

УДК 617.547:616.711-002-003.8]:616.8-008.6]-092.9](045)

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872025337-46>

Гістологічні зміни в суміжних міжхребцевих дисках у моделі щурів із ушкодженням драглистого ядра та компресією спинномозкового нерва

О. О. Барков, В. Є. Мальцева, О. А. Нікольченко,
З. М. Данищук, К. М. Самойлова

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

The prevalence of decompression and stabilization in the thoracic and lumbar spine (LS) is constantly increasing due to the high incidence of degenerative spine diseases among the working-age population. Aim: To analyze histological changes in rats in which the condition of LS was experimentally reproduced as in patients with spinal nerve compression before and after performing decompression and stabilization of the spine. Methods. The study was conducted using 19 white rats, in which the nucleus pulposus in the intervertebral disc was destroyed at the L_V-L_{VI} level. In Model 1, at the level of the damaged disc, the right spinal nerve was ligated with two double knots of suture material. In Model 2, the L_V and L_{VI} vertebral bodies were bilaterally fixed with two metal staples, pressing them on the root area. Results. No signs of inflammation were detected in any of the rats. Degenerative changes were recorded in the adjacent cranial and caudal intervertebral discs, but there was no significant difference in the scores between the adjacent intervertebral discs, both in the case of a general assessment and separately for the annulus fibrosus and the nucleus pulposus. The values obtained were ≈ 6.5 and ≈ 5 points, respectively, for the model. The sum of the scores for the annulus fibrosus of the degenerative disc of Model 1 was significantly higher compared to both adjacent discs ($p = 0.016$; $p = 0.026$), compared to the corresponding values for the cranial or caudal disc of Model 2, no difference was detected. In both models, Wallerian degeneration was detected in the more distal areas of the nerves. Conclusions: Degenerative changes occur in adjacent discs in a rat model of spinal nerve compression and intervertebral disc nucleus pulposus injury. This provides an opportunity to use this model to study treatments for disc degeneration in patients with neurological complications after spinal decompression and stabilization. Keywords: Intervertebral disc degeneration, rat, spinal nerve compression, degenerative lumbar disease, adjacent segment disease.

Поширення декомпресійно-стабілізуючих втручань на грудно-му та поперековому відділах хребта (ПВХ) постійно зростає через високу частоту дегенеративних захворювань цієї локалізації серед працездатного населення. Мета. Проаналізувати гістологічні зміни в щурів, яким експериментально відтворили стан ПВХ як у пацієнтів із компресією спинномозкових нервів до та внаслідок виконання декомпресійно-стабілізуючих втручань. Методи. Дослідження проведено з використанням 19 білих щурів, яким руйнували драглисте ядро в міжхребцевому диску на рівні L_V-L_{VI} . Модель 1 — на рівні ушкодженого диска перев'язували правобічний спинномозковий нерв двома подвійними вузлами шовного матеріалу. У Моделі 2 тіла хребців L_V та L_{VI} білатерально фіксували двома металевими скобами, притискаючи ними ділянку корінців. Результати. Ознак запалення не виявлено в жодного з щурів. Зафіксовано дегенеративні зміни в суміжних краніальному та каудальному дисках, проте за оцінкою в балах не було значущої різниці між суміжними міжхребцевими дисками, як у разі загальної оцінки, так і окремо для волокнистого кільця та драглистого ядра. Отримані значення дорівнювали $\approx 6,5$ та ≈ 5 балам відповідно моделі. Сума балів для волокнистого кільця ушкодженого диска Моделі 1 була значуще більшою порівняно з обома суміжними дисками ($p = 0,016$; $p = 0,026$), порівняно з відповідними значеннями краніального або каудального диска Моделі 2, різниці не виявлено. У обох моделях зафіксовано у дистальніше розташованих ділянках нервів Валлерову дегенерацію. Висновки. У моделі щурів із компресією спинномозкового нерва й ушкодженням драглистого ядра міжхребцевого диска ПВХ виникають дегенеративні зміни в суміжних дисках, що дає змогу використовувати їх для дослідження методів лікування дегенерації дисків у пацієнтів із неврологічними ускладненнями після декомпресійно-стабілізуючих втручань на хребті.

Ключові слова. Дегенерація міжхребцевого диска, щур, компресія спинномозкового нерва, дегенеративні захворювання поперекового відділу хребта, захворювання суміжних сегментів

Вступ

Проблема профілактики та лікування ускладнень унаслідок декомпресійно-стабілізуючих втручань на грудному та поперековому відділах хребта залишається невирішеною. Транспедикулярна стабілізація хребта є однією зі стандартних методик хірургічного лікування дегенеративних захворювань хребта. Водночас некоректне розташування транспедикулярних гвинтів пов'язане з ризиком неврологічних ускладнень [1]. Нейропатичний біль є одним із них і супроводжується погіршенням якості життя [2]. Серед пацієнтів, які вже мають неврологічні ускладнення через компресію нервів у поперековому відділі хребта (ПВХ) виконання декомпресійно-стабілізуючих втручань (ДСВ) не у всіх приводить до повного одужання [3]. А тривалий нейропатичний біль після спондилодезу пов'язують із його наявністю до хірургічного втручання [4]. Крім того важливим є дослідження стану міжхребцевих дисків суміжних із дегенеративним сегментом через відповідне ускладнення, яке виникає після спондилодезу ПВХ у 5–30 % пацієнтів [5].

Пошук рішень цієї проблеми полягає в розробці нових методик лікування та профілактики таких ускладнень. Тобто, важливим є створення моделей, які дозволять вивчити розвиток змін у хребті у пацієнтів із компресією нервів у ПВХ як до, так і після виконання ДСВ. Це допоможе спланувати подальше використання різних консервативних методик лікування, зокрема біологічної терапії для суміжних сегментів. Тварини, особливо невеликі, такі як миші або щури, є одним із поширених варіантів для моделювання дегенеративних захворювань хребта [6–11]. S. Shehab зі співавторами виявили у щурів із одностороннім перев'язуванням спинномозкового нерва на рівні L_V , що вплив капсаїцину або резиніфератоксину на суміжні нерви L_{III} і L_{VI} зменшив біль і структурні зміни в нервах [12]. Це дає напрямок у створенні моделей тварин для вивчення розвитку структурних змін у хребті аналогічних як у пацієнтів із дегенеративними захворюваннями хребта та нейропатичним болем на ураженому та суміжних рівнях.

Мета: проаналізувати гістологічні зміни в щурів, яким експериментально відтворили стан поперекового відділу хребта як у пацієнтів із компресією спинномозкових нервів до та внаслідок виконання декомпресійно-стабілізуючих втручань.

Матеріал і методи

Виконання експериментального дослідження розглянуто та затверджено комітетом із біоетики та деонтології ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України» (протоколи № 215 від 19.04.2021 р., № 239 від 18.12.2023 р.). Роботу проведено згідно з нормативними та законодавчими вимогами [13, 14].

Тварини

Експеримент виконано з використанням 19 нелінійних білих щурів віком 9–10 місяців (маса тіла 430–675 г) популяції експериментально-біологічної клініки ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України»

Хірургічні втручання

Для знеболення щурів внутрішньом'язово вводили медетомідину гідрохлорид (0,02 мг/кг) та кетамін (50 мг/кг). Тварин фіксували в положенні на спині. Після лапаротомії органи черевної порожнини виводили назовні, обгортали стерильною марлевою серветкою і зрошували фізіологічним розчином. Для доступу до вентральної частини ПВХ обережно відводили м'які тканини і кровоносні судини (здухвинно-поперекові та задню порожнисту вену), захищали їх стерильною марлевою серветкою та встановлювали ретрактори. У міжхребцевому диску на рівні сегментів L_V – L_{VI} за допомогою стоматологічного бора діаметром 1,5 мм створювали стандартний дірчастий дефект із руйнуванням драглистого ядра (глибина 1,5 мм).

Тварин розділили на групи залежно від моделі компресії спинномозкових нервів:

– *Модель 1* ($n = 9$). Між правобічними м'язами поряд з ушкодженим міжхребцевим диском візуалізовували та відокремлювали прилеглий спинномозковий нерв (вентральна гілка поперекових нервів, яка переходить у сидничий нерв) із контролем прояву рухового рефлексу в правій тазовій кінцівці щура. Потім спинномозковий нерв перев'язували 2-ма подвійними вузлами шовного матеріалу, що не розсмоктується (рис. 1, а);

– *Модель 2* ($n = 10$). Для спондилодезу використані дві скоби з неіржавної сталі (медичний степлер Manipler® AZ-35W, 6,9 мм × 4,2 мм, марка 316L) після вкорочення їхніх дужок до 2 мм. У суміжних тілах хребців L_V та L_{VI} за допомогою стоматологічного бора діаметром 1,2 мм створювали чотири стандартні дірчасті дефекти глибиною 2 мм — білатерально по 2 у каудальній частині L_V та краніальній L_{VI} . Потім із викорис-

танням press-fit техніки в дефекти імплантували металеві скоби, притискаючи ними прилеглі спинномозкові нерви (рис. 1, б).

По завершенні хірургічного втручання всім щурам черевну стінку і шкірну рану пошарово зашивали шовним матеріалом, що розсмоктується, та обробляли розчином повідон-йоду (10 %).

У Моделі 1 загинуло 2 щури через 5 та 9 діб після втручання. У моделі 2 під час операції загинули 2 особини, через добу ще 2, через 4 доби ще 2 тварини.

Через 8 тижнів після оперативного втручання 11 щурів виводили з експерименту шляхом декапітації, що було обумовлено необхідністю забору крові для біохімічного дослідження. Фрагменти ПВХ L_1-S_1 видаляли для подальшого гістологічного обстеження.

Гістологічний аналіз

Для гістологічного аналізу виділені фрагменти поперекового відділу хребта L_1-S_1 фіксували у 10 % нейтральному формаліні 5 днів. Після декальцинації у 10 % розчині мурашиної кислоти вирізали 3 фрагменти з міжхребцевими дисками — краніальний ($L_{IV}-L_V$), рівень ушкодження ($L_{IV}-L_V$), каудальний ($L_{VI}-S_1$), розрізаючи по тілам хребців. Після цього зразки зневоднювали в етиловому й ізопропіловому спиртах зростаючої концентрації, просочували в суміші ізопропілового спирту та парафіну, заключали у парафін. За допомогою санного мікротома виготовляли гістологічні зрізи товщиною 6 мкм у корональній площині, які аналізували під світловим мікроскопом BX63. Цифрові знімки отримували за допомогою камери DP73.

Оцінювання дегенеративних змін у трьох міжхребцевих дисках для кожного щура виконували з використанням шкали розробленої А. Lai зі співавт. [15]. Згідно з нею максимальний прояв дегенеративних змін дорівнює 16 балам, а нормальна структура — 0 (табл. 1). На рівні ушкодження драглистого ядра оцінювання не проводили через його відсутність.

Статистичний аналіз

Отримані показники подані як середнє та стандартне відхилення. Їхнє порівняння в межах однієї моделі виконували за допомогою критерію Вілкоксона для пов'язаних вибірок, а для порівняння між моделями використовували U-критерій Манна-Уїтні. Різницю вважали значущою якщо $p < 0,05$. Для виконання аналізу застосовували програму SPSS Statistics 23.

Результати

Модель 1 ($n = 7$)

Краніальний сегмент. У міжхребцевому диску хребтового сегмента розміщеного краніально від ушкодженого диска в зовнішньому відділі волокнистого кільця колагенові волокна були відповідним чином організовані, лише в одного щура (14 %) виявлено порушення. Клітинний склад у зовнішньому відділі складався з фіброхондроцитів, а у внутрішньому — хондроцитів. Щільність клітин була від середньої до високої. Проте в зовнішньому відділі визначали міжволоконні розриви/тріщини у пластинках у половини щурів, а в інших — без структурних змін (рис. 2, ж).

У драглистому ядрі матрикс неоднорідний за забарвленням у всіх тварин крім одного. У 70 % випадків у драглистому ядрі виявляли нотохондральні клітини, а у інших лише хондроцити, у одного щура дегенеративні клітини разом із хондроцитами (рис. 2, г). У щурів, у яких визначали нотохондральні клітини, також зафіксовано хондроцити. Серед ознак дегенерації драглистого ядра виявлено такі: втрату клітин у 42 % випадків, скупчення колагенових волокон — у 57 %, та кальцифікацію в 1 (14 %) (рис. 2, г).

Замикальні пластинки без порушень структури, крім одного щура, у якого вони були кальцифіковані, що поєднувалося з проростанням судин. На цьому рівні хребтового сегмента ознак запалення не встановлено.

Рівень ушкодження. На рівні травмування міжхребцевого диска стоматологічним бором

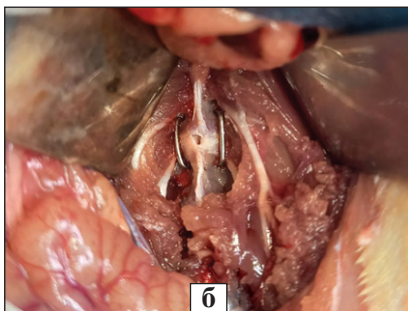


Рис. 1. Ділянка операції після виконання дірчастого дефекту в міжхребцевому диску на рівні сегментів L_4 та L_5 (подвійна стрілка) та компресії прилеглого спинномозкового нерва шляхом його перев'язування шовним матеріалом у щурів, Модель 1 (а) та притискання імплантованими металевими скобами у щурів, Модель 2 (б)

у волокнистому кільці у всіх щурів визначено порушення організації колагенових волокон, у 28 % вони були роз'єднані та розірвані. Зовнішній та внутрішній відділи не мали вираженої різниці в структурі, а серед клітин визначали у половини щурів лише хондроцити, у інших як фіброхондроцити, так і хондроцити (рис. 2, б, и). Щільність клітин була від середньої до низької, у однієї тварини — високою. Серед збережених пластинок зовнішнього відділу волокнистого кільця у 71 % випадків визначали міжволоконні щілини, які поєднувалися у 28 % із фрагментацією пластинок, а у 28 % виявлено наявність детриту.

Драглисте ядро не мало характерної структурної будови через ушкодження бором і фактично було заміщене іншими тканинами: у 57 % — сполучною, іноді зі судинами капілярного типу, із великою кількістю фібробластів, одиничними хондроцитами, а у 33 % — хрящовою з хондроцитами та малими осередками нотохондральних клітин (рис. 2, д). У щурів зі заміщенням драглистого ядра хрящовою тканиною виявляли тріщини в матриксі та детрит поряд із ними. У однієї тварини з 7 (14 %) хрящова тканина в зоні драглистого ядра поєднувалася з новоутвореними осередками кісткової тканини, судинами капілярного типу та детритом. Ознак запалення на цьому рівні хребтового сегмента немає.

Каудальний сегмент. У волокнистому кільці міжхребцевого диска хребтового сегмента каудально від ушкодженого рівня колагенові волокна в 57 % зберігали пластинчасту будову, інші мали ознаки дезорганізації. Клітини, які аналізували, характерні для волокнистого кільця — фіброхондроцити та хондроцити, які розташовувалися поблизу драглистого ядра. Щільність клітин була від середньої до високої. Міжволоконні щілини у пластинках волокнистого кільця виявлено в половини щурів, а у інших цілісність структури збережена (рис. 2, к).

У драглистому ядрі лише в половини щурів визначено нотохондральні клітини, а у інших — лише хондроцити. Нотохондральні клітини часто поєднувалися з хондроцитами. Матрикс драглистого ядра був переважно неоднорідно забарвленим. Серед ознак дегенерації драглистого ядра в 28 % виявлено накопичення колагенових волокон, а у інших присутні ділянки кальцифікації (рис. 2, є).

Замикальні пластинки були цілісні без ознак проростання судин. Запалення не виявлено в жодному з досліджуваних випадків.

На цьому рівні спинномозкові нерви, які утворювали поперекове сплетення були оточені епіневрієм із щільної сполучної тканини. (рис. 3, а, б). У нервових волокнах визначали дегенеративні зміни аксонів у вигляді накопичення аморфних продуктів розпаду та фрагментації аксонів (рис. 3, а). Визначали одиничні Шванівські клітини (рис. 3, б).

Відповідно до кількісного оцінювання дегенеративних змін у міжхребцевих дисках у Моделі 1 у балах не виявлено різниці між краніальним та каудальним суміжними дисками (табл. 1), а середній показник становив $\approx 6,5$ балів. Сума балів для волокнистого кільця ушкодженого диска була значуще більшою порівняно з обома суміжними дисками ($p = 0,016$; $p = 0,026$).

Модель 2 (n = 4).

Краніальний сегмент. Міжхребцевий диск розміщений краніально від ушкодженого сегмента складався з волокнистого кільця і драглистого ядра (рис. 2, а). У волокнистому кільці міжхребцевого диска колагенові волокна зберігали відповідну структурну організацію в 80 % щурів. Фіброхондроцити розміщувалися в зовнішньому та хондроцити — внутрішньому відділі волокнистого кільця. Щільність клітин була середньою. У зовнішньому відділі волокнистого кільця у 40 % випадків виявлено міжволоконні щілини, та розриви волокон у пластинках (рис. 2, л, т).

У драглистому ядрі матрикс мав неоднорідне забарвлення у 60 % щурів, клітинний склад у всіх тварин — нотохордальний, у 40 % із них виявляли також хондроцити (рис. 2, й). Серед дегенеративних ознак визначали в 60 % випадків накопичення колагенових волокон у ділянках. Замикальні пластинки були кальцифіковані у 80 % щурів, проте без проростання судин. Ознак запалення не виявлено в жодній тварини.

Рівень ушкодження. На рівні травмування у 80 % особин визначено ознаки дезорганізації колагенових волокон у волокнистому кільці міжхребцевого диска (рис. 2, м, у). Серед клітин переважали хондроцити та фібробласти. Їхня щільність висока у 60 %, а у інших — середня або низька. У 80 % також виявлено міжволоконні щілини у пластинках волокнистого кільця та втрату пластинчастої структури.

Драглисте ядро не мало характерної структури та було заміщене у 80 % хрящовою тканиною (рис. 2, н, р, рис. 4, а), у одного з цих щурів одночасно виявили сполучну та кісткову тканини (рис. 4, б).

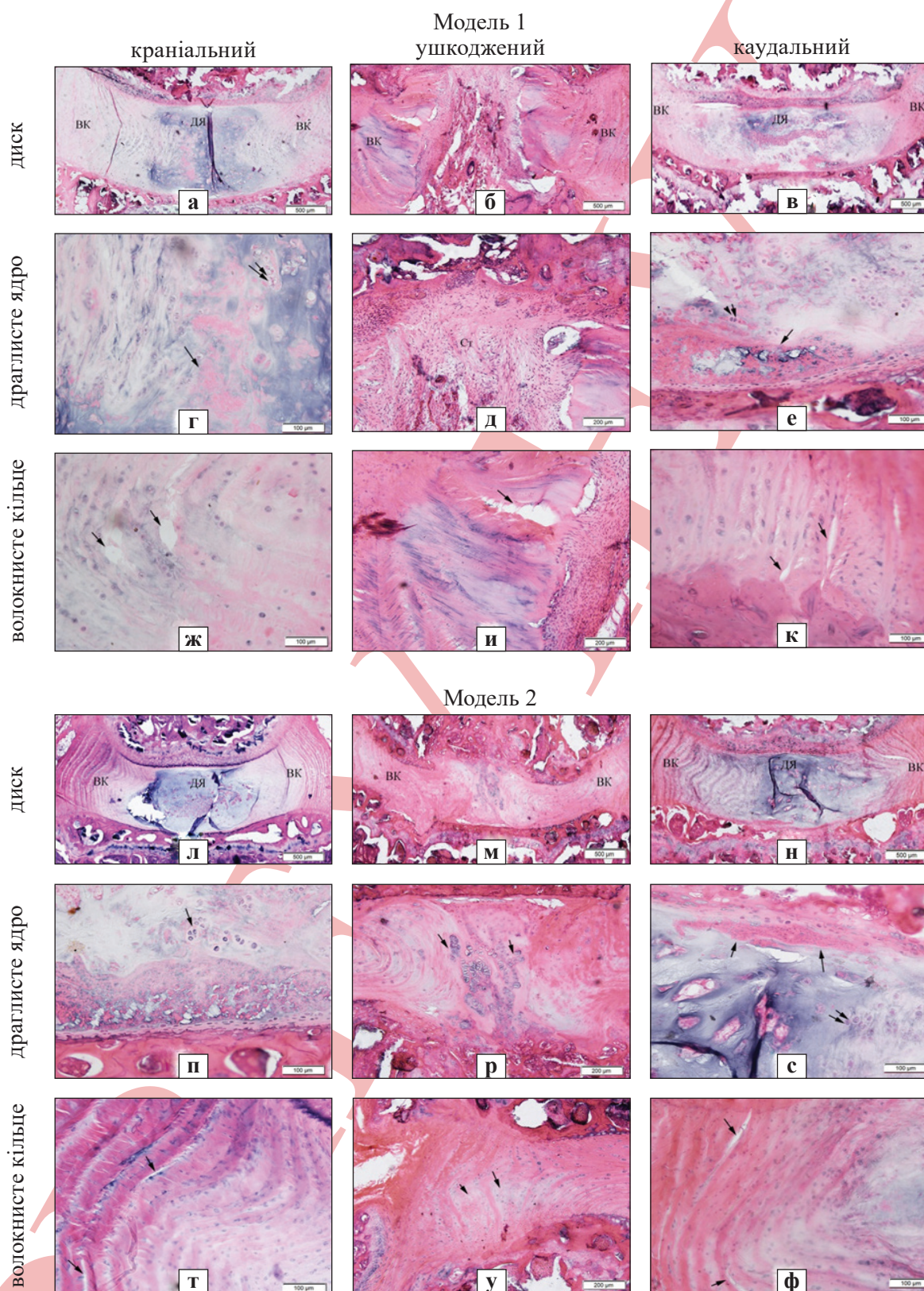


Рис. 2. Структурні особливості міжхребцевих дисків у Моделях 1 та 2 на рівні ушкодження та суміжних (краніально і каудально) із цим хребтовим сегментом. Загальний вигляд структури міжхребцевого диска (а–в, л–н). Заміщення драглистого ядра сполучною тканиною (Ст) у Моделі 1 (б, д) або хрящовою тканиною у Моделі 2 (м) з частковим збереженням структури волокнистого кільця (и, у), порушенням цілісності замикальної пластинки (б, д, м, р). Гіпертрофовані хондроцити (стрілка) (ж, к, т, ф). Скупчення колагенових волокон в драглистому ядрі (стрілка) поряд із кластерами з хондроцитів (стрілки) (г, е, п, с). Позначення: волокнисте кільце (БК), драглисте ядро (ДЯ). Гематоксилін та еозин.

Таблиця

Кількісна оцінка дегенеративних змін у міжхребцевих дисках (у балах) (за A. Lai зі співавт. [15])

Категорія	Модель 1			Модель 2		
	краніальний	ушкоджений	каудальний	краніальний	ушкоджений	каудальний
Драглисте ядро						
Форма	$1,0 \pm 0,6$	—	$1,4 \pm 0,5$	$1,0 \pm 0,0$	—	$0,7 \pm 0,6$
Площа	$0,7 \pm 0,5$	—	$1,6 \pm 0,5$	$0,3 \pm 0,6$	—	$0,7 \pm 0,6$
Кількість клітин	$1,0 \pm 0,8$	—	$1,2 \pm 0,8$	$1,0 \pm 1,0$	—	$1,0 \pm 1,0$
Морфологія клітин	$1,1 \pm 0,7$	—	$1,2 \pm 0,8$	$1,0 \pm 1,0$	—	$1,0 \pm 1,0$
Сума ДЯ	$3,9 \pm 2,2$	—	$5,4 \pm 2,1$ $p1 = 1,000$	$3,3 \pm 2,5$ $p3 = 0,833$	—	$3,3 \pm 2,5$ $p1 = 1,000$ $p3 = 0,250$
Межа «ДЯ — ФК»	$1,6 \pm 0,5$	—	$1,6 \pm 0,9$	$0,7 \pm 0,6$	—	$1,0 \pm 1,0$
Волокнисте кільце						
Ламелярна організація	$0,3 \pm 0,5$	$2,0 \pm 0,0$	$0,5 \pm 0,5$	$0,0 \pm 0,0$	$1,5 \pm 1,0$	$0,0 \pm 0,0$
Тріщини/розриви	$0,7 \pm 0,5$	$1,7 \pm 0,5$	$0,5 \pm 0,5$	$0,3 \pm 0,6$	$1,8 \pm 0,5$	$0,3 \pm 0,6$
Сума ВК	$1,0 \pm 0,8$	$3,7 \pm 0,5$ $p1 = 0,016$ $p2 = 0,026$	$1,0 \pm 1,1$ $p1 = 0,564$	$0,3 \pm 0,6$ $p3 = 0,267$	$3,3 \pm 1,5$ $p1 = 0,157$ $p2 = 0,157$ $p3 = 1,000$	$0,3 \pm 0,6$ $p1 = 1,000$ $p3 = 0,548$
Замикальна пластинка	$0,3 \pm 0,5$	$2,0 \pm 0,0$	$0,5 \pm 0,5$	$1,0 \pm 0,0$	$2,0 \pm 0,0$	$0,3 \pm 0,6$
Сума	$6,7 \pm 1,6$	$5,7 \pm 0,5$	$7,3 \pm 2,9$ $p1 = 1,000$	$5,3 \pm 3,5$ $p3 = 0,517$	$5,3 \pm 1,5$ $p3 = 1,000$	$5,0 \pm 3,0$ $p1 = 0,655$ $p3 = 0,381$

Примітки: p1 — порівняння з відповідним показником диска $L_{IV}-L_V$; p2 — порівняння з відповідним показником диска $L_{VI}-S_1$; p3 — порівняння з відповідними показниками Моделі 1. ДЯ — драглисте ядро, ВК — волокнисте кільце.

У однієї тварини (20 %) визначено лише сполучну тканину в зоні драглистого ядра. У щура з кістковою тканиною у сполучній тканині виявлено судини капілярного типу. Клітини були відповідні типу тканин, у сполучній — фібробласти, у хрящовій — хондроцити, у кістковій — остеобласти й остецити. Замикальні пластинки були кальцифіковані у 60 % тварин, а у інших повністю відсутні. Ознак запалення не виявляли.

У прилеглих до міжхребцевого диска тілах хребців визначали отвори, які залишилися від скоб, встановлених під час хірургічного втручання для стабілізації цього хребтового сегмента. Навколо отворів була сформована кісткова тканина пластинчастої структури. По периметру скоб також визначали хрящову тканину, а на невеликих ділянках — сполучну (рис. 5, а). Структура тіл хребців без ознак порушень. Особливістю було лише те, що з зовнішнього боку тіл хребців виявлено новоутворену сполучну тканину з судинами капілярного типу, а також осередки новоутвореної кісткової губчастої тканини (рис. 5, б).

Спиномозкові нерви на цьому рівні були оточені епіневрієм, що складався з щільної сполучної тканини з фібробластами поміж волокнами

(рис. 3, в). У нервах визначали схожі дегенеративні зміни аксонів, як і у випадку перев'язування ниткою: поміж волокон виявляли аморфні продукти розпаду, фрагментацію волокон, Шванівські клітини траплялися рідко (рис. 3, в, г).

Каудальний сегмент. У волокнистому кільці колагенові волокна у 80 % випадків зберігали нормальну структурну організацію, лише в одного щура (20 %) виявлено ознаки дезорганізації. Клітинний склад також відповідав нормі та складався з фіброхондроцитів і хондроцитів. Щільність клітин була переважно середньою. У 40 % тварин між пластинками волокнистого кільця зафіксовано міжволоконні щілини, а в інших — пластинки цілісні (рис. 2, ф).

У драглистому ядрі матрикс був неоднорідно забарвленим у 40 % особин, у них визначали нотохордальні клітини та хондроцити, а в інших щурів із неоднорідно забарвленим матриксом — хондроцити. Ознаки дегенерації у вигляді накопичення колагенових волокон встановлено у 40 % випадків (рис. 2, с).

Замикальні пластинки були цілісними у 80 % тварин, лише в одній (20 %) — кальцифікована. У всіх щурів проростання судин не зафіксовано.

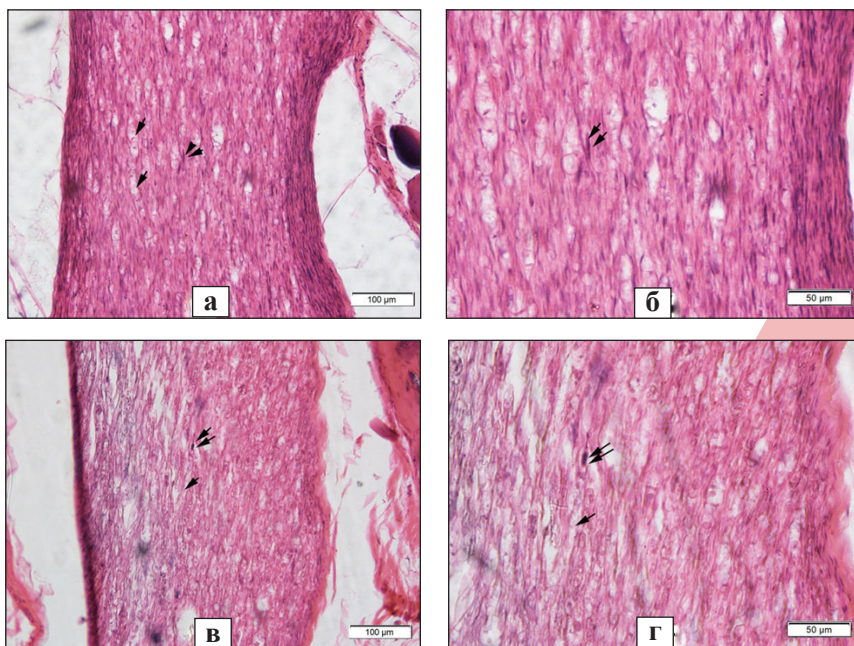


Рис. 3. Спинномозковий нерв дистальніше притиснення скобою корінця нерва або перев'язування нервового стовбура щурів у Моделях 1 (а, б) та 2 (в, г). Дегенеративні зміни аксонів (стрілка) та одиничні Шванівські клітини (стрілки). Гематоксилін та еозин.

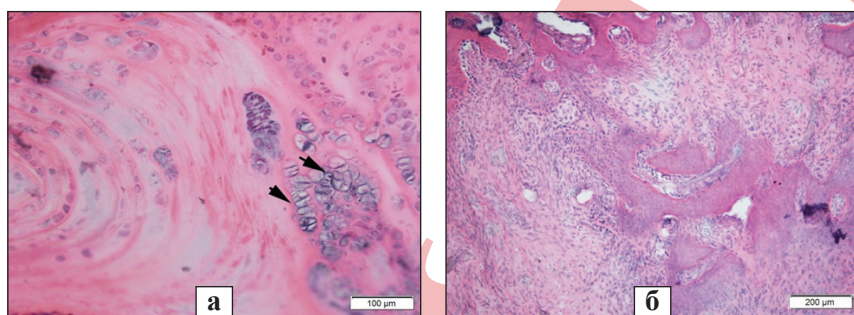


Рис. 4. Структурні особливості формування тканин у ділянці зруйнованого драглистого ядра в щурів Моделі 2. Заміщення драглистого ядра хрящовою тканиною з гіпертрофованими хондроцитами (а) або сполучною тканиною з формуванням кісткової тканини (б). Гематоксилін та еозин.

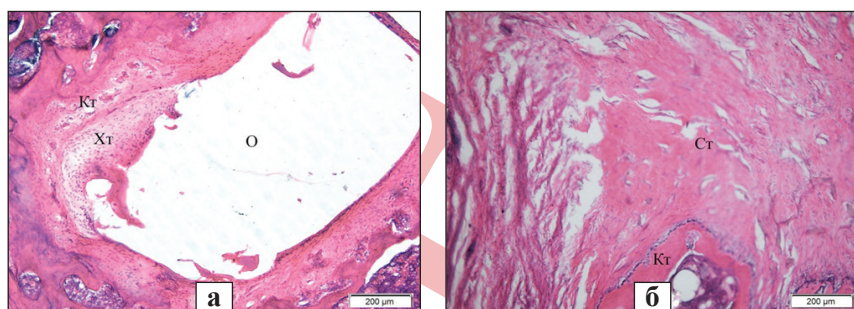


Рис. 5. Фрагмент тіла хребця хребтового сегмента щурів зі зруйнованим драглистим ядром у Моделі 2. Отвір (О) від кінця фіксуючої скоби навколо якого утворилися сполучна (Ст), хрящова тканини (Хт) та кісткова тканина (Кт) (а). Сполучна тканина утворена ззовні тіла хребця та новоутворена кісткова губчаста тканина (б). Гематоксилін та еозин.

Ознак запалення так само не виявлено в жодному випадку.

За оцінкою в балах дегенеративних змін у щурів Моделі 2 не зафіксовано значущої різниці між краніальним і каудальним міжхребцевими дисками, як у разі загальної оцінки, так і окремо для волокнистого кільця та драглистого ядра (табл.). Отримані значення дорівнювали ≈ 5 балам. У разі порівняння значень волокнистого кільця ушкодженого диска з відповідними значеннями для краніальних і каудальних дисків також не виявлено різниці. Між моделями для

всіх дисків у разі кількісної оцінки в балах не встановлено різниці.

Обговорення

У результаті проведеного дослідження ми розробили дві моделі дегенеративних захворювань хребта з компресією спинномозкових нервів і руйнуванням драглистого ядра: 1) без фіксації цього хребтового сегмента та з перев'язуванням спинномозкового нерва у ПВХ ниткою; 2) з фіксацією цього хребтового сегмента двома скобами, які тиснули на корінці відповідних спинномозкових нервів.

Відтворення дегенерації міжхребцевого диска у тварин часто виконується шляхом руйнування драглистого ядра, зокрема його проколюванням [8, 16]. У Моделі 1 ми відтворили дегенерацію міжхребцевого диска та нейропатію у пацієнтів із дегенеративними захворюваннями хребта до виконання декомпресійно-стабілізуєчих втручань, щоб проаналізувати як це впливає на суміжні сегменти. Як відомо, їхній стан є одним із чинників, які впливають на успішність подальших декомпресійно-стабілізуєчих втручань і спондилодезу [17, 18]. У Моделі 2 ми намагалися відтворити ускладнення, викликані притисканням корінців спинномозкових нервів через невірне розміщення транспедикулярних гвинтів під час декомпресійно-стабілізуєчих втручань на рівні $L_{IV}-L_V$ або дистальніше, унаслідок чого пацієнти відчувають нейропатичний біль [1, 2, 19]. Під час виконання притискання/перев'язування нервів ми перевіряли реакцію кінцівки тварин, тим самим підтверджували вірність дій.

У розроблених і відтворених нами моделях дегенерації міжхребцевих дисків із компресією нерва в щурів виявлено розвиток дегенеративних змін у дисках суміжних сегментів у разі кількісної та якісної оцінки. Водночас ми не виявили різниці за шкалою дегенерації [15] між моделями для всіх вивчених міжхребцевих дисків. Проте структурні зміни відрізнялися між моделями в драглистому ядрі міжхребцевого диска хребтового сегмента каудально від рівня ушкодження. Так у Моделі 1 виявляли виразнішу заміну нотохордальних клітин хондроцитами, загибель клітин, накопичення колагенових волокон у матриксі, утворення тріщин, ніж у Моделі 2. У схожому дослідженні на мишах нестабільність викликана резекцією задніх елементів хребтового сегмента ПВХ, що призводило до дегенерації драглистого ядра на рівні ушкодження, проте суміжні сегменти не оцінювали [20]. J. Sun зі співавт. у кролів, яким виконали спондилодез, зафіксували дегенеративні зміни в драглистому ядрі в суміжних сегментах [21]. Виявлені нами зміни можуть бути обумовлені також тим, що проколювання диска в щурів спричиняє підвищення інтерлейкінів у суміжних дисках у перші 14 днів після травми, що свідчить про запалення [11].

Також дегенеративні зміни в суміжних міжхребцевих дисках можуть бути обумовлені порушенням іннервації м'язів унаслідок перев'язування нервового сплетення або стискання корінців спинномозкових нервів. Ще одним чинником може бути порушення функції в корін-

нях спинномозкових нервів, яке виникає через підвищення вмісту інтерлейкінів у прилеглих тканинах через запалення в ушкодженому диску [22]. Це негативно впливає на функцію периферичних нервів у ПВХ щурів. Отже нейропатія може спричиняти міопатію скелетних м'язів у тварин [23]. Раніше ми показали, що розвиток дегенеративних змін у міжхребцевих дисках щурів пов'язаний з атрофічними змінами у м'язах на моделі ішемії паравертебральних м'язів ПВХ [10].

Отож виявлено різницю між моделями на рівні ушкодженого міжхребцевого диска. У тварин з Моделі 1, де не виконували стабілізацію скобами хребтового сегмента з ушкодженим міжхребцевим диском, дегенеративні зміни у волокнистому кільці травмованого диска згідно з бальною оцінкою [15] були більшими порівняно з обома суміжними дисками, чого не виявлено у Моделі 2. Це може свідчити про дію нестабільності на ушкоджений диск. A. J Michalek зі співавт. [7] на моделі проколотого міжхребцевого диска щурів показали зменшення жорсткості диска на 20 % за умов різних навантажень (стискання та кручення), що може свідчити про зниження його здатності протистояти навантаженням. Втрата міцності після проколювання драглистого ядра виявлена і для міжхребцевого диска з померлої людини під час осьового навантаження [24]. Також у щурів Моделі 1, у яких виявлено заміщення хрящовою тканиною драглистого ядра, визначали великі тріщини, чого не було у Моделі 2. На нашу думку, це також може бути обумовлено наявністю нестабільності в Моделі 1 порівняно з Моделлю 2. S. Liu зі співавт. [25] у моделі нестабільності хребтового сегмента поперекового відділу в мишей також зафіксували утворення тріщин у драглистому ядрі.

Ушкодження периферичних нервів шляхом здавлення лігатурою або перев'язування ниткою є досить поширеними під час вивчення дегенерації/регенерації нервів у моделях тварин [26]. Особливістю корінців спинномозкових нервів є тонший епінервій та менший вміст колагенових волокон як порівняти з периферичними нервами, тому вищезазначені дії завдають більшої шкоди [27]. Відомо, що здавлення периферичного нерва призводить до набряку, який спричиняє ушкодження аксонів унаслідок зростання тиску ендоневріальної рідини [26, 27]. У разі перев'язування периферичних нервів у щурів, дистальніше розташовані ділянки нерва зазнають Валлерової дегенерації [27], що ми виявляли в обох моделях. Нами не фіксовано ознак запалення

лення та підвищення кількості макрофагів через 8 тижнів моделювання, що ймовірно пов'язано зі суттєвим зменшенням цих проявів через 2 тижні після механічного ушкодження нервів у гризунів [28].

Висновки

Компресія спинномозкового нерва й ушкодження драглистого ядра міжхребцевого диска поперекового відділу хребта в щурів призводить до дегенеративних змін у суміжних дисках — краниальному та каудальному.

Розроблені моделі щурів можуть бути використані для дослідження методів лікування дегенерації дисків у пацієнтів із неврологічними ускладненнями після декомпресійно-стабілізуючого втручання на хребті.

Конфлікт інтересів. Автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

Перспективи подальших досліджень. Пошук нових методів лікування неврологічних ускладнень після декомпресійно-стабілізуючих втручань на хребті з використанням розроблених моделей

Інформація про фінансування. Дослідження проведено в межах науково-дослідної роботи НАМН України «Удосконалити методи хірургічного лікування хворих із дегенеративно-дистрофічними захворюваннями поперекового відділу хребта з використанням новітніх технологій» (держреєстрація № 0121U111749).

Внесок авторів. Барков О. О. — концепція та дизайн, аналіз даних, написання чернетки статті, затвердження фінального варіанта статті; Нікольченко О. О. — експериментальне моделювання у щурів, затвердження фінального варіанта статті; Самойлова К. М. — експериментальне моделювання у щурів, затвердження фінального варіанта статті; Мальцева В. Є. — гістологічний аналіз, аналіз даних, написання чернетки статті, затвердження фінального варіанта статті; Данишук З. М. — гістологічний аналіз, затвердження фінального варіанта статті.

Список літератури

1. Tarawneh, A. M., & Salem, K. M. (2020). A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials comparing the accuracy and clinical outcome of pedicle screw placement using robot-assisted technology and conventional freehand technique. *Global spine journal*, 11(4), 575–586. <https://doi.org/10.1177/2192568220927713>
2. Cho, J. H., Lee, J. H., Song, K., & Hong, J. (2017). Neuropathic pain after spinal surgery. *Asian spine journal*, 11(4), 642–652. <https://doi.org/10.4184/asj.2017.11.4.642>
3. Gao, S., Li, Z., Li, X., Rudd, S., Wang, H., Gao, Z., Ding, W., & Yang, S. (2023). The treatment effect of posterior lumbar fusion surgery on patients suffering from lumbar disc herniation concurrent with peroneal nerve paralysis. *Frontiers in surgery*, 9. <https://doi.org/10.3389/fsurg.2022.1063528>
4. Cristea, A., Heijnen, B. F., Park, S. W., Krutko, A., Santos, C., Senker, W., Arzoglou, V., & Pereira, P. (2025). Neuropathic pain appears to be the main symptom associated with higher disease burden and lower pain alleviation in degenerative lumbar disease fusion patients. *Brain and spine*, 5, 104224. <https://doi.org/10.1016/j.bas.2025.104224>
5. Cannizzaro, D., Anania, C. D., Safa, A., Zaed, I., Morenghi, M., Riva, M., Tomei, M., Pessina, F., Servadei, F., Ortolina, A., & Fornari, M. (2023). Lumbar adjacent segment degeneration after spinal fusion surgery: A systematic review and meta-analysis. *Journal of neurosurgical sciences*, 67(6). <https://doi.org/10.23736/s0390-5616.22.05891-x>
6. Kang, Y., Liu, C., Wang, M., Wang, C., Yan, Y., & Wang, W. (2021). A novel rat model of interbody fusion based on anterior lumbar corpectomy and fusion (ALCF). *BMC musculoskeletal disorders*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12891-021-04822-4>
7. Michalek, A. J., Funabashi, K. L., & Iatridis, J. C. (2010). Needle puncture injury of the rat intervertebral disc affects torsional and compressive biomechanics differently. *European spine journal*, 19(12), 2110–2116. <https://doi.org/10.1007/s00586-010-1473-z>
8. Wawrose, R. A., Couch, B. K., Dombrowski, M., Chen, S. R., Oyekan, A., Dong, Q., Wang, D., Zhou, C., Chen, J., Modali, K., Johnson, M., Sedor-Schiffhauer, Z., Hitchens, T. K., Jin, T., Bell, K. M., Lee, J. Y., Sowa, G. A., & Vo, N. V. (2022). Percutaneous lumbar annular puncture: A rat model to study intervertebral disc degeneration and pain-related behavior. *JOR Spine*, 5(2), e1202. <https://doi.org/10.1002/jsp2.1202>
9. Glaeser, J. D., Tawackoli, W., Ju, D. G., Yang, J. H., Kanim, L. E. A., Salehi, K., Yu, V., Saidara, E., Vit, J. P., Khnkoyan, Z., NaPier, Z., Stone, L. S., Bae, H. W., & Sheyn, D. (2020). Optimization of a rat lumbar IVD degeneration model for low back pain. *JOR Spine*, 3(2), e1092. <https://doi.org/10.1002/jsp2.1092>
10. Skidanov, A., Ashukina, N., Maltseva, V., Skidanov, M., Danyschuk, Z., & Radchenko, V. (2024). The relationship between structural changes in paraspinal muscles and intervertebral disc and facet joint degeneration in the lumbar spine of rats. *Journal of orthopaedic surgery and research*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s13018-024-04548-8>
11. Li, Y., Dai, C., Wu, B., Yang, L., Yan, X., Liu, T., Chen, J., Zheng, Z., & Peng, B. (2024). Intervertebral disc injury triggers neurogenic inflammation of adjacent healthy discs. *Spine journal*, 24(8), 1527–1537. <https://doi.org/10.1016/j.spinee.2024.04.002>
12. Shehab, S., Hamad, M. I., & Emerald, B. S. (2025). A novel approach to completely alleviate peripheral neuropathic pain in human patients: Insights from preclinical data. *Frontiers in neuroanatomy*, 18. <https://doi.org/10.3389/fnana.2024.1523095>
13. European convention for the protection of vertebrate animals used for research and other scientific purposes. (1986). https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137#Text
14. On the protection of animals from cruelty (2006). <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>
15. Lai, A., Gansau, J., Gullbrand, S. E., Crowley, J., Cunha, C., Dudli, S., Engiles, J. B., Fusellier, M., Goncalves, R. M., Nakashima, D., Okewunmi, J., Pelletier, M., Presciutti, S. M., Schol, J., Takeoka, Y., Yang, S., Yurube, T., Zhang, Y., & Iatridis, J. C. (2021). Development of a standardized histopathology scoring system for intervertebral disc degeneration in rat models: An initiative of the ORS spine section. *JOR Spine*, 4(2), e1150. <https://doi.org/10.1002/jsp2.1150>
16. Tian, T., Wang, H., Li, Z., Yang, S., & Ding, W. (2021). Intervertebral Disc Degeneration Induced by Needle Puncture and Ovariectomy: A Rat Coccygeal Model. *Biomed research international*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/5510124>
17. Kim, J. Y., Ryu, D. S., Paik, H. K., Ahn, S. S., Kang, M. S., Kim, K. H., Park, J. Y., Chin, D. K., Kim, K. S., Cho, Y. E., & Kuh, S. U. (2016). Paraspinal muscle, facet joint, and disc problems: risk factors for adjacent segment degeneration after lumbar fusion. *Spine journal*, 16(7), 867–875. <https://doi.org/10.1016/j.spinee.2016.03.010>
18. Lau, K. K., Samartzis, D., To, N. S., Harada, G. K., An, H. S., & Wong, A. Y. (2021). Demographic, surgical, and radiographic risk factors for symptomatic adjacent segment disease after lumbar fusion. *Journal of Bone and joint surgery*, 103(15), 1438–1450. <https://doi.org/10.2106/jbjs.20.00408>
19. O'Brien, J. R. (2017). Nerve Injury in Lateral Lumbar

- Interbody Fusion. *Spine*, 42, S24. <https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000002034>
20. Oichi, T., Taniguchi, Y., Soma, K., Chang, S. H., Yano, F., Tanaka, S., & Saito, T. (2018). A Mouse Intervertebral Disc Degeneration Model by Surgically Induced Instability. *Spine*, 43(10), E557–E564. <https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000002427>
 21. Sun, J., Chen, F., Wei, X., & Ou, Y. (2024). Establishment of a Rabbit Model of Adjacent Intervertebral Disk Degeneration After Lumbar Fusion and Fixation and Evaluation of Autophagy Factor Expression in Nucleus Pulposus Cells. *Orthopedics*, 47(4), e167–e173. <https://doi.org/10.3928/01477447-20240424-04>
 22. Özakıy, C. A., Cavanaugh, J. M., Asik, I., DeLeo, J. A., & Weinstein, J. N. (2002). Dorsal root sensitivity to interleukin-1 beta, interleukin-6 and tumor necrosis factor in rats. *European spine journal*, 11(5), 467–475. <https://doi.org/10.1007/s00586-002-0430-x>
 23. Jensen, V. F. H., Molck, A.-M., Soeborg, H., Nowak, J., Chapman, M., Lykkesfeldt, J., & Bogh, I. B. (2018). Proximal neuropathy and associated skeletal muscle changes resembling denervation atrophy in hindlimbs of chronic hypoglycaemic rats. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 122(1), 165–175. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12870>
 24. Chow, N., Sinopoli, S. I., Whittal, M. C., Bednar, D. A., & Gregory, D. E. (2025). An investigation of the mechanism of adjacent segment disease in a porcine spine model. *Clinical biomechanics*, 122. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiomech.2025.106441>
 25. Liu, S., Sun, Y., Dong, J., & Bian, Q. (2021). A mouse model of lumbar spine instability. *Journal of visualized experiments*, 2021(170). <https://doi.org/10.3791/61722>
 26. Dubový, P. (2011). Wallerian degeneration and peripheral nerve conditions for both axonal regeneration and neuropathic pain induction. *Annals of anatomy*, 193(4), 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2011.02.011>
 27. Klusáková, I., & Dubový, P. (2009). Experimental models of peripheral neuropathic pain based on traumatic nerve injuries - An anatomical perspective. *Annals of anatomy*, 191(3), 248–259. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2009.02.007>
 28. Mueller, M., Leonhard, C., Wacker, K., Ringelstein, E. B., Okabe, M., Hickey, W. F., & Kiefer, R. (2003). Macrophage response to peripheral nerve injury: The quantitative contribution of resident and hematogenous macrophages. *Laboratory investigation*, 83(2), 175–185. <https://doi.org/10.1097/01.LAB.0000056993.28149.BF>

Стаття надійшла до редакції 03.07.2025	Отримано після рецензування 04.08.2025	Прийнято до друку 07.08.2025
---	---	---------------------------------

HISTOLOGICAL CHANGES IN ADJACENT INTERVERTEBRAL DISCS IN A RAT MODEL OF NUCLEUS PULPOSUS INJURY AND SPINAL NERVE COMPRESSION

O. O. Barkov, V. Ye. Maltseva, O. A. Nikolchenko, Z. M. Danyshchuk, K. M. Samoylova

Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkiv

- ✉ Oleksandr Barkov, MD, PhD in Traumatology and Orthopaedics: a.barkov.79@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-2161-416X>
- ✉ Valentyna Maltseva, Phd in Biol. Sci.: maltseva.val.ev@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-9184-0536>
- ✉ Olga Nikolchenko, PhD in Biol. Sci.: o_nicolchenko@ukr.net; <https://orcid.org/0000-0001-9808-9485>
- ✉ Zinayda Danyshchuk, MD: zinada1962@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-2968-3821>
- ✉ Kateryna Samoylova: samoylova_e@ukr.net; <https://orcid.org/0000-0003-1806-3467>