУХ існує багато різних експериментальних моделей на тваринах. Головні завдання, що стають перед цими моделями, спричинювати зміни, які матимуть ознаки

дегенерації диску людини, бути надійними та відтворюваними, економічно та технічно ефективними. В залежності від фактору впливу моделі тварин можна розподілити на три основні групи: застосування тварин з генетичною схильністю до дегенеративних змін у диску; моделі, направлені на руйнування структур диску; моделі, спрямовані на здійснення механічного навантаження на міжхребцеві диски.

Піщаний щур це тварина, в якій відбувається спонтанне виродження диску. Використання піщаних щурів дає змогу дослідити вікові зміни диска, які мають багато спільних із дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта людини. Американські вчені виявили значні рентгенологічні ознаки дегенеративних змін у піщаних щурів віком 2 місяці: клинування, звуження, нерегулярні межі диску та кальцифікація кінцевої пластинки [64, 65]. На прикладі моделі трансгенного штаму SPARC (Secreted protein acidic and cysteine rich), також відомого як остеонектин та VM-40 – нульових мишей канадські вчені вивчали зв'язок між клінічними симптомами та патологічними ознаками дегенерації диску. Інактивація гена SPARC у мишей призводить до передчасної дегенерації міжхребцевого диска. Ці миші демонстрували низьку толерантність до осьового розтягування, гіперчутливість задньої лапи до холоду і порушення рухової активності, а також підвищену іннервацію дисків [66-69]. Цікавою є модель мишей з делецією гену CCN2 (Cellular Communication Network Factor 2) при якій у новонароджених тварин відбувається порушення розвитку міжхребцевих дисків [70]. Вроджений дефіцит антагоністу ІЛ-1 призводить до зниження вмісту агрекану та колагену II, та сприяє зростанню вмісту колагену I у драглистому ядрі. Внаслідок надлишкової кількості ІЛ-1 відбувається порушення у метаболізмі тканин диску, в тому числі, втрата протеоглікану та збільшення секреції ферментів, що руйнують матрикс [70]. Ці дослідження підтверджують важливу роль ІЛ-1 у розвитку дегенеративно-дистрофічних змін у міжхребцевих дисках. Серед крупних тварин для вивчення

спонтанної дегенерації дисків можуть бути застосовані породи хондродистрофічних собак, в яких дегенеративні зміни виявляються вже на першому році життя, на відміну від нехондродистрофічних, у яких зміни були значно пізніше (5-7 роки). Зниження глікозаміноглікану та підвищення активності MMP-2 у тварин відбувалося згідно тяжкості дегенерації дисків [70]. Cho з колегами (2011р.) виявили зниження кількості клітин диску та зменшення анаболізму внаслідок збільшення експресії MMP-1 при старінні у свиней [59].

Здійснення механічного впливу на міжхребцевий диск можливе шляхом травматичного ушкодження ФК та ДЯ гострими предметами або взагалі аспірацією ДЯ. Пункція міжхребцевих дисків хвостового відділу хребта голкою 20-го калібру у щурів призводила до наявності дегенеративних змін через 7 та 30 діб після маніпуляції [71]. Було доведено, що діаметр голки пропорційно впливає на тяжкість перебігу дегенеративних змін та частоту виникнення кил в дисках [72, 73]. Рентгенологічні та гістологічні спостереження показали, що голка 21G (0,8x40мм) викликала більш серйозну дегенерацію диска в порівнянні з голкою 25G (0,5x25мм) [72]. Також розвиток дегенеративних змін прискорюється при частковій аспірації ДЯ. Через три тижні після нуклеотомії МХД щурів відмічали суттєве зниження висоти диску [74]. Перевагами цих моделей є відносна простота моделювання та швидкий розвиток патології. Недоліками цих методів є неможливість вивчати патофізіологічні процеси у драглистому ядрі та внутрішній частині фіброзного кільця через сильне штучне пошкодження їх анатомічної цілісності. Через те, що дегенеративні зміни в тканинах дуже стрімкі, неможливо повною мірою вивчати динаміку дегенеративних змін або проводити їх корекцію на початкових етапах.

Можливе індукування дегенеративно-дистрофічних змін в дисках шляхом введення хімічних реагентів в драглисте ядро. У дослідженнях зазвичай використовували хондроїтинкіназу АВС через меншу

токсичність. Ведення 0,25 ОД хондроїтинкінази АВС у ДЯ міжхребцевих дисків кіз викликало дегенеративні зміни легкого ступеня виразності через 18 та 26 тижнів [75]. Нажаль такі методи не відображають розвиток патологічних процесів в тканинах, тому вони не дають змогу прослідкувати патофізіологічні зміни у тканинах та досліджувати їх регенеративні властивості.

Механічне навантаження є одним з факторів, що сприяють дегенерації диска [29, 32]. Зміна механічного середовища хребта викликає морфологічні та біохімічні зміни в диску; ці зміни подібні з раннім захворюванням диска при ДДУХ у людини. Статичне стиснення хвостового відділу хребта щурів можливо з застосуванням конструкцій типу апарату Ілізарова, якій фіксується до сусідніх хребців між досліджуваними дисками та дозволяє забезпечити тиск на міжхребцевий диск [76, 77, 78]. Через 7 діб після статичного стискання хвоста у щурів спостерігалася активація всіх ММР разом зі зниженням вмісту колагену типу аггрекан і типу II. Пізніше ця ж група показала, що кількість клітин ДЯ та ФК зменшувалася зі збільшенням часу навантаження [76, 78].

Оригінальним є метод, запропонований Pazzaglia U.E. [79]. Він включає фізіологічне згинання хвостового відділу хребта щурів та фіксації його у нерухомому стані металеву проволочку терміном на 30 та 90 діб. При цьому у місці вигину хвоста формуються ознаки асиметричної компресії-дистензії міжхребцевих дисків. Недоліком цього метода є ненадійність фіксації хвостового відділу хребта [79]. Для модернізації цього методу біло запропоновано формування кукси хвоста та підшивання її до тканин поперекового відділу хребта для більш надійної фіксації [80, 26].

1.3. Перспективи застосування клітинної терапії для корекції дегенеративно-дистрофічного ураження хребта.

Згідно клінічного протоколу надання медичної допомоги хворим на дорсалгії, лікування дегенеративно-дистрофічних уражень хребта проводять комплексно в амбулаторних умовах або в спеціалізованих стаціонарах в залежності від важкості перебігу та виразності больового синдрому [81]. За дотримання таких умов, по-перше, створюються для зниження інтенсивності больових проявів та зменшення навантаження на хребет. Залежно від виразності больового синдрому хворому може бути призначений ліжковий режим на декілька днів або іммобілізація ураженого відділу хребта за допомогою корсету чи бандажу з уникненням провокуючих поз. Після усунення запалення рекомендоване поступове розширення рухової активності та лікувальна гімнастика [82, 83].

Розрізняють консервативні та хірургічні методи лікування. Хірургічне втручання рекомендоване при наявності компресійних синдромів, неефективності консервативного лікування протягом 4 місяців та ознаках компресії спинного мозку з порушенням функції органів [82, 84].

У переважній більшості випадків основним методом лікування є консервативний, оснований на медикаментозній терапії. Медикаментозна терапія першочергово направлена на усунення больового синдрому. З цією метою призначаються нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), анальгетики, паравертебральні та епідуральні медикаментозні блокади [83, 85]. В гострий період хвороби НПЗЗ призначають у вигляді ін'єкцій, з наступним переходом на пігулки, капсули та ректальні свічки. Механізм їх дії полягає у пригніченні активності ферментів циклооксигеназ, що беруть участь у процесах виникнення болю, запалення і підвищення температури. Протизапальна дія препаратів зменшує набряк в осередку запалення, чим зменшує механічне стиснення ноцицепторів [82]. З метою усунення міофасціальних синдромів на тлі ураження хребта, призначають

міорелаксанти. Для усунення венозного застою та нормалізації мікроциркуляції призначають венотоніки. Також призначають препарати з метаболічною дією та вітаміни групи В. В терапії невропатичного болю використовують протисудомні препарати та антидепресанти [83].

В період ремісії дегенеративно-дистрофічних уражень хребта використовують методи фізіотерапії [86, 86]. Призначають електрофорез з розчинами місцевих анальгетиків та магнітотерапію. Широко використовують мануальну терапію та ЛФК. Для усунення больового синдрому використовують різні методи рефлексотерапії: електропунктура та лазеропунктура, поверхнева багатоголчаста стимуляція, вакуумтерапія та ін. [88]

З метою уповільнення дегенеративно-дистрофічних змін застосовують препарати хондропротективної дії, до яких відносяться хондроїтин сульфат та глюкозамін [82, 89, 90, 91]. Вважають, що при довготривалому прийомі ці речовини беруть участь у створенні хрящової та кісткової тканин, покращують фосфорно-кальцієвий обмін. Також, вони інгібують ферменти, які руйнують структуру хрящу, таким чином гальмуючи процеси дегенерації в ньому. Окрім того, вони стимулюють синтез глікозаміногліканів та нормалізують метаболізм гліалінової тканини, що сприяє регенерації хрящу. На жаль, літературні дані щодо ефективності цих препаратів для регенерації дегенеративно-дистрофічних уражень хребта суперечливі [92, 93].

Таким чином, стандартизоване лікування дегенеративно-дистрофічних уражень хребта спрямоване переважно не на ураження, а на усунення ускладнень та больових симптомів цієї патології. Ефективність препаратів, які мають відтворювати структури хряща, суперечлива та потребує тривалого терміну їх застосування. Вимагає додаткових досліджень вплив протизапального ефекту НПЗЗ на відновлення структури тканин хребців та міжхребцевих дисків в умовах їх дегенерації.

В базових або доклінічних дослідженнях для усунення дегенеративного процесу зазвичай використовується один з трьох біологічних підходів: стимуляція регенеративних процесів, уповільнення катаболічних процесів та введення нових клітин. На сьогоднішній день активно вивчається вплив різноманітних біологічно активних матеріалів на відтворення структури МХД та розробляються нові методики лікування дегенеративних уражень тканин хребта [17, 94 - 97].

З метою стимуляції регенеративного потенціалу тканин диску застосовують ін'єкції білків-активаторів, біоматеріалів, різних типів клітин та їх комплексів, а також генетично модифіковані клітини або вирощену *in vitro* тканину [97]. Застосування тієї чи іншої тактики корекції залежить від ступеня дегенеративного ураження тканин з урахуванням безпеки корекції. Застосування прямих ін'єкцій біоактивних препаратів оказують позитивний вплив на тканини МХД: Thompson J.P. та ін. (1991 р.) вперше повідомили про позитивний вплив факторів росту, таких як трансформуючий ростовий фактор бета (Transforming Growth Factor beta), епідермальний фактор росту (Epidermal growth factor – EGF) та фактор росту фібробластів (fibroblast growth factor – FGF) на синтез протеогліканів [98]. Пізніше було доведено, що застосування інсуліноподібного фактору росту-1 (Insulin-like growth factor 1 - IGF1) призводить до підвищення синтезу протеогліканів та зниження секреції MMP-2, що має проліферативний ефект на тканини МХД [94]. Аналогічний ефект мали прямі ін'єкції фактору росту пухлини-b в тканини дегенеративного диску щурів [95]. Після введення кісткового морфогенетичного білку-1 (BMP-1) кролям та щурам з модельованою дегенерацією дисків хребта упродовж восьми тижнів відмічалось підвищення синтезу протеогліканів та відтворення висоти диску [17, 96].

Недоліком методу прямих ін'єкції є неспроможність тривалого введення препарату в тканини. Тривале підтримання високих концентрацій біологічно активних речовин можливе за рахунок їх постійної експресії

генетично модифікованими клітинами диску. Перші наукові дослідження були проведені з застосуванням генно-модифікованих клітин МХД за рахунок гену, який кодує антагоніст рецептора ІЛ-1[99]. Ізольовані клітини МХД спочатку трансформували з використанням ретровірусу, потім у вигляді ін'єкцій вводили тваринам з модельованим дегенеративним ураженням хребта. З метою профілактики імунної реакції був розроблений аденовірус-асоційований вектор. При його застосуванні спостерігали активну трансгенну експресію, що вказує на ефективність цього методу. Було продемонстровано ефективне екзогенне доставлення генів піддослідним тваринам [100]. Введення гену латентного мембранного білку-1 у диски кролів призвело до зростання в них рівня анаболічних цитокінів BMP-2, BMP-7 та аггрекану [101]. Були проведені дослід з перенесенням гену Sox-9. Після його переносу в тканини ураженого диску спостерігається зростання синтезу колагену II типу з зберіганням структури останнього за умов, в яких у контрольній групі тварин спостерігали дегенеративні зміни [55].

Уповільнення катаболічних процесів у дисках можливе за рахунок пригнічення MMP шляхом стимуляції їх інгібіторів. Застосування гену тканинного інгібітору MMP-1 призводило до зберігання протеоглікану в тканинах [61, 70]. Залишається актуальним питання вибору гену (або генів) з метою розробки ефективного терапевтичного препарату. Окрім того, дана терапія є патогенетичною, та не впливає на такий етіологічний фактор, як порушення живлення, виведення продуктів метаболізму клітин та «закислення» середовища. Залишається також відкритим питання, як будуть реагувати клітини на фактори росту за умов недостатнього живлення.

Альтернативою генетично-модифікованим клітинам може бути введення культивованих *in vitro* аутологічних клітин [102]. Застосування саме аутологічних клітин попереджує розвиток імунної відповіді. В період культивування клітин, можливе їх генетичне модифікування, комбінація цих

двох методів та підвищення ефективності терапії. Позитивний ефект оказує введення аутологічних культивованих клітин у вигляді ін'єкцій [103 - 106]. Також описані методи культивування клітин з застосуванням тривимірних матриксів [102, 107, 108]. Головними недоліками методу аутологічних клітин є труднощі під час забору клітин із організму. По-перше, збір клітин ДЯ неможливий без травматизації тканин ФК, що приведе до прискорення дегенерації диску. По-друге, складність збору необхідної кількості клітин через низку їх щільність у ДЯ. Однак, за умов хірургічного втручання з приводу мікродискектомії така терапія може бути доцільною.

Перспективним є застосування мезенхімальних стовбурових клітин (МСК), які мають властивість до мультипотентного диференціювання та високий регенеративний потенціал, за рахунок чого є можливість розглядати їх як джерело для генної терапії та імплантації [109 - 115]. МСК можуть бути виділені з багатьох джерел, головними серед яких є кістковий мозок та жирова тканина [109, 116 - 119]. Перспективність МСК зростає при спільному культивуванні з клітинами ДЯ. Під час культивування між клітинами МСК та ДЯ утворюється зв'язок, в результаті чого відбувається активація генів Sox-9, колагену II та агрекану, що вказує на те, що МСК починає переймати фенотип клітин ДЯ [112]. В такий спосіб вирішується питання малої кількості клітин ДЯ для культивування. При імплантації МСК у колагеновому гелі в диск кролів є ознаками дегенерації відзначається відновлення структури ДЯ та ФК, збільшення кількості синтезу протеогліканів та збільшення висоти диску [120]. Ефективність та перспективність застосування МСК надзвичайні, однак, існує низка питань. Наприклад: як будуть у подальшому вести себе МСК за умов дегенеративного диску; як довго буде зберігатися фенотип клітин диску; якими будуть біомеханічні властивості нової тканини; на якій стадії дегенерації диску доцільно починати застосовувати МСК та ін. Залишається також відкритим питання найбільш ефективного способу

введення МСК. Це може бути внутрішньодискова ін'єкція, спеціальний імплантат або системне введення МСК [72]. Транспорт клітин можливий за допомогою біологічних носіїв на основі гідрогелів, таких як гіалуронова кислота або фібрин [34, 121, 122]. Дослідження показали, що МСК здатні виживати та розмножуватись після імплантації в диск, і що вони набувають фенотипічні характеристики клітин диску [34, 121]. Фактично, було показано, що сумісне культивування клітин МСК та диску індукує фенотип клітин диску у МСК та стимулює виробництво нового матриксу. Крім того МСК здатні пригнічувати запальні реакції в тканинах [123]. Існує спосіб доставлення МСК за допомогою спеціальних матриць [124]. Це можуть бути матриці, сформовані з біоматеріалу або повністю синтетичні матриці, що включають полігліколеву, полімолочну кислоти та ін. [125]. Також, можливо введення МСК у вигляді клітинної суспензії з білками, які будуть покращувати та пролонгувати взаємодію МСК та хрящової тканини [125].

З метою відтворення структури та живлення тканин МХД перспективним є застосування потужних факторів росту, що знаходяться в тромбоцитах. Тромбоцити – це невеликі без'ядерні клітинні фрагменти, які утворюються від мегакаріоцитів кісткового мозку шляхом фрагментації їх цитоплазми [126]. У своєму складі тромбоцити мають декілька типів гранул: α -гранули, щільні гранули (β), гранули лізосом та пероксисоми [107]. Відновлення структури пошкоджених тканин включає в себе каскад складних реакцій, який складається з чотирьох фаз: гемостаз, запалення, проліферація та ремоделювання. Тромбоцити забезпечують згортання крові, беруть участь у регенерації пошкоджених тканин, та ініціюють ангиогенез [107]. Роль тромбоцитів у гемостазі полягає в їх адгезії та утворенні первинної пробки в місці пошкодження судини. Проліферація тканин досягається шляхом їх повторної епітелізації та ангиогенезу, а також синтезу в тканинах колагену та компонентів позаклітинного матриксу. Тромбоцити беруть участь у процесах відтворення тканин за

рахунок факторів росту, що знаходяться в їх α -гранулах. Під час пошкодження ендотелію судин тромбоцити змінюють свою форму та активуються (при їх адгезії з молекулами колагену, фібронектину та ламініну за рахунок фактору фон Віллебранда). Також, можлива активація тромбоцитів за допомогою фізіологічних агоністів, таких як: тромбін, АДФ, тромбоксан А2, адреналін, чинників активації тромбоцитів. Активація тромбоцитів супроводжується їх дегрануляцією, що зумовлює збільшення концентрації факторів росту в оточуючому середовищі [127, 128].

В тромбоцитах знаходяться наступні фактори росту: IGF1, TGFb1, тромбоцитарний фактор росту (Platelet-derived growth factor), FGF, EGF, судинні ендотеліальні фактори росту [107]. IGF1 стимулює ангиогенез в рані (завдяки хемотаксису ендотеліоцитів), бере участь у регулюванні процесів росту та диференціюванні клітин та тканин організму (в тому числі хондробластів, міобластів, остеобластів та гемопоетичних клітин) та стимулює синтез колагену [94, 129 - 131]. TGFb1 контролює проліферацію, диференціацію та інші функції багатьох типів клітин [132, 133, 134]. Тромбоцитарний фактор росту є потужним мітогеном для клітин сполучної тканин, клітин ендотелію капілярів та нейронів, сприяє клітинній проліферації та пригнічує апоптоз, збільшує рухливість МСК, фібробластів, клітин гладких м'язів [135 - 137]. FGF індукує експресію генів печінки, ангиогенез і проліферацію фібробластів [138 - 140]. EGF індукує проліферацію та міграцію ендотеліальних клітин. Крім того, він є потужним мітогенним чинником для клітин ектодермального і мезодермального походження [141 - 143]. Судинні ендотеліальні фактори росту регулюють ангиогенез. Вони впливають на проліферацію, морфогенез, міграцію та життєздатність ендотеліальних клітин. Крім того судинні фактори росту сприяють розвитку і розгалуженню кровоносних судин [144, 145]. Таким чином, α -гранули тромбоцитів є потужним резервуаром біологічних факторів проліферації та неоангіогенезу. Їх

вивільнення може значно прискорити регенеративні процеси в тканинах. З метою використання тромбоцитів у вигляді терапевтичного препарату, можна застосовувати збагачену тромбоцитами плазму.

Збагачена тромбоцитами плазма (ЗТП, англ. – PRP, Platelet Rich Plasma) – це компонент фракції плазми аутологічної венозної крові з концентрацією тромбоцитів більше, ніж їх базова концентрація в 4-6 разів [127]. У нормі в крові кількість тромбоцитів дорівнює 150 000 – 350 000/мкл. Оптимальна концентрація тромбоцитів у ЗТП – понад 1 000 000/мкл [146]. Робочий об'єм ЗТП складає 5 мл [146]. Спочатку, отримання ЗТП здійснювалось за рахунок методу двокрокового градієнтного центрифугування. Перший етап центрифугування використовують, щоб відокремити еритроцити від тромбоцитів та лейкоцитів. Потім плазму з тромбоцитами та лейкоцитами центрифугують повторно з метою збору плазми з тромбоцитами без лейкоцитів. Нарешті, щоб активувати тромбоцити в ЗТП, застосовують кальцію хлорид або тромбін. Після активації тромбоцитів, ЗТП потрібно використовувати в найкоротший термін [147].

На сьогоднішній день більшість комерційно доступних наборів включають метод, який в один крок відокремлює плазму на три різні шари: еритроцити, лейкоцити з ЗТП та бідну тромбоцитами плазму (Platelet Poor Plasma - PPP) [148, 149, 150]. Крім того, фракції плазми можуть містити різну концентрацію фібрину. Виділяють чотири фракції: чиста ЗТП без лейкоцитів (Pure Platelet Rich Plasma - P-PRP), ЗТП з лейкоцитами та низкою щільністю фібрину (Platelet Rich Plasma with Leukocytes - L-PRP), чиста ЗТП без лейкоцитів з високим вмістом фібрину (Pure Platelet Rich Fibrin - P-PRF) та ЗТП з лейкоцитами та високою щільністю фібрину (Platelet Rich Fibrin with Leukocytes - L-PRF) [150]. P-PRP та L-PRP після активації хлориду кальцію або тромбіном можуть бути використані в якості рідкого розчину або у вигляді гелю. P-PRF та L-PRF існують лише в твердій формі гелю [150].

В останнє десятиліття вченими активно вивчається ефективність застосування збагаченої тромбоцитами плазми. Zhou R.P. та ін. (2013 р.) досліджували ефективність застосування ЗТП у вигляді гелю на відкритих ранах черевної порожнини у щурів. Після індукції перитоніту вони виконували лапаротомію та обробляли тварин PPP або ЗТП. Через тиждень після лікування у тварин, які отримували ЗТП відмічена підвищена перфузія крові в рані та більш зріла грануляційна тканина в порівнянні з пацієнтами, які отримували PPP [73]. Notodihardjo та ін. (2014 р.) досліджували ефективність застосування ЗТП у поєднанні з желатиновим гідрогелем у порівнянні з желатин гідрогелем та з одноразовим ін'єкційним введенням ЗТП з метою стимуляції загоєння ран у мишей. Вчені спостерігали збільшення епітелізації та зростання судин в групі застосування желатинового гідрогелю з ЗТП у порівнянні з іншими способами лікування [151]. Вивчення впливу ЗТП на регенерацію погано васкуляризованих тканин проводили на прикладі експериментальної травми ахілового сухожилку у щурів [152] або кролів [153]. Вченими було доведено, що застосування ін'єкцій ЗТП сприяє ангиогенезу в травмованих тканинах, кращій організації колагенових волокон та прискоренню процесів регенерації [152,153]. В експерименті на щурах з модельованим токсичним гепатитом були доказано, що у тварин після введення ЗТП спостерігається достовірне збільшення новоутворених судин, зберігається балкова структура печінкових часточок та через 6 тижнів після останнього введення ЗТП структура органу була подібною до тварин інтактної групи [154]. Дживак В.Г та Кліщ І.М. (2020 р.) досліджували вплив ЗТП на протеїназо-інгібіторну систему в умовах експериментальної травми стегнового м'яза у щурів. Доказано зниження індексу протеолізу у тварин з введенням збагаченої тромбоцитами плазми [155]. Позитивні результати спостерігали при корекції дегенеративних змін МХД в експерименті на кролях з застосуванням ЗТП та желатин гідрогелевих мікросхем [156]. Було доведено, що використання гідрогелевих мікросхем з желатину є

ефективним способом доставки факторів росту ЗТП до пошкоджених тканин [156, 157]. В іншому експерименті використовували двошарову желатинову губку, навантажену β 3-кальцій фосфатом, МСК, хондроцитами, BMP-2 та ЗТП для лікування кістково-хрящових дефектів таранної кістки у коней [158]. У контрольній групі дефект обробляли тільки двошаровою желатиновою губкою. У піддослідній групі були відзначені більш високі показники регенерації, ніж у контрольній [158]. В експерименті на свинях з модельованими виразками шкіри, вчені доказали, що матриця фібрину з PRP прискорює регенерацію за рахунок стимуляції ангиогенезу в тканинах [159].

Збагачена тромбоцитами плазма та інші похідні крові, не лише досліджуються в експериментах на тваринах, а навіть вже використовуються в клінічній практиці [160 - 169]. Методика застосування PRP знайшла широке розповсюдження у різних галузях медицини, зокрема: дерматології, офтальмології, стоматології, косметології, пластичній та щелепно-лицевої хірургії [160-162, 164, 170 – 174] Перше клінічне застосування ЗТП було проведене у 1965р. з метою стимуляції остеогенезу дефектів кісток лицевого черепу. Позитивний результат був здійснений за рахунок збільшення кількості BMP [175]. З того часу методика отримання та введення ЗТП була вдосконалена. В подальшому були продемонстровані деякі клінічні випробування за участю ЗТП. Є дані щодо успішного лікування остеоартриту колінного суглоба [5, 176]. Продемонстрована ефективність введення ЗТП з метою регенерації хрящу колінного суглоба [177]. Застосування PRP показало кращий результат в порівнянні зі стероїдами та аутологічною кров'ю при лікуванні бічного епіконділіту [178]. Деякі вчені спостерігали покращення регенерації Ахіллового сухожилку після застосування PRP [165]. Позитивний вплив мало застосування ЗТП у лікуванні тендинопатії надколінка у пригунів [179]. Опубліковані дані щодо позитивного впливу PRP під час лікування гонартрозу та коксартрозу [180].

Між тим, є публікації, де повідомляється про сумнівність переваг ЗТП у порівнянні з автологічними тканинами [181]. Є також суперечливі результати щодо кореляції між вмістом факторів росту та кількістю тромбоцитів в ЗТП [182 - 184]. Основа цих протиріч може бути пов'язана з мінливістю у віці пацієнта, станом його здоров'я або кількості тромбоцитів [184]. Впливати на концентрацію факторів росту у ЗТП та кількість тромбоцитів можуть різні методи отримання та зберігання продуктів ЗТП [185, 186]. Їх різноманітність також слід враховувати при інтерпретації та порівнянні результатів для створення ЗТП. Метод приготування ЗТП потенційно оказує вплив на стан тромбоцитів [186]. Активація тромбоцитів при приготуванні концентрату тромбоцитів може призвести до раннього вивільнення α -гранул та втрати частини факторів росту під час процесу збору. Тому важливо визнати, що кожен спосіб приготування ЗТП може відрізнятися кількістю тромбоцитів, швидкістю активації тромбоцитів і профілем факторів росту. З метою контролю цілісності тромбоцитів до тих пір, поки фракція ЗТП не буде зібрана, можна виміряти тромбоцитарний поверхневий маркер активації тромбоцитів – Р-селектин [148].

Перспективним є комбіноване застосування МСК та ЗТП [104, 168, 187]. Ефективність МСК залежить від мікросередовища. Доведено позитивний вплив плазматичних фракцій ЗТП на проліферацію МСК [188, 189]. Дослідження МСК кісткового мозку та періодонтальної зв'язки показали, що додавання середовища у вигляді автологічної сироватки або тромбоцитарної фракції, замість тваринної сироватки, є джерелом чинників зростання МСК через те, що вони забезпечують зниження потрібного часу на адгезію, збільшують розмір колонієутворюючих одиниць та підтримують їх здатність остеогенного, хондрогенного та ліпогенного диференціювання [189]. В цілому, використання фракцій, отриманих з тромбоцитів, є перспективним в процесі ангіогенезу та регенерації тканин [190]. Однак немає консенсусу щодо протоколів для їх

вилучення, концентрації факторів росту та впливу запальних медіаторів [191]. Це необхідно, для кращого використання клінічного потенціалу фракцій, отриманих з тромбоцитів.

Серед експериментальних моделей ДДУХ що існують, механічне навантаження на МХД за рахунок постійної асиметричної компресії-дистензії шляхом підшивання кукси хвоста до поперекового відділу хребта представляється найбільш оптимальним для формування патологічних процесів у диску [30]. Однак, при спробі відтворення цієї моделі в умовах експерименту, ми зіткнулися з проблемою надійної фіксації кукси до попереково-крижового відділу. Таким чином, стає актуальним питання вдосконалення відомої експериментальної моделі з метою покращення її надійності.

Застосування диклофенаку натрію, як «Золотого стандарту» НПЗЗ, для корекції ДДУХ у щурів обумовлено його протизапальною властивістю. Дослідження впливу НПЗЗ на гальмування дегенеративних процесів МХД розширить розуміння впливу запального фактору на розвиток ДДУХ.

Враховуючи численні дані щодо позитивного клінічного застосування ЗТП у регенерації тканин опорно-рухового апарату, зокрема кісткової та хрящової тканин, а також дані щодо позитивного впливу ЗТП на тканини МХД тварин з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням, ми вважаємо доцільним вивчення впливу ЗТП на тканини МХД за умов дегенеративно-дистрофічного ураження хребта з метою подальшої розробки ефективних алгоритмів її корекції.

Перспективним є дослідження застосування ЗТП разом з МСК для корекції тривалого ДДУХ у щурів, коли кількість власних клітин диску не достатня для відтворення матриксу диску.

Основні результати цього розділу опубліковані у працях [192].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Розподілення тварин на групи

В експерименті було задіяне 7 груп щурів обох статей лінії Wistar віком 4 місяців без будь-яких клінічних ознак захворювання загальною чисельністю 140 тварин вагою 250 - 300 г., а саме:

I група (n = 20) – контроль (інтактні тварини);

II група (n = 20) – щури з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб без корекції;

III група (n = 20) – щури з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб без корекції;

IV група (n = 20) – щури з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб з корекцією дегенеративно-дистрофічного ураження хребта нестероїдними протизапальними засобами;

V група (n = 20) – щури з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб з корекцією дегенеративно-дистрофічного ураження хребта нестероїдними протизапальними засобами;

VI група (n = 20) – щури з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб з корекцією збагаченою тромбоцитами плазмою.

VII група (n = 20) – щури з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб з корекцією збагаченою тромбоцитами плазмою.

Комісією з біоетики Одеського національного медичного університету (протокол № 24 від 07 грудня 2020 р.) встановлено, що експеримент виконано з дотриманням основних положень Закону України № 3447– IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006 р.), директиви ЄС про захист тварин, що використовуються з

науковою метою № 63 (від 22.09.2010 р.), наказів МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. та МОН України № 249 від 01.03.2012 р.

Лабораторних щурів утримували в індивідуальних боксах з 12-годинною зміною світла та темряви, вологістю 60 %, постійною температурою $22 \pm 2^\circ\text{C}$, з вільним доступом до води та їжі.

Моделювання патології та патоморфологічні дослідження були проведені на базах науково-дослідницької лабораторії кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії та патологоанатомічному центрі Одеського національного медичного університету (ОНМедУ). Ультрамیکроскопічне дослідження було проведене кафедрі морфології медичного інституту Сумського державного університету (СумДУ).

2.2. Моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта у щурів

Моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта у експериментальних тварин виконували шляхом формування постійної асиметричної статичної компресії-дистензії хвостового відділу хребта [Пат. № 112399]. Знеболювання тварин було здійснене шляхом введення інгаляції ефіру через спеціальну маску. Для місцевої анестезії в основу хвоста вводили розчин лідокаїну концентрацією 2 % у дозі 0,4 мл. Шерсть в ділянці операційного поля видаляли, шкіру обробляли тричі розчином етанолу концентрацією 70 % та розчином йоду 1 %.

Спочатку визначали місце резекції шляхом загину хвоста без додаткового зусилля до попереково-крижового відділу хребта. Потім накладали кровоспинний джгут на основу хвоста, після чого проводили резекцію хвостового відділу хребта (Сс) приблизно на рівні СсXIV-СсXV. Після резекції хвоста на кукси робили другий розріз на 1 см вище, яким відсікали шкіру.

Другим етапом операції було розрізання шкіри на рівні LIV-SI хребта та підшивання кукси 4-5 П-подібними швами до м'язів та зв'язок ниткою Поліамід 3/0. Операційну рану обробляли 1 % розчином йоду.

Тварин вміщували в теплий контейнер до пробудження, потім переносили в клітки (рис.2.1).



Рис. 2.1. Тварини з моделюваним дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта.

Після операції тварини перебували під постійним наглядом: в перший день – щогодинним, наступні дні – щоденним. Виводили тварин з експерименту шляхом евтаназії (інгаляційне передозування ефіром). Патологічні зміни структури міжхребцевих дисків та хребців хвостового відділу хребта в умовах статичної компресії вивчали через 60 та 90 діб.

2.3. Анатомічні, гістологічні та морфометричні методи дослідження міжхребцевих дисків

Після виведення тварин з експерименту у площині найбільшого вигину хвоста були вирізані ділянки тканин хребта з двома сусідніми міжхребцевими дисками. Шматочки тканин фіксували в розчині нейтрального формаліну концентрацією 10 % протягом 7 діб. Після чого проводили декальцинацію в азотній кислоті концентрацією 7,5 % протягом 10 діб. Далі проводилася стандартна дегідратація, парафінізація тканин у парафінові блоки за загальноприйнятою методикою [193]. Мікротомні

зрізи хребців та міжхребцевих дисків завтовшки 4 мкм отримували на роторному мікротомі Leica. Забарвлювали зрізи за стандартною методикою гематоксиліном-еозином [193] (підготовленими розчинами гематоксиліну Майєра, Карацци («БіоОптика», Італія)). Зрізи покривали канадським бальзамом та покривним склом. Гістологічні препарати вивчали на мікроскопі Leica DM750 з фото-відеовиходом, камерою (5 М пікселей) з використанням звичайної мікроскопії та методик морфометрії [193].

Гістометрію об'єктів проводили за допомогою окуляр-мікрометрів. Були виміряні основні морфометричні показники, які відображають патогенез дегенеративно-дистрофічного ураження хребта, а саме: товщина фіброзного кільця, площа зрізу драглистого ядра та кут між замикальними пластинками. Вимірювання товщини фіброзного кільця проводили шляхом вимірювання відстані між найбільш наближених один до одного поверхонь тіл сусідніх хребців в місці компресії та аналогічно на боці дистензії. Вимірювання площини драглистого ядра проводили у центральній частині диску напівавтоматичним шляхом за рахунок обведення контуру на препараті.

2.4. Ультрамiкроскопiчне дослідження

Фіксацію зразків проводили у розчині глутарового альдегіду концентрацією 2,5 % на 0,2 М какодилатному буфері з рН = 7,2 при температурі + 4° С. Після цього препарати тричі промивали у цьому самому буфері та фіксували в розчині OsO₄ концентрацією 1 % упродовж 4 годин при температурі + 2° С. Далі шматочки біоптатів дегідрували за допомогою серії спиртів висхідної концентрації (по 20 хвилин у розчинах концентрацією 50, 70, 80, 90 та 100 %). Заливали матеріал у капсули з готовою сумішшю смол епону та аралдиту (аралдит М – 20 мл, епон 812 – 25 мл, ущільнювач ДДСА – 60 мл, каталізатор ДМР-30 – 2 % (6 крапель) та залишали на 1 добу при кімнатній температурі повітря. Після цього

препарати поміщали у термошафу при температурі 60 °С для полімеризації.

Використовуючи ультрамікротом УМТП-6м (Україна) готували напівтонкі (1 мкм) та ультратонкі (40-60 нм) зрізи. Фарбування матеріалу проводили толуїдиновим синім і у світловому мікроскопі вивчали препарати з метою прицільного заточування пірамідки перед ультрамікротомуванням. Після цього проводили дворазове контрастування встановлених на мідних сітках ультрамікрозрізів. Спочатку протягом 15 хвилин у 2 % розчині ураніл – ацетату, а вже потім упродовж 30 хвилин у розчині цитрату свинцю за Рейнольдсом. Ультрамікроскопічне дослідження реалізовували за допомогою електронного мікроскопа ПЭМ-100м (Суми, Україна) із напругою прискорення 75 – 100 кВ. Фото досліджуваних препаратів при збільшенні у 4800 – 12600 разів одержували із використанням цифрової відеокамери Baumer/optronic Тур: CX 05 с. Усі вимірювання ультраструктурних компонентів проводили з застосуванням електронної програми «SEO Image Lab 2.0». При ультрамікроскопічному дослідженні проводили вивчення таких морфометричних параметрів: товщина діаметру колагенових волокон зовнішнього та внутрішнього шарів фіброзного кільця; товщина фіброзних пластинок зовнішнього та внутрішнього шарів фіброзного кільця.

2.5. Методи корекції дегенеративно-дистрофічного ураження хребта. Отримання збагаченої тромбоцитами плазми

З метою корекції дегенеративно-дистрофічних змін у тканинах хребта було використано два методи. Першим методом було введення в основу хвоста з боку дистензії диклофенаку натрію (Р.п. № UA/10237/01/01) з розрахунку 1мг/кг раз на добу упродовж п'яти діб. Другим методом було дворазове ведення 0,1 мл збагаченої тромбоцитами плазми в основу хвоста з боку дистензії з інтервалом у сім діб.

Отримання збагаченої тромбоцитами плазми було здійснено шляхом її виділення з цільної крові на апараті SmartPrep (фірма-виробник Harvester Corp, USA), свідоцтво про держреєстрацію № 10179/2011 згідно з Наказом Держлікінспекції МОЗ України від 08 лютого 2011 р. № 69. Для цього цільну кров збирали у пробірку з цитратом натрію, який зв'язував іони кальцію та блокував згортання крові. Далі проводили центрифугування в два етапи. Першим етапом було центрифугування цільної крові (2400 оберти – 10 хв) для розділення її на чотири фракції: знизу еритроцити, потім лейкоцити, тромбоцити та верхня фракція – плазма без формених елементів. Потім з використанням довгої голки (Sterican), яку прикріплювали до нейтральній пробірці Monovette, збирали фракцію плазми з тромбоцитами (лейкотромбіновий шар) для наступного центрифугування (3600 оберти – 15 хв). Після другого центрифугування лейкотромбіновий шар розділявся на верхній (плазму збіднену на тромбоцити – PPP) та нижній шари (збагачену тромбоцитами плазму – PRP). Збирали нижній шар, розподіляли на дози у 0,1 мл кожна та вводили піддослідним тваринам. Активування тромбоцитів було здійснене за рахунок додавання розчину кальцію хлориду до збагаченої тромбоцитами плазми перед введенням.

2.6. Методи статистичного аналізу.

Статистичне опрацювання даних проводили із використанням пакету програм SPSS-17. Дані у роботі представлені у вигляді середньої арифметичної величини (M) та середньої похибки середньої арифметичної (m). Величини на нормальність розподілу перевіряли за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Визначення достовірності відмінностей між двома вибірками проводили із використанням параметричного критерію Стьюдента (t). Відмінність вважали достовірною, якщо значення p не перевищувало 0,05 ($p \leq 0,05$) [194].

Основні результати цього розділу опубліковані у працях [195]

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ АНАТОМІЇ МІЖХРЕБЦЕВИХ ДИСКІВ ЗА УМОВ ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФІЧНОГО УРАЖЕННЯ ХРЕБТА

3.1. Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків щурів інтактної групи щурів

Міжхребцевий диск хвостового відділу хребта щурів інтактної групи являє собою драглисте ядро, яке з боків оточене фіброзним кільцем. На межі між зовнішніми волокнами фіброзного кільця та сусідніми хребцями паралельно одна до одної розташовані замикальні пластинки. Драглисте ядро посідає центральне положення диску та за площею займає його більшу частину. Ядро представлено пухким позаклітинним матриксом та двома видами клітин. Більшу частину популяції ДЯ становлять нотохордальні клітини. Вони представлені клітинами з великими ядрами та еозинофільною цитоплазмою, розміщені кластерами по 4-6 клітин. На периферії ДЯ розташовані поодинокі хондроцитоподібні клітини з невеликими ядрами та щільною цитоплазмою. Позаклітинний матрикс ядра знаходиться між скупченням нотохордальних клітин та за площею посідає більшу його частину. Волокна ФК мають поздовжній напрямок та утворюють фіброзні пластинки, які розташовані під кутом одна до одної. Між волокнами розташовані поодинокі веретеноподібні хондроцити. Замикальна пластинка представлена 1-2 шарами округлих та веретеноподібних базофільних клітин. З латеральних боків розташована пухка волокниста сполучна тканина, в якій спостерігаються судини, пучки сухожилків та м'язів. Товщина фіброзного кільця інтактної групи дорівнювала у середньому $(1,75 \pm 0,09)$ мм. Площа зрізу драглистого ядра у центральній частині диску склала $(4,21 \pm 0,16)$ мм² (рис. 3.1).

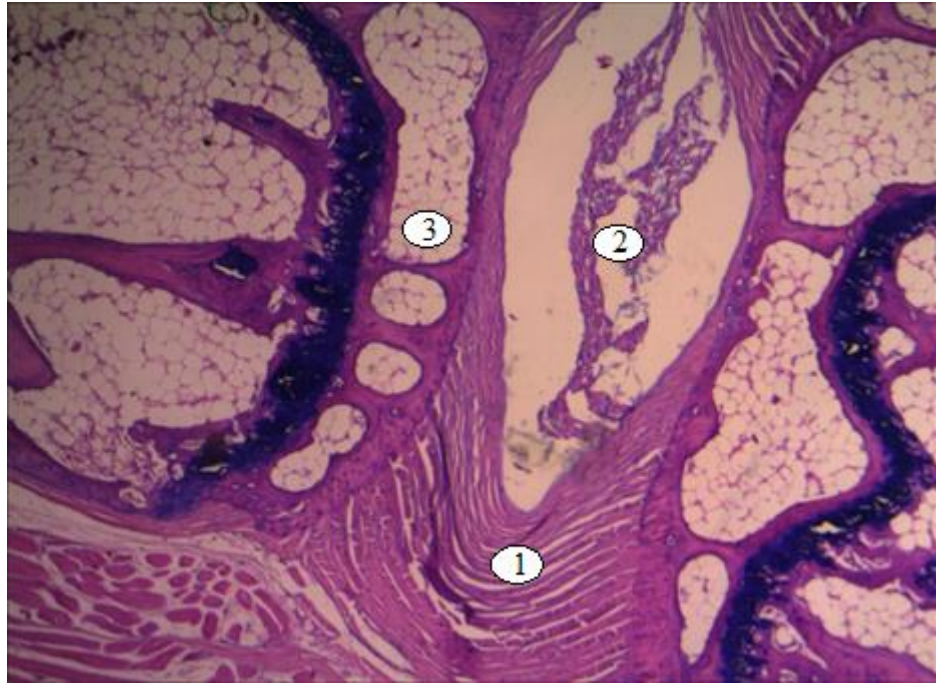


Рис. 3.1. Морфологія міжхребцевого диска хвостового сегмента щура контрольної групи. 1 – фіброзне кільце; 2 – драглисте ядро; 3 – тіло хребця. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 40.

Дослідження міжхребцевого диска щурів інтактної групи на ультраструктурному рівні показало, що колагенові волокна, які утворюють зовнішній шар фіброзного кільця мають діаметр $(159,7 \pm 6,3)$ нм. Вони формують фіброзні пластинки, які розташовані перпендикулярно одна до одної, товщиною у середньому (8573 ± 97) нм. Окремі пучки колагенових волокон сусідніх пластинок перепліталися між собою, за рахунок чого створювався міцний контакт й обмежувалося зміщення окремих пластинок (рис. 3.2).

Уздовж пучків колагенових волокон розташовані клітини видовженої форми, які за морфологічними особливостями відповідали фібробластам. Ядра клітин мали овальну форму з рівномірно розпушеним хроматином та одне ядерце. Цитоплазма утворювала багаточисленні відростки. Навколо ядра розташован добре розвинений ендоплазматичний ретикулум з великою кількістю рибосом, прикріплених до мембран у вигляді ланцюжків гранул, численні вільні рибосоми, овальної форми

мітохондрії та комплекс Гольджі, що може свідчити про високу синтетичну активність клітини.

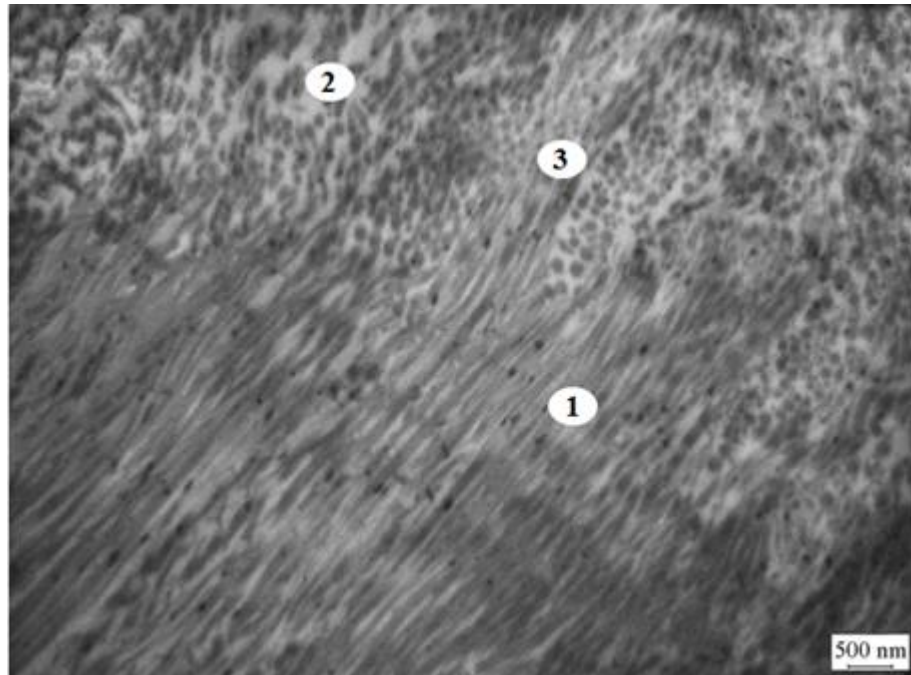


Рис. 3.2. Ультраструктура зовнішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска хвостового сегмента щура контрольної групи. 1 – пучки колагенових волокон; 2 – матрикс; 3 – переплетення колагенових пучків, зб. х 4800.

У внутрішньому шарі фіброзного кільця колагенові волокна мали переважно паралельний хід, але місцями виявляли вигини їх пучків з крутою дугою по їх ходу. Між пластинками у тонких прошарках матриксу розміщувалися тонкі волокна зі вираженою поперечною посмугованістю. Знаходячись під кутом один до одного вони утворювали сітку у комірках якої візуалізували клітини схожі на хондробласти. Вони містили округле ядро, яке займало більшу частину цитоплазми, помірно розвинений комплекс Гольджі та ендоплазматичну сітку, нечисленні мітохондрії. Навколо клітин виявляли зону просвітлення обмежену мережею тонких волокон (рис. 3.3). Діаметр волокон у середньому складав $(82,1 \pm 2,13)$ нм, а товщина фіброзних пластинок – (6645 ± 111) нм.

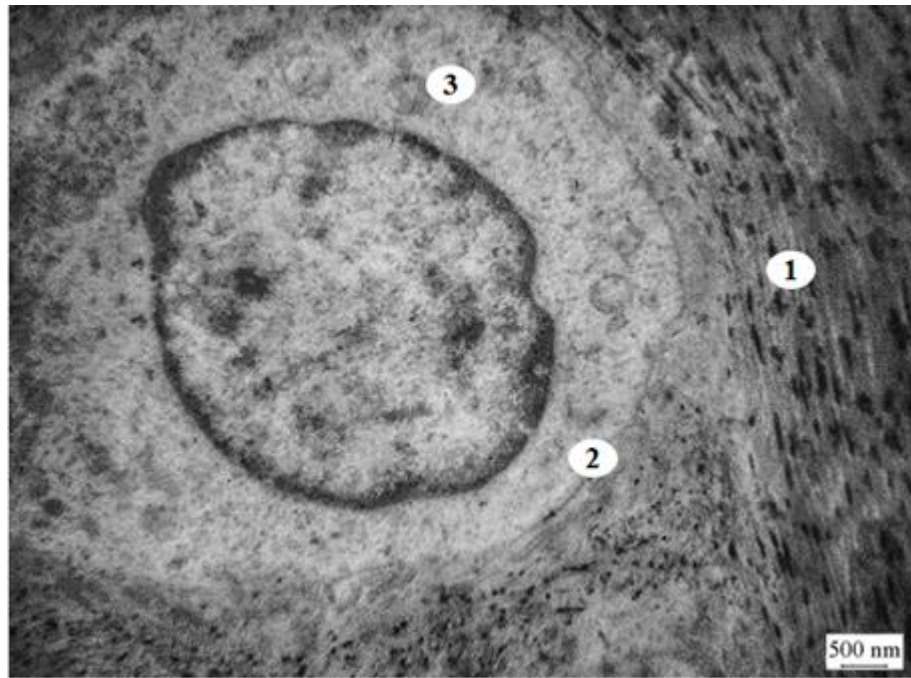


Рис. 3.3. Ультраструктура внутрішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска хвостового сегмента щура контрольної групи. 1 – поперечна посмугованість волокон; 2 – хондробласт; 3 – мітохондрія, зб. х 4800.

У драглистому ядрі знаходилися НХК зібрані у кластери, які були занурені у слабоволокнистий матрикс. Клітини розміщувалися одна біля одної так, що їх плазмолемі утворювали прості та щільні контакти. У місцях відсутності контактів спостерігали міжклітинні простори заповненні тонкими прошарками матриксу. Велике округле ядро містило, більшою мірою, рівномірно розпушений хроматин, але іноді спостерігали його скупчення. На периферії драглистого ядра зустрічалися клітини, які не були занурені у міжклітинний матрикс. Вони містили видовжене ядро, у цитоплазмі гранулярну ендоплазматичну сітку розміщену навколо мітохондрій з трубчастими кристами. Крім великої кількості вакуолей, лізосом та розвиненого комплексу Гольджі, у клітинах були наявні великі щільні гранули підвищеної електронної щільності (рис. 3.4).

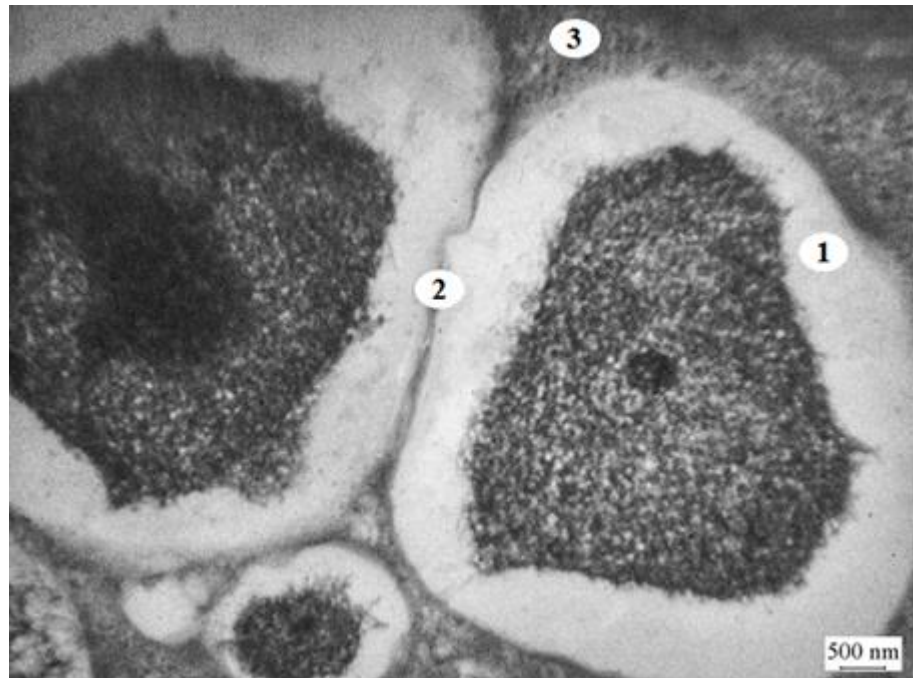


Рис. 3.4. Ультраструктура драглистого ядра міжхребцевого диска хвостового сегмента щура контрольної групи. 1 – нотохордальна клітина; 2 – міжклітинний простий контакт; 3 – помірно волокнистий матрикс, зб. х 4800.

3.2. Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків за умов дегенеративно-дистрофічного ураження хребта 60 діб

Гістологічне дослідження міжхребцевих дисків щурів з моделюванням ДДУХ впродовж 60 діб показало асиметрію його структур та патологічні зміни в них. На гістологічному препараті добре візуалізуються боки компресії та дистензії міжхребцевого диску. На боці компресії пластини фіброзного кільця зазнали значного ущільнення та розшарування. Пластини зовнішнього шару були більш розшаровані, ніж внутрішні. Внутрішні пластини, в свою чергу, зазнали більшого ущільнення. Частини колагенових пластин внутрішнього шару вибухають в порожнину драглистого ядра. У центральних ділянках компресії спостерігали виражену дезорганізацію та механічне руйнування колагенових волокон з безліччю поліморфних щілин. У цих ділянках виявляли поодинокі вогнища фібрoneкрозу, які доходили до $\frac{1}{2}$ товщини

фіброзного кільця (рис. 3.5.). На боці дистензії пластини ФК були напружені та мали чисельні розриви. Між колагеновими пластинами розташовувалися поодинокі фіброцити з ознаками дистрофічних змін (рис. 3.6).

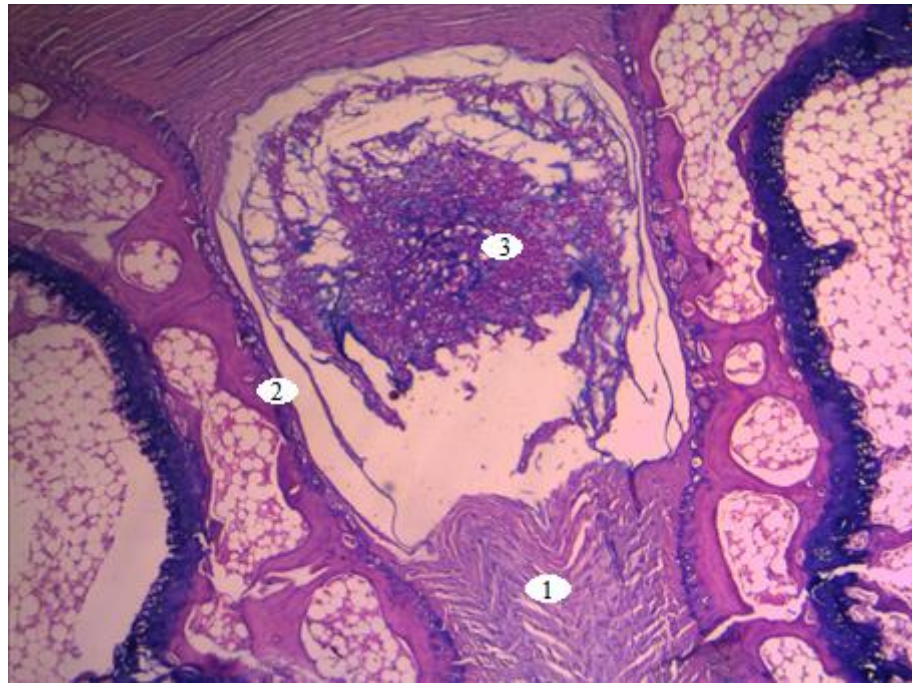


Рис. 3.5. Морфологія міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб. 1 – фіброзні волокна на боці компресії; 2 – замикальна пластинка; 3 – матрикс драглистого ядра. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 40.

Товщина ФК на боці компресії знизилась на 30,3 % ($p=0,01$) від товщини ФК у інтактних тварин на становила ($1,22\pm 0,12$) мм. На боці дистензії товщина ФК становила ($2,14\pm 0,15$) мм або на 22,3 % ($p\leq 0,05$) більше ніж у інтактних тварин, що пояснюється асиметричним навантаженням на диск (табл. 3.1).

Драглисте ядро було значно зменшене у розмірі та зміщене у бік декомпресії. Його площа у центральній частині диску становила ($2,37\pm 0,21$) мм², що складає лише 56,3 % ($p=0,001$) від площі ДЯ інтактних тварин. Матрикс драглистого ядра був неоднорідний. В центральній частині знаходилися комплекси з 3-4 нотохордальних клітин. Кластерна

структура їх розташування була переважно збережена. Між кластерами спостерігали місця неоднорідного матриксу та крупні безклітинні вогнища.

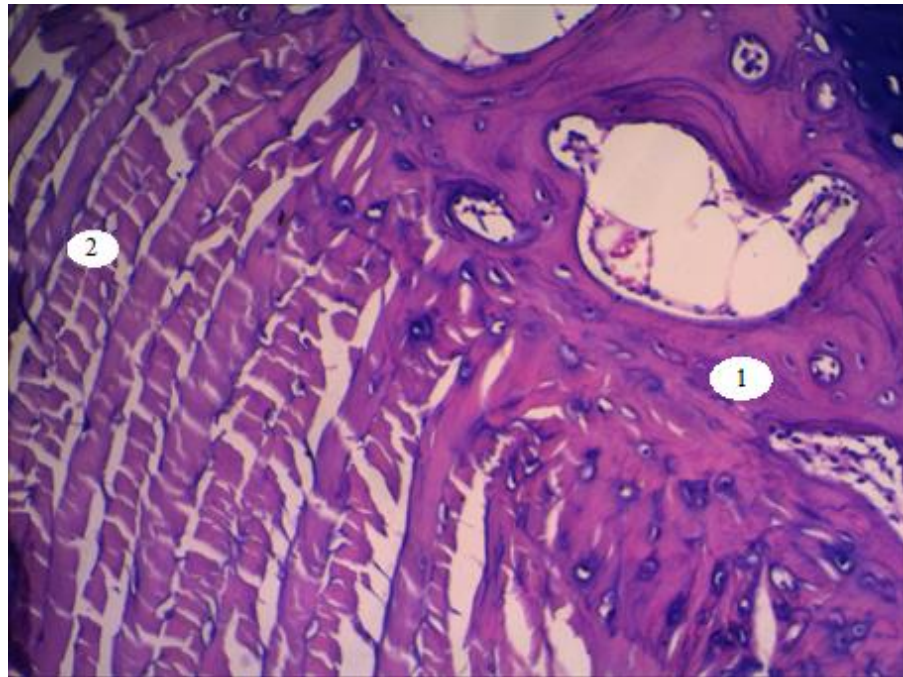


Рис. 3.6. Морфологія пластин фіброзного кільця міжхребцевого диска з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб. 1 – тіло хребця; 2 – пластини фіброзного кільця. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 200.

аблиця 3.1

Морфометричні показники міжхребцевих дисків у щурів

Параметри дослідження	I група (контроль)	II група (60 діб ДДУХ)	III група (90 діб ДДУХ)
Товщина ФК на боці компресії (мм)	1,72 ±0,09	1,22±0,12*	0,62±0,05**
Товщина ФК на боці дистензії (мм)	1,75±0,09	2,14±0,15*	1,48±0,05**
Площина ДЯ (мм ²)	4,21±0,16	2,37±0,21*	0,91±0,12**
Кут між ЗП (градуси)	~0	24,71±1,38*	30,16±1,50**

Примітка 1. * – $p \leq 0,05$ різниця є достовірною відносно контролю

Примітка 2. ** – $p \leq 0,05$ різниця є достовірною відносно попереднього терміну ДДУХ

Серед НХК спостерігали клітини з ознаками вакуольної дистрофії. На периферії ДЯ були розташовані поодинокі хондроцити невеликих розмірів з ознаками дегенеративних змін. Замикальна пластинка містила ділянки некрозу та звапніння. Їх клітини були розташовані поодинокі або попарно та мали переважно збережену структуру (рис. 3.7.). Кут між замикальними пластинками становив в середньому $(24,71 \pm 1,38)^\circ$.

Ультрамікроскопічне дослідження доповнює гістологічну картину дегенеративних змін в міжхребцевих дисках. Так, у зоні компресії відбувалася дезорганізація та сплющення пучків волокон зовнішнього шару фіброзного кільця. Фіброзні пластинки зовнішнього шару ФК були розшаровані, їх товщина становила в середньому (7415 ± 193) нм, що на 13,5 % ($p=0,001$) менше ніж у інтактних тварин. Колагенові волокна, що утворювали фіброзні пластинки, втрачали свій паралельний хід, ставали більш звивистими.

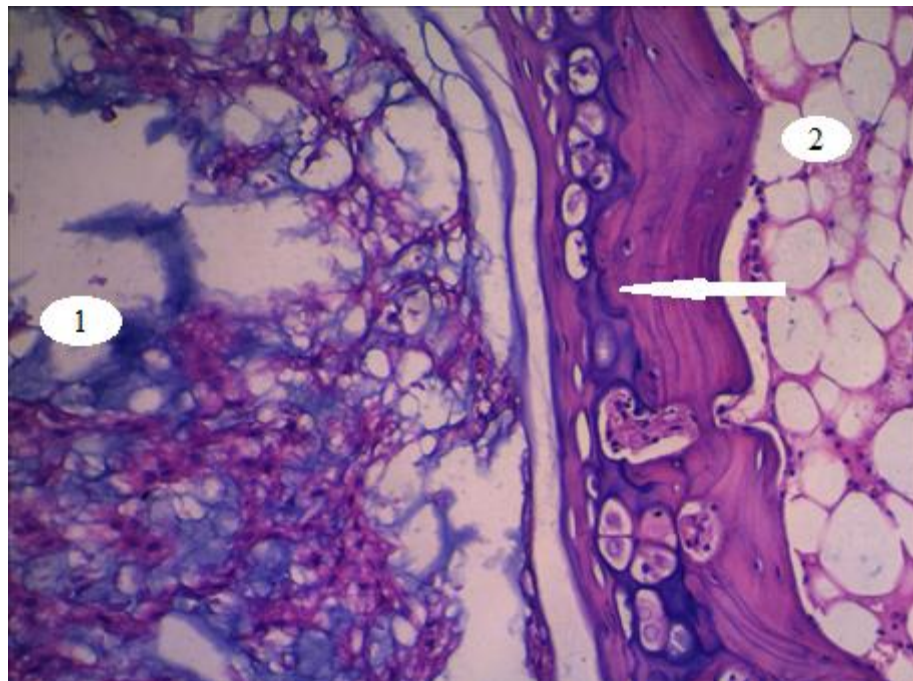


Рис. 3.7. Морфологія міжхребцевого диска з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб.

1 – матрикс драглистого ядра; 2 – тіло хребця; стрілка – замикальна пластинка з ознаками дегенерації. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 200.

Місцями відзначали їх розволокнення та фрагментацію. Товщина колагенових волокон зовнішнього шару дорівнювала $(115,3 \pm 7,35)$ нм, що на 27,8 % менше ($p=0,001$) від інтактних тварин (рис. 3.8).

Фібробласти візуально зменшувалися у розмірах, деформувалися, ядра ставали продовгуватими з неглибокими інвагінаціями каріолеми. Ядерце зміщувалося на периферію ядра. У цитоплазмі збільшувалася кількість вакуолей, розширювалися каналці ендоплазматичного ретикулула. Мітохондрії мали округлу форму, просвітлений матрикс та вкорочені кристи. Також, у цитоплазмі виявляли округлі включення, для яких була характерна висока електронна щільність.

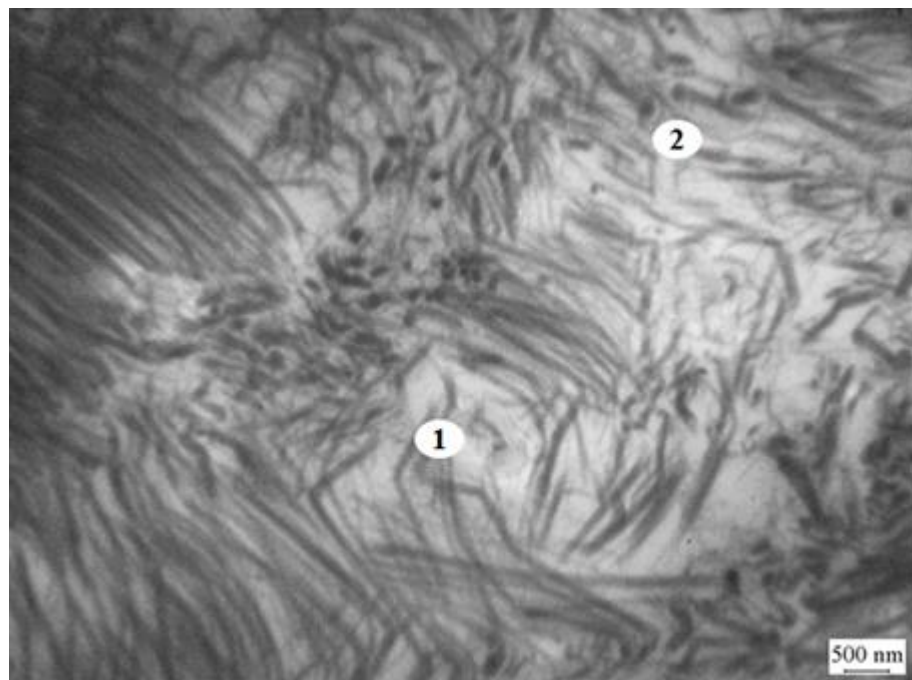


Рис. 3.8. Ультраструктура зовнішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб. 1 – розволокненні колагенові волокна; 2 – фрагментовані колагенові волокна, зб. х 4800.

У внутрішньому шарі фіброзного кільця колагенові волокна також зазнали ущільнення, прошарки матриксу між ними значно стоншені. Товщина фіброзних пластинок внутрішнього шару була зменшена до (6073 ± 131) нм або на 8,6 % ($p=0,01$) ніж у інтактних тварин. Діаметр

колагенових волокон дорівнював ($67,64 \pm 2,08$) нм, що на 17,7 % ($p=0,01$) менше ніж у інтактних тварин. Хондробласти, мали невелике округле ядро зі згуртованим гетерохроматином під каріолею. Навколо ядра відзначався просвітлений розширений перинуклеарний простір. Місцями між комплексом Гольджі та ендоплазматичним ретикуломом візуалізували великі круглі включення.

У ДЯ спостерігали НХК у стадії загибелі. Ядра ущільнювалися та розпадалися на окремі грудочки. Навколо ледь помітних ядерців спостерігалася зона просвітлення. Каріоплазма містила різної форми включення. Матрикс навколо клітин ущільнювався. Лакуни нотохордальних клітин зменшувалися у розмірах та були деформованими. У навколочлітинному матриксу виявляли великі щілиноподібні пустоти та розриви (рис. 3.9).

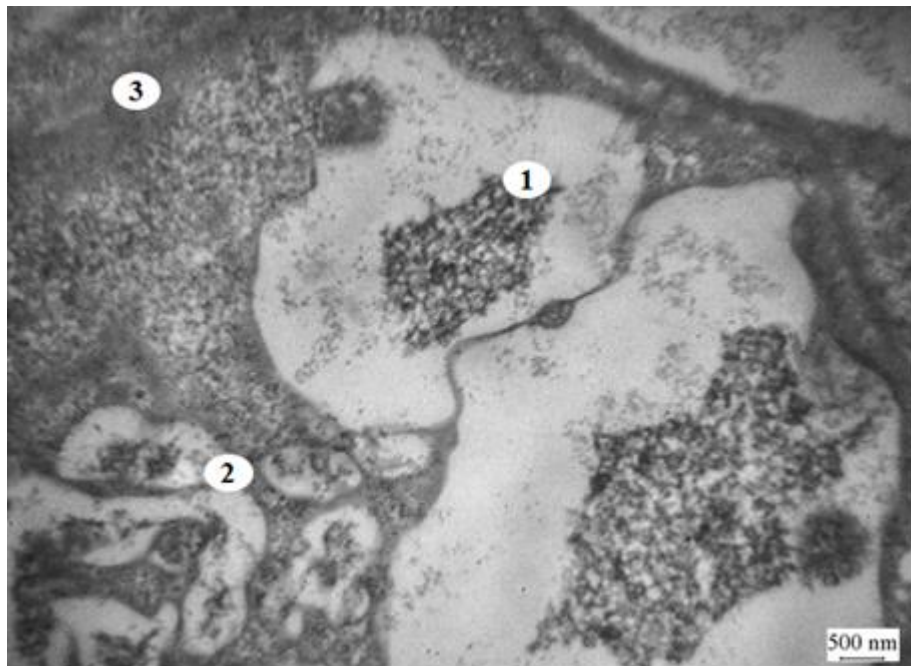


Рис. 3.9. Ультраструктура драглистого ядра міжхребцевого диска хвостового сегмента щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб.. 1 – ядро нотохордальної клітини; 2 – деформована лакуна; 3 – ущільнений матрикс, зб. х 4800.

3.3. Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків за умов дегенеративно-дистрофічного ураження хребта 90 діб

Морфологічне дослідження міжхребцевих дисків щурів з моделюванням ДДУХ впродовж 90 діб виявило ознаки прогресування дегенеративних змін в тканинах. На боці компресії різко зменшена товщина фіброзного кільця ($0,62 \pm 0,05$) мм, що менше на 63,9 % ($p=0,001$) ніж у інтактних тварин та менше на 49,2 % ($p=0,001$) ніж у тварин 60 діб патології. Пластини цієї ділянки зазнали значного сплюснення та мали чисельні розриви. Між пластинами знаходилися поліморфні щілини та вогнища некрозу. Глибина вогнищ некрозу доходить до прикріплення фіброзного кільця до хребця. Довкола вогнищ відсутні хондроцити. Межі фіброзного кільця та драглистого ядра з обох боків диску несиметричні. На боці компресії волокна ФК випинають в бік драглистого ядра. На боці дистензії пластини фіброзного кільця як би провисають. Серед них розташовані поодинокі фіброцити та хондроцити з ознаками дистрофії. Товщина ФК на боці дистензії становила ($1,48 \pm 0,05$) мм, що менше на 13,95 % ($p=0,01$) ніж у інтактних тварин та менше на 30,8 % ($p=0,001$) ніж у тварин 60 діб патології (рис. 3.10).

Драглисте ядро децентралізовано та різко зменшене в об'ємі. Його площа у центральній частині диску склала ($0,91 \pm 0,12$) мм², що становить лише 21,6 % ($p=0,001$) від площі ДЯ інтактних тварин або 38,4 % ($p=0,001$) від площі ядра 60 діб моделювання патології. Нотохордальні клітини розташовані групами по 2-3 клітини, формують солідні або сітчасті структури. У більшості НХК відмічається вакуолізація цитоплазми або ознаки некробіозу. На периферії ядра знаходяться поодинокі хондроцити з ознаками дегенеративних змін.

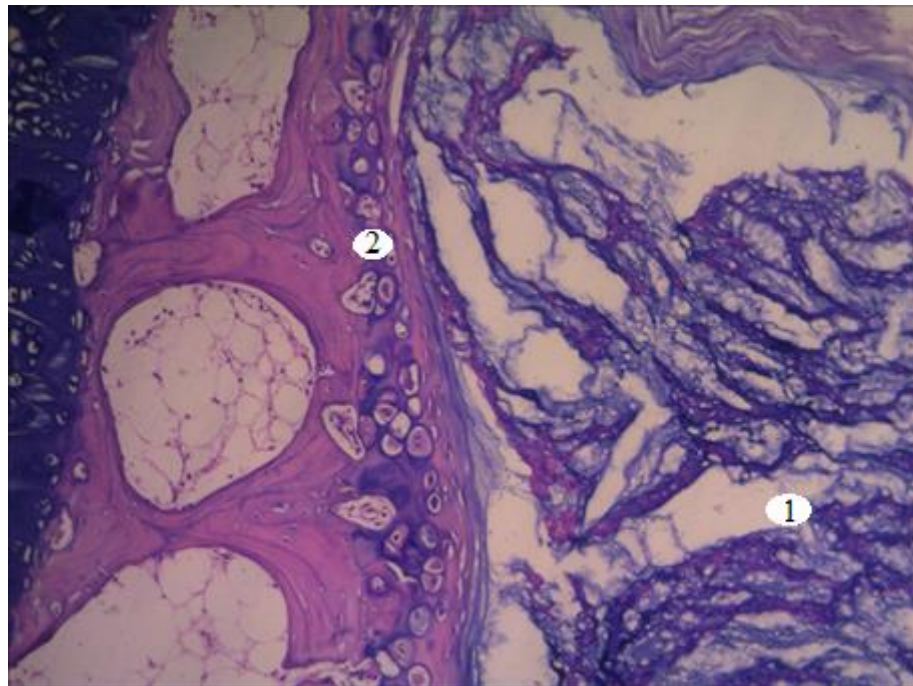


Рис. 3.10. Міжхребцевий диск щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб. 1 – кластери клітин драглистого ядра; 2 – дегенеративні зміни замикальної пластинки. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. x 100.

Замикальна пластинка містить чисельні вогнища некрозу та звапніння. Серед них хаотично розташовані клітини що мають ознаки дистрофічних змін. Цитоплазма більшості клітин деформована та містить неоднорідні включення. Їх ядра мають неправильну форму або фрагментовані. Кут між замикальними пластинками сусідніх хребців становив в середньому $(30,16 \pm 1,5)$ градусів (рис. 3.11).

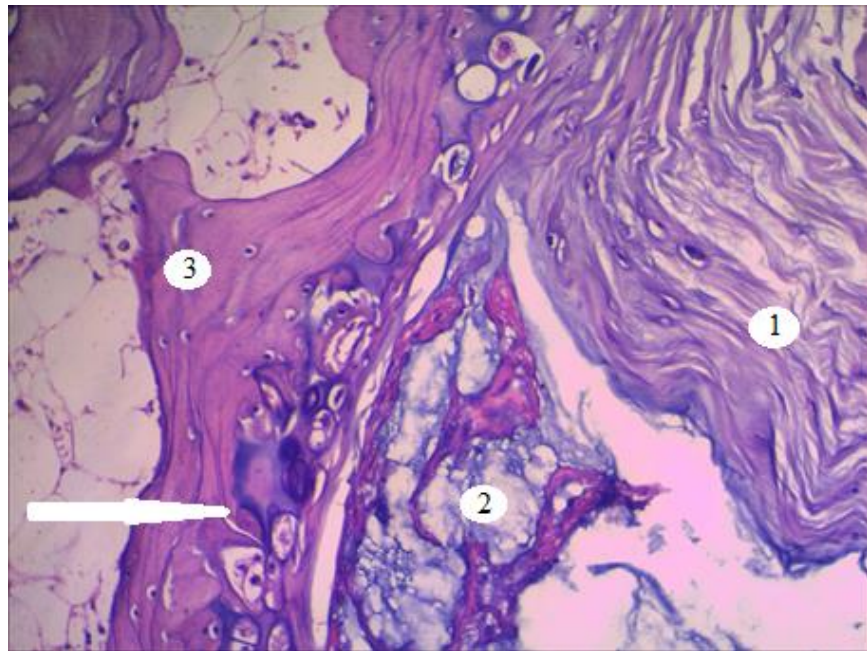


Рис. 3.11. Міжхребцевий диск щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб. 1 – випинання волокон ФК в бік ДЯ; 2 – розрідження матриксу ядра; 3 – тіло хребця; стрілка - вогнища некрозу замикальної пластинки. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 200.

В деяких препаратах в місцях максимальної компресії було нерівномірне розростання кісткової тканини. В місцях компресії визначали ділянки розростання хрящової тканини, яка замінювалася кістковою тканиною з утворенням щілиноподібних виростів (рис. 3.12).

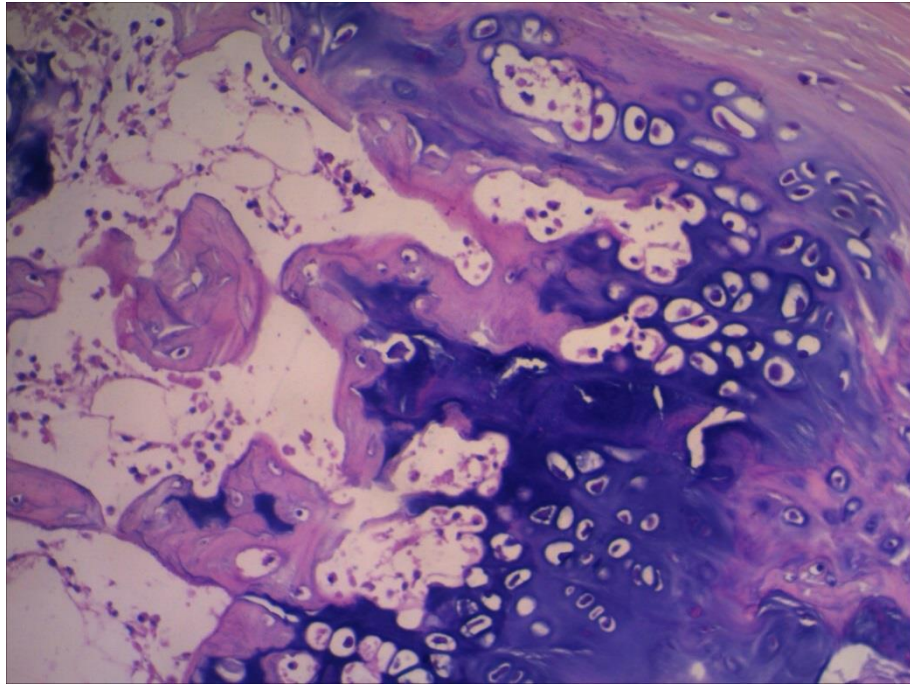


Рис. 3.12. Міжхребцевий диск щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб. Розростання кісткової тканини та вогнища некрозу хрящу. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. x 200.

Електрона мікроскопія зовнішнього шару фіброзного кільця виявила хаотичне розташування та розшарування пластин. Між пучками відзначали розширені прошарки матриксу, змінення просторової орієнтації колагенових волокон. Поперечні зрізи волокон були неправильної форми, з порізаними краями, що плавно окреслені. Місцями виявляли повні розриви пучків колагенових волокон та надриви фіброзних пластинок. Товщина пластинок зовнішнього шару фіброзного кільця складала (5658 ± 192) нм, що на 34 % ($p=0,001$) менше від показників у інтактних тварин та на 23,7 % ($p=0,001$) менше від товщини пластинок у тварин з 60 діб моделювання патології. Діаметр колагенових волокон зовнішнього шару ФК дорівнював $(93,45 \pm 6,1)$ нм, що на 41,5 % ($p=0,001$) менше від інтактних тварин та на 19 % ($p=0,5$) менше ніж у тварин попереднього терміну патології (рис. 3.13).

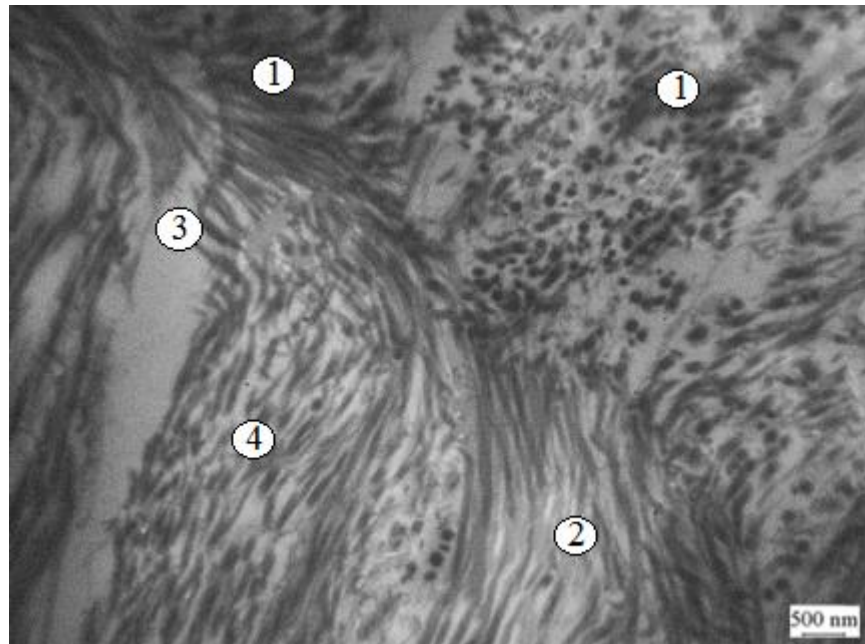


Рис. 3.13. Ультраструктура зовнішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб. 1 – ущільнення колагенових волокон, 2 – розшарування колагенових волокон, 3 – розриви колагенових волокон, 4 – фрагментація колагенових волокон. зб. х 4800.

Пластинки внутрішнього шару ФК зазнали значного ущільнення та мали чисельні розриви. Колагенові волокна, що їх утворювали, місцями втрачали свою структуру. Товщина фіброзної пластинки внутрішнього шару дорівнювала (5535 ± 105) нм, або менше на 16,7 % ($p=0,001$) ніж у інтактних тварин, та менше на 8,9 % ($p=0,5$) ніж у тварин 60 діб моделювання патології. Діаметр колагенових волокон внутрішнього шару ФК склав $(58,62 \pm 3,5)$ нм, що менше на 28,6 % ($p=0,001$) ніж у інтактних тварин та менше на 13,3 % ($p=0,5$) ніж у тварин попереднього терміну патології (табл.3.2).

Таблиця 3.2

Морфометричні показники ультрамікроскопічного дослідження міжхребцевих дисків у щурів

Параметри дослідження	I група (контроль)	II група (60 діб ДДУХ)	III група (90 діб ДДУХ)
Діаметр колагенових волокон зовнішнього шару ФК (нм)	159,7±6,3	115,3±7,4*	93,45±6,1**
Діаметр колагенових волокон внутрішнього шару ФК (нм)	82,1±2,1	67,6±2,1*	58,62±3,5**
Товщина фіброзних пластинок зовнішнього шару ФК (нм)	8573±97	7415±193*	5658±192**
Товщина фіброзних пластинок внутрішнього шару ФК (нм)	6645±111	6073±131*	5535±105**

Примітка 1. * – $p \leq 0,05$ різниця є достовірною відносно контролю

Примітка 2. ** – $p \leq 0,05$ різниця є достовірною відносно попереднього терміну ДДУХ

Між пластинами фіброзного кільця були розташовані поодинокі фіброцити та хондробласти, переважно з ознаками дистрофічних змін. Хондробласти внутрішнього шару фіброзного кільця були більш сплюснені та деформовані. Їх цитоплазма була неправильної форми та мала велику кількість вакуолей з різною електронною щільністю. Навколоклітинний лакунарний простір не відзначався. Ядра набували видовженої форми. Каріолема мала глибокі інвагінації та була значно розпушена. Спостерігали вогнища лізису ядерної мембрани. Ядерця не візуалізували. Хроматин скупчувався у грудочки та концентрувався по периферії матриксу ядра. Мітохондрії були значно набряклі з просвітленим матриксом та зруйнованими кристами. Цистерни ендоплазматичного ретикулуму були значно розширеними, їх мембрани розпушеними. Загалом, структура більшості органел не визначалася (рис. 3.14).

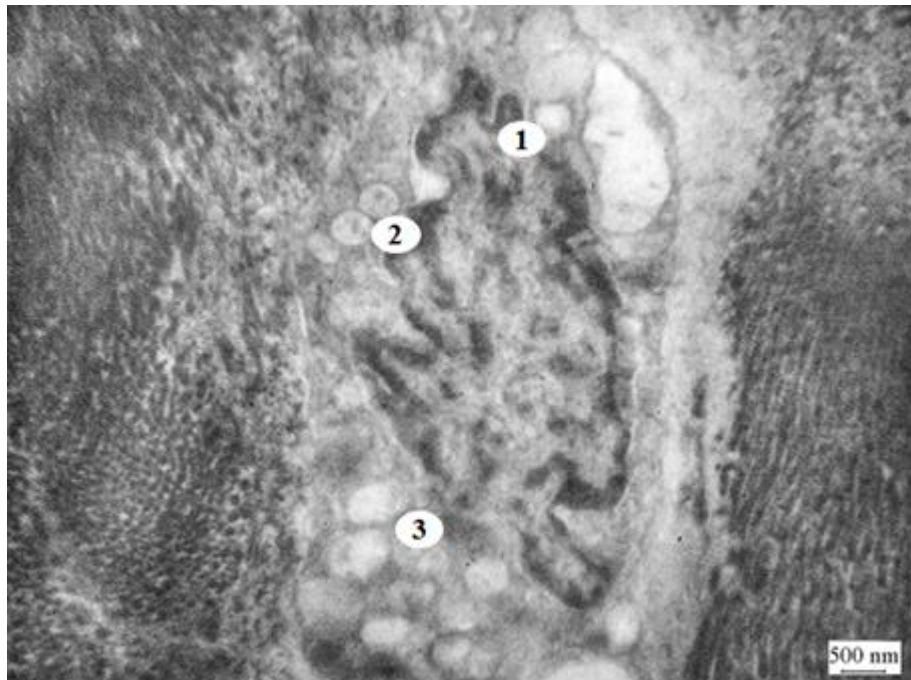


Рис. 3.14. Ультраструктура внутрішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб. 1 – інвагінації каріолеми; 2 – набряклі мітохондрії; 3 – вакуолізована цитоплазма, зб. x 4800.

Драглисте ядро мало ущільнений та неоднорідний матрикс. Кластери нотохордальних клітин були майже зруйнованими. Ядра багатьох НХК повністю фрагментувалися або відзначали лише невеликі його залишки. Лакуни звужувалися, набували видовжено-сплющеної форми, заповнювалися детритом. Спостерігали й порожні капсули. Матрикс навколо клітин ущільнювався, а в окремих його ділянках виявляли численні вакуолі.

Отже, результати морфологічних та морфометричних досліджень міжхребцевих дисків інтактних щурів вказують на відповідність їх будови структурі міжхребцевих дисків людини та можуть бути застосовані для порівняння з іншими досліджуваними групами тварин.

Морфологічні та морфометричні дослідження МХД щурів з модельованим ДДУХ впродовж 60 діб, порівняння їх результатів з інтактною групою тварин дозволяє стверджувати про наявність

достовірних дегенеративно-дистрофічних змін у тканинах дисків, які супроводжуються зниженням морфометричних показників диску.

Дослідження морфології МХД щурів з модельованим ДДУХ впродовж 90 діб та порівняння цих показників з даними інтактних тварин вказують на прогресивний характер дегенеративно-дистрофічного ураження дисків.

Основні результати цього розділу опубліковані у працях [196, 197].

РОЗДІЛ 4
ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ КОРЕКЦІЇ
ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФІЧНОГО УРАЖЕННЯ ХРЕБТА
ДИКЛОФЕНАКОМ НАТРІЮ

4.1. Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків за умов дегенеративно-дистрофічного ураження хребта 60 діб та введення диклофенаку натрію

Оцінку результатів проводили через 14 та 28 діб після закінчення введення НПЗЗ.

Через 14 діб після введення диклофенаку натрію. Гістологічне дослідження міжхребцевих дисків показало ознаки дегенеративно-дистрофічних змін в міжхребцевих дисках. Тканини МХД були розташовані асиметрично. Добре видно різницю між боками компресії та дистензії за рахунок зменшення товщини ФК на боці компресії. Товщина ФК на боці компресії становила $(1,20 \pm 0,15)$ мм, що менше на 30,2 % ($p=0,01$) ніж у інтактних тварин. На боці дистензії товщина ФК становила $(2,05 \pm 0,16)$ мм, що більше на 17,1 % ($p=0,05$) ніж у інтактних тварин та пояснюються асиметрією навантаження на диск. Статистичної різниці в показниках товщини ФК на стороні дистензії між групами тварин з корекцією диклофенаком та без корекції також немає. На боці компресії фіброзні пластинки були сплюснені та мали випуклості в різні напрямки. Фіброзні пластинки зовнішнього шару ФК були розшаровані, мали однотипні та поліморфні щілини. Пластинки внутрішнього шару ФК були значно сплюснені. В місцях максимальної компресії диску відмічали поодинокі вогнища фібрoneкрозу колагенових пластин. Глибина фібрoneкрозу доходила до $\frac{1}{2}$ товщини ФК. Довкола вогнищ некрозу були розташовані поодинокі хондроцити (рис. 4.1.).

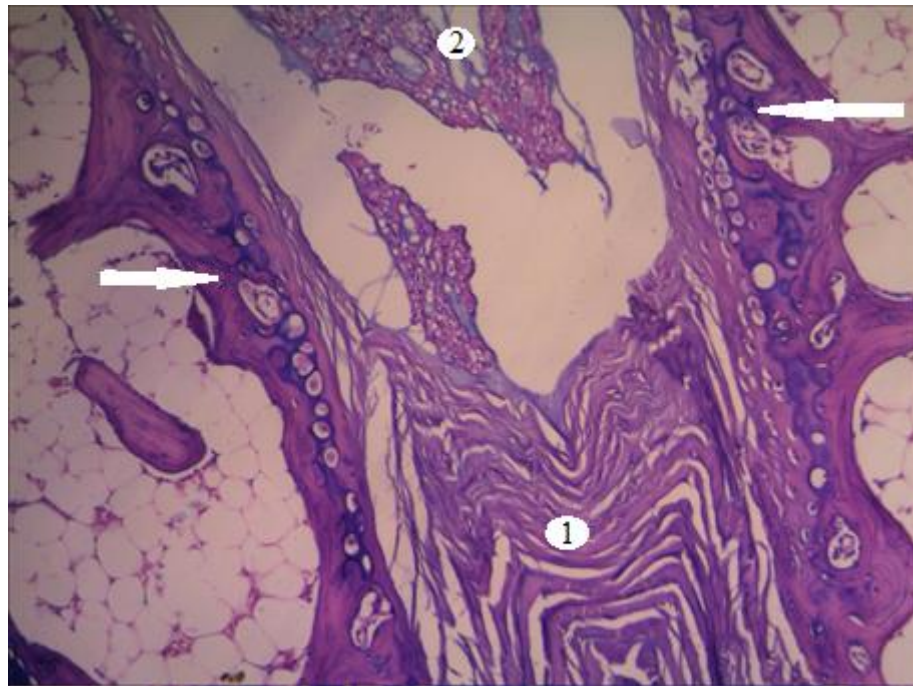


Рис. 4.1. Морфологія міжхребцевого щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб та через 14 діб після корекції нестероїдними протизапальними засобами. 1 – сплющення пластин фіброзного кільця на боці компресії; 2 – матрикс драглистого ядра; стрілки – вогнища некрозу та кальцифікації замикальної пластинки. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 40.

Драглисте ядро зменшене у розмірі та зсунуте в бік дистензії. Його площа в середині міжхребцевого диску склала $(2,55 \pm 0,19)$ мм², що становило 60,6 % ($p=0,001$) від площі інтактних тварин. Нотохордальні клітини ДЯ розташовані групами, утворювали гнізда та сітчасті структури. Між ними знаходився неоднорідний матрикс з щілиноподібними пустотами та безклітинними лакунами. У багатьох клітин відмічається вакуолізація цитоплазми та некробіоз. Замикальна пластинка містила вогнища некрозу та звапніння, місцями була повністю зруйнована (рис. 4.1, 4.2). Більшість клітин мали ознаки дистрофічних та некротичних змін. Кут між замикальними пластинками склав $(23,56 \pm 1,4)$ градусів.

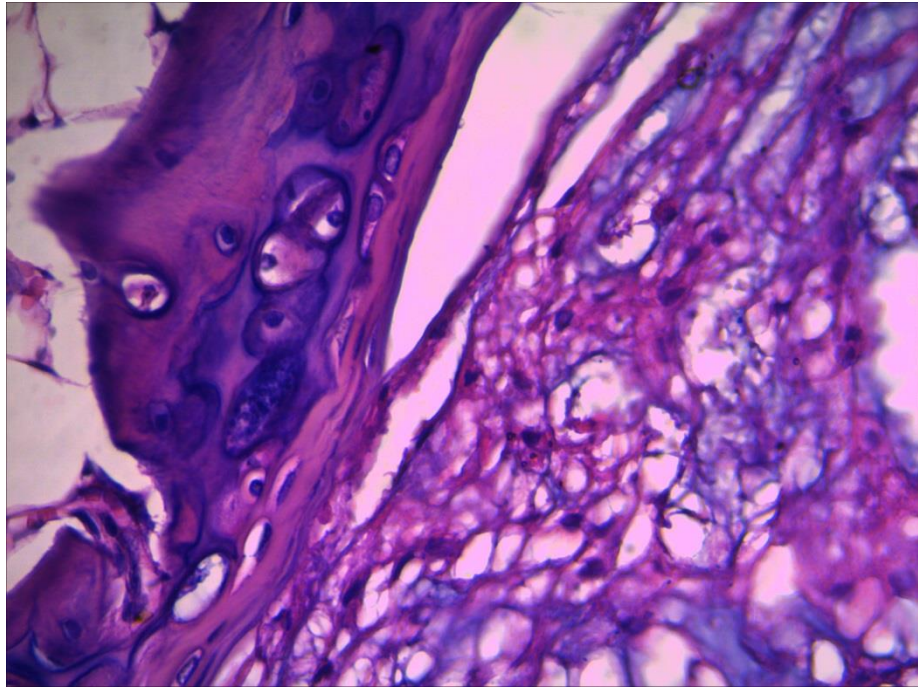


Рис. 4.2. Морфологія замикальної пластинки та драглистого ядра міжхребцевого диску щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб та через 14 діб після введення диклофенаку натрію. Забарвлення гематоксилин-еозином зб. х 200.

Дослідження ультратонких зрізів фіброзного кільця міжхребцевих дисків щурів за умов 60 діб моделювання асиметричної компресії-дистензії через 14 діб після введення диклофенаку натрію виявило зменшення дезорганізації пучків колагенових волокон. Прошарки протеогліканового матриксу звужувалися. Фрагментовані волокна ущільнювалися й утворювали майже паралельні скупчення. Місцями зберігалось розволокнення, розшаровування та втрата чіткої орієнтації фіброзних пластинок (рис. 4.3). Товщина фіброзних пластинок зовнішнього шару становила (7852 ± 180) нм, що менше на 8,4% ($p \leq 0,01$) ніж у інтактних тварин, але більше на 5,9 % ($p \leq 0,01$) ніж у тварин без корекції. Діаметр колагенових волокон зовнішнього шару становив $(136,8 \pm 6,6)$ нм, що менше на 14,3 % ($p \leq 0,05$) ніж у інтактних тварин та більше на 18,6 % ($p \leq 0,05$) ніж у тварин без корекції .

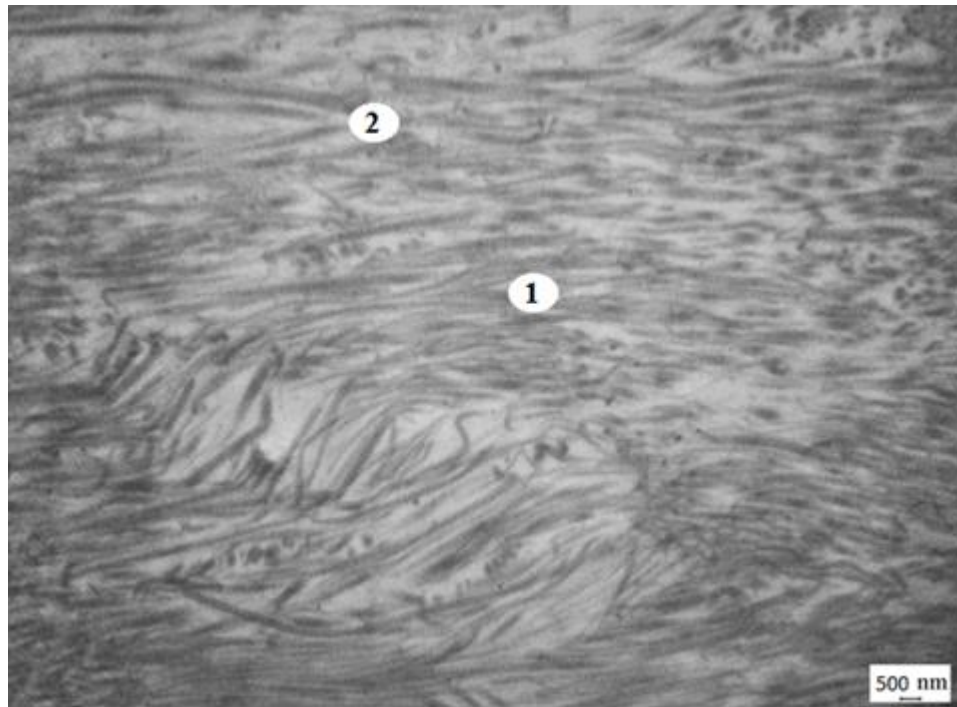


Рис. 4.3. Ультраструктура зовнішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диску хвостового сегменту щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта протягом 60 діб та через 14 діб після введення диклофенаку натрію. 1 – скупчення фрагментованих колагенових волокон; 2 – прошарки протеогліканового матриксу, зб. х 4800.

У внутрішньому шарі фіброзного кільця спостерігали значне ущільнення пучків колагенових волокон. Добре візуалізували їх контури та поперечна посмугованість. Місцями відзначали кутоподібні вдавлення фіброзних пластинок. Діаметр колагенових волокон внутрішнього шару дорівнював ($72,91 \pm 2,23$) нм, що на 11,2 % ($p=0,01$) менше ніж у інтактних тварин. Товщина фіброзної пластинки внутрішнього шару становила (6000 ± 118) нм, що менша на 9,7 % ($p=0,01$) ніж в інтактних тварин. Ядра хондробластів набували круглої форми, каріолема утворювала інвагінації. Хроматин дифузно розміщувався по всьому матриксу ядра. Контур плазмолем та навколклітинний простір добре візуалізували (рис. 4.4).

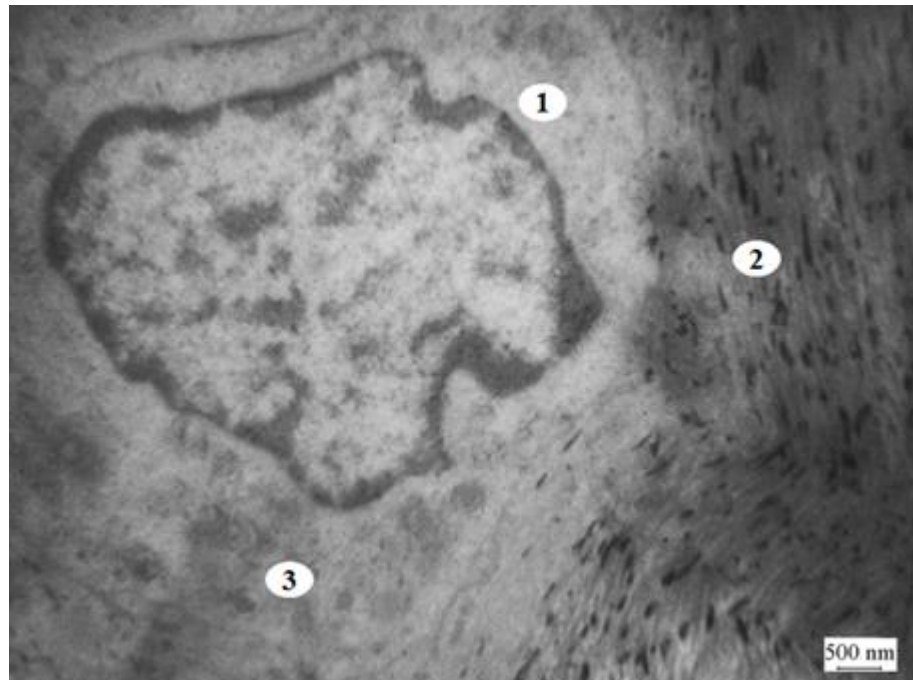


Рис. 4.4. Ультраструктура внутрішнього шару фіброзного кільця міжхребцевої диску хвостового сегменту щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта протягом 60 діб та через 14 діб після введення диклофенаку натрію. 1 – хондробласт; 2 – поперечна посмугованість волокон; 3 – навколклітинний простір, зб. х 4800.

У драглистому ядрі спостерігався гомогенний, ущільнений матрикс із щілиноподібними пустотами та безклітинними лакунами. Нотохордальні клітини були зібрані у кластери по 3-4 клітини. Цитоплазма та каріоплазма НХК зазнали ущільнення та були деформованими. Деякі ядра розпадалися на грудочки.

28-а доба лікування. При гістологічному дослідженні виявлено збереження асиметрії розташування ДЯ в тканинах диску, зменшення висоти фіброзного кільця на боці компресії та дистрофічні зміни в тканинах диску. Товщина фіброзного кільця на боці компресії в середньому становила $(1,05 \pm 0,15)$ мм, що статистично не відрізняється від 14-ти діб спостереження після введення диклофенаку натрію. На боці дистензії товщина ФК становила $(1,95 \pm 0,16)$ мм, що також суттєво не відрізняється від групи попереднього терміну лікування. Пластинки ФК

кільця були розшаровані та мали чисельні розриви. На боці компресії волокна були ущільнені та дезорганізовані, деякі з них випинали в тканину ДЯ. Серед волокон спостерігаються поліморфні щілини та вогнища некрозу, які доходять до $\frac{1}{2}$ товщини ФК. Пластини фіброзного кільця містили чисельні розриви. Між ними знаходилися поодинокі фіброцити з ознаками дегенеративних змін (рис 4.5).

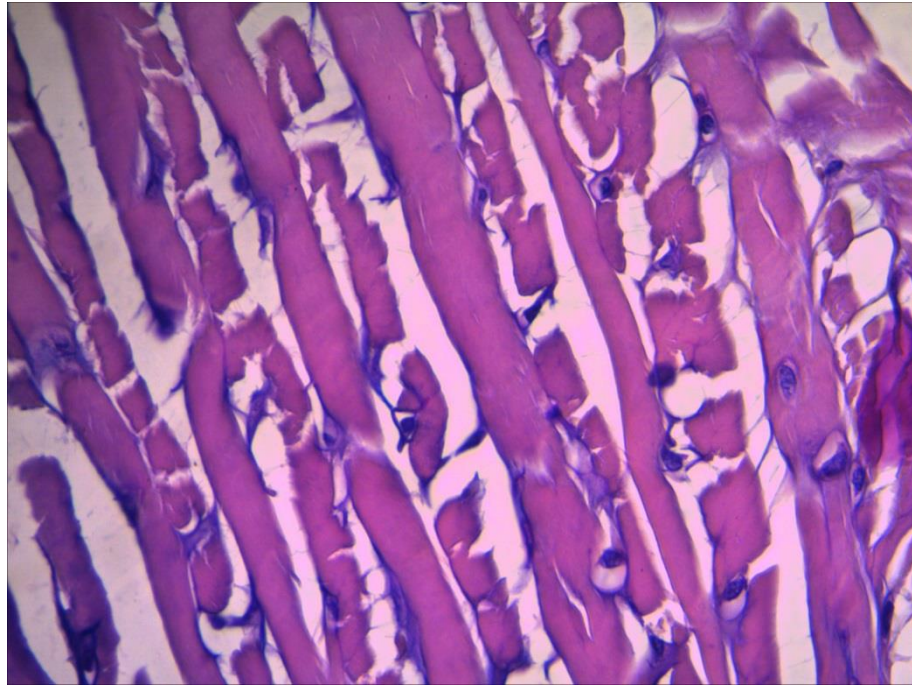


Рис. 4.5. Морфологія пластинок зовнішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб через 28 діб після введення диклофенаку натрію. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. x 200.

Драглисте ядро було зменшено у розмірі. Його площа у середній частині диску склала $(2,54 \pm 0,19)$ мм², що статистично не відрізнялося від попереднього терміну спостереження. Матрикс ДЯ був неоднорідний та мав спустошені ділянки. Нотохордальні клітини утворювали скупчення різноманітної форми. Серед них були клітини, що мали ознаки дегенеративних та некротичних змін (рис. 4.6).

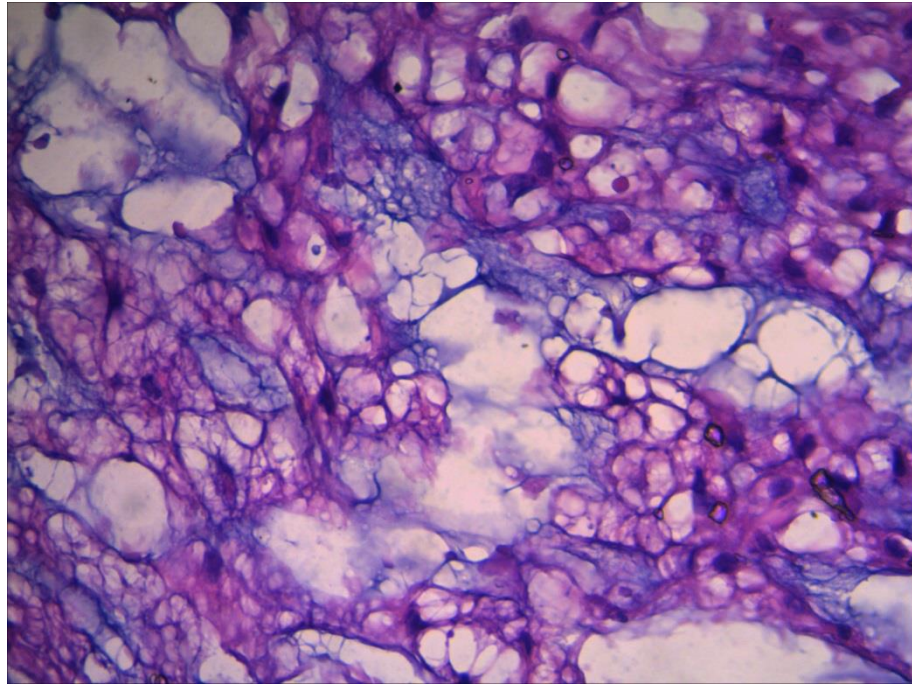


Рис. 4.6. Морфологія драглистого ядра міжхребцевого диску щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб через 28 діб після введення диклофенаку натрію. Неоднорідний матрикс зі спустошеними ділянками. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. x 200.

Ультрамікроскопічне дослідження тканин міжхребцевих дисків щурів з 60-ти денним моделюванням ДДУХ через 28 діб після введення диклофенаку натрію виявило чисельні ділянки дезорганізації пластинок зовнішнього шару фіброзного кільця. Ущільнення пучків колагенових волокон супроводжувалося зменшенням товщини прошарок матриксу. Товщина пластинок зовнішнього шару ФК становила (7675 ± 182) нм, діаметр колагенових волокон – $(131 \pm 6,23)$ нм. Різниця цих показників з відповідними показниками у групі 14-ти діб лікування диклофенаком зіставна зі статистичною похибкою. Колагенові волокна внутрішнього шару фіброзного кільця також зазнали ущільнення. Прошарки матриксу між ними стоншувалися. Діаметр волокон склав $(72,86 \pm 3,59)$ нм, товщина пластинок – (5813 ± 115) нм, що статистично не відрізняються від показників групи 14-ти діб лікування диклофенаком. Хондробласти

зменшувалися у розмірах та були деформованими. Їх цитоплазма мала округлі включення високої електронної щільності. Ядра набували довгастої форми, містили ядрце на периферії або окремі включення різної форми. Матрикс ДЯ зазнав ущільнення та містив у своєму складі порожнечі та безклітинні лакуни. Цитоплазма нотохордальних клітин була зменшена та деформована. Ядра клітин ущільнені, деякі розпадалися на грудочки. Їх каріоплазма містила різноманітні включення.

4.2. Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків за умов дегенеративно-дистрофічного ураження хребта 90 діб та введення диклофенаку натрію

Через 14 діб після введення диклофенаку натрія. У препаратах міжхребцевого диску відзначається різка асиметрія всіх структур диску. Боки компресії та дистензії МХД визначаються різницею товщини фіброзного кільця. На боці компресії товщина фіброзного кільця становила $(0,68 \pm 0,05)$ мм, що менше на 61,1 % ($p=0,001$) ніж товщина ФК інтактних тварин. На боці дистензії товщина ФК склала $(1,52 \pm 0,09)$ мм, що менше на 13,1 % ($p \leq 0,01$) ніж товщина ФК інтактних тварин. Кут між замикальними пластинками склав $(28,45 \pm 1,7)$ градусів. Пластинки зовнішнього та внутрішнього шарів ФК мали виражене розшарування та дезорганізації колагенових волокон. З'являються поліморфні і різноспрямовані щілини. В середньому шарі ФК спостерігаються осередки деструкції колагенових волокон із формуванням гомогенних безклітинних фокусів (рис. 4.7).

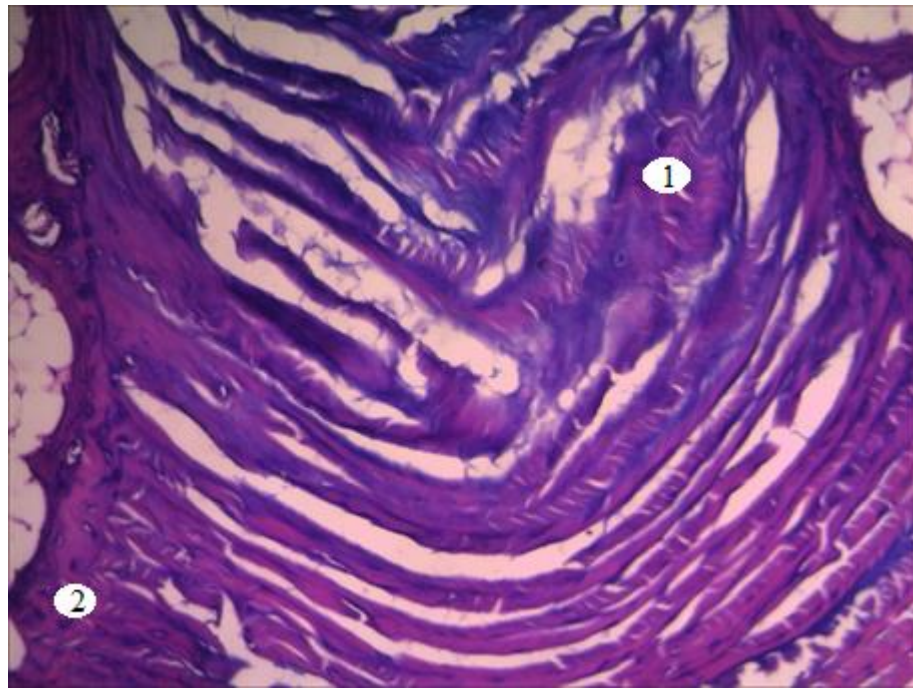


Рис. 4.7. Ділянка міжхребцевого диску на боці дистензії щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб через 14 діб після корекції нестероїдними протизапальними засобами. 1 – деструкція волокон фіброзного кільця; 2 – замикальна пластинка. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. x 100.

Драглисте ядро зміщене у бік дистензії. Площа, що займають тканини ядра, склала $(0,98 \pm 0,08)$ мм², що складає 23,3 % ($p=0,001$) від площі ядра інтактних тварин. На боці компресії відбувається злиття матриксу ДЯ та внутрішнього шару ФК. Спостерігаються ділянки різко деформованого матриксу та некрозу. Серед волокон ФК знаходяться хондроцити в стані вакуольної дистрофії та осередки фібрoneкрозу. Навколо зон тканинної деструкції місцями виявляються хондроцити із гіперхромними ядрами. На периферії матриксу ДЯ поодинокі розташовуються хондроцити, зрідка виявляються групки, що складаються із 2-4 клітин. Більшість клітин мають ознаки гідропічної та балонної дистрофії. У центральній частині ДЯ відзначаються гнізда нотохордальних клітин, цитоплазма яких вакуолізована. В тканинах замикальної пластинки також виявляються ознаки дегенеративних змін. Клітини мали збільшену

цитоплазму, їх яра набували неправильної форми. Між клітинами зустрічали вогнища некрозу та звапніння (рис. 4.8).

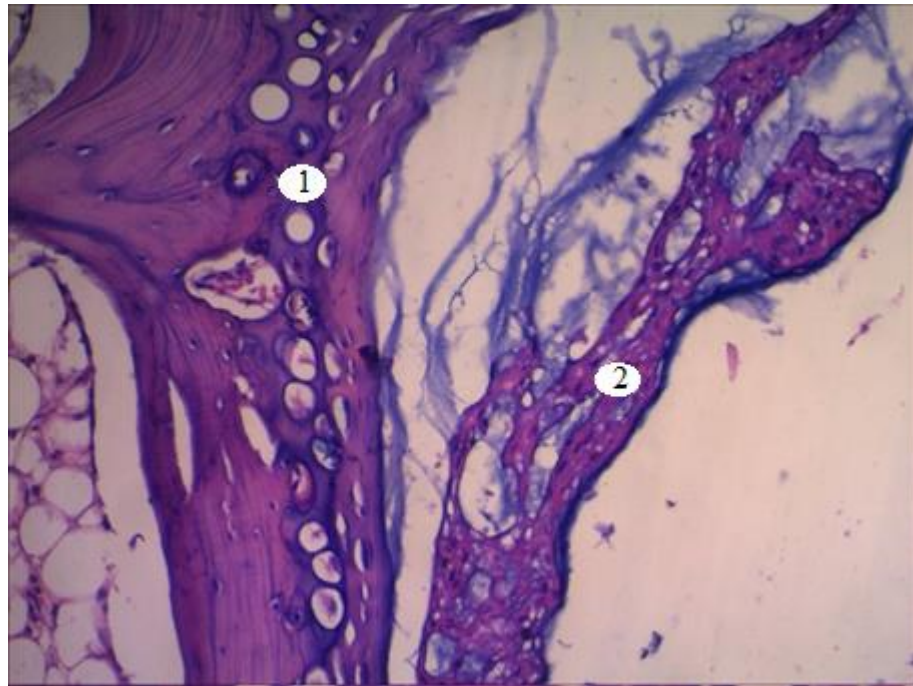


Рис. 4.8. Замикальна пластинка (1) та частина драглистого ядра (2) міжхребцевого диску щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб через 14 діб після корекції нестероїдними протизапальними засобами. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 200.

Ультрамiкроскопiчне дослідження МХД з модельованим ДДУХ впродовж 90 діб та через 14 діб після корекції НПЗЗ підтвердила та доповнила ознаки дегенеративних змін в тканинах. Контури окремих волокон зовнішнього шару фiброзного кiльця та їх пучкiв мiсцями майже не вiдзначали за рахунок значного їх ущiльнення. Вiдмiчали осередки розволокнення колагенових волокон i невеликi трiщини в матриксi мiж ними. Товщина пластинок зовнішнього шару ФК склала (6207 ± 177) нм, що на 27,6 % ($p=0,001$) менше нiж пластинки iнтактних тварин. Дiаметр колагенових волокон зовнішнього шару був на 29,7 % ($p=0,001$) менше нiж дiаметр волокон у iнтактних тварин та становив $(112,17 \pm 7,2)$ нм. У внутрiшньому шарі фiброзного кiльця поперечна посмугованiсть волокон

відмічалася слабо. Зберігалися гомогенні ділянки дезорганізації матриксу, радіальні розриви та надриви фіброзних пластин. Діаметр колагенових волокон внутрішнього шару становив $(65,32 \pm 3,6)$ нм, що на 20,4 % ($p \leq 0,01$) менше ніж у інтактних тварин. Товщина фіброзних пластинок була зменшена на 15,5 % ($p \leq 0,01$) від інтактних тварин та становила (5615 ± 123) нм. Хондробласти зберігали свою форму. Ядра містили рівномірно розпушений хроматин, округлі ядерця. Цитоплазма містила вакуолі та високої електронної щільності гранули. Мітохондрії були зменшених розмірів із вкороченими кристами та просвітленим матриксом. Цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулума були нерівномірно розширеними та мали вигляд електронно-прозорих вакуолей. Комплекси Гольджі були дезорганізованими та оточеними великими з гомогенним вмістом пухирцями (рис. 4.9).

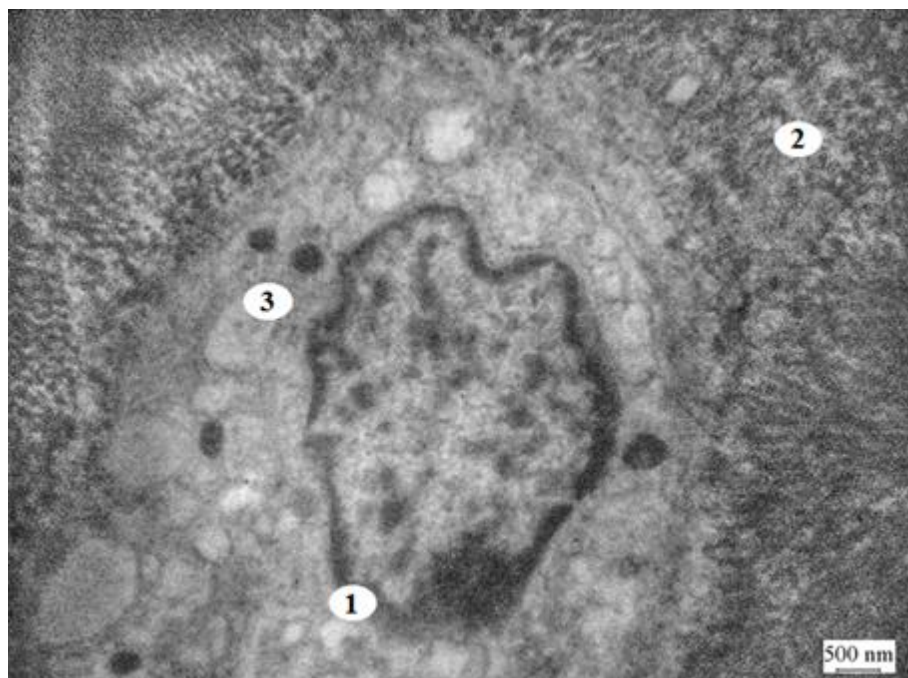


Рис. 4.9. Ультраструктура внутрішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска щурів з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб та через 14 діб після введення нестероїдних протизапальних засобів. 1 – розширені цистерни ендоплазматичного ретикулума; 2 – гомогенні ділянки дезорганізації матриксу; 3 – великі вакуолі, зб. х 4800.

У міжклітинній речовині драглистого ядра містилася велика кількість матриксних везикул різного діаметра, які утворювалися шляхом вибухання ділянки плазмолемми нотохордальних клітин, що може свідчити про повну дезінтеграцію клітин. Разом з тим виявляли незруйновані НХК, але без чіткої синцитієподібної структури. Також, спостерігали порожнини заповнені детритом, спустошені капсули нотохордальних клітин, іноді з пікнотичними ядрами. Матрикс був значно ущільнений з невеликою кількістю тріщин та щілин (рис. 4.10).

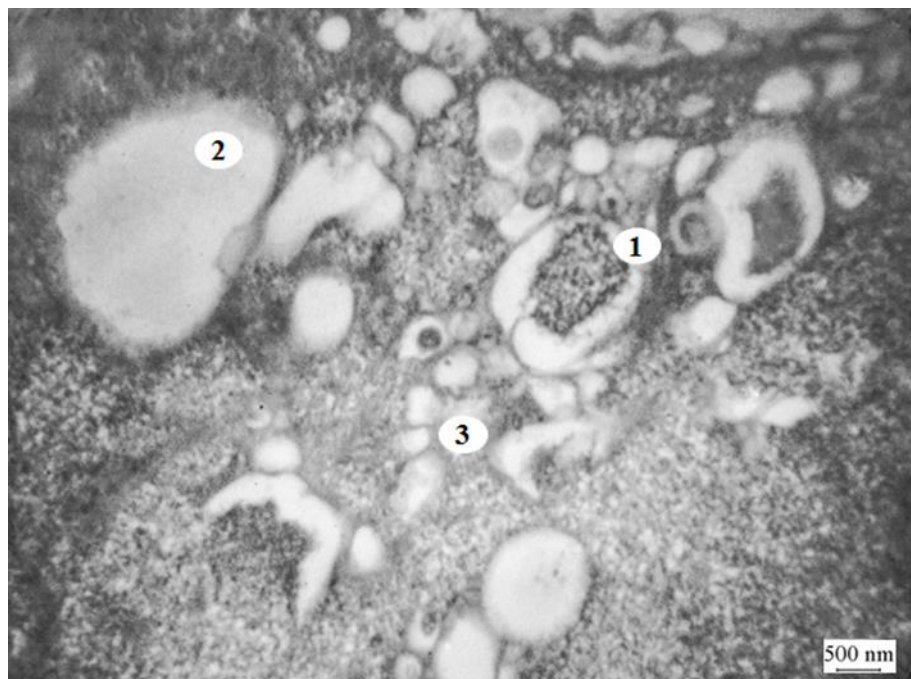


Рис. 4.10. Ультраструктура драглистого ядра міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб та через 14 діб після введення нестероїдних протизапальних засобів. 1 – нотохордальна клітина; 2 – спустошена капсула; 3 – матриксні везикули, зб. х 4800.

Через 28 діб після введення диклофенаку натрію. Дослідження тканин міжхребцевих дисків щурів виявило зміщення тканин драглистого ядра в бік дистензії та сплющення пластин фіброзного кільця на боці компресії, подібні до попередньої групи. Товщина ФК на боці компресії склала $(0,65 \pm 0,05)$ мм, що статистично не відрізнялася від тварин

попереднього терміну спостереження. Між фіброзними пластинками розташовувалися поліморфні щілини. В місцях найбільшої компресії зустрічаються вогнища фібронекрозу, що доходять до тіл хребців. На боці дистензії волокна були натягнуті та мали чисельні розриви. Товщина ФК на боці дистензії склала $(1,44 \pm 0,09)$ мм, що не відрізнялася в від товщини ФК дисків у тварин попереднього терміну спостереження. У внутрішньому шарі ФК формуються гомогенні тканинні фокуси. Серед волокон спостерігали поодинокі поліморфні хондроцити. Площа, що займає ДЯ в центральній частині диску, становила $(0,92 \pm 0,06)$ мм². Вона статистично не відрізнялася від тварин попереднього терміну спостереження. Матрикс ядра був неоднорідної консистенції, містив чисельні незабарвлені порожнини різного розміру. На периферії ядра зустрічали поодинокі маленькі хондроцитоподібні клітини, які мали ознаки балонної дистрофії. Більш великі нотохордальні клітини знаходили ближче до центру ядра. Вони формували сітчасті структури або росташовувалися хаотично. Більшість НХК мали ознаки дистрофічних та некротичних змін. Замикальні пластинки мали чисельні вогнища некрозу та звапніння, її клітини зазнавали некротичних змін (рис. 4.11). Кут між замикальними пластинками склав у середньому $(29,7 \pm 1,6)$ градусів.

Електронна мікроскопія МХД шурів з модельованим ДДУХ через 28 діб після введення диклофенаку натрію показала більш виразні ознаки дегенеративних змін у порівнянні з попереднім терміном спостереження. Пластини ФК були розшаровані та мали чисельні розриви. Товщина фіброзних пластинок у зовнішньому шарі ФК склала (5898 ± 172) нм, а у внутрішньому – (5588 ± 113) нм. Вони майже не відрізнялися від товщини пластинок у групі 14-ти діб спостереження після введення диклофенаку натрію.

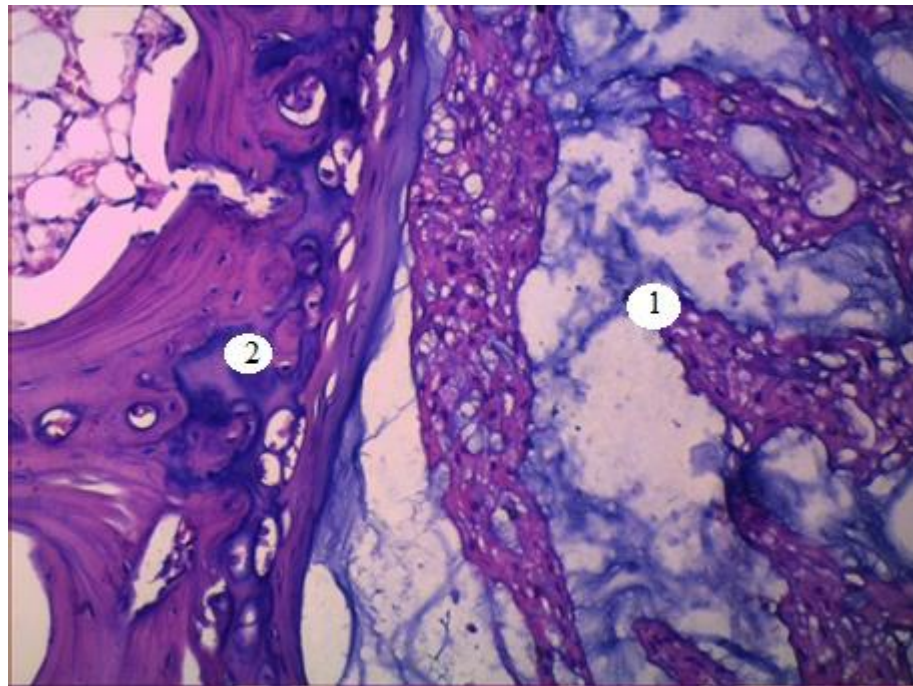


Рис. 4.11. Драглисте ядро (1) та замикальна пластинка (2) міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб та через 28 діб після корекції нестероїдними протизапальними засобами. Вогнища некрозу та звапніння замикальної пластинки. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 200.

Колагенові волокна зовнішнього шару були розшаровані та мали розриви. Їх діаметр становив $(108,38 \pm 6,4)$ нм. У внутрішньому шарі колагенові волокна були значно сплющені. Частина волокон, що межувала з драглистим ядром, втратила свою морфологічну структуру та представляла із себе скупчення розірваних волокон між якими спостерігали поодинокі хондроцити. Діаметр структурно збережених колагенових волокон становив $(63,78 \pm 3,5)$ нм. Діаметри волокон статистично не відрізнялися від діаметрів волокон попереднього терміну спостереження. Матрикс ДЯ був ущільнений та неоднорідний. Він містив ділянки спустошених капсул та заповнені детритом. Нотохордальні клітини мали ознаки дегенеративних та некротичних змін.

Отже, результати морфологічних та морфометричних досліджень міжхребцевих дисків щурів після моделювання ДДУХ впродовж 60 діб та

введення диклофенаку натрію вказують на наявність дегенеративних змін у тканинах диску, характерних відповідному терміну патології без корекції. Позитивний ефект від НПЗЗ виявлено через 14 діб після введення диклофенаку натрію у вигляді зменшення дезорганізації пучків колагенових волокон, збільшення товщини пластинок (на 5,9 % ($p \leq 0,01$)) та колагенових волокон (на 18,6 % ($p \leq 0,05$)) зовнішнього шару фіброзного кільця. Інші морфометричні показники статистично не відрізняються від тварин цього терміну патології без корекції. Через 28 діб після введення диклофенаку натрію морфологія пластинок та колагенових волокон зовнішнього шару фіброзного кільця не відрізняються від групи тварин без корекції.

Морфологічні та морфометричні дослідження МХД шурів з моделюванням ДДУХ впродовж 90 діб та після введення диклофенаку натрію виявили дегенеративно-дистрофічні зміни, характерні для відповідного терміну моделювання патології. Статистичної різниці у порівнянні показників диску з групою без корекції виявлено не було.

Основні результати цього розділу опубліковані у працях [197-199].

РОЗДІЛ 5
ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ КОРЕКЦІЇ
ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФІЧНОГО УРАЖЕННЯ ХРЕБТА
ЗБАГАЧЕНОЮ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМОЮ

5.1 Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків за умов дегенеративно-дистрофічного ураження хребта 60 діб та введення збагаченої тромбоцитами плазми

Через 14 діб після введення ЗТП. При гістологічному дослідженні тварин відзначали збереження асиметрії тканин міжхребцевого диску. Добре візуалізували боки компресії та дистензії тканин диску. На боці компресії спостерігали відтворення товщини фіброзного кільця ($1,61 \pm 0,13$) мм, що статистично не відрізняється від інтактних тварин. Пластини фіброзного кільця зазнали меншого сплюснення та розшарування, ніж у попередніх групах, та мають ознаки відтворення (рис. 5.1).

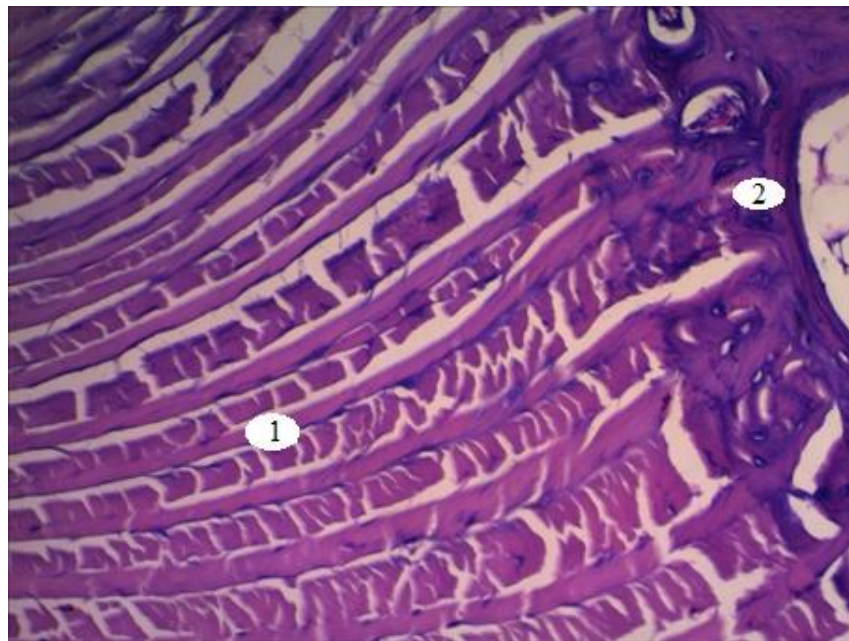


Рис. 5.1. Волокна зовнішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб та через 14 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. 1 – волокна ФК; 2 – тіло хребця. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 200.

На боці дистензії товщина фіброзного кільця дорівнювала ($2,16 \pm 0,22$) мм, що на 23,4 % ($p=0,001$) більше ніж у інтактних тварин. Таке збільшення товщини ФК обумовлено асиметрією навантаження на диск. Кількість однотипних та поліморфних щілин між волокнами була дещо менша ніж у попередніх групах тварин. Між колагеновими волокнами розташовані групи хондроцитів по 2-4 клітин з ознаками проліферації. Вогнища фібрoneкрозу в препаратах були відсутні. Пластини внутрішнього шару ФК були сплюснені. Частина волокон була розшарована, інша зберегла свою структуру. Між волокнами розташовані чисельні хондроцити з ознаками проліферації (рис. 5.2).

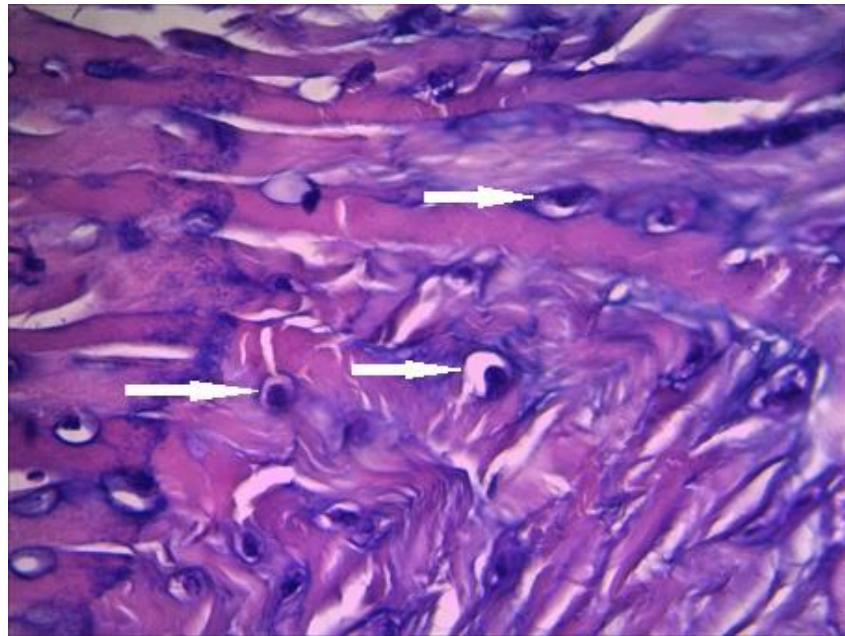


Рис. 5.2. Волокна внутрішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска щура з модельованим ДДУХ впродовж 60 діб та через 14 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. Стрілки – хондроцити. Зabarвлення гематоксилин-еозином, зб. х 400.

Драглисте ядро було зміщено в бік дистензії. Його площа в центральній частині зрізу диску складала 70,5 % ($p=0,001$) від площі ДЯ інтактних тварин та становила ($2,97 \pm 0,19$) мм². Матрикс ядра був неоднорідний з ділянками скупчення протеогліканів. Нотохордальні клітини були розташовані групами по 4-6 клітин, утворювали солідні та

сітчасті структури. В одних клітинах визначалася вакуолізація цитоплазми. Серед них зустрічали клітини з помірним поліморфізмом або ознаками дегенеративних змін. Інші клітини мали ознаки синтетичної активності (рис. 5.3).

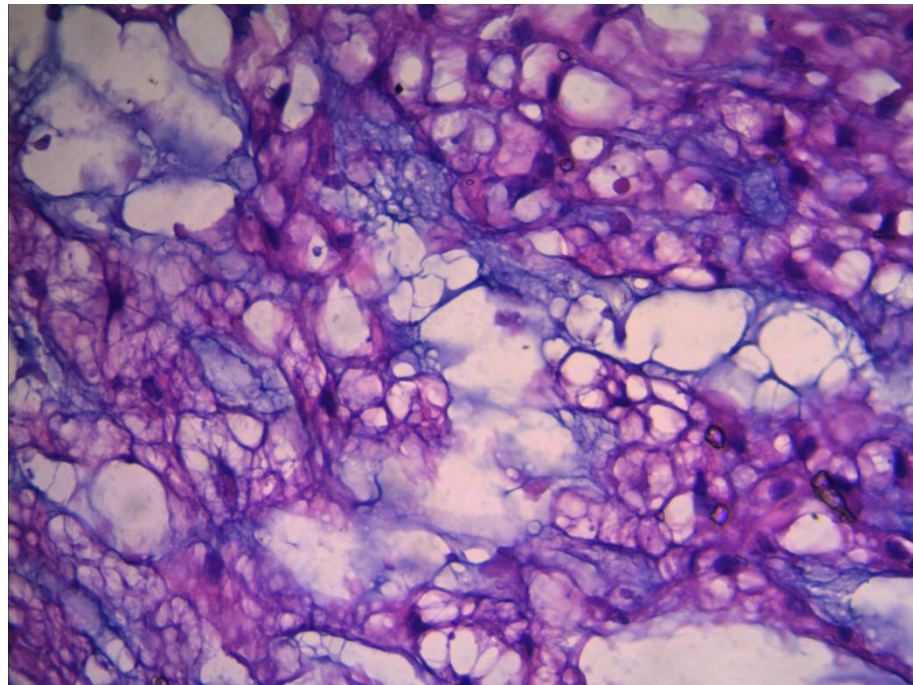


Рис. 5.3. Драглисте ядро міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб та через 14 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 200.

Кут між замикальними пластинками становив $(18,01 \pm 0,98)$ градусів. В тканинах, прилеглих до міжхребцевого диска спостерігаються збільшення кількості мікросудин та груп хондроцитоподібних клітин різної форми, що зібрані у комплекси по 3-9 клітин (рис. 5.4).

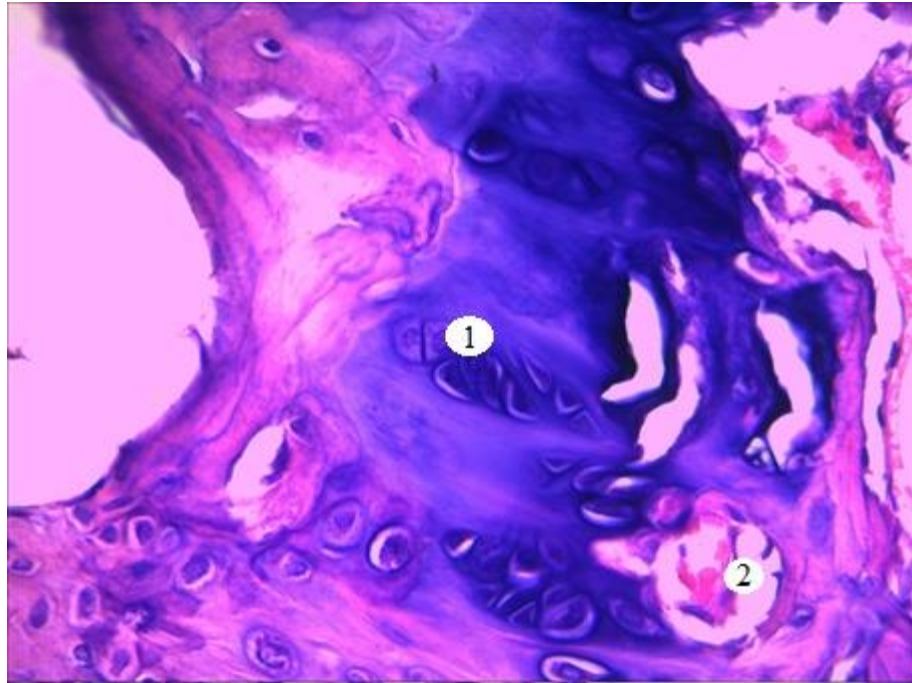


Рис. 5.4. Сосуди навколо міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб та через 14 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою; 1 – хондроцити; 2 – судина. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. x 200.

Ультрамікроскопічне дослідження тканин міжхребцевих дисків щурів з моделюванням ДДУХ впродовж 60 діб та через 14 діб після корекції виявило ознаки регенеративних змін. У зовнішньому шарі ФК пластини мали менше розволокнення та розходження ніж в попередніх групах. Товщина пластин зовнішнього шару склала (8697 ± 161) нм, що статистично не відрізняється від інтактних тварин. Колагенові волокна були ущільнені та перепліталися між собою. Спостерігали їх значні скупчення. Діаметр колагенових волокон зовнішнього шару майже не відрізнявся від діаметру волокон у інтактних тварин та дорівнював $(161,27 \pm 6,26)$ нм. Прошарки протеогліканового матриксу місцями були звужені. (рис. 5.5).

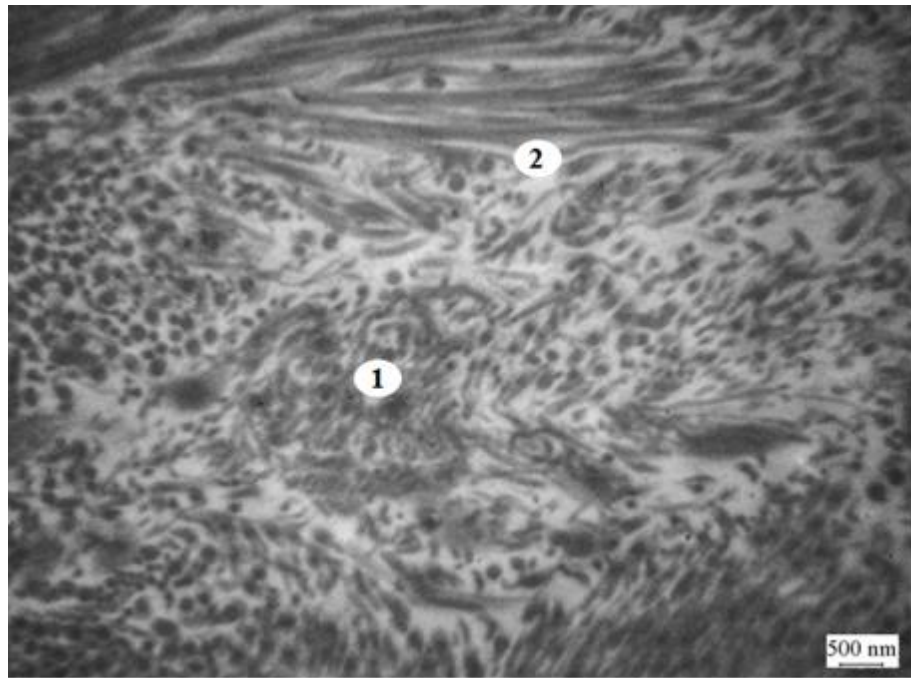


Рис. 5.5. Ультраструктура зовнішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска щурів з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб та через 14 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. 1 – скупчення пучків колагенових волокон; 2 – прошарки протеогліканового матриксу, зб. х 4800.

У внутрішньому шарі фіброзного кільця через 14 діб після корекції ЗТП добре візуалізували поперечну посмугованість волокон. Тріщин та щілинних розривів майже не було. Товщина фіброзних пластинок дорівнювала (6713 ± 129) нм, що статистично не відрізняється від інтактних тварин. Діаметр колагенових волокон майже не відрізнявся від інтактних тварин та становив ($81,68 \pm 3,35$) нм. У матриксі ФК спостерігали гомогенні місця без чітких контурів колагенових волокон. Хондробласти набували видовженої форми. Ядра їх містили дифузне розпушений хроматин та по одному розміщеному у центрі ядерцю. Перинуклеарний простір був нерівномірно розширений. Іноді спостерігали розпушення ядерної мембрани з втратою чітко контурованої структури. У цитоплазмі спостерігали окремі мітохондрії зі збереженими кристами та дрібнозернистим матриксом. Цитоплазма містила велику кількість дрібних

лізосом. Навколо клітин виявлявся просвітлений матрикс, який містив тонкі, злегка посмуговані волокна (рис. 5.6).

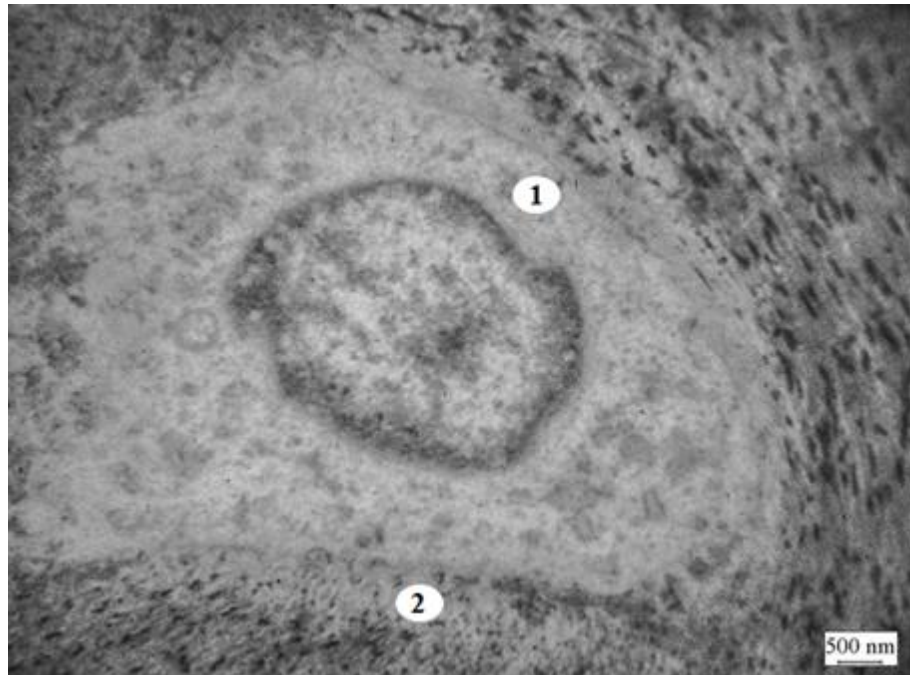


Рис. 5.6. Ультраструктура внутрішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска щурів з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб та через 14 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. 1 – хондробласт; 2 – просвітлений матрикс.

Через 28 діб після введення ЗТП. Асиметрія тканин міжхребцевого диску та видима різниця між боками компресії та дистензії зберігаються. Товщина фіброзного кільця на боці компресії склала $(1,59 \pm 0,12)$ мм, що статистично не відрізняється від товщини ФК після 14-ти діб лікування ЗТП. Фіброзні пластини зовнішнього шару були сплющені та дещо розшаровані. Пластини ФК на боці дистензії були натягнуті. Між ними спостерігали поодинокі щілини. Товщина фіброзного кільця на боці дистензії склала $(2,02 \pm 0,19)$ мм, що статистично не відрізняється від товщини ФК після 14-ти діб лікування ЗТП. Кут між замикальними пластинками становив $(22,89 \pm 1,42)$ градусів. Матрикс внутрішнього шару ФК був більш організований ніж у попередніх групах. Фіброзні пластинки

були без помітних розривів та мали вигини різного напрямку. Щілини між волокнами однотипні та поліморфні. Хондроцити розміщені поодинокі та групами з 4-6 клітин по ходу волокон з чіткими ознаками проліферації. Вогнищ фібрoneкрозу немає.

Драглисте ядро було зміщене у бік дистензії. Його площа в центральній частині МХД склала $(2,96 \pm 0,19)$ мм² та не відрізняється від площі ДЯ переднього терміну лікування ЗТП. Матрикс ДЯ неоднорідний схожий на матрикс попереднього терміну дослідження цієї групи. Звертає увагу збільшення поодиноких невеликих клітин на фоні більш крупних клітин з ознаками дистрофічних процесів, зібраних у солідні та сітчасті групи (рис. 5.7).

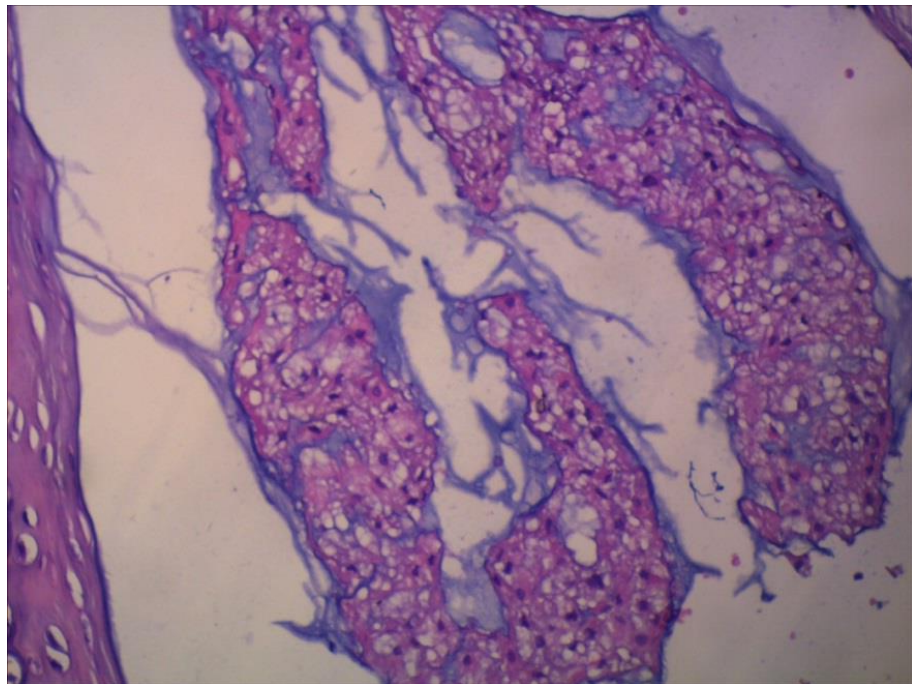


Рис. 5.7. Драглисте ядро міжхребцевого диска щурів з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб та через 28 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 200.

Ультрамікроскопічне дослідження доповнило гістологічну картину регенеративних змін. В усіх шарах фіброзного кільця відмічали наявність більш організованих, зібраних у пучки колагенових волокон з

нерівномірною посмугованістю та електронно-щільними ділянками. Товщина пластинок ФК зовнішнього шару становила (8245 ± 193) нм, а колагенових волокон, що їх утворюють – $(148,28 \pm 6,34)$ нм. У порівнянні з попереднім терміном корекції ЗТП статистично достовірної різниці не має. Колагенові волокна внутрішнього шару ФК були більш організовані ніж зовнішнього та мали діаметр $(78,38 \pm 3,62)$ нм. Вони утворювали фіброзні пластинки товщиною (6520 ± 114) нм. Статистичної різниці між цими показниками та відповідними показниками попереднього терміну спостереження не має. Паралельно ходу пластинок розміщувалися хондробласти з ознаками проліферації. Навколо клітин знаходили скупчення коротких волоконних фрагментів. У міжклітинному матриксі виявлялася велика кількість дрібних гранул різної форми (рис. 5.8).

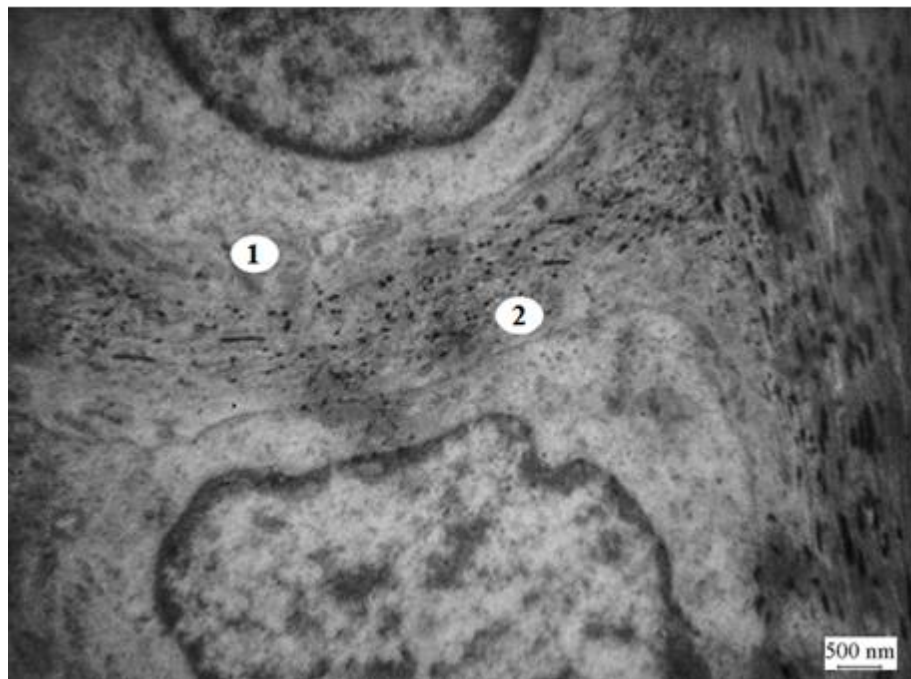


Рис. 5.8. Ультраструктура внутрішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска у щурів з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта протягом 60 діб та через 28 діб після введення збагаченої тромбоцитами плазми. 1 – короткі волоконні фрагменти; 2 – дрібні гранули, зб. х 4800.

У драглистому ядрі міжхребцевих дисків щурів з'являлися поодинокі НХК з цілими ядрами та навколоклітинними лакунами. Місцями спостерігали невеликі їх кластери зі збереженою цитоархітектонікою синсиціоподібної структури. Відзначалася тенденція до збільшення клітин, які не були занурені у міжклітинний матрикс. Вони мали видовженої форми ядра, розвинуті ядерця, що мали дрібногранулярну і фібрилярну частину та густий розпушений еухроматин. Деякі клітини мали видовженої форми випинання каріолеми та звужений шар гетерохроматину у зонах цих випинань. Навколо клітин спостерігали просвітлений, структурований гетерогенний матрикс (рис. 5.9).

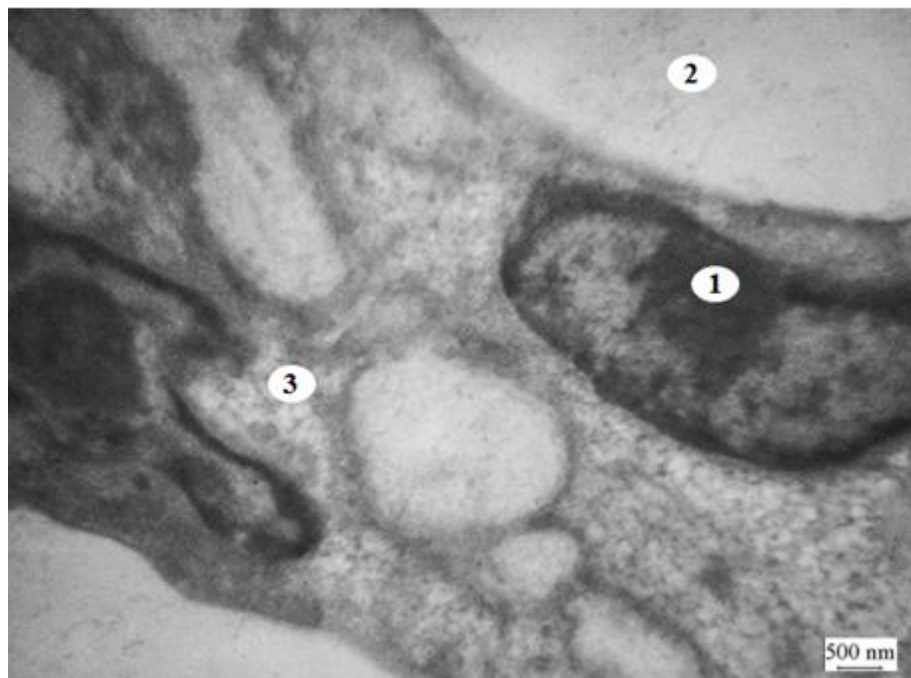


Рис. 5.9. Ультраструктура драглистого ядра міжхребцевого диска у щурів з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта протягом 60 діб та через 28 діб після введення збагаченої тромбоцитами плазми. 1 – ядерце; 2 – спустошена капсула нотохордальної клітини; 3 – структурований гетерогенний матрикс, зб. x 4800.

5.2. Морфологічна характеристика міжхребцевих дисків за умов дегенеративно-дистрофічного ураження хребта 90 діб та введення збагаченої тромбоцитами плазми

Гістологічне дослідження тканин міжхребцевих дисків хвостового відділу хребта у щурів з моделюванням ДДУХ впродовж 90 діб через 14 діб після корекції ЗТП виявило ознаки регенерації тканин на фоні тривалого дегенеративного процесу. Добре визначали боки компресії та дистензії МХД. Товщина ФК на боці компресії склала $(0,78 \pm 0,05)$ мм, що на 54,7% ($p \leq 0,01$) менша ніж товщина ФК інтактного диску. На боці дистензії товщина ФК становила $(1,76 \pm 0,08)$ мм, що дорівнює товщині ФК у інтактних тварин. Пластинки зовнішнього шару ФК були розшаровані, мали одноморфні щілини 20-50 мкм та містили поодинокі розриви. В ділянці максимальної компресії визначали осередки фібрoneкрозу, які доходили до $\frac{1}{2}$ товщини ФК. Між пластинками були розташовані поодинокі клітини з ознаками синтетичної активності (рис. 4.21).

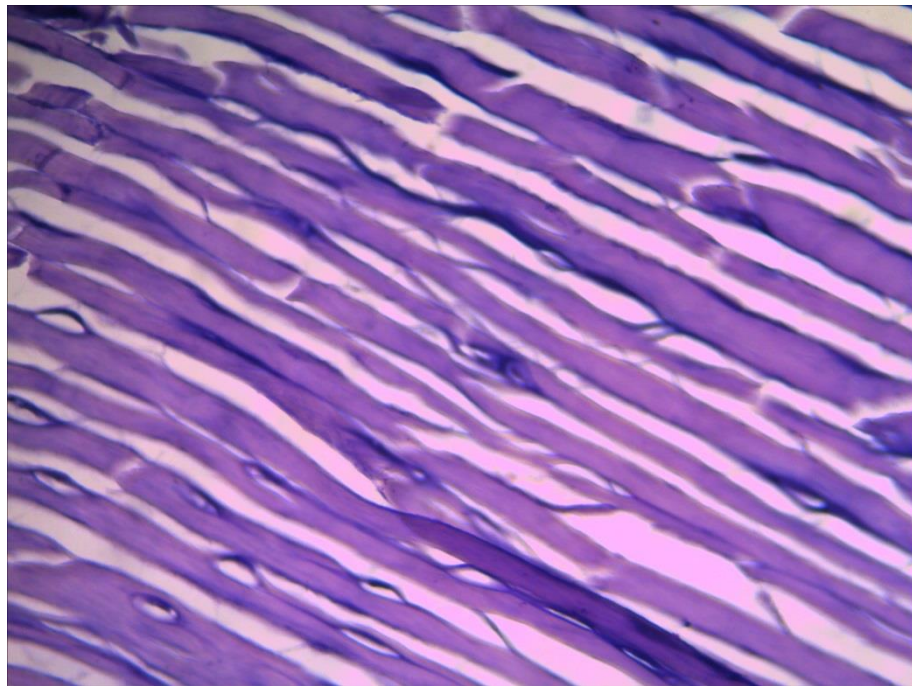


Рис. 4.21. Пластинки фіброзного кільця міжхребцевого диску щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб та через 14 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 400.

Драглисте ядро було зменшене у розмірі та децентралізовано. Його площа у центральній частині МХД склала $(1,18 \pm 0,05)$ мм² або 28 % ($p=0,001$) від площі інтактного диску. Матрикс ДЯ був неоднорідним та містив чисельні спустошені ділянки. Нотохордальні клітини формували групи по 2-4 клітини або розташовувалися поодинокі. Деякі клітини зазнали дегенеративних змін, інші формували навколо себе структурований гетерогенний матрикс. Між клітинами зустрічали вогнища некрозу НХК та ділянки збільшеної щільності. (рис. 4.22).

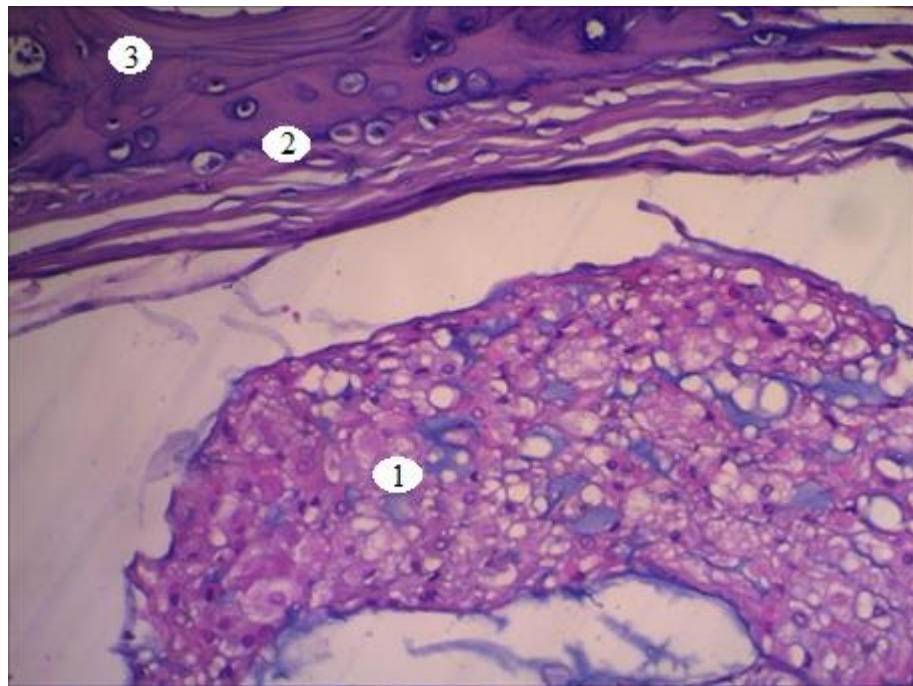


Рис. 4.22. Ділянка драглистого ядра міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб та через 14 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. 1 – гетерогенний матрикс ДЯ; 2 – стоншена ЗП; 3 – тіло хребця. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 200.

Замикальна пластинка стала тонше та містила вогнища некрозу. По обидва боки від ЗП були розташовані поодинокі хондроцитоподібні клітини з великими ядрами. Навколо МХД зустрічали судини, біля яких розташовані чисельні невеликі хондробласти. Кут між замикальними пластинками становив $(26,58 \pm 1,4)$ градусів. (рис. 4.23).

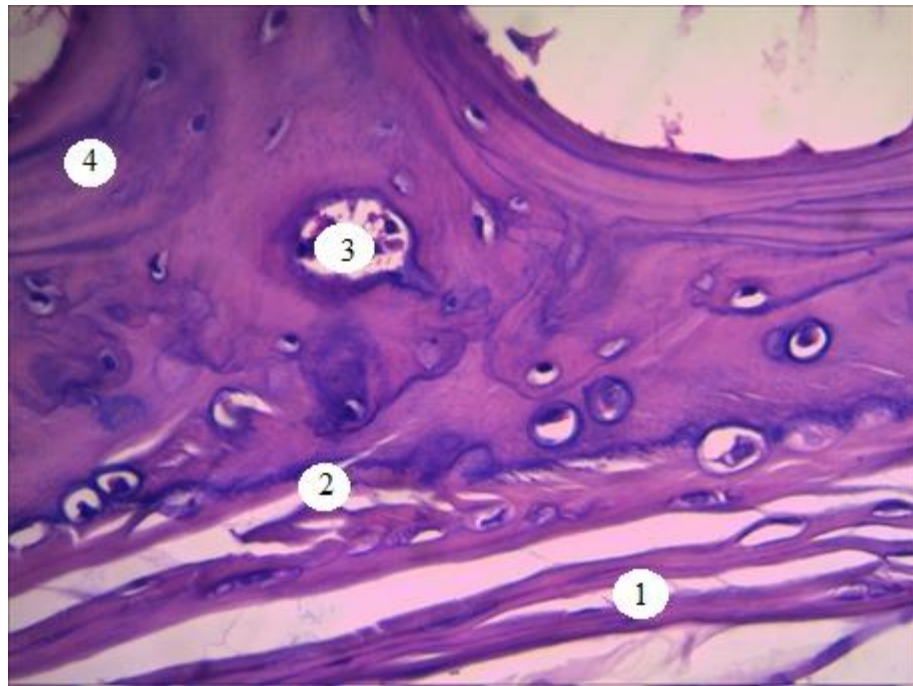


Рис. 4.23. Ділянка міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб та через 14 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. 1 – волокна ФК; 2 – замикальна пластинка; 3 – судина; 4 – тіло хребця. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 400.

Вивчення ультрамікроскопічних препаратів міжхребцевих дисків з моделюванням ДДУХ впродовж 90 діб та через 14 діб після введення ЗТП виявило ознаки регенерації на тлі хронічного дегенеративного процесу. Фіброзні пластинки зовнішнього шару мали фрагментовані ділянки в яких спостерігали вихрове розміщення колагенових волокон. Між волокнами виявляли ділянки високої електронної щільності, що можливо пов'язано з відкладанням кристалів кальцію. Товщина пластинок зовнішнього шару ФК становила (6439 ± 163) нм, що на 24,9 % ($p=0,001$) менше від інтактних тварин. Товщина пластинок внутрішнього шару становила (6047 ± 100) нм, що на 9 % ($p \leq 0,01$) менше від групи інтактних тварин. Діаметр колагенових волокон зовнішнього шару ФК склав $(122,4 \pm 6,76)$ нм, що на 23,4 % ($p \leq 0,01$) менше ніж у інтактних тварин. Діаметр КВ внутрішнього

шару становив $70,1 \pm 3,89$ нм, що на 14,6 % ($p \leq 0,05$) менше від інтактних тварин (рис. 4.24).

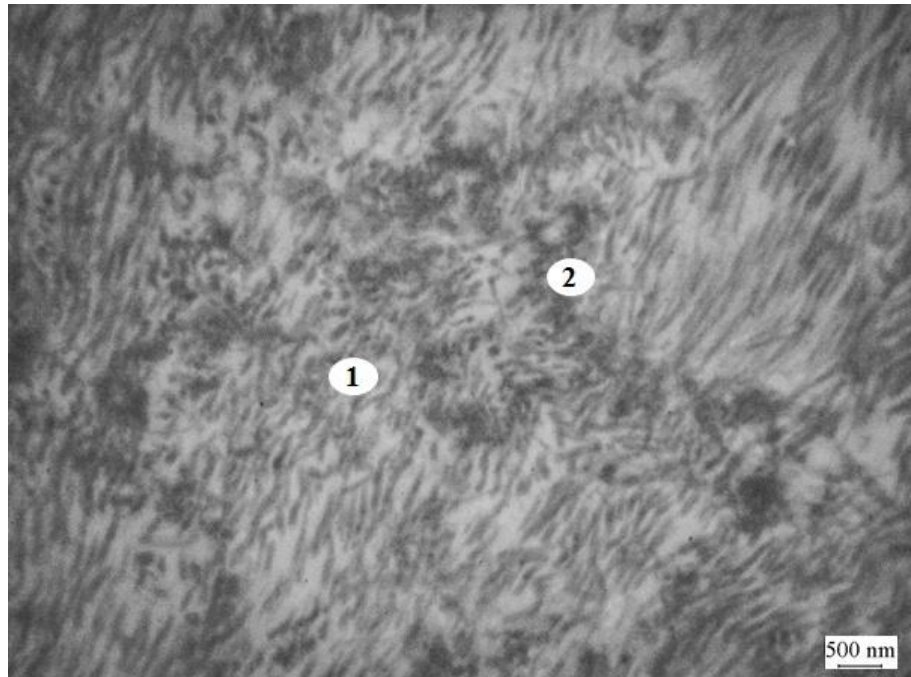


Рис. 4.24. Ультраструктура зовнішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб та через 14 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. 1 – фрагментовані волокна; 2 – ділянки з високою електронною щільністю, зб. х 4800.

У драглистому ядрі спостерігаються заповнені рихлим детритом лакунарні простори. Місцями у стінках лакун відзначали розриви, вихід із них детриту у навколишній матрикс. Міжклітинна речовина містила невелику кількість округлих вакуолей та темні ділянки ущільнення. Нотохордальні клітини містили дифузне розпушений хроматин, що свідчить про їх синтетичну активність (рис. 4.25).

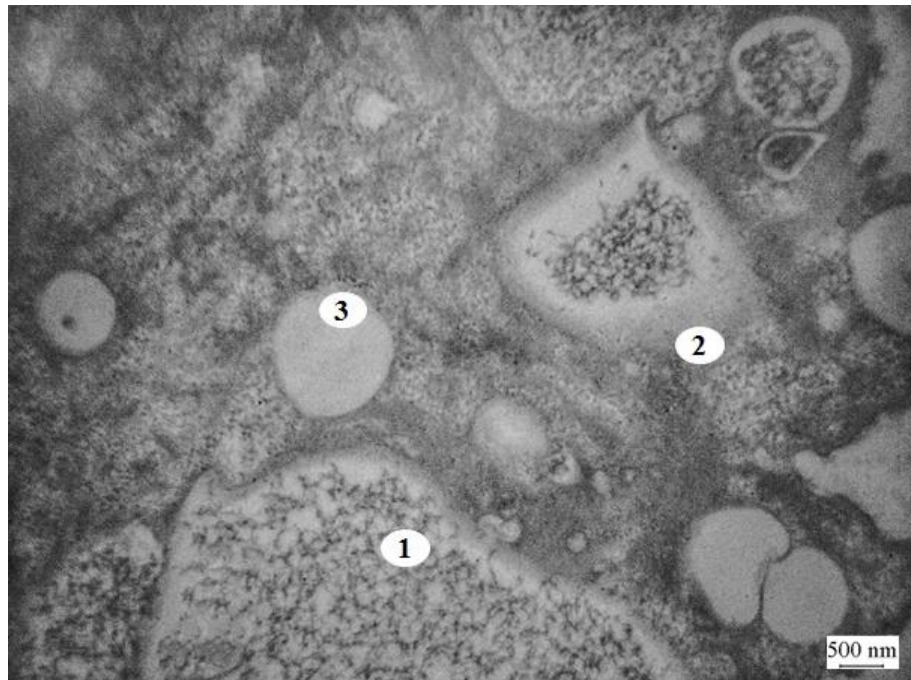


Рис. 4.25. Ультраструктура драглистого ядра міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб та через 14 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. Через 14 діб від початку експерименту. 1 – лакуни з рихлим детритом; 2 – зруйнована стінка лакуни; 3 – круглі вакуолі, зб. х 4800.

При гістологічному дослідженні МХД щурів з моделюванням ДДУХ впродовж 90 діб та через 28 діб після введення ЗТП виявлено збереження ознак регенеративного процесу на тлі дегенеративних змін в тканинах диску. Видна чітка різниця між боками компресії та дистензії за рахунок зниження товщини ФК на боці компресії. В середньому вона становила $(0,76 \pm 0,05)$ мм, що статистично не відрізняється від групи дослідження через 14 діб після введення ЗТП. Товщина ФК на боці дистензії значно перевищувала товщину ФК на боці компресії та склала $(1,70 \pm 0,07)$ мм, що статистично не відрізняється від групи 14-ти діб після введення ЗТП. Замикальні пластинки знаходилися один до одного в середньому під кутом $(27,11 \pm 1,3)$ градусів. Спостерігали розшарування та дезорганізацію пластинок зовнішнього шару ФК. Розміри щілин, що утворювалися між пластинками, були в діапазоні між 20 та 40 мкм.

Місцями відмічали розриви пластинок. В місцях максимальної компресії розташовані вогнища фібрoneкрозу. Замикальні пластинки стали тонше. Пластинки ФК, що з нею контактують розшаровані, мають розриви та ділянки збільшеної щільності. По обидва боки від ЗП розташовані поодинокі хондроцитоподібні клітини з ядрами різної форми (рис. 4.26).

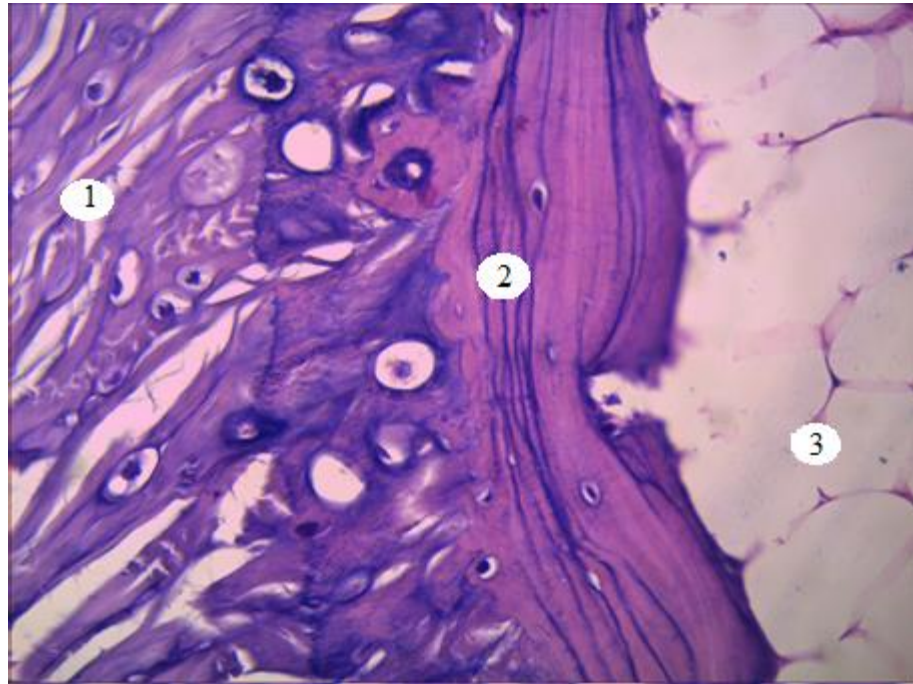


Рис. 4.26. Ділянка міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб та через 28 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. 1 – пластини ФК; 2 – замикальна пластинка; 3 – тіло хребця. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 400.

Драглисте ядро було зсунене в бік від компресії. Його площа в центральній частині диску складала $(1,17 \pm 0,05)$ мм², що майже не відрізняється від ДЯ у групі через 14 діб після введення ЗТП. Матрикс ДЯ був неоднорідним. Зустрічали ділянки некрозу НХК та ділянки збільшеної щільності. Нотохордальні клітини формували групи по 2-4 клітини або знаходилися поодинокі. Вони формували навколо себе структурований гетерогенний матрикс. Деякі з клітин були збільшені в розмірі та з ознаками вакуольної дистрофії. В тканинах навколо МХД спостерігали

розростання судин. Навколо судин знаходили хондроцитоподібні клітини (рис. 4.27).

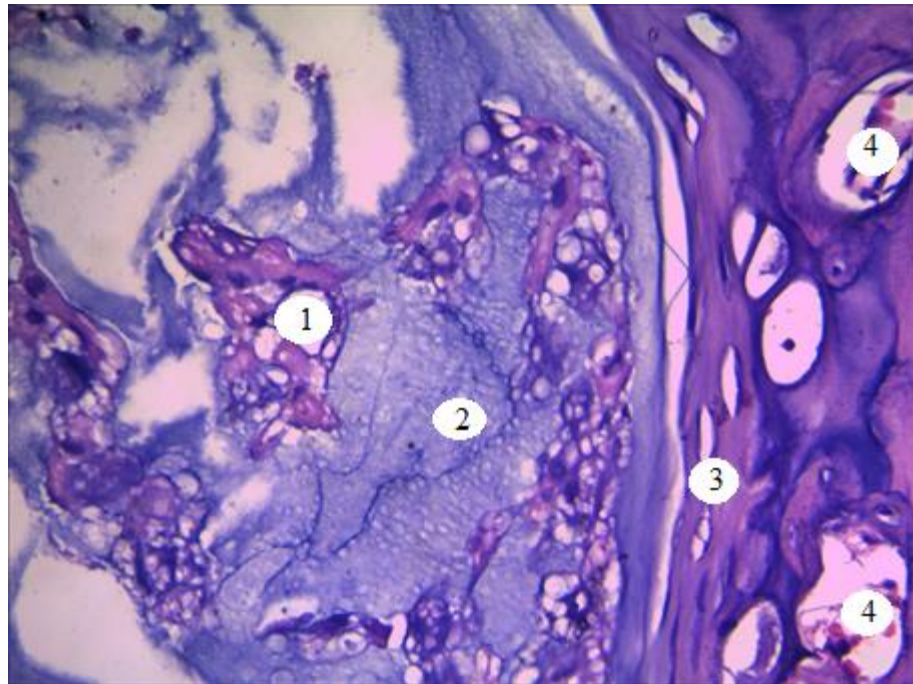


Рис. 4.27. Ділянка міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб та через 28 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. 1 – комплекси нотохордальних клітин; 2 – матрикс драглистого ядра; 3 – замикальна пластинка; 4 – судини. Забарвлення гематоксилин-еозином, зб. х 400.

Через 28 діб після введення ЗТП ультраструктура тканин МХД виявила регенеративні зміни на фоні хронічних дегенеративних процесів. У зовнішньому шарі ФК виявляли поодинокі невеликі тріщини та розриви фіброзних пластинок. Проміжки волокнами були більш розширеними, порівняно з групою без корекції. Крім того, у матриксі ФК спостерігали відкладання розпушених, різного розміру електронно-щільних включень. Товщина пластинок зовнішнього шару склала (6116 ± 161) нм, що статистично не відрізняється від товщини пластинок через 14 діб після введення ЗТП. Фібробласти зовнішнього шарі фіброзного кільця містили об'ємне ядро, більшу частину якого займав рівномірно розпушений еухроматин. Мітохондрії були округлої форми, містили прояснений

матрикс та дещо вкорочені кристи. Цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулуму знаходилися у тісному зв'язку з ядром та комплексом Гольджі. Рибосоми виявляли тільки в окремих ділянках. Відростки цитоплазми були вкороченими та дещо деформованими. Колагенові пучки були менш фрагментованими та розшарованими. Діаметр колагенових волокон в середньому становив $(119,8 \pm 6,92)$ нм, що майже не відрізняється від попереднього терміну дослідження впливу ЗТП (рис. 4.28).

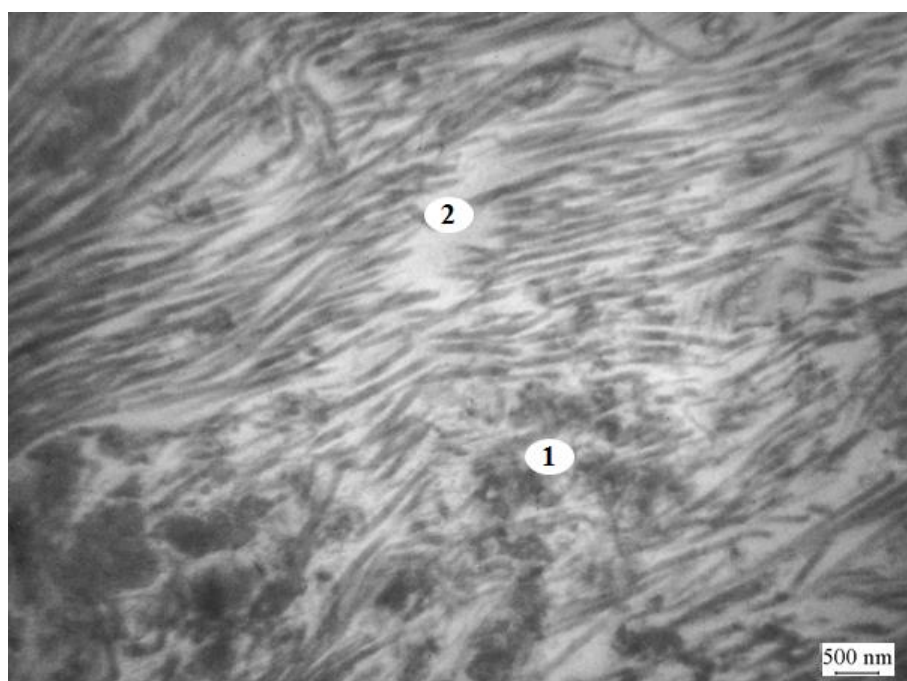


Рис. 4.28. Ультраструктура зовнішнього шару фіброзного кільця міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб та через 28 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. 1 – електронно-щільні включення; 2 – розрив фіброзної пластинки, зб. х 4800.

Пластинки внутрішнього шару ФК були більш структуровані, ніж у зовнішньому, деякі волокна були сплюснені. Товщина пластинок внутрішнього шару в середньому становила (5974 ± 108) нм. Колагенові волокна, що їх утворювали були структуровані, мали поодинокі розриви.

Діаметр колагенових волокон склав $(69,1 \pm 4,03)$ нм. Статистичної різниці з попереднім терміном дослідження впливу ЗТП не було.

Структура драглистого ядра характеризувалася наявністю у ньому регенеративних процесів. Деякі нотохордальні клітини були значно меншого розміру від групи порівняння. Матрикс ядра був електронно-щільним, а інколи дещо просвітленим. Крім того, спостерігали тонковолокнисті тяжі, які простягалися по всій площі драглистого ядра. Детрит у лакунарних просторах розріджувався. Ядра клітин мали неправильну форму та скупчення гетерохроматину, який розміщувався під каріолемою (рис. 4.29).

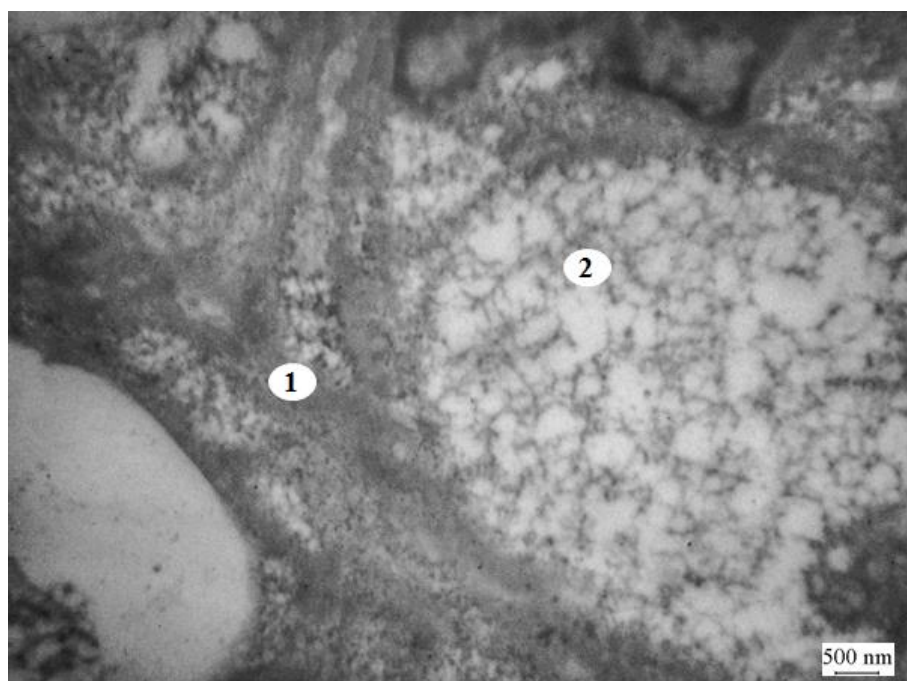


Рис. 4.29. Ультраструктура драглистого ядра міжхребцевого диска щура з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 90 діб та через 28 діб після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. 1 – тонковолокнисті тяжі; 2 – розріджений детрит, зб. х 4800.

Оцінку змін морфометричних показників при гістологічному дослідженні за умов корекції дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 та 90 діб робили шляхом виміру показників товщини фіброзного кільця з боків компресії та дистензії, підрахунку площі

драглистого ядра та кута між тілами хребців (Додаток В, табл. В.1. та табл. В.2.). При ультрамікроскопічному дослідженні заміряли товщину фіброзних пластинок та колагенових волокон (Додаток В, табл. В.3. та табл. В.4.).

Таким чином, морфологічні та морфометричні дані МХД щурів після моделювання ДДУХ впродовж 60 діб та (через 14 та 28 діб) після введення ЗТП свідчать про відновлення структури диску. Через 14 діб після корекції в тканинах та клітинах диску спостерігаються гістологічні й ультрамікроскопічні ознаки синтетичної активності клітин, які зберігаються через 28 діб після введення ЗТП. Відбувається відтворення товщини фіброзного кільця, товщини пластинок та колагенових волокон зовнішнього та внутрішнього шарів кільця до показників інтактних тварин. Спостерігається збільшення площі драглистого ядра у центральній частині диску на 25,3 % ($p \leq 0.05$) від площі ядра у тварин з відповідним терміном моделювання патології без корекції, яке складає 70,5 % ($p = 0,001$) від площі ДЯ інтактних тварин.

Гістологічне, ультрамікроскопічне та морфометричне дослідження МХД щурів з моделюванням ДДУХ впродовж 90 діб та (через 14 та 28 діб) після введення ЗТП виявили ознаки регенерації тканин на тлі тривалого дегенеративного процесу. Морфометричні показники диску були статистично більші ніж у групі відповідного терміну моделювання патології без корекції, однак менші ніж у інтактних тварин.

Основні результати цього розділу опубліковані у працях [200,201].

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Вивчення інтактної групи тварин на гістологічному та ультрамікроскопічному рівнях дає змогу стверджувати, що структура міжхребцевих дисків хвостового відділу щурів принципово не відрізняється від міжхребцевих дисків людини. Міжхребцевий диск складається із драглистого ядра, розташованого у центральній частині диску, та фіброзного кільця, що розташоване на периферії. Драглисте ядро складається з кластерів нотохордальних клітин, які занурені у міжклітинний матрикс. Фіброзне кільце утворено колагеновими волокнами, зібраними у пластини поздовжнього напрямку, між якими розташовані веретеноподібні хондроцити. На межі між диском та сусідніми хребцями знаходяться замикальні пластинки. Таким чином, є доцільним застосування у якості експериментальної моделі дегенеративно-дистрофічних процесів у міжхребцевих дисках щурів та відпрацювання методів їх корекції.

При моделюванні дегенеративно-дистрофічного ураження хребта у щурів патологічні зміни вивчали через 60 та 90 діб від початку моделювання патології. Данні терміни були вибрані після вивчення літературних джерел, в яких автори встановили, що достовірні дегенеративно-дистрофічні зміни у міжхребцевих дисках спостерігаються через 60 діб та стають більш виразними через 90 діб. Отримані нами експериментальні дані щодо дегенеративних змін збігаються з даними літературних джерел [30]. Гістологічне та ультрамікроскопічне дослідження тканин міжхребцевих дисків з моделюванням ДДУХ впродовж 60 діб виявили пошкодження міжклітинного матриксу та дегенеративні зміни у клітинах фіброзного кільця та драглистого ядра. На боці компресії тканини фіброзного кільця зазнали більшого ущільнення у зв'язку з підвищеним механічним навантаженням на цей відділ диску. Фіброзні пластинки на боці дистензії, в свою чергу, мали розриви пов'язані

з розтягуванням волокон, як наслідок асиметричного навантаження. Волокна зовнішнього шару фіброзного кільця зазнали більшого розшарування ніж внутрішнього. Волокна внутрішнього шару мали значне ущільнення. Між волокнами з'являлися поліморфні щілини різних розмірів. Максимальної виразності дегенеративні зміни мали в центральній частині фіброзного кільця на боці компресії. Тут спостерігали руйнування колагенових волокон та утворення вогнищ фібрoneкрозу.

Відомо, що дегенеративно-дистрофічні зміни в тканинах диску відбуваються в наслідок дисбалансу між процесами синтезу та дегідратацією матриксу з переважанням останніх [52]. На ранній стадії дегенерації в клітинах диску збільшується синтез протеогліканів та колагену II типу, як захисна реакція на пошкодження [29, 55, 56, 58], що виявляються у частковому збереженні морфометричних показників матриксу. Однак, у подальшому недостатнє живлення призводить до загибелі клітин, як наслідок, зниженню синтезу компонентів матриксу та зменшенню його морфометричних показників [29, 56, 58]. Порівняння препаратів міжхребцевих дисків з моделюванням ДДУХ впродовж 60 та 90 діб виявило збільшення кількості та розмірів вогнищ некрозу, що вказує на прогресування патології. Товщина ФК на боці компресії у тварин з модельованим ДДУХ впродовж 60 діб була значно знижена (на 30,3 % ($p=0,01$) від товщини дисків інтактних тварин. Моделювання ДДУХ впродовж 90 діб призвело до подальшого зниження товщини ФК на боці компресії (на 63,8 % ($p=0,001$) від товщини дисків інтактних тварин). Товщина ФК на боці дистензії у тварин з моделюванням ДДУХ протягом 60 діб була більша ніж у інтактних тварин (на 22,4 % ($p\leq 0,05$)), за рахунок асиметрії навантаження. Однак, у подальшому (90 діб ДДУХ) вона також знижувалася (на 13,95 % ($p=0,01$) у порівнянні з інтактною групою). Такі зміни у товщині фіброзного кільця можуть бути пояснені поступовим зниженням компенсаторних механізмів тканин фіброзного кільця та прогресуванням патологічного процесу (рис. 6.1).

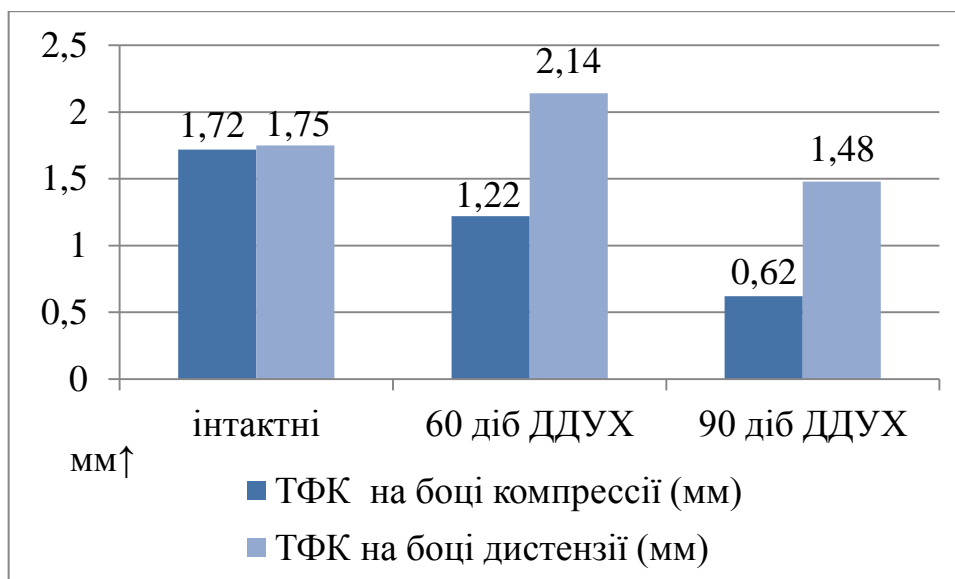


Рис. 6.1. Товщина фіброзного кільця міжхребцевих дисків у щурів з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 та 90 діб без корекції.

Драглисте ядро зазнало суттєвої деформації та зниження площі у центральній частині диску в обох експериментальних групах. За перші 60 діб моделюванням ДДУХ вона знизилася майже вдвічі (на 43,7 % ($p=0,001$) від площі драглистого ядра інтактних тварин). Моделювання ДДУХ впродовж 90 діб призвело до зниження площі ядра більш ніж в чотири рази (на 78,4 % ($p=0,001$)) від площі інтактних тварин. Кластерна структура нотохордальних клітин при моделюванні ДДУХ впродовж 60-ти діб була здебільшого збережена, клітини мали ознаки синтетичної активності. В подальшому (90 діб ДДУХ) кластери НХК руйнувалися, а клітини зазнавали дегенеративних та некротичних змін. Вище названі зміни вказують на стрімке зниження компенсаторних властивостей тканин ядра (рис. 6.2).

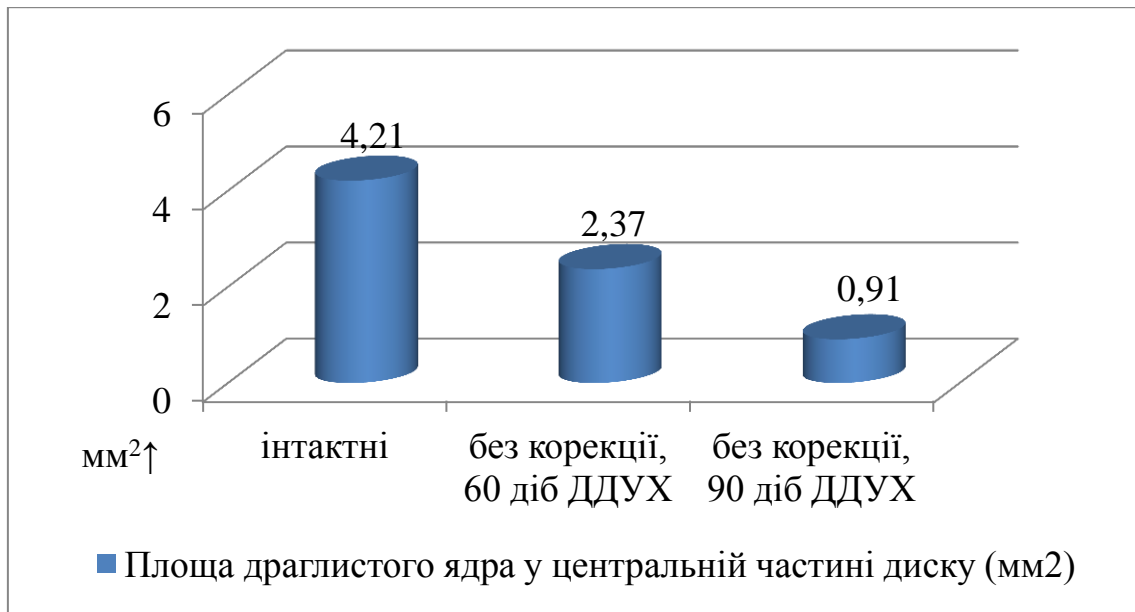


Рис. 6.2. Площа драглистого ядра в центральній частині міжхребцевого диску у щурів з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 та 90 діб без корекції.

Замикальні пластинки в групах патології втрачали свій паралельний хід та мали ознаки дегенеративних змін. Порівняння препаратів обох термінів моделювання патології (60 та 90 діб) вказує на збільшення вогнищ некрозу, появу остеофітів та звапніння замикальної пластинки. Кут між ЗП у щурів з моделюванням ДДУХ впродовж 60 діб становив ($24,71 \pm 1,38$) градусів, моделюванням ДДУХ впродовж 90 діб – ($30,16 \pm 1,5$) градусів. Таким чином, зміщення хребців один від одного відбуваються переважно в перші 60 діб патології та дещо продовжується протягом часу (рис 6.3).

Ультрамікроскопічне дослідження клітин фіброзного кільця у тварин з моделюванням ДДУХ протягом 60 діб виявило ознаки незначної синтетичної активності, що пояснюється активацією компенсаторних властивостей клітин диску. Дегенеративні зміни в клітинах ФК при моделюванні патології впродовж 90 діб мали більш виразний характер, а їх кількість візуально була зменшена, що узгоджується з даними літературних джерел [103].

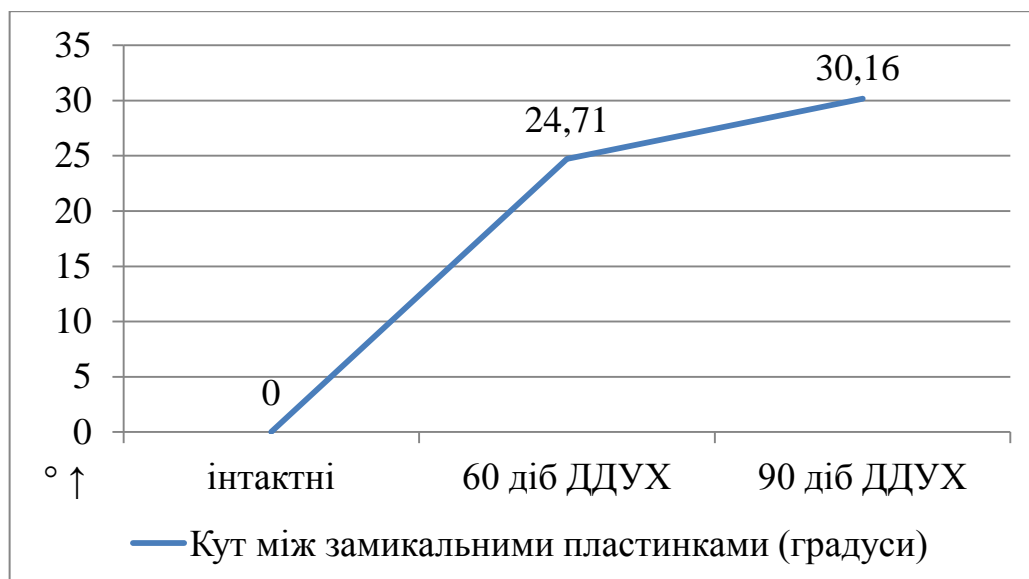


Рис. 6.3. Кут між замикальними пластинками міжхребцевих дисків у щурів з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 та 90 діб без корекції.

Вимірювання фіброзних пластинок зовнішнього шару кільця у щурів з моделюванням ДДУХ впродовж 60 діб показало зменшення їх товщини на 13,5 % ($p=0,001$) від показників у інтактних тварин. Через 90 діб після моделювання ДДУХ товщина фіброзних пластинок зовнішнього шару ФК зменшилася на 34 % ($p=0,001$) від показників у інтактних тварин. Пластинки внутрішнього шару ФК фіброзного також зазнали ущільнення. При моделюванні ДДУХ протягом 60 діб товщина пластинок знизилася на 8,6 % ($p=0,01$) від інтактної групи; при моделюванні ДДУХ 90діб – 16,7 % ($p=0,001$) від інтактної групи. Таким чином, спостерігаємо зниження товщини пластинок фіброзного кільця через 60 діб патології з прогресуванням змін вдвічі через 90 діб (рис. 6.4).

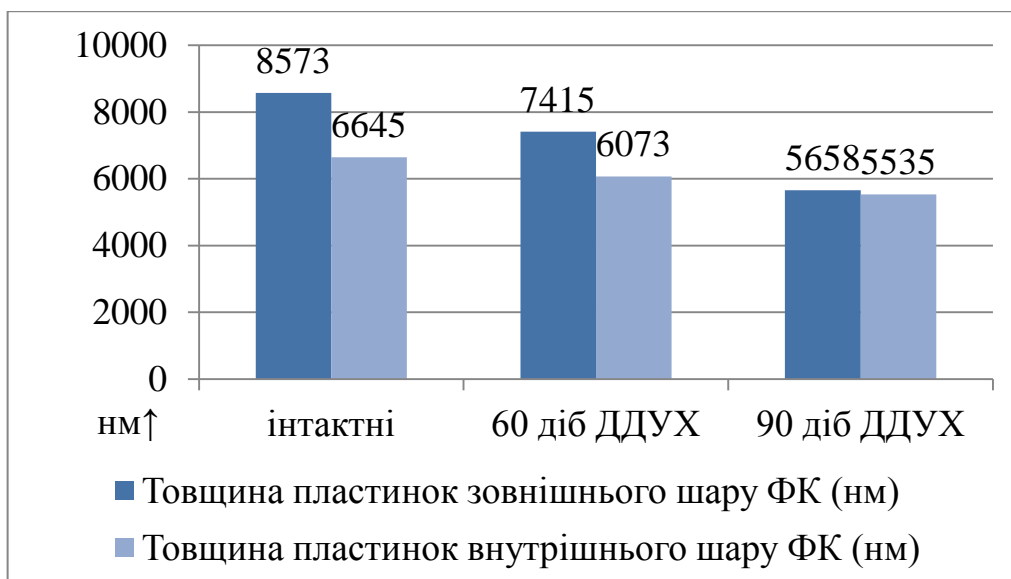


Рис. 6.4. Товщина пластинок фіброзного кільця міжхребцевих дисків у щурів з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 та 90 діб без корекції.

Колагенові волокна пластинок зовнішнього та внутрішнього шарів ФК зазнали значного сплюснення за перші 60 діб експерименту. Діаметр колагенових волокон зовнішнього шару зменшився на 27,8 % ($p=0,001$) від інтактних тварин. Дослідження КВ зовнішнього шару через 90 діб показало зменшення їх діаметру на 41,5 % ($p=0,001$) від інтактних тварин. Діаметр КВ внутрішнього шару ФК за перші 60 діб експерименту зменшився на 17,7 % ($p=0,01$) від інтактних тварин. Зменшення діаметру КВ через 90 діб моделювання ДДУХ становила 28,6 % ($p=0,001$) від інтактних тварин. Таким чином, спостерігаємо подібне різке зменшення діаметру КВ зовнішнього та внутрішнього шарів через 60 діб моделювання ДДУХ, з уповільненням впродовж наступних 30 діб (рис. 6.5).

Враховуючи викладені вище дані, можливо стверджувати, що вдосконалена нами модель дегенеративно-дистрофічного ураження хребта відповідає поставленим задачам та може використовуватися для моделювання цієї патології. Терміни моделювання патології впродовж 60

та 90 діб можуть відповідати гострому перебігу патологічного процесу та його хронізації.

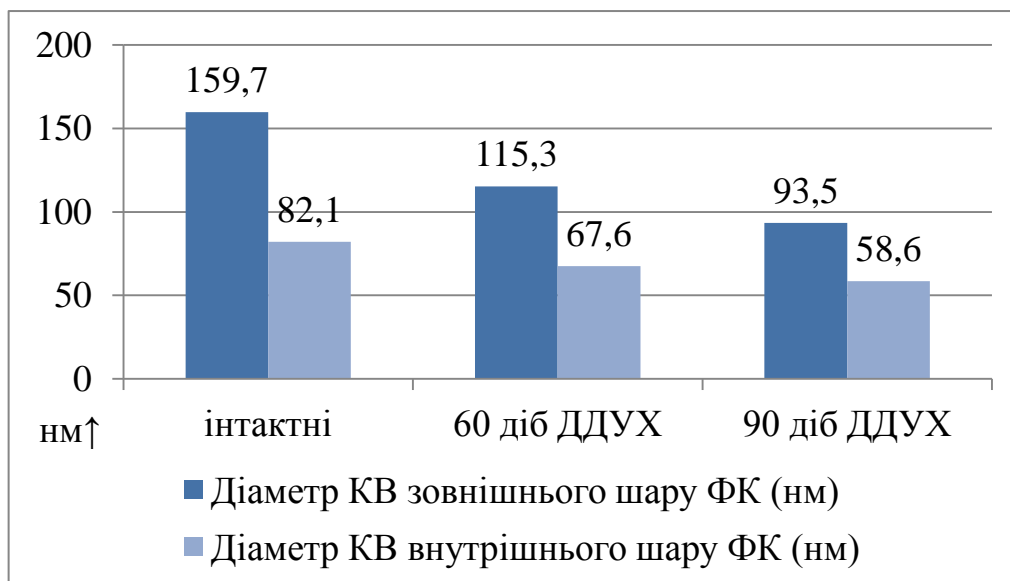


Рис. 6.5. Діаметр колагенових волокон пластинок фіброзного кільця у щурів з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 та 90 діб без корекції.

Відомо, що при дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта в тканинах диску відбуваються запальні процеси [29], які супроводжуються синтезом прозапальних цитокінів ІЛ-1 та ІЛ-6 [35, 47, 48]. У зв'язку з зазначеним, є доцільним дослідження впливу НПЗЗ на дегенеративно-дистрофічний процес. Гістологічне дослідження тканин МХД у щурів з модельованим ДДУХ впродовж 60 діб та наступним введенням НПЗЗ виявило ознаки дегенеративних змін в тканинах та клітинах ФК та ДЯ характерні для цього терміну моделювання патології. Максимальної виразності вони мали на боці компресії диску. Товщина ФК на боці компресії через 14 діб після введення НПЗЗ зменшилася на 30,2 % ($p=0,01$), а через 28 діб – на 39,0 % ($p=0,01$) від інтактних тварин та статистично не відрізнялася від групи патології без корекції. Товщина ФК на боці дистензії через 14 діб та 28 діб після введення НПЗЗ статистично не відрізнялася від інтактної групи (рис. 6.6).

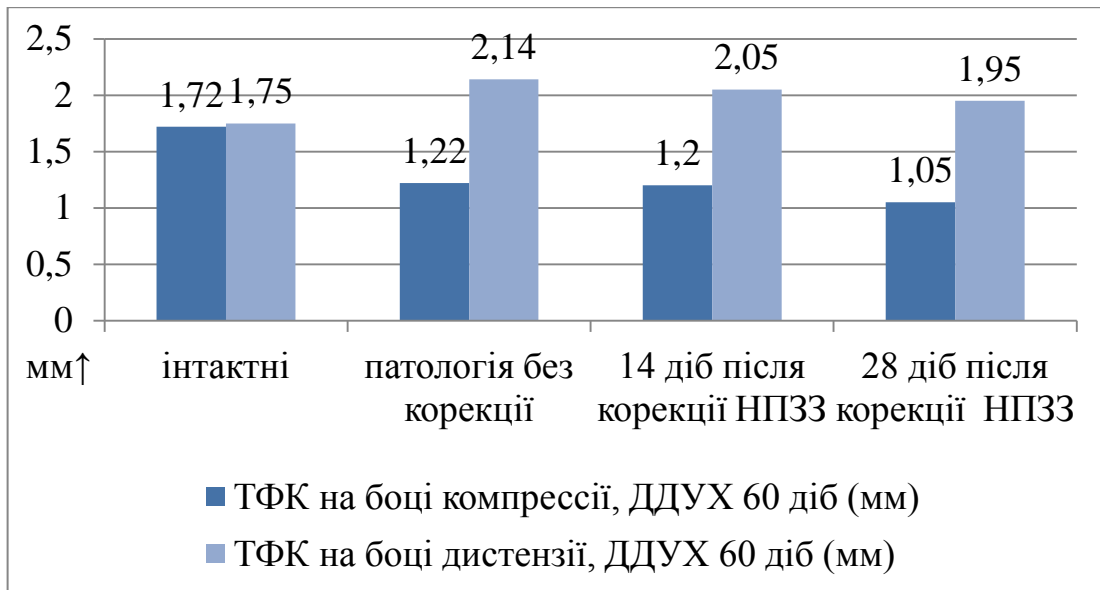


Рис. 6.6. Товщина фіброзного кільця міжхребцевих дисків у щурів з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 діб та після введення нестероїдних протизапальних засобів.

Площа ДЯ в групі щурів з моделюванням ДДУХ протягом 60 діб після введення НПЗЗ була знижена на 39,4 % ($p=0,01$) від інтактних тварин та статистично не відрізнялася від групи патології без корекції (рис. 6.7).

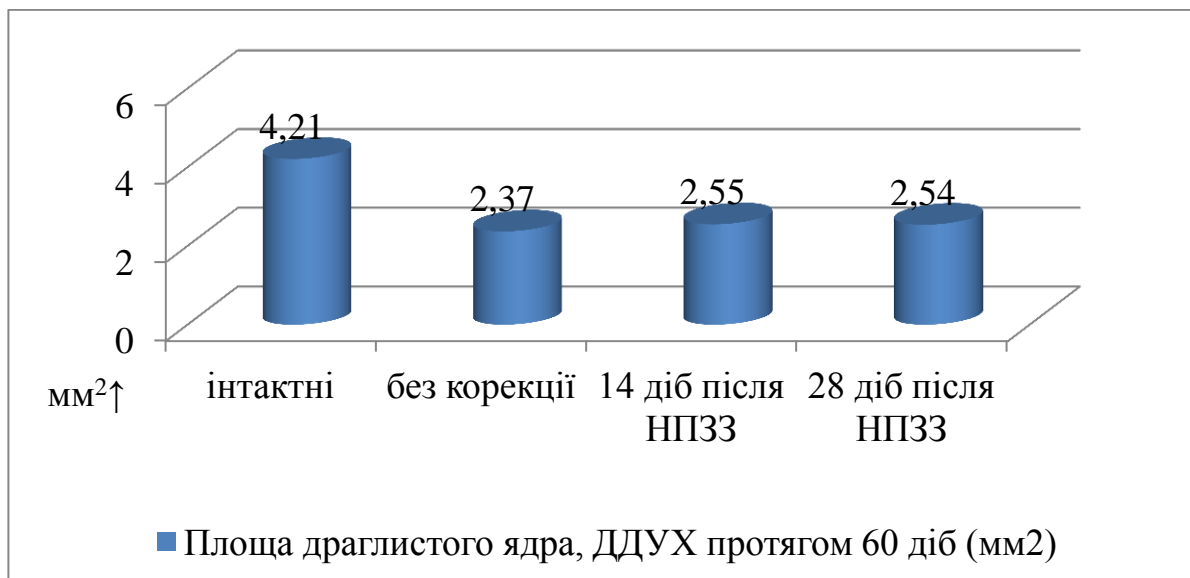


Рис. 6.7. Площа драглистого ядра в центральній частині міжхребцевих дисків у щурів з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 діб та після введення нестероїдних протизапальних засобів.

Кут між замикальними пластинками в групах з моделюванням ДДУХ впродовж 60 діб після введення НПЗЗ та без корекції також статистично не відрізняється один від одного (рис. 6.8).

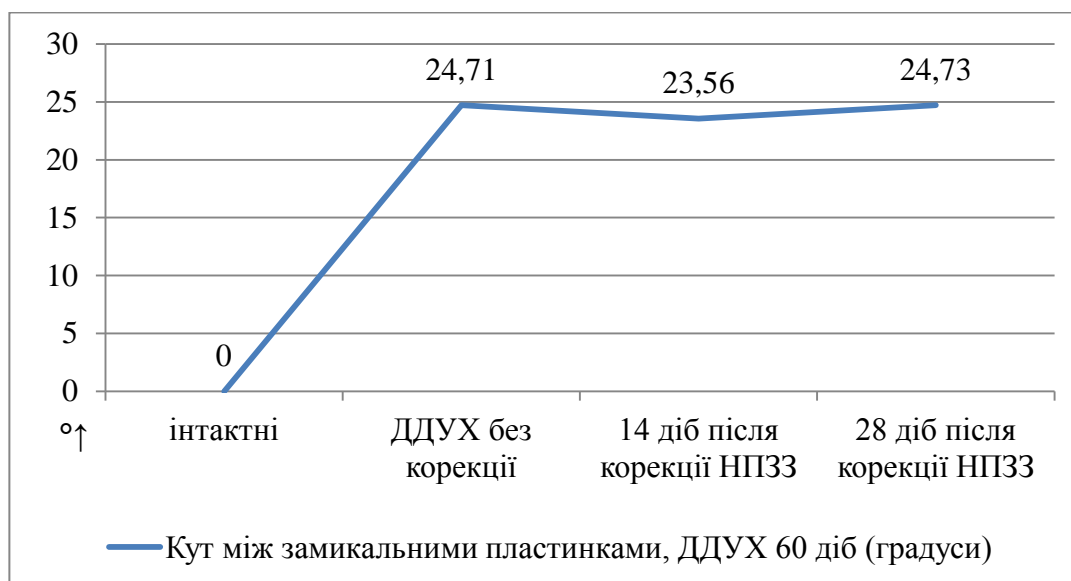


Рис. 6.8. Кут між замикальними пластинками міжхребцевих дисків у щурів з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 діб та після введення нестероїдних протизапальних засобів.

Ультрамікроскопічне дослідження пластинок зовнішнього шару ФК через 14 діб після введення НПЗЗ виявило зменшення дезорганізації колагенових волокон фіброзних пластинок у порівнянні з щурами без корекції. Однак, статистичної різниці у товщині пластинок зовнішнього шару ФК з групою без корекції не було. Вона була зменшена на 8,4 % ($p=0,01$) від інтактної групи. Товщина пластинок внутрішнього шару ФК була зменшена на 9,7 % ($p=0,01$) від інтактної групи та статистично не відрізнялась від групи патології без корекції. Через 28 діб після введення НПЗЗ статистичної різниці в товщині пластинок зовнішнього шару у порівнянні з попереднім терміном або з групою патології без корекції виявлено не було (рис. 6.9).

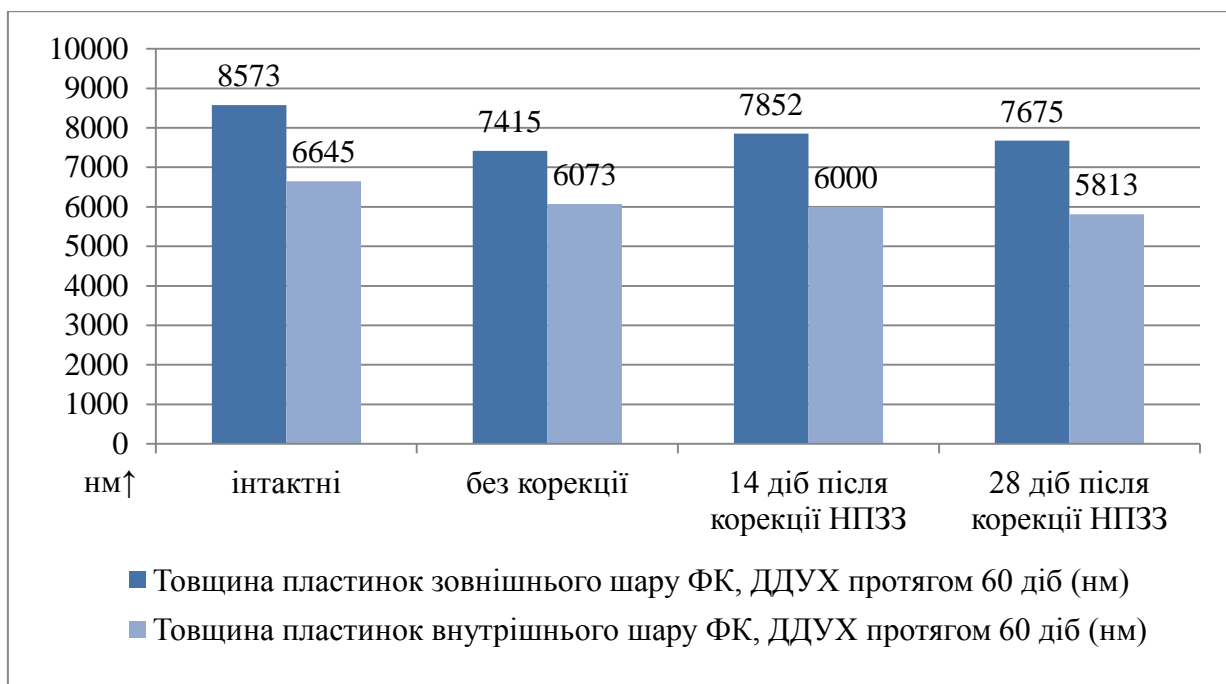


Рис. 6.9. Товщина пластинок фіброзного кільця міжхребцевих дисків у щурів з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 діб та після введення нестероїдних протизапальних засобів.

Дослідження колагенових волокон зовнішнього шару ФК виявило відновлення їх структури та діаметру. Через 14 діб після останнього введення НПЗЗ діаметр КВ був збільшений на 18,7 % ($p \leq 0,05$) від групи патології без корекції, однак він був менший на 14,3 % ($p \leq 0,05$) від діаметру волокон інтактних тварин. Через 28 діб після введення НПЗЗ діаметр КВ статистично не відрізнявся від групи патології без корекції та був на 18 % ($p \leq 0,01$) менше від інтактних тварин. Статистичної різниці між діаметрами КВ внутрішнього шару ФК після введення НПЗЗ та групи патології без корекції не було (рис. 6.10).

Таким чином можливо стверджувати, що НПЗЗ позитивно впливає на колагенові волокна та фіброзні пластини зовнішнього шару ФК на фоні 60-ти денного моделювання ДДУХ в перші 14 діб після введення. Через 28 діб після введення НПЗЗ позитивний вплив на тканини зовнішнього шару ФК відсутній. Також відсутній вплив на інші морфометричні показники

диску, а саме: товщину ФК, площу драглистого ядра, кут між замикальними пластинками, товщину пластин та колагенових волокон внутрішнього шару ФК в обох термінах спостереження.

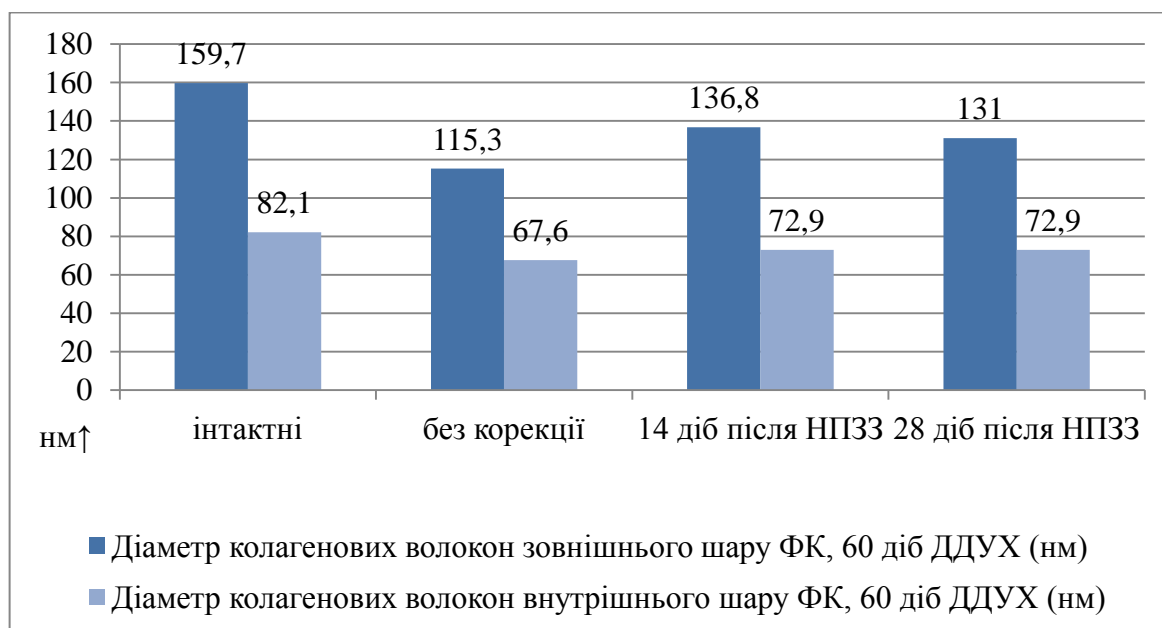


Рис. 6.10. Діаметр колагенових волокон фіброзного кільця міжхребцевих дисків у щурів з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 днів та після введення нестероїдних протизапальних засобів.

Гістологічне дослідження тканин МХД щурів з модельованим ДДУХ впродовж 90 днів та після введення НПЗЗ виявило ознаки прогресування дегенеративних змін, що були зафіксовані у групах попереднього терміну моделювання патології. Товщина фіброзного кільця на боці компресії через 14 днів після введення НПЗЗ була зменшена на 60,7 % ($p=0,001$) від інтактної групи, а через 28 днів після корекції – на 62 % ($p=0,001$) відповідно та статистично не відрізнялася від відповідної групи патології без корекції. На боці дистензії через 14 та 28 днів після введення НПЗЗ товщина ФК була зменшена на 13,2 ($p=0,01$) та 17,71 % ($p=0,01$) від інтактної групи відповідно. Статистичної різниці в показниках між групами тварин після введення НПЗЗ та з патологією без корекції виявлено не було (рис. 6.11).

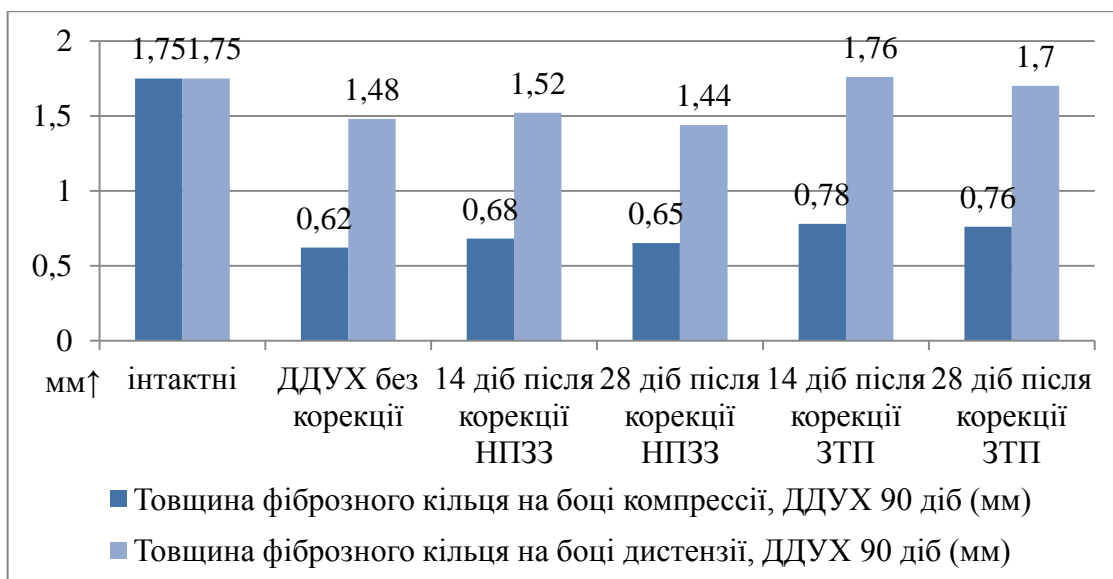


Рис. 6.11. Товщина фіброзного кільця міжхребцевих дисків у щурів з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 90 діб та після введення нестероїдних протизапальних засобів.

Площа драглистого ядра через 14 та 28 діб після введення НПЗЗ склала 23,28 ($p=0,001$) та 21,85 % ($p=0,001$) від площі інтактного диска та статистично не відрізнялася від групи тварин цього терміну моделювання патології без корекції (граф. 6.12). Різке зменшення об'єму драглистого ядра, деформація його матриксу, некротичні та дистрофічні зміни в клітинах свідчать про прогресування дегенеративних змін незважаючи на введення НПЗЗ. Кут між замикальними пластинками після введення НПЗЗ складав $28,45^\circ$ та $29,7^\circ$ відповідно та статистично не відрізнявся від групи тварин без корекції.

Товщина пластинок зовнішнього шару ФК через 14 діб після останнього введення НПЗЗ була зменшена на 27,6 % ($p=0,001$) у порівнянні з інтактною групою. Через 28 діб після введення НПЗЗ товщина пластинок була зменшена на 31,2 % ($p=0,001$) відповідно. Товщина пластинок внутрішнього шару також була зменшена: через 14 діб після введення НПЗЗ на 15,5 ($p=0,001$) , через 28 діб – на 15,9 % ($p=0,001$) від інтактної

групи. Статистичної різниці між групами з введенням НПЗЗ та без корекції не було (рис. 6.13).

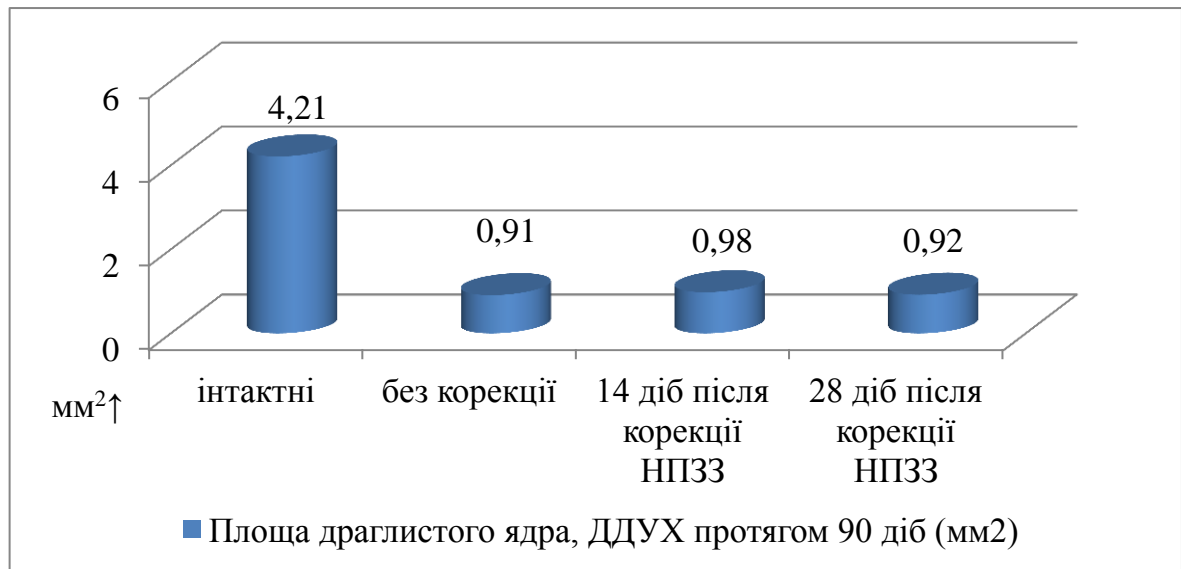


Рис. 6.12. Площа драглистого ядра в центральній частині міжхребцевих дисків у щурів з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 90 діб та після введення нестероїдних протизапальних засобів.

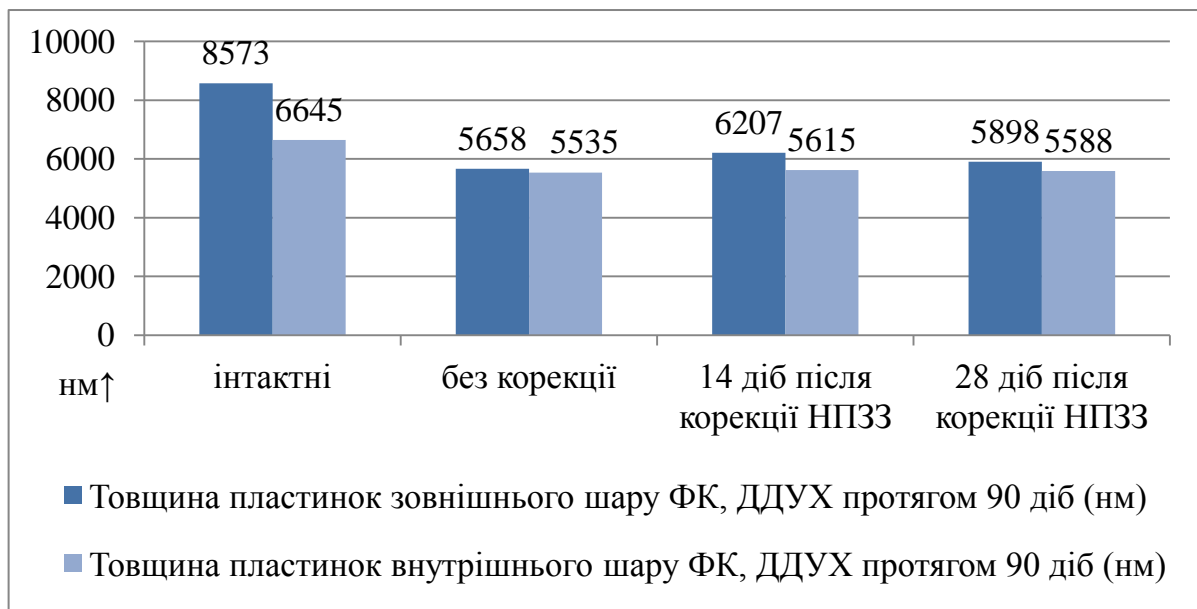


Рис. 6. 13. Товщина пластин фіброзного кільця міжхребцевих дисків у щурів з моделюванням дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 90 діб та після введення нестероїдних протизапальних засобів.

Порівняння діаметрів колагенових волокон зовнішнього та внутрішнього шарів ФК через 14 та 28 діб після останнього введення НПЗЗ з групою патології без корекції не виявило статистичної різниці між ними. Через 14 діб діаметр КВ зовнішнього та внутрішнього шару ФК знизився на 29,7 % ($p=0,001$) та 20,5 % ($p=0,001$) від інтактної групи відповідно. Через 28 діб після введення НПЗЗ діаметр КВ зовнішнього та внутрішнього шару ФК знизився на 32,1 % ($p=0,001$) та 22,3 % ($p=0,001$) від інтактної групи відповідно (рис. 6.14).

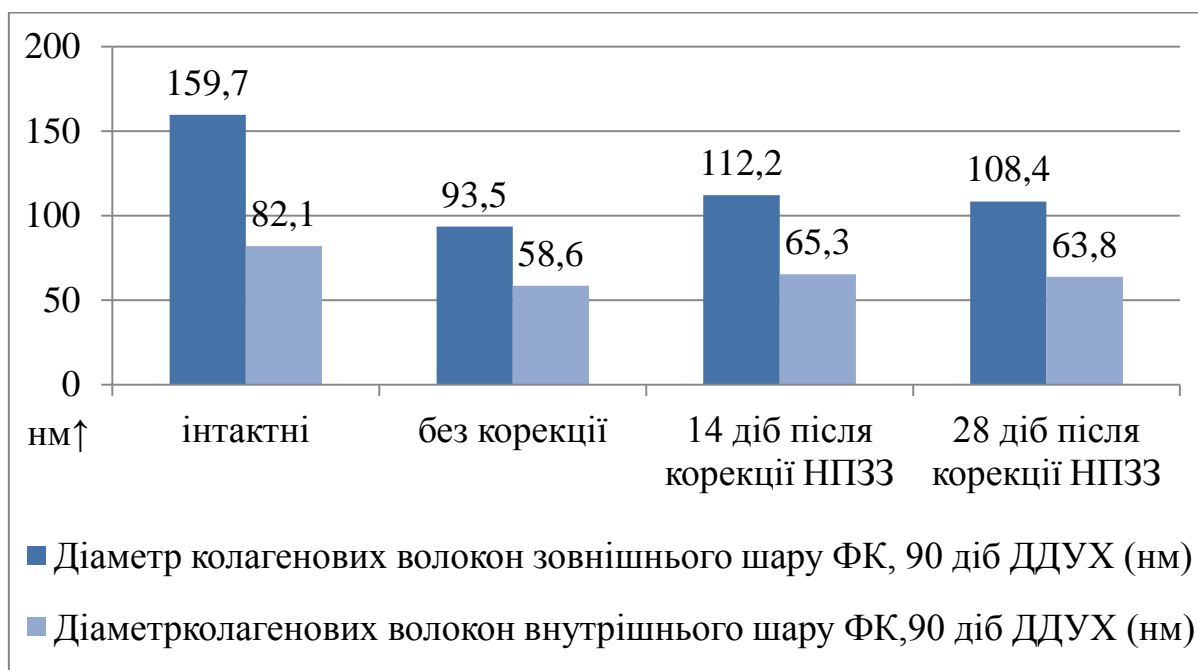


Рис. 6. 14. Діаметр колагенових волокон фіброзного кільця МХД у щурів з моделюванням ДДУХ 90 діб та після введення НПЗЗ.

Таким чином можливо стверджувати, що введення НПЗЗ в умовах ДДУХ строком 60 діб надає позитивного впливу на тканини зовнішнього шару фіброзного кільця в перші 14 діб після введення. Однак, цей вплив відсутній через 28 діб після введення НПЗЗ. Також відсутній позитивний вплив після введення НПЗЗ тваринам з ДДУХ строком 90 діб. Тимчасовий позитивний вплив на тканини зовнішнього шару ФК ми пов'язуємо з протизапальною дією НПЗЗ.

Дослідження гістологічних препаратів МХД щурів з модельованим ДДУХ впродовж 60 діб після корекції ЗТП виявило відновлення тканин диску. Через 14 діб після останнього введення ЗТП відмічається більш організована структура фіброзних пластинок, відсутність вогнищ некрозу та менша кількість щілин між пластинками, що вказує на відновлення будови матриксу ФК. Наявні ознаки збільшення синтетичної активності клітин ФК та ДЯ в тканинах біля МХД вказують на стимулюючий вплив факторів зросту ЗТП. Товщина ФК на боці компресії збільшена на 31,97 % ($p=0,01$) у порівнянні з групою без корекції та статистично не відрізняється від товщини ФК інтактних тварин. Через 28 діб після корекції позитивний вплив ЗТП зберігається. Товщина ФК на боці компресії через 28 діб після введення ЗТП збільшена на 30,33 % ($p=0,01$) від групи тварин без корекції патології та статистично не відрізняється від товщини ФК інтактних тварин (рис. 6.15).

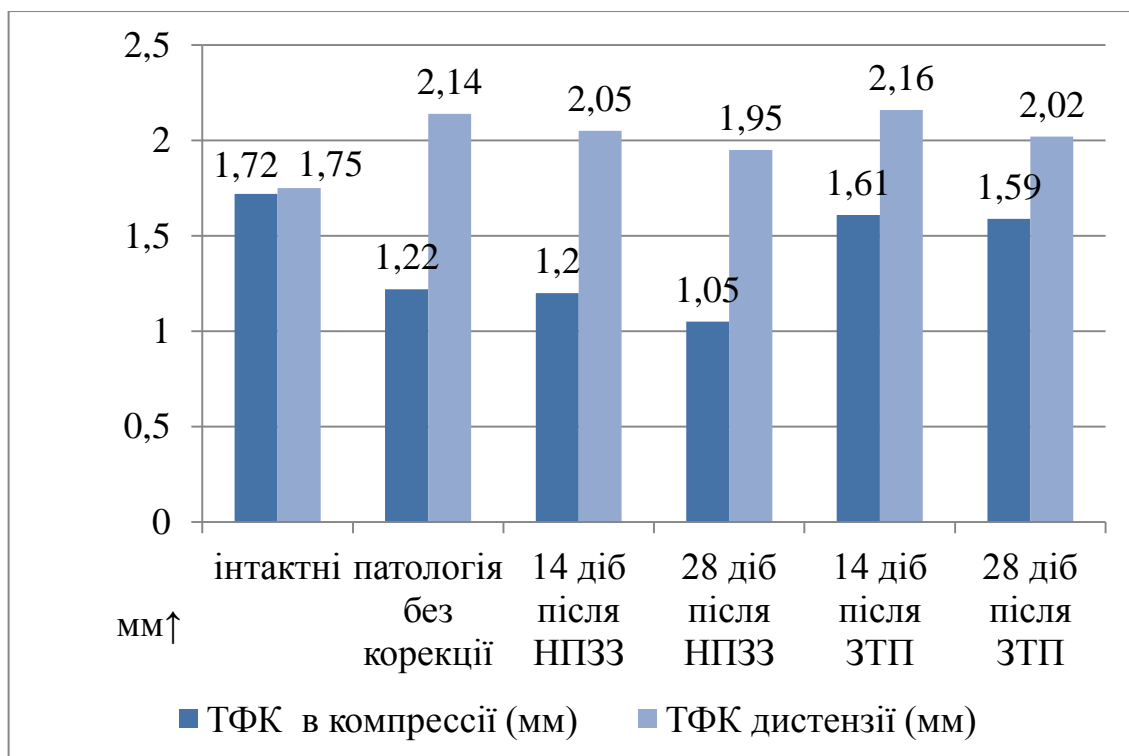


Рис. 6.15. Товщина фіброзного кільця МХД у щурів після моделювання ДДУХ протягом 60 діб та після введення ЗТП або НПЗЗ.

Ультрамiкроскопiчне дослідження МХД щурiв виявило збiльшення товщини пластинок зовнiшнього та внутрiшнього шарiв ФК у порiвнянi з iншими групами. Через 14 дiб пiсля введення ЗТП спостерiгалися збiльшення товщини пластинок зовнiшнього шару ФК на 17,3 % ($p=0,001$) у порiвнянi з групою патологiї без корекцiї та на 8,01 % ($p=0,05$) бiльше нiж у групi з введенням НПЗЗ. Товщина пластинок внутрiшнього шару ФК була збiльшена на 10,54 % ($p=0,05$) вiд групи щурiв без корекцiї та на 11,9 % ($p=0,01$) бiльша нiж у групi з введенням НПЗЗ. Через 28 дiб пiсля введення ЗТП товщина пластинок зовнiшнього шару ФК була збiльшена на 11,2 % ($p=0,01$) вiд групи патологiї без корекцiї та на 10,8 % ($p=0,01$) бiльша нiж в групi введення НПЗЗ. Товщина пластинок внутрiшнього шару ФК збiльшилася на 7,36 % ($p=0,05$) вiд групи патологiї без корекцiї та на 11,89 % ($p=0,01$) бiльша нiж у групi введення НПЗЗ. Таким чином можливо стверджувати, що найбільших регенеративних змiн зазнали пластинки зовнiшнього шару ФК протягом перших чотирнадцяти дiб пiсля введення ЗТП. Слiд зазначити, що статистичної рiзницi в групi з введенням ЗТП мiж термiнами спостереження та з iнтактною групою не було (рис. 6.16).

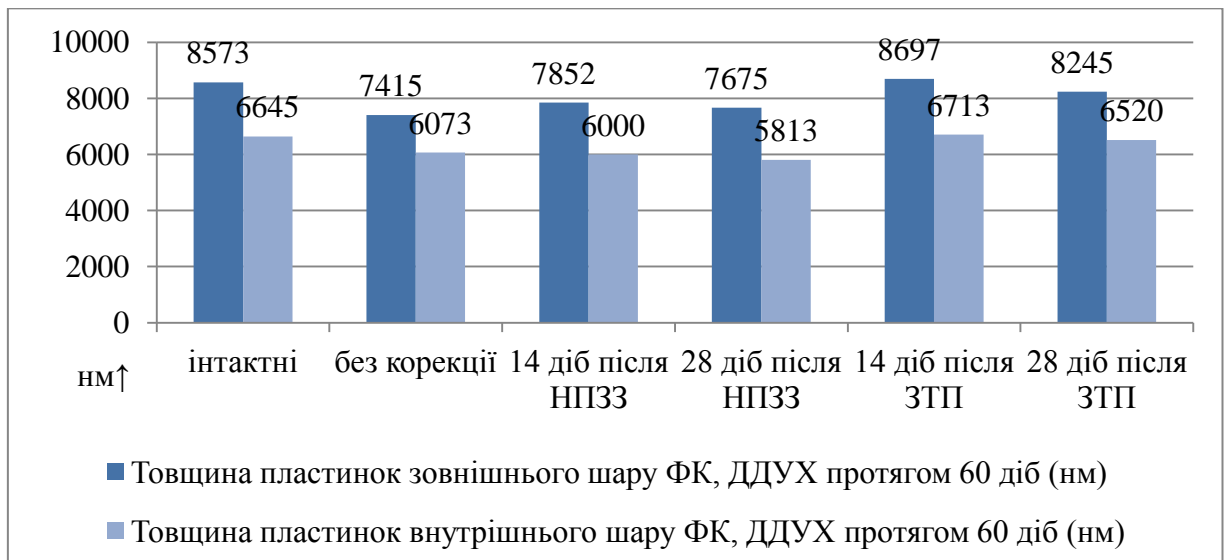


Рис. 6.16. Товщина пластин фiброзного кiльця мiжхребцевих дискiв у щурiв пiсля моделювання дегенеративно-дистрофiчного ураження хребта протягом 60 дiб та пiсля введення збогааченої тромбоцитами плазми або нестероїдних протизапальних засобiв.

Дослідження колагенових волокон ФК після введення ЗТП виявило відновлення структури та збільшення їх діаметрів, які статистично не відрізнялися від діаметрів КВ інтактних тварин. Через 14 діб після останнього введення ЗТП діаметр колагенових волокон зовнішнього шару ФК був на 39,9 % ($p=0,001$) більше ніж у групі патології без корекції та на 17,9 % ($p=0,001$) більше ніж у групі введення НПЗЗ. Діаметр волокон внутрішнього шару був збільшений на 20,8 % ($p\leq 0,05$) від групи патології без корекції. Через 28 діб після введення ЗТП колагенові волокна зовнішнього шару ФК були на 28,6 % ($p\leq 0,05$) більше ніж у групі патології без корекції. Діаметр колагенових волокон внутрішнього шару був на 15,9 % більше ніж у групі патології без корекції та статистично не відрізнявся від групи введення НПЗЗ. Максимального позитивного ефекту від введення ЗТП зазнали колагенові волокна зовнішнього шару ФК у перші 14 діб після введення. Через 28 діб після введення позитивний ефект зберігався однак був виражений менше (рис. 6.17).



Рис. 6.17. Діаметр колагенових волокон пластин фіброзного кільця міжхребцевих дисків у щурів після моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 діб та після введення збагаченої тромбоцитами плазми або нестероїдних протизапальних засобів.

Дослідження тканин драглистого ядра виявило ознаки регенеративних процесів на тлі дегенерації. Спостерігається синтетична активність НХК та хондроцитів. Площа ДЯ в центральній частині диску не зазнала суттєвих змін після введення ЗТП, хоча її показники були дещо вищі ніж у попередніх групах. Максимальне відновлення площі ядра спостерігали через 14 діб після введення ЗТП (2,97) мм², що на 29,5 % ($p=0,001$) менше ніж площа інтактних тварин, однак на 20,7 % ($p\leq 0,01$) більше за площу ядра у тварин без корекції (рис. 6.18).

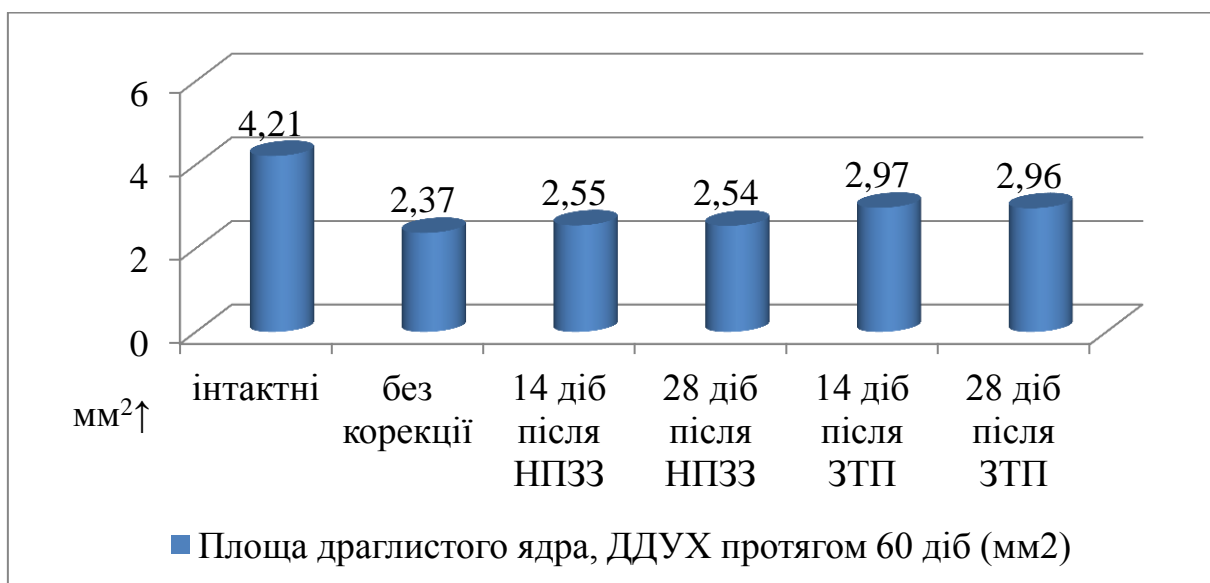


Рис. 6.18. Площа драглистого ядра у центральній частині міжхребцевого диску у щурів після моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 діб та після введення збагаченої тромбоцитами плазми або нестероїдних протизапальних засобів.

Кут між замикальними пластинками в усіх групах з моделюванням ДДУХ впродовж 60 діб статистично не відрізнявся, тобто він майже не залежить від корекції (рис. 6.19).

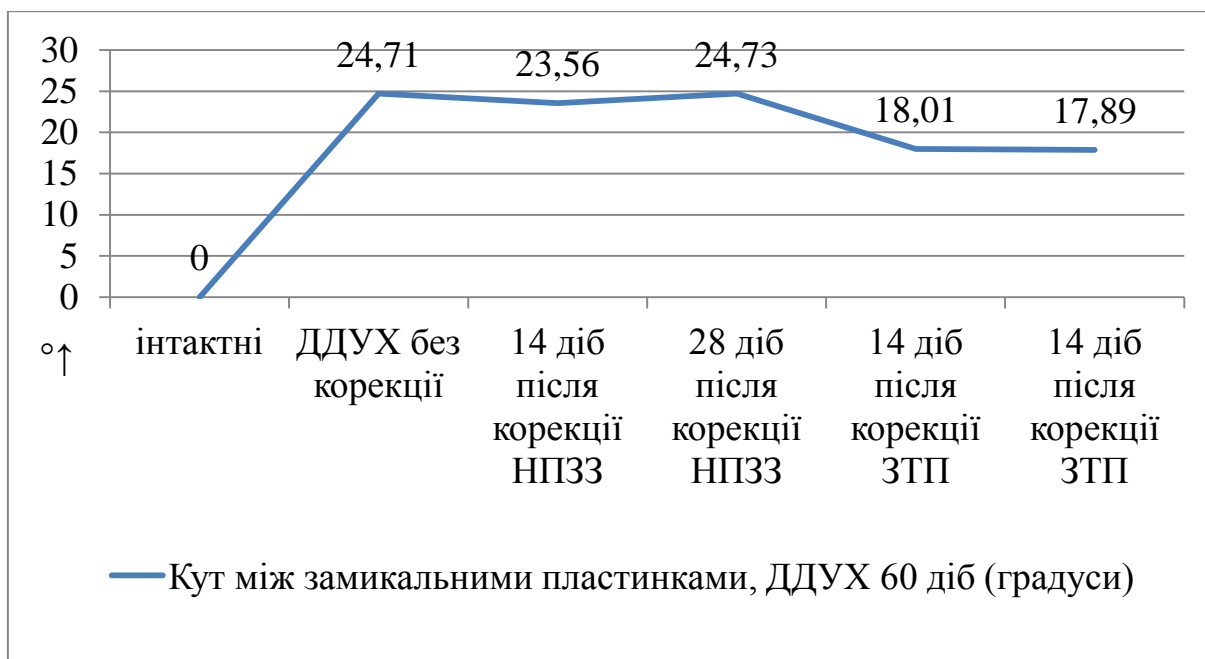


Рис. 6.19. Кут між замикальними пластинами міжхребцевих дисків у щурів після моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 60 діб та після введення збагаченої тромбоцитами плазми або нестероїдних протизапальних засобів.

Гістологічне дослідження тканин МХД у щурів з корекцією ЗТП після 90 діб моделювання ДДУХ виявило ознаки регенеративних змін на тлі прогресування дегенеративних процесів. При зіставленні товщини ФК у щурів з моделюванням ДДУХ впродовж 90 діб відзначається її зниження в усіх експериментальних групах, особливо з боку компресії. Товщина ФК з боку компресії через 14 діб після введення ЗТП на 54,7% ($p \leq 0,01$) менша ніж товщина ФК інтактного диску, та більша на 25,8% ($p \leq 0,05$) від групи патології без корекції. Через 28 діб після введення ЗТП товщина ФК з боку компресії статистично не змінилася. На боці дистензії після введення ЗТП висота МХД відповідає інтактної групи. Таким чином, спостерігається часткове відновлення товщини ФК під дією факторів росту ЗТП (рис. 6.20).

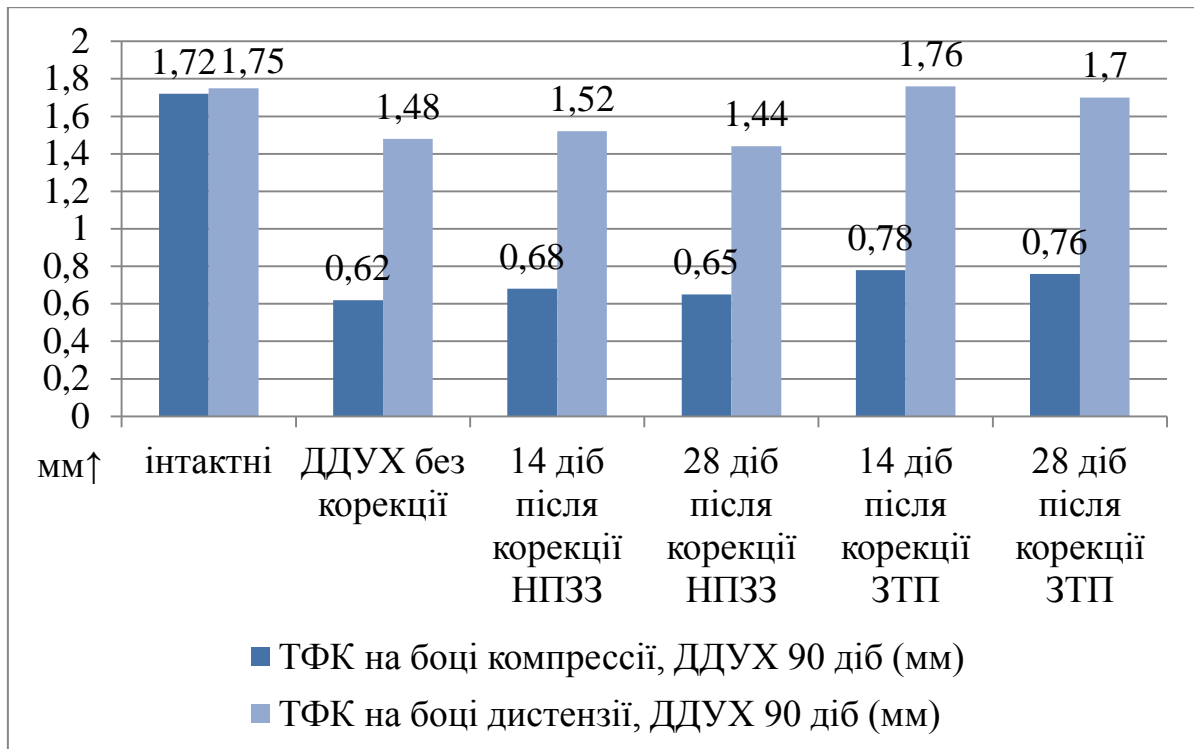


Рис. 6.20. Товщина фіброзного кільця міжхребцевих дисків у щурів після моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 90 діб та після введення збагаченої тромбоцитами плазми або нестероїдних протизапальних засобів.

Ультрамiкроскопiчне дослідження пластин та волокон фіброзного кільця МХД з ДДУХ після введення ЗТП виявило ознаки відновлення структури та збільшення їх розмірів. Через 14 діб після введення ЗТП товщина пластинок зовнішнього шару фіброзного кільця була на 13,8 % ($p \leq 0,01$) більше від групи патології без корекції, однак лишалася на 24,9 % ($p = 0,001$) менше від інтактних тварин. Через 28 діб після введення ЗТП товщина пластинок зовнішнього шару була на 8 % ($p \leq 0,05$) більше від групи патології без корекції та на 28,7 % ($p = 0,001$) менше від групи інтактних тварин. Пластинки внутрішнього шару ФК через 14 діб після введення ЗТП були на 9,3 % ($p \leq 0,01$) більше ніж в групі патології без корекції та на 7,7 % ($p \leq 0,05$) більше групи введення НПЗ3, що на 9 % ($p \leq 0,01$) менше від групи інтактних тварин. Через 28 діб після введення ЗТП товщина пластинок внутрішнього шару була на 7,9 % ($p \leq 0,01$) більше

ніж в групі патології без корекції та на 6,9 % ($p \leq 0,05$) більше від групи введення НПЗЗ, що на 10,1 % ($p \leq 0,01$) менше ніж в інтактній групі тварин (рис. 6.21).

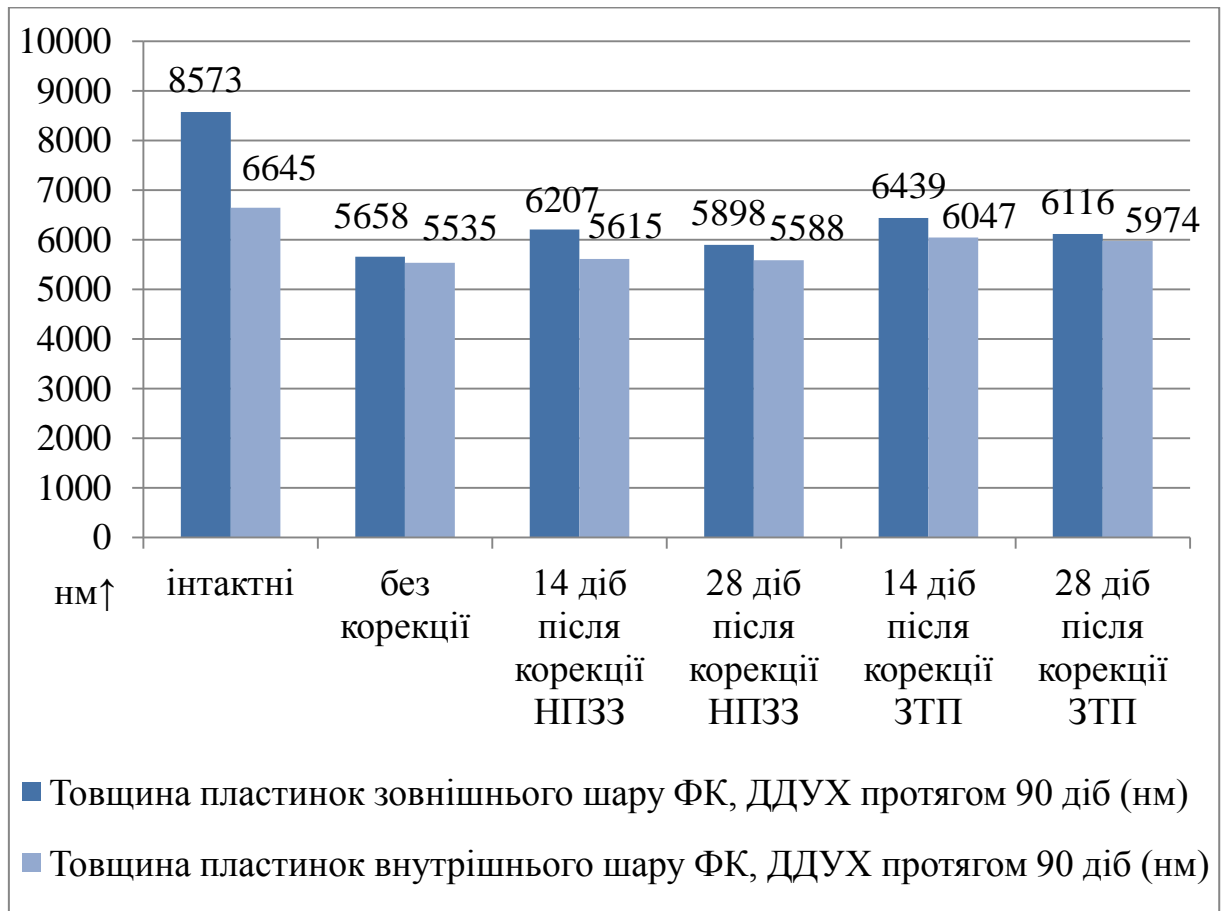


Рис. 6.21. Товщина пластинок фіброзного кільця міжхребцевих дисків у щурів після моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 90 діб та після введення збагаченої тромбоцитами плазми або нестероїдних протизапальних засобів.

Діаметр колагенових волокон фіброзного кільця МХД у щурів з корекцією ЗТП був більше, ніж у групах щурів з патологією без корекції та після введення НПЗЗ. Через 14 діб після корекції ЗТП діаметр КВ зовнішнього шару був більше на 30,9 % ($p=0,001$) ніж у тварин в групі патології без корекції та більше на 9,1 % ($p \leq 0,05$) ніж у тварин з введенням НПЗЗ, що менше на 23,4 % ($p \leq 0,01$) ніж у інтактних тварин. Через 28 діб після введення ЗТП діаметр колагенових волокон статистично не

відрізнявся від попереднього терміну спостереження: більше на 28,2 % ($p=0,001$) ніж в групі патології без корекції, більше на 10,5 % ($p\leq 0,05$) від групи введення НПЗЗ, менше на 25 % ніж у інтактних тварин. Вплив від ЗТП на волокна внутрішнього шару був менший. Через 14 діб спостереження після введення ЗТП діаметр КВ внутрішнього шару був більше від групи патології без корекції на 19,5 % ($p=0,01$) та більше на 7,3 % ($p\leq 0,05$) ніж після введення НПЗЗ, що менше на 14,6 % ($p\leq 0,05$) від інтактних тварин. Через 28 діб після введення ЗТП діаметр КВ внутрішнього шару був більше на 17,9 % від групи патології без корекції та більше на 8,3 % ($p\leq 0,05$) ніж у групі з введенням НПЗЗ, що менше на 15,8 % ($p\leq 0,01$) від інтактних тварин (рис. 6.22).

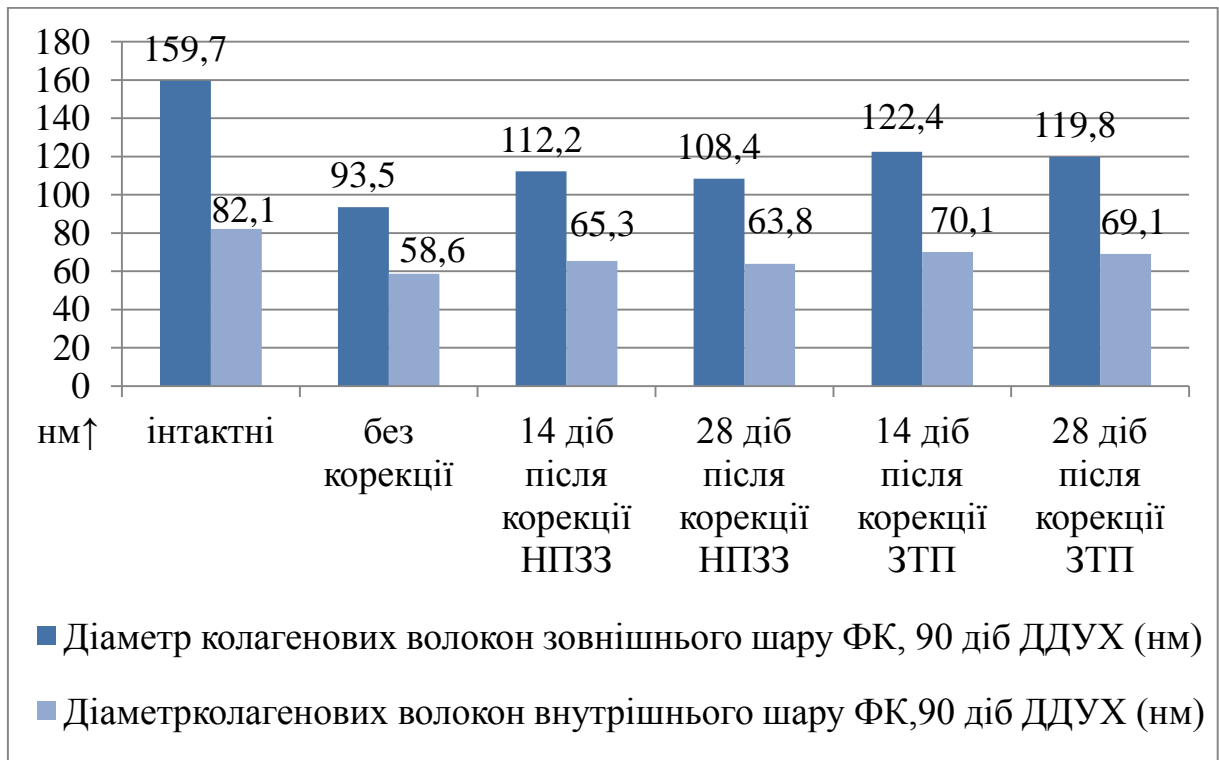


Рис. 6.22. Діаметр колагенових волокон пластин фіброзного кільця міжхребцевих дисків у щурів після моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 90 діб та після введення збагаченої тромбоцитами плазми або нестероїдних протизапальних засобів.

Гістологічне та ультрамікроскопічне дослідження драглистого ядра міжхребцевих дисків у щурів після моделювання ДДУХ впродовж 90 діб та двократного введення збагаченої тромбоцитами плазми виявило ознаки синтетичної активності клітин на тлі значного ущільнення матриксу ядра, чисельних вогнищ некрозу та кальцифікатів. Площа ДЯ в центральній частині диску через 14 діб після введення ЗТП складає 28 % від площі інтактного диску та статистично не змінюється через 28 діб спостереження (рис. 6.23). Кут між замикальними пластинками через 14 та 28 діб після введення ЗТП суттєво не змінився у порівнянні з іншими групами (рис. 6.24).

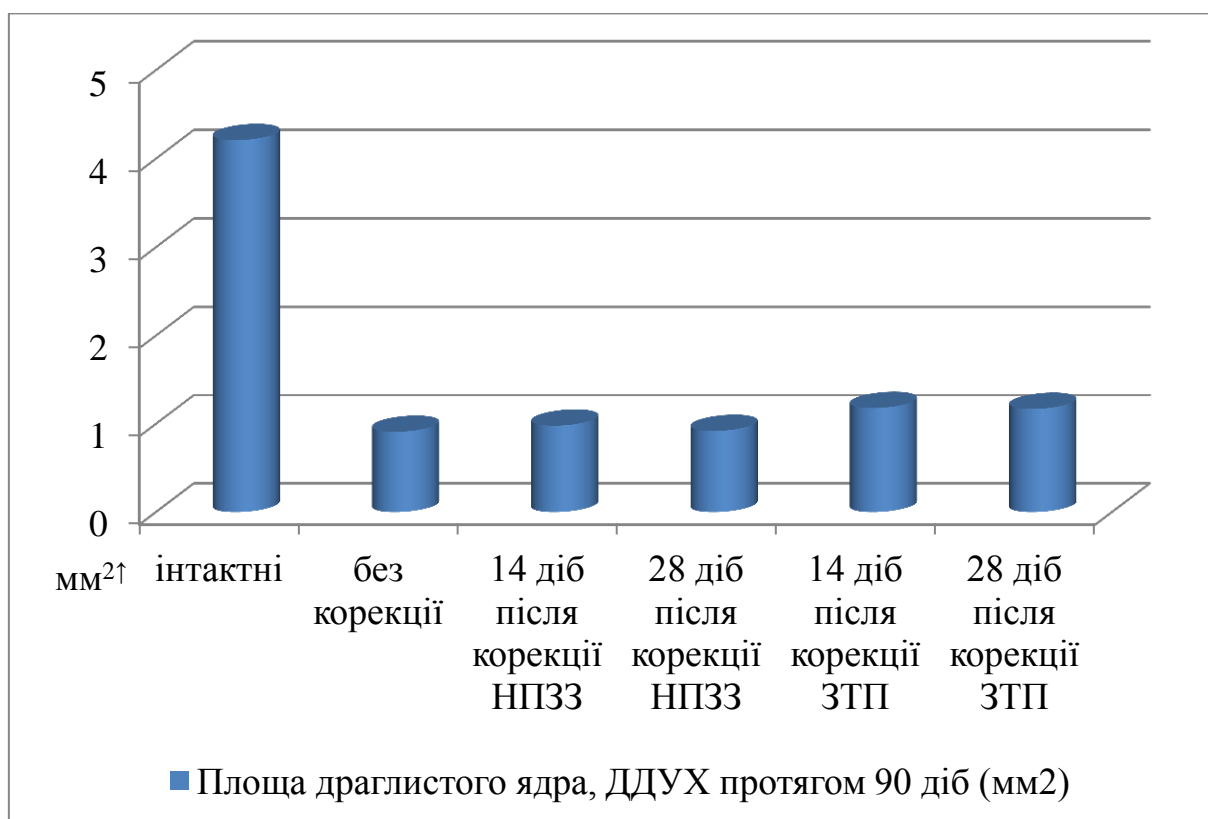


Рис. 6.23. Площа драглистого ядра у центральній частині міжхребцевого диску у щурів після моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 90 діб та введення збагаченої тромбоцитами плазми або нестероїдних протизапальних засобів.

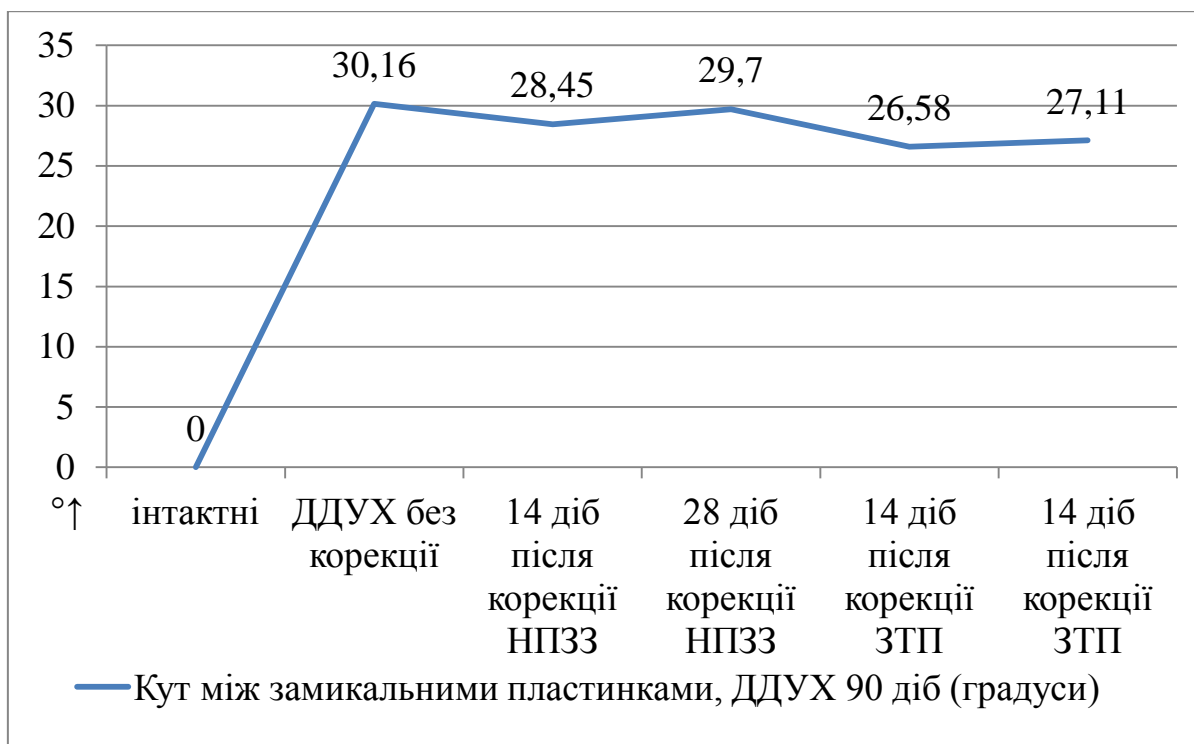


Рис. 6.24. Кут між замикальними пластинками міжхребцевих дисків у щурів після моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 90 діб та після введення збагаченої тромбоцитами плазми або нестероїдних протизапальних засобів.

Дегенеративно-дистрофічні зміни в тканинах міжхребцевих дисків супроводжуються зниженням анаболічних та збільшенням катаболічних процесів пропорційно тривалості та силі надмірного навантаження, про що свідчать зниження генів агрекану та колагену типу 2а, та збільшення генів ММП-3 та ММП-13 [54, 77]. Позитивний вплив ЗПТ на перебіг ДДУХ пояснюється факторами росту, які знаходяться в тромбоцитах. Вони стимулюють проліферацію та пригнічують апоптоз фіброластів та ендотеліальних клітин; індукують синтез протеогліканів та колагену; пригнічують секрецію матриксної металопептидази 2 [130, 133, 137 - 140, 143, 145]. Ефективність застосування ЗПТ у відтворенні маловаскуляризованих тканин підтверджується даними інших клінічних досліджень при гонартрозі, коксартрозі, бічному епиконділіті, тендинопатії надколінка та Ахіллового сухожилку [164, 165, 177 - 180]. Таким чином,

можливо стверджувати, що застосування ЗТП тваринам після моделювання ДДУХ викликає покращення морфології тканин та морфометричних показників в міжхребцевих дисках та є перспективним методом для подальших досліджень її ефективності за умов патології хребта.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведене теоретичне обґрунтування та експериментальне вирішення наукового завдання, що полягає у вивченні морфологічних особливостей міжхребцевого диску під впливом збагаченої тромбоцитами плазми за умов модельованого дегенеративно-дистрофічного ураження хребта.

1. У результаті вдосконалення моделі постійної асиметричної статичної компресії-дистензії хвостового відділу хребта в щурів відбувається формування дегенеративно-дистрофічного ураження, яке проявляється якісними ознаками дегенеративних змін у міжхребцевих дисках через 60 діб від початку моделювання: розривами та вогнищами некрозу пластинок фіброзного кільця на боці компресії; кальцифікацією та некрозом замикальної пластинки; дистрофічними та некротичними змінами в клітинах диска.

2. Встановлено достовірне зменшення всіх морфологічних показників, яке свідчить про дегенеративні зміни в тканинах диску через 60 діб після моделювання патології у порівнянні з інтактними тваринами: товщина фіброзного кільця на боці компресії становить 69,7 % ($p=0,01$), площа драглистого ядра – 56,3 % ($p=0,001$); товщина пластинок та діаметр колагенових волокон зовнішнього шару – 86,5 % ($p=0,001$) та – 72,2 % ($p=0,001$) відповідно; товщина пластинок та діаметр колагенових волокон внутрішнього шару – 91,4 % ($p=0,01$) та – 82,3 % ($p=0,01$) відповідно. Кут між замикальними пластинками становить $(24,7 \pm 1,4)^\circ$.

3. Моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта протягом 90 діб призводить до прогресування патологічних змін у дисках: збільшення розривів та розшарування колагенових пластин фіброзного кільця; збільшення вогнищ некрозу та кальцифікатів замикальної пластинки. Відбувається різке зниження всіх морфологічних показників від інтактної групи: товщина фіброзного кільця на боці компресії становить 36,1 % ($p=0,001$); площа драглистого ядра – 21,6 % ($p=0,001$);

товщина пластинок та діаметр колагенових волокон зовнішнього шару фіброзного кільця – 66 % ($p=0,001$) та – 58,5 % ($p=0,001$); товщина пластинок та діаметр колагенових волокон внутрішнього шару – 83,3 % ($p=0,001$) та 71,4 % ($p=0,001$) відповідно. Кут між замикальними пластинками становить $(30,2\pm 1,5)^\circ$.

4. Введення диклофенаку натрію щурам після 60 діб моделювання патології призводить до тимчасового покращення тривалістю 14 діб організації колагенових волокон зовнішнього шару фіброзного кільця та збільшення їх діаметру на 20 % ($p\leq 0,05$), збільшення товщини фіброзних пластин на 9,7 % ($p\leq 0,05$) у порівнянні з групою патології без корекції. Введення диклофенаку натрію щурам після 90 діб моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хребта суттєво не впливає на патологічний процес у міжхребцевих дисках. Морфометричні показники в обох термінах спостереження (через 14 та 28 діб) статистично не відрізняються від групи патології без корекції.

5. Введення збагаченої тромбоцитами плазми щурам з модельованим дегенеративно-дистрофічним ураженням хребта впродовж 60 діб відтворює структуру міжхребцевого диску, про що свідчать: відсутність вогнищ фібриноїдного некрозу на боці компресії, відсутність вогнищ некрозу та звапніння замикальної пластинки; збільшення синтетичної активності клітин; зменшення розшарування пластин фіброзного кільця. Через 28 діб після введення збагаченої тромбоцитами плазми структура тканин диска збережена, в клітинах спостерігаються ознаки синтетичної активності. Через 14 та 28 діб після введення збагаченої тромбоцитами плазми морфометричні показники фіброзного кільця статистично не відрізняються від інтактної групи тварин; кут між замикальними пластинками становить $(18,0\pm 1,0)$ та $(22,9\pm 1,4)^\circ$ відповідно; площа драглистого ядра складає 70,5 % ($p=0,001$) від площі драглистого ядра інтактних тварин.

6. Введення збагаченої тромбоцитами плазми для корекції модельованого впродовж 90 діб дегенеративно-дистрофічного ураження міжхребцевих дисків сприяє частковому відновленню морфології тканин дисків. Через 14 діб після введення плазми в порівнянні з групою патології без корекції: товщина фіброзного кільця на боці компресії збільшена на 25,8% ($p \leq 0,01$); товщина пластинок та діаметр колагенових волокон зовнішнього шару фіброзного кільця збільшена на 13,8 ($p=0,01$) та 30,9 % ($p \leq 0,01$) відповідно; площа драглистого ядра – на 29,7 % ($p \leq 0,05$). Через 28 діб після останнього введення збагаченої тромбоцитами плазми позитивний вплив на тканини диску лишається, а морфометричні показники статистично не відрізняються від попереднього терміну спостереження. Кут між замикальними пластинками через 14 діб після введення збагаченої тромбоцитами плазми становить $(26,6 \pm 1,4)^\circ$, а через 28 діб – $(27,1 \pm 1,3)^\circ$ відповідно.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ткаченко ЛА, Ярмола ТІ, Пустовойт ГЛ, М'якінькова ЛА. Діагностика болю у спині в роботі лікаря загальної практики–сімейної медицини. Семейная Медицина. 2015;6(62):60-2.
2. Товажнянська ОЛ, Михайлов ВБ. Психодіагностичні особливості депресивних розладів серед хворих працездатного віку із захворюваннями хребта. Международный медицинский журнал. 2010;4:45-9.
3. Davis MA, Onega T, Weeks WB, Lurie JD. Where the United States spends its spine dollars: expenditures on different ambulatory services for the management of back and neck conditions. Spine (Phila Pa 1976) [Internet]. 2012;37(19):1693-701. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3423501/>
4. Бобрик ЮВ. Комплексна реабілітація хворих на остеохондроз хребта із неврологічними проявами з використанням нових диференційних підходів [автореферат]. Ялта: Крим. держ. мед. ун-т. С.І. Георгієвського; 2013. 40 с.
5. Driscoll T, Jacklyn G, Orchard J, Passmore E, Vos T, Freedman G, et al. The global burden of occupationally related low back pain: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study. Ann Rheum Dis [Internet]. 2014 Jun;73(6):975-81. Available from: <https://ard.bmj.com/content/73/6/975>
6. Hoy D, March L, Brooks P, Blyth F, Woolf A, Bain C, et al. The global burden of low back pain: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study. Ann Rheum Dis [Internet]. 2014 Jun;73(6):968-74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24665116>
7. Oichi T, Taniguchi Y, Oshima Y, Tanaka S, Saito T. Pathomechanism of intervertebral disc degeneration. JOR Spine [Internet]. 2020;3(1):e1076. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7084053>
8. Aartun E, Hartvigsen J, Wedderkopp N, Hestbaek L. Spinal pain in adolescents: prevalence, incidence, and course: a school-based two-year prospective cohort study in 1,300 Danes aged 11-13. BMC Musculoskelet Disord [Internet]. 2014

May;15:187. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4045997>

9. Olmarker K. Back Pain and Disc Degeneration: Are They Really Linked?. The Intervertebral Disc: Molecular and Structural Studies of the Disc in Health and Disease [Internet]. 2014;261-75. Available from:
<https://www.researchgate.net/publication/287268993>
10. Evashwick-Rogler TW, Lai A, Watanabe H, Salandra JM, Winkelstein BA, Cho SK, et al. Inhibiting tumor necrosis factor-alpha at time of induced intervertebral disc injury limits long-term pain and degeneration in a rat model. JOR Spine [Internet]. 2018 Jun;1(2):e1014. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29963655> doi: 10.1002/jsp2.1014
11. Leimer EM, Gayoso MG, Jing L, Tang SY, Gupta MC, Setton LA. Behavioral Compensations and Neuronal Remodeling in a Rodent Model of Chronic Intervertebral Disc Degeneration. Sci Rep [Internet]. 2019 Mar 6;9(1):3759. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-39657-6>
12. Millecamps M, Stone LS. Delayed onset of persistent discogenic axial and radiating pain after a single-level lumbar intervertebral disc injury in mice. Pain [Internet]. 2018 Sep;159(9):1843-1855. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29794612>
13. Wang M, Li J, Liu J, Lin X, Xu W. [The comparison of platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in releasing of growth factors and their effects on the proliferation and differentiation of adipose tissue-derived stem cells in vitro]. Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi [Internet]. 2012 Dec;30(6):641-4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23330378>
14. Клименко АВ, Головченко ЮИ, Калищук-Слободин ТН. Особенности ведения больных с хроническим вертеброгенным болевым синдромом пояснично-крестцовой локализации. Здоров'я України. 2010;2(159):38-9.
15. Свиридова НК, Серета ВГ, Попов ОВ, Павлюк НП, Усович КМ, Свистун ВЮ. Дегенеративно-дистрофічні захворювання хребта: особливості

діагностики та лікування. Східно-європейський журнал по неврології. 2015;2(02):14-26.

16. Schutgens EM, Tryfonidou MA, Smit TH, Öner FC, Krouwels A, Ito K, et al. Biomaterials for intervertebral disc regeneration: past performance and possible future strategies. *Eur Cell Mater* [Internet]. 2015 Oct 12;30:210-31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27227695> doi: 10.22203/ecm.v030a15
17. Ma C, Wang R, Zhao D, Wang N, Han Y, Wang S, et al. Efficacy of Platelet-Rich Plasma Containing Xenogenic Adipose Tissue-Derived Stromal Cells on Restoring Intervertebral Disc Degeneration: A Preclinical Study in a Rabbit Model [Internet]. Vol. 2019, Pain Research and Management. Hindawi; 2019;6372356. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/prm/2019/6372356/>
18. Pei L, Ruijie Z, Qiang Z. Efficacy of Platelet-Rich Plasma in Retarding Intervertebral Disc Degeneration: A Meta-Analysis of Animal Studies. *BioMed Research International* [Internet]. 2017 Jul, Art. ID 7919201, 10 pages Available from: <https://doi.org/10.1155/2017/7919201> doi: 10.1155/2017/7919201
19. Wang S, Rui Y, Tan Q, Wang C. Enhancing intervertebral disc repair and regeneration through biology: platelet-rich plasma as an alternative strategy. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2013;15(5):220. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24165687> doi: 10.1186/ar4353
20. Куренков Е, Макарова В. Нормальная анатомия межпозвонкового диска у человека. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2017;6(3):117-28.
21. Костерін СБ, Дєдх НВ, Мальцева ВЄ. Морфологія міжхребцевого диска та кісткової тканини апофізів тіл хребців в умовах моделювання остеопорозу. *Вісник проблем біології і медицини*. 2018;1(142):285-91.
22. Устименко АМ. Перспективи застосування клітинних технологій в лікуванні гриж міжхребцевого диска. *Клітинна та органна трансплантологія*. 2015 лист;3(2):196-201.
23. Galbusera F, van Rijsbergen M, Ito K, Huyghe JM, Brayda-Bruno M, Wilke HJ. Ageing and degenerative changes of the intervertebral disc and their impact on

- spinal flexibility. Eur Spine J [Internet]. 2014 Jun;23(3):324-332. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24482074>
24. Lotz JC, Hsieh AH. The Effects of Mechanical Forces on Nucleus Pulposus and Annulus Fibrosus Cells. The Intervertebral Disc: Molecular and Structural Studies of the Disc in Health and Disease [Internet]. 2014;:109-24. Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1535-0_7
25. [Shapiro IM, Vresilovic EJ, Risbud MV. Is the spinal motion segment a diarthrodial polyaxial joint: what a nice nucleus like you doing in a joint like this? Bone. 2012 Mar;50\(3\):771–6.](#)
26. Дедух НВ. Аггрекан. Біль. Суглоби. Хребет. 2012;4(8):26-8.
27. Wang SZ, Rui YF, Lu J, Wang C. Cell and molecular biology of intervertebral disc degeneration: current understanding and implications for potential therapeutic strategies. Cell Prolif [Internet]. 2014 Oct;47(5):381-90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25112472> doi: 10.1111/cpr.12121
28. Радченко ВА, Пионтковский ВК, Костерин СБ, Дедух НВ. Межпозвоночный диск: дегенерация, этапы формирования грыжи и молекулярный профиль. Ортопедия, травматология и протезирование. 2017;(4):99-106.
29. Юхта МС, Грищенко ВИ. К вопросу о применении клеточной терапии при дегенеративно-дистрофических повреждениях меж позвоночных дисков. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2010;4:70-5.
30. Васильева ИГ, Хижняк МВ, Шуба ИН, Гафийчук ЮГ. Дегенерация межпозвоночных дисков и методы ее биологической коррекции. Український нейрохірургічний журнал; 2010;1:16-23.
31. Daly C, Ghosh P, Jenkin G, Oehme D, Goldschlager T. A Review of Animal Models of Intervertebral Disc Degeneration: Pathophysiology, Regeneration, and Translation to the Clinic. Biomed Res Int [Internet]. 2016:5952165. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27314030> doi: 10.1155/2016/5952165

32. Adams MA, Lama P, Zehra U, Dolan P. Why do some intervertebral discs degenerate, when others (in the same spine) do not? *Clin. Anat.* 2015;28(2):195-204.
33. Bowles RD, Setton LA. Biomaterials for intervertebral disc regeneration and repair. *Biomaterials* [Internet]. 2017;129:54–67. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24753325> doi: 10.1002/ca.22404
34. Vo NV, Hartman RA, Patil PR, Risbud MV, Kletsas D, Iatridis JC, et al. Molecular mechanisms of biological aging in intervertebral discs. *J Orthop Res* [Internet]. 2016 Aug;34(8):1289-306. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26890203> doi: 10.1002/jor.23195
35. Kalichman L. The Etiology of Intervertebral Disc Degeneration International. Bone & Mineral Society [Internet]. 2010 Nov;7 (11):388–405. Available from:
36. Никифоров СБ, Семенов АВ, Перфильев ДВ, Беспярых ИВ, Антипина СИ и др. Комплексный анализ диффузионного транспорта и микроструктуры межпозвонкового диска. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2017;164(8):255-260.
37. Gu W, Zhu Q, Gao X, Brown MD. Simulation of the progression of intervertebral disc degeneration due to decreased nutritional supply. *Spine* [Internet]. 2014;39(24):1411-17. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/262560495>
38. Vo N, Niedernhofer LJ, Nasto LA, Jacobs L, Robbins PD, Kang J, et al. An overview of underlying causes and animal models for the study of age-related degenerative disorders of the spine and synovial joints. *J Orthop Res* [Internet]. 2013 Jun;31(6):831-7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23483579>
39. Wang F, Cai F, Shi R, Wang XH, Wu XT. Aging and age related stresses: a senescence mechanism of intervertebral disc degeneration. *Osteoarthritis and Cartilage* [Internet]. 2016;(24):398-408. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1063458415013333>

40. Wang Y, Videman T, Battié MC. ISSLS prize winner: Lumbar vertebral endplate lesions: associations with disc degeneration and back pain history. *Spine* [Internet]. 2012 Aug;37(17):1490-6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22648031>
41. Hanaei S, Abdollahzade S, Khoshnevisan A, Kepler CK, Rezaei N. Genetic aspects of intervertebral disc degeneration. *Rev Neurosci*. 2015;26(5):581-606.
42. Mellor FE, Breen AC. Ionizing radiation exposure and the development of intervertebral disc degeneration--no case to answer. *Spine J* [Internet]. 2013 Mar;13(3):224-6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23537450>
43. Feng Yi, Egan Brian, Wang Jinxi. Genetic factors in intervertebral disc Degeneration. *Genes & Diseases* [Internet]. 2016;3:178-85. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5016799>
44. Kalb S, Martirosyan NL, Kalani MY, Broc GG, Theodore N. Genetics of the degenerated intervertebral disc. *World Neurosurg* [Internet]. 2012 Mar;77(3):491-501. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22120330>
45. Deng X, Zhao F, Kang B, Zhang X. Elevated interleukin-6 expression levels are associated with intervertebral disc degeneration. *Experimental and Therapeutic Medicine* [Internet]. 2016;11(4):1425-32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27073460> doi:10.3892/etm.2016.3079
46. Johnson ZI, Schoepflin ZR, Choi H, Shapiro IM, Risbud MV. Disc in flames: Roles of TNF- α and IL-1 β in intervertebral disc degeneration. *Eur Cell Mater* [Internet]. 2015 Sep;30:104-17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26388614> doi:10.22203/ecm.v030a08
47. Lee JM, Song JY, Baek M, Jung HY, Kang H, Han IB, et al. Interleukin-1 β induces angiogenesis and innervation in human intervertebral disc degeneration. *J Orthop Res* [Internet]. 2011 Feb;29(2):265-9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20690185> doi: 10.1002/jor.21210
48. Risbud MV, Shapiro IM. Role of cytokines in intervertebral disc degeneration: pain and disc content. *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2014 Jan;10(1):44-56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24166242>

49. Yang W, Yu XH, Wang C, He WS, Zhang SJ, Yan YG, Zhang J, Xiang YX, Wang WJ. Interleukin-1 β in intervertebral disk degeneration. *Clin Chim Acta*. 2015 Oct;450:262-72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26341894>
50. Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood* [Internet]. 2011;117(14):3720-3732. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21304099> doi:10.1182/blood-2010-07-273417
51. Huang H, Cheng S, Zheng T, et al. Vitamin D retards intervertebral disc degeneration through inactivation of the NF- κ B pathway in mice. *Am J Transl Res* [Internet]. 2019 Apr;11(4):2496-506. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6511806>
52. Binch A, Cole AA, Breakwell LM, Michael A, Chiverton N, Cross AK, et al. Expression and regulation of neurotrophic and angiogenic factors during human intervertebral disc degeneration. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2014;16(5):416. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/265558054>
53. Moriguchi Y, Alimi M, Khair T, Manolarakis G, Berlin C, Bonassar LJ, et al. Biological Treatment Approaches for Degenerative Disk Disease: A Literature Review of In Vivo Animal and Clinical Data. *Global Spine J* [Internet]. 2016 Aug;6(5):497-518. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27433434>
54. Vo NV, Hartman RA, Yurube T, Jacobs LJ, Sowa GA, Kang JD. Expression and regulation of metalloproteinases and their inhibitors in intervertebral disc aging and degeneration. *Spine J* [Internet]. 2013;13(3):331-41. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3637842>
55. Colombier P, Clouet J, Hamel O, Lescaudron L & Guicheux J. The lumbar intervertebral disc: from embryonic development to degeneration. *Joint Bone Spine* [Internet]. 2014 Mar;81:125-9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23932724>
56. Huang YC, Urban JP, Luk KD. Intervertebral disc regeneration: do nutrients lead the way? *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2014 Sep;10(9):561-6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24914695> doi:10.1038/nrrheum.2014.91

57. Hoy D, March L, Brooks P, Blyth F, Woolf A, Bain C, et al. The global burden of low back pain: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2014 Jun;73(6):968-74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24665116>
58. Vergroesen PP, Kingma I, Emanuel KS, Hoogendoorn RJ, Welting TJ, van Royen BJ, et al. Mechanics and biology in intervertebral disc degeneration: a vicious circle. *Osteoarthritis Cartilage* [Internet]. 2015 Jul;23(7):1057-70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25827971>
59. Cho H, Park SH, Lee S, Kang M, Hasty KA, Kim SJ. Snapshot of degenerative aging of porcine intervertebral disc: A model to unravel the molecular mechanisms. *Exp Mol Med* [Internet]. 2011;43:334-40. Available from: <https://www.nature.com/articles/emm201136>
60. Caldeira J, Santa C, Osório H. et al. Matrisome Profiling During Intervertebral Disc Development And Ageing [Internet]. 2017 Sep;7(1):116-29. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28912585>
61. Jerosch J. Effects of glucosamine and chondroitin sulfate on cartilage metabolism in OA: outlook on other nutrient partners especially omega-3 fatty acids. *Int J Rheumatol* [Internet]. 2011;969012. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21826146> doi: 10.1155/2011/969012
62. Liang CZ, Li H, Tao YQ, Zhou XP, Yang ZR, Li FC, et al. The relationship between low pH in intervertebral discs and low back pain: a systematic review. *Arch Med Sci* [Internet]. 2012 Dec 20;8(6):952-6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23319966> doi: 10.5114/aoms.2012.32401
63. Smith LJ, Nerurkar NL, Choi KS, Harfe BD, Elliott DM. Degeneration and regeneration of the intervertebral disc: lessons from development. *Dis Model Mech* [Internet]. 2011 Jan;4(1):31-41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21123625> doi: 10.1242/dmm.006403
64. Gruber HE, Norris RA, Kern MJ, Hoelscher GL, Ingram JA, Zinchenko N, et al. Periostin is expressed by cells of the human and sand rat intervertebral discs.

- Biotech Histochem [Internet]. 2011 Jun;86(3):199-206. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20370359> doi: 10.3109/10520291003722774.
65. Gruber HE, Phillips R, Ingram JA, Norton HJ, Hanley EN Jr. Spontaneous age-related cervical disc degeneration in the sand rat. Clin Orthop Relat Res [Internet]. 2014;472(6):1936-1942. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24515407> doi:10.1007/s11999-014-3497-x
66. Millecamps M, Tajerian M, Sage EH, Stone LS. Behavioral signs of chronic back pain in the SPARC-null mouse. Spine [Internet]. 2011;36(2):95-102. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3007098>
67. Millecamps M, Tajerian M, Naso L, Sage EH, Stone LS. Lumbar intervertebral disc degeneration associated with axial and radiating low back pain in ageing SPARC-null mice. Pain [Internet]. 2012 Jun;153(6):1167-79. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22414871> doi: 10.1016/j.pain.2012.01.027
68. Millecamps M, Czerminski JT, Mathieu AP, Stone LS. Behavioral signs of axial low back pain and motor impairment correlate with the severity of intervertebral disc degeneration in a mouse model. Spine J [Internet]. 2015 Dec 1;15(12):2524-37. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26334234>
69. Miyagi M, Millecamps M, Danco AT, Ohtori S, Takahashi K, Stone LS. ISSLS Prize winner: Increased innervation and sensory nervous system plasticity in a mouse model of low back pain due to intervertebral disc degeneration. Spine [Internet]. 2014 Aug 1;39(17):1345-54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24718079> doi:10.1097/BRS.0000000000000334
70. Bedore J, Sha W, McCann MR, Liu S, Leask A, Seguin CA. Impaired intervertebral disc development and premature disc degeneration in mice with notochord-specific deletion of CCN2. Arthritis Rheum [Internet]. 2013;65:2634-44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23839921>
71. Issy AC, Castania V, Castania M, Salmon CE, Nogueira-Barbosa MH, Bel ED, et al. Experimental model of intervertebral disc degeneration by needle puncture in Wistar rats. Braz J Med Biol Res. 2013 Mar;46(3):235-44. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3854370>

72. Cunha C, Almeida CR, Almeida MI, Silva AM, Molinos M, Lamas S, et al. Systemic Delivery of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells for In Situ Intervertebral Disc Regeneration. *Stem Cells Transl Med* [Internet]. 2017;6(3):1029-1039. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28297581> doi:10.5966/sctm.2016-0033
73. Zhou RP, Zhang ZM, Wang L, Huang MJ, Zheng XC, Cui YN, et al. Establishing a disc degeneration model using computed tomography-guided percutaneous puncture technique in the rabbit. *J Surg Res* [Internet]. 2013 May;181(2):65-74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22878152> doi: 10.1016/j.jss.2012.07.027. Epub 2012 Jul 31. PMID: 22878152.
74. Kim JS, Kroin JS, Li X, An HS, Buvanendran A, Yan D, et al. The rat intervertebral disk degeneration pain model: relationships between biological and structural alterations and pain. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2011;13(5):R165. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21996269> doi: 10.1186/ar3485
75. Hoogendoorn RJ, Helder MN, Kroeze RJ, Bank RA, Smit TH, Wuisman PI. Reproducible long-term disc degeneration in a large animal model. *Spine* [Internet]. 2008 Apr;33(9):949-54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18427314>
76. Hirata H, Yurube T, Kakutani K, Maeno K, Takada T, Yamamoto J, et al. A rat tail temporary static compression model reproduces different stages of intervertebral disc degeneration with decreased notochordal cell phenotype. *J Orthop Res* [Internet]. 2014 Mar;32(3):455-63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24285589> doi: 10.1002/jor.22533
77. Xia W, Zhang LL, Mo J, Zhang W, Li HT, Luo ZP, et al. Effect of Static Compression Loads on Intervertebral Disc: An in Vivo Bent Rat Tail Model. *Orthop Surg*. 2018 May;10(2):134-143. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6594518> doi:10.1111/os.12377
78. Yurube T, Hirata H, Kakutani K, Maeno K, Takada T, Zhang Z, et al. Notochordal cell disappearance and modes of apoptotic cell death in a rat tail

- static compression-induced disc degeneration model. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2014 Jan;16(1):R31. Available from: <https://arthritis-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/ar4460> doi: 10.1186/ar4460
79. Pazzaglia UE, Andrini L, Di Nucci A. The effects of mechanical forces on bones and joints. Experimental study on the rat tail. *J Bone Joint Surg Br* [Internet]. 1997 Nov;79(6):1024-30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9393925>
80. Хижняк МВ, Григоровський ВВ, Гафійчук ЮГ. Експериментальна модель дегенерації міжхребцевих дисків хвостового відділу у щурів. *Український нейрохірургічний журнал*. 2012;2:58-61.
81. Наказ МОЗ України від 17.08.2007 № 487. Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю „Неврологія”
82. Катеренчук ІІ, Ткаченко ЛА, Ярмола ТІ. Біль у спині: від синдрому до діагнозу. Харків: Золоті сторінки. 2013. 125 с.
83. Мурашко НК. Нейропатическая боль: тактика лечения. *Врачебное дело*. 2012;6:106-13.
84. Mannion AF, Fekete TF, O'Riordan D, Porchet F, Mutter UM, Jeszenszky D, et al.: The assessment of complications after spine surgery: time for a paradigm shift? *Spine* [Internet]. 2013;13:615-624. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23523445> doi: 10.1016/j.spinee.2013.01.047
85. Dagenais S, Tricco AC, Haldeman S. Synthesis of recommendations for the assessment and management of low back pain from recent clinical practice guidelines. *Spine J* [Internet]. 2010;10(6):514-29. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20494814> doi: 10.1016/j.spinee.2010.03.032
86. Гончаров АГ. Комплексна фізична реабілітація при попереково-крижовому остеохондрозі хребта в чоловіків молодого віку. *Молода спортивна наука України*. 2014;18(3):62-9.
87. Фавваз ФШ. Фізична реабілітація хворих на остеохондроз після мініінвазивних втручань на хребті [автореферат]. Київ: Нац. Ун-т фіз. Визовання і спорту України; 2012. 24 с.

88. Мурашко НК, Серета ВГ, Пономаренко ЮВ, Довгий ІЛ, Парнікова ТП, Попов ОВ та ін. Вертеброгенні больві синдроми. Навч.-мет. рекомендації. Київ; 2013. 30 с.
89. Беляев РА. Эффективность хондропротекторной терапии вертеброгенных дорсопатий. Вестник КазНМУ. 2015;3:135-9.
90. Ярошевский АА. Анализ использования хондропотекторов в комплексной терапии вертеброгенной дорсалгии. Международный неврологический журнал. 2014;1(63):75-81.
91. Pizova N. The place of chondroprotectors in the treatment of osteoarthritis of the spine. Medical Council. 2016:42-47.
92. Stuber K, Sajko S, Kristmanson K. Efficacy of glucosamine, chondroitin, and methylsulfonylmethane for spinal degenerative joint disease and degenerative disc disease: a systematic review. J Can Chiropr Assoc. 2011;55(1):47-55.
93. Zhu X, Sang L, Wu D, Rong J, Jiang L. Effectiveness and safety of glucosamine and chondroitin for the treatment of osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. J Orthop Surg Res [Internet]. 2018 Jul;13(1):170. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29980200>
94. Liu Z, Zhou K, Fu W, Zhang H. Insulin-Like Growth Factor 1 Activates PI3k/Akt Signaling to Antagonize Lumbar Disc Degeneration. Cell Physiol Biochem [Internet]. 2015;37(1):225-32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26302720> doi: 10.1159/000430347
95. Matta A, Karim MZ, Gerami H, Jun P, Funabashi M, Kawchuk G, et al. NTG-101: A Novel Molecular Therapy that Halts the Progression of Degenerative Disc Disease. Sci Rep [Internet]. 2018 Nov 14;8(1):16809. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-35011-4>
96. Li P, Zhang R, Gan Y, Wang L, Zhao C, Luo L, et al. Effects of osteogenic protein-1 on intervertebral disc regeneration: A systematic review of animal studies. Biomed Pharmacother. 2017 Apr;88:260-6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28110192> doi: 10.1016/j.biopha.2016.12.137

97. Pennicooke B, Moriguchi Y, Hussain I, Bonssar L, Härtl R. Biological Treatment Approaches for Degenerative Disc Disease: A Review of Clinical Trials and Future Directions. *Cureus* [Internet]. 2016;8(11):e892. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5178982>
98. Thompson JP, Oegema TJ, Bradford DS. Stimulation of mature canine intervertebral disc by growth factors. *Spine*. 1991;16:253–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2028297>
99. Wehling P, Schulitz KP, Robbins PD, Evans CH, Reinecke JA. Transfer of genes to chondrocytic cells of the lumbar spine. Proposal for a treatment strategy of spinal disorders by local gene therapy. *Spine* [Internet]. 1997 May 15;22(10):1092-7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9160467>
100. Wang D, Tai PWL, Gao G. Adeno-associated virus vector as a platform for gene therapy delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2019; 18: 358-78
101. Leckie SK, Bechara BP, Hartman RA, Sowa GA, Woods BI, Coelho JP, et al. Injection of AAV2-BMP2 and AAV2-TIMP1 into the nucleus pulposus slows the course of intervertebral disc degeneration in an in vivo rabbit model. *Spine*. 2012 Jan;12(1):7-20.
102. Hartman RA, Bell KM, Debski RE, Kang JD, Sowa GA. Novel ex-vivo mechanobiological intervertebral disc culture system. *J Biomech*. 2012 Jan;45(2):382-5.
103. Григоровский ВВ, Хижняк МВ, Васильева ИГ, Шуба ИН, Гафийчук ЮГ. Влияние культивированных аутогенных клеток студенистого ядра на структуру межпозвонковых дисков хвостовых сегментов при моделировании остеохондроза у крыс. *Український нейрохірургічний журнал*. 2013;2:28-34.
104. Kabiri A, Esfandiari E, Esmaeili A, Hashemibeni B, Pourazar A, Mardani M. Platelet-rich plasma application in chondrogenesis. *Adv Biomed Res* [Internet]. 2014 Jun 25;3:138. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25161985>
105. Coric D, Pettine K, Sumich A, Boltes MO. Prospective study of disc repair with allogeneic chondrocytes presented at the 2012 Joint Spine Section Meeting. *J*

- Neurosurg Spine [Internet]. 2013;18:85. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23140128> doi: 10.3171/2012.10.SPINE12512
106. Silverman LI, Dulatova G, Tandeski T, Erickson IE, Lundell B, Toplon D, et al. In vitro and in vivo evaluation of discogenic cells, an investigational cell therapy for disc degeneration. Spine J [Internet]. 2020 Jan;20(1):138-149. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31442616> doi:10.1016/j.spinee.2019.08.006
107. Padilla S, Sánchez M, Orive G, Anitua E. Human-Based Biological and Biomimetic Autologous Therapies for Musculoskeletal Tissue Regeneration. Trends Biotechnol [Internet]. 2017 Mar;35(3):192-202. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167779916301603>
108. Yang Q, Xu HW, Hurday S, Xu BS. Construction Strategy and Progress of Whole Intervertebral Disc Tissue Engineering. Orthop Surg [Internet]. 2016 Feb;8(1):11-8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27028376>
109. Ben Azouna N, Jenhani F, Regaya Z, Berraeis L, Ben Othman T, Ducrocq E, et al. Phenotypical and functional characteristics of mesenchymal stem cells from bone marrow: comparison of culture using different media supplemented with human platelet lysate or fetal bovine serum. Stem Cell Res. Ther [Internet]. 2012 Feb;3(1):6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22333342>
110. Eslaminejad BM, Malakooty PE. Mesenchymal stem cells as a potent cell source for articular cartilage regeneration. World J Stem Cells [Internet]. 2014;6(3):344-354. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25126383>
111. Fernandez-Moure J, Moore CA, Kim K, Karim A, Smith K, Barbosa Z et al. Novel therapeutic strategies for degenerative disc disease: Review of cell biology and intervertebral disc cell therapy [Internet]. SAGE Open Med. 2018 Mar;6:2050312118761674. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29568524> doi: 10.1177/2050312118761674.
112. Li X, Zhang Y, Song B, En H, Gao S, Zhang S, et al. Experimental Application of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells for the Repair of Intervertebral Disc

- Annulus Fibrosus. *Med Sci Monit* [Internet]. 2016 Nov;22:4426-30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27857031> doi:10.12659/msm.898062
113. Noriega DC, Ardura F, Hernández-Ramajo R, Martín-Ferrero MÁ, Sánchez-Lite I, Toribio B, et al. Intervertebral Disc Repair by Allogeneic Mesenchymal Bone Marrow Cells: A Randomized Controlled Trial. *Transplantation* [Internet]. 2017 Aug;101(8):1945-51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27661661>
114. Orozco L, Soler R, Morera C, Alberca M, Sánchez A, García-Sancho J. Intervertebral disc repair by autologous mesenchymal bone marrow cells: a pilot study. *Transplantation* [Internet]. 2011 Oct;92(7):822-8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21792091> doi:10.1097/TP.0b013e3182298a15
115. Orth P, Rey-Rico A, Venkatesan JK, Madry H, Cucchiarini M. Current perspectives in stem cell research for knee cartilage repair. *Stem Cells Cloning*. 2014;7:1-17.
116. Berebichez-Fridman R, Montero-Olvera PR. Sources and Clinical Applications of Mesenchymal Stem Cells: State-of-the-art review. *Sultan Qaboos Univ Med J* [Internet]. 2018;18(3):e264-e277. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6307657>
117. Hass R, Kasper C, Böhm S, Jacobs R. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun Signal* [Internet]. 2011 May;9:12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21569606> doi:10.1186/1478-811X-9-12
118. Pang X, Yang H, Peng B. Human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation for the treatment of chronic discogenic low back pain. *Pain Physician* [Internet]. 2014 Aug;17(4):525-30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25054402>
119. Stanko P, Kaiserova K, Altanerova V, Altaner C. Comparison of human mesenchymal stem cells derived from dental pulp, bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord tissue by gene expression. *Biomed Pap Med Fac Univ*

- Palacky Olomouc Czech Repub. 2014;158(3):373-7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24145770> doi: 10.5507/bp.2013.078
120. Zhang Y, Drapeau S, Howard SA, Thonar EJ, Anderson DG. Transplantation of goat bone marrow stromal cells to the degenerating intervertebral disc in a goat disc injury model. *Spine (Phila Pa 1976)* [Internet]. 2011;36(5):372-7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20890267>
121. Сигаева НН, Колесов СВ, Назаров ПВ, Вильданова РР. Химическая модификация гиалуроновой кислоты и ее применение в медицине. *Вестник Башкирск. ун-та*. 2012;17(3):1220-41.
122. Grad S, Alini M, Eglin D, Sakai D, Mochida J, Mahor S, et al. Cells and Biomaterials for Intervertebral Disc Regeneration. Morgan & Claypool. San Rafael, CA: [Internet]. 2010 Jan;2(1):1-104. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/240302833>
123. Voss A, McCarthy MB, Allen D, Cote MP, Beitzel K, Imhoff AB, et al. Fibrin Scaffold as a Carrier for Mesenchymal Stem Cells and Growth Factors in Shoulder Rotator Cuff Repair. *Arthrosc Tech* [Internet]. 2016 May;5(3):447-51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27656360> doi:10.1016/j.eats.2016.01.029
124. McKee C, Beeravolu N, Brown C, Perez-Cruet M, Chaudhry GR. Mesenchymal stem cells transplanted with self-assembling scaffolds differentiated to regenerate nucleus pulposus in an ex vivo model of degenerative disc disease. *Applied Materials Today*. 2020 Mar;18:100474. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352940719305931>
125. Melrose J. Strategies in regenerative medicine for intervertebral disc repair using mesenchymal stem cells and bioscaffolds. *Regen Med* [Internet]. 2016 Oct;11(7):705-24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27586197>
126. Speth C, Rambach G, Würzner R, Lass-Flörl C, Kozarcanin H, Hamad OA, et al. Complement and platelets: Mutual interference in the immune network. *Mol Immunol* [Internet]. 2015 Sep;67(1):108-18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25886718> doi:10.1016/j.molimm.2015.03.244

127. Mehta V. Platelet-rich plasma: a review of the science and possible clinical applications. *Orthopedics* [Internet]. 2010 Feb;33(2):111. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20187590> doi: 10.3928/01477447-2010010422
128. Mininkova AI. [Investigation of platelets by the flow cytofluorometric technique (a review of literature). Part 2]. *Klin Lab Diagn* [Internet]. 2011 Apr;(4):25-30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21735676>
129. Bikle DD, Tahimic C, Chang W, Wang Y, Philippou A, Barton ER. Role of IGF-I signaling in muscle bone interactions. *Bone* [Internet]. 2015 Nov; 80:79-88. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4600536>
130. Liu ZQ, Zhao S, Fu WQ. Insulin-like growth factor 1 antagonizes lumbar disc degeneration through enhanced autophagy. *Am J Transl Res* [Internet]. 2016 Oct;8(10):4346-53. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5095327>
131. Young K, Eudy E, Loberg M, Bell R, Trowbridge J. Decline in Insulin-like Growth Factor-1 (IGF1) from Aged Mesenchymal Stromal Cells Is a Targetable Mechanism to Rescue Hematopoietic Stem Cell Aging. *Blood* [Internet]. 2019;134:526. Available from: https://ashpublications.org/blood/article/134/Supplement_1/526/426535
132. Hinz B. The extracellular matrix and transforming growth factor- β 1: Tale of a strained relationship. *Matrix Biol* [Internet]. 2015 Sep;47:54-65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25960420> doi:10.1016/j.matbio.2015.05.006
133. Liu, Y., Li, Y., Li, N. et al. TGF- β 1 promotes scar fibroblasts proliferation and transdifferentiation via up-regulating MicroRNA-21. *Sci Rep* [Internet]. 2016;6:32231 Available from: <https://www.nature.com/articles/srep32231>
134. Re'em T, Kaminer-Israeli Y, Ruvinov E, Cohen S. Chondrogenesis of hMSC in affinity-bound TGF-beta scaffolds. *Biomaterials* [Internet]. 2012 Jan;33(3):751-61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22019120>
135. Herbert SP, Stainier DY. Molecular control of endothelial cell behaviour during blood vessel morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2011 Aug;12(9):551-64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21860391>

136. Raz O, Lev DL, Battler A, Lev EI. Pathways mediating the interaction between endothelial progenitor cells (EPCs) and platelets. PLoS One [Internet]. 2014 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24901498>
137. Zhao GZ, Zhang LQ, Liu Y, Fang J, Li HZ, Gao KH, et al. Effects of platelet-derived growth factor on chondrocyte proliferation, migration and apoptosis via regulation of GIT1 expression. Mol Med Rep [Internet]. 2016 Jul;14(1):897-903. Available from: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2016.5291>
138. Araújo de R, Lôbo M, Trindade K, Silva D, F, Pereira N. Fibroblast Growth Factors: A Controlling Mechanism of Skin Aging. Skin Pharmacol Physiol [Internet]. 2019;4:275-82. Available from: <https://www.karger.com/Article/Fulltext/501145>
139. Nakamichi M, Akishima-Fukasawa Y, Fujisawa Ch, Mikami T, Onishi K, Akasaka Y. Basic Fibroblast Growth Factor Induces Angiogenic Properties of Fibrocytes to Stimulate Vascular Formation during Wound Healing. The American Journal of Pathology [Internet]. 2016; 186(12):3203-16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27773739>
140. Song YH, Zhu YT, Ding J, Zhou FY, Xue JX, Jung JH, et al. Distribution of fibroblast growth factors and their roles in skin fibroblast cell migration. Mol Med Rep [Internet]. 2016 Oct;14(4):3336-42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27572477> doi: 10.3892/mmr.2016.5646
141. Bodnar RJ. Epidermal Growth Factor and Epidermal Growth Factor Receptor: The Yin and Yang in the Treatment of Cutaneous Wounds and Cancer. Adv Wound Care (New Rochelle) [Internet]. 2013;2(1):24-29. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3840479/>
142. Jeffrey H, Albrecht MD. MET and epidermal growth factor signaling: The pillars of liver regeneration? Hepatology (Baltimore, Md.) [Internet]. 2016 Nov;64(5):1427-1429. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27632053> doi: 10.1002/hep.28822

143. Sabrkhany S, Griffioen AW, oude Egbrink MGA. The role of blood platelets in tumor angiogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. 2011 Apr;1815(2):189-96. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304419X1000082X>
144. Carmeliet P, and Jain R. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature* [Internet]. 2011;473:298–307. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature10144> doi: 10.1038/nature10144
145. Min P., Gerecht S. Harnessing developmental processes for vascular engineering and regeneration. *Development* [Internet]. 2014 Jul;141(14):2760-9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25005471/>
146. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent* [Internet]. 2001;10(4):225-8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11813662/>
147. Mautner K, Malanga GA, Smith J, Shiple B, Ibrahim V, Sampson S, et al. A call for a standard classification system for future biologic research: the rationale for new PRP nomenclature. *PM R* [Internet]. 2015 Apr;7(4):53-59. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25864661/> doi:10.1016/j.pmrj.2015.02.005
148. Bausset O, Giraud L, Veran J, Magalon J, Coudreuse JM., Magalon G, et al.. Formulation and storage of platelet-rich plasma homemade product. *Biores* [Internet]. 2012;1:115-23. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3559222/>
149. Burnouf T, Goubran HA, Chen TM, Ou KL, El-Kiaby M, and Radosevic M. Blood-derived biomaterials and platelet growth factors in regenerative medicine. *Blood Rev* [Internet]. 2013;27:77–89. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23434399> doi:10.1016/j.blre.2013.02.001
150. Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, Bielecki T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles Ligaments*

- Tendons J [Internet]. 2014 May;4(1):3-9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24932440/>
151. Notodihardjo PV, Morimoto N, Kakudo N, Matsui M, Sakamoto M, Liem PH, et al. Gelatin hydrogel impregnated with platelet-rich plasma releasate promotes angiogenesis and wound healing in murine model. *J Artif Organs*. 2015 Mar;18(1):64-71.
152. Kasatka O, Ashukina N, Ivanov G, Petrenko D. Regeneration of the achilles tendon in rats using platelet-rich plasma and corticosteroids. *Orthopaedics, traumatology and prosthetics*. 2019 Jan;4:77-85.
153. Martínez CE, Smith PC, Palma Alvarado VA. The influence of platelet-derived products on angiogenesis and tissue repair: a concise update. *Front Physiol* [Internet]. 2015 Oct 20;6:290. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26539125> doi: 10.3389/fphys.2015.00290
154. Холодкова ОЛ, Горчаг ДМ. Можливості використання збагаченої тромбоцитами плазми при експериментальній терапії токсичного ураження печінки. *Український морфологічний альманах*. 2013;11(3):63-5.
155. Дживак ВГ, Кліщ ІМ. Вплив збагаченої тромбоцитами плазми крові на стан системи протеїнази/інгібітори протеїназ при травматичному ураженні м'язів. *ЗКЕМ*. 29, Вересень 2020;(3):72-9.
156. El Backly RM, Zaky SH, Muraglia A, Tonachini L, Brun F, Canciani B, et al. A platelet-rich plasma-based membrane as a periosteal substitute with enhanced osteogenic and angiogenic properties: a new concept for bone repair. *Tissue Eng Part A* [Internet]. 2013 Jan;19(1-2):152-65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22849574> doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0357
157. Rodriguez IA, Growney Kalaf EA, Bowlin GL, Sell SA. Platelet-rich plasma in bone regeneration: engineering the delivery for improved clinical efficacy. *Biomed Res Int* [Internet]. 2014:392398. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25050347> doi: 10.1155/2014/392398
158. Tsuzuki N, Seo JP, Yamada K, Haneda S, Furuoka H, Tabata Y, Sasaki N. The effect of a gelatin β -tricalcium phosphate sponge loaded with mesenchymal stem

- cells (MSC), bone morphogenic protein-2, and platelet-rich plasma (PRP) on equine articular cartilage defect. *Can Vet J.* 2013 Jun;54(6):573-80. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3659453>
159. Roy S, Driggs J, Elgharably H, Biswas S, Findley M, Khanna S, et al. Platelet-rich fibrin matrix improves wound angiogenesis via inducing endothelial cell proliferation. *Wound Repair Regen* [Internet]. 2011;19(6):753-66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22092846>
160. Івченко ДВ, Мірошніков ВВ. Застосування аутологічної плазми, що збагачена тромбоцитами, для оптимізації репаративної регенерації кісткової тканини при остеопенії. *Патологія.* 2018 Трав;15(2):248-58.
161. Івченко ДВ, Труфанов П. МОЖЛИВОСТІ Застосування збагаченої тромбоцитами аутологічної плазми у постраждалих із переломами кісток тазу у поєднанні з іншими сегментарними переломами на тлі полі травми. *ВІСНИК Українська медична стоматологічна академія.* 2018;18(4):20-29.
162. Каштальян МА, Дауаді Ф, Самарський ІМ. Застосування збагаченої тромбоцитами плазми в комплексному лікуванні вогнепальних поранень. *Інтегративна Антропологія.* 2017;2(30):53-4.
163. Basso M, Caagnaro L, Zanirato A, Divano S, Formica C, Formica M, Felli L: What is the clinical evidence on regenerative medicine in intervertebral disc degeneration? *Musculoskelet Surg.* 2017;101:93-104.
164. Dai WL, Zhou AG, Zhang H, Zhang J. Efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of knee osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arthroscopy.* 2017;33(3):659-70.
165. Di Matteo B, Filardo G, Kon E, Marcacci M. Platelet-rich plasma: evidence for the treatment of patellar and Achilles tendinopathy – a systematic review. *Musculoskelet Surg* [Internet]. 2015;99(1):1-9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25323041/> doi: 10.1007/s12306-014-0340-1
166. Kon E, Filardo G, Di Martino A, Marcacci M. Platelet-rich plasma (PRP) to treat sports injuries: evidence to support its use. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011 Apr;19(4):516-27.

167. Lubkowska A, Dolegowska B, Banfi G. Growth factor content in PRP and their applicability in medicine. *J Biol Regul Homeost Agents* [Internet]. 2012 Apr;26(2):3-22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23648195/>
168. Rubio-Azpeitia E, Sánchez P, Delgado D, Andia I. Adult Cells Combined With Platelet-Rich Plasma for Tendon Healing: Cell Source Options. *Orthop J Sports Med* [Internet]. 2017;5(2):2325967117690846. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5347436/>
169. Xie X, Zhang C, Tuan RS. Biology of platelet-rich plasma and its clinical application in cartilage repair. *Arthritis Res Ther* [Internet]. 2014;16(1):204. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25164150> doi:10.1186/ar4493
170. Albanese A, Licata ME, Polizzi B, Campisi G. Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. *Immunity & Ageing: I & A* [Internet]. 2013Jun;10(1):23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23763951/> doi:10.1186/1742-4933-10-23
171. Alio JL, Arnalich-Montiel F, Rodriguez AE. The role of "eye platelet rich plasma" (E-PRP) for wound healing in ophthalmology. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012 Jun;13(7): 1257-65.
172. Daif ET. Effect of autologous platelet-rich plasma on bone regeneration in mandibular fractures. *Dent Traumatol*. 2013 Oct; 29(5):399-403.
173. Farahnaz A, Farzaneh A, Thamil SR, Eugenie SS. Efficacy of platelet rich plasma (PRP) on skin rejuvenation: A systematic review. *Iranian Journal of Dermatology* [Internet]. 2015;18(3):119-27. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/302387443>
174. Taneja MK. Role of Platelet Rich Plasma in Tympanoplasty. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020;72:247-50.
175. Urist MR, Strates BS. The classic: Bone morphogenetic protein. *Clin Orthop Relat Res* [Internet]. 2009;467(12):3051-62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19727989> doi:10.1007/s11999-009-1068-3
176. Shen L, Yuan T, Chen S, Xie X, Zhang C. The temporal effect of platelet-rich plasma on pain and physical function in the treatment of knee osteoarthritis:

- systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Orthop Surg Res* [Internet]. 2017;12(1):16. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5260061/>
177. Плигина ЕГ, Солошенко МВ, Колягин ДВ. Эффективность применения аутоплазмы в комплексной терапии детей с патологией хряща коленного сустава / Российский вестник. 2015;5(3):31-6.
178. Arirachakaran A, Sukthuyat A, Sisayanarane T, Laoratanavoraphong S, Kanchanatawan W, Kongtharvonskul J Platelet-rich plasma versus autologous blood versus steroid injection in lateral epicondylitis: systematic review and network meta-analysis. *J Orthop Traumatol*. 2016; 17(2): 101–12.
179. Filardo G, Kon E, Della Villa S, Vincentelli F, Fornasari PM, Marcacci M. Use of platelet-rich plasma for the treatment of refractory jumper's knee. *Int Orthop* [Internet]. 2010;34(6):909-15. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2989009>
180. Bennell, Kim & Hunter, David & Paterson, Kade. Platelet-Rich Plasma for the Management of Hip and Knee Osteoarthritis. *Current Rheumatology Reports* [Internet]. 2017 May;19(5):24 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28386761> doi: 10.1007/s11926-017-0652-x
181. Moraes VY, Lenza M, Tamaoki MJ, Faloppa F, Belloti JC. Platelet-rich therapies for musculoskeletal soft tissue injuries. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2013 Dec;(12):CD010071. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24363098>
182. Castillo TN, Pouliot MA, Kim HJ, Drago JL. Comparison of growth factor and platelet concentration from commercial platelet-rich plasma separation systems. *Am J Sports Med* [Internet]. 2011;39:266–71.
183. Saltzman BM, Jain A, Campbell KA, Mascarenhas R, Romeo AA, Verma NN et al. Does the use of platelet-rich plasma at the time of surgery improve clinical outcomes in arthroscopic rotator cuff repair when compared with control cohorts? A systematic review of meta-analyses. *Arthroscopy* [Internet]. 2016;32(5):906-18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21051428/>

184. Berger DR, Centeno CJ, Steinmetz NJ. Platelet lysates from aged donors promote human tenocyte proliferation and migration in a concentration-dependent manner. *Bone Joint Res.* 2019;8:32-40.
185. Cole B and Seroyer S. Platelet-rich plasma: where are we now and where are we going? *Sports Health.* 2010;2(3)203-10.
186. Dhurat R, Sukesh M. Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective. *J Cutan Aesthet Surg* [Internet]. 2014;7(4):189-97. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25722595>
187. Qian Y, Han Q, Chen W, Song J, Zhao X, Ouyang Y et al. Platelet-Rich Plasma Derived Growth Factors Contribute to Stem Cell Differentiation in Musculoskeletal Regeneration. *Front Chem* [Internet]. 2017;5:89. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29164105>
188. Chierigato K, Castegnaro S, Madeo D, Astori G, Pegoraro M, and Rodeghiero F. Epidermal growth factor, basic fibroblast growth factor and platelet-derived growth factor a substitute for fetal bovine serum and compete with human platelet-rich plasma in the ex vivo expansion of mesenchymal stromal cells derived from adipose tissue. *Cytotherapy.* 2011;13:933-43.
189. Martínez CE, González SA, Palma V, Smith PC. Platelet-Poor and Platelet-Rich Plasma Stimulate Bone Lineage Differentiation in Periodontal Ligament Stem Cells. *J Periodontol* [Internet]. 2016 Feb;87(2):e18-26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26367495/> doi: 10.1902/jop.2015.150360
190. Al-Hamed FS, Mahri M, Al-Waeli H, Torres J, Badran Z, Tamimi F. Regenerative Effect of Platelet Concentrates in Oral and Craniofacial Regeneration. *Front Cardiovasc Med.* 2019;6:126.
191. Burzynski LC, Pugh N. and Clarke MC. Platelet Isolation and Activation Assays. *Bio-protocol* [Internet]. 2019;9(20):e3405. Available from: <https://bio-protocol.org/e3405> doi: 10.21769/BioProtoc.3405
192. Холодкова О.Л., Бадьїн І.Ю., Цюрупа О.В. Перспективи використання клітинних технологій при експериментальному остеохондрозі. *Biomedical and biosocial anthropology.* 2015;(24):233-7.

193. Багрій ММ, Діброва ВА, Попадинець ОГ, Грищук МІ. Методики морфологічних досліджень [монографія]. Вінниця: Нова книга; 2016. 328 с.
194. Голованова ІА, Белікова ІВ, Ляхова НО. Основи медичної статистики. Навчальний посібник для аспірантів та клінічних ординаторів. Полтава: 2017; 113 с.
195. Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ, Бадьїн ІЮ, винахідники; Одеський національний медичний університет, патентовласник. Спосіб моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хвостового відділу хребта у щурів. Патент України на винахід № 112399 2016 серп. 25.
196. Холодкова О.Л., Бадьїн І.Ю., Цюрупа О.В. Перспективи використання клітинних технологій при експериментальному остеохондрозі. *Biomedical and biosocial antropology*. 2015;(24):233-7.
197. Холодкова ЕЛ, Цюрупа АВ, Садовская ЮА, Горюк ИА. Морфологические проявления дегенеративно-дистрофических поражений позвоночника в эксперименте и после коррекции. *Молодой вчений*. 2016 лип;7(34):291-5.
198. Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ. Ультрамiкроскопiчні змiни хребта за умов експериментальної компресії-дистензії та після корекції. *Вісник морфології*. 2017;1(23):23-8.
199. Kholodkova YL, Tsiurupa, Comparison of platelet-rich plasma and nonsteroidal antiinflammatory drugs effectiveness for correction of degenerative dystrophic changes in the vertebra and intervertebral discs. *Deutscher wissenschaftsherold*. 2016; 3: 68-70.
200. Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ, Бадьїн ІЮ. Порівняльна характеристика патологічних змін у міжхребцевих дисках хвостових сегментів щурів за умов моделювання постійної асиметричної компресії-дистензії та після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2015;4:66-8.
201. Zaporozhan VM, Appelhans OL., Tsyurupa OV. Effectiveness of the platelet-rich plasma application at different simulation periods of degenerative disc disease in rats. *Світ медицини та біології*. 2020;1(71):183-7.

Додаток А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Холодкова О.Л., Бадьїн І.Ю., Цюрупа О.В. Перспективи використання клітинних технологій при експериментальному остеохондрозі. *Biomedical and biosocial antropology*. 2015; (24): 233-7. (Здобувачу належить проведення пошуку та аналізу літературних джерел, описання отриманих результатів, приймав участь в обговоренні результатів та підготовці статті до друку).

2. Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ, Бадьїн ІЮ. Порівняльна характеристика патологічних змін у міжхребцевих дисках хвостових сегментів щурів за умов моделювання постійної асиметричної компресії-дистензії та після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2015; 4: 66-8. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення мікроскопічного та морфометричного досліджень, описання отриманих результатів, приймав участь в обговоренні результатів, підготував статтю до друку).

3. Холодкова ЕЛ, Цюрупа АВ, Садовская ЮА, Горюк ИА. Морфологические проявления дегенеративно-дистрофических поражений позвоночника в эксперименте и после коррекции. *Молодий вчений*. 2016 лип; 7 (34): 291-5. (Особистий внесок здобувача: брав участь у проведенні експерименту, провів гістологічні та морфометричні дослідження, інтерпретацію результатів підготував статтю до друку).

4. Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ. Ультрамiкроскопiчні змiни хребта за умов експериментальної компресiї-дистензiї та пiсля корекцiї. *Вiсник морфологiї*. 2017; 1(23): 23-8. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення морфометричного дослідження, описання отриманих результатів, приймав участь в обговоренні результатів, підготував статтю до друку).

5. Zaporozhan VM, Appelhans OL., Tsyurupa OV. Effectiveness of the platelet-rich plasma application at different simulation periods of degenerative disc disease in rats. *Світ медицини та біології*. 2020. № 1 (71): 183-7. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення мікроскопічного та морфометричного досліджень, описання отриманих результатів, приймав участь в обговоренні результатів, підготував статтю до друку).

6. Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ, Бадьїн ІЮ, винахідники; Одеський національний медичний університет, патентовласник. Спосіб моделювання дегенеративно-дистрофічного ураження хвостового відділу хребта у щурів. Патент України на винахід № 112399 2016 лип. 28. (Особистий внесок здобувача: розробив методологію експерименту, провів написання та оформлення патенту, брав участь в статистичній обробці, аналізі та обговоренні результатів).

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації у зарубіжних спеціалізованих виданнях:

7. Kholodkova YL, Tsiurupa AV, Comparison of platelet-rich plasma and nonsteroidal antiinflammatory drugs effectiveness for correction of degenerative dystrophic changes in the vertebra and intervertebral discs. *Deutscher wissenschaftsherold*. 2016; 3: 68-70. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення мікроскопічного та морфометричного досліджень, описання отриманих результатів, приймав участь в обговоренні результатів, підготував статтю до друку).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. Цюрупа ОВ. Использование клеточных технологий при экспериментальном остеохондрозе. Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для студентів та молодих вчених): наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвячена 155-річчю з дня народження

М.О. Ясиновського. Одеса, 24-25 квітня 2014р. С. 29.

9. Цюрупа ОВ, Горюк ІА, Садовська ЮО, Терновий ДП. Вплив збагаченої тромбоцитами плазми на структуру міжхребцевих дисків хвостових сегментів за умов моделювання постійної асиметричної компресії-дистензії. «Медична наука в практику охорони здоров'я»: всеукраїнська наук.-практ. конф. Полтава, 20 листопада 2015 р. С. 50. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення мікроскопічного та морфометричного досліджень, описання отриманих результатів, приймав участь в обговоренні результатів, підготував тези до друку).

10. Цюрупа ОВ, Горюк ІА, Садовська ЮО, Терновий ДП. Ефективність збагаченої тромбоцитами плазми при корекції дегенеративно-дистрофічних змін у міжхребцевих дисках в експерименті. Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для студентів та молодих вчених): наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвячена 150-річчю з дня народження Д. К. Заболотного Одеса, 21-22 квітня 2016 р. С. 23-24. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення мікроскопічного дослідження, описання отриманих результатів, приймав участь в обговоренні результатів, підготував тези до друку)

11. Цюрупа ОВ. Морфологічні зміни хребців та міжхребцевих дисків у щурів при експериментальній компресії-дистензії. Прикладні аспекти морфології : наук.-практ. конф. Тернопіль, 20-21 жовтня 2016 р. С. 188-189.

12. Цюрупа ОВ, Горюк І А, Садовська ЮО, Терновий ДП. Ультрамiкроскопiчні змiни у мiжхребцевих дисках хвостових сегментiв щурiв за умов моделювання постійної асиметричної компресії-дистензії. Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для студентів та молодих вчених): наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвячена 100-річчю з дня народження І. Г. Герцена, Одеса, 27-28 квітня 2017 р. С. 25. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, аналіз

результатів, написання, приймав участь в обговоренні результатів та оформленні тези).

13. Холодкова О.Л., Цюрупа О.В. Оцінка діаметру колагенових волокон фіброзного кільця при корекції дегенеративно-дистрофічного ураження хребта в експерименті. Перспективи розвитку медичної науки та освіти: всеукраїнська наук.-метод. конф., присвяченій 25-річчю Медичного інституту СумДУ. Суми, 16-17 листопада 2017 р. С. 40. (Особистий внесок здобувача: провів експерименти, статистичну обробку, аналіз та узагальнення результатів, написання та оформлення тези, приймав участь в узагальненні результатів).

14. Цюрупа ОВ, Головашич ЮО, Горюк І А, Терновий ДП. Морфологічні особливості будови міжхребцевих дисків при дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта в динаміці. Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини (для студентів та молодих вчених): наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвячена 100-річчю з дня народження С.І. Корхова. Одеса, 19-20 квітня 2018 р. С. 25. (Здобувачу належить проведення експериментального дослідження, проведення мікроскопічного та морфометричного досліджень, описання отриманих результатів, приймав участь в обговоренні результатів та оформленні тези).

Додаток Б

Додаток Б.1

ЗАТВЕРДЖУЮ
Перша проректорка
Івано-Франківського національного
медичного університету
проф. Ерстенюк Г.М.



« ___ » _____

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** матеріали кандидатської дисертації «Морфологічні особливості будови тканин міжхребцевих дисків при експериментальному дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта та після його корекції збагаченою тромбоцитами плазмою».
2. **Установа-розробник, автор:** Одеський національний медичний університет, асистент кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії Цюрупа Олександр Володимирович.
3. **Джерело інформації:** наукові роботи у фахових виданнях:
 - 1) Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ. Ультрамикроскопічні зміни хребта за умов експериментальної компресії-дистензії та після корекції. Вісник морфології. 2017; 1(23): 23-8.
 - 2) Effectiveness of the platelet-rich plasma application at different simulation periods of degenerative disc disease in rats. Zaporozhan VM, Appelhans OL., Tsyurupa OV. Світ медицини та біології. 2020. № 1(71): 183-7.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форми впровадження:** введено у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
6. **Термін впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Завідувачка кафедри анатомії людини
Івано-Франківського національного
медичного університету
д.мед.н., професорка

О.Г. Попадинець

Додаток Б.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
з науково-педагогічної роботи

НУФВСУ

проф. Дутчак М.В.

_____ 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** матеріали кандидатської дисертації «Морфологічні особливості будови тканин міжхребцевих дисків при експериментальному дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта та після його корекції збагаченою тромбоцитами плазмою».
2. **Установа-розробник, автор:** Одеський національний медичний університет, асистент кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії Цюрупа Олександр Володимирович.
3. **Джерело інформації:** наукові роботи у фахових виданнях:
 - 1) Zaporozhan VM, Appelhans OL., Tsyurupa OV. Effectiveness of the platelet-rich plasma application at different simulation periods of degenerative disc disease in rats. Світ медицини та біології. 2020. 1(71): 183-7.
 - 2) Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ. Ультрамiкроскопiчні змiни хребта за умов експериментальної компресiї-дистензiї та пiсля корекцiї. Вiсник морфологiї. 2017; 1(23): 23-8.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра медико-біологічних дисциплін Національного університету фізичного виховання і спорту України МОН України.
5. **Форми впровадження:** введено у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
6. **Термін впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Завідувач кафедри
медико-біологічних дисциплін
Національного університету
фізичного виховання і спорту України
д.мед.н, професор

В.А. Пастухова

Додаток Б.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної
роботи Львівського національного
медичного університету імені Данила
Галицького МОЗ України
Проф. Гжегоцький М.Р.

«__» _____

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: матеріали кандидатської дисертації «Морфологічні особливості будови тканин міжхребцевих дисків при експериментальному дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта та після його корекції збагаченою тромбоцитами плазмою».
2. Установа-розробник, автор: Одеський національний медичний університет, асистент кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії Цюрупа Олександр Володимирович.
3. Джерело інформації: наукові роботи у фахових виданнях:
 - 1) Kholodkova O.L., Tsiurupa O.V. Comparison of platelet-rich plasma and nonsteroidal anti-inflammatory drugs effectiveness for correction of degenerative dystrophic changes in the vertebra and intervertebral discs. Deutscher Wissenschaftsherold. 2016;3:68-70.
 - 2) Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ. Ультрамiкроскопiчнi змiни хребта за умов експериментальної компресії-дистензії та після корекції. Вісник морфології. 2017; 1(23): 23-8.
4. Базова установа, яка проводить впровадження: Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, кафедра оперативної хірургії з топографічною анатомією.
5. Форми впровадження: введено у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
6. Термін впровадження: 2020-2021 навчальний рік.

Завідувач кафедри оперативної
хірургії з топографічною анатомією
ЛНМУ імені Данила Галицького
д.мед.н., професор



З.З. Масна

Додаток Б.4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
ВДНЗ України «Буковинський державний
медичний університет»
доцент _____ І.В. Геруш
« ____ » _____ 2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** матеріали кандидатської дисертації «Морфологічні особливості будови тканин міжхребцевих дисків при експериментальному дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта та після його корекції збагаченою тромбоцитами плазмою» (анатомо-експериментальне дослідження).
2. **Установа-розробник, автор:** Одеський національний медичний університет, асистент кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії Цюрупа Олександр Володимирович.
3. **Джерело інформації:** наукові роботи у фахових виданнях:
 - 1). Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ. Ультрамикроскопічні зміни хребта за умов експериментальної компресії-дистензії та після корекції. Вісник морфології. 2017; 1(23): 23-8.
 - 2). Effectiveness of the platelet-rich plasma application at different simulation periods of degenerative disc disease in rats. Zaporozhan VM, Appelhans OL., Tsyurupa OV. Світ медицини та біології. 2020. № 1(71): 183-7.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини ім. М.Г. Туркевича Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет».
5. **Термін впровадження:** листопад-грудень 2020 року.
6. **Форма впровадження:** введено у навчальний процес – у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії.
7. **Зауваження та пропозиції:** не постуило.

*Обговорено та затверджено на засіданні кафедри анатомії людини
ім. М.Г. Туркевича. Протокол № 33 від 26 листопада 2020 року.*

Завідувач кафедри анатомії людини
імені М.Г. Туркевича ВДНЗ України
«Буковинський державний
медичний університет»
доктор медичних наук, професор

В.В. Кривецький

Додаток Б.5

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Проректор з наукової роботи
 Тернопільського національного
 медичного університету
 імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
 д. б. н., проф. Кліщ І. М.
 «_____» _____ 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** матеріали кандидатської дисертації «Морфологічні особливості будови тканин міжхребцевих дисків при експериментальному дегенеративно-дистрофічному ураженні хребта та після його корекції збагаченою тромбоцитами плазмою».
2. **Установа розробника, автор:** Одеський національний медичний університет, асистент кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії Цюрупа Олександр Володимирович.
3. **Джерело інформації:**
 - 1). Холодкова ОЛ, Цюрупа ОВ. Ультрамікроскопічні зміни хребта за умов експериментальної компресії-дистензії та після корекції. Вісник морфології. 2017; 1(23): 23-8.
 - 2). Effectiveness of the platelet-rich plasma application at different simulation periods of degenerative disc disease in rats. Zaporozhan VM, Appelhans OL., Tsyurupa OV. Світ медицини та біології. 2020. № 1(71): 183-7.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України.
5. **Форма впровадження:** в матеріали лекцій та практичних занять з гістології та ембріології людини, а також у наукову роботу кафедри.
6. **Термін впровадження:** 2020-2021 рік.
7. **Зауваження та пропозиції:** немає.
8. **Протокол засідання кафедри № 1 від 04 січня 2021 р.**

Відповідальний за впровадження:
 завідувач кафедри гістології та ембріології
 Тернопільського національного
 медичного університету
 імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
 доктор біологічних наук, професор

З. М. Небесна

Додаток В

Таблиця В.1

**Морфометричні показники міжхребцевих дисків у щурів
(60 діб моделювання ДДУХ)**

Параметри дослідження	I група (контроль)	III група (без корекції)	V група (корекція НПЗЗ)		VII група (корекція ЗТП)	
			через 14 діб	через 28 діб	через 14 діб	через 28 діб
Товщина ФК на боці компресії (мм)	1,72±0,09	1,22±0,26*	1,20 ±0,14*	1,05 ±0,15*	1,61 ±0,13 [#]	1,59 ±0,12 [#]
Товщина ФК на боці дистензії (мм)	1,75±0,09	2,14±0,15*	2,05 ±0,17*	1,95 ±0,16*	2,16 ±0,22 [#]	2,02 ±0,19 [#]
Площина ДЯ (мм ²)	4,21±0,16	2,37±0,21*	2,55 ±0,17*	2,54 ±0,19*	2,97 ±0,19* [#]	2,96 ±0,19* [#]
Кут між ЗП (градуси)	~0	24,71±1,38*	23,56 ±1,41*	24,73 ±1,40*	23,01 ±0,98*	22,89 ±1,42*

Примітка 1. ФК – фіброзне кільце

Примітка 2. ДЯ – драглисте ядро

Примітка 3. ЗП – замикальна пластинка

Примітка 4. * – $p \leq 0,05$ різниця є достовірною відносно контролю

Примітка 5. # – $p \leq 0,05$ різниця є достовірною відносно групи без корекції

Таблиця В.2

**Морфометричні показники міжхребцевих дисків у щурів
(90 діб моделювання ДДУХ)**

Параметри дослідження	I група (контроль)	III група (без корекції)	V група (корекція НПЗЗ)		VII група (корекція ЗТП)	
			через 14 діб	через 28 діб	через 14 діб	через 28 діб
Товщина ФК на боці компресії (мм)	1,72 ±0,09	0,62±0,05*	0,68 ±0,05*	0,65 ±0,05*	0,78 ±0,05*#	0,76 ±0,05*#
Товщина ФК на боці дистензії (мм)	1,75±0,09	1,48±0,05*	1,52 ±0,9*	1,44 ±0,09*	1,76 ±0,08*#	1,70 ±0,07*#
Площина ДЯ (мм ²)	4,21±0,16	0,91±0,12*	0,98 ±0,08*	0,92 ±0,06*	1,18 ±0,05*#	1,17 ±0,05*#
Кут між ЗП (градуси)	~0	30,16±1,50*	28,45 ±1,72*	29,7 ±1,63*	26,58 ±1,42*	27,11 ±1,31*

Примітка 1. ФК – фіброзне кільце

Примітка 2. ДЯ – драглисте ядро

Примітка 3. ЗП – замикальна пластинка

Примітка 4. * – $p \leq 0,05$ різниця є достовірною відносно контролю

Примітка 5. # – $p \leq 0,05$ різниця є достовірною відносно групи без корекції

Таблиця В.3

Морфометричні показники ультрамікроскопічного дослідження міжхребцевих дисків у щурів (60 діб моделювання ДДУХ)

Параметри дослідження	I група (контроль)	III група (без корекції)	V група (корекція НПЗЗ)		VII група (корекція ЗТП)	
			через 14 діб	через 28 діб	через 14 діб	через 28 діб
Діаметр волокон ЗШ ФК (нм)	159,7±6,3	115,3±7,4*	136,8±6,6* [#]	131±6,2*	161,3±6,3 [#]	148,3±6,3 [#]
Діаметр волокон ВШ ФК (нм)	82,1±2,1	67,6±2,1*	72,9±2,2*	72,9±3,6*	81,7±3,4 [#]	78,4±3,6 [#]
Товщина фіброзних пластинок ЗШ ФК (нм)	8573±97	7415±193*	7852±180*	7675±182*	8697±161 [#]	8245±193 [#]
Товщина фіброзних пластинок ВШ ФК (нм)	6645±111	6073±131*	6000±118*	5813±115*	6713±129 [#]	6520±114 [#]

Примітка 1. ЗШ – зовнішній шар

Примітка 2. ВШ – внутрішній шар

Примітка 3. ФК – фіброзне кільце

Примітка 4. * – $p \leq 0,05$ різниця є достовірною відносно контролю

Примітка 5. [#] – $p \leq 0,05$ різниця є достовірною відносно групи з ДДУХ без корекції

Таблиця В.4

Морфометричні показники ультрамікроскопічного дослідження міжхребцевих дисків у щурів (90 діб моделювання ДДУХ)

Параметри дослідження	I група (контроль)	III група (без корекції)	V група (корекція НПЗЗ)		VII група (корекція ЗТП)	
			через 14 діб	через 28 діб	через 14 діб	через 28 діб
Діаметр волокон ЗШ ФК (нм)	159,7±6,3	93,5±6,1*	112,2±7,2*	108,4±6,4*	122,4±6,8* [#]	119,8±6,9* [#]
Діаметр волокон ВШ ФК (нм)	82,8±2,1	58,6±3,5*	65,3±3,6* [#]	63,78±3,5*	70,1±3,9* [#]	69,1±4,0* [#]
Товщина фіброзних пластинок ЗШ ФК (нм)	8573±97	5658±192*	6207±177*	5898±172*	6439±163* [#]	6116±161* [#]
Товщина фіброзних пластинок ВШ ФК (нм)	6645±111	5535±105*	5615±123*	5588±113*	6047±100* [#]	5974±108* [#]

Примітка 1. ЗШ – зовнішній шар

Примітка 2. ВШ – внутрішній шар

Примітка 3. ФК – фіброзне кільце

Примітка 4. * – $p \leq 0,05$ різниця є достовірною відносно контролю

Примітка 5. [#] – $p \leq 0,05$ різниця є достовірною відносно групи з ДДУХ без корекції