

УДК 616.711-018.3-002-089.22-092.9:615.461](045)

## Морфологічні зміни в хребтових рухових сегментах поперекового відділу хребта кролів після їх стабілізації ригідними імплантатами

Н. В. Дєдх <sup>1</sup>, Л. М. Бенгус <sup>1</sup>, О. А. Левшин <sup>1</sup>, С. Б. Костерін <sup>1</sup>,  
О. О. Барков <sup>1</sup>, В. К. Піонтковський <sup>2</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України», Харків

<sup>2</sup> КЗ «Рівненська обласна клінічна лікарня». Україна

*Rigid implants for spinal fusion are widely used in the clinical practice. However, there are only a few studies that have examined at the tissue level reorganization of structures of the spinal unit in a fusion. Objective: to study the structural organization of the intervertebral discs, vertebrae and facet joints of the lumbar spine rabbits simulated osteochondrosis after rigid fixation. Methods: osteochondrosis modeled by nucleotomy intervertebral disc L<sub>IV</sub>–L<sub>VI</sub> in rabbits using the decompressor, which was introduced via posterolateral approach to the nucleus pulposus zone under CT control. After 6 months 5 animals underwent the stabilization of the L<sub>IV</sub>–L<sub>VI</sub> spinal unit using rigid implants. 3 months after spinal unit stabilization spinal unit rabbits were sacrificed, lumbar spine was examined histologically. Results: stabilization of the lumbar spine at the level of L<sub>IV</sub>–L<sub>VI</sub> rigid segments of the fixing device in rabbits with degeneration of the intervertebral disc has promoted its fibrotization that is considered as the positive impact of this type of fixing. Moderate degeneration of the intervertebral disc found cranial and more pronounced cranial from fixation zone. In the control group of animals recorded progression of dystrophic and destructive changes in the tissues of the disc. With rigid fixation in the bone tissue of the vertebral bodies are expressed osteoporotic changes in comparison to control animals that is caused by a decrease in the load on the vertebral segment. Also revealed the progression of osteoarthritis in the facet joints at the nucleotomy level in animals. Key words: model of disc degeneration, rabbits, rigid fixation, morphology, vertebral motor segments.*

*Ригидные имплантаты для спондилодеза широко используются в клинической практике. Однако имеются лишь единичные исследования, в которых на тканевом уровне рассмотрена перестройка структур позвоночного двигательного сегмента (ПДС) в условиях спондилодеза. Цель: изучить структурную организацию межпозвонковых дисков, тел позвонков и дугоотростчатых суставов поясничного отдела позвоночника кроликов с моделированным остеохондрозом после ригидной фиксации. Методы: остеохондроз моделировали путем нуклеотомии межпозвонкового диска L<sub>IV</sub>–L<sub>VI</sub> кроликов с помощью декомпрессора, который вводили заднебоковым доступом в зону пульпозного ядра под контролем компьютерной томографии. Через 6 мес. у 5 животных выполнили стабилизацию ПДС L<sub>IV</sub>–L<sub>VI</sub> с помощью ригидных имплантатов. Через 3 мес. после стабилизации ПДС кроликов выводили из эксперимента, выделяли поясничный отдел позвоночника и исследовали гистологически. Результаты: стабилизация поясничного отдела позвоночника на уровне L<sub>IV</sub>–L<sub>VI</sub> сегментов ригидным фиксирующим устройством у кроликов с дегенерацией межпозвонкового диска способствовала его фибротизации, что рассмотрено как положительное влияние данного вида фиксации. Умеренная дегенерация межпозвонкового диска отмечена на краниальном, а более выраженная — на каудальном уровне. У животных контрольной группы зафиксировано прогрессирующее дистрофическое и деструктивное изменения в тканях диска. При ригидной фиксации в костной ткани тел позвонков выражены остеопоротические изменения по сравнению с контрольными животными, что обусловлено снижением нагрузки на позвоночные двигательные сегменты. Также выявлено прогрессирующее остеоартроза дугоотростчатых суставов на уровне нуклеотомии у животных. Ключевые слова: модель дегенерации диска, кролики, ригидная фиксация, морфология, позвоночный двигательный сегмент.*

**Ключові слова:** модель дегенерації диска, кролі, ригідна фіксація, морфологія, хребтовий руховий сегмент

## Вступ

Одним із найпоширеніших методів хірургічного лікування поперекового остеохондрозу є спондилодез — операція, спрямована на знерухомлення ураженого сегмента чи відділу хребта. Проте, стабілізуючи уражений хребтовий руховий сегмент (ХРС), спондилодез та ригідні спінальні імплантати призводять до збільшення навантаження на суміжні сегменти і можуть бути причиною порушення структурно-функціональних співвідношень у хребті.

Для випробувань нових методів спондилодезу, а також порівняльної оцінки ригідних і динамічних фіксувальних конструкцій, які використовують у клініці, важливе значення мають експериментальні дослідження на тваринах [1, 2]. На підставі вивчення перебудови тканин ХРС можна оцінити матеріали, які застосовують для спондилодезу: кісткові та біосинтетичні (різновиди кераміки, вуглець тощо) трансплантати, а також імітувати умови, що впливають на кінцевий результат [3, 4].

Ригідні імплантати для спондилодезу широко використовують у клінічній практиці. Проте є лише поодинокі дослідження, де на тканинному рівні розглянуто перебудову складових ХРС в умовах спондилодезу [5].

*Мета роботи:* дослідити структурну організацію міжхребцевих дисків, тіл хребців та дуговідросткових суглобів поперекового відділу хребта кролів із модельованим остеохондрозом після застосування ригідної фіксації.

## Матеріал та методи

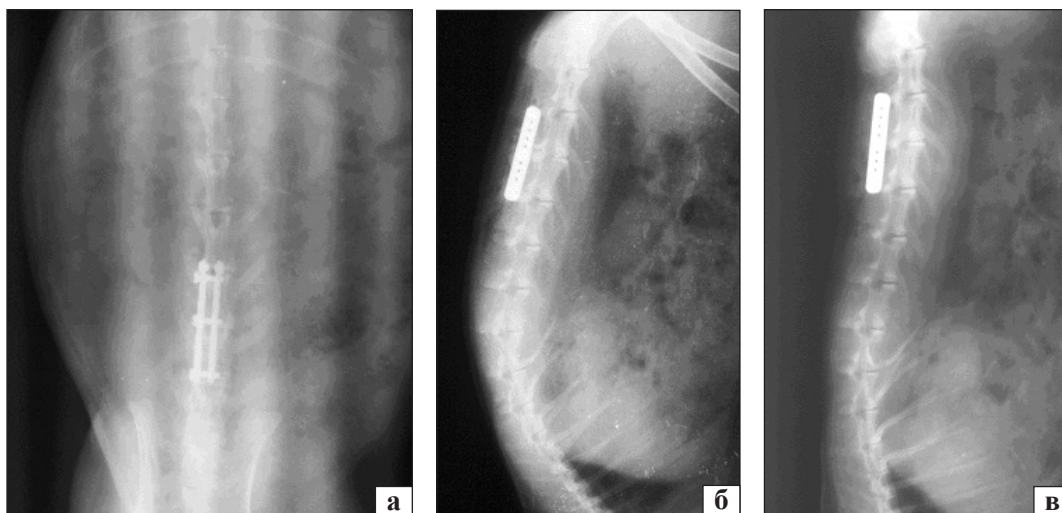
Гістологічне дослідження виконано на 8 кролях, яким моделювали остеохондроз попереко-

вого відділу хребта шляхом нуклеотомії міжхребцевого диска  $L_V-L_{VI}$ . Процедуру денуклеації здійснювали за допомогою декомпресора, який вводили задньобічним доступом у зону драглистого ядра міжхребцевого диска під контролем комп'ютерної томографії.

Через 6 міс. після моделювання дегенерації міжхребцевого диска 5 тваринам виконали полісегментарну стабілізацію поперекового відділу хребта за допомогою ригідних імплантатів. Ригідну фіксацію заднього опорного комплексу хребта здійснювали двома металевими пластинами, які монтували за допомогою гвинтів по обидві боки остистих відростків на рівні  $L_{IV}-L_{VI}$  сегментів (рис. 1). Рухомість після фіксації в ХРС  $L_V-L_{VI}$  була відсутньою.

Контролем були 3 кролі з денуклеацією диска, але без фіксації. Проведення експериментів схвалено комітетом із біоетики ДУ «ПХС ім. проф. М. І. Ситенка НАМН» (протокол № 145 від 06.07.2016) відповідно до міжнародних та державних нормативів [6, 7]. Кролів виводили з експерименту через 3 міс. після стабілізації ХРС шляхом внутрішньовенного передозування кетаміну.

Для дослідження у тварин вилучали поперековий відділ хребта, обробку якого здійснювали за стандартними гістологічними методами [8]. Матеріал фіксували у 10 % нейтральному формаліні, проводили через спирти (від  $70^\circ$  до  $96^\circ$ ), суміш Нікіфорова (1 частка спирту : 1 частка діетилового ефіру) та заливали в целоїдин. Виготовлені сагітальні зрізи (8–10 мкм) забарвлювали гематоксилином Вейгерта та еозином, пікрофуксином за Ван-Гізоном та аналізували за допомогою світлових мікроскопів «AxioStar Plus» та «Olympus BX63».



**Рис. 1.** Рентгенограми після ригідної стабілізації ХРС  $L_{IV}-L_{VI}$ : а) пряма проекція; б) згинання; в) розгинання

## Результати та їх обговорення

Гістологічну характеристику міжхребцевого диска  $L_V-L_{IV}$  у кролів на рівнях нуклеотомії та прилеглих рівнів у різні терміни моделювання деструкції диска детально розглянуто в нашій попередній роботі [9].

*Міжхребцевий диск.* Мікроскопічний аналіз через 6 міс. після нуклеотомії та 3 міс. ригідної фіксації хребта (9 міс. від початку експерименту) показав у міжхребцевому диску  $L_V-L_{VI}$  репаративні та слабко виражені деструктивні зміни.

Зона драглистого ядра після нуклеотомії була заповнена волокнистою сполучною тканиною у вигляді тяжів, які просякали у волокнисте кільце (рис. 2), що свідчить про фібротизацію диска. Серед тяжів сполучної тканини в цій зоні відмічали невеликі осередки деструкції — території без клітин та вузькі щілини різної орієнтації. На ділянках містилися окремі стрічкоподібні проліферати хондроцитів.

Пластини волокнистого кільця внутрішнього відділу диска, прилеглі до зони денуклеації, не мали чітких контурів, на ділянках були розшаровані. Спостерігали формування інтенсивно базофільних зон, що вказувало на кальцифікацію.

У зовнішньому відділі волокнистого кільця з дорзального боку міжхребцевого диска  $L_V-L_{VI}$  розташовувалися стрічкоподібні проліферати гіалінової хрящової тканини серед пластин волокнистого кільця. Відомо, що гіалінова хрящова тканина за своїми біомеханічними характеристиками не здатна витримувати тракційні навантаження, оскільки гіаліновий хрящ має специфічні властивості щодо компресійних навантажень [10]. Однак інші дослідники вважають, що формування сполучної та гіалінової хрящової тканини в дегенеративно зміненому міжхребцевому диску відновлює опороспроможність ХРС та зменшує больовий синдром, що сприяє підвищенню якості життя пацієнтів [11].

Із вентрального боку хребта між пластинами волокнистого кільця міжхребцевого диска  $L_V-L_{VI}$  також містились осередки сполучної тканини, гіалінового хряща та розташовувались дрібні деструктивні щілини.

У тварин контрольної групи в міжхребцевому диску з денуклеацією без фіксації ХРС прогресували дистрофічні та деструктивні зміни. Виявлено порушення пластинчастої організації волокнистого кільця через розшарування та розриви пучків колагенових волокон, низьку густину та нерівномірність розташування фіброхондроцитів

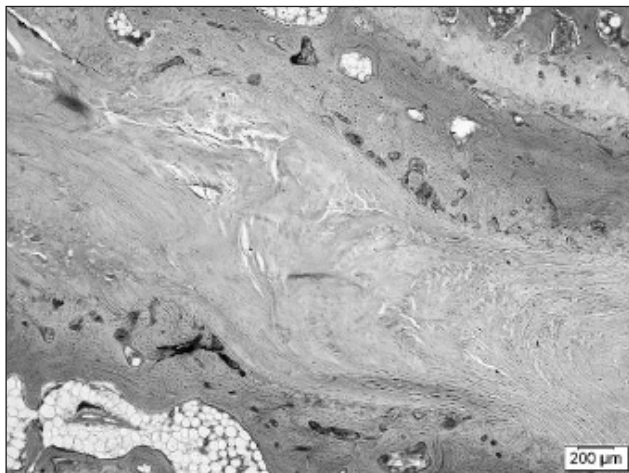
у пластинах, формування великих деструктивних щілин із базофільними краями. Вогнища детриту спостерігали в зоні драглистого ядра поміж поодинокими короткими пучків колагенових волокон, що були нерівномірної товщини з розривами на ділянках, а також у пластинах волокнистого кільця.

У міжхребцевому диску  $L_{IV}-L_V$ , розташованому краніально до травмованого, виявлені помірні порушення структурної організації. У волокнистому кільці відмічено розшарування пучків колагенових волокон у пластинах, деструктивні щілини різного розміру та орієнтації, що було особливо виражено в його проміжному та внутрішньому відділах. У пластинах поміж пучками колагенових волокон виявлені клітини-тіні та території матриксу без клітин.

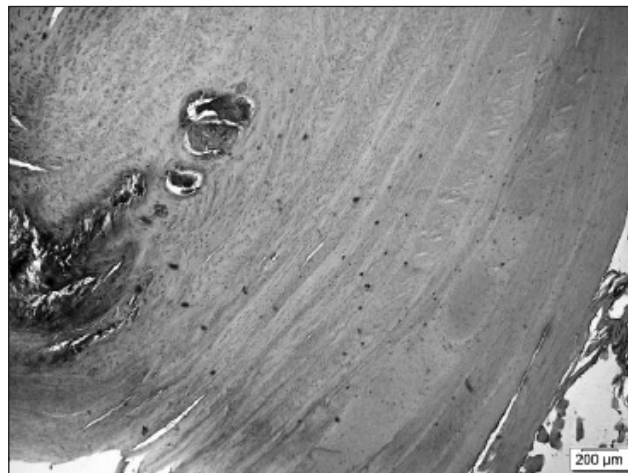
У суміжному ХРС  $L_{III}-L_{IV}$  міжхребцевий диск мав типову будову з диференціацією на драглисте ядро та волокнисте кільце. Клітини драглистого ядра мали невелике округле ядро, а відростки цитоплазми формували синцитієподібну структуру. У волокнистому кільці диска зміни були пов'язані, насамперед, зі збільшенням осередків базофілії волокнистого кільця та розшаруванням пучків колагенових волокон у пластинах проміжного та глибокого шарів.

У каудально розташованому до зони нуклеотомії міжхребцевому диску  $L_{VI}-L_{VII}$  не визначено чіткої диференціації на драглисте ядро та волокнисте кільце. У центральній частині диска поряд із клітинами драглистого ядра відмічені невеликі ділянки сполучної тканини та осередки клітинного некрозу, поблизу яких спостерігали проліферацію хондроцитів. Пластини внутрішнього відділу волокнистого кільця з вентрального боку хребта містили базофільні петрифікати. У пластинах зовнішнього відділу відмічено деструктивні щілини. У деяких ділянках деструкції внутрішнього відділу волокнистого кільця було виявлено судинну інвазію (рис. 3). У міжхребцевих дисках двох кролів спостерігали також незначні порушення структурної організації у вигляді розшарування пучків колагенових волокон у пластинах волокнистого кільця та невеличких деструктивних щілин поміж ними.

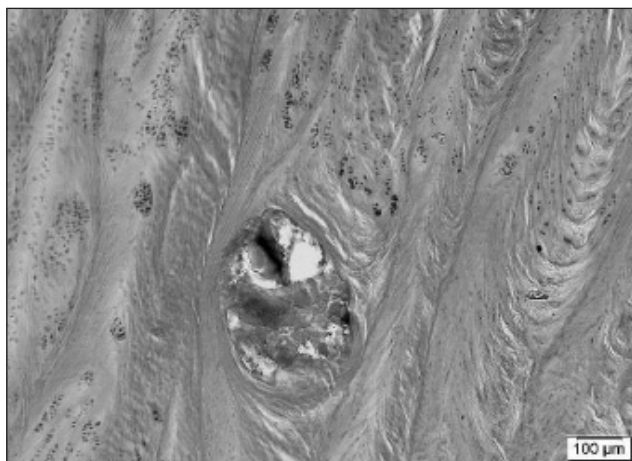
В одного кроля в каудально розташованому від диска з нуклеотомією міжхребцевому диску  $L_{VI}-L_{VII}$  зафіксовано фібротизацію драглистого ядра та гіалінізацію волокнистого кільця, деструктивні щілини без клітинних осередків у крайовій зоні, що свідчить про розвиток дегенеративних змін. Відзначено формування кістоподібних порожнин у внутрішньому відділі волокнистого кільця (рис. 4).



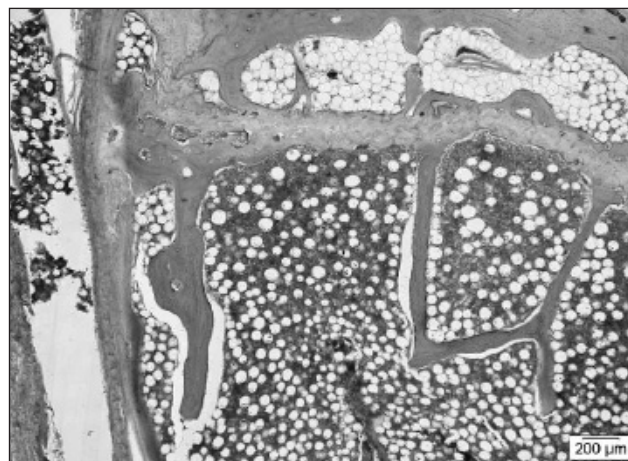
**Рис. 2.** Мікрофото. Фібротизація диска. Розшарування матриксу та деструктивні щілини поміж тяжами сполучної тканини в зоні денуклеації драглистого ядра. Гематоксилін та еозин. Зб. 40



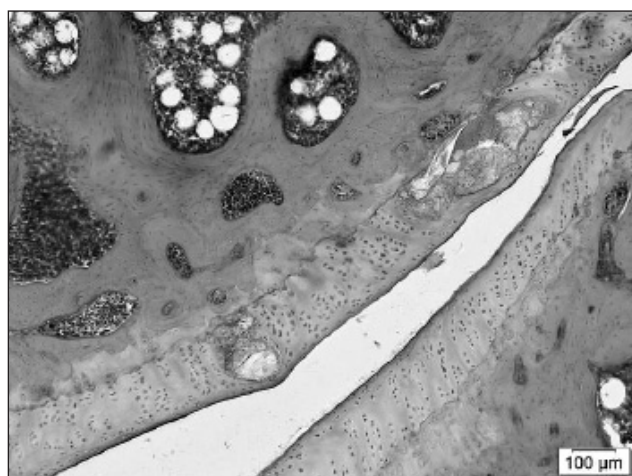
**Рис. 3.** Фрагмент каудального міжхребцевого диска L<sub>VI</sub>-L<sub>VII</sub>. Судинна інвазія у внутрішньому відділі волокнистого кільця. Гематоксилін та еозин. Зб. 40



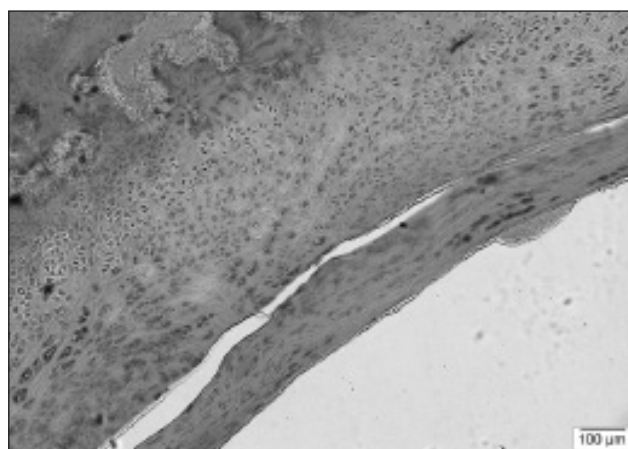
**Рис. 4.** Мікрофото. Кістоподібні порожнини у внутрішньому відділі волокнистого кільця. Проліферація хондроцитів та їх деструкція в ізогенних групах. Гематоксилін та еозин. Зб. 100



**Рис. 5.** Мікрофото. Остеопоротичні прояви в каудальному відділі тіла хребця L<sub>V</sub>. Потоншення, вертикалізація кісткових трабекул, розширення міжтрабекулярних просторів у зоні первинної та вторинної спонгіози. Гематоксилін та еозин. Зб. 40



**Рис. 6.** Мікрофото. Дуговідросткові суглоби ХРС L<sub>V</sub>-L<sub>VI</sub>. Кістоподібні порожнини в суглобовому хрящі. Гематоксилін та еозин. Зб. 100



**Рис. 7.** Мікрофото. Дуговідросткові суглоби краніального сегмента L<sub>IV</sub>-L<sub>V</sub>. Панус на суглобовій поверхні. Порухнення гісто- та цитоархітекτονіки й осередки деструкції хондроцитів суглобового хряща. За Ван-Гізоном. Зб. 100

Поблизу таких порожнин містилися ділянки матриксу без клітин, на відстані виявлено проліферацію хондроцитів, які формували ізогенні групи із 2–20 клітин та стрічкоподібні проліферати. Значна частина хондроцитів ізогенних груп знаходилась на різних стадіях деструкції.

У тварин контрольної групи в означених ділянках каудально та краніально розташованих дисків виявлено аналогічні зміни.

У тілах хребців, розташованих каудально від диска  $L_V$  із нуклеотомією, із дорзального боку хребта в зоні первинної та вторинної спонгіозії відмічено порушення мережі трабекулярної кістки через формування ізольованих, потоншених та вертикально розташованих кісткових трабекул. Також виявлено розширення міжтрабекулярних просторів, площа яких переважала над кістковими трабекулами (рис. 5). Щільність остеоцитів була низькою. Клітини нерівномірно розподілялися на поверхні трабекул. На значних територіях трабекули не були вкриті остеобластами або відмічали сплюснені клітини, що свідчить про їх неактивний стан. Ці структурні зміни кістки вказують на розвиток остеопору [12].

У дорзальному та вентральному відділах тіла хребця  $L_{IV}$  кісткові трабекули формували великопетлясту сітку, їх щільність була зниженою, переважали вертикальні кісткові трабекули над горизонтальними. Виявляли трабекули різної товщини з ниткоподібними ділянками. Зафіксовано фрагментацію трабекул та мікропереломи.

У тілі хребця  $L_{VI}$  також визначено остеопоротичні прояви. Кісткові трабекули були потоншеними, більшість із них по крайовій поверхні не містили остеобластів, спостерігали мікропереломи. Щільність остеоцитів на ділянках була низькою, клітини розташовувалися в розширених лакунах.

У контрольній групі тварин також зафіксовано зниження щільності кісткових трабекул та порушення організації трабекулярної мережі. Проте прояви порушень були значно меншими порівняно з тілами хребців тварин дослідної групи.

*Дуговідросткові суглоби.* У тварин контрольної і дослідної груп дуговідросткові суглоби мали помірні та виражені порушення структурної організації з різними проявами дистрофічних та деструктивних змін. Щільність хондроцитів у матриксі була нерівномірною, відмічено значні території без клітин, пікноз хондроцитів, розширення матриксу на ділянках. Крім того, у двох тварин (40 %) дослідної групи в одному з парних дуговідросткових суглобів ХРС  $L_V$ – $L_{IV}$  виявлено

значні деструктивні зміни — утворення великих кісткоподібних порожнин, заповнених набряковою рідиною та тканинним і клітинним детритом (рис. 6). Базофільна лінія (tide-mark), яка відокремлює кальцифікований хрящ від некальцифікованого, на ділянках була порушеною — потовщеною або відсутньою. В одному випадку зафіксовано формування на поверхні суглобового хряща сполучнотканинного панусу, що є одним із проявів запального процесу. Панус спричинює погіршення трофіки хряща з боку суглобової порожнини та призводить до ерозії суглобової поверхні, що супроводжується формуванням осередків деструкції матриксу (рис. 7).

Дуговідросткові суглоби суміжного з краніальним ХРС  $L_{III}$ – $L_{IV}$  та  $L_{VI}$ – $L_{VII}$  характеризувалися помірними змінами структурної організації.

## Висновки

Застосована стабілізація поперекового відділу хребта на рівні  $L_{IV}$ – $L_{VI}$  ХРС ригідними фіксувальними пристроями в кролів із модельованою шляхом нуклеотомії дегенерацією міжхребцевого диска  $L_V$ – $L_{VI}$  сприяла фібротизації травмованого диска, що порівняно з тваринами контрольної групи, де зафіксовано прогресування дистрофічних та деструктивних змін у тканинах міжхребцевого диска, може бути розглянута як позитивний вплив ригідної фіксації. Помірна дегенерація міжхребцевого диска  $L_{IV}$ – $L_V$  зафіксована на краніальному рівні, а на каудальному ( $L_{VI}$ – $L_{VII}$ ) була більш вираженою. В умовах ригідної фіксації в кістковій тканині тіл хребців виявлені тяжчі остеопоротичні зміни, ніж у контрольних тварин, що може бути пов'язано зі зниженням навантаження на сегменти після застосування цього виду фіксації.

Унаслідок тривалої відсутності рухомості хребтових сегментів та на фоні вираженої дегенерації диска спостерігали прогресування остеоартрозу дуговідросткових суглобів на рівні проведеної нуклеотомії у тварин із використанням ригідної фіксації.

**Конфлікт інтересів.** Автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

## Список літератури

1. Animal models for spinal fusion / I. H. Drespe, G. K. Polzhofer, A. S. Turner, J. N. Grauer // Spine J. — 2005. — Vol. 5, Suppl. 6. — P. 209S–216S. — DOI: 10.1016/j.spinee.2005.02.013.
2. Моделирование спондилодеза у животных (обзор литературы) / В. А. Радченко, А. А. Левшин, Н. В. Дедух, Л. М. Бенгус // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2015. — № 2. — С. 112–119. — DOI: 10.15674/0030-598720152112-119.

3. Дегенеративні зміни суміжних сегментів після стабілізуючих операцій на хребті (огляд літератури) / В. О. Радченко, В. І. Федак, Н. В. Дедух, С. В. Малишкіна // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2009. — № 3. — С. 101–111. — DOI: 10.15674/0030-598720093101-111.
4. Передний спондилодез в експерименте / И. П. Ардашев, В. Т. Подорожная, И. А. Кирилова [и др.] // Хирургия позвоночника. — 2008. — № 1. — С. 66–73.
5. Петренко Д. Е. Морфологические особенности тканей в зоне межтелового спондилодеза при экспериментальном моделировании у крыс / Д. Е. Петренко, Н. А. Ашукина, Г. В. Иванов, А. А. Мезенцев // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2012. — № 4. — С. 45–49. — DOI: 10.15674/0030-59872012445-49.
6. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. — Режим доступу: [http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994\\_137](http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137).
7. Закон України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Стаття 26).
8. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. — М. : Медицина, 1996. — 542 с.
9. Бенгус Л. М. Морфологічні зміни в поперековому відділі хребта кролів зі змодельованою дегенерацією міжхребцевого диска / Л. М. Бенгус, О. А. Левшин // зб. тез доповідей наук.-практ. конф. [«Морфологічні дослідження — виклики сучасності»]. — Суми, 2015. — С. 53–55.
10. Lipscomb H. J. Spinal bone density following spinal fusion / H. J. Lipscomb, S. A. Grubb, R. V. Talmage // Spine. — 1989. — Vol. 14. — P. 477–479.
11. Опыт использования пункционной лазерной реконструкции межпозвонковых дисков при лечении больных с дегенеративными заболеваниями позвоночника / В. А. Басков, О. Н. Древаль, А. В. Басков [и др.] / Нейрохирургия. — 2009. — № 1. — С. 80–83.
12. Экспериментальный остеопороз / В. В. Поворознюк, Н. В. Дедух, Н. В. Григорьева, И. В. Гопкалова. — К., 2012. — 228 с.

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872017121-26>

Стаття надійшла до редакції 18.11.2016

## THE MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE SPINAL MOTOR SEGMENTS OF THE LUMBAR SPINE AFTER RIGID SPINAL STABILIZATION WITH IMPLANTS

N. V. Dedukh<sup>1</sup>, L. M. Bengus<sup>1</sup>, O. A. Levshin<sup>1</sup>, S. B. Kosterin<sup>1</sup>, O. O. Barkov<sup>1</sup>, V. K. Piontkovsky<sup>2</sup><sup>1</sup> Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology, Kharkiv, Ukraine<sup>2</sup> CHI «Rivne Regional Clinical Hospital». Ukraine✉ Ninel Dedukh, Dr. Biol. Sci., Prof.: [dedukh\\_ninel@ukr.net](mailto:dedukh_ninel@ukr.net)