

PARTICULARITĂȚILE MORFOPATOLOGICE ALE PROCESELOR DEGENERATIV–DISTROFICE DIN SEGMENTUL INTERVERTEBRAL LOMBAR

COCIUG Adrian

Dr. șt. med., conf. univ, cercetător științific Laboratorul de inginerie tisulară și culturi celulare,
medic Banca de țesuturi și celule umane

Actualitatea și importanța problemei abordate

- Afecțiunile degenerativ-distrofice ale coloanei vertebrale la om sunt destul de frecvente. În 90% din cazuri se manifestă prin dereglări ale sistemului nervos periferic, cu tendință de creștere la persoanele de vîrstă tînă, apte de muncă [Епифанов В.А. Остеохондроз позвоночника, 2004, 5–6 с., Попелянский Я.Ю. Болезни периферической нервной системы. М.: Медицина, 1989.–462с., Пульбере П.В. Диагностика и лечение дегенеративных заболеваний позвоночника 1984; 3–4 с.].
- Conform ultimelor date ale centrului Național de Statistică a Sănătății Publice din SUA, circa 26–32 % din populația de vîrstă a doua își limitează activitatea din cauza durerilor în regiunea toraco-lombară a coloanei vertebrale muncă [Попелянский Я.Ю. Болезни периферической нервной системы. М.: Медицина, 1989.–462 с.].

❑ Unele aspecte epidemiologice: la vârsta de 60 de ani, incidența poate fi de 80%; lombalgia este a doua cauză, după răceală, care determină prezentarea la medic [Battie M.C., Videman T., Parent E. Lumbar Disc Degeneration: Epidemiology and Genetic Influences. Spine. 2004; 29:2679–2690.].

Prevalența durerii cronice la populația generală este de 10–20%, 1–2% primesc tratament în spital [Videman T., Battie M.C., Ripatti S., Gill K., Manninen H., Kaprio J. Determinants of the progression in lumbar degeneration: a 5-year follow-up study of adult male monozygotic twins. Spine 2006, 31:671–678.].

Cervicalgia și lombalgia afectează aproximativ 70–95% din populație, la o anumită perioadă a vieții. În LBP, incidența anuală este de 5%, prevalența la 1 an indică 20–45%, iar prevalența în decursul vieții – 60–80% [Chan D., Song Y., Sham P., Cheung K.M. Genetics of disc degeneration. Eur Spine J 2006, 15 (Supl 3):S317-25. , Kalichman L., Hunter D.J. The genetics of intervertebral disc degeneration. Familial predisposition and heritability estimation. Joint Bone Spine 2008, 75:383–387.].

Scopul studiului

Scopul cercetării – evaluarea consecutivității afectării degenerativ-distrofice a discului intervertebral lombar cu stadializarea histopatologică și aprecierea modificărilor biologice (histologice și imunohistochimice) produse la nivelul segmentelor vertebrale compromise.

Obiectivele cercetării:

1. Evidențierea concordanței dintre histologia modificărilor degenerative ale discurilor intervertebrale lombare și schimbările imagistice RMN conform stadializării după Modic.
2. Determinarea gradului și consecutivității afectării degenerativ-distrofice a discului și elementelor segmentelor intervertebrale lombare.

3. Stadializarea histopatologică a schimbărilor degenerativ-distrofice ale discurilor intervertebrale lombare colorate cu hematoxelin-eozină și picrofuxină.

4. Examinarea histologică a segmentelor intervertebrale lombare (lamelele terminale, ligamentele longitudinale anterioare și posterioare, ligamentul flav) după vârste, prelevate în cursul intervențiilor chirurgicale efectuate la bolnavii din lotul de studiu și cadavre.

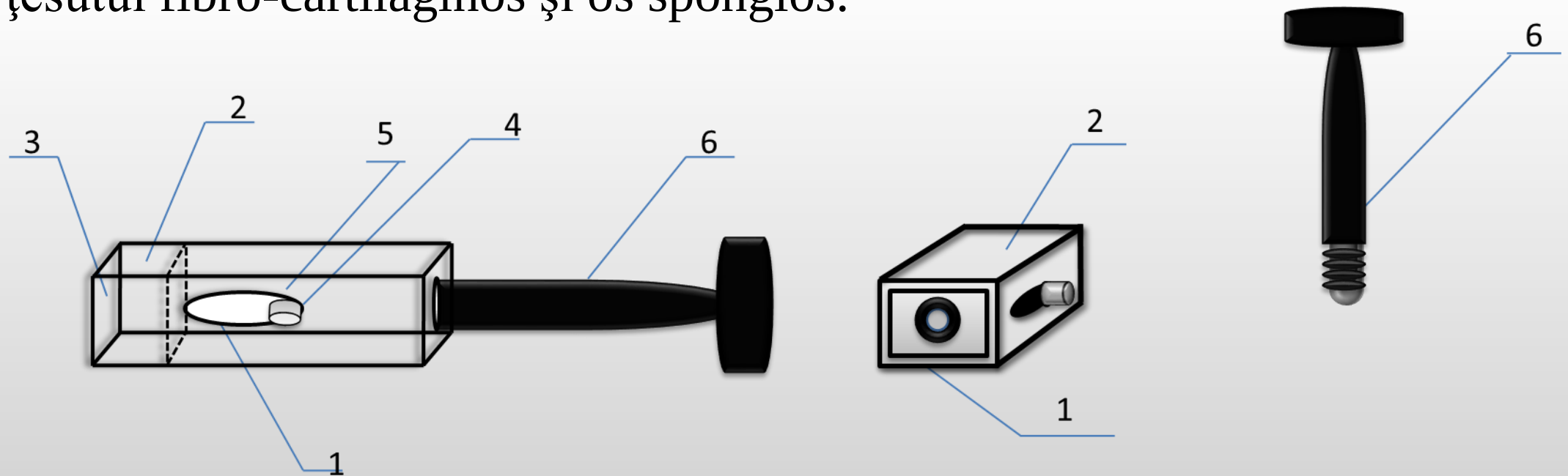
5. Prezența unor corelații între aspectele histologice degenerativ-distrofice ale discurilor intervertebrale și arterele vertebrale lombare colorate imunohistochimic cu CD34.

6. Identificarea celulelor participante la manifestările inflamatorii în arterele vertebrale afectate aterosclerotic, colorate imunohistochimic cu CD68 și MCT și dezorganizarea fibrilară prin colorarea cu orceină și impregnarea argentică.

Inovația științifică a rezultatelor obținute

- ❑ Sa efectuat studiu imunohistochimic cu CD34 al endoteliului peretelui vascular al arterelor vertebrale în Republica Moldova care reprezintă o corelație dintre schimbările endoteliului arterelor vertebrale și degenerescența discului intervertebral lombar fapt ce ar atrage atenția asupra soluționării schimbărilor discirculatorii în disc.

❑ A fost elaborat și implementat în practică mai multe brevet de invenție: Dispozitiv pentru secționarea țesuturilor biologice. MD 867 (13)Y, A61B 10/02 (2006.01). Cererea depusă 2014.08.01. BOPI, nr. 1/2015, p.44. Permite prelevarea țesutului discal din toate straturile, permițând o examinare mai adecvată a schimbărilor degenerative din țesutul fibro-cartilaginos și os spongios.



❑ S-a identificat prezența celulelor blastice în formele histopatologice incipiente și medii ce indică o tendință de regenerare, cu formarea insulițelor de elemente celulare noi.

- ❑ Formele avansate de degenerescență intradiscală au un caracter ireversibil, deoarece tot țesutul discal este înlocuit cu țesut conjunctiv cu calcificate solitare.

Material și metode de studiu

- ❑ Studiul histologic a fost realizat pe materialul tisular, recoltat din disc prin biopsiile materialului postoperator, speci­menele fiind colectate de la 87 pacienți cu vârsta cuprinsă între 18 și 89 ani pe parcursul anilor 2008-2012. Cercetarea a fost efectuată în cadrul clinicii Catedrei de Ortopedie și Traumatologie a USMF „Nicolae Testemițanu” – secția vertebrologie.

❑ Studiul imunohistochimic ale arterelor vertebrale lombare a fost efectuat pe un eșantion de 20 cazuri L1 până la L5 (100 artere vertebrale lombare) și discurile intervertebrale L1–L5 la acest nivel, prelevate din Spitalul Clinic Municipal „Sf. Treime” 2010-2012, și examinate în Centrul de Angiogeneză din Timișoara.

❑ Examenul RMN a efectuat la 173 bolnavi în Centrul Diagnostic German cu 1,5 și 3 Tesla, clasificând modificările de la nivelul discului intervertebral lombar și platourilor vertebrale în trei tipuri majore, conform stadializării Modic.

□ Cei 173 pacienți au fost repartizați în două loturi: lotul I cuprinde 86 de pacienți ($49,7 \pm 3,80\%$) cu durere lombară de etiologie discală, tratați exclusiv conservator; lotul II – 87 de pacienți ($50,29 \pm 3,80\%$), a caror hernie lombară a fost sancționată chirurgical.

Repartizarea pacienților din loturile de cercetare în funcție de nivelul afectării

Nivelul afectat	L_1 $n_1 = 86$		L_2 $n_2 = 87$		P
	Abs.	$P_1 \pm ES_1(\%)$	Abs.	$P_2 \pm ES_2(\%)$	
$L_1 - L_2$	-	-	-	-	
$L_2 - L_3$	-	-	3	$3,4 \pm 1,94$	>0.05
$L_3 - L_4$	12	$14,0 \pm 3.74$	8	$9,2 \pm 3,09$	>0.05
$L_4 - L_5$	40	$46,5 \pm 5.38$	46	$52,9 \pm 5,35$	>0.05
$L_5 - S_1$	34	$39,5 \pm 5.27$	30	$34,5 \pm 5,09$	>0.05

Repartizarea pacienților după sexe

Sex	n₁=86		n₂=87		P
	Abs.	P₁± ES₁(%)	Abs.	P₂± ES₂(%)	
masculin	31	36,0±5.18	42	48,3±5.36	>0.05
femenin	55	64,0±5.18	45	51,7±5.36	>0.05

*P>0,05

Repartizarea pacienților după categoriile de vîrstă.

Categoriile de vîrstă (ani)	n ₁ =86		n ₂ =87		P
	Abs.	P ₁ ± ES ₁ (%)	Abs.	P ₂ ± ES ₂ (%)	
Pîna la 20	-		7	8,04±1,07	<0.01
21-30	5	5,8±2.52	14	16,09±3,94	<0.05
31-40	6	7,0±2.75	23	26,43±4,73	<0.001
41-50	26	30,2±4.95	24	27,58±4,79	>0.05
51-60	35	40,7±5.29	14	16,09±3,94	<0.001
61-70	12	14,0±3.74	3	3,44±1,94	<0.05
Mai mult de 71	2	2,3±1.61	2	2,29±1,61	>0.05

Vîrsta medie în lotul I =50.7±1.22 ani, în lotul II =40,1±1,41 ani (p<0.001)

RMN în stadializarea schimbărilor degenerativ–distrofice și a herniei de disc lombare

Obiectivul acestui studiu a fost remarcarea schimbărilor degenerative și a herniei de disc lombare la pacienții cu acuze clinice ce susțin acest diagnostic și stadializarea lor în raport cu clasificarea Modic.

Pe examinarea RMN am urmărit semnele degenerării discale, modificările degenerative osoase, în raport cu ligamentul longitudinal posterior, conflictul disco-radicular, spațiul intervertebral și semnele de artroză discală.

Distribuirea cazurilor lotului de studiu dupa tipul modificarilor evidentiata de RMN.

Modificări le	Imagini IRM	Total n =173		Lotul I n=86		Lotul II n=87
		Abs.	P± ES(%)	grupa A	grupa B	
TIPUL I	Hiposemnal în T ₁ Hipersemnal în T ₂	41	(23,69±3,23 %)	23 (13,29±2,58%)	10 ** (5,78±1,78%)	8 ## (62±1,59 %)
TIPUL II	Hipersemnal în T ₁ și un semnal izointens sau ușor Hiperintens în T ₂	55	(31,72±3,54 %)	25 (14,45±2,67%)	10 ** (5,78±1,77%)	20 ## (11,56±2,43%)
TIPUL III	Hiposemnal atât în T ₁ cât și în T ₂	77	(44,51±3,78 %)	-	18 ** (10,40±2,32%)	59 ### (4,10±3,60 %)

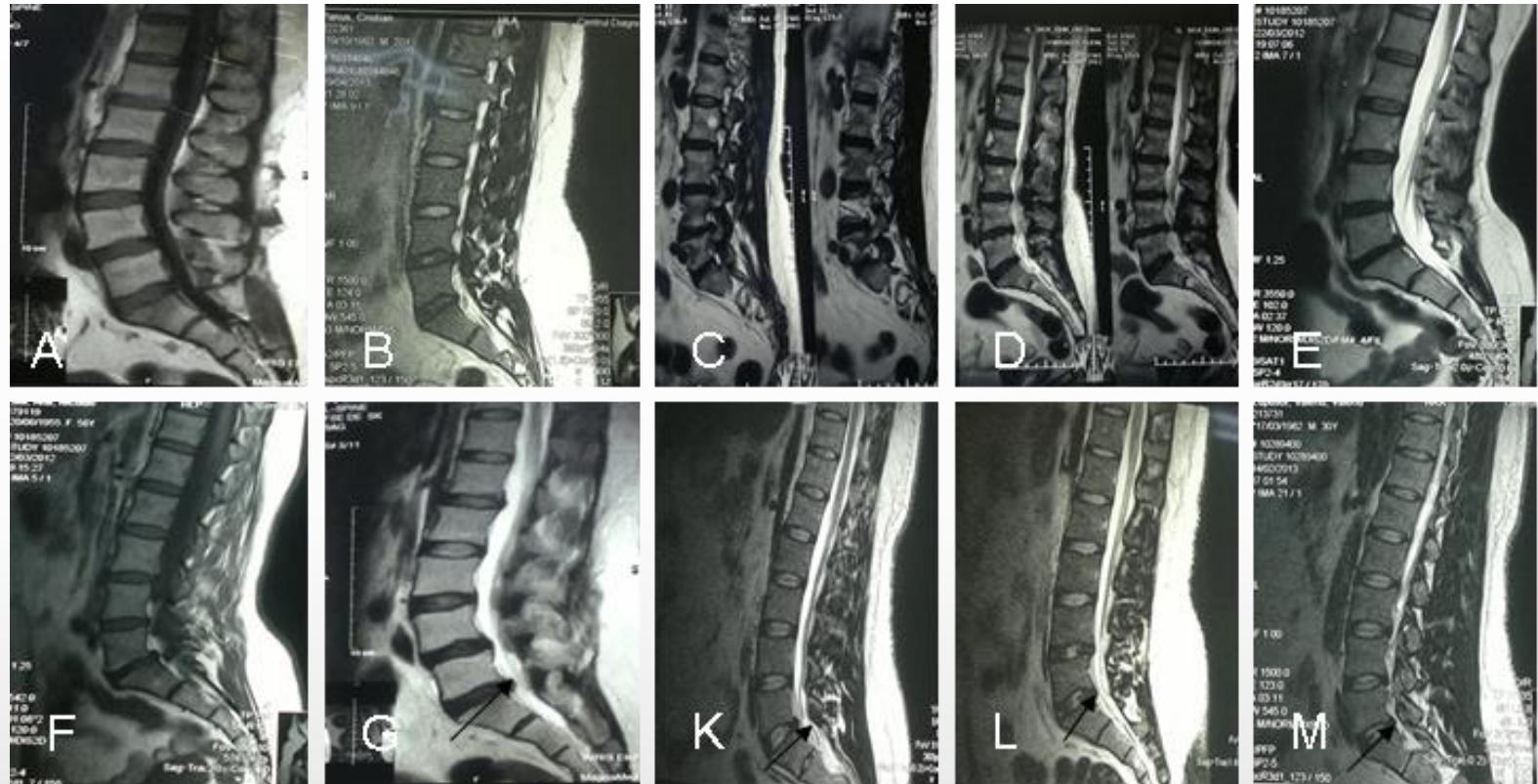
** P<0,05

P<0,05

P<0,01

Reprezentarea clișeurilor RMN și evidențierea modificărilor conform stadializării Modic la pacienții din loturile de studio

A. Pacientul A , 55 ani, corespund (41 persoane ($23,69 \pm 3,23$ %)), cu modificări de: a) tip I hipersemnal în T1 și un semnal izointens sau ușor hiperintens în T2 la nivelul discurilor L4–L5; b) osteofit la nivelul corpului vertebral 5, IRM.



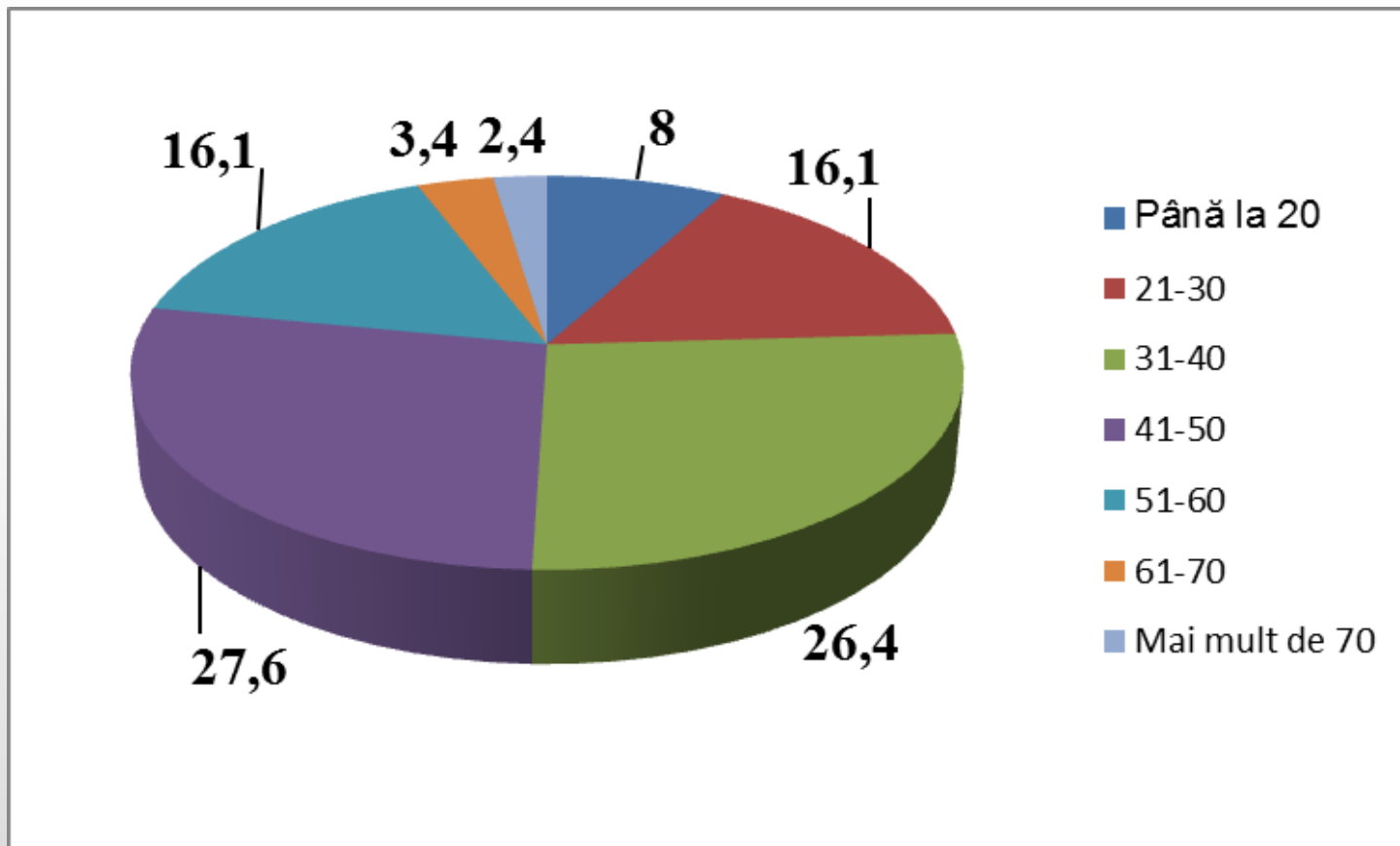
B, C, D, E, F. Pacienții E, F, G, H, J, de 56, 58, 61, 47, 45 ani, corespund (55 pacienți ($31,72 \pm 3,54$ %)), cu modificări de tip II hipersemnal în T1 și un semnal izointens sau ușor hiperintens în T2 în discurile intervertebrale L5, protruzie în ligamentul longitudinal posterior, RMN.

G, K, L, M. Pacienții B, C, D, L 71, 69, 65, 62 ani, corespund (77 pacienți ($44,51 \pm 3,78$ %)), cu modificări de tip III hiposemnal atât în T1 cât și în T2, a) la nivelul discurilor L5–S1, cu: a) semne de protruzie și extinterea ligamentului longitudinal posterior; b) scăderea înălțimii discurilor, RMN.

Studierea histologică a segmentului intervertebral lombar

Studiul histopatologic a urmărit analiza parametrilor de evaluare morfologică a elementelor segmentelor intervertebrale studiate, – de **evaluare macroscopică** (dimensiunea conținutului sacului hernial și aspectul macroscopic) și de **evaluare microscopică** (tipul histopatologic, modificările morfologice la nivelul nucleului pulpos și inelului fibros, modificările morfologice la nivelul lamelelor terminale, aspectul microscopic al marginilor corpurilor vertebrale și starea fibrilară a ligamentelor).

Structura lotului LII în funcție de grupele de vârstă (ani) (%).



Repartizarea pacienților după sancțiunile operatorii de prelevare

Tipul operației	Abs.	P±ES(%)
Ilde	42	48,3±5,36
Hlde	17	19,5±4,26
Led	1	1,1±1,12
Mde	11	12,6±3,56
De	10	11,5±3,42
Flaved	6	6,9±2,72
Total	87	100,0

Din tabel se evidențiază un număr sporit (42; 48,3±5,36 %) de intervenții chirurgicale de tip interlamendissectomie, ceea ce sugerează un abord operator mai accesiv și de scurtă durată, favorabil pentru pacient.

Rezultatele investigației histologice a discului intervertebral lombar

Histologic, 10 pacienți ($11,49 \pm 3,42\%$) aveau forme **incipiente de degenerescență** a discului intervertebral, cu aspecte de degenerescență mixoidă, central condroblaste cu condrocite, 32 pacienți ($36,78 \pm 4,32\%$) – forme **medii de degenerescență** a discului intervertebral, în care s-au depistat: țesut discal fibrozat, cu zone de edem interfibrilar; țesut cartilaginos discal cu condrocite în condroblaste, aspect papilar, zone hemoragice și zone de hialinizare. 45 de pacienți ($51,72 \pm 5,36\%$), cu vîrsta după 60 ani, aveau forme **avansate de degenerescență** a discului intervertebral, în care s-au determinat: cartilaj discal hialinizat, calcificări intradiscale sau zone de osificare, infiltrat limfocitar.

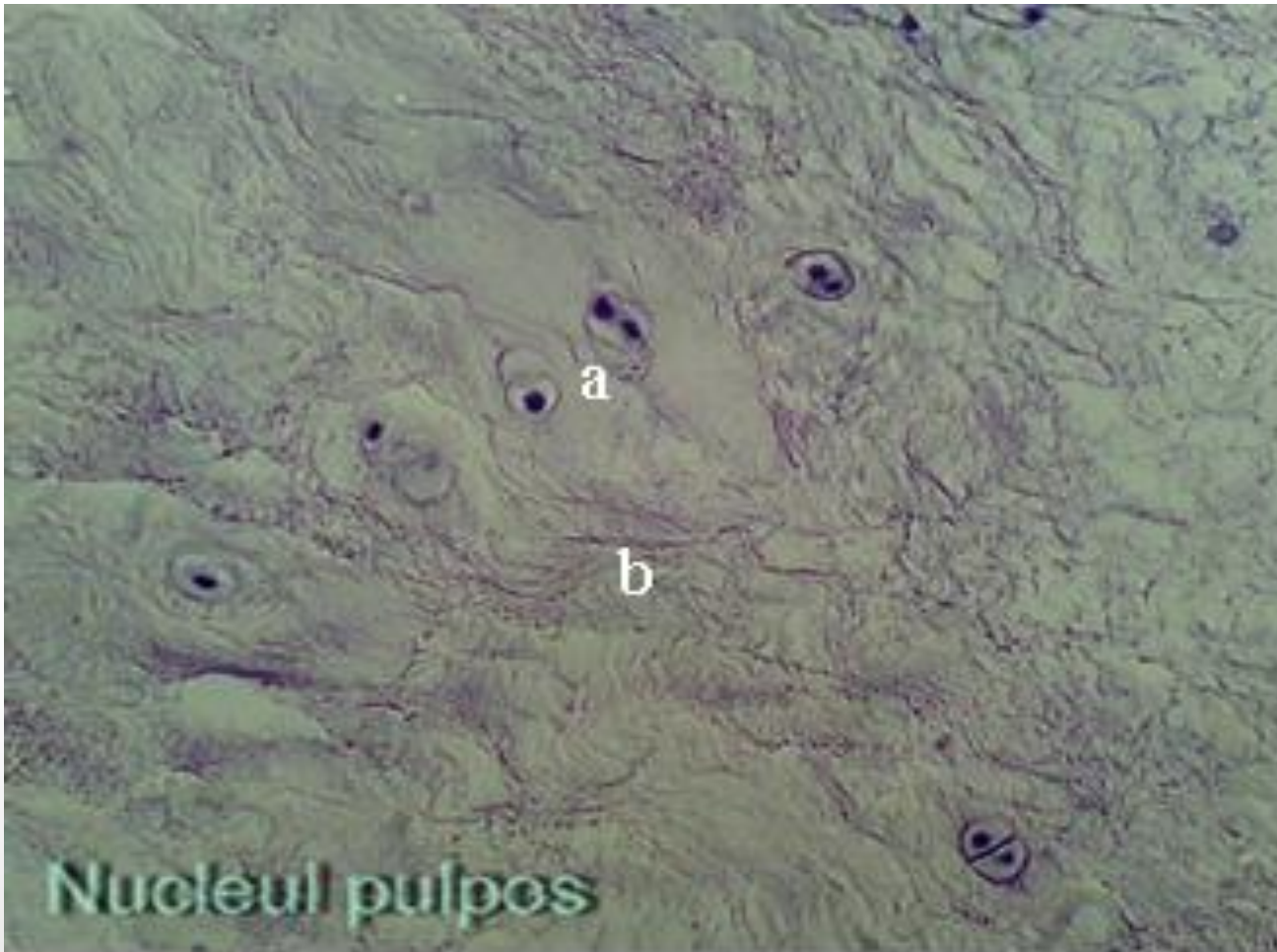


Fig. 3.3. Conglomerate fibrilare în nucleul pulpos: a) insulițe de țesut nemodificat cu condrocite la mijloc; b) sectoare de fibrilare cu epuizarea elementelor structurale ale condrocitelor; hematoxelin–eozină x 90. (Pacientul L., 28 ani).

La persoanele tinere, care suferă de osteocondroză lombară cu dureri acute, histologic (10 pacienți ($11,49 \pm 3,42\%$)) nucleul pulpos (figura 3.3.) dispune de o structură fibrilară, cu stromă conjunctivală dezorganizată, conglomerate fibrilare (b) ce înconjoară sectoarele normale (a).

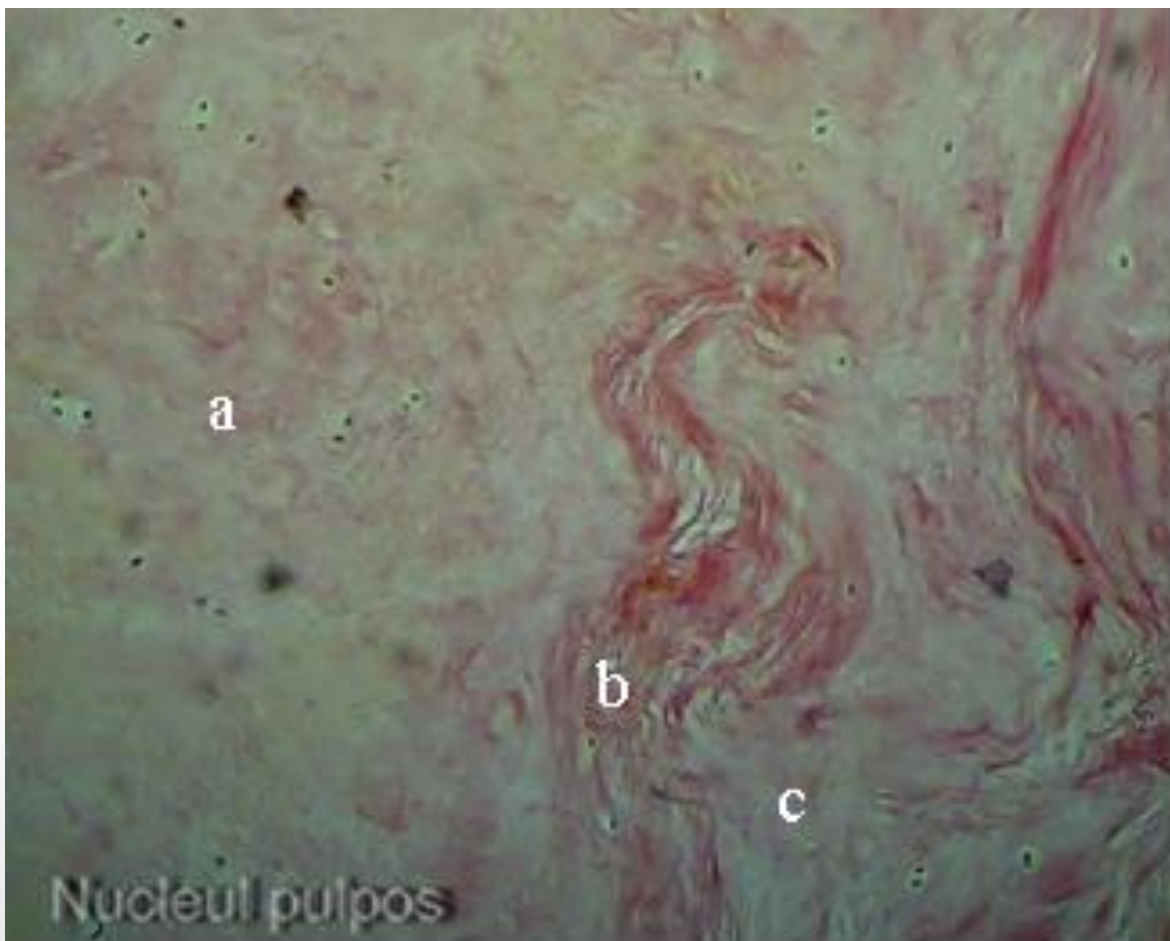


Fig. 3.4. Nucleu pulpos cu defibrilarea vădită a fibrelor colagene, fragmentare dezorganizată a arhitectonicii tisulare cu fibrozare (c), conglomerate fibrilare cu condrocite solitare (a), edem interstițial (b); picrofuxină x 90. (Pacienta S., 65 ani).

La vîrstele mai înaintate (32 pacienți ($36,78 \pm 4,32\%$)), în nucleul pulpos se formează conglomerate fibrilare cu condrocite solitare (a), defibrilarea vădită a fibrelor colagene, fragmentare dezorganizată a arhitectonicii tisulare cu fibrozare (c), edem interstițial (b).

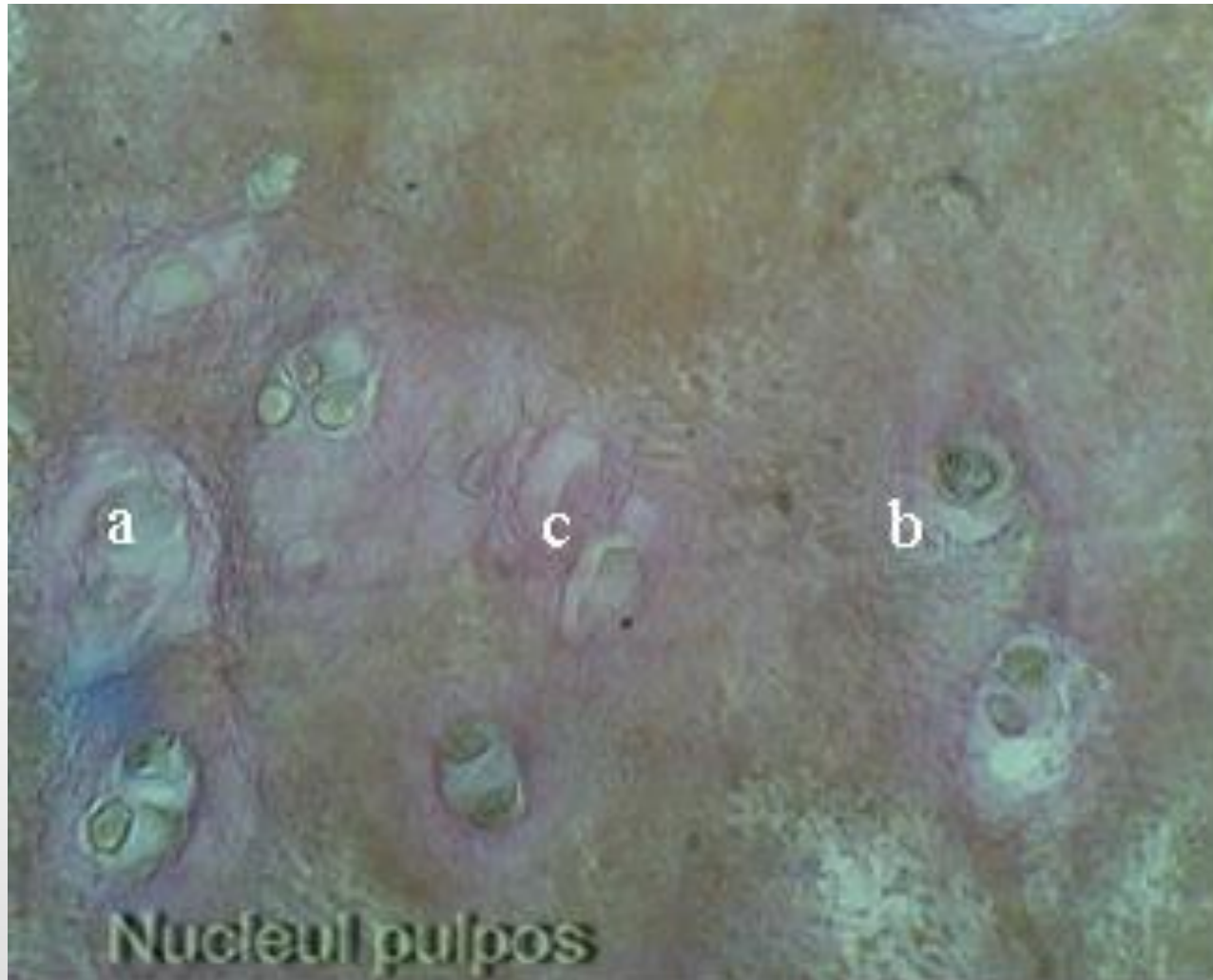


Fig. 3.5. Nucleu pulpos cu cariolizarea condrociteor (a), hialinizare pericelulară (b), celulă tânără atrofiată (c); picrofuxină, x140. (Pacienta S., 68 ani).

Condrocitele, în marea majoritate, sunt supuse schimbărilor degenerativ–distrofice, cu dispariția conturului celular, nucleeele sunt cariolizate, deplasate periferic, pericelular hialinizate, iar celulele tinere practic lipsesc.

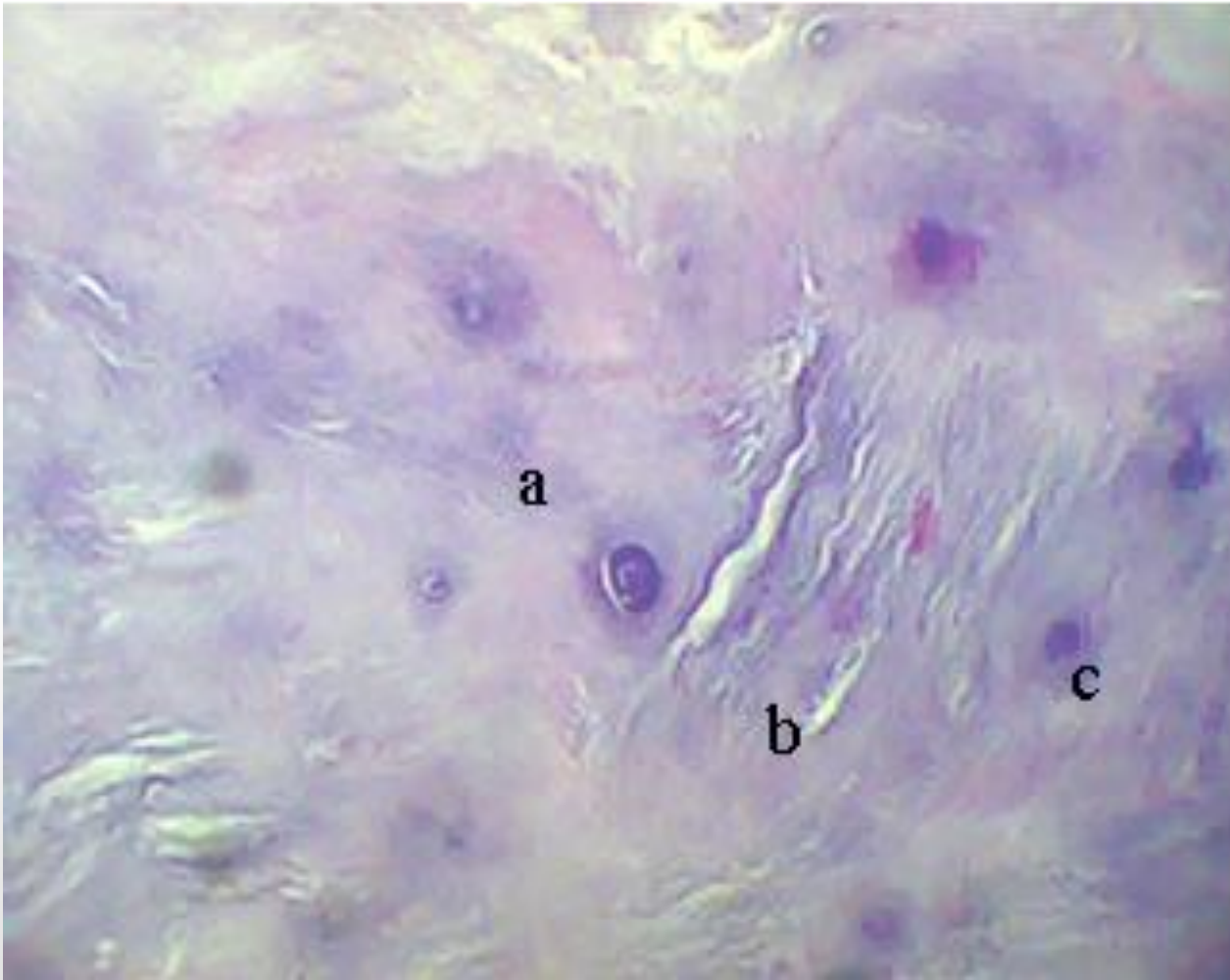


Fig. 3.7. Inel fibros cu fisurare (a), calcinate interstițiale (b), condrocite lizate (c); hematoxin–eozină x140. (Pacientul R., 62 de ani).

Inelul fibros (figura 3.6) în stadiile avansate suportă dezorganizare structurală neomogenă (a), sunt epuizate elementele celulare (b), îngroșarea fibrelor colagene, schimbări în membrana condrocitelor, cu dispariția conturului (c), nucleeele sunt supuse cariopicnozei și cariolizei(b).

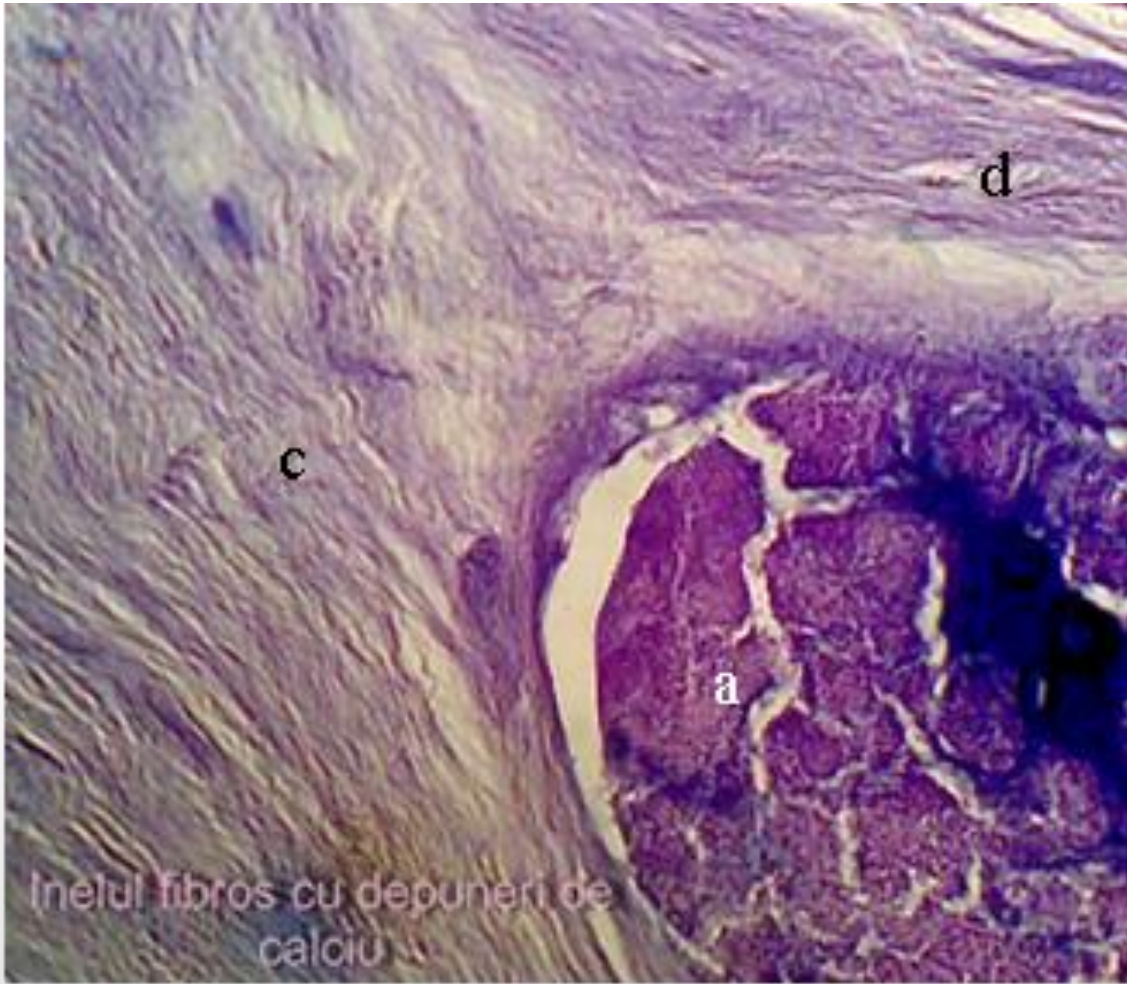


Fig. 3.8. Inel fibros cu depuneri de calciu (a), țesut conjunctiv hialinizat (b), structură fibrilară dezorganizată (c), condrocite atrofiate (d); hematoxelină–eozină x 140. (Pacienta K., 72 de ani).

La persoanele în vârstă schimbările degenerative devin mai profunde (45 de pacienți ($51,72 \pm 5,36\%$)) și depunerea calciului ocupă un areal mai vast (a), periferic fiind bine delimitat de țesut conjunctiv hialinizat (b), înconjurat de structură fibrilară dezorganizată (c), cu atrofierea și dispariția condrocitelor(d).

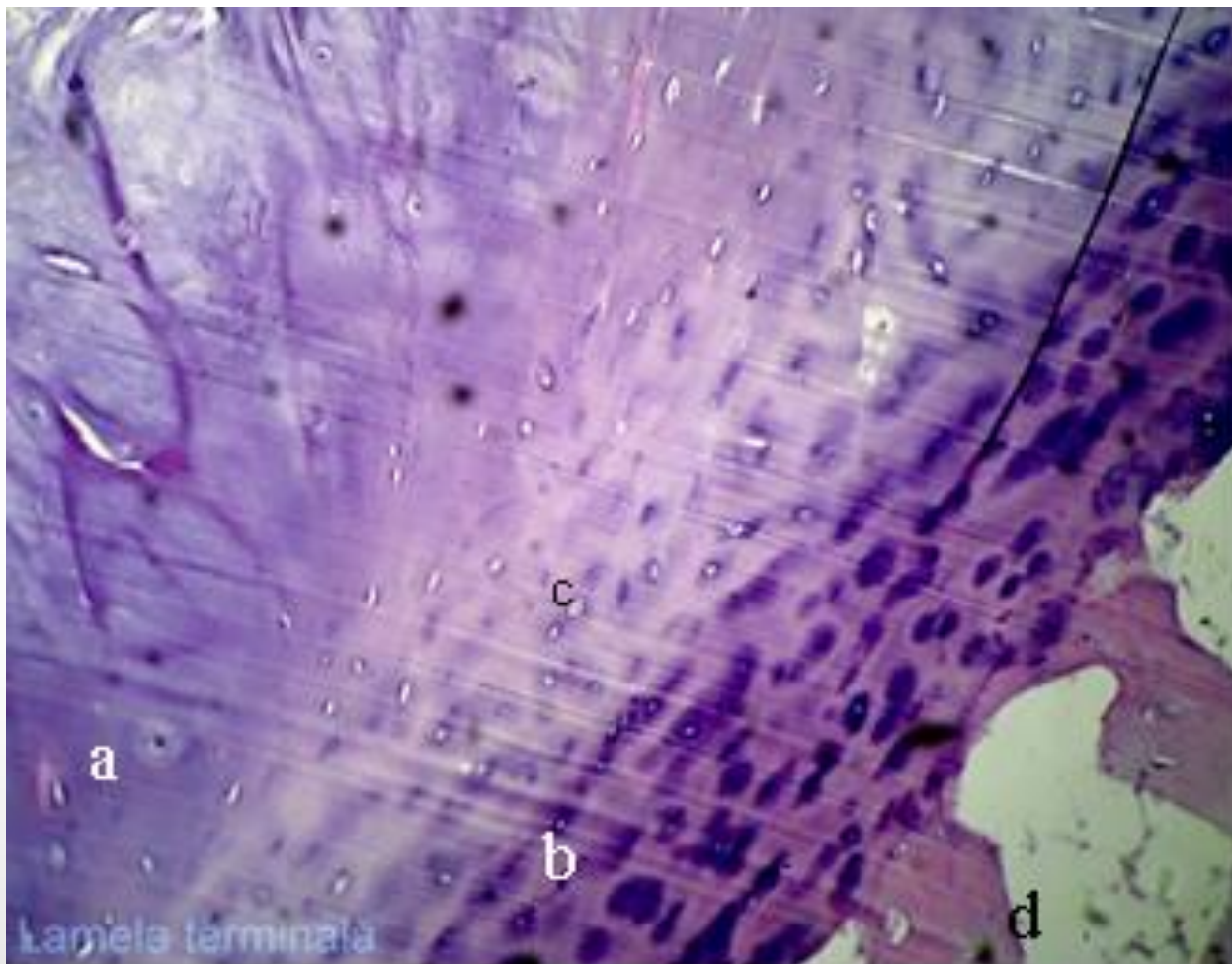


Fig. 3.9. Lamelă terminală cu strat sticlos (a), substanță intercelulară bazofilă (b), nucleu pulpos (c), trabeculele țesutului osos spongios (d); hematoxin–eozină x140. (Pacientul N., 25 ani).

În normă la tineri, lamelele terminale conțin un strat sticlos fin (a), cu condrocite bine conturate, înconjurată de substanță intercelulară bazofilă (b). Aceste plăcuțe delimitează nucleul pulpos (c) de țesutul osos (d) al corpurilor vertebrale.

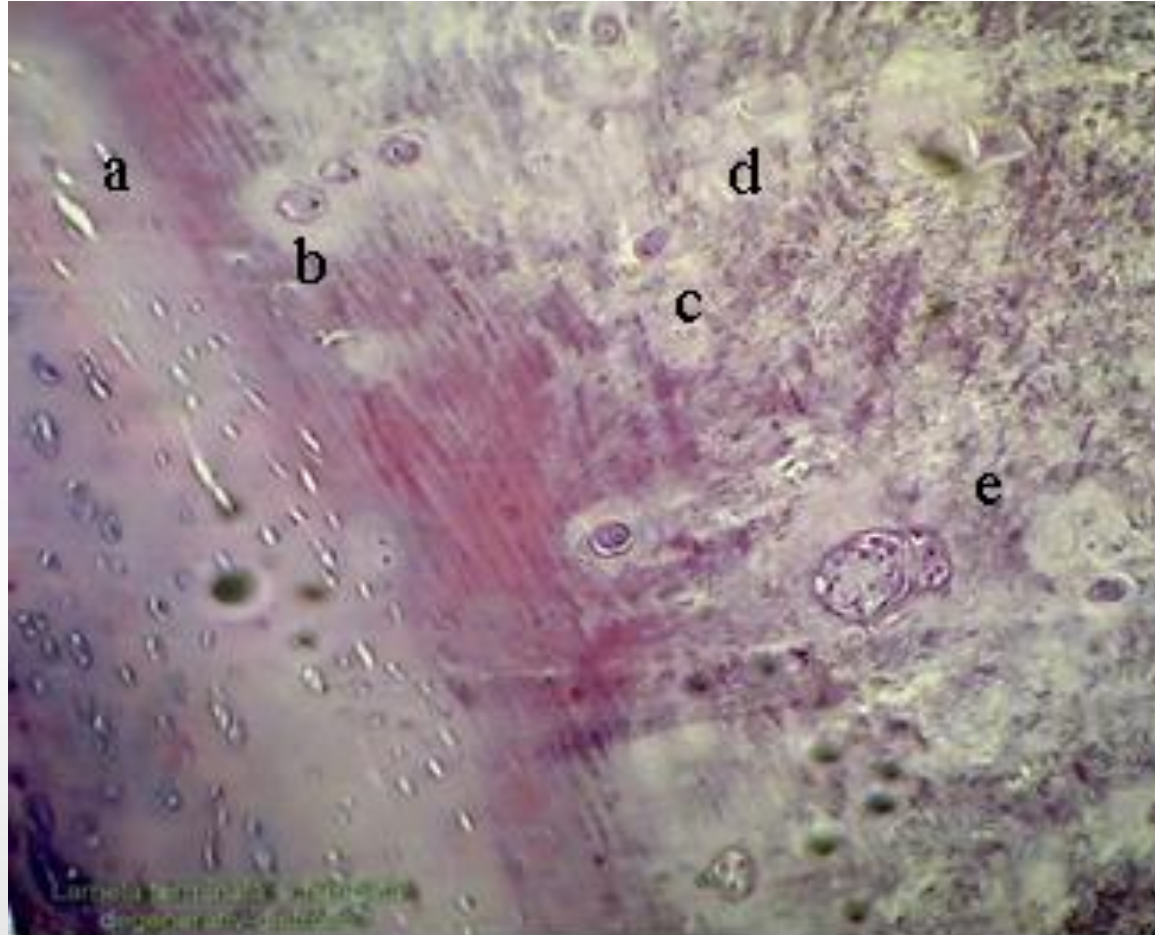


Fig. 3.11. Lamelă terminală: lacune acelulare (a), condrocite cariolizate (b), substanță intercelulară tumefiată (c), condrocitele nucleului pulpos – cariolizate (d), celulele blastice lipsesc, substanța intercelulară – tumefiată și granulată (e); picrofuxină x 140. (Pacientul M., 83 ani).

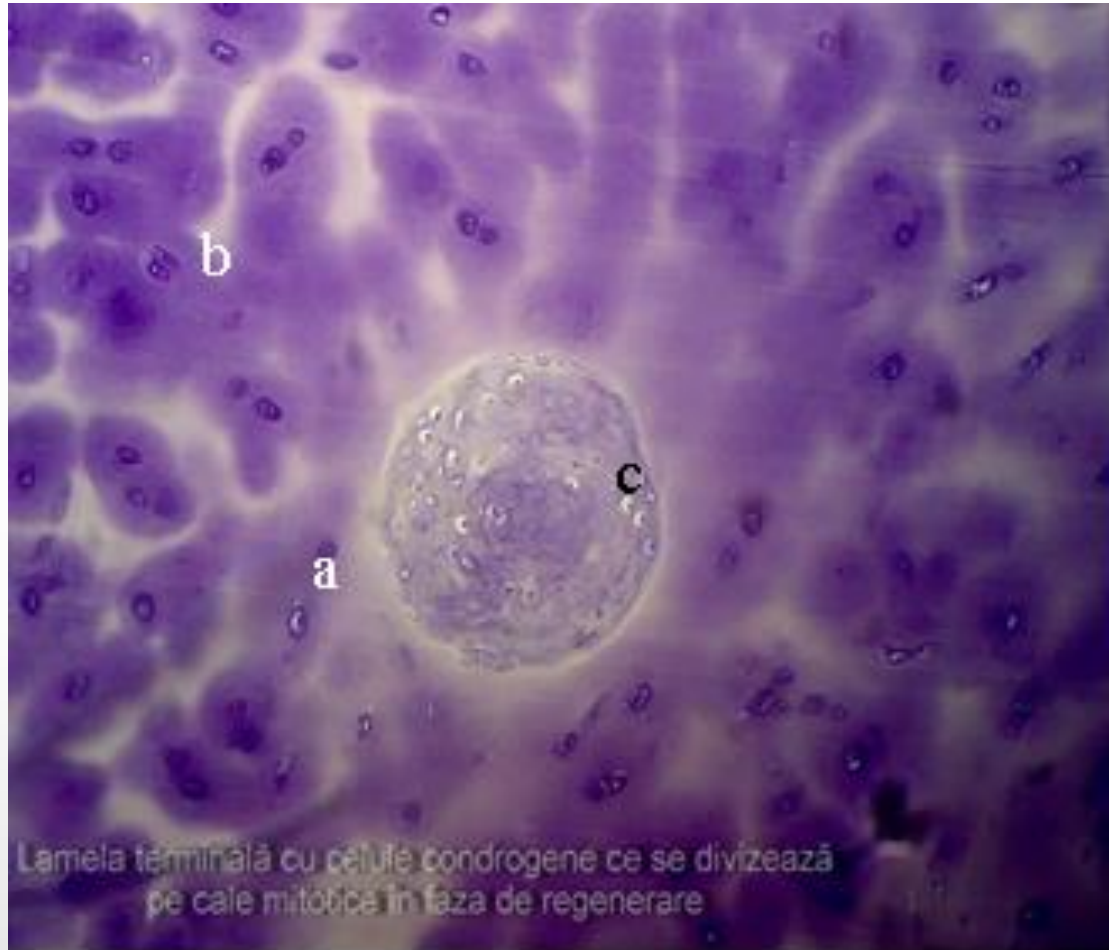


Fig. 3.10. Lamelă terminală: condroblaste (a), condrocite (b), ghem de celule blastice (c); hematoxin–eozină x140. (Pacientul R., 22 ani).

Majoritatea condrocitelor se dezvoltă din celule–stem mezenchimale, care se divizează în precondroblaste, condroblaști (a), și în condrocite (b), însă în unele cazuri, celulele mature le înconjoară pe cele blastice (c), formînd conglomerate gigantice. În cazul nostru se pun în discuție celulele gigantice ce apar deseori în lamelele terminale.

Unii le consideră rămășițe structurale provenite din notocord [Walmsley R. The development and growth of the intervertebral disc. Edinb. Med. J. 1953;60, p 341–364., Hunter C.J., Matyas J.R., Duncan N.A. The three-dimensional architecture of the notochordal nucleus pulposus: novel observations on cell structures in the canine intervertebral disc. J. Anat. 2003(b); 202, p 279–291.97], alții — centre germinative ale celulelor condrogene și substanței fundamentale condrogene.

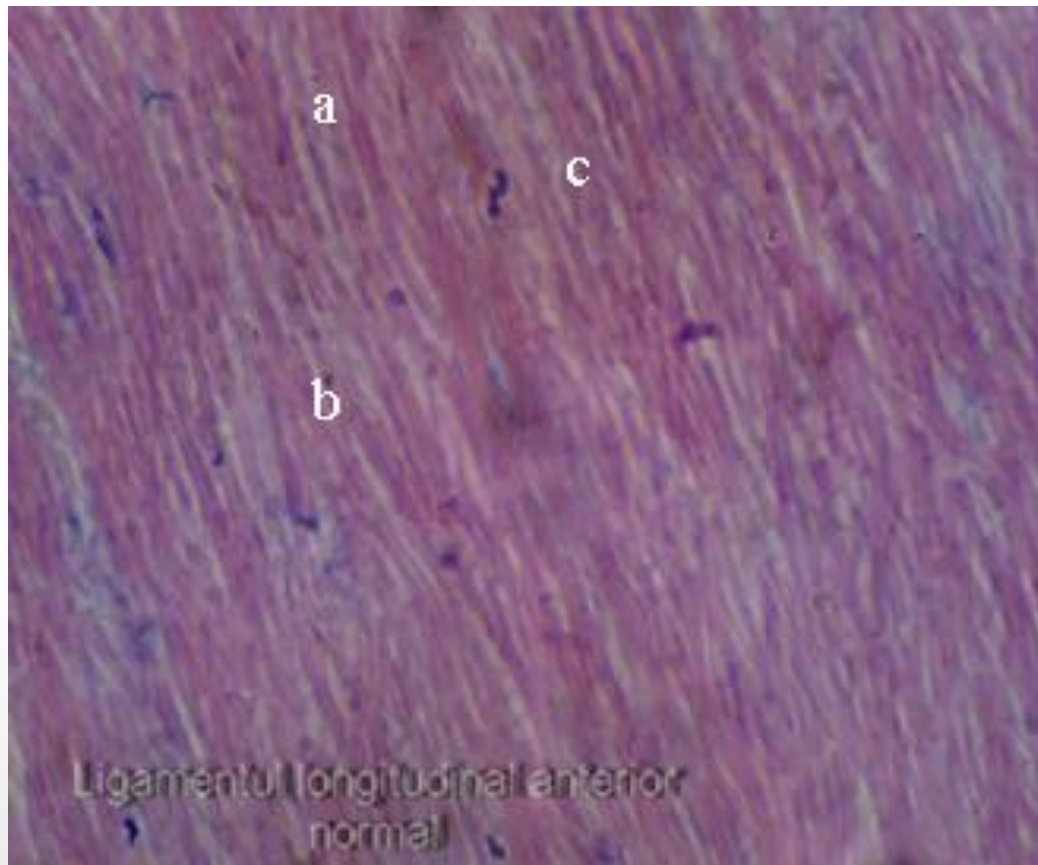


Fig. 3.12. Ligamente longitudinale: fibre conjunctive (a), interstițiul fibrilar (b), fibroblaști (c), hematoxin–eozină x140. (Pacientul G., 23 ani).

Ligamentele longitudinale anterioare și posterioare reprezintă o panglică fibro-conjunctivă, care se întinde de la baza occipitalului până la S2, formată dintr-o rețea de fibre împletite și bine aranjate, ce aderă strâns de corpurile vertebrale și mai slab de discurile intervertebrale. Între ligament, marginea vertebrei și disc există un spațiu umplut cu țesut conjunctiv lax. La tineri, fibrele își păstrează continuitatea (a), un interstițiu cu conținut seros (b) și, pe alocuri, fibroblaste (c).

În perioada a treia de viață (figura 3.13), ligamentele longitudinale suportă schimbări degenerative cu întreruperea conturului fibrilar (a), arhitectonica haotică (b), iar în interstițiu sunt multiple celule fibroblaste în faza de proliferare (c) ce formează țesut conjunctiv (figura 3.14), ce se colorează bine cu picrofuxină în roșu (a) și evidențiază dezorganizarea structurilor fibrilare (b).

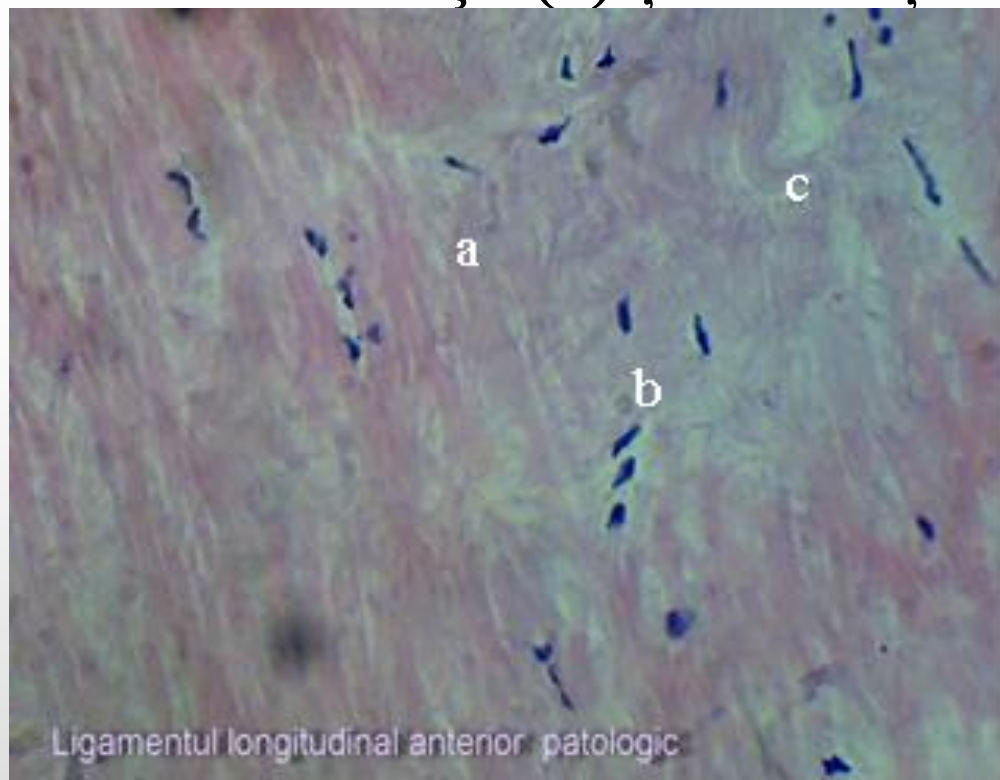


Fig. 3.13. Ligamente longitudinale: fibre conjunctive întrerupte (a), arhitectonică fibrilară haotică (b), proliferarea fibroblaste (c); hematoxin–eozină x 140. (Pacientul V., 63 ani).

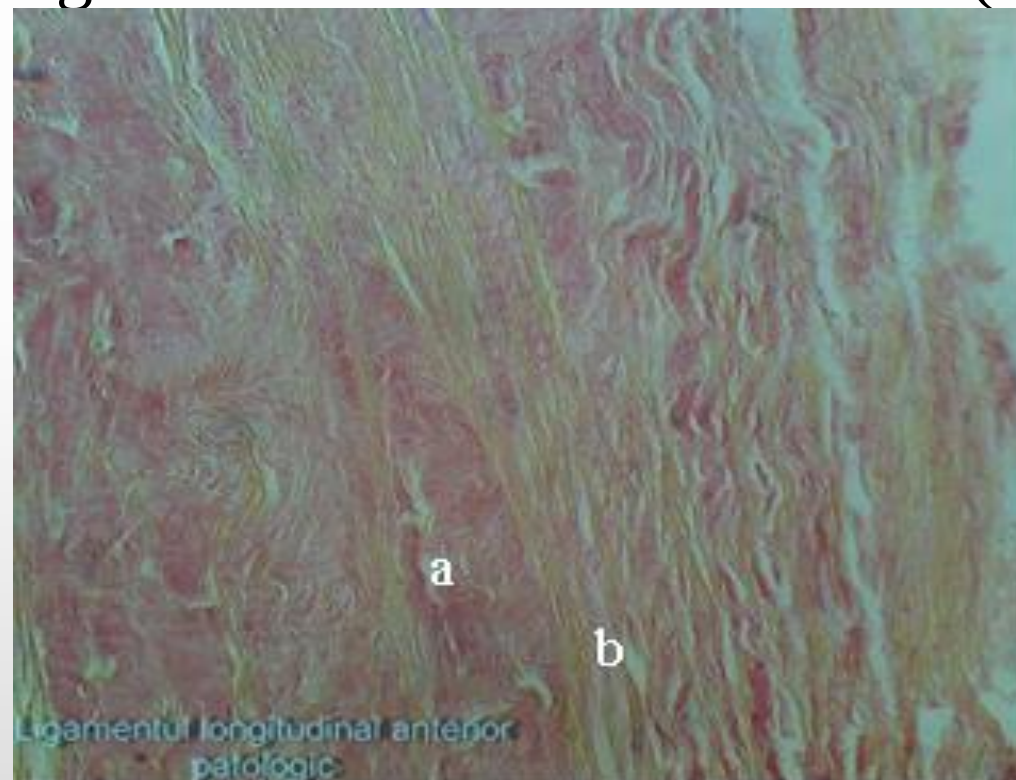


Fig. 3.14. Ligamente longitudinale: țesut conjunctiv în interstițiu (a), dezorganizarea stromei conjunctivale (b); picrofuxină x 140. (Pacientul H., 69 ani).

Ligamentul flav a fost examinat histologic la 4 pacienți cu vîrsta între 20 și 30 ani, cu hernie discală lombară (figura 3.15). Ligamentul galben este format din țesut elastic galben, fibre atașate în direcție perpendiculară (a) și un număr mic din celule fibroblaste (b), străpunse de vase de calibru mic (c).

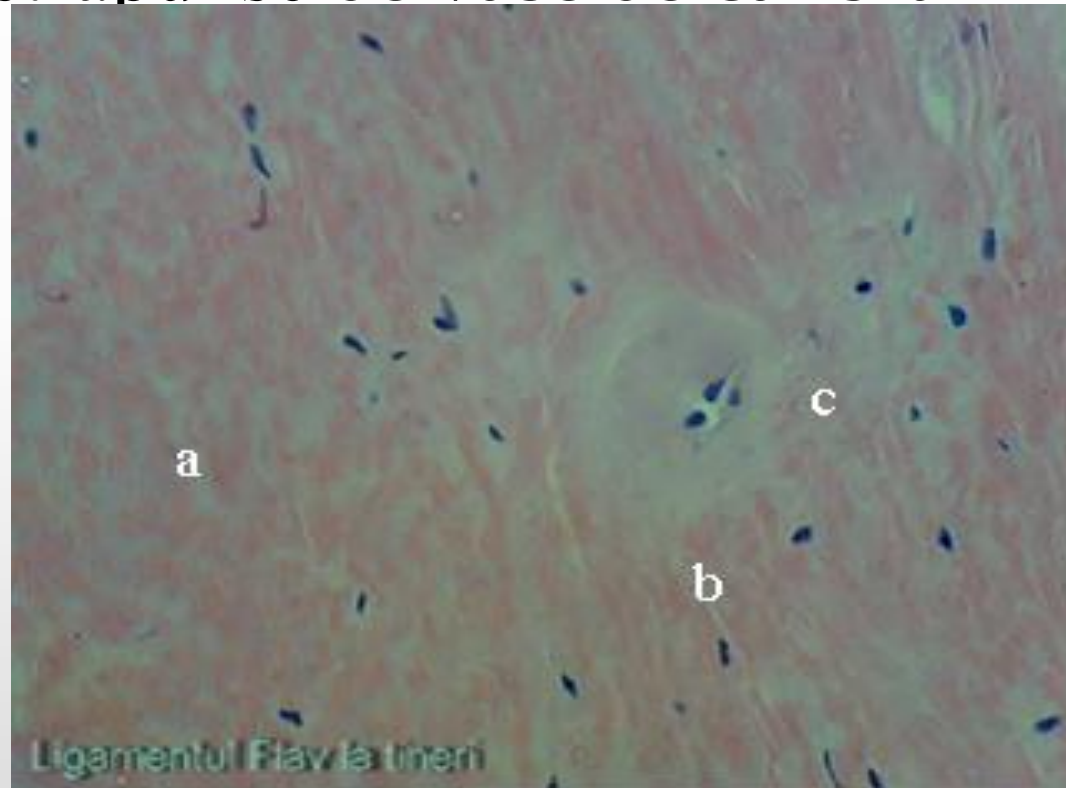


Fig. 3.15. Ligament flav constituit din fibre elastice (a), celule fibroblaste (b), vase de calibru mic (c); hematoxilin–eozină x90. (Pacientul D., 26 ani).

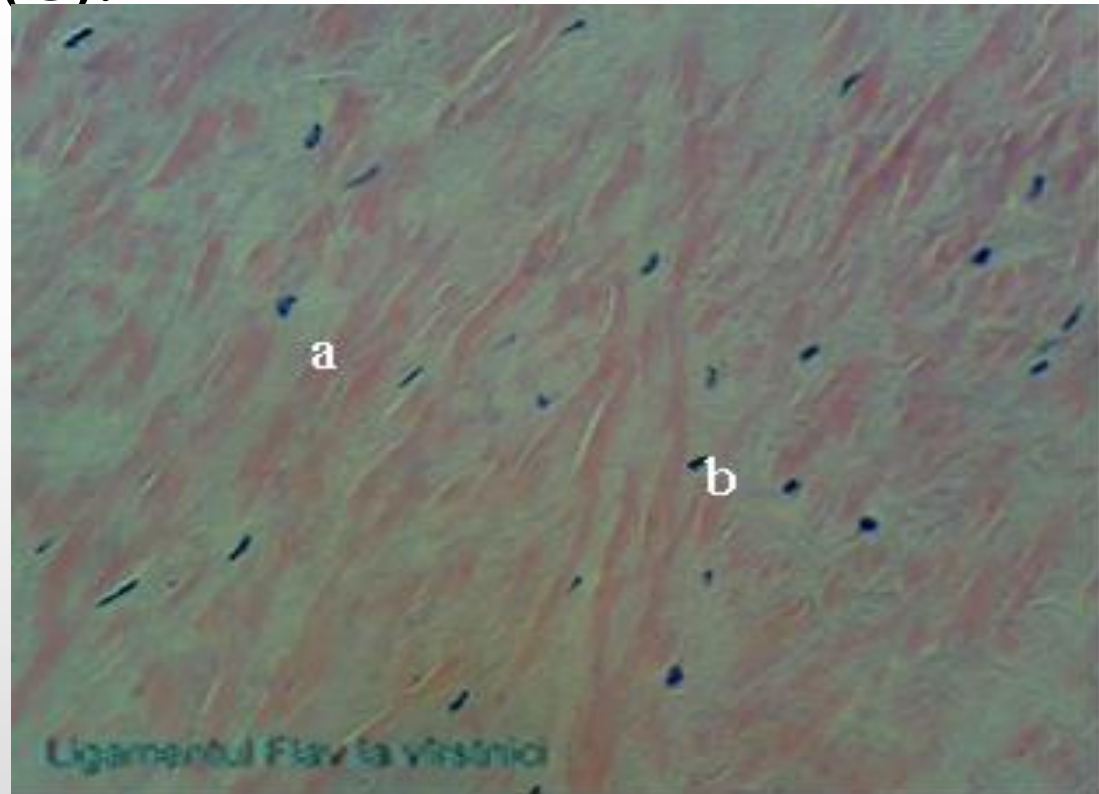


Fig. 3.16. Ligament flav cu fibre subțiate, ondulate și hipertrofiat (a), interstițial –țesut conjunctiv (b); hematoxilin–eozină x90. (Pacientul L., 53 ani).

Repartizarea cazurilor în raport cu aspectul RMN

Aspecte	Numarul de cazuri (%)			X ² , g xl =2,p
	TIP I	TIP II	TIP III	
RMN	8 (4,62±1,59 %)	20 (11,56±2,43%)	59 (34,10±3,60 %)	12,4, p<0,01
Histopatologie	10 (11,49±2.42%)	32 (36,78±3.67%)	45 (51,72±5.36%)	13,2, p<0,01

DEREGLĂRILE DE CIRCULAȚIE ÎN DISCUL INTERVERTEBRAL LOMBAR

Lucrarea este bazată pe studierea structurii arterelor vertebrale lombare și discurilor intervertebrale prin investigație histologică, colorare cu hematoxină–eozină (efectuată în Republica Moldova). Colorarea cu orceină, impregnare argentică și imunohistochimia cu anticorpi MCT (mastocyte cell tryptase), CD₆₈ (identificarea macrofagelor) și CD₃₄ (determină starea intimei vasculare și celulele–stem), au fost efectuate în perioada 2011–2012, în Centrul de Cercetări în Angiogeneză din Timișoara, România.

- Segmentele vertebrale lombare și arterele au fost prelevate de la 20 persoane decedate în moarte cardiacă: după accidente vasculare cerebrale-acute cu infarcte cerebrale – 10 persoane (50%), ictusuri hemoragice – 5 persoane (25%), diabet zaharat tip II – 1 persoană (5%), infarct miocardic acut – 3 persoane (15%), ciroză hepatică – 1 persoană (5%), de diferite vârste și sexe din SCM „Sfînta Treime”.

Tabelul 4.1. Structura cazurilor de studiere a arterelor vertebrale conform grupelor de vîrstă (abs, %)

Vîrsta	Abs.	P±ES (%)
pîină la 60 ani	4	20,0±8.94
61 -70	2	10,0±6.71
71-80	8	40,0±10.95
Peste 81	6	30,0±10.25
Total	20	100,0 %

Notă: Vîrsta medie decedaţilor: $73,0 \pm 2.28$ ani

Tehnici de prelevare, fixare și colorare a arterelor vertebrale

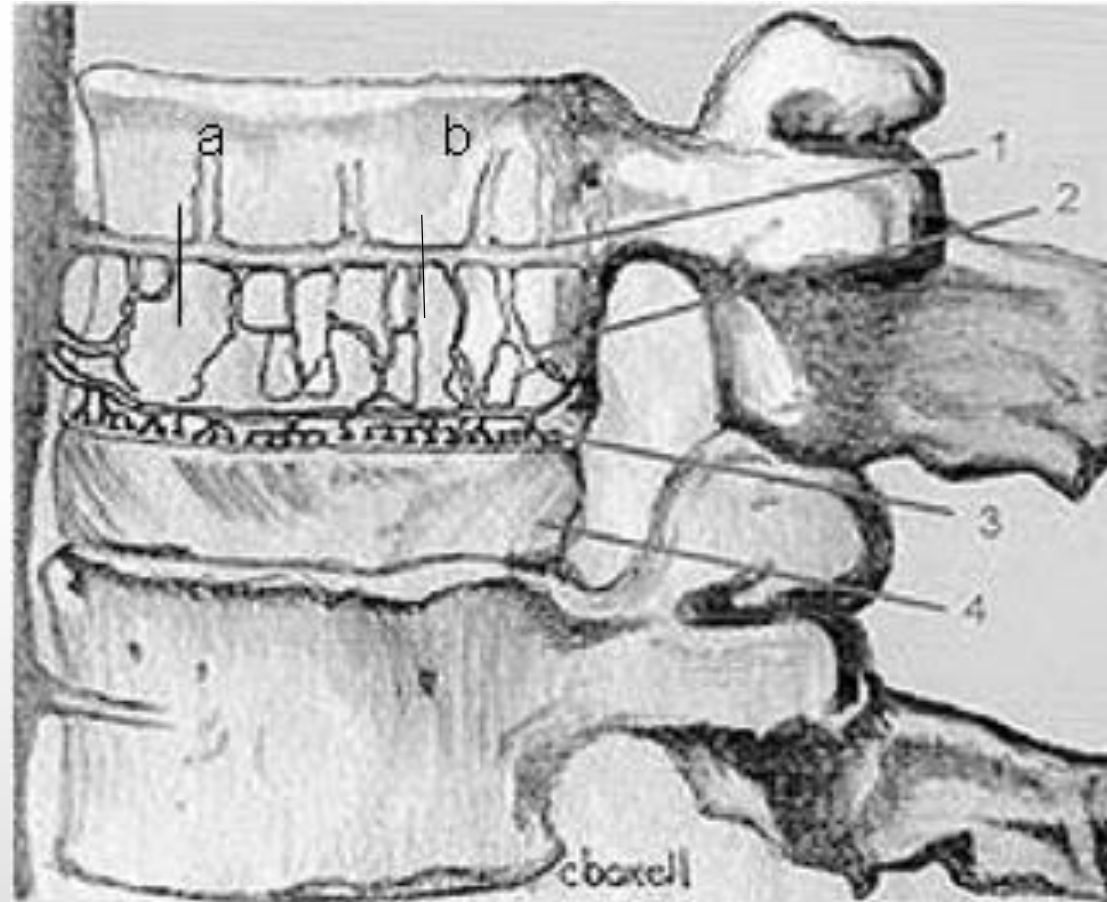


Fig. 4.1. a,b – locurile de secționare a arterei vertebrale; 1) artera vertebrală; 2) artera interosoasă; 3) capilarele din lamela terminală; 4) discul intervertebral.

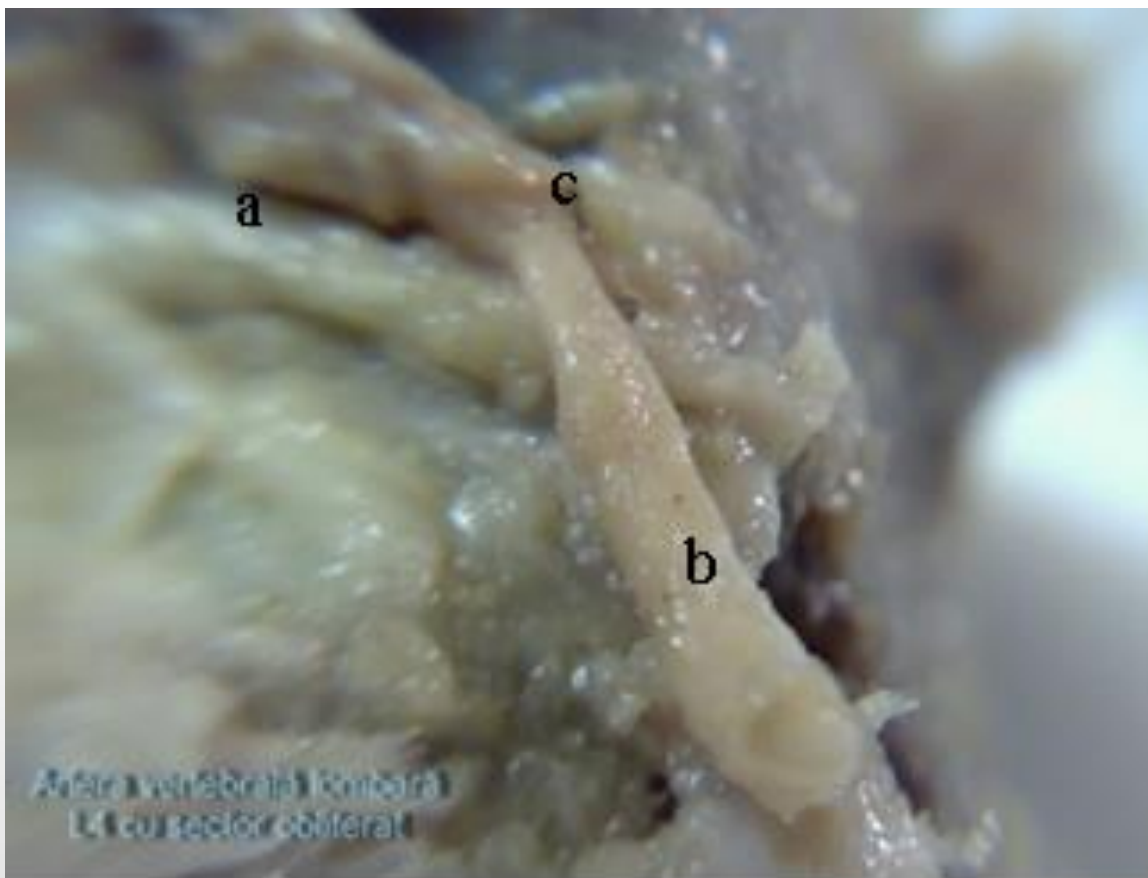
Colorarea arterelor vertebrale cu hematoxin-eozină

La secțiunea aortei abdominale și bifurcația arterelor iliace se constată ateroscleroza peretelui vascular, cu formarea petelor lipidice, plăcilor aterosclerotice și ulcerațiilor [Зота Е. Г., Савва В. М.

Ранние изменения сосудистой стенки при атерогенезе. Тезисы докл. IX Всемирного конгресса кардиологов. Москва. 1982. Т. I, с. 926.].



Fig. 4.2. Aorta abdominală: orificiile de intrare a arterelor vertebrale îngustate (a), înconjugate de plăci aterosclerotice (b). Macroscopic, se evidențiază pete lipidice și plăci aterosclerotice. (Pacientul J., 60 ani).



La examinarea macroscopică a arterelor vertebrale lombare (figura 4.3), în 8 cazuri ($40 \pm 10.95\%$) se depistează o îngustare a orificiului de intrare pe suprafața aortei abdominale (b);

Fig. 4.3. Rădăcina dorsală a nervului lombar IV (a), nivelul obliterației (b), artera vertebrală lombară IV (c). Macroscopic, porțiunea arterei vertebrale lombare – obliterate. (Pacientul , 68 ani).

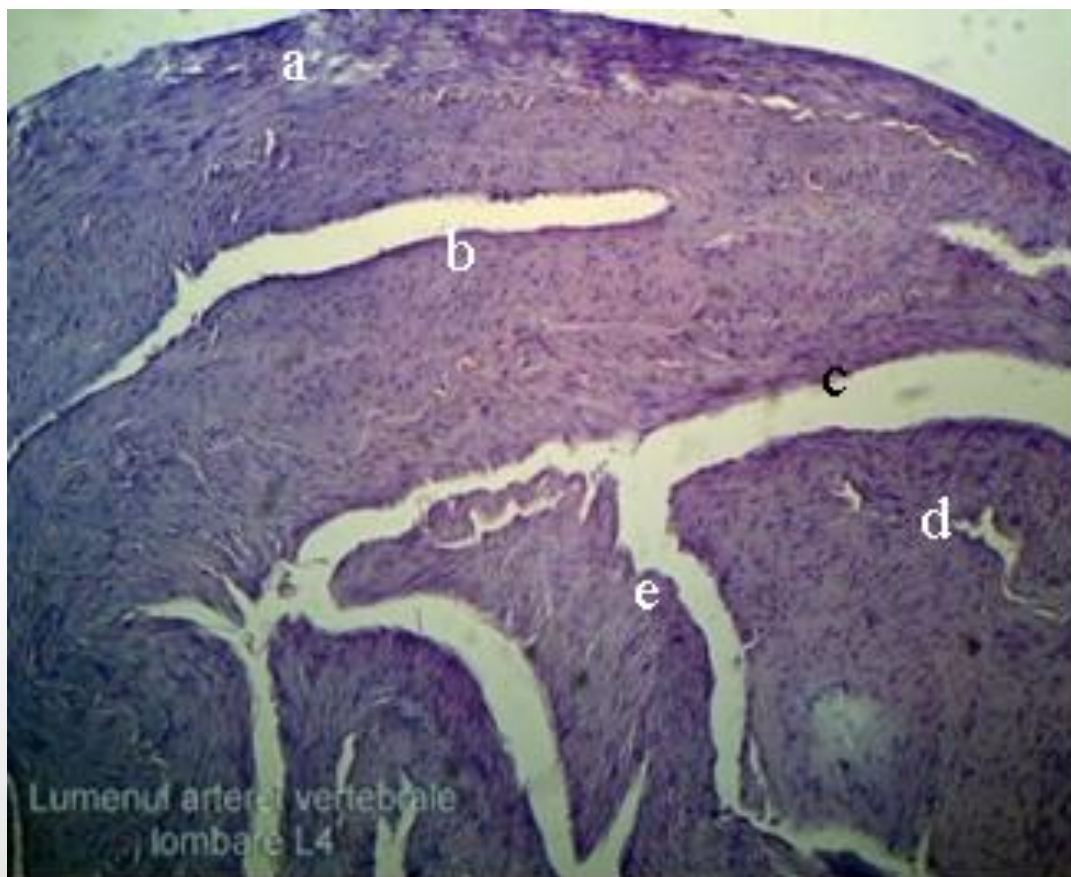


Fig. 4.5. Endoteliu vascular (a), tromb organizat (b), îngustarea lumenului cu recanalizare (c) trombocite (d), rețea de fibrină (e), hematoxin–eozină x 90. (Pacientul S, 68 ani).

La nivelul îngustării (microscopic) (figura 4.5), de endoteliu (a) este strâns alipit un conglomerat de natură trombotică (b), îngustare lumenului (c), ce conține trombocite (d) și o rețea densă de fibrină (e).

Discul intervertebral la acest nivel (figura 4.4), este profund schimbat – degenerativ–distrofic, cu cariopicnoză (a), carioliză (a), hialinizare pericelulară (b).

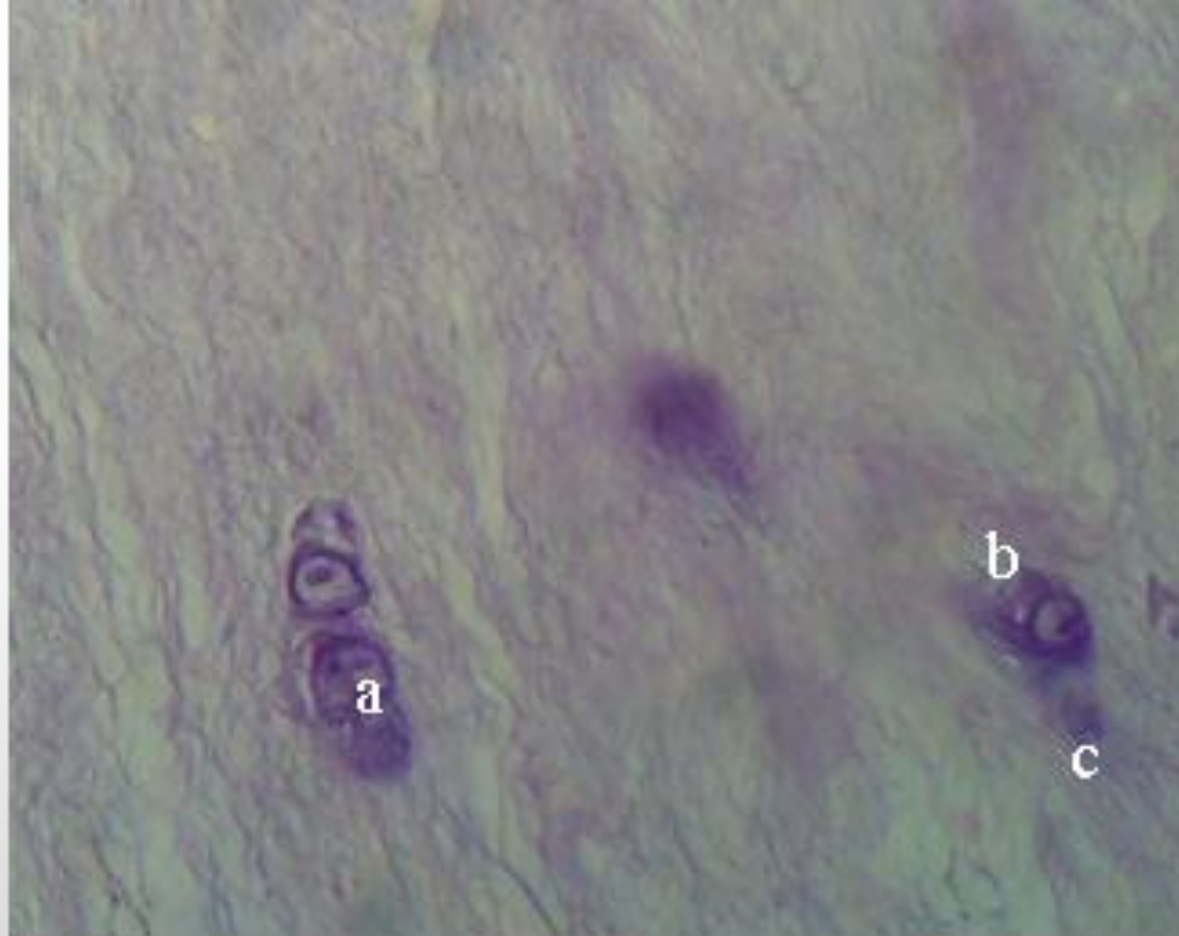


Fig. 4.4. Nucleu pulpos cu carioliza condrocitelor (a), hialinizare pericelulară (b), celulă tânără atrofiată (c); hematoxin–eozină x 140. (Pacienta S., 68 ani).

Colorarea peretelui vascular cu orceină și impregnarea argentică

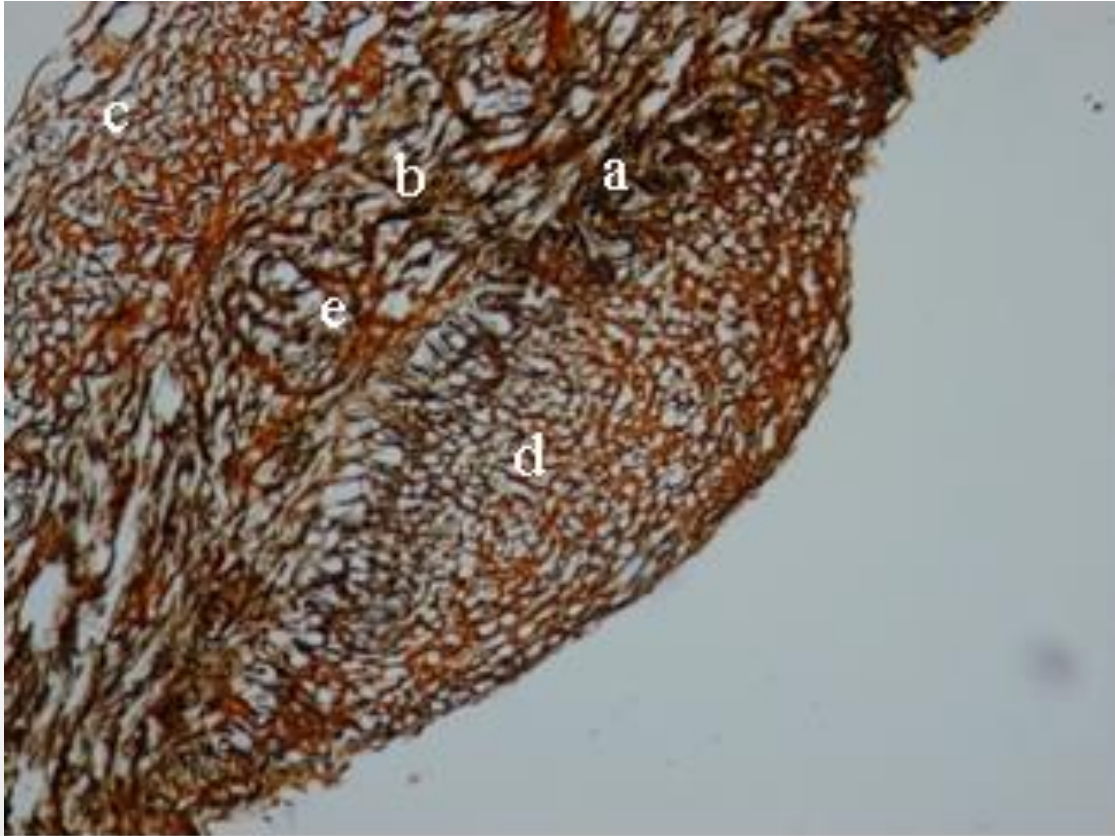


Fig. 4.6. Artera vertebrală lombară 5: a) fibre de reticulină, b) nucleul celulelor colorare în negru, c) fibre de collagen colorate în roșu, d) placă fibroasă, e) citoplasma celulelor colorată în galben; impregnare argentică x 90. (Pacientul C., 81 ani).

La investigarea histologică a arterelor vertebrale cu impregnare argentică (figura 4.6) se evidențiază bine structurile fibrilare din arhitectura peretelui vascular, ușor evidențiate modificările patologice, cum ar fi plăcile fibroase (b) la etapele incipiente și avansate de ateroscleroză.

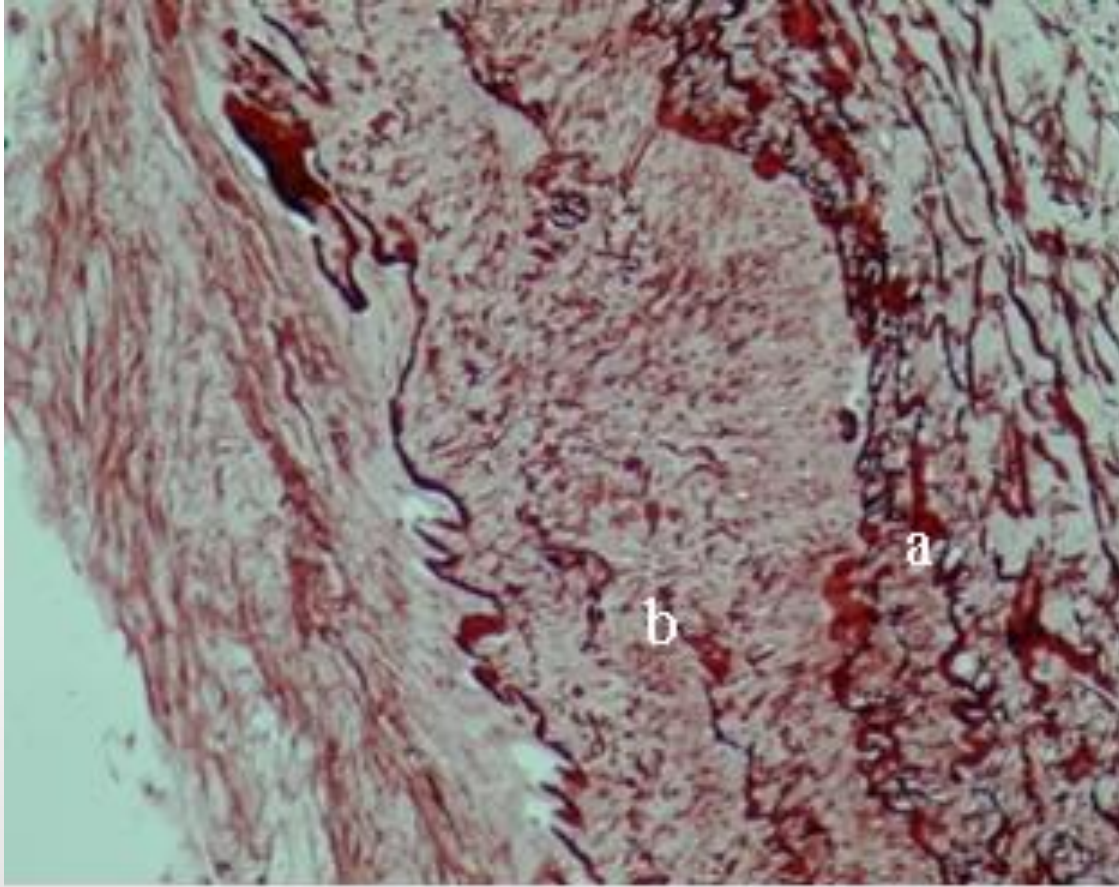


Fig. 4.7. Artera vertebrală lombară 5: a) dezorganizarea structurilor fibrilare, b) placă fibroasă la nivelul intimei; orceină x 90. (Pacienta B., 74 ani).

În colorarea cu orceină (figura 4.7), fibrele sunt roșu – cărămizii (a), care evidențiază bine prezența plăcilor aterosclerotice la nivelul peretelui vascular, și caracterelor morfometrice.

Colorarea imunohistochimică cu anticorpi MCT (mastocyt cell tryptase)

- Examenul imunohistochimic cu anticorpi MCT (mastocyte cell tryptase) efectuat la 5 artere vertebrale ($5 \pm 1,12\%$), identifică prezența celulelor mastocitare cu fazele lor de activitate, cunoscând bine că ele prin degranularea, elaborează mediatorii chimici (serotonină, histamină, triptază) în procesul de inflamatie a aterosclerozei.

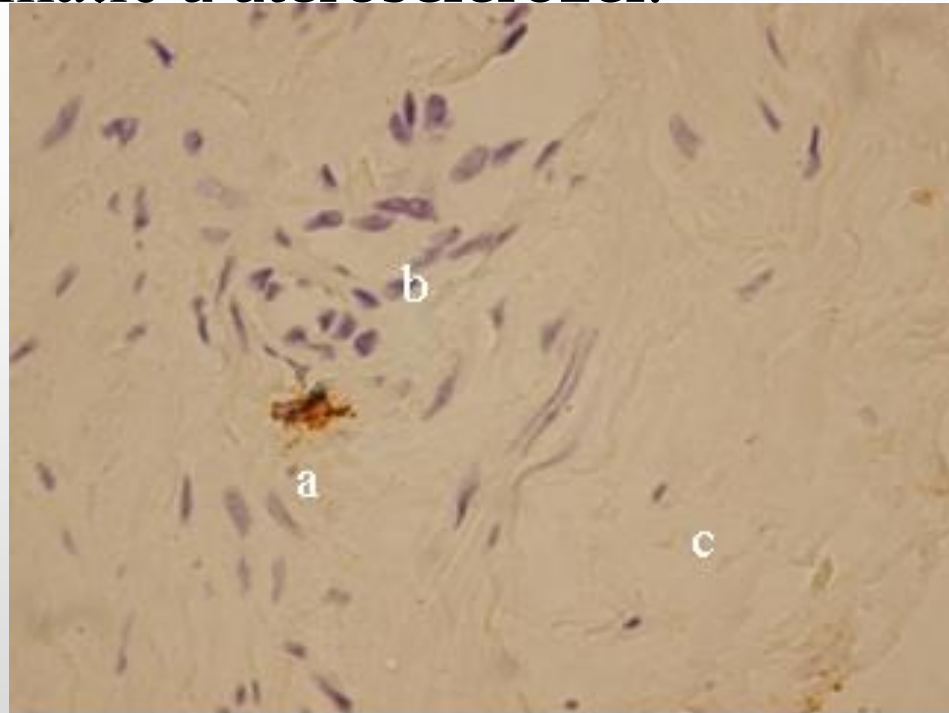


Fig. 4.16. Artera vertebrală lombară 4: a) mastocit degranulat, b) proliferarea fibroblastelor, c) intumescență mucoidă, IHC MCT x 90; (Pacientul G., 68 ani).

Colorarea imunohistochimică cu anticorpu CD₆₈

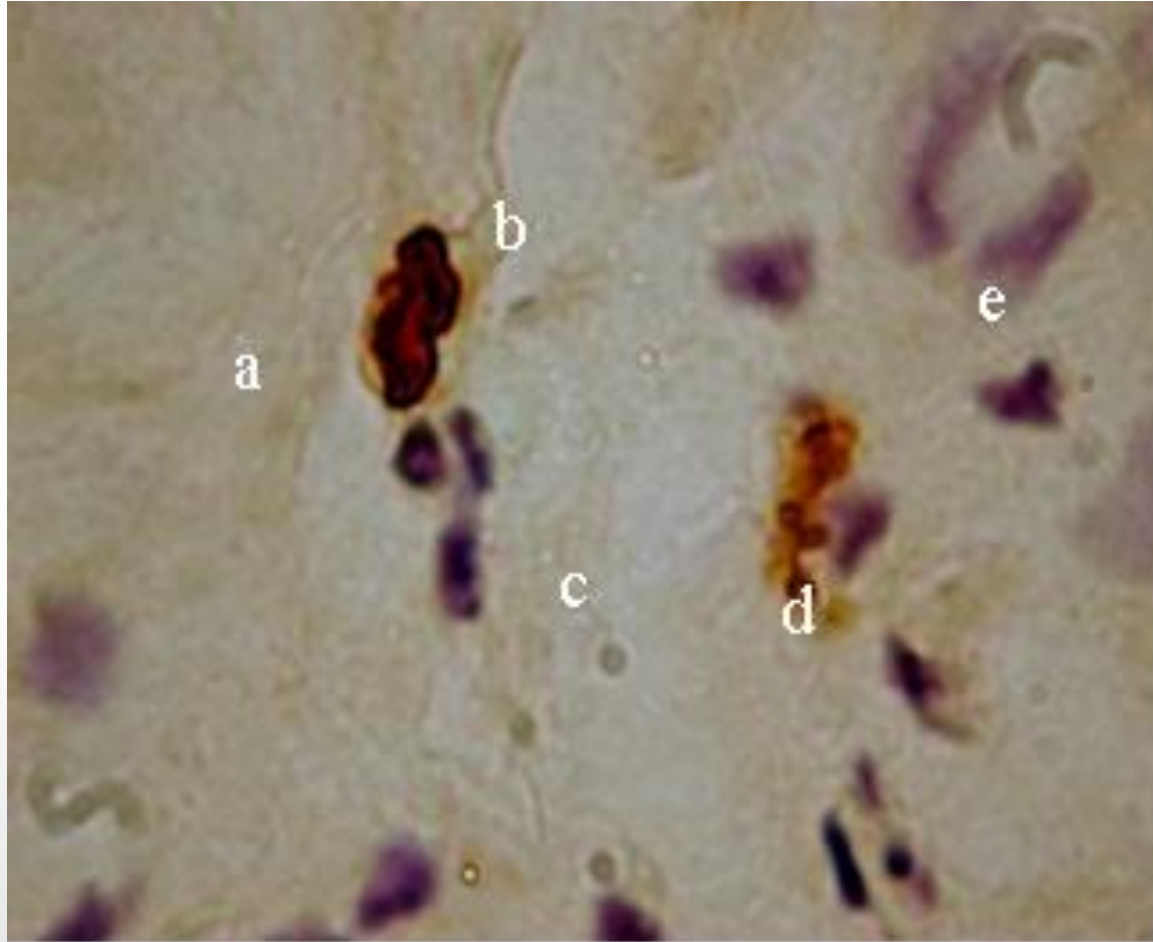


Fig. 4.17. Artera vertebrală lombară 5: a) intumescență mucoidă, b) macrofag cu conținut spumos, c) limfocite, d) mastocit la etapele incipiente de degranulare, e) intumescență fibrinoidă; IHC CD₆₈ x 90. (Pacientul K., 83 ani) .

Anticorpu CD₆₈, în examenul imunohistochimic efectuat la 9 artere veretebrale ($9 \pm 1.45\%$), determină prezența celulelor macrofage ce fagocitează celulele străine, și inclusiv LDL-colesterol, formînd celule spumoase ale aterosclerozei precoce, în ateroscleroză fiind atrase hemotaxic. [Зота Е. Г. Особенности развития соединительной ткани атеросклеротических бляшек в условиях атерогенеза. Тез. III конф. по ультраструктуре. Кишинев: Штиинца, 1986 (б). с. 81.]

Evidențierea imunohistochimică cu CD34 a elementelor structurale din peretele arterelor vertebrale lombare în corelație cu histopatologia discurilor intervertebrale lombare

Investigația imunohistochimică cu anticorp CD34 evidențiază celulele endoteliale ce prezintă integritatea intimei vasculare în eșantionul de studiu – 100 artere vertebrale lombare L1–L5 prelevate de la 20 persoane. Am aplicat criterii de interpretare din literatura de specialitate (Jasani M.K. Și Schmidt S., 1993) [[Jasani B, Schmid KW. Historical perspective. Immunocytochemistry in Diagnostic Histopathology. Edinburgh: Churchill Livingstone;1993; p. 3–9.](#)]

Tabelul 4.2. Repartizarea cazurilor după vîrstă, intensitatea colorării arterelor cu CD₃₄ și gradul modificărilor histologice în discul invertebral lombar

Nr.o	aL ₁	aL ₂	aL ₃	aL ₄	aL ₅	dL ₁	dL ₂	dL ₃	dL ₄	dL ₅	Vîrsta	Perioada de vîrstă
1.	3	2	2	2	2	2	2	1	1	2	77	3
2.	3	3	2	1	2	2	2	2	1	1	82	4
3.	2	2	2	1	1	2	2	2	1	1	83	4
4.	3	3	2	2	2	2	2	2	1	2	67	2
5.	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	87	4
6.	3	3	2	2	2	3	2	2	1	1	76	3
7.	3	2	2	2	2	3	2	2	2	1	80	3
8.	3	3	2	2	2	3	2	2	2	2	89	4
9.	3	3	2	2	2	3	3	2	1	1	78	3
10.	3	2	2	1	1	3	3	2	1	1	81	4
11.	3	3	2	2	2	3	3	2	1	2	74	3
12.	3	3	3	2	2	3	3	2	2	1	62	2
13.	3	3	3	2	3	3	3	2	2	2	72	3
14.	3	2	2	2	2	3	3	2	2	2	75	3
15.	3	3	2	2	2	3	3	2	2	2	79	3
16.	3	2	2	2	2	3	3	2	2	3	84	4
17.	4	4	3	3	3	3	3	3	2	2	54	1
18.	4	4	4	3	3	3	3	3	2	2	56	1
19.	3	3	3	3	2	3	3	3	2	2	51	1
20.	4	4	4	3	3	4	4	4	3	4	51	1
Total	62	57	48	41	42	57	53	44	33	36		

Intensitatea colorării peretelui vascular al arterelor vertebrale cu CD_{34}

4 – reacție intens pozitivă (+++), – 8 ($8 \pm 2.71\%$) artere vertebrale;

3 – intensitate moderată (++), – 39 ($39 \pm 4.88\%$) artere vertebrale;

2 – intensitate slab pozitivă (+), – 48 ($48 \pm 4.99\%$) artere vertebrale;

1 – intensitate foarte redusă (+/-), – 5 ($5 \pm 2.2\%$) artere vertebrale;

0 – lipsa intensității.

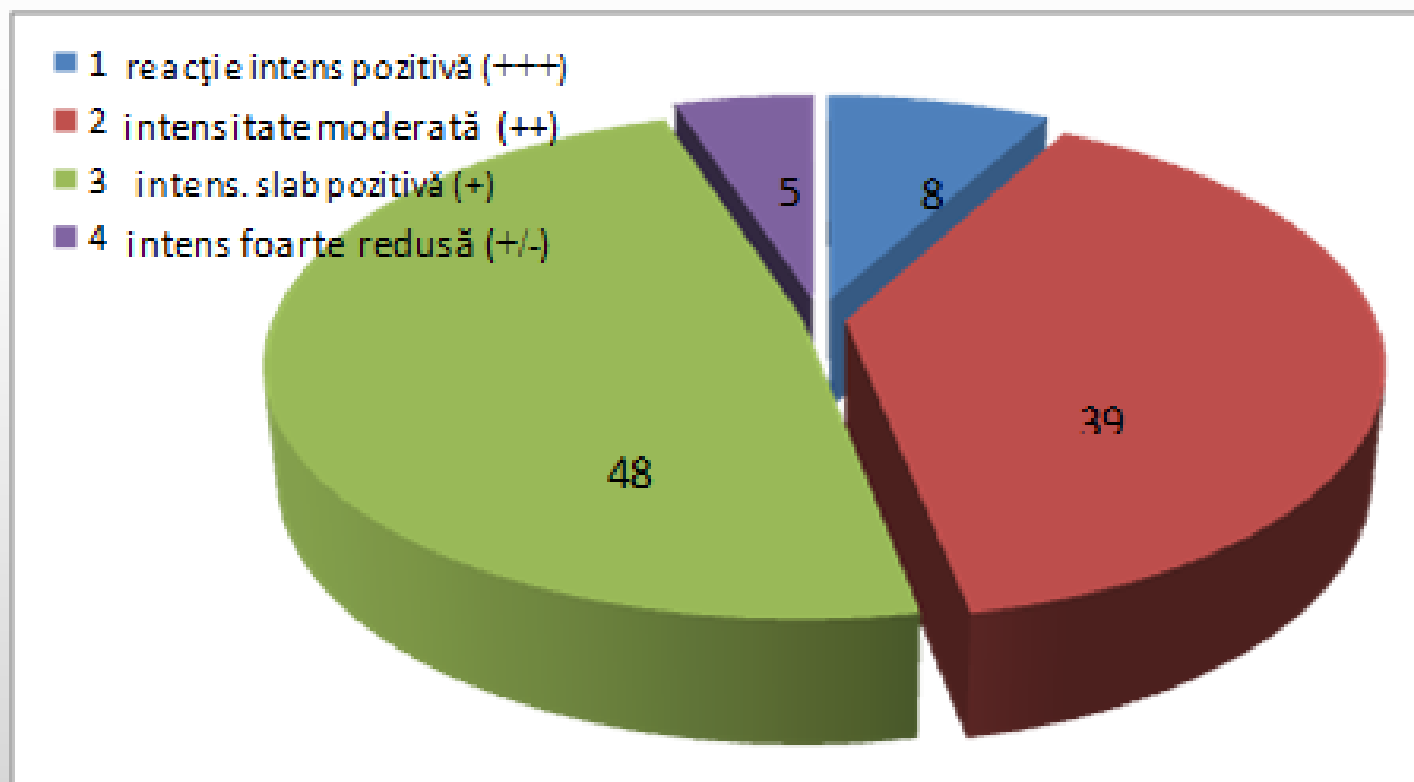


Fig. 4.8. Reprezentarea grafică a intensității de colorare a arterelor vertebrale lombare colorate cu CD_{34}

Tipurile de modificare histologică a discurilor vertebrale

4– lipsa modificărilor, – 4 ($4\pm1,96\%$) discuri;

3 – modificări incipiente, – 30 ($30\pm4.6\%$) discuri;

2 – modificări moderate, – 51 ($51\pm4.99\%$) discuri;

1 – modificări severe, – 15 ($15\pm3,6\%$) discuri.

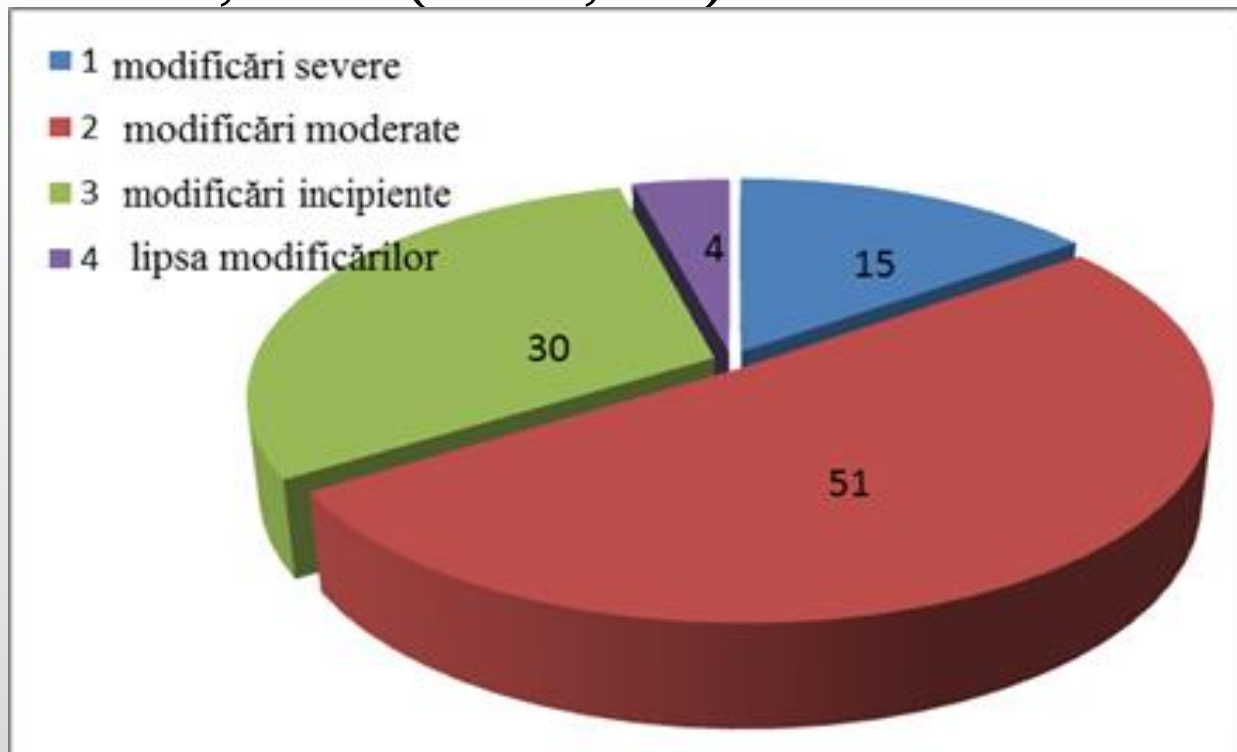


Fig. 4.9. Structura distribuirii modificărilor degenerative în funcție de numărul de discuri afectate.

Tabelul 4.3. Distribuirea arterelor vertebrale după intensitatea colorării entoteliului peretelui cu CD_{34} , și discurile intervertebrale lombare - histologic modificate degenerati-distrofic

Grad de afectare	L_1 $n_1 = 100$ (artere vertebrale)		L_2 $n_2 = 100$ (disc intervert.)		P
	Abs.	$P_1 \pm ES_1(\%)$	Abs.	$P_1 \pm ES_1(\%)$	
4	8	8 ± 2.71	4	$4 \pm 1,96$	>0.05
3	39	39 ± 4.88	30	30 ± 4.6	>0.05
2	48	48 ± 4.99	51	51 ± 4.99	>0.05
1	5	5 ± 2.2	15	$15 \pm 3,6$	>0.05

Tabelul 4.4. Distribuirea pacienților după nivelul și intensitatea colorării endoteliului arterelor vertebrale lombare

Intensitatea colorării endoteliului vascular		Nivelul arterelor vertebrale/nr. pacienți										P
		aL ₁ n = 20		aL ₂ n = 20		aL ₃ n = 20		aL ₄ n = 20		aL ₅ n = 20		
		Abs .	Pl ₁ ± ES ₁ (%)	Abs .	Pl ₂ ± ES ₂ (%)	Abs .	Pl ₃ ± ES ₃ (%)	Abs .	Pl ₄ ± ES ₄ (%)	Abs. .	Pl ₅ ± ES ₅ (%)	
4	reacție intens pozitivă (+++)	3	15 ± 7.98%	4	20 ± 8.94%	2	10 ± 6.71%	-	-	-	-	>0.05
3	intensitate moderată (++)	16	80 ± 8.94%	10	50 ± 11.2%	4	20 ± 8.94%	4	20 ± 8.94%	4	20 ± 8.94 %	<0.01
2	intensitate slab pozitivă (+)	1	5 ± 4.9%	6	30 ± 10.3%	14	70 ± 10.25%	13	65 ± 10.67%	14	70 ± 10.25%	>0.001
1	intensitate foarte redușă (+/-)	-		-		-		3	15 ± 7.98%	2	10 ± 6.71%	>0.05

Din tabelul 4.4 - se evidențiază o intensitate foarte redusă (+/-) preponderent la nivelul arterelor vertebrale 4 în 3 cazuri (15± 7.98%, p>0.05), și o reacție intens pozitivă (+++) mai sporit vizualizat la nivelul arterelor vertebrale 2, în 4 cazuri (20± 8.94%, p>0.05).

Tabelul 4.5. Distribuirea pacienților după nivelul și stadiul digenerscenței discului intervertebral lombar

Satdiul de degenerescență a discului		Nivelul discurilor/nr. pacienți										P
		dL ₁ n = 20		dL ₂ n = 20		dL ₃ n = 20		dL ₄ n = 20		dL ₅ n = 20		
		Abs.	Pl ₁ ± ES ₁ (%)	Abs.	Pl ₂ ± ES ₂ (%)	Abs.	Pl ₃ ± ES ₃ (%)	Abs.	Pl ₄ ± ES ₄ (%)	Abs.	Pl ₅ ± ES ₅ (%)	
4	lipsa modificărilor	1	5±4.9%	1	5 ± 4.9%	1	5 ± 4.9%	-	-	1	5 ± 4.9%	>0.05
3	modificări incipiente	14	70 ± 10.25%	11	55 ± 11.12%	3	15 ± 7.98 %	1	5 ± 4.9 %	1	5 ± 4.9%	>0.001
2	modificări moderate	5	25 ± 9.7%	8	40 ± 10.95%	15	75± 9.68%	11	55 ± 11.12%	11	55 ± 11.12%	>0.01
1	modificări severe	-		-		1	5 ± 4.9%	8	40 ± 10.95%	7	35 ± 10.67%	>0.05

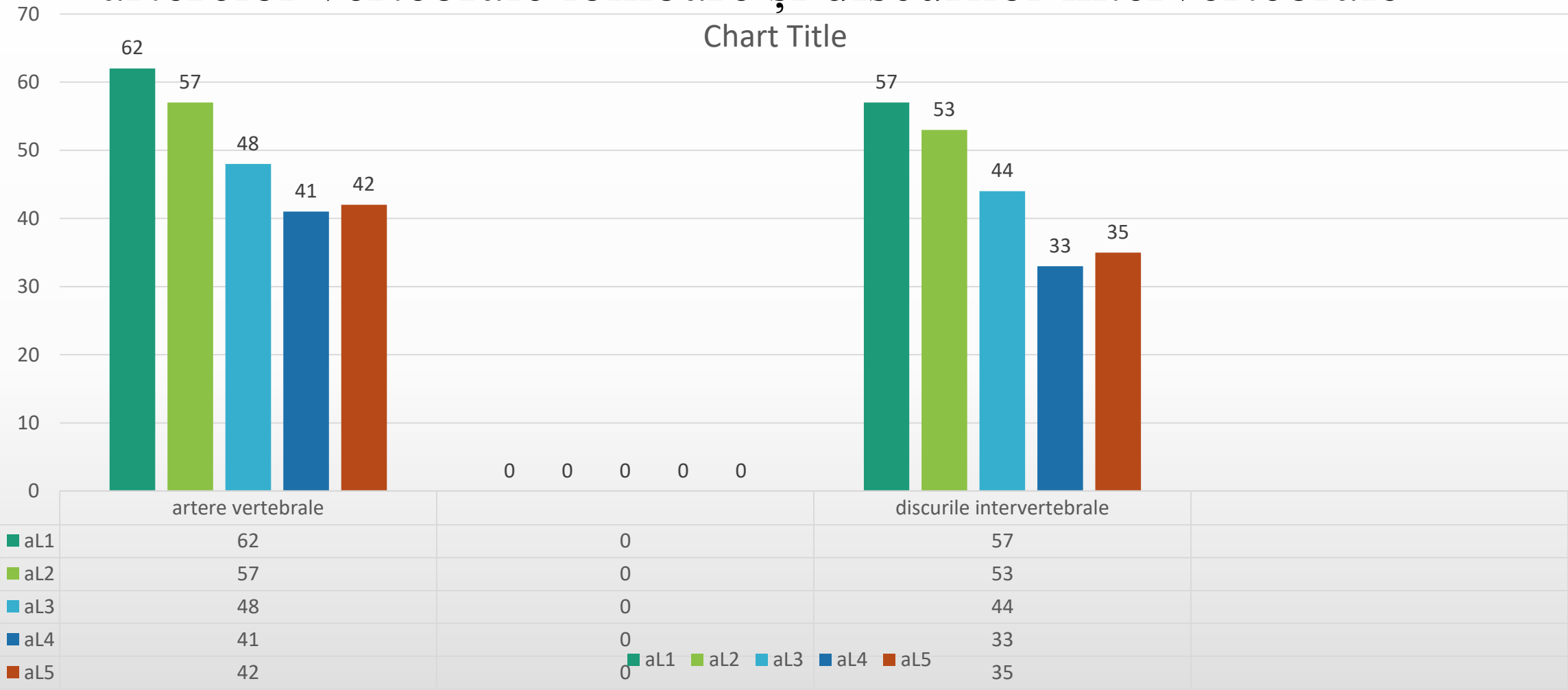
Din tabelul 4.5 - se evidențiază modificări severe preponderent la nivelul discurilor intervertebrale 4 în 8 cazuri (40± 10.95%, p>0.05), și modificări incipiente mai sporit vizualizat la nivelul discului 1, în 14 cazuri (70± 10.25%, p>0.001).

Tabelul 4.6. Repartizarea indicelui de corelare Pearson conform nivelului afectat

Nivelul afectat	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	L ₅
Indecele de corelare Pearson	0,54 medie	0.32 medie	0,84 puternică	0,64 medie	0.54 medie

Datele obținute ne sugerează ideea că gradul de afectare a intimei peretelui vascular colorat imunohistochimic cu CD34 coincide cu starea discului intervertebral afectat la acest nivel, ceea ce ar fi un indiciu în diagnosticarea gradului de afectare a discului.

Tabelul 4.7. Reprezentarea valorilor sumare la fiecare nivel al arterelor vertebrale lombare și discurilor intervertebrale



Corelația dintre schimbările imunohistochimice colorate cu CD34 a arterelor vertebrale și schimbările histologice ale discurilor intervertebrale lombare

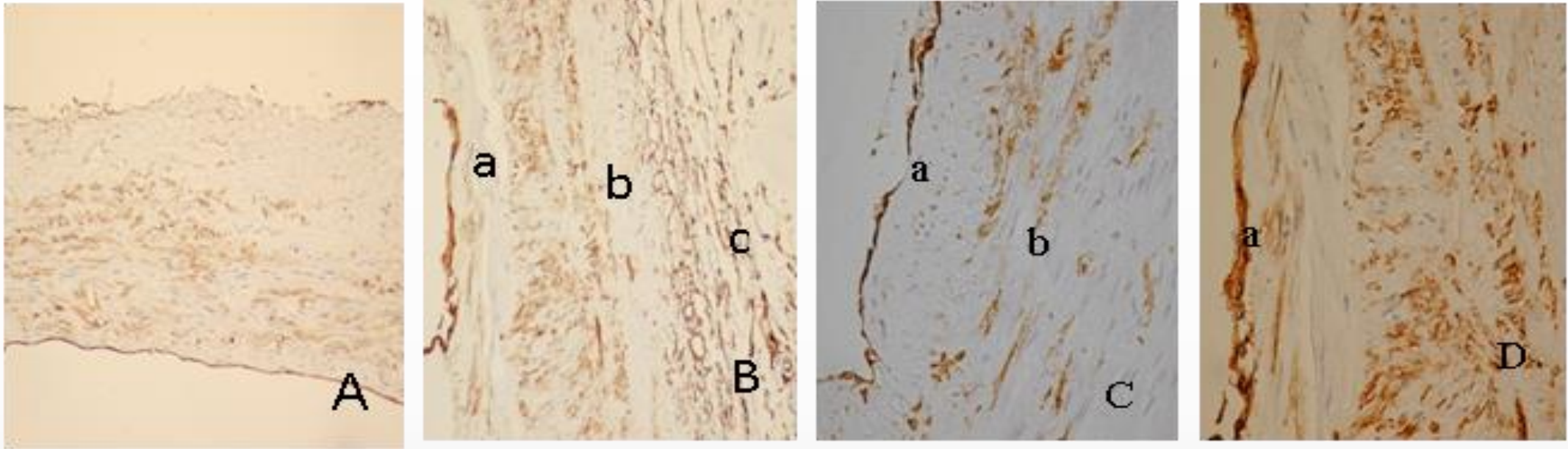


Fig. 4.18. **A.** Artera vertebrală lombară 5 cu intensitate foarte redusă (+/-); IHC CD₃₄ x140. (Pacientul K., 82 ani) .

B. Artera vertebrală lombară 5: a) intensitate slabă (+) de colorare a stratului de celule endoteliale, pe alocuri cu detașare, b) tunica medie – cu elementele fibrelor musculare rarefiate, c) capilare din adventicie; IHC CD34 x140. (Pacientul A., 62 ani).

C. Artera vertebrală lombară 5: a) intima cu celule endoteliale de intensitate moderată (++), întreruptă pe alocuri, subțiată, cu contur neregulat, b) structuri fibrilare cu vase de calibru mic; IHC CD34 x140. (Pacientul B., 42 ani).

D. Artera vertebrală L2, reacție intens pozitivă(+++) cu intima vasculară bine conturată având celulare endoteliale conturate; IHC CD34 x140. (Pacientul C., 32 ani).

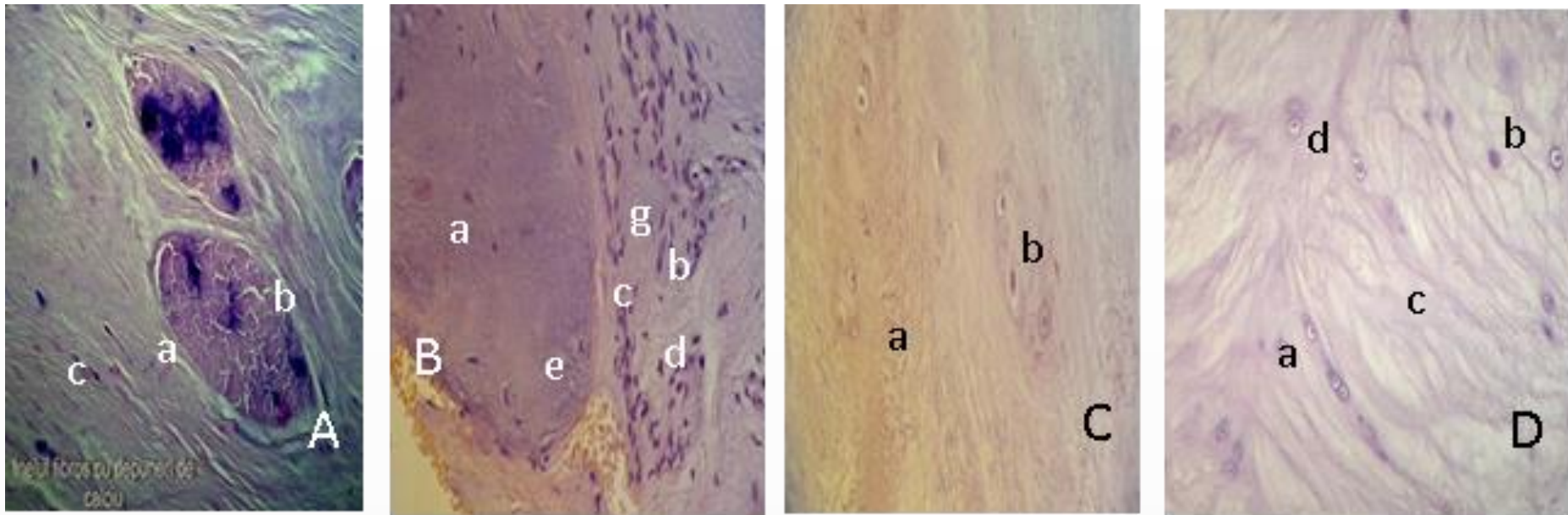


Fig. 4.19. **A.** Inelul fibros din discul intervertebral 5 a) cartilaj discal hialinizat, b) calcifieri intradiscale sau zone de osificare, c) infiltrat limfocitar; H–E x 140. (Pacientul K., 82 ani) .

B. Nucleul pulpos din discurile intervertebrale lombare 4, 5: a) țesut discal fibrozat, b) zone de edem interfibrilar; c) țesut cartilagos discal cu condrocite în condroblaste, d) aspect papilar, e) zone hemoragice, f) zone de hialinizare, g) fibroblaste proliferate; H–E x 140. (Pacientul A., 62 ani) .

C. a) degenerescență mixoidă, b) în centru – condroblaste cu condrocite; H–E x 140, (Pacientul D., 51 ani).

D. Nucleul pulpos din discul intervertebral lombar 2: a) condrocite și b) condroblaste conturate, c) structură fibrilară organizată, cu persistența substanței fundamentale condrogene (d); H–E x 140. (Pacientul C., 32 ani) .

Concluzii

1. Rezultatele obținute pe parcursul cercetării arată că de dureri discogene suferă persoanele cu vîrsta de după 50 ani, preponderent femeile (99; $56,07 \pm 5.24\%$), $p > 0.05$ cu o medie de vîrstă de 45,3 ani, vîrsta medie în lotul I = 50.7 ± 1.22 ani, în lotul II = $40,1 \pm 1,41$ ani ($p < 0.001$) care suferă de hernie discală la nivelul regiunii lombare, segmentul $L_4 - L_5$, activitatea de muncă cu efort sporit este o cauză a degenerescenței discale.

2. Modificările histopatologice evidențiate în formele incipiente de degenerescență a discului intervertebral, identificate la 10 ($11,49 \pm 2.42\%$) pacienți operați, au fost următoarele: degenerescență mixoidă la nivelul cartilajului discal, cu condroblaste și condrocite, hialinizare și zone de edem interfibrilar în țesutul discal fibrozat. Forme medii de degenerescență a discului intervertebral, au fost depistate la 32 ($36,78 \pm 3.67\%$) pacienți: țesut cartilaginos discal cu condrocite în condroblaste de aspect papilar și zone hemoragice condroblaste cu condrocite asociate în zona de degenerescență mixoidă. Formele avansate de degenerescență a discului intervertebral, au fost descoperite la 45 pacienți ($51,72 \pm 5.36\%$) degenerescență mixoidă, cartilaj discal hialinizat cu zone de calcificare intradiscală, țesut cartilaginos cu zone de fibroză și infiltrat inflamator cronic.

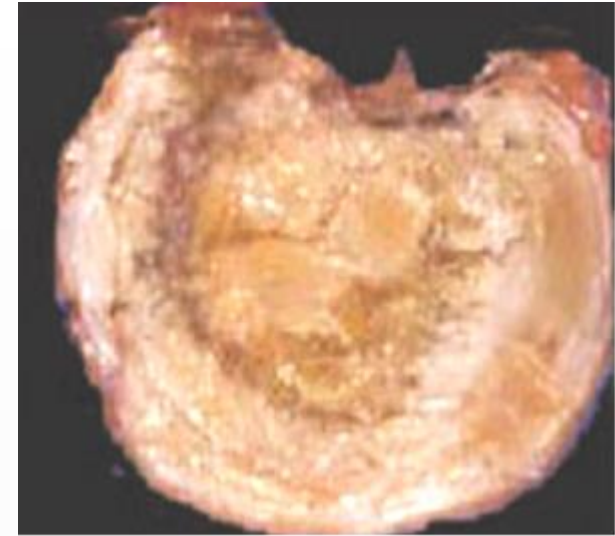
3. În elementele segmentelor intervertebrale la 18 pacienți ($64 \pm 1,6\%$) de vîrstă înaintată suportă: – lamelele terminale sunt înlocuite de țesut conjunctiv cu hialinizarea fibrelor colagene, stratul sticlos dispare, iar în spațiul subcondral apar multiple formațiuni chistice, numărul condrocitelor se micșorează pînă la dispariție, stratul sticlos este în mare majoritate acelular, celulele blastice lipsesc, substanța intercelulară este tumefiată și granulată. În ligamentele longitudinale la 16 pacienți ($57 \pm 2,4\%$) – suportă schimbări degenerative cu întreruperea conturului fibrilar, arhitectonică haotică, iar în interstițiu sunt multiple celule fibroblaste în faza de proliferare, care formează țesut conjunctiv. Ligamentul flav devine inert la declanșarea maladiilor degenerativ-distrofice doar la 10 ($35 \pm 2,4\%$) persoanele tinere. La vîrstnici 10 ($35 \pm 2,4\%$), el are o structură fragmentată și hipertrofiată.

4. Cele mai afectate artere sunt arterele vertebrale aL_4 , evidențiindu-se o intensitate foarte redusă (+/-) în 3 cazuri ($15 \pm 7.98\%$, $p > 0.05$), și o reacție intens pozitivă (+++) mai sporit vizualizat la nivelul arterelor vertebrale 2, în 4 cazuri ($20 \pm 8.94\%$, $p > 0.05$) dar sumarul intensității colorării prevalează la aL_1 fiind mai puțin afectate; Histologic cel mai afectat este discul intervertebral L_4 - modificări severe fiind în 8 cazuri ($40 \pm 10.95\%$) iar mai puțin afectat discul L_1 – avînd modificări incipiente în 14 cazuri ($70 \pm 10.25\%$). Valoarea medie a indicelui de corelare Pearson este $r = 0,54$, fiind interpretată ca ca moderat, mediu sau asociere moderată, care ar fi un indiciu în diagnosticarea gradului de afectare a discului.

5. Imunohistochimia cu anticorpi MCT (mastocyte cell tryptase) identifică în arterele cu un grad avansat de afectare sunt prezente mastocitele în diverse faze de degranulare, iar perifocal de plăcile aterosclerotice și vasa vasorum – primordii neovasculare ceea ce ne demonstrează că vasul pretinde la o regenerare. Anticorpul CD₆₈, în examenul imunohistochimic, determină prezența celulelor macrofage în fazele de fagocitoză a LDL-colesterol, formînd celule spumoase ale aterosclerozei precoce, – un indiciu în aprecierea gradului de afectare aterosclerotică a arterelor vertebrale lombare.

6. Primul tip de modificări RMN – Modic 1 a fost evidențiat la 41 de bolnavi ($23,69 \pm 3,23\%$) studiați, din care 8 ($4,62 \pm 1,59\%$) au fost operați, constatându-se histopatologic formele incipiente de degenerescență a discului intervertebral, identificate la 10 ($11,49 \pm 2,42\%$) pacienți. Modificările IRM de tip Modic 2, care au fost identificate la 55 ($31,72 \pm 3,54\%$) de pacienți, din care 20 ($11,56 \pm 2,43\%$) – operați, au fost histopatologic determină formele medii de degenerescență a discului intervertebral, depistate la 32 ($36,78 \pm 3,67\%$) pacienți. Modificările de tip Modic 3 IRM, identificate la 77 ($44,51 \pm 3,78\%$) pacienți, din care 59 ($34,10 \pm 3,60\%$) – operați, au fost histopatologic determinate formele avansate de degenerescența a discului intervertebral. În urma sintezei rezultatelor, se constată că peste 80% din cazurile a caror hernie de disc a fost supusă intervenției chirurgicale prezentau la RMN modificări tipice avansate la nivelul focarului lezional.

7. Prezența celulelor blastice în formele histopatologice incipiente și medii la 42 pacienți ($48,27 \pm 2,4\%$) indică o tendință de regenerare, cu formarea insulițelor cu elemente celulare noi. Formele avansate de degenerescență intradiscală la 45 pacienți ($51,7 \pm 2,7\%$) au un caracter ireversibil în care țesutul discal este înlocuit cu țesut conjunctiv cu calcificări solitare.



**Vă mulțumesc pentru
atenție !**