



# МОРФОГЕНЕЗ БОЛЕЗНИ ШЕЙЕРМАНА

А.М. Зайдман<sup>1</sup>, А.В. Корель<sup>1</sup>, А.В. Сахаров<sup>2</sup>, Т.В. Русова<sup>1</sup>, В.И. Рыкова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии

<sup>2</sup>Новосибирский государственный педагогический университет

<sup>3</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

**Цель работы.** Сформулировать морфогенетические механизмы развития болезни Шейерманна.

**Материал и методы.** Объект исследования — пластинки роста, межпозвонковые диски, костная ткань тел позвонков (операционный материал) 25 больных в возрасте 12–14 лет с болезнью Шейерманна II–III стадии. Методами углубленной морфогистохимии, биохимии и ультраструктурного анализа исследовались гликозаминогликаны, окислительно-восстановительные ферменты, щелочная и кислая фосфатазы, РНК, ДНК, качественный и количественный состав гликозаминогликанов.

**Результаты.** На основании полученных ранее данных о генетической зависимости болезни Шейерманна представлены патогенетические механизмы развития патологической деформации позвоночника является нарушение синтеза и конформации молекул протеогликанов в вентральных отделах пластинки роста тел позвонков. Изменение структуры протеогликанов, выполняющих барьерно-трофическую, информационную, антиинвазивную функции, приводит к нарушению митотической и пролиферативной активности хондробластов. На фоне активного остеогенеза формируется кифотическая деформация позвоночника.

**Ключевые слова:** кифоз, деформация, протеогликаны, морфогенез.

SCHEUERMANN'S DISEASE MORPHOGENESIS

A.M. Zaidman, A.V. Korel, A.V. Sakharov, T.V. Rusova, V.I. Rykova

**Objective.** To specify a morphogenetic pathogenesis of the Scheuermann's disease.

**Material and Methods.** Growth plates, intervertebral discs, vertebral body tissue (surgical material) from 25 patients of 12–14 years old with Scheuermann's disease of Grade II–III were examined. In-depth morphohistochemical, biochemical, and ultrastructural analyses were used to study glycosaminoglycans, oxidation-reduction enzymes, alkaline and acid phosphatase, RNA, DNA, and qualitative and quantitative composition of glycosaminoglycans.

**Results.** Pathogenetic mechanisms of Scheuermann's disease development are presented basing of previously obtained data on genetic dependence of this pathology. The starter of the spine kyphotic deformity is a disturbance of proteoglycan molecule synthesis and conformation in ventral growth plates of vertebral bodies. The structural change in proteoglycans, which perform barrier-trophic, informational, and antiinvasive functions results in a decreased mitotic and proliferative activity of chondroblasts. The spine kyphotic deformity develops in association with an active osteogenesis.

**Key Words:** kyphosis, deformity, proteoglycans, morphogenesis.

Hir. Pozvopoc. 2005;(2): 73–83.

*Возможность повлиять на заболевание зависит не только от того, наследуется оно или нет, а от глубины наших знаний о механизмах развития патологии.*

*Ф. Фогель, А. Мотульски*

Юношеская кифотическая деформация позвоночника известна со времен глубокой древности, но только в 1921 г. Шейерманном была выделена в отдельную нозологическую единицу. Шейерманн считал, что основной причиной развития патологии является асептический некроз центров оссификации апофизарных колец. Эта теория и позже нашла своих сторонников. Так, V. Jones [24]

и K. Parsch, G. Manner [28] полагали, что в основе патологии лежат ишемические нарушения в ядрах оссификации. Но морфологические исследования не подтвердили нарушения кровообращения в формирующихся телах позвонков. Первичные изменения в межпозвонковом диске [23, 29, 30], остеопороз тел позвонков [15–17] как причины развития болезни Шейерманна (БШ) были отвергнуты.

Внимание ученых было привлечено к замыкательным пластинкам тел позвонков. Морфологические исследования M. Aufdermaу [11, 12] показали, что в хрящевой ткани замыкательных пластинок выявляются очаги дезорганизации, нарушение архитектоники коллагеновых волокон, предположительно связанных с нарушением синтеза коллагена. На основании этих данных G. Dommissе, D. Linthoud, M.

Revel [18, 25] сформулировали патогенетические механизмы развития патологии, полагая, что врожденная неполноценность хрящевой ткани под влиянием механической нагрузки приводит к пролабиранию ткани диска в тело позвонка. Более углубленные исследования предприняты Е. Ippolito, I. Ponsrti [22], E. Ascani et al. [10]. Авторы считали, что в основе БШ лежат нарушения архитектоники хрящевой пластинки роста тел позвонков, неполноценность клеточных структур и матрикса, дисбаланс соотношения протеогликанов (ПГ) и коллагена, приводящие к клиновидной деформации тел позвонков под влиянием механической нагрузки. Отсутствием исчерпывающей морфологической информации об изменениях в структурных компонентах позвоночника при БШ можно объяснить противоречивость взглядов исследователей на патогенез этого заболевания.

Вместе с тем изучение морфогенеза БШ определяется не только разработкой теоретических вопросов, но и потребностями практической ортопедии. Раскрытие закономерностей формирования патологии открывает путь к разработке патогенетических методов воздействия и профилактики исследуемой патологии.

Цель исследования — методами углубленной морфологии, биохимии и ультраструктурного анализа изучить морфогенетические механизмы формирования БШ.

### Материалы и методы

Объектом исследования служили ткани позвоночника: межпозвонковые диски (МПД), пластинки роста (ПР), костная ткань тел позвонков 25 больных в возрасте 12–14 лет, оперированных в клинике Новосибирского НИИТО. В качестве контроля были использованы структурные компоненты позвоночника детей соответствующего возраста, полученные на кафедре судебной медицины. Ткани фиксировались в 10 % растворе формалина, костная ткань подвергалась

декальцинации в холодном трилоне «Б». После депарафинирования срезы окрашивались гистологическими методами (гематоксилин-эозином по Ван-Гизону и Маллори), гистохимическими методами (толуидиновым синим при разных значениях pH, альциановой синью, Хейл-реакцией, Шик-реакцией — окраска реактивом Шиффа, реакцией Грина). Ко всем реакциям ставились соответствующие контроли. Окислительно-восстановительные ферменты определялись на креостатных срезах реакцией Нади и Нахласа. Щелочная и кислая фосфатазы выявлялись реакцией азосочетания. Для проведения ультраструктурных исследований материал фиксировался в 4 % растворе параформа, дофиксировался в 1 % растворе OsO<sub>4</sub>, обезжовивался в спиртах возрастающей концентрации, заключался в эпон-аралдит. На ультратоме ЛКВ готовились ультратонкие срезы, контрастировались уранилацетатом и просматривались под электронным микроскопом «Hitachi-100».

Гликозаминогликаны (ГАГ) из хряща выделялись раствором папаина в 0,2 М Na-ацетатном буфере pH 5,8 с добавлением 0,01 М ЭДТА и 0,01 М цистеина в течение 18 ч при 60 °C [32]. Белки осаждали 100 % ТХУ до конечной концентрации 5 %. Затем раствор диализовали 18 ч при температуре 4 °C против 50 мМ Na-ацетатного буфера pH 5,0. ГАГ осаждали тремя объемами 96° этанола с 4 % ацетатом калия, осадки растворяли в 0,4 М хлористом гуанидине с 50 мМ ацетатом натрия pH 5,8. Перед экстракцией ГАГ из образцов вычленили маленькие кусочки хрящевой ткани, взвешивали для получения массы малого кусочка влажной ткани, далее их высушивали при 60 °C в течение 18 ч для получения массы малого кусочка высушенной ткани. Оставшуюся хрящевую ткань взвешивали для получения массы всей ткани и заливали растворами для экстракции ГАГ. Полученные значения масс влажных малых кусочков и массы всей ткани использовали для дальнейших расчетов процентного содержания воды,

сухого вещества в исследуемых образцах, для пересчета количественного состава ГАГ хряща на миллиграмм сухого веса образца ткани.

Количество ГАГ ПР тел позвонков определяли по присутствию гексуроновых кислот [14] и сульфатированных ГАГ [19]. Результаты представлены в виде микрограммов относительно миллиграммов сухой ткани. Отношение количеств ГАГ, определяемых по гексуроновым кислотам и по количеству сульфатированных групп, считали показателем степени сульфатированности. В качестве стандарта использовали хондроитинсульфат С фирмы ICN.

Качественный состав ГАГ ПР тел позвонков исследовался методом разделения электрофорезом в 1 % геле агарозы [33], в 50 мМ буфере ацетата бария с pH 5,0. Исследуемые образцы ГАГ перед электрофорезом последовательно обрабатывали хондроитиназами АС, АВС, кератаназой в 50 мМ трис-буфере pH 7,5 18 ч при 37 °C для удаления отдельных видов ГАГ. После окончания процедуры гель окрашивали 0,1 % азуром с 50 мМ натрий-формиадом и 10 мМ хлоридом магния с pH 3,5. Окрашенный гель отмывали 50 мМ ацетатным буфером с pH 5,8. Для идентификации ГАГ были использованы метчики — хондроитинсульфаты А, В, С, кератансульфат и гепарансульфат фирмы ICN.

### Результаты

Морфологические исследования структурных компонентов позвоночника при II стадии БШ показали, что ПР тела позвонка в вентральных отделах на вершине кифоза значительно сужена, слои дифференцируются с трудом. Наиболее выражен и занимает 1/3 объема ПР тела позвонка слой камбиальных клеток. Слой пролиферирующих клеток представлен редкими изогенными клетками, расположенными беспорядочно (рис. 1). Колонковый слой отсутствует. В широкую зону гипертрофических клеток внедряются кровеносные сосуды, вокруг которых фор-

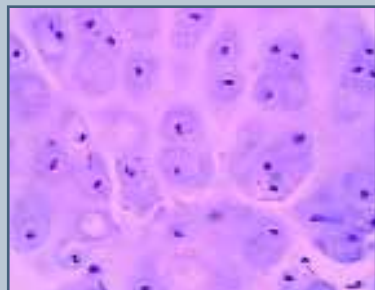


Рис. 1

Дезорганизация клеток и матрикса вентральных отделов ПР тела позвонка (II стадия БШ). Окраска гематоксилин-эозином, 20 x 10

мируется примитивная костная ткань. Матрикс ПР в зоне герминативных клеток, пролиферирующих и изогенных групп слабо базофилен. Территориальный и межтерриториальный матрикс эозинофилен. В некоторых участках матрикса видны зоны дистрофических изменений в виде очагов разволокнения, демаскировки коллагеновых волокон. На фоне выраженной эозинофилии матрикса сохраняется базофильная окраска цитоплазмы хондробластов герминативного слоя и некоторых изогенных групп клеток. Гипертрофические клетки (хондроциты) окрашиваются мозаично. Костные балки тела позвонка утолщены, со следами перестройки. Вокруг балок располагаются цепочки остеобластов, что свидетельствует о продолжающемся остеогенезе. МПД клиновидно изменены, сужены в вентральных отделах. Пульпозное ядро смещено дорсально и окрашивается базофильно, клетки хорды — преимущественно эозинофильно. В центральных и дорсальных отделах ПР тела позвонка четырехслойна (рис. 2). Слои хорошо дифференцируются. Герминативный слой широкий, хондробласты располагаются в гомогенном базофильном матриксе. Для хондробластов изогенных групп и колонковых структур характерно наличие

хорошо выраженной базофильной цитоплазмы и яркой базофильной зоны вокруг самих клеток. Цитоплазма некоторых гипертрофических хондроцитов интенсивно базофильна. Количество клеток: 2—3 ряда против 4—5 на вентральной поверхности. Тонкостенные сосуды внедряются в матрикс, вокруг них откладывается примитивная костная ткань. Костная ткань тела позвонка на дорсальной поверхности остеопорозна: костные балки тонкие с измененной архитектурой, регулярное строение нарушено; костный мозг миелоидный. В дорсальной области архитектура волокнистых структур сохранена, между пучками располагаются базофильные прослойки. Матрикс и цитоплазма хондроцитов рыхловолокнистой части МПД интенсивно базофильны.

Гистохимические исследования показали, что матрикс вентральных отделов ПР тела позвонка окрашивается реактивом Шиффа неравномерно, более интенсивно красятся зоны

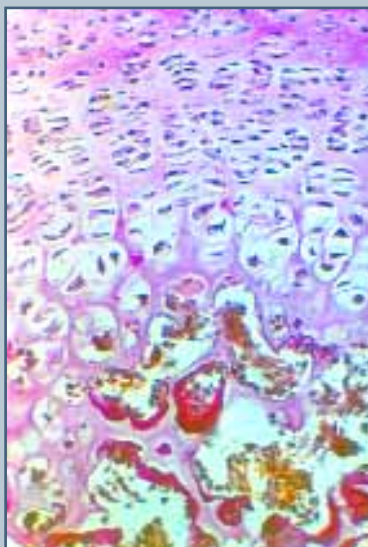


Рис. 2

Дорсальные отделы ПР тела позвонка, II стадия БШ. Окраска гематоксилин-эозином, 20 x 10

разволокнения. Гликоген в виде редких гранул выявляется в цитоплазме камбиальных хондробластов (рис. 3). В зоне гипертрофических клеток матрикс и формирующаяся клеточная ткань интенсивно ШИК-позитивны. Ядра остеобластов также ярко окрашиваются. Сформированная костная ткань (тело позвонка) интенсивно окрашивается по линиям склеивания. Волокнистые структуры МПД Шифф-позитивны. Редкие гранулы гликогена в виде мелких зерен выявляются в цитоплазме некоторых хондроцитов и фибробластов.

Матрикс дорсальной части ПР тела позвонка равномерно и бледно окрашивается реактивом Шиффа. В цитоплазме хондробластов и хондроцитов выявляются гранулы гликогена (ШИК-реакция, контроль амилазой). Костная ткань обнаруживает умеренную окраску. Более интенсивное окрашивание наблюдается по линиям склеивания и в ядрах остеобластов (рис. 4). Волокнистые структуры диска ШИК-позитивны. В цитоплазме хондроцитов выявляются редкие гранулы гликогена. Мембраны клеток хорды интенсивно окрашены; в цитоплазме ШИК-реакция отрицательна.

В вентральной части ПР тела позвонка (герминативный слой клеток) реакция на кислые ГАГ с толуидино-



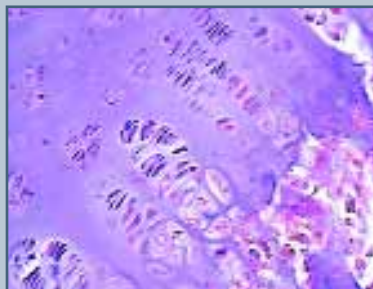
Рис. 3

Вентральные отделы ПР тела позвонка. ШИК-реакция, 10 x 10

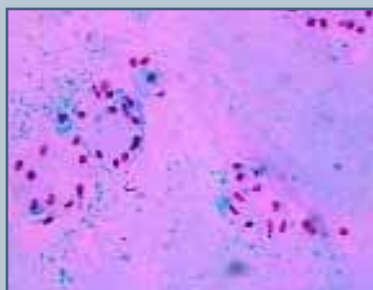
вой и альциановой синью (рН 4,6 и 3,0) слабо позитивна (рис. 5). Цитоплазма клеток окрашивается бледно. В зоне изогенных групп клеток сохраняется окраска цитоплазмы некоторых хондробластов, но резко ослаблена реакция матрикса, особенно вблизи клеток. Хейл-реакция практически во всех структурах ПР тела позвонка резко отрицательна. Цитоплазма хондроцитов вентральной части МПД окрашивается бледно, волокнистые структуры практически не окрашиваются (реакции с толуидиновой, альциановой синью, Хейл-реакция, рис. 6).

В цитоплазме хондробластов и матриксе ПР дорсальных отделов тела позвонка реакции с толуидиновым (рН 4,6 и 3,0), альциановым синим, Хейл-реакция интенсивны. Ферментативный контроль позволил идентифицировать в этих структурах высокополимерные сульфатсодержащие соединения (хондроитинсульфаты А и С, рис. 7). В пульпозном ядре реакции с толуидиновым и альциановым синим (рН 4,6 и в меньшей степени при рН 3,0) выражены. Ферментализ с тестикулярной гиалуронидазой в течение 2–4 ч резко снизил интенсивность реакции, что позволило

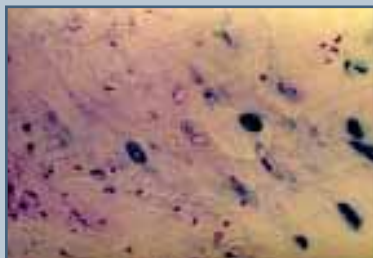
определить эти структурные компоненты как гиалуроновую кислоту, а также хондроитинсульфаты А и С. В костных структурах реакции на кислые сульфатсодержащие ГАГ бледные, цитоплазма остеобластов и остеоцитов окрашивается достаточно интенсивно. Здесь выявляются хондроитинсульфаты А и С (реакция с альциановой синью, ферментный контроль). Реакции Нахласа и Нади на окислительно-восстановительные ферменты выражены во всех клетках дорсальной части ПР тела позвонка (рис. 8). Гранулы СДГ и НАД-Н диафаразы заполняют всю цитоплазму пролиферирующих и колонковых клеток. Несколько меньше гранул, до 50–60, в гипертрофических хондроцитах. В хондробластах герминативного (рис. 9) слоя вентральной части ПР тела позвонка сохраняется реакция на окислительно-восстановительные ферменты, хотя количество их значительно снижено (до 10–15 гранул СДГ и 10–15 НАД-Н диафаразы). В клетках пролиферирующего слоя реакция практически не выражена. Ферментный спектр в клетках кост-



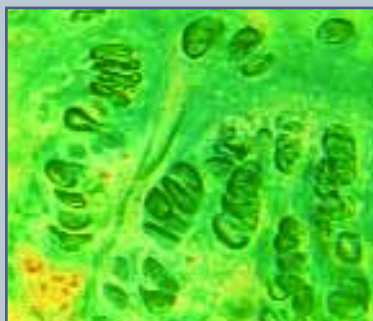
**Рис. 4**  
 Интенсивная Шик-реакция дорсальных отделов ПР тела позвонка. Шик-реакция, 20 x 10



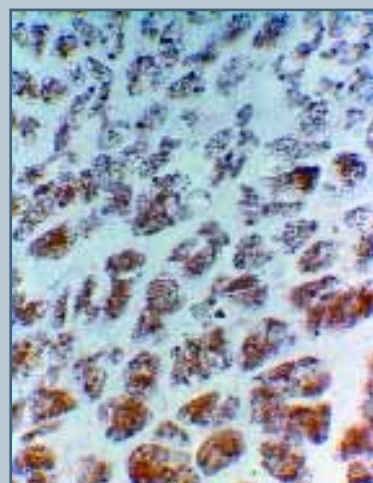
**Рис. 5**  
 Очаговая реакция с альциановым синим матрикса вентральных отделов ПР тела позвонка, 10 x 10



**Рис. 6**  
 Хондроитинсульфаты А и С в редких клетках вентральных отделов МПД. Окраска альциановым синим, 10 x 10



**Рис. 7**  
 Интенсивная Хейл-реакция хондроцитов и матрикса дорсальных отделов ПР тела позвонка, 20 x 40



**Рис. 8**  
 Гранулы СДГ в цитоплазме хондробластов дорсальных зон ПР тела позвонка. Реакция Нади, 20 x 40

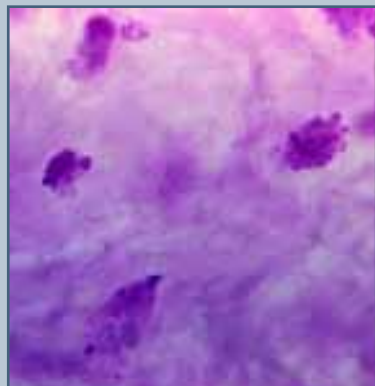


Рис. 9

Редкие гранулы СДГ в редких клетках вентральной части ПР тела позвонка. Реакция Нади, 20 x 40

ной ткани подобен спектру дорсальной зоны тела позвонка, изменения касаются кислой и щелочной фосфатаз. В костной ткани дорсальной зоны щелочная фосфатаза в гипертрофических клетках выявляется в меньших количествах — 35–40 гранул против 75–100 в вентральной части. Реакции на кислую фосфатазу более выражены в клетках вентральной части ПР по сравнению с дорсальной.

Ультраструктурные исследования дорсальной области ПР тела позвонка показали, что хондробласты герминативного слоя овальной формы, ядра с одним-двумя ядрышками, с инвагинатами ядерной мембраны. В плотном цитоплазматическом матриксе располагаются многочисленные полисомы, часть из которых фиксирована на мембранах эндоплазматического ретикулула. Цистерны шероховатого эндоплазматического ретикулула заполнены зернистым содержимым. Комплекс Гольджи имеет везикулярное строение и расположен приядерно, в некоторых клетках в области инвагинатов (рис. 10). В цитоплазме наблюдаются немногочисленные везикулы. Митохондрии вытянутой формы, с четко выраженными кристами, везикулярный компонент не-

многочислен. В клетках зоны пролиферации наблюдается густо разветвленная эндоплазматическая сеть с расширенными канальцами, в просветах которых выявляются мелкозернистые включения. Комплекс Гольджи с хорошо контурирующимися цис- и транс поверхностями расредоточен по всей поверхности цитоплазмы. Здесь же встречаются мелкие окаймленные везикулы, связанные с канальцами эндоплазматической сети и цистернами цисповерхности. Митохондрии с просветленным матриксом, округлой формы. В некоторых митохондриях не выявляются кристы. Встречаются первичные лизосомы, а также гранулярные включения, идентифицированные как гликоген. Митотически делящиеся хондроциты не обнаружены.

Хондробласты вентральных отделов пролиферирующей зоны ПР (на вершине кифоза) — это одиночные клетки с крупным ядром, ядерная мембрана с инвагинатами. В цитоплазме встречаются единичные митохондрии, в которых не контурируются кристы. Эндоплазматическая сеть

со спавшимися мембранами (рис. 11). Единичный комплекс Гольджи расположен приядерно. Цис- и транс поверхности не дифференцируются. В матриксе видны отчетные коллагеновые фибриллы и фрагменты ПГ.

Морфологические исследования структурных компонентов позвоночника при III стадии БШ показали, что наибольшие изменения, как и при II стадии болезни, развиваются в ПР тел позвонков.

ПР тел позвонков (на высоте кифоза) в вентральных отделах резко сужена и представлена камбиальной зоной и узким слоем изогенных групп (рис. 12). Эта зона характеризуется дистрофическим изменением, фрагментированным матриксом, в котором определяются редкие хрящевые клетки (1–2 хондроцита в поле зрения) и внедряющиеся сосуды капиллярного типа. Хондроциты концентрируются в виде изогенных групп клеток и отличаются сморщенной цитоплазмой и пикнотичными ядрами. Некоторые клетки в состоянии апоптоза. Вблизи клеток обнаруживается мозаичная базофилия,

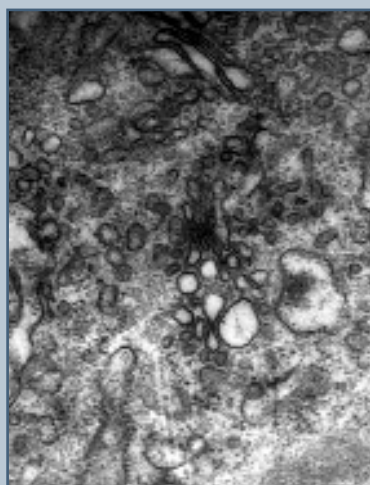


Рис. 10

Ультраструктура хондробласта зоны пролиферации дорсального отдела ПР тела позвонка, x5000

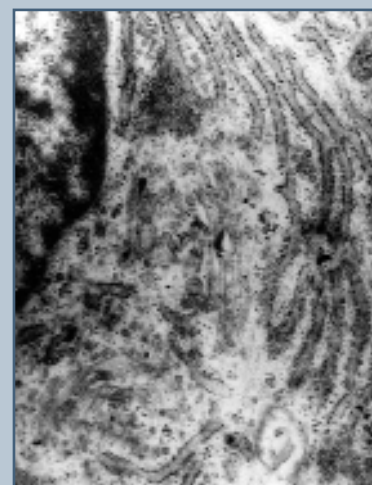
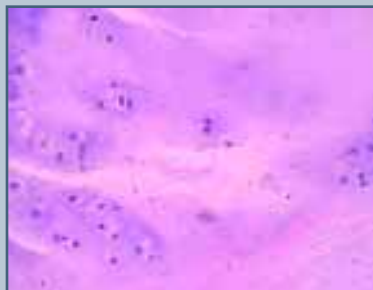


Рис. 11

Ультраструктура хондробласта зоны пролиферации вентрального отдела ПР тела позвонка, x5000



**Рис. 12**  
Дистрофические изменения матрикса ventральных отделов ПР тел позвонка. Окраска гематоксилин-эозином, 20 x 40

а в отдалении от клеток наблюдаются очаги разволокнения и фрагментации матрикса. Цитоплазма эндотелиальных клеток отличается интенсивной базофилией, а вокруг сосудов прослеживается формирование костной ткани, внедряющейся в дистрофически измененный матрикс. В субхондральной зоне костная ткань плотная, склерозированная, линии склеивания нерегулярны, вокруг некоторых балок расположены цепочки остеобластов, что свидетельствует о продолжающемся процессе формирования кости.

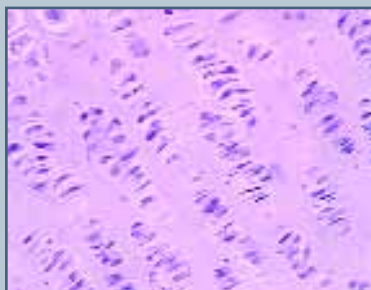
МПД рубцово изменен, архитектура волокнистых структур нарушена. Пучки коллагеновых волокон плотно прилегают друг к другу, базофильные прослойки матрикса не выявляются, пульпозное ядро смещено дорсально. Между волокнистыми структурами располагаются фибробласты, в центральных отделах диска — хондроциты (крупные круглые клетки с круглыми или овальными ядрами и базофильной плотной цитоплазмой). Между пучками коллагеновых волокон выявляются прослойки базофильного матрикса.

На границе ventральных и центральных отделов ПР тел позвонков наблюдаются очаги распада матрикса, в котором удается увидеть участки

рубцовой ткани, внедряющиеся в ткань МПД (грыжа Шморля). Вокруг таких участков наблюдается усиление базофилии.

В дорсальных отделах ПР тела позвонка представлена четырьмя слоями. Широкий герминативный слой занимает до 1/3 объема ПР, хондроциты с узкой базофильной цитоплазмой окружены ярко выраженным базофильным матриксом. Изогенный слой представлен округлыми клетками, интенсивно базофильной цитоплазмой и зоной выраженной базофилии в окружающем матриксе. Слой колонковых клеток широкий (рис. 13), ядра расположены по периферии базофильной цитоплазмы клеток. В этом слое межклеточный матрикс интенсивно базофилен, хотя между колонковыми структурами часто регистрируется эозинофильная реакция матрикса. Слой гипертрофических клеток широкий (3–4 клетки), часть хондроцитов характеризуется объемной цитоплазмой и пикнотичными ядрами. В некоторых клетках сохраняется базофилия цитоплазмы и ядра. Капилляры проникают только в нижние слои клеток, а остеогенез выражен в значительно меньшей степени, чем в ventральных отделах ПР.

Костная ткань остеопорозна: костные балки тонкие. Костный мозг



**Рис. 13**  
Дорсальные отделы ПР тела позвонков. Окраска гематоксилин-эозином, 20 x 40

во всех отделах тел позвонков миелиновый. В дорсальных отделах диска архитектура и тинкториальные свойства диска сохраняются (рис. 14).

Гистохимические исследования показали, что при окраске реактивом Шиффа матрикс ventральных отделов ПР окрашивается неравномерно, с усилением в зонах разволокнения. Редкие гранулы гликогена выявлялись в цитоплазме герминативного слоя. Реакция с толуидиновой и альциановой синью при pH 4,6 и pH 3,0 сохраняется только в следовых количествах в единичных хондробластах и хондрокитах этих зон (рис. 15).

Наблюдается ослабление реакций на окислительно-восстановительные ферменты в цитоплазме изогенных групп клеток. Особенностью ферментного спектра этих зон является преобладание числа гранул кислой фосфатазы. Топохимическая характеристика костной ткани на этой стадии развития патологии такая же, как и при третьей стадии БШ.

В клетках МПД вокруг пульпозного ядра (внутренняя часть диска) реакция Грина в цитоплазме клеток интенсивна, в наружных отделах (ventральных зон) — слабо выражена.

В дорсальных отделах ПР цитоплазма клеток обнаруживает интенсивную Хейл-реакцию, реакцию с толуи-



**Рис. 14**  
Архитектура МПД дистальных отделов. Окраска гематоксилин-эозином, 10 x 20



Рис. 15

Хейл-негативная цитоплазма изогенных групп клеток ventральных отделов ПР тела позвонка. Хейл-реакция, 20 x 10



Рис. 16

Реакция Хейла в дорсальных отделах ПР тела позвонка, 20 x 40

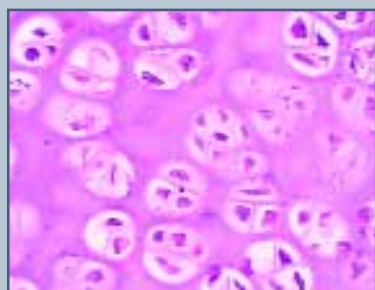


Рис. 17

Гранулы гликогена в изогенных хондробластах. Шик-реакция, 20 x 20

диновым и альтиановым синим с интенсификацией в зоне колонковых хондробластов (рис. 16). В окружающем матриксе выявляется значительный уровень ГАГ типа хондроитинсульфатов А и С (Хейл-реакция с контролем тестикулярной гиалуронидазой). Шик-реакция интенсивна в межтерриториальном матриксе и в цитоплазме некоторых гипертрофических клеток. Гранулярные структуры гликогена выявляются в клетках герминативного и пролиферирующего слоев (рис. 17). Цитоплазма пролиферирующих и колонковых хондробластов обнаруживает интенсивную реакцию Грина, а в герминативном слое — умеренную (рис. 18). В этих же клетках наблюдается высокая активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и НАД-Н диафаразы при более низкой активности  $\alpha$ -глицерофосфатдегидрогеназы ( $\alpha$ -ГДГ). В остеогенных клетках наблюдается высокая активность щелочной фосфатазы.

Матрикс пульпозного ядра МПД позитивно окрашивается альтиановым и толуидиновым синим при рН 4,6 и рН 3,0. В цитоплазме хондроцитов наблюдается интенсивная Хейл-



Рис. 18

Интенсивная реакция Грина в дорсальных отделах, 20 x 40

реакция и реакция с толуидиновым синим при рН 3,0 (хондроитинсульфаты А и С, кератансульфат в следовых количествах, рис. 19). В прослойках основного вещества между волокнистыми структурами выявляется также гиалуроновая кислота (реакция с альтиановой и толуидиновой синью, контроль с тестикулярной гиалуронидазой 3–6 ч). Гранулы  $\alpha$ -ГДГ в значительном меньших количествах обнаруживаются в цитоплазме клеток рыхловолокнистой части диска. Здесь же выявляется умеренная активность щелочной фосфатазы и большое количество гранул СДГ и НАД-дегидрогеназы с локализацией в приядерной зоне.

Ультроструктурные исследования ventральных отделов ПР тел позвонков показали, что хондроциты этой зоны имеют резко измененную ультроструктуру (рис. 20). Отмечается нарушение непрерывности ядерных мембран с образованием инвагинатов. В матриксе ядра видны электронно-плотные скопления хроматина. Встречаются и безядерные клетки с отсутствием органелл (клетки-тени). В некоторых клетках цистерны эндоплазматического ретикулаума

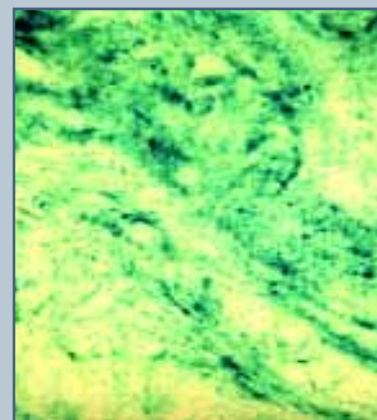
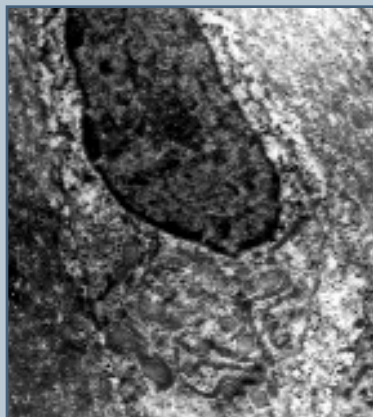


Рис. 19

Матрикс пульпозного ядра дорсального отдела. Окраска альтиановым синим, 10 x 20



**Рис. 20**  
Ультраструктура хондробласта вентральных отделов ПР тела позвонка, х5000

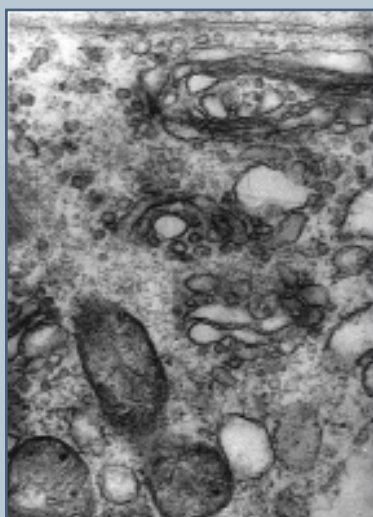
расширены, митохондрии отечны, в них не выявляются кристы. Комплекс Гольджи редуцирован. В цитоплазме выявляются многочисленные крупные вакуоли. Коллагеновые волокна отечны, в некоторых волокнах отсутствует поперечная исчерченность. В то же время в дорсальных отделах ПР тела позвонка клетки герминативного слоя имеют хорошо контурированные ядра с равномерным распределением хроматина (рис. 21). Матрикс митохондрий этих клеток гомогенен, кристы хорошо контурированы. Эндоплазматический ретикулум имеет вид широкой сети с множеством прикрепленных рибосом. Комплекс Гольджи располагается не только приядерно, но и по всей поверхности цитоплазмы. В цитоплазме выявляются многочисленные вакуоли. Вокруг клеток видны гранулярные структуры ПГ и коллагеновые волокна с поперечной исчерченностью.

Биохимические исследования матрикса ПР на высоте кифотической деформации позволили дать количественную оценку изменений ПГ при БШ. В ПР тел позвонков наблюдалось снижение количества ПГ как в легкодоступном, так и в труднодоступном пулах (диффуз-

ные и коллагенсвязанные ПГ) от 20,00 до 3,00 мкг/мг сухого веса ткани. Представляет значительный интерес снижение степени сульфатирования в обоих пулах ПГ в три и четыре раза соответственно. Низкая степень сульфатирования ПГ объясняется наличием большого количества кератансульфата (60 % против 17 в норме), присутствием в составе ГАГ большого количества неацетилированного ГАГ, препятствующего сульфатированию цепей кератансульфата.

При рестрикции кератаназой нативных образцов ГАГ ПР тел позвонков и последующим электрофорезом в геле агарозы выявляются две четкие полосы: менее электрофоретически подвижная синяя полоса хондроитинсульфата и более подвижная розовая — кератансульфатсвязанная фракция. Количество кератансульфатсвязанной фракции в коллагенсвязанном пуле ПГ больше, чем в пуле диффузных ПГ.

Таким образом, при БШ значительно меняется структура ПГ ПР тел позвонков: снижается количество сульфатных групп на условную единицу



**Рис. 21**  
Ультраструктура хондробласта дорсальных отделов ПР тела позвонка, х5000

сахаров, значительно возрастает количество кератансульфата и появляется видоизмененная кератансульфатсвязанная фракция ГАГ. Это свидетельствует о метаболических изменениях ПГ в ПР тел позвонков больных БШ, что коррелирует с морфологическими данными.

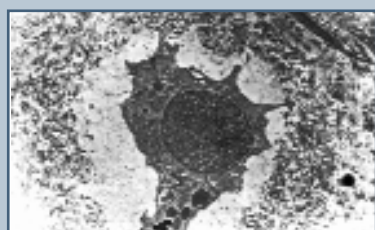
## Обсуждение

На основании факта существования главного гена, в отсутствии которого БШ не развивается, представлены механизмы реализации нарушения генной регуляции процесса роста вентральных отделов тел позвонков. Прежде всего следует остановиться на основных закономерностях функционирования хондробластов в системе взаимодействия компонентов провизорного хряща ПР тел позвонков. Центральной фигурой в сложной архитектонике хрящевой ткани является хондробласт, представляющий своеобразный метаболический центр, поддерживающий процессы анаболизма и катаболизма в динамическом равновесии. Функционирование хондробласта осуществляется на уровне хондрона — функциональной единицы хрящевой ПР. В центре хондрона располагается хондробласт (хондроцит, рис. 22), окруженный перичеселлюлярным матриксом, представляющим собой агрегаты ПГ. Это так называемые диффузные молекулы ПГ (агрекан). Диффузные молекулы легко экстрагируются четыреххлористым гуанидином из хрящевой ткани [31] — это легкодоступный пул ПГ. Благодаря своеобразной архитектонике, мелкие молекулы свободно проникают через занимаемый ими объем, так как внутри молекул имеются пространства, сопоставимые с размерами везикул комплекса Гольджи (рис. 23) [26]. Диффузные молекулы ПГ вместе с коллагеном II типа и структурирующими ПГ (труднодоступный пул) [27] выполняют барьерно-трофическую функцию [2]. Кроме того, диффузные молекулы внутри хондрона представляют своеобразное информационное поле, сигналы





**Рис. 22**  
Архитектоника хондрона.  
Окраска гематоксилин-  
эозином, 20 x 40



**Рис. 23**  
Ультраструктура хондрона.  
Герминативный слой, x5000

которого воспринимаются рецепторами хондробластов, и через вторичных посредников осуществляется экспрессия генного аппарата клетки [1].

Концентрация диффузных молекул ПГ (агрекана) в зонах пролиферации наиболее высокая [13]. Кроме того, диффузные молекулы являются короткодистантными регуляторами синтеза ДНК, механизм действия которых реализуется через систему рецепторов на клеточной мембране. Контактные межклеточные взаимодействия являются одним из механизмов, контролирующих клеточное деление. Это внеклеточные факторы регуляции пролиферации клеток [6].

Значительную роль в функционировании хондробластов выполняет межтерриториальный матрикс, представляющий собой концентрированный раствор ПГ [8]. Тесная связь хонд-

рона с матриксом — это необходимое условие пролиферации клеток [2]. Матрикс обеспечивает трансдукцию сигналов, связь с гормональной системой и микроциркуляцию продуктов метаболизма. Следовательно, сложные механизмы пролиферации и дифференцировки хондробластов осуществляются как на уровне хондрона, так и всеми структурными компонентами провизорного хряща. Подобная структурно-функциональная организация ПГ соответствует как возрастной норме, так и дорсальным отделам ПР тел позвонков при БШ. Так как процесс роста (основная функция провизорного хряща) в конечном итоге реализуется через регуляцию синтеза ДНК, ПГ и адекватного остеогенеза, то выпадение одного из звеньев цепи приводит к нарушению роста.

Подобные изменения выявлены нами в вентральных отделах ПР при БШ.

В отличие от дорсальных зон, в вентральных отделах ПР отсутствуют митотически делящиеся хондробласты. Часть клеток находится в апоптозе. Крупные изогенные группы не формируют хондронов. Колонковые структуры отсутствуют. В матриксе — очаги разволокнения с демаскировкой коллагеновых волокон. Тинкториальные свойства коллагеновых волокон нарушены. В цитоплазме редких клеток выявляются хондроинсульфаты, в матриксе — преимущественно кератансульфаты, что согласуется с биохимическими данными. РНК и окислительно-восстановительные ферменты определяются в следовых количествах. Ультраструктурная организация хондробластов резко изменена: наблюдается редукция эндоплазматической сети, единичные митохондрии, в которых отсутствуют кристы. Комплекс Гольджи со спавшимися вакуолями, что свидетельствует о глубоких структурных изменениях этих зон. Вместе с тем процесс остеогенеза не изменен — сосудистые элементы инвазируют матрикс вплоть до зоны пролиферации. Известно, что сформированный

матрикс является своеобразным барьером, препятствующим инвазии сосудов [13, 24] — это так называемый антиинвазивный фактор [21, 34]. Остеогенез на фоне угнетения процессов пролиферации и дифференцировки хондробластов приводит к нарушению роста вентральных отделов тел позвонков.

Полученные фактические данные позволили сформулировать морфогенез БШ. Анализ морфологических данных на ранних стадиях процесса в сопоставлении с генетически зависимой моделью деформации позвоночника [3] явился основанием для положения, что начальные изменения развиваются в эмбриогенезе на стадии хондрогенной дифференцировки тел позвонков. Дифференцировка — это результат избирательной активности генов. Направление дифференцировки клеток определяется взаимодействием локальных факторов (индукторов) с генетическим аппаратом клеток [5].

Хондрогенная дифференцировка позвонков осуществляется под индуцирующим влиянием хорды, а индуцирующим фактором являются синтезируемые хордой ПГ [2]. У экспериментальных животных и в препаратах больных БШ в хорде резко снижены реакции на сульфатсодержащие ГАГ и окислительно-восстановительные ферменты.

Полученные факты являются основанием для утверждения, что нарушение индуцирующего влияния хорды приводит к изменению экспрессии генного аппарата клеток, ответственного за синтез ПГ [2]. Падение синтеза и последующая дезинтеграция ПГ (активизация лизосомальных ферментов) приводят к нарушению барьерно-трофической, информационной и ауторегуляционной функций матрикса вентральных отделов ПР тел позвонков.

Дальнейшая цепь событий разворачивается в функционально и структурно неполноценной пластинке роста: нарушение пролиферации и дифференцировки клеток, дезорганизация матрикса, нарушение диф-

фузии метаболитов, дистрофические изменения клеток и матрикса при продолжающемся активном остеогенезе — все это приводит к нарушению роста вентральных отделов тел позвонков и формированию кифотической деформации. Одним из трудных вопросов представляется локализация процесса в вентральных отделах ПР. Объяснение может быть следующим: в определенные промежутки времени каждая из взаимодействующих закладок развивается относительно автономно, генная регуляция также автономна [5].

Подтверждением этого тезиса является экспериментальная модель БШ: у 12–14-недельного эмбриона имеется генетически зависимое нарушение формирования вентральных отделов тел позвонков с последующим формированием кифотической деформации позвоночника [4]. Известно, что при БШ преимущественно поражается грудной отдел позвоночника и чаще страдают мальчики, это связано с совпадением пика роста мальчиков с развитием грудного отдела позвоночника [9]. Возникает вопрос: если мутация гена, кодирующего вентральные отделы тел позвонков, экспрессируется в эмбриогенезе, а деформация манифестирует в периоды роста в постнатальном периоде, нет ли здесь противоречия? Известно, что нет строгой корреляции между временем действия мутации и масштабом вызываемых ею фенотипических изменений [7]. Подтверждением этого тезиса являются следующие данные: мыши с дефектом по гену *smad3* рождаются без каких-либо скелетных нарушений, но через три недели, в период интенсивного роста, формируется прогрессирующая деформация позвоночника [20].

Таким образом, результаты клинико-генетических, морфологических и биохимических исследований [4] позволяют заключить, что БШ — это генетически зависимая патология, наследуемая по аутосомно-доминантному типу, контролируемая мутантным майор-геном кифотическая деформация позвоночника без признаков

аномалии и торсии тел позвонков. Патогенетическим механизмом формирования деформации является мутация генов (гена), программирующая синтез и модификацию ПГ вентральных отделов тел позвонков. Для

установления точного механизма наследования нами предпринимаются попытки идентификации генов-кандидатов, выбор которых основан на морфологических и биохимических данных (рис. 24).

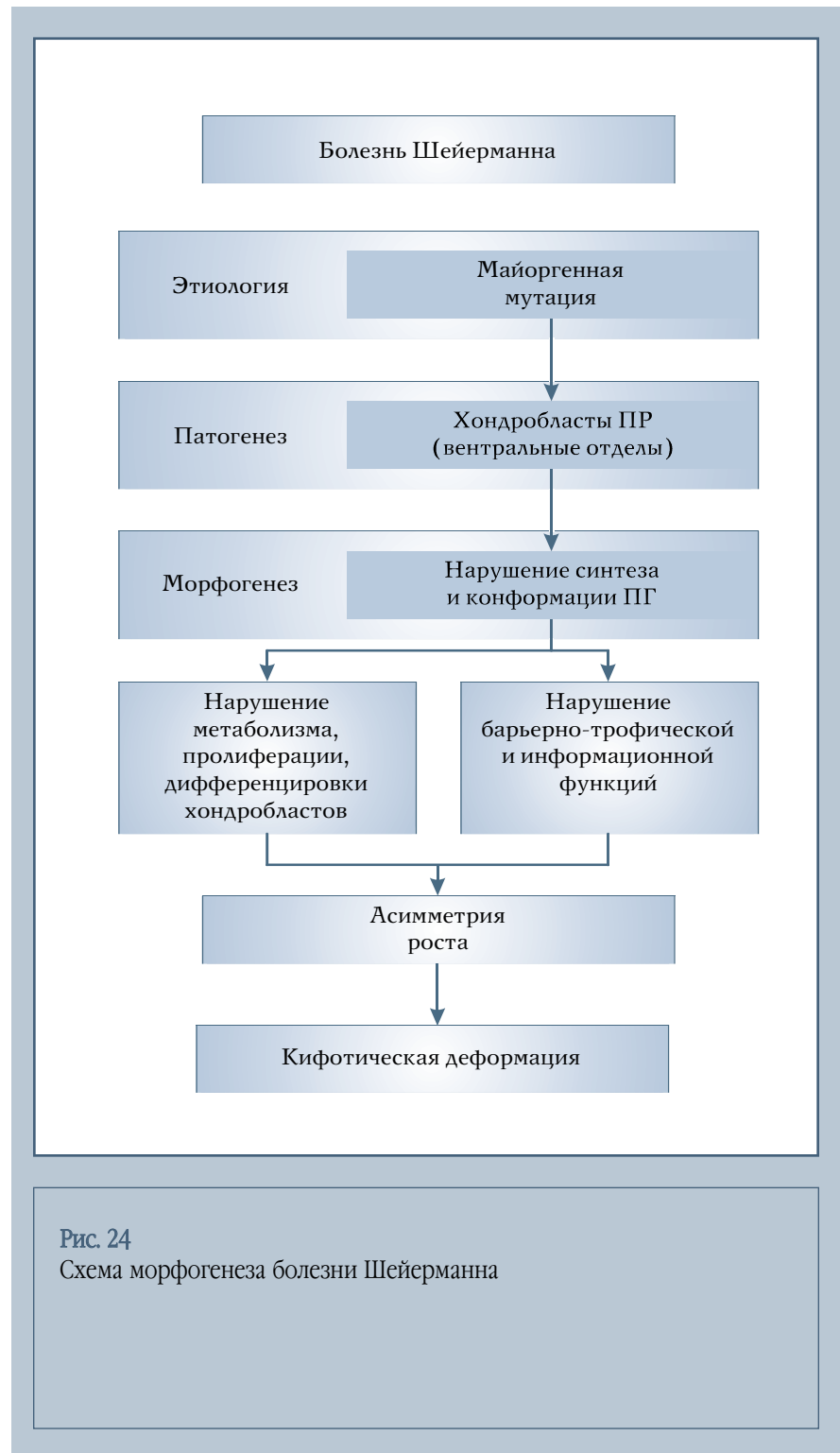


Рис. 24  
Схема морфогенеза болезни Шейерманна

## Литература

1. **Васильев Ю.М., Маленков А.Г.** Клеточная поверхность и реакция клетки. Л., 1968.
2. **Зайдман А.М.** Идиопатический сколиоз. Новосибирск, 1994.
3. **Зайдман А.М., Бородин П.М., Русова Т.В. и др.** Экспериментальная модель наследственной деформации позвоночника // Вестн. травматол. и ортопед. им. Приорова. 2003. N 4. С. 69–73.
4. **Зайдман А.М., Фомичев Н.Г., Калашникова Е.В. и др.** Болезнь Шейерманна – Мау: Клиника, морфология, биохимия, генетика, лечение. Новосибирск, 2002.
5. **Корочкин Л.И.** Взаимодействие генов в развитии. М., 1977.
6. **Нейфах А.А., Тимофеева М.Я.** Молекулярная биология процессов развития. М., 1977.
7. **Олснев Ю.М.** Проблемы молекулярной генетики. Л., 1971.
8. **Павлова В.Н., Копьева Т.Н., Слущкий Л.И. и др.** Хрящ, М., 1988.
9. **Мовшович И.А.** Хирургическая анатомия и патогенез. М., 1964.
10. **Ascani E., Ippolito E., Montanaro A.** Scheuermann's kyphosis: histologic, histochemical, and ultrastructural studies // Orthop. Trans. 1982. Vol. 7. P. 28.
11. **Aufdermaur M.** Zur pathogenese der Scheuermannschen Krankheit // Dtsch. Med. Wochenschr. 1964. Vol. 89. P. 73–76.
12. **Aufdermaur M.** Juvenile kyphosis (Scheuermann's disease): radiography, histology, and pathogenesis // Clin. Orthop. Relat. Res. 1981. N 154. P. 166–174.
13. **Ballock R.T., O'Keefe R.J.** The biology of growth plate // J. Bone Joint Surg. (Am). 2003. Vol. 8. P. 715–726.
14. **Bitter T., Muir H.M.** A modified uronic acid carboxylase reaction // Ann. Biochem. 1962. Vol. 4. P. 330–334.
15. **Bradford D.S.** Vertebral osteochondrosis (Scheuermann's kyphosis) // Clin. Orthop. Relat. Res. 1981. N 158. P. 83–90.
16. **Bradford D.S., Brown D.M., Moe J.H., et al.** Scheuermann's kyphosis: a form of osteoporosis? // Clin. Orthop. Relat. Res. 1976. N 118. P. 10–15.
17. **Bradford D.S., Moe J.H.** Scheuermann's juvenile kyphosis. A histologic study // Clin. Orthop. Relat. Res. 1975. N 110. P. 45–53.
18. **Domisse G.F.** The vulnerable, rapidly growing thoracic spine of the adolescent // S. Afr. Med. J. 1990. Vol. 78. P. 211–213.
19. **Farndale R.W., Buttle D.J., Barrett A.J.** Improved quantitation and discrimination of sulphated glycosaminoglycans by use of dimethylmethylene blue // Biochim. Biophys. Acta. 1986. Vol. 883. P. 173–177.
20. **Ferguson C.M., Schwarz E.M., Reynolds P.R., et al.** Smad2 and 3 mediate transforming growth factor-beta1-induced inhibition of chondrocyte maturation // Endocrinology. 2000. Vol. 141. P. 4728–4735.
21. **Ferrara N.** Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis // Kidney Int. 1999. Vol. 56. P. 794–814.
22. **Ippolito E., Ponseti I.V.** Juvenile kyphosis: histological and histochemical studies // J. Bone Joint Surg. Am. 1981. Vol. 63. P. 175–182.
23. **Jaffe H.L.** Metabolic, degenerative and inflammatory disease of bones and joints. Philadelphia, 1975. P. 621–628.
24. **Jones M.D., Wise B.L.** Contribution of venous obstruction to experimentally induced Scheuermann's disease // Radiol. Clin. Biol. 1967. Vol. 36. P. 91–100.
25. van Linthoudt D., Revel M. Similar radiologic lesions of localized Scheuermann's disease of the lumbar spine in twin sisters // Spine. 1994. Vol. 19. P. 987–989.
26. **Muir H.** Proteoglycans as organizers of the intercellular matrix // Biochem. Soc. Trans. 1983. Vol. 11. P. 613–622.
27. **Myers D.B., Highton T.C., Razyn D.G.** Ruthenium red-positive filaments interconnecting collagen fibrils // J. Ultrastr. Rec. 1973. Vol. 42. P. 87–92.
28. **Parsch K., Manner G.** [Aseptic bone necrosis in childhood and adolescence] // Med. Klin. 1977. Vol. 72. P. 1473–1479. German.
29. **Schmorl G.** Die pathogenese der juvenilen kyphose // Fortschr. Geb. Rontgen. 1930. N 41. P. 359–383.
30. **Schmorl G., Junghans K.** Die gesund und kranke wirbelsaule in rontgenbild und klinik. Pathologisch-anatomische Untersuchungen // Fur Rontgenkunde und Klinik bearbeitet. Stuttgart. Thieme. 1953. P. 217–233.
31. **Shipp D.W., Bowness J.M.** Insoluble non-collagenous cartilage glycoproteins with aggregation sub-units // Biochim. Biophys. Acta. 1975. Vol. 379. P. 282–294.
32. **Theocharis A.D., Tsara M.E., Papageorgakopoulou N., et al.** Characterization of glycosaminoglycans from human normal and scoliotic nasal cartilage with particular reference to dermatan sulfate // Biochim. Biophys. Acta. 2001. Vol. 1528. P. 81–88.
33. **van de Lest C.H., Versteeg E.M., Veerkamp J.H., et al.** Quantification and characterization of glycosaminoglycans at the nanogram level by a combined azure A – silver staining in agarose gels // Anal. Biochem. 1994. Vol. 221. P. 356–361.
34. **Wedge S.R., Ogilvie D.J., Dukes M., et al.** ZD4190: an orally active inhibitor of vascular endothelial growth factor signaling with broad-spectrum antitumor efficacy // Cancer Res. 2000. Vol. 60. P. 970–975.

## Адрес для переписки:

Зайдман Алла Михайловна  
630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 17,  
НИИТО,  
AZaydman@niito.ru