

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris
CZU:616.711.6-003.8

COCIUG ADRIAN

**PARTICULARITĂȚILE MORFOPATOLOGICE ALE
PROCESELOR DĂGENERATIV-DISTROFICE DIN
SEGMENTUL INTERVERTEBRAL LOMBAR**

311.02 – ANATOMIE PATOLOGICĂ

Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale

CHIȘINĂU, 2016

Teza a fost elaborată în Laboratorul catedrei Morfopatologie, al IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova

Conducător științific:

Zota Ieremie, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, laureat al Premiului de Stat din Republica Moldova, MC al AȘ RM

Consultant științific:

Caproș Nicolae, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

Referenți oficiali:

Victor Rîvneac - doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar

Căruntu Irina Draga - doctor în medicină, profesor universitar, Iași, România

Componența Consiliului Științific specializat:

Baciu Gheorghe – președinte, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar
Vudu Grigore – secretar științific, doctor în științe medicale, conferențiar universitar
Șaptefrați Lilian – doctor habilitat în științe medicale, conferențiar universitar
Catereniuc Iia – doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar
Șavga Nicolae sr. – doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar
Eftodiev Eduard – doctor în științe medicale, conferențiar universitar

Susținerea va avea loc la 18 mai 2016, ora 14:00 în ședința Consiliului științific specializat DH 50 331.03-03 din cadrul IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova (bd. Ștefan cel Mare și Sfânt nr. 165, Chișinău, MD-2004).

Teza de doctor în științe medicale și autoreferatul pot fi consultate la biblioteca IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova (bd. Ștefan cel Mare și Sfânt nr. 165, Chișinău, MD-2004) și pe pagina web a C.N.A.A. www.cnaa.md.

Autoreferatul a fost expedit la _____ 2016

Secretar științific

al Consiliului Științific specializat:

Doctor în științe medicale,
conferențiar universitar

Vudu Grigore

Conducător științific:

Doctor habilitat în științe medicale,
profesor universitar, MC al AȘ RM

Zota Ieremie

Consultant științific:

Doctor habilitat în științe medicale,
profesor universitar

Caproș Nicolae

Autor

Cociug Adrian

© Cociug Adrian, 2016

REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea temei: 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 vârstă tânără, apte de muncă [17, 18, 19, 20].

Conform ultimelor date ale Centrului Național de Statistică a Sănătății Publice din SUA, circa 26-32 % din populația de vârstă a doua își limitează activitatea din cauza durerilor în regiunea toraco-lombară a coloanei vertebrale.

Simona Stiuriuc (2009) consideră că fisurile inelului fibros sunt provocate traumatic, ca eveniment declanșat accidental. Degenerarea discurilor vertebrale lombare este un proces evolutiv al îmbatrânirii, nucleul pulpos fiind înlocuit cu fibrocartilaj, iar spațiul dintre nucleu și inelul fibros dispare. Proteoglicanii, apa și proteinele noncolagene scad, iar concentrația colagenului crește. Această creștere este mai pronunțată în țesuturile intervertebrale, inclusiv în regiunea lombară. Aceasta nu explică boala apărută la tineri. Diferiți factori (genetici, autoimuni, inflamatorii, traumatici, infecțioși, circulatori, anomaliile de dezvoltare), în diferite combinații determină începutul procesului de degenerare a țesuturilor afectate [12].

În structura generală a bolilor, cele mai reprezentative sunt bolile sistemului nervos periferic, care ocupă locul trei după gripă și traumatism în grupa bolilor neurologice. Din această grupă, 77 la sută sunt de etiologie vertebrogenă. Omul plătește scump pentru mersul său vertical biped. Acest fenomen al evoluției sale fizice a dus la diferite disfuncții ptozice, precum ptoza renală, gastrică, intestinală, hepatică, uterală, inclusiv herniile discale vertebrale. Osteocondroza vertebrală survine cu vârsta.

După datele lui Iu. Popeleanski (2003), în jurul vârstei de 40 de ani la fiecare a doua persoană se depistează modificări degenerative ale coloanei vertebrale, către 50 de ani – la 70% din populație, către 70 de ani – la 90%. Însă complicații neurologice se certifică doar în 12-14% din cazurile de osteocondroză vertebrală [18].

Așadar, luând în vedere cele expuse anterior, se impune o examinare individuală mai detaliată a segmentului intervertebral lombar, pentru a îmbunătăți tratamentul proceselor degenerative în osteocondroză la toate vârstele și la ambele sexe.

Schimbările structurale ale țesuturilor în regiunea lombară a coloanei vertebrale, cu timpul, de regulă, capătă un caracter ireversibil.

Descrierea situației și identificarea problemei în domeniul de cercetare

Cea mai bună soluție pentru diagnosticarea stadiilor incipiente de degenerare a discului este RMN, acolo unde testele mai puțin costisitoare sunt negative sau echivoce, prevenind eșecul clinic și terapeutic, mai costisitor, prin invaliditatea pe care o determină la persoanele tinere, în plină

activitate. Imagistica este considerată o unealtă ce furnizează identificarea incipientă și definitivă a leziunii discului, evaluează extensia acestuia, determină prognosticul și monitorizează efectul [80, 130].

O clasificare a degenerării discului coloanei vertebrale lombare prin metode imagistice a fost propusă de Modic Mt. et al. [153]. El a dovedit, prin rezonanță magnetică la pacienții supuși unui tratament antidolor cu chemopapaină, că există modificări de gradele I, II și III. Această clasificare a fost folosită în teză, deoarece sunt reprezentate clar gradele de modificare și diferențierea lor.

Thompson J.P. et al. [221], în 1990, au propus clasificarea macroscopică a modificărilor degenerative ale discurilor intervertebrale legate de vârstă, fiind utilă pentru evaluarea discurilor prelevate postmortem, evidențiind caracterele morfometrice (dimensiunile, consistența, culoarea, înălțimea). Tot ei au clasificat, imagistic prin RMN în discul nemodificat, începutul denerescentei, degenerescentă moderată, degenerescentă severă, care se folosesc actualmente în clasificarea histologică a schimbărilor degenerative în disc.

Nerlich A.G. et al. [162], în 2007, folosind colorarea imunohistochimică cu CD₃₁ a discurilor lombare schimbate degenerativ-distrofic, au dovedit prezența neovascularizării. Cel mai abundent este neovascularizată regiunea posterioară a inelului fibros. Tot ei au făcut examinarea discurilor la nou-născuți și au observat că lamelele terminale sunt perforate de capilare îndreptate spre inelul fibros, ocolind nucleul pulpos.

Weiler C.L. et al. [246], în 2010, identificând celule notocordale în timpul dezvoltării discului, îmbătrânirii și schimbărilor degenerative, ce s-a dovedit a fi un subiect de dezbatere, deoarece, sunt dificil demonstrate că, diferențierea morfologică este din celule notochordale sau non-notochordale, fapt care ia determinat să efectueze colorarea imunohistochimică utilizând markeri celulari - citocheratin-CK 8, 18, 19, și Galectin-3. Ei au dovedit că, celulele notocordale sunt într-o fracțiune considerabilă în discurile intervertebrale lombare la adulți, cu scădere în schimbările degenerativ-distorfice în disc.

În contextul celor expuse, studiul schimbărilor degenerative din discul intervertebral lombar necesită o investigație mai amănunțită, cu 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. Necesită o investigație a vaselor care alimentează discul intervertebral lombar, pentru a dovedi dacă este sau nu o corelare între ele, și nivelul frecvent afectat.

Așadar, având în vedere cele expuse anterior, se impune o examinare individuală mai

detaliată a particularităților degenerative din segmentul intervertebral lombar cu investigare RMN, histologie și imunohistochimie.

Scopul lucrării – 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.

În conformitate cu scopul lucrării au fost definite următoarele obiective:

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 lombare colorate imunohistochimic cu CD₃₄.
6. Identificarea celulelor participante la manifestările inflamatorii în arterele lombare afectate aterosclerotic, colorate imunohistochimic cu CD₆₈ și MCT și dezorganizarea fibrilară prin colorarea cu orceină și impregnarea argentică.

Metodologia cercetării științifice: Tipul studiului a fost descriptiv (integral).

Noutatea științifică a rezultatelor obținute.

Au fost elucidate histologic caracterul morfopatologic ale proceselor degenerativ-distrofice în discul intervertebral lombar.

Studiul a reușit să evidențieze caracterul reversibil și ireversibil ale schimbărilor degenerative în disc;

s-a demonstrat gradul schimbărilor degenerative ale discurilor intervertebrale cu includerea elementelor celulare și zonele frecvent afectate (nucleul pulpos și inelul fibros).

s-a demonstrat includerea elementelor segmentului intervertebral lombar în schimbările degenerative ale discurilor intervertebrale lombare, în dependență de gradul de afectare și vârstă;

s-a demonstrat o corelație de 80%, dintre RMN după Modic și histologia discului la nivelul focarului lezional;

s-a demonstrat prezența unei corelații în schimbările endoteliului peretelui vascular a

arterelor lombare L₁–L₅, colorate cu CD₃₄ și a discurilor intervertebrale lombare la acest nivel, examinate histologic, determinînd valoarea medie a indicelui de corelație Pearson $r = 0,54$, fiind interpretată ca asociație medie, care ar fi un indiciu în diagnosticarea gradului de afectare a discului intervertebral.

Semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării. Caracterul modificărilor RMN de tipurile I și II ar fi o indicație terapeutică de tratament, cu stimularea proceselor regenerative soldate cu sclerozarea țesutului nucleului pulpos și inelului fibros, iar tipul III RMN, confirmat histologic de schimbările severe de degenerescență cu hernie, ar fi o indicație pentru intervenție chirurgicală. Dereglările circulatorii ale arterelor lombare, confirmate imunohistochimic cu CD₃₄, ale peretelui vascular, corelativ cu gradul afectării discului, pretinde noi studii în obținerea metodelor de stimulare a neogenezei dintre lamelele terminale și nucleul pulpos, care ar schimba morfogeneza discului intervertebral.

Noutatea și originalitatea științifică: În premieră a fost evaluat studiu imunohistochimic cu CD₃₄ al endoteliului peretelui vascular al arterelor lombare pentru prima dată în Republica Moldova, care reprezintă o corelație dintre schimbările endoteliului arterelor lombare și degenerescența discului intervertebral lombar, fapt ce ar atrage atenția asupra soluționării schimbărilor discirculatorii în disc.

Rezultatele științifice principale înaintate spre susținere:

1. Studiul analitic efectuat a confirmat că metodele imagistice și histologice utilizate în consecutivitate corectă, permit o determinare a particularităților morfologice al schimbările degenerative din discul intervertebral lombar, ceea ce permite optimizarea managementului pacienților cu degenerescență discală complicată cu hernie de disc.

2. Selectarea și aplicarea metodei concrete de tratament al tipului de modificări degenerative poate fi efectuată în baza RMN și histologiei determinînd aria afectată, localizării și densității lui raportate la datele privind forma/dimensiunile și localizarea degenerescenței, prezența herniei cu compresie radiculară, prezintă dereglări neurologice.

3. Colorarea imunohistochimică cu CD₃₄ a arterelor lombare arată gradul de afectare a întimei peretelui vascular ce corelează cu starea discului intervertebral afectat la acest nivel.

4. Următorii factori de risc sunt asociate cu schimbările discirculatorii din disc, una din ele fiind cauzată de ateroscleroza arterelor lombare dovedite imunohistochimic, ce necesită examinare imagistică (examenul Doppler sau RMN) ale arterelor lombare.

5. Prezența celulelor blastice în formele histopatologice incipiente și medii indică o tendință de regenerare, cu formarea insulițelor cu elemente celulare noi. Formele avansate de degenerescență intradiscală au un caracter ireversibil în care țesutul discal este înlocuit de țesut

conjunctiv cu calcificări solitare.

Metodologia cercetării științifice: În conformitate cu scopul și obiectivele lucrării, a fost supusă cercetării segmentele 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 ligamenelor). S-a studiat structura arterelor lombare prin investigație histologică, colorare cu hematoxelin-eozină (efectuată în Republica Moldova), colorarea cu orceină, impregnarea argentică și imunohistochemia cu anticorpi MCT (mastocyte cell tryptase), CD₆₈ (identificarea macrofagelor) și CD₃₄ (determină starea intimei vasculare și celulele stem), efectuat în Centru Cercetării în Angiogeneză din Timișoara, România.

Studiul a fost realizat pe materialul tisular, recoltat din disc prin biopsii țintite din leziunile macroscopic decelabile, piesele de conizație, material postoperator, speciemenle fiind colectate de la 173 pacienți cu vârsta cuprinsă între 18 și 76 ani și arterele lombare pe un eșantion de 20 cazuri L₁ până la L₅ (100 artere lombare) și discurile intervertebrale L₁ – L₅ la acest nivel. Materialul prelevat histologic a fost clasificat în felul următor: degenerescență incipientă 10 (11,49±2.42%), degenerescență medie 32 (36,78±3.67%) și degenerescență avansată 45 (51,72±5.36%).

Procesarea primară a materialului a fost similară pentru toate metodele histomorfologice, și imunohistochemice utilizate în studiu. Speciemenle prelevate au fost fixate în formalină tamponată pH 7,2 10% timp de 16-24 de ore, ulterior fiind incluse în parafină după metoda standard. Din fiecare bloc s-au realizat secțiuni seriate cu grosimea de 3μm, care au fost montate pe lame histologice uzuale în cazul colorațiilor histomorfologice. În cercetările imunohistochemice secțiunile au fost montate pe lame silanate sau pe lame de tip „capillary gap”, cu o grosime de 75μm, care asigură o adeziune înaltă și nu necesită adezivi suplimentari, care ar putea influența rezultatele imunoreacțiilor.

Este efectuat examenul RMN la 173 bolnavi, clasificând de modificările de la nivelul discului intervertebral lombar și platourilor vertebrale în trei tipuri majore, conform stadializării Modic. Secțiunile destinate colorării imunohistochemice, erau, inițial, supuse deparafinării. Pentru a facilita marcarea antigenului dorit cu anticorpii specifici, parafina trebuie să fie înlăturată din secțiune cât mai bine posibil. Imunohistochemic cu CD₃₄ a arterelor lombare. De aceea, în acest studiu, pentru interpretarea și raportarea cazurilor prelucrate imunohistochemic, folosind anticorpii prezentați mai sus, am aplicat criteriile de interpretare din literatura de specialitate (Jasani și Schmidt, 1993) [108], conform cărora, intensitatea colorației se consemnează astfel: reacție intens pozitivă (+++) – peste 80% din celulele distribuite difuz, bine vizibile la examinare cu obiectiv mărire mică (1 caz); reacție de intensitate moderată (++) – 30-80% din celulele cu dispoziție focală, bine vizibile la examinare cu obiectiv cu mărire medie (5 cazuri); reacție de intensitate slabă (+) – în 5-30% din celulele izolate,

bine vizibilă la examinare cu obiectiv cu mărire mare (10 cazuri); reacție de intensitate foarte redusă (+/-) – imunocolorare în mai puțin de 5% din celule (3 cazuri); lipsa reacției (-).

Implementarea rezultatelor: Studiul în cauză a contribuit la utilizarea colorației imunohistochimice cu CD₃₄, CD₆₈, și MCT a arterelor lombare, și hematoxelin-eozină a elementelor postoperatorie din discurile intervertebrale laboratorului Morfologie IP USMF „Nicolae Testemițanu”, secția științifică Morfopatologie din cadrul CMȘPMU, IMSP SCTO, SCM „Sf. Treime” cât și în Laboratorul de Inginerie Tisulară și Culturi Celulare.

Aprobarea rezultatelor cercetării:

Rezultatele studiului au fost prezentate și discutate în cadrul mai multor reuniuni științifice la al X-lea Congres Național de Morfopatologie Microscopică cu Participare Internațională. Societatea Română de Morfologie. Timișoara, România, 24-26 mai 2012, la al 4-lea Congres Medical International pentru Studenți și Tineri Medici. 17-19 mai, 2012. Chișinău, Republica Moldova, la al 2-a nd Conferință Internațională de Nanotehnologie Inginerie Biomedicală Workshop Moldo-German. 18-20 aprilie, 2013, la sesiunea-XIX-lea a zilelor medicale balcanice, iar al doilea Congres de Medicina de Urgenta din Republica Moldova. Arhives ale Uniunii Medicale Balcanice. 2013, la ședința Catedrei de morfopatologie a USMF „Nicolae Testemițanu” (28.12.2010), la ședința seminarului științifico-metodic de profil (14.00.15 – morfopatologie) a USMF „Nicolae Testemițanu”, la al XII-lea simpozion național de morfologie microscopică cu participare internațională. Evaluarea imagistică RMN, imunohistochimia cu CD₃₄ ale arterelor vertebrale în degenerescența discurilor intervertebrale lombare. Volum de rezumate. Societatea Română de Mofologie. Craiova, România, 28-31 mai 2014.

Publicații la tema tezei: rezultatele cercetării au fost reflectate în 18 lucrări științifice, inclusiv 12 în reviste recenzate, dintre care 3 articole fără coautor, 5 articole în reviste internaționale cotate scopus -1, 4 teze în comunicările științifice internaționale, au fost obținute 8 brevet de invenție, 10 hotărâri la brevete de invenție unul apreciat cu 4 medalii de aur, Inventica 2014, Iași, 2 Proinventica, Cluj-Napoca, Infoinvent 2015, Chișinău și o medalie de argint, International Waesaw Invention Show Iwis 2014.

Volumul și structura tezei: Teza este expusă pe 140 pagini text de bază (161 pagini text dactilografiat) și e constituită din adnotări (în limbile română, rusă, engleză), introducere, 4 capitole, concluzii generale, recomandări practice, bibliografie cu 308 surse de referință, 5 anexe, 13 tabele și 48 figuri.

Cuvinte-cheie: modificări degenerativ-distrofice, rezonanță magnetică nucleară, artera lombară 1-5, discul intervertebral 1-5, mastocyt cell tryptase, imunohistochimie, hematoxelin-eozină, nucleu pulpos, inel fibros, corp vertebral, lamele terminale cartilaginoase, ligament flav,

ligament interspinal, ligament spinal, ligament longitudinal anterior, ligament longitudinal posterior, proces transvers, fosete articulare, interlamendisectomie, hemilamen-disectomie,

CONȚINUTUL TEZEI

În compartimentul „Introducere” este redată actualitatea temei abordate în teză. Se face o trecere succintă în revistă a datelor de ultimă oră referitor la realizările din domeniul diagnosticului și prevenirii modificărilor degenerativ-distrofice. Sunt menționate problemele și motivele ce au determinat apariția dereglărilor discirculatorii la nivelul discurilor intervertebrale lombare. Este descrisă necesitatea studierii osteocondrozei prin prisma datelor epidemiologice regionale ale acestei maladii. Este descris scopul și obiectivele tezei, noutatea științifică a rezultatelor obținute, importanța teoretică și valoarea aplicativă a lucrării și aprobarea rezultatelor.

1. PARTICULARITĂȚILE ANATOMICE ȘI BIOMECANICE A COLOANEI VERTEBRALE ȘI DISCURILOR INTERVERTEBRALE

Acest capitol cuprinde sinteza rezultatelor expuse în literatura de specialitate referitor la temă, redând date noi despre elementele structurale ale coloanei vertebrale, structura discului nemodificat (nucleul pulpos, inelul fibros și lamelele terminale), noțiuni de embriologie a coloanei vertebrale și a discurilor intervertebrale, formarea elementelor structurale la copii și maturi din notocordul (mezoderm), dezvoltarea discului intervertebral, mediatizarea, migrarea celulelor, diferențierea și supraviețuirea care dau creșterea nucleului pulpos, inelului fibros, lamelelor terminale și rudimentelor corpurilor vertebrale. Regresia vasculară postnatală a discurilor intervertebrale este una din schimbările importante care induce nutriția săracă a celulelor din discul intervertebral avascular, ce dezvoltă patogeneza degenerării legate de vîrstă. Cauzele posibile ale regresiei vasculare sunt cerințele scăzute de substanțe nutritive în perioada inițială de creștere rapidă sau, mai probabil, diferența dintre presiunea circulară intracelulară și tensiunea din matricea extracelulară. Structura biochimică a discurilor intervertebrale evidențiază cele două componente macromoleculare – fibrele de colagen tip I și tip II –, care mențin rezistența discului la tracțiune față de trabeculele țesutului osos. Proteoglicanii constituie componentul de bază ale ambelor tipuri de colagen. Schimbările biochimice importante, apărute în degenerarea discului intervertebral, duc la pierderea proteoglicanilor. Modele experimentale de boli degenerative ale discului intervertebral pe animale de laborator, în funcție de specie, vîrstă și de alți factori, s-a acordat o mare atenție dezavantajelor identificate în diferite metode și modalități de depășire a acestora. S-a analizat influența efectelor mecanice asupra discului intervertebral, cum ar fi instabilitatea de disc (lezarea ligamentelor), lezarea traumatică a nucleului pulpos cu obiecte ascuțite (ace) sau de aspirație, modelarea sarcinii axiale pe discurile intervertebrale (compresiune), modele

experimentale care imită presiunea asupra coloanei vertebrale pe discurile intervertebrale, simulînd locomoția bipedă.

2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

Capitolul prezintă caracteristica generală a materialului studiat, metodelor histologice, imunohistochimice de investigație. Sunt prezentate grupele de leziuni incluse în studiu și criteriile de selectare a cazurilor. Sunt descrise metodele de interpretare a rezultatelor (cuantificarea structurilor de interes, scorificarea intensității expresiei diferitor markeri analizați). Sunt enumerate metodele prin intermediul cărora a fost realizată prelucrarea statistică a rezultatelor obținute.

2.1. Caracteristica generală a cercetării

Studiul selectiv, caz-control.

2.2. Obiectul de studiu

În conformitate cu scopul și obiectivele lucrării, a fost supusă cercetării segmentele 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). S-a studiat structura arterelor lombare prin investigație histologică, colorare cu hematoxelin-eozină (efectuată în Republica Moldova), colorarea cu orceină, impregnarea argentică și imunohistochimia cu anticorpi MCT (mastocyte cell tryptase), CD₆₈ (identificarea macrofagelor) și CD₃₄ (determină starea intimii vasculare și celulele stem), efectuat în Centru Cercetării în Angiogeneză din Timișoara, România.

Studiul a fost realizat pe materialul tisular, recoltat din disc prin biopsii țintite din leziunile macroscopic decelabile, piesele de conizație, material postoperator, speciemenle fiind colectate de la 173 pacienți cu vârsta cuprinsă între 18 și 76 ani și arterele lombare pe un eșantion de 20 cazuri L₁ pînă la L₅ (100 artere lombare) și discul intervertebral L₁ – L₅ la acest nivel. Materialul prelevat histologic a fost clasificat în felul următor: degenerescență incipientă 10 (11,49±2.42%), degenerescență medie 32 (36,78±3.67%) și degenerescență avansată 45 (51,72±5.36%) (tabelul 3.3).

S-au investigat RMN 173 pacienți, care au fost repartizați în doua loturi: lotul I cuprinde 86 de pacienți (49,7 ±3,80%) cu durere lombară de etiologie discală, tratați exclusiv conservator; lotul II – 87 de pacienți (50,29±3,80%), a caror hernie lombară a fost sancționată chirurgical.

2.3. Metodele cercetărilor științifice

Procesarea primară a materialului a fost similară pentru toate metodele histomorfologice, și

imunohistochimice utilizate în studiu.

Cu scopul examinării modificărilor degenerativ-distrofice a nucleului pulpos, inelului fibros, ligamentelor longitudinale, lamelei terminale și a osului spongios din corpurile vertebrale, s-a confecționat un dispozitiv pentru secționarea țesuturilor. Brevet de invenție. **Cociug Adrian**, Macagonova Olga, Caproș Nicolae, Nacu Viorel. 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.

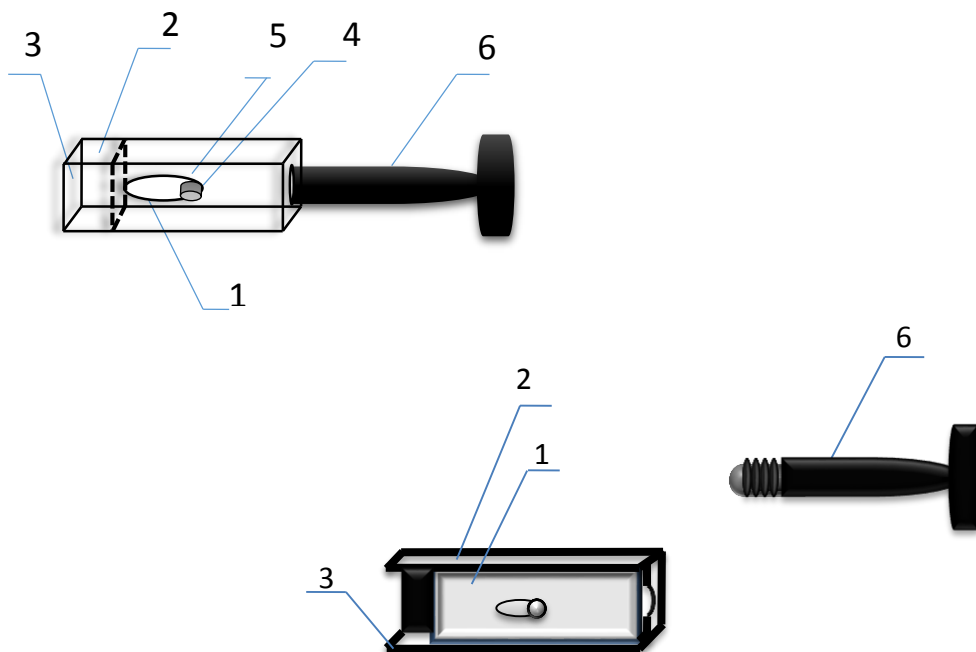


Fig 2.1. Dispozitiv pentru secționarea țesuturilor. Prezintă un piston dreptunghiular (1) intact turnat din oțel inoxidabil aranjat în interiorul unui dreptunghiular gol (2) turnat și confecționat din oțel inoxidabil, pe partea anterioară a căruia este formată fereastră (3) cu margini ascuțite pentru secționarea și pe una din fețele laterale a lui este secționată o captură (4) în așa mod ca pistonul din interiorul lui în timpul secționării prin piciorușul de fixare (5) turnat și proeminent era menținut spre partea de sus și după secționarea va fi coborât jos pentru a împinge țesutul în afară; un mâner de lovire (6) care este înșurubat la piston.

Se alege discul, cu partea anterioară ascuțită a dălții se fixează locul pentru secționare și cu ciocanul se lovește pe suprafața mânerului dălții. Cu piciorușul din căptura dălții glisăm anterior pistonul și se obține blocus configurat care se îndreapta pentru investigare macro-și microscopică. Specimenele prelevate au fost fixate în formalină tamponată pH 7,2 10% timp de 16-24 de ore, ulterior fiind incluse în parafină după metoda standard. Din fiecare bloc s-au realizat secțiuni seriate cu grosimea de 3μm, care au fost montate pe lame histologice uzuale în cazul colorațiilor histomorfologice. În cercetările imunohistochimice secțiunile au fost montate pe lame silanate sau pe

lame de tip „capillary gap”, cu o grosime de 75µm, care asigură o adeziune înaltă și nu necesită adezivi suplimentari, care ar putea influența rezultatele imunoreacțiilor.

Metoda imagistică RMN

S-a efectuat examenul RMN la 173 bolnavi, clasificând de modificările de la nivelul discului intervertebral lombar, țesutul osos al platourilor vertebrale, rădăcinile nervoase, măduvei spinării, ligamentelor, mușchilor și vaselor de sânge, în trei tipuri majore, conform stadializării Modic. Tipul I – (41 persoane (23,69±3,23 %)) degenerare discală timpurie; semnal de tip lichidian inflamator. Aspect de hipersemnal în T₂, hiposemnal în T₁. Tipul II – (55 pacienți (31,72±3,54 %)) semnal de tip grăsos al platourilor vertebrale, aspect de hipersemnal în T₁ și T₂. Tipul III – (77 pacienți (44,51±3,78 %)) semnal de tip fibros, aspect de hiposemnal în T₁ și T₂.

Metoda histologică

Pentru stabilirea gradului modificărilor degenerativ-distrofice după metoda Thomson, secțiunile au fost colorate cu hematoxină eozină (H-E) și picrofuxină utilizând metoda tehnică standard. Histologic, 10 pacienți (11,49±3,42%) aveau **forme incipiente de degenerescență** a discului intervertebral, 32 pacienți (36,78±4,32%) – **forme medii de degenerescență** a discului intervertebral, și 45 de pacienți (51,72±5,36 %), cu **forme avansate de degenerescență** a discului intervertebral, în care s-au determinat: cartilaj discal hialinizat, calcificări intradiscale sau zone de osificare, infiltrat limfocitar.

Metoda imunohistochimică

Secțiunile destinate colorării imunohistochimice, erau, inițial, supuse deparafinării. Pentru a facilita marcarea antigenului dorit cu anticorpii specifici, parafina trebuie să fie înlăturată din secțiune cât mai bine posibil. Imunohistochimic cu CD₃₄ a arterelor lombare. De aceea, în acest studiu, pentru interpretarea și raportarea cazurilor prelucrate imunohistochimic, folosind anticorpii prezentați mai sus, am aplicat criteriile de interpretare din literatura de specialitate (Jasani și Schmidt, 1993) [108], conform cărora, intensitatea colorației se consemnează astfel: reacție intens pozitivă (+++) – peste 80% din celulele distribuite difuz, bine vizibile la examinare cu obiectiv mărire mică (1 caz); reacție de intensitate moderată (++) – 30-80% din celulele cu dispoziție focală, bine vizibile la examinare cu obiectiv cu mărire medie (5 cazuri); reacție de intensitate slabă (+) – în 5-30% din celulele izolate, bine vizibilă la examinare cu obiectiv cu mărire mare (10 cazuri); reacție de intensitate foarte redusă (+/-) – imunocolorare în mai puțin de 5% din celule (3 cazuri); lipsa reacției (-).

2.4. Prelucrarea matematică a rezultatelor

Metoda hot-spot [224] este cea mai utilizată metodă manuală de cuantificare a structurilor histologice. La microscopul optic ariile de cuantificare se aleg la o mărire *200, ceea ce corespunde suprafeței de 0,74 mm². Metoda constă în alegerea a trei zone cu densitatea cea mai mare a structurilor histologice (nucleul pulpos, inelul fibros, celule condrocite), numărarea structurilor din

interiorul acestora fiind urmată de calcularea mediei aritmetice.

Analiza statistică a fost efectuată cu ajutorul softurilor SPSS13.0 și Microsoft Excel 2002, și a inclus analiza bivariată, testul χ^2 și testul Student, valorile $p < 0.05$, fiind considerate semnificative.

Examinarea microscopică și obținerea imaginilor a fost efectuată cu microscopul Nikon Eclipse E800, folosind ocularul cu grosiment de 4 și obiective corectate optic planapocromate cu grosimente de X2,5, X4, X10, X20 și X65. Cele mai semnificative imagini au fost preluate cu ajutorul unei camere video-digitale Nikon DN 100 și achiziționate direct în calculator cu ajutorul programului LUCIA NET versiunea 1.16.5. Imaginile microscopice au fost prelucrate cu ajutorul modulului „Contrast Enhancement” din programul de analiză a imaginii Olympus Micro Image 3.0 – 32 bit.

Selectarea cazurilor

În prima etapă a cercetării am stabilit lotul de studiu prin selectarea cazurilor cu diagnosticul clinic de durere lombară însoțită sau nu de radiculopatie prin hernie de disc lombară.

Din 1432 de pacienți internați în secția de vertebrologie din ianuarie 2008 până în martie 2012, a Spitalului Clinic Traumatologie și Ortopedie 800 pacienți cu osteocondroză acuzau dureri lombare, iar 173 au corespuns criteriilor de includere în studiu.

Modalitatea de selectare și repartizare a pacienților în grupe:

441 – cu durere lombară joasă, prin hernie de disc fără afectare neurologica; din aceștia au fost selectați 50;

339 – cu durere lombară joasă, prin hernie de disc lombara și radiculopatie; au corespuns cerințelor studiului 36;

250 din ei au fost interveniți chirurgical – ablația herniei de disc lombare; au corespuns protocolului de includere în studiu 87.

Segmentele vertebrale lombare cu arterele lombare $L_1 - L_5$ de la 27 pacienți decedați în moarte cardiacă la SCM „Sfânta Treime” au fost studiate histologic.

Toți pacienții incluși în studiu au beneficiat de investigație cu ajutorul rezonanței magnetice nucleare $L_1 - L_5$, care a confirmat diagnosticul clinic și a stabilit nivelul schimbărilor degenerative cu hernie de disc lombară.

Criteriile de includere:

- durere lombară cu sau fără radiculopatie de etiologie discală;
- durere lombară cu sau fără radiculopatie după laminectomie;
- vârsta peste 18 ani;
- posibilitatea evaluării bolnavului de cel puțin două ori pe an, timp de un an;
- acceptul pacientului pentru investigație cu rezonanță magnetică nucleară;
- lipsa antecedentelor de incompatibilitate cu RMN (pacemaker, claustrofobie);

- colectarea datelor conform principiilor de etică medicală.

Criteriile de excludere:

- vârsta sub 18 ani;
- boli reumatice;
- afecțiuni organice invalidante, asociate, după accidente;
- durere lombară de altă etiologie: traumatică, tumorală, musculo-ligamentară etc.;
- boli psihice.

Evaluând datele clinice și cele imagistice, am stabilit lotul de studiu.

După analiza imaginii rezonanței magnetice am stabilit nivelul schimbărilor degenerative cu hernie de disc lombar în lotul studiat.

Repartizarea pacienților în loturi

Cei 173 pacienți au fost repartizați în două loturi: lotul I cuprinde 86 de pacienți (49,7 ±3,80%) cu durere lombară de etiologie discală, tratați exclusiv conservator; lotul II – 87 de pacienți (50,29±3,80%), a caror hernie lombară a fost sancționată chirurgical. Menționez că toți subiecții au fost diagnosticați în urma examinării RMN, care a evidențiat hernia de disc lombară. Lotul I a fost împărțit în două grupe, în funcție de prezența sau absența radiculopatiei:

grupa A – 48 pacienți (27,74±5,25%) cu dureri lombare de etiologie discală fără radiculopatie;

grupa B – 38 pacienți (21,96 ±5,86%) cu radiculopatie lombară de etiologie discogenă.

Lotul II, în care au fost incluși 87 pacienți, este supus studiului imagistic și morfologic. Lotul general se prezintă în felul următor:

Tabelul 2.1. Repartizarea pacienților din loturile de cercetare în funcție de nivelul afectării

Nivelul afectat	L1 n1 = 86		L2 n2 = 87		P
	Abs.	P1± ES1(%)	Abs.	P2± ES2(%)	
L1 – L2	-	-	-	-	
L2 – L3	-	-	3	3,4±1,94	>0.05
L3 – L4	12	14,0±3.74	8	9,2±3,09	>0.05
L4 – L5	40	46,5±5.38	46	52,9±5,35	>0.05
L5 – S1	34	39,5±5.27	30	34,5±5,09	>0.05

*P>0,05

Tabelul 2.2. Repartizarea pacienților pe sexe.

Sex	n ₁ =86		n ₂ =87		P
	Abs.	P ₁ ± ES ₁ (%)	Abs.	P ₂ ± ES ₂ (%)	
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

Tabelul 2.3. Repartizarea pacienților pe grupe de vîrstă.

Categoriile de vîrstă (ani)	n ₁ =86		n ₂ =87		P
	Abs.	P ₁ ± ES ₁ (%)	Abs.	P ₂ ± ES ₂ (%)	
Pînă 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 L_I =50.7±1.22 ani, în lotul II L_{II}=40,1±1,41 ani (p<0.001)

3. CARACTERISTICI MORFOPATOLOGICE ALE PROCESELOR DEGENERATIV-DISTROFICE ÎN DISCUL INTERVERTEBRAL LOMBAR

3.1. 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.

Examinarea RMN a fost realizată în Centrul Diagnostic German din Chișinău, cu un aparat „Siemens” cu puterea de 1,5 T. 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.

Am efectuat examenul RMN la 173 bolnavi, clasificînd de modificările de la nivelul discului intervertebral lombar și platourilor vertebrale în trei tipuri majore, conform stadializării Modic.

Tabelul 3.1. Distribuirea cazurilor lotului de studiu dupa tipul modificarilor evidentiata de RMN.

Modificările	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 ## (4,62±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 ### (34,10±3,60 %)

** P<0,05; ## P<0,05; ### P<0,01

Modificările degenerative discale sunt surprinse în stadiile incipiente, și anume: semnalul RMN discal se modifică în mod caracteristic; deshidratarea nucleului pulpos și a porțiunii interne a inelului fibros determină reducerea, iar apoi pierderea hipersemnalului în T₂, aceste structuri nemaiputând fi individualizate de fibrele Sharpey externe ale inelului fibros [11]. Ulterior, fisurile concentrice, radiale sau transversale, ale inelului fibros sunt vizibile datorită conținutului lor lichidian ca zone liniare în hipersemnal T₂ sau după administrarea de gadolinium [11]. Degenerarea discale era prezentă la 173 de pacienți din studiu (100%) și asociată cu scăderea înălțimii discului – la 77 de pacienți (44,51±3,78 %). Deteriorarea discului era însoțită de alterarea plăcii cartilajinoase care separă inelul fibros de platoul vertebral.

Rezultatele RMN evaluate în studiu

Tipul I – (41 persoane (23,69±3,23 %)) degenerare discale timpurie; semnal de tip lichidian inflamator.

Aspect de hipersemnal în T₂, hiposemnal în T₁, semnifică întreruperea și fisurarea platourilor cartilajinoase și prezența țesutului fibrovascular la nivelul măduvei osoase adiacente, iar uneori, și la nivelul spațiului discal. Este un stadiu reversibil sau poate evolua spre tipul II.

Tipul II – (55 pacienți (31,72±3,54 %)) semnal de tip grasos al platourilor vertebrale, aspect de hipersemnal în T₁ și T₂; este datorat involuției medulare; este un stadiu ireversibil, însoțit întotdeauna de reducerea înălțimii discului.

Tipul III – (77 pacienți (44,51±3,78 %)) semnal de tip fibros, aspect de hiposemnal în T₁ și T₂- corespunde dispariției spongioasei osoase în regiunile adiacente degenerescenței discale, unde se instalează procesele de reconstrucție osoasa reactivă; corespunde stadiului de condensare a

platourilor vertebrale vizibile pe radiografia standard.

3.2. Studiul histologică a segmentului intervertebral lombar

Probleme de etică Studiul s-a desfășurat cu respectare Declarației de la Helsinki din 1975, revizuită în 1983. Fiecare pacient a semnat un consimțământ care conținea toate informațiile despre participare la studiu și despre modul de folosire a datelor private (vezi anexa1).

3.3. Evaluarea lotului de studiu

Au fost studiate 87 de discuri intervertebrale obținute postoperator de la bolnavii operați în secția de vertebrologie a IMSP SCTO în ianuarie 2008 – decembrie 2009 și din prelevarea materialului cadaveric (segmente vertebrale lombare) de la 8 cadavre cu diferite patologii somatice, vîrstă și sex din SCM „Sfînta Treime”. Studiul histopatologic, folosind colorarea cu hematoxelin-eozină și picrofuxină, a fost efectuat în Laboratorul de anatomie patologică al USMF „Nicolae Testemițanu”. Vîrsta pacienților operați (figura 3.2): pînă la 20 ani – 7 (8,04±1,07%); 21-30 ani – 14 (16,09±3,94%), 31-40 ani – 23 (26,43±4,73%), 41-50 ani – 24 (27,58±4,79%), 51-60 ani – 14 (16,09±3,94%), după 61 ani – 5 (5,73±3,55%).

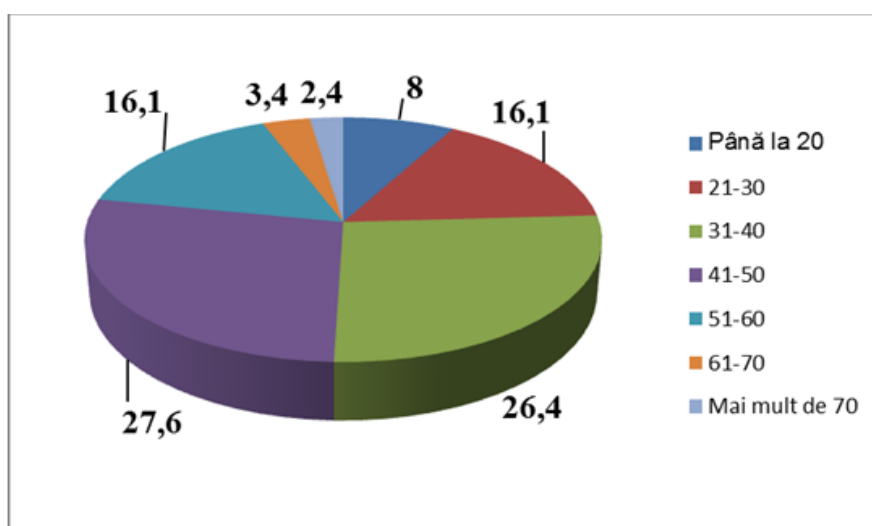


Fig. 3.2. Structura lotului L_{II} în funcție de grupele de vîrstă (ani) (%).

Vârsta medie pentru L_{II} este de 40,1±1,41 ani

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).

Rezultatele investigației histologice a discului intervertebral lombar

Histologic, 10 pacienți (11,49±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 vârsta 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.

3.4. Corelațiile dintre RMN și histopatologia diagnosticării precoce a leziunilor discurilor intervertebrale

Evaluarea cazurilor studiate

În urma analizei datelor clinice, RMN, histochimice, a celor 87 cazuri (tabelul 3.7), am realizat o stadializare clinico-imagistică a leziunilor discale intervertebrale. Stadializarea imagistică oferită de RMN a avut ca reper clasificarea Modic (tipurile I, II, III).

Contribuția personală a constatat în stadializarea leziunilor discului intervertebral corelate cu leziunile RMN descrise de Modic. Astfel, au fost determinate cele trei tipuri majore de modificări la nivelul discului intervertebral și al platourilor vertebrale.

Primul tip de evaluări RMN în corelație cu histopatologia discului intervertebral lombar

Primul tip de modificări RMN 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: corpii vertebrali paraleli cu platourile vertebrale ale discului degenerat prezintă un semnal de intensitate diminuată pe imaginile ponderate în T_1 și de intensitate crescută în T_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 în centrul imaginii;
- hialinizare cât și zone de edem interfibrilar pe țesutul discal fibrozat.

Al doilea tip de evaluări RMN în corelație cu histopatologia discului intervertebral lombar

Modificările IRM de tip II, care au fost identificate la 55 ($31,72 \pm 3,54\%$) de pacienți, din care 20 ($11,56 \pm 2,43\%$) – operați, au fost următoarele:

- creșterea intensității semnalului pe imaginile ponderate în T_1 și un semnal izointens sau ușor hiperintens pe imaginile din T_2 , expresia imagistica a leziunilor discale constând în protruzia nucleului pulpos și hernii discale incipiente relativ recente.

Modificări histopatologice în faza a doua, în formele medii de degenerescență a discului intervertebral, au fost depistate la 32 (36,78±3.67%) pacienți:

- țesut cartilaginos discal cu condrocite în condroblaste de aspect papilar și zone hemoragice;
- condroblaste cu condrocite asociate cu zona de degenerescență mixoidă.

Al treilea tip de evaluări RMN în corelație cu histopatologia discului intervertebral lombar

Modificările de tip III IRM, identificate la 77 (44,51±3,78 %) pacienți, din care 59 (34,10±3,60 %) – operați, au fost următoarele:

- scăderea intensității semnalului pe imaginile ponderate atât în T₁ cât și T₂ fiind corelată cu scleroza osoasă extensivă vizualizată pe imaginile radiografice planare uzuale, în timp ce modificările de tipurile I și II nu au corespuns radiologic.

Modificări histopatologice de tip III, în formele avansate de degenerescență a discului intervertebral, au fost descoperite la 45 (51,72±5.36%) pacienți:

- degenerescență mixoidă și calcificări intradiscale;
- cartilaj discal hialinizat cu zone de calcificare intradiscală și prezența celulelor tinere–fibroblaste și condroblaste;
- țesut cartilaginos cu zone de fibroză și infiltrat inflamator cronic.

Tabelul 3.3. 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

În capitolul 4 „Deregările de circulație în discul intervertebral lombar” este studiată structura arterelor lombare și discurilor intervertebrale prin investigație histologică, colorare cu hematoxelin-eozină. Colorarea cu orceină, impregnarea argentică și imunohistochimia cu anticorpi MCT (mastocyte cell tryptase), CD₆₈ (identificarea macrofagelor) și CD₃₄ (determină starea intimii vasculare și celulele stem), pe un eșantion de 20 cazuri de artere lombare L₁ până la L₅ (100 artere lombare) și discul intervertebral L₁ – L₅ la acest nivel. S-a determinat ordinea consecutivității afectării arterele lombare fiind: L₄ >L₅ > L₃ > L₂ > L₁; Cele mai afectate artere sunt arterele lombare aL₄, evidențiinduse 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 ($20 \pm 8.94\%$, $p > 0.05$) dar sumarul intensității colorării prevalează la aL₁ fiind mai puțin afectate; cel mai afectat este discul intervertebral L₄ – modificări severe fiind în 8 cazuri ($40 \pm 10.95\%$), iar mai puțin afectat discul L₁ – avînd modificări incipiente în L₄ cazuri ($70 \pm 10.25\%$).

4. DEREGLĂRILE DE CIRCULAȚIE ÎN DISCUL INTERVERTEBRAL LOMBAR

4.1. Sinteza și evaluarea cazurilor incluse în studiu

Lucrarea este bazată pe studierea structurii arterelor lombare și discurilor intervertebrale prin investigație histologică, colorare cu hematoxelin-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 Laboratorul de Investigații Imunohistochimice din Timișoara, România, sub conducerea profesorului Marius Raica.

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”. Vîrsta persoanelor decedate din lotul de studiu (tabelul 4.1): pînă la 60 ani – 4 persoane ($20,0 \pm 8.94$), 61-70 ani – 2 persoane ($10,0 \pm 6.71$), 71-80 ani – 8 persoane ($40,0 \pm 10.95$), 81-90 ani – 6 persoane ($30,0 \pm 10.25$).

Arterele lombare au fost prelevate de la fiecare caz aparte, începînd cu nivelul L₁ pînă la L₅ și discul intervertebral L₁ – L₅.

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

Vîrsta	Abs.	P±ES (%)
pînă 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 a decedaților: $73,0 \pm 2.28$ ani

4.2. Colorarea peretelui vascular cu orceină și impregnarea argentică

Impregnarea argentică Gomori – compus chimic din permanganat de potasiu (KMnO₄) metabisulfid de sodiu și potasiu și soluție argento-amoniacală, ce colorează fibrele de reticulină în

negru, fibrele de collagen – în roșu purpuriu, nucleeele – în negru, iar citoplasma în galben (figura 4.1.).

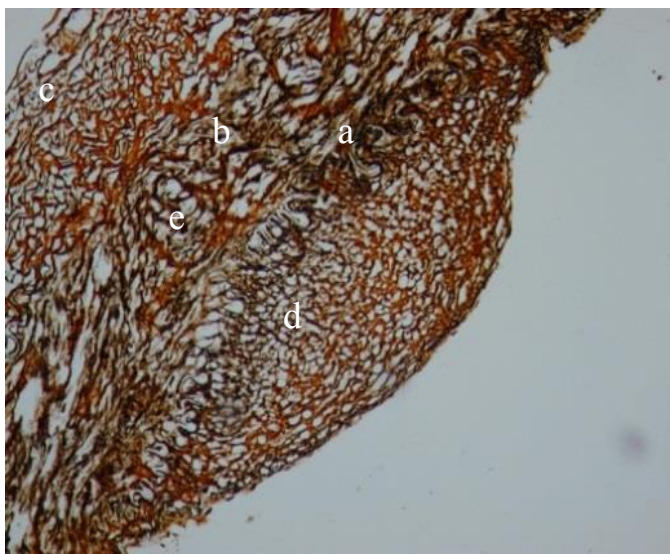


Fig. 4.1. Artera lombară 5: a) fibre de reticulină, b) nucleul celulelor colorare în negru, c) fibre de collagen colorate în roșu, d) placă fibroasă, e) citoplasma celulelor colorată în galben; impregnare argentică x 90. (Pacientul C., 81 ani).

La investigarea histologică a arterelor lombare cu impregnare argentică (figura 4.1) se evidențiază bine structurile fibrilare din arhitectonica peretelui vascular, ușor evidențiate modificările patologice, cum ar fi plăcile fibroase (b) la etapele incipiente și avansate de ateroscleroză.

În colorarea cu orceină (figura 4.2), fibrele sunt roșu – cărămizii (a), care evidențiază bine prezența plăcilor aterosclerotice la nivelul peretelui vascular, și caracterelor morfometrice.

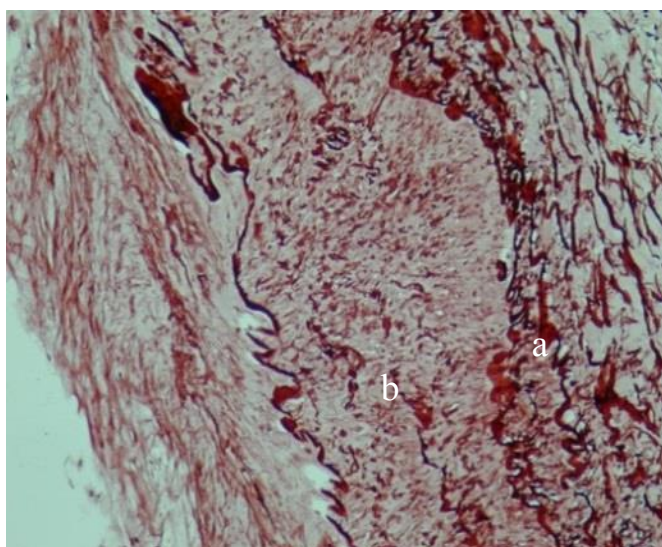


Fig. 4.2. Artera lombară 5: a) dezorganizarea structurilor fibrilare, b) placă fibroasă la nivelul intimei; orceină x 90. (Pacienta B., 74 ani).

4.3. Evidențierea imunohistochimică cu CD34 a elementelor structurale din perețele arterelor 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 lombare L₁–L₅ prelevate de la 20 persoane.

Aprecierea reacțiilor imunohistochimice. Până în prezent, în imunohistochimie nu există o metodă standardizată sau universal acceptată pentru selectarea câmpurilor histologice sau pentru exprimarea rezultatelor. De aceea, în acest studiu, pentru interpretarea și raportarea cazurilor prelucrate imunohistochimic, folosind anticorpul prezentat mai sus, am aplicat criteriile de interpretare din literatura de specialitate (Jasani M.K. și Schmidt S., 1993) [6], conform cărora, intensitatea colorației se consemnează astfel (figura 4.8): reacție intens pozitivă (+++) – peste 80% din celulele distribuite difuz, bine vizibile la examinare cu obiectiv mărire mică 8 artere lombare (8±2.71%); reacție de intensitate moderată (++) – 30 – 80% din celulele cu dispoziție focală, bine vizibile la examinare cu obiectiv cu mărire medie (39 (39±4.88%) artere lombare); reacție de intensitate slabă (+) – în 5 – 30% din celulele izolate, bine vizibilă la examinare cu obiectiv cu mărire mare (48 (48±4.99) artere lombare); reacție de intensitate foarte redusă (+/-) – imunocolorare în mai puțin de 5% din celule (5 (5±2.2%) artere vertebrale); lipsa reacției (-).

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

Nr.o	aL1	aL2	aL3	aL4	aL5	dL1	dL2	dL3	dL4	dL5	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		

Notă:

aL1 – artera lombară L₁ dL1 – discul intervertebral L₁
 aL2 – artera lombară L₂ dL2 – discul intervertebral L₂
 aL3 – artera lombară L₃ dL3 – discul intervertebral L₃
 aL4 – artera lombară L₄ dL4 – discul intervertebral L₄
 aL5 – artera lombară L₅ dL5 – discul intervertebral L₅

Intensitatea colorării peretelui vascular al arterelor vertebrale cu CD₃₄ :

4 – reacție intens pozitivă (+++), – 8 (8±2.71%) artere lombare;
 3 – intensitate moderată (++), – 39 (39±4.88%) artere lombare;
 2 – intensitate slab pozitivă (+), – 48 (48±4.99) artere lombare;
 1 – intensitate foarte redusă (+/-), – 5 (5±2.2%) artere lombare;
 0 – lipsa intensității.

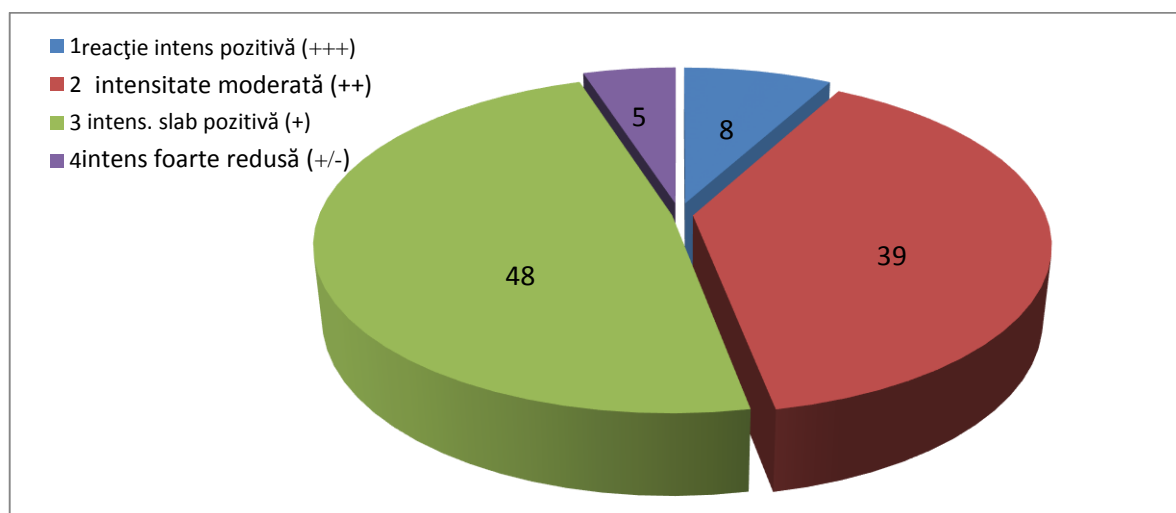


Fig. 4.3. Reprezentarea grafică a intensității de colorare a arterelor lombare colorate cu CD₃₄

Tabelul 4.3. Distribuția arterelor lombare după intensitatea colorării entoteliului peretelui cu CD₃₄, și discurile intervertebrale lombare – histologic modificate degenerativ-distrofic

Grad de afectare	L ₁ n ₁ = 100 (artere vertebrale)		L ₂ n ₂ = 100 (disc intervert.)		P
	Abs.	P ₁ ±ES ₁ (%)	Abs.	P ₁ ±ES ₁ (%)	
4	8	8±2.71	4	4±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±3,6	>0.05

Tipurile de modificare histologică a discurilor vertebrale:

4– lipsa modificărilor, – 4 (4±1,96%) discuri;

3 – modificări incipiente, – 30 (30±4.6%) discuri;

2 – modificări moderate, – 51 (51±4.99%) discuri;

1 – modificări severe, – 15 (15±3,6%) discuri.

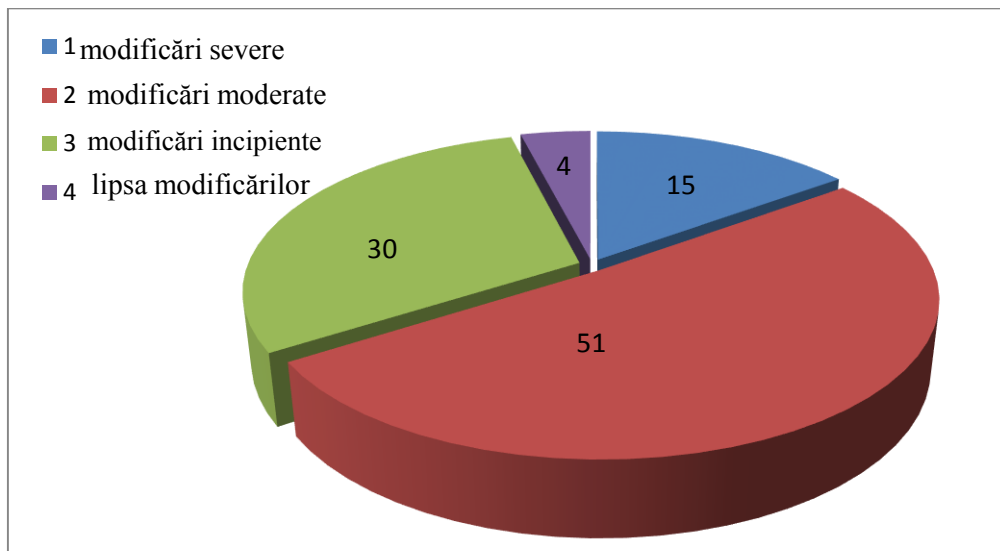


Fig. 4.4. Structura distribuirii modificărilor degenerative în funcție de numărul de discuri afectate.

4.4. Prelucrarea statistică a datelor

Colectarea datelor s-a făcut într-o bază de date MS Access, iar pentru analiza statistică s-a folosit programul SPSS 14.0 pentru Windows. S-au folosit testele statistice Student-Newmann-Keuls, ANOVA; s-au calculat coeficienții de corelație Pearson. Parametrii cu distribuție non-gaussiană au fost identificați prin metoda Kolmogorov-Smirnov. Valorile $p < 0,05$ au fost considerate semnificative statistic.

Din datele obținute se evidențiază colorarea arterelor lombare L_1 , ce demonstrează că (figura 4.5) prevalează reacția intens pozitivă (+++) în 3 cazuri (15±7.98%) (pînă la 60 ani), intensitate moderată (++) – în 16 cazuri (80± 8.94%) cu vârsta cuprinsă între 60 – 70 ani, intensitate slab pozitivă (+) – 1 caz (5± 4.9%), de 81 ani.

La acest nivel a fost examinat discul intervertebral lombar L_1 , histologic colorat cu hematoxelin-eozină, la toți pacienții din lotul de studiu și s-a vizualizat: fără modificări degenerativ-distrofice – 1 (5± 4.9%) (pînă la 60 ani), cu modificări incipiente – 14 cazuri (70± 10.25%) și cu modificări morfologice moderate – 5 ((25± 9.7%)toți cu vârsta de peste 71 ani).

De aici reiese că variabila care interpretează datele despre colorarea imunohistochimică cu CD_{34} a arterelor lombare L_1 și gradul de afectare histologică a discurilor intervertebrale lombare L_1 prezintă un indice de corelare Pearson $r = 0,54$, care se interpretează (după Hopkins) ca mediu,

asociere substanțială (după Devis); $p < 0.05$.

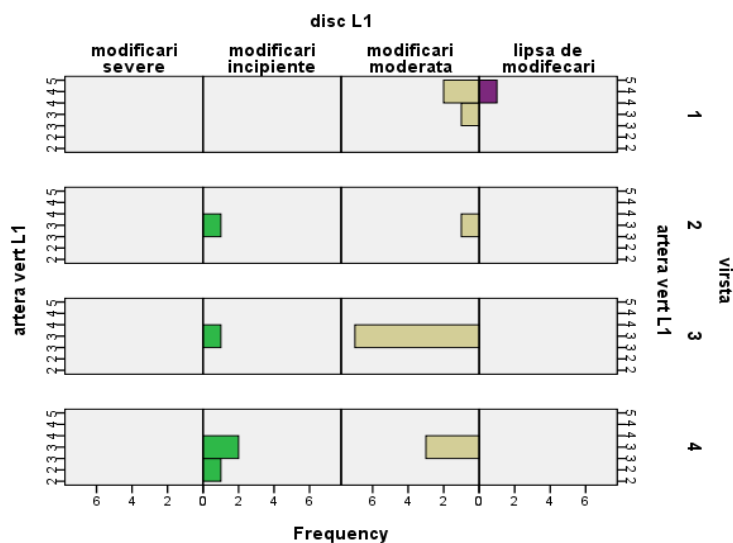


Fig. 4.5. Repartizarea intensității colorării imunohistochimice cu CD₃₄ a intimei endoteliale a arterelor lombare L₁ în corelație cu gradul de afectare histologică a discurilor intervertebrale L₁. Prevalează reacția de intensitate intens pozitivă (+++) și de intensitate moderată (++) a endoteliului vascular în corelație cu modificările incipiente și moderate în discul intervertebral lombar.

În urma examinării imunohistochimice cu CD₃₄ a arterelor lombare L₂ (figura 4.6), s-a constatat aceeași intensitate de colorare, iar în cazul dat s-au vizualizat: 4 cazuri (20± 8.94%) cu endoteliu vascular avînd o reacție intens pozitivă (+++) (pînă la 60 ani), 10 cazuri (50± 11.2%) cu intensitate moderată (++) (între 60 și 70 ani) și 6 cazuri (30± 10.3%) cu vîrstă de peste 81 ani, colorate intens slab (+). Discurile vertebrale la acest nivel: 1 caz fără modificări (5± 4.9%) – de 50 ani, 11 cazuri (55±11.12%), cu modificări degenerative incipiente și 8 cazuri (40± 10.95%) cu modificări moderate.

Toate valorile enumerate au fost repartizate în două variabile de grupe, care s-au calculat analogic avînd indicele de corelare Pearson, $r = 0,32$, interpretat ca moderat, mediu sau asociere moderată.

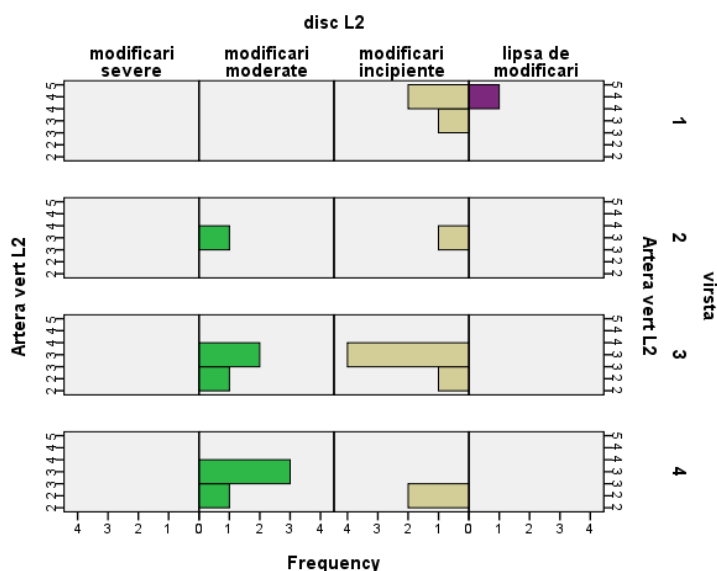


Fig. 4.6. Repartizarea intensității colorării imunohistochemice cu CD₃₄ a intimei endoteliale a arterelor lombare L₂ în corelație cu gradul de afectare histologică a discurilor intervertebrale L₂. Prevalență reacția de intensitate intens pozitivă (+++) și de intensitate moderată (++) , dar apar și cazuri de colorare intens slabă (+) a endoteliului vascular în corelație cu modificările incipiente și moderate în discul intervertebral lombar.

Imunohistochemic, arterele lombare L₃ (figura 4.7) sunt colorate în: 2 cazuri (10± 6.71%) – intens pozitiv (+++), 4 cazuri (20± 8.94%) – intensitate moderată (++) și 14 cazuri (70± 10.25%) – intensitate slabă (+). Discurile la acest nivel suportă următoarele modificări: 1 caz (5± 4.9%) fără modificări degenerative (de 51 ani), 3 cazuri (15±7.98 %) modificări degenerative incipiente, 15 cazuri (75± 9.68%) cu modificări moderate și 1 caz (5± 4.9%) (77 ani) cu modificări degenerative severe.

Indicele de corelare Pearson, $r = 0,84$, a fost interpretat ca foarte mare, foarte ridicat sau asociere foarte puternică.

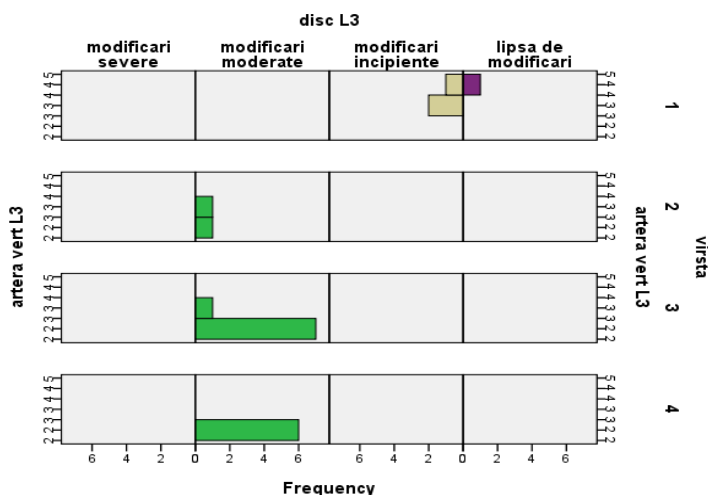


Fig. 4.7. Repartizarea intensității colorării imunohistochemice cu CD₃₄ a intimei endoteliale a

arterelor lombare L₃ în corelație cu gradul de afectare histologică a discurilor intervertebrale L₃. Prevalează reacția de colorare intens slabă (+) a endoteliului vascular în corelație cu modificările moderate în discul intervertebral lombar.

La colorarea imunohistochimic cu CD₃₄ a intimei endoteliului vascular în arterelor lombare L₄ (figura 4.8) se determină următoarele rezultate: 4 cazuri (20±8.94%) cu reacție de intensitate moderată (++), 13 cazuri (65±10.67%) colorate intens slab (+) și 3 cazuri (15±7.98%) de intensitate foarte redusă (+/-). Discul intervertebral lombar la acest nivel suportă următoarele schimbări: 1 caz (5±4.9%) cu modificări degenerativ-distrofice incipiente, 11 cazuri (55±11.12%) cu modificări moderate și 8 cazuri (40± 10.95%) cu modificări degenerative severe.

Indicele de corelare Pearson, $r = 0,64$, a fost interpretat ca mare, ridicat, major sau asociere substanțială.

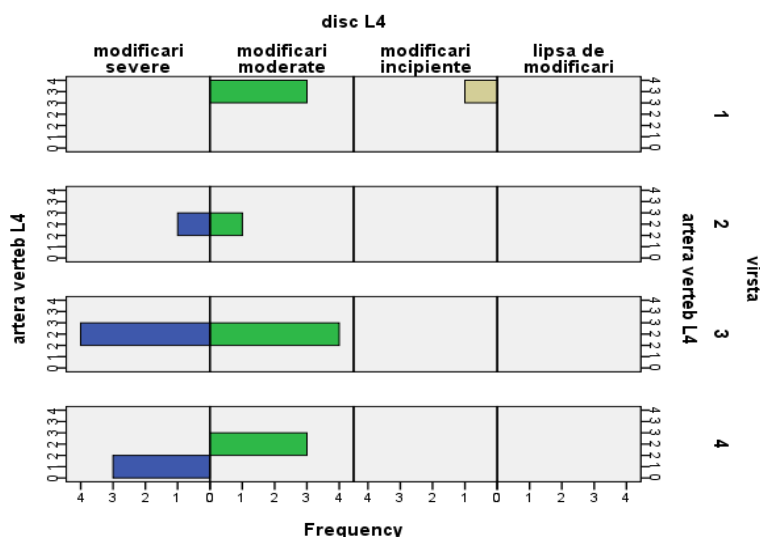


Fig. 4.8. Repartizarea intensității colorării imunohistochimice cu CD₃₄ a intimei endoteliiale a arterelor lombare L₄ în corelație cu gradul de afectare histologică a discurilor intervertebrale L₄. Prevalează vădit reacția de colorare intens slabă (+) a endoteliului vascular în corelație cu modificările moderate balansată cu modificările severe în discul intervertebral lombar.

La colorarea imunohistochimică cu CD₃₄ a intimei endoteliului vasculare din arterele lombare L₅ (figura 4.9) se determină următoarele rezultate: 4 cazuri (20±8.94%) cu reacție de intensitate moderată (++), 14 cazuri (70±10.25%) cu intensitate de colorare intens slabă (+) și două cazuri (10±6.71%) cu intensitate foarte redusă (+/-). Discul intervertebral L₅ la acest nivel: 1 caz (5± 4.9%) fără modificări degenerativ-distrofice, 1 caz (5±4.9%) cu incipiență de modificări degenerative, 11 cazuri (55±11.12%) cu modificări moderate și 7 cazuri (35±10.67%) cu modificări degenerative severe, (la persoanele de după 71 ani).

Indicele de corelare Pearson, $r = 0,54$, calculat la aceste două variabile de grupuri, a fost interpretat ca medie.

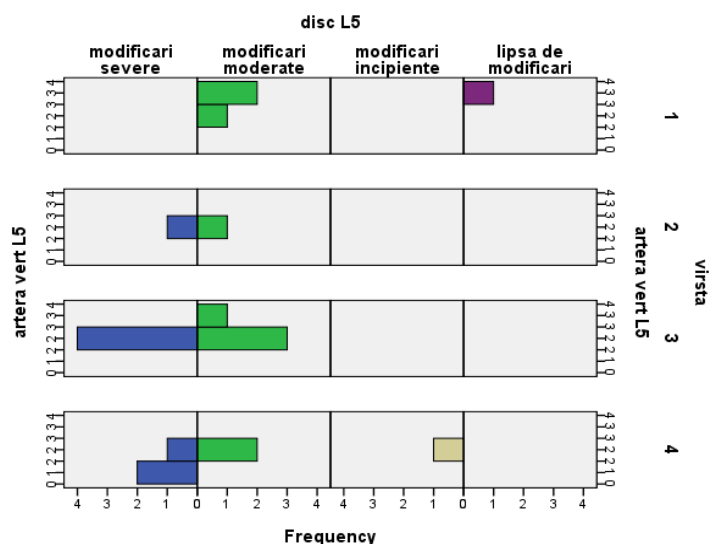


Fig. 4.9. Repartizarea intensității colorării imunohistochemice cu CD₃₄ a intimei endoteliale din arterele lombare L₅ manifestă gradul de afectare histologică a discurilor intervertebrale L₅. Prevalează vădit reacția de colorare intens slabă (+) a endoteliului vascular în corelație cu modificările moderate din discul L₅, acoperind modificările severe în discul intervertebral lombar (manifestările predomină la vârsta de peste 71 ani).

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

Intensitatea colorării endoteliului vascular		Nivelul arterelor lombare /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 redusă (+/-)	-		-		-		3	15 ± 7.98%	2	10 ± 6.71%	>0.05

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

Tabelul 4.5. Distribuția pacienților după nivelul și stadiul digenerenței discului intervertebral lombar

Stadiul de degenerență 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 vizualizate 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
Indicele de corelare Pearson	0,54 medie	0,32 medie	0,84 puternică	0,64 medie	0,54 medie

Din tabelul 4.6 reiese că indicele de corelare Pearson la toate nivelele este: moderat – la 4 nivele, și 1 (0,84) – foarte mare sau asociație foarte puternică (Devis). Sumând datele și făcând o medie, obținem un rezultat de $r = 0,54$, fiind interpretat ca asociere 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 lombare și discurilor intervertebrale

Nivelul afectat aL/dL	aL ₁	aL ₂	aL ₃	aL ₄	aL ₅	dL ₁	dL ₂	dL ₃	dL ₄	dL ₅
Valorile sumare	62	57	48	41	42	57	53	44	33	36

Valorile înalte din tabelul 4.7 reprezintă un grad mic de afectare la nivel de endoteliu a intimei vasculare colorate imunohistochimic, cât și modificările degenerative din discul intervertebral, iar valorile mici manifestă un grad mare de afectare. Conform tabelului, ordinea consecutivității afectării este în următoarea:

- arterele lombare $aL_4 > aL_5 > aL_3 > aL_2 > aL_1$; cele mai afectate artere sunt arterele lombare aL_4 , iar mai puțin afectate – arterele lombare aL_1 ;
- discurile intervertebrale lombare $dL_4 > dL_5 > dL_3 > dL_2 > dL_1$; cel mai afectat este discul intervertebral dL_4 , iar mai puțin afectat – discul dL_1 .

4.5. Colorarea imunohistochimică cu anticorpi MCT (mastocyt cell tryptase)

Examenul imunohistochimic cu anticorpi MCT (mastocyte cell tryptase) efectuat la 5 artere lombare ($5 \pm 1,12\%$), identifică prezența celulelor mastocitare cu fazele lor de activitate, cunoscând bine că ele prin degranularea, elaborează mediatori chimici (serotonină, histamină, triptază) în procesul de inflamație a aterosclerozei. Eșantionul de investigație este identic anticorpului precedent și se evidențiază bine modificările avansate aterosclerotice (figura 4.10), cu prezența mastocitelor în faza de degranulare (a), preponderent în peretele arterelor lombare L_5 și L_4 , la nivelul plăcilor cu proliferarea fibroblastelor (b), înconjurată de o intumescență mucoidă (c).

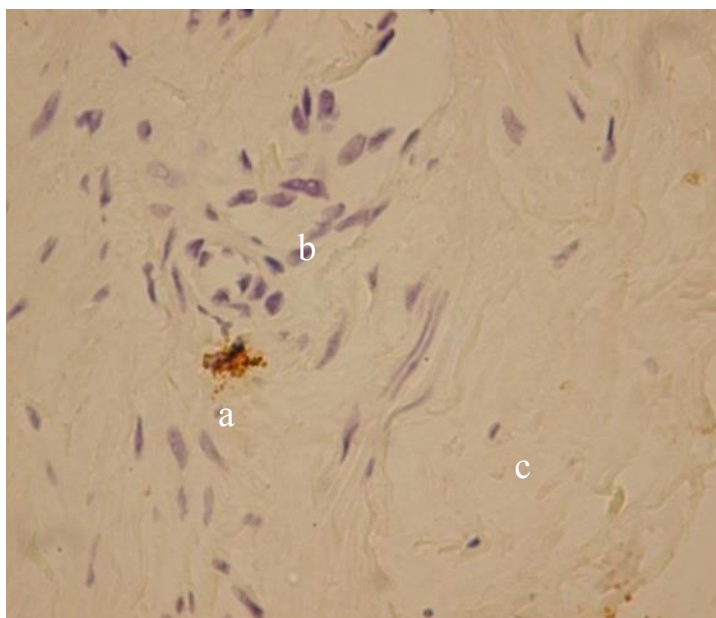


Fig. 4.10. Artera lombară 4: a) mastocit degranulat, b) proliferarea fibroblastelor, c) intumescență mucoidă, IHC MCT x 90; (Pacientul G., 68 ani).

4.6. Colorarea imunohistochimică cu anticorpul CD₆₈

Anticorpul CD₆₈, în examenul imunohistochimic efectuat la 9 artere lombare ($9 \pm 1,45\%$), determină prezența celulelor macrofage ce fagocitează celulele străine, și inclusiv LDL-colesterol, formând celule spumoase ale aterosclerozei precoce, în ateroscleroză fiind atrase hemotaxic. Stria de grăsime poate evolua și forma o placă fibroasă, ca rezultat al acumulării progresive a lipidelor, migrării și proliferării celulelor musculare netede, iar macrofagele cu celule endoteliale disfuncționale cresc agregarea plachetară și inflamația vasculară [16]. Un caz similar se evidențiază în unul din examenele cu anticorpi macrofogali (figura 4.11); care determină un macrofag cu conținut spumos (b), situat într-un mediu ce conține reziduri ale scindării fibrilare, cu intumescență

mucoasă (a) și fibrinoidă (e), mărginite de câteva celule limfocitare (c), și un mastocit (d), la etapele incipiente de degranulare[21].

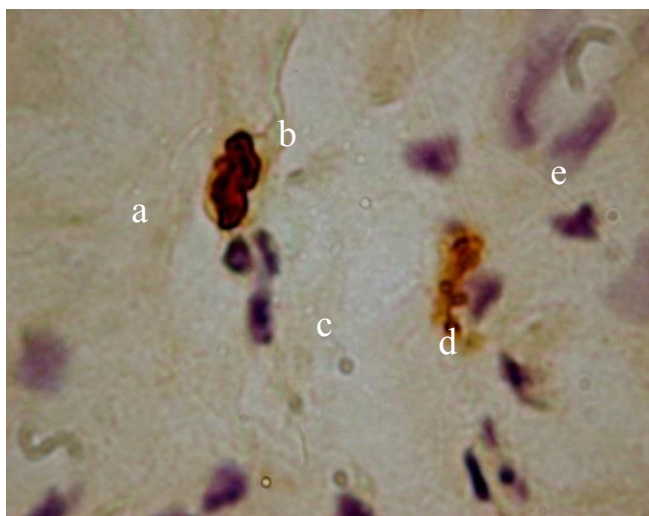


Fig. 4.11. Artera lombară 5: a) intumescență mucoasă, b) macrofag cu conținut spumos, c) limfocite, d) mastocit la etapele incipiente de degranulare, e) intumescență fibrinoidă; IHC CD₆₈ x 90. (Pacientul K., 83 ani) .

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

Investigația imunohistochimică cu markerul endotelial CD₃₄ evidențiază integritatea endoteliului intimei vasculare a arterelor lombare L₁ – L₅ prelevate de la cadavre. Rezultatele sunt repartizate în patru grupe.

Grupa I – intensitate foarte redusă (+/-) (figura 4.12, A). Histologic, la nivelul discului intervertebral colorat cu hematoxelin-eozină se observă forme severe de degenerescență a discului intervertebral (figura 4.13, A) cu cartilaj discal hialinizat (a), calcificări intradiscale sau zone de osificare (b), infiltrat limfocitar (c).

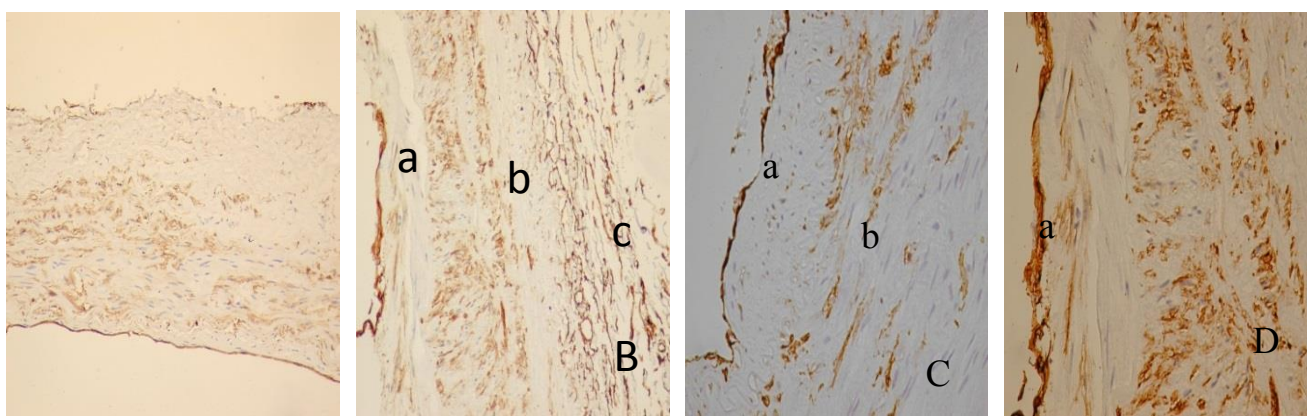


Fig. 4.12. A. Artera lombară 5 cu intensitate foarte redusă (+/-); IHC CD₃₄ x140.

(Pacientul K., 82 ani) .

B. Artera 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 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 lombară L₂ cu intima vasculară bine conturată avînd celulare endoteliale conturate; IHC CD₃₄ x140. (Pacientul C., 32 ani).

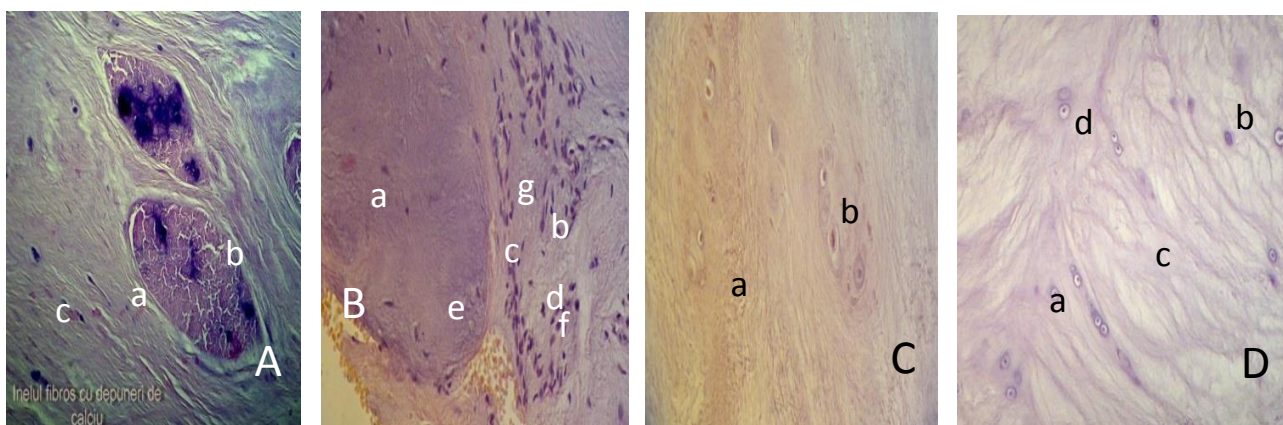


Fig. 4.13. A. Inelul fibros din discul intervertebral 5 a) cartilaj discal hialinizat, b) calcifieri intradiscale sau zone de osificare, c) infiltrat limfocitar; H-E x 140. (Pacientul K., 82 ani) .

B. Nucleul pulpos din discurile intervertebrale lombare 4, 5: a) țesut discal fibrozat, b) zone de edem interfibrilar; c) țesut cartilagin 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) .

Grupa II – arată intimă intens slabă (+) a arterei lombare 4 (figura 4.12, B), unde bine se vizualizează tunica internă cu stratul de celule endoteliale (a), pe alocuri cu detașare, tunica medie – cu elementele fibrelor musculare rarificate și dezorganizate (b), cu menținerea structurilor vasculare din adventicie (c). Formele medii de degenerescență a discului intervertebral (figura 4.13, B) pun în evidență: țesut discal fibrozat (a), cu zone de edem interfibrilar (b); țesut cartilagin discal cu condrocite în condroblaste (c), aspect papilar (d) și zone hemoragice (e), zone de hialinizare (f), și de proliferare a fibroblastelor (g).

În grupa III – endoteliul intimei de intensitate moderată (++) (figura 4.12, C), (a) cu celule endoteliale ce formează diferite grosimi, slab conturate, (b) fibrele musculare păstrate în tunica medie. Histologic, colorat cu hematoxelin-eozină, sunt evidențiate schimbările incipiente de degenerescență (figura 4.13, C) a discului intervertebral: aspecte de degenerescență mixoidă (a), central – condroblaste cu condrocite (b).

Grupă IV – cu celule endoteliale a intimei colorat intens pozitiv (++) (figura 4.12, D). Imunohistochimic, se evidențiază bine intima vasculară cu celule endoteliale bine conturate (a), cu persistența elementelor structurale din tunica medie și adventicie (b). Histologic, colorat cu hematoxelin-eozină (figura 4.13, D), sunt bine vizualizate: condrocitele (a) și condroblastele (b) nemodificate, cu elementele structurale ale țesuturilor fibrilare bine conturate (c), persistența substanței fundamentale condrogene (d).

5. CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRILE DE LA FINALUL TEZEI

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 [1, 2, 3]. Prevalența durerii cronice la populația generală este de 10-20%, 1-2% primesc tratament în spital [4, 15, 5]. 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% [3, 4, 15, 5, 7, 8].

Tulburările degenerative în discul intervertebral impun o povară economică similară cu cea a bolilor coronariene, diabetului zaharat, bolii Alzheimer și patologiilor renale [9, 10]. Noile tehnologii în imagistică și avansările în biologia celulară și genetică ne dau o imagine mai clară a etiologiei și diagnosticului, direcționate în aprecierea unei tactici mai eficiente de tratament. Sursele de informație ne demonstrează că discul intervertebral este cercetat insuficient, în comparație cu alte sisteme musculo-scheletice [10].

Pentru examinarea discurilor intervertebrale lombare au fost propuse: investigarea histopatologică prin colorare cu hematoxelin-eozină și picrofuxină, determinarea modificărilor biologice (histologice și imunohistochimice) produse la nivelul segmentelor discurilor intervertebrale prelevate în cursul intervențiilor chirurgicale de la bolnavi și cadavre din lotul de studiu, aprecierea unor corelații dintre aspectele histologice ale discurilor intervertebrale și arterele lombare colorate imunohistochimic cu CD₃₄, identificarea celulelor participante la manifestările inflamatorii în discul intervertebral, colorate imunohistochimic cu CD₆₈ și MCT. Au fost determinate: dezorganizarea fibrilară prin colorarea cu orceină și impregnarea argentică în disc; corelația dintre histopatologia modificărilor degenerative ale discurilor intervertebrale lombare și

schimbările imagistice RMN conform stadializării după Modic.

Studiul histopatologic a avut drept scop analiza parametrilor de evaluare morfologică a elementelor segmentelor intervertebrale studiate: 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).

Obiectivul principal al studiului efectuat a fost propunerea în evidență succesivității afectării discurilor intervertebrale, prevalenței nivelului afectat și prezenței/lipsei unei corelații cu patul vascular. Astfel a apărut și s-a dezvoltat ideea efectuării unui examen mai profund asupra peretelui vascular pentru a aprecia existența unei corelații între gradul de afectare a peretelui arterelor lombare și discurile intervertebrale lombare.

Studiul experimental, efectuat cu diverse tipuri de investigații histologice și imunohistochimice și clinice, a evidențiat o serie de particularități, care merită o atenție deosebită.

Examenul imagistic RMN, la 173 bolnavi după Modic a evidențiat modificări, pe care le-am clasificat în trei tipuri majore.

Tipul I de evaluări RMN 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: corpii vertebrali paraleli cu platourile vertebrale ale discului degenerat prezintă un semnal de intensitate diminuată pe imaginile ponderate în T_1 și de intensitate crescută în T_2 . Histopatologic se evidențiază 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 în centrul imaginii; hialinizare cât și zone de edem interfibrilar pe țesutul discal fibrozat.

Tipul II de evaluări RMN care au fost identificate la 55 ($31,72 \pm 3,54$ %) de pacienți, din care 20 ($11,56 \pm 2,43$ %) – operați, au fost următoarele: creșterea intensității semnalului pe imaginile ponderate în T_1 și un semnal izointens sau ușor hiperintens pe imaginile din T_2 , expresia imagistica a leziunilor discale constând în protruzia nucleului pulpos și hernii discale incipiente relativ recente. Histopatologic în faza a doua, în formele medii de degenerescență a discului intervertebral, au fost depistate la 32 ($36,78 \pm 3,67$ %) pacienți: țesut cartilagos discal cu condrocite în condroblaste de aspect papilar și zone hemoragice; condroblaste cu condrocite asociate cu zona de degenerescență mixoidă.

Tipul III de evaluări RMN, identificate la 77 ($44,51 \pm 3,78$ %) pacienți, din care 59 ($34,10 \pm 3,60$ %) – operați, au fost următoarele: scăderea intensității semnalului pe imaginile ponderate atât în T_1 cât și în T_2 fiind corelată cu scleroza osoasă extensivă vizualizată pe imaginile

radiografice planare uzuale, în timp ce modificările de tipurile I și II nu au corespuns radiologic. Histopatologice de tip III, în formele avansate de degenerescentă a discului intervertebral, au fost descoperite la 45 (51,72±5.36%) pacienți: degenerescentă mixoidă și calcificări intradiscale; cartilaj discal hialinizat cu zone de calcificare intradiscale și prezența celulelor tinere – fibroblaste și condroblaste; țesut cartilagininos cu zone de fibroză și infiltrat inflamator cronic.

Așadar, la 4/5 din pacienții incluși în studiu, examinarea histologică a confirmat leziuni avansate de degenerare a discului intervertebral evidențiate la RMN.

În dereglările de circulație în discul intervertebral este studiată structura arterelor lombare și a discurilor intervertebrale, prin investigație histopatologică, colorare cu hematoxelin-eozină, colorare cu orceină, impregnare argentică și imunohistochimia cu anticorpi MCT (mastocyte cell tryptase), CD₆₈ (identificarea macrofagelor) și CD₃₄ (determină starea intimei vasculare și celulelelor-stem), pe un eșantion de 20 cazuri a arterele lombare L₁ până la L₅ (100 artere lombare) și discul intervertebral L₁ – L₅ la acest nivel.

În arterele lombare L₁, imunohistochimic, prevalează intensitate intens pozitivă (+++) – 3 cazuri (15±7.98%), intensitate moderată (++) – 16 cazuri (80± 8.94%), intensitate slab pozitivă (+) – 1 caz (5± 4.9%), în discul intervertebral lombar L₁, histologic colorat cu hematoxelin-eozină la toate cazurile din lotul de studiu, s-au vizualizat: lipsa modificărilor degenerativ-distrofic – 1 caz (5± 4.9%), modificări incipiente 14 cazuri (70± 10.25%) și dereglări morfologice moderate – 5 cazuri (25± 9.7%). Indicele de corelare Pearson, $r = 0,54$, se interpretează ca medie.

În arterele lombare L₂, imunohistochimic, s-au vizualizat: endoteliu vascular cu o reacție intens pozitivă (+++) – 4 cazuri (20± 8.94%), intensitate moderată (++) – 10 cazuri (50± 11.2%), colorate inens slab (+) – 6 cazuri (30 ± 10.3%), în discurile vertebrale la acest nivel: lipsă modificărilor – 1 caz (5± 4.9%), degenerare incipiente – 11 cazuri (55 ± 11.12%) și moderate – 8 cazuri (40 ± 10.95%). Indicele de corelare Pearson, $r = 0,32$, este interpretat ca moderat, mediu sau asociere moderată.

Arterele lombare L₃, imunohistochimic, sunt colorate în: intens pozitiv (+++) – 2 cazuri (10 ± 6.71%), intensitate moderată (++) – 4 cazuri (20± 8.94%) și intensitate slabă (+) – 14 cazuri (70±10.25%). Discurile la acest nivel suportă următoarele modificări: lipsa schimbărilor degenerative – la 1 caz (5± 4.9%), degenerescente incipiente – 3 cazuri (15 ± 7.98%), moderate – 15 cazuri (75± 9.68%) și modificări degenerative severe – 1 caz (5± 4.9%). Indicele de corelare Pearson, $r = 0,84$, este interpretat ca foarte mare, foarte ridicat sau asociere foarte puternică.

Examenul imunohistochimic al arterelor lombare L₄ determină următoarele rezultate: reacție de intensitate moderată (++) – 4 cazuri (20±8.94%), colorate intens slab (+) – 13 cazuri (65±10.67%) și intensitate foarte redusă (+/-) – 3 cazuri (15±7.98%). Discul intervertebral lombar

la acest nivel: schimbări degenerative incipiente – 1 caz ($5 \pm 4.9\%$), moderate – 11 cazuri ($55 \pm 11.12\%$) și severe – 8 cazuri ($40 \pm 10.95\%$). Indicele de corelare Pearson, $r = 0,64$, este interpretat ca medie.

Arterele lombare L₅, colorate imunohistochimic, au arătat următoarele rezultate: reacție de intensitate moderată (++) – 4 cazuri ($20 \pm 8.94\%$), intensitate de colorare intens slabă (+) – 14 cazuri ($70 \pm 10.25\%$) și intensitate foarte redusă (+/-) – 2 cazuri ($10 \pm 6.71\%$). Discul intervertebral L₅ în această regiune: lipsa de modificări degenerativ-distrofice – 1 caz ($5 \pm 4.9\%$), degenerescență incipientă – 1 caz ($5 \pm 4.9\%$), moderată – 11 cazuri ($55 \pm 11.12\%$) și severă – 7 cazuri ($35 \pm 10.67\%$). Indicele de corelare Pearson, calculat la aceste două variabile de grupuri, arată, $r = 0,54$, interpretat ca moderat, mediu sau asociere moderată.

De aici reiese că variabilele care interpretează datele despre colorarea imunohistochimică cu CD₃₄ a arterelor lombare, sumându-le datele și făcând o medie, obținem un rezultat de $r = 0,54$, fiind interpretat ca moderat, mediu sau asociere moderată. 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.

Cele mai afectate artere sunt arterele lombare aL₄, evidențiindu-se o intensitate foarte redusă (+/-) preponderent la nivelul arterelor lombare 4 în 3 cazuri ($15 \pm 7.98\%$, $p > 0.05$), și o reacție intens pozitivă (+++) mai sporit vizualizat la nivelul arterelor lombare 2, în 4 cazuri ($20 \pm 8.94\%$, $p > 0.05$) dar sumarul intensității colorării prevalează la aL₁ fiind mai puțin afectate; cel mai afectat este discul intervertebral L₄ - modificări severe fiind în 8 cazuri ($40 \pm 10.95\%$), iar mai puțin afectat discul L₁ – avînd modificări incipiente în 14 cazuri ($70 \pm 10.25\%$).

Din cele relatate reiese că ordinea consecutivității afectării este următoarea:

- arterele lombare aL₄ > aL₅ > aL₃ > aL₂ > aL₁; cele mai afectate artere sunt arterele lombare L₄, iar mai puțin afectate - arterele lombare L₁,
- discurile intervertebrale lombare dL₄ > dL₅ > dL₃ > dL₂ > dL₁; cel mai afectat este discul intervertebral L₄, iar mai puțin afectat – discul L₁.

Imunohistochimia cu anticorpi MCT (mastocyte cell tryptase) efectuat la 5 artere lombare ($5 \pm 1,12\%$), 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.

Anticorpusul CD₆₈, în examenul imunohistochimic efectuat la 9 artere lombare ($9 \pm 1.45\%$), 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 lombare.

în grupa I – colorarea imunohistochimică cu markerul endotelial CD₃₄ pune în evidență: – intensivitate foarte redusă (+/-), 5 (5±2.2%) artere lombare; histologic, la nivelul discului intervertebral se observă forme severe de degenerescență (15 dicuri (15±3,6%)) cu cartilaj discal hialinizat, calcificări intradiscale sau zone de osificare, infiltrat limfocitar;

în grupa II – intima arterelor lombare intens slabă (+) în 48 (48±4.99) artere lombare, având formele medii de degenerescență a discului intervertebral (51 discuri (51±4.99%)), se evidențiază: țesut discal fibrozat, cu zone de edem interfibrilar; țesut cartilaginos discal, cu condrocite în condroblaste, aspect papilar și zone hemoragice, zone de hialinizare, fibroblaste proliferate.

în grupa III – endoteliul intimei de intensitate moderată (++) în 39 (39±4.88%) artere lombare; histologic, sunt evidențiate schimbările incipiente de degenerescență a discului intervertebral (30 dicuri (30±4.6%)) au aspecte de degenerescență mixoidă, în centru – condroblaste cu condrocite.

în grupa IV – endoteliul intimei colorat intens pozitiv (+++) în 8 (8±2.71%) artere lombare; histologic – lipsa modificărilor în 4 discuri (4±1,96%), sunt bine vizualizate: condrocitele și condroblastele – nemodificate, cu elementele structurale ale țesuturilor fibrilare bine conturate, persistența substanței fundamentale condrogene.

Prezența celulelor blastice în formele histopatologice incipiente și medii la 42 pacienți (48,27 ±2,4%) indică o tendință de regenerare, cu formarea insulițelor cu elemente celulare noi.

Formele avansate de degenerescență intradiscale la 45 pacienți (51,7±2,7%) au un caracter ireversibil în care țesutul discal este înlocuit cu țesut conjunctiv cu calcificări solitare.

CONCLUZII GENERALE

1. 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 degenerescență 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.

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 în centrul imaginii; – hialinizare și zone de edem interfibrilar în țesutul discal fibrozat. În faza a doua, forme medii de degenerescență a discului intervertebral, au fost depistate la 32 ($36,78 \pm 3,67\%$) pacienți: țesut cartilagos 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 cartilagos cu zone de fibroză și infiltrat inflamator cronic.

3. Rezultatele obținute pe parcursul cercetării arată că de dureri discogene suferă persoanele cu vârsta de după 50 ani, preponderent femeile ($99; 56,07 \pm 5,24\%$), $p > 0,05$ cu o medie de vârstă de 45,3 ani, vârsta medie în lotul I = $50,7 \pm 1,22$ ani, în lotul II = $40,1 \pm 1,41$ ani ($p < 0,001$) care suferă de hernie discală la nivelul regiunii lombare, segmentul L₄ – L₅, activitatea de muncă cu efort sporit este o cauză a degenerescenței discale.

4. Colorarea imunohistochimică cu CD₃₄ arată că, cele mai afectate vase sunt arterele lombare aL₄, evidențiinduse o intensitate foarte redusă (+/-) preponderent la nivelul arterelor lombare 4 în 3 cazuri ($15 \pm 7,98\%$, $p > 0,05$), și o reacție intens pozitivă (+++) mai sporit vizualizat la nivelul arterelor lombare 2, în 4 cazuri ($20 \pm 8,94\%$, $p > 0,05$) dar sumarul intensității colorării prevalează la aL₁ fiind mai puțin afectate; cel mai afectat este discul intervertebral L₄ - modificări severe fiind în 8 cazuri ($40 \pm 10,95\%$) iar mai puțin afectat discul L₁ – avînd modificări incipiente în 14 cazuri ($70 \pm 10,25\%$). Valoarea medie a indicelui de corelare Pearson este $r = 0,54$, fiind interpretată ca moderat, mediu sau asociere moderată, care ar fi un indiciu în diagnosticarea gradului de afectare

a discului

5. În elementele segmentelor intervertebrale la 18 pacienți ($64 \pm 1,6\%$) de vîrsta 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 ($35 \pm 2,4\%$) persoane tinere. La vîrstnici 10 ($35 \pm 2,4\%$), el are o structură fragmentată și hipertrofiată.

6. 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 lombare.

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.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Caracterul modificărilor RMN de tipurile I și II este o indicație terapeutică de tratament cu stimularea proceselor regenerative soldate cu scleroza țesutului nucleului pulpos și inelului fibros, iar de tipul III RMN, confirmat histologic de schimbări severe de degenerescență cu herniere, ar fi o indicație pentru intervenție chirurgicală.
2. Tratamentul medicamentos al modificărilor degenerativ-distrofice de tipurile I și II, confirmate RMN sau prin colectarea datelor clinice, să fie urgentat, pentru a nu permite intensificarea degenerescenței discului lombar.
3. Folosirea metodelor fizioterapeutice (electroforeză cu karipazin, curenți sinusoidali modulați, magnetoterapia), kinetoterapeutic, și cu medicamente, pentru intensificarea circulației în arterele vertebrale lombare și stimularea procesului regenerativ în disc.
4. Extinderea utilizării metodelor de determinare a schimbărilor discirculatorii la nivelul arterelor lombare și degenerescenței discului intervertebral lombar în cadrul activităților științifico-practice și clinico-diagnostice pentru prevenirea, diagnosticarea precoce și monitorizarea patologiilor cu evoluție spre degenerescență severă a discului.
5. Preoperator este necesară de efectuat RMN și examinarea imagistică a arterelor lombare pentru determinarea tipului de leziune și factorului etiologic, apreciind tactica de tratament.

BIBLIOGRAFIE

1. Battie M.C., Videman T., Parent E. Lumbar Disc Degeneration: Epidemiology and Genetic Influences. *Spine*. 2004; 29:2679--2690.
2. Battie M.C., Levalahti E., Videman T., Burton K., Kaprio J. Heritability of lumbar flexibility and the role of disc degeneration and body weight. *J. Appl Physiol*. 2008; 104:379-385.
3. Battie M.C., Videman T. Lumbar disc degeneration: epidemiology and genetics. *J. Bone Joint Surg Am*. 2006;88(Suppl 2):3-9
4. Battie M.C., Videman T., Gibbons L.E., Fisher L.D., Manninen H., Gill K. 1995 Volvo Award in clinical sciences. Determinants of lumbar disc degeneration. A study relating lifetime exposures and magnetic resonance imaging findings in identical twins. *Spine* 1995, 20:2601-2612.
5. Chan D., Song Y., Sham P., Cheung K.M. Genetics of disc degeneration. *Eur Spine J* 2006, 15(Suppl 3):S317-25.
6. Jasani B, Schmid KW. Historical perspective. *Immunocytochemistry in Diagnostic Histopathology*. Edinburgh: Churchill Livingstone;1993; p. 3-9.
7. Kalichman L., Hunter D.J. The genetics of intervertebral disc degeneration. Familial predisposition and heritability estimation. *Joint Bone Spine* 2008, 75:383-387.
8. Kalichman L., Hunter D.J. The genetics of intervertebral disc degeneration. Associated genes. *Joint Bone Spine* 2008, 75:388-396.
9. Maetzel A., Li L. Povară economică a durerii lombare: o revizuire a studiilor publicate între 1996 și 2001. *Clin Rheumatol*. 2002, 16:p 23-30.
10. Maniadakis N., Gray A. The economic burden of back pain in the UK. *Pain*. 2000, 84: p 95-103.
11. Modic Mt., Masaryk T.J., Ross J.S., et al. Imaging of degenerative disc disease. *Radiology*. 1988;168:177-186.
12. Simona Stiuriuc, *Ro Medica*. Boala de disc degenerativă, 2009; p.4514.
13. Thompson J.P., Pearce R.H., Schechter M.T., et al. Preliminary evaluation of a scheme for grading the gross morphology of the human intervertebral disc. *Spine*. 1990;15:411-415.
14. Thompson J.P., Pearce R.H., Schechter M.T., Adams M.E., Tsang I.K.Y., Bishop P.B. Preliminary assessment of a classification system for gross morphology of the human intervertebral disc. *Spine*. 1990, 15: p 411-415.
15. 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.

16. Yasuma T., Arai K., Yamauchi Y. The histology of lumbar intervertebral disc herniation. The significance of small blood vessels in the extruded tissue. Spine. 1993, 18:1761-1765.

17. Епифанов В.А. Остеохондроз позвоночника, 2004, 5-6 с.

18. Попелянский Я.Ю. Болезни периферической нервной системы. М.: Медицина, 1989.–462 с.

19. Пульбере П.В. Диагностика и лечение дегенеративных заболеваний позвоночника 1984; 3-4 с.

20. Пульбере П.В. Диагностика и лечение дегенеративных заболеваний позвоночника 1984; 10--12 с.

21. Зота Е. Г. Особенности развития соединительной ткани атеросклеротических бляшек в условиях атерогенеза. Тез. III конф. по ультраструктуре. Кишинев: Штиинца, 1986 (б). с. 81.

LISTA PUBLICAȚIILOR ȘTIINȚIFICE LA TEMA TEZEI

• Articole în reviste internaționale cotate SCOPUS:

1. **Cociug A.**, Munteanu A., Zota Ie. Aspectele dereglărilor circulatorii a discului intervertebral lombar în osteocondroză. Al X-lea Congres Național de Morfopatologie Microscopică cu Participare Internațională. În: Volum de rezumate: Societatea Română de Mofologie. Timișoara, România, 2012, p. 91-92. ISBN 978-606-8054-94-0.
2. Munteanu A., Zota Ie., **Cociug A.** Expresia imunohistochimică în placa aterosclerotică la pacienții cu sindrom metabolic. Al X-lea Congres Național de Morfopatologie Microscopică cu Participare Internațională. În: Volum de rezumate: Societatea Română de Mofologie. Timișoara, România, 2012, p. 90-91. ISBN 978-606-11-4069-5.
3. **Cociug A.** The neovascularization of degenerative-dystrophic discs in osteochonrosis. The România, 2014, p. 123. ISSN 2285-6420.
4. **Cociug A.**, Munteanu A., Zota Ie. Evaluarea imagistică RMN, imunohistochimia cu CD 34 ale arterelor vertebrale în degenerescenta discurilor intervertebrale lombare. Al XII-lea simpozion național de morfologie microscopică cu participare internațională. În: Volum de rezumate. Societatea Română de Mofologie. Craiova, România, 2014, p. 37-39. ISBN 978-606-11-40695.

• Articole științifice în reviste din Registrul Național al revistelor de profil (cu indicarea categoriei):

Categoria B:

5. **Cociug A.**, Munteanu A., Zota Ie., ș.a. Dinamica schimbărilor peretelui vascular în discul

- intervertebral lombar în osteocondroză. Rezultate și perspective. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale. Chișinău, 2013, 3(39), p.213-218. ISSN 1857-0011.
6. **Cociug A.**, Zota Ie., Munteanu A. Dereglările circulatorii în discurile intervertebrale lombar în osteocondroză. În: Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină. Chișinău, 2012, 3(42), p. 120-124. ISSN 1729-8687.
 7. **Cociug A.** Congruența imagistică RMN corelativ cu histologia în diagnosticul leziunilor degenerative a discurilor intervertebrale lombar. În: Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină. Chișinău, 2013, 4(42), p. 120-124. ISSN 1729-8687.
 8. Munteanu A., Zota Ie., **Cociug A.**, ș.a. Expresia imunohistochimică a mastocitelor în placa aterosclerotică la pacienții cu sindrom metabolic. În Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale. Chișinău, 2013, 3(39), p. 206-212. ISSN 1857-0011.
 9. Olga Macagonova, Grigore Mușet, **Adrian Cociug**, ș.a. Schimbări clinico-morfologice în pemfigusul vulgar (caz clinic). În: Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină. Chișinău, 2013, 4(42), p. 44-48. ISSN 1729-8687.
 10. **Cociug A.**, Nacu V., Caproș N. Neovascularizarea în discurile degenerative-distrofice și semnificația ei. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale. Chișinău, 2014, 2(43), p.90-94. ISSN 1857-0011.

Categoria C

11. **Cociug A.**, Baci I., Zota Ie., ș.a. Particularitățile morfologice ale țesuturilor intervertebrale în regiunea lombară la pacienții afectați de osteocondroză. În: Arta Medica. Chișinău, 2010, 4(43), p.6-10. ISSN 1810-1852.
 12. **Cociug A.**, Zota Ie., Baci I., ș.a. Aspectele clinic-morfologice ale formațiunilor intervertebrale lombare. În: Arta Medica. Chișinău, 2011, 4(47), p.18-21. ISSN 1810-1852.
- **Materiale/teze la foruri științifice internaționale în republică:**
13. **Cociug A.** Some clinical morphopatological aspects of lumbar intervertebral formations. 4th International Medical Congress for Students and Young Doctors „Medespera - 2012” In: Abstract book. Chisinau, 2012, p.18. ISBN 978-9975-57-030-5.
 14. Slivca O., Mocan E., **Cociug A.** The stem cells in chronic experimental liver diseases. 4th International Medical Congress for Students and Young Doctors. „Medespera - 2012” In: Abstract book. Chisinau, 2012, p.47. ISBN 978-9975-57-030-5.
 15. **Cociug A.**, Zota Ie., Caproș N., et al. The Dynamics of the Vascular Wall Changes Evolution in the Lumbar Intervertebral Disc. Insights. Proceedings. In: 2 nd International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering Geman-Moldovian Workshop on Novel

- Nanomaterials for Electronic, Photonic and Biomedical Applications. Chişinău, 2013, p.532-536. ISBN 978-9975-62-343-8.
16. **Cociug A.**, Zota Ie., Caproş N., et al. The Concordances between MRI and histology evolution of the lumbar intervertebral disc degenerative changes. The XIX-th session of the balcan medical days and the second congress of emergency medicine of the Republic of Moldova. In: Arhives of the Balcan Medical Union. Chisinau, 2013, 3(48), p. 44-45. ISSN 0041-6940.
 17. **Cociug A.** The neovascularization of degenerative-dystrophic discs in osteochondrosis. 5th International Medical Congres for Students and Young Doctors. „Medespera - 2014” In: Abstract book. Chisinau, 2014, p.269. ISBN 978-9975-57-030-5.
 18. **Cociug A.**, Nacu V., Macagonova O. The Modality of the Regeneration of the Intervertebral Lumbar Disc in Osteochondrosis. Insights. Proceedings. In: 3 nd International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering Geman-Moldovian Workshop on Novel Nanomaterials for Electronic, Photonic and Biomedical Applications. Chişinău, 2015, p.111. ISBN 978-9975-62-343-8.

- **Brevete de invenții:**

19. Brevet de invenție. **Cociug Adrian**, Macagonova Olga, Caproş Nicolae, Nacu Viorel. 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.
20. Brevet de invenție. **Cociug Adrian**, Macagonova Olga, Zota Eremia, ș.a. Dispozitiv pentru fixarea grefei osoase. MD 868 (13)Y, A61B 17/56 (2006.01); A61B 17/66 (2006.01); A61B 17/68 (2006.01); A61B 17/76 (2006.01). Cererea depusă 2014.08.22. BOPI, nr. 1/2015, p.45.
21. Brevet de invenție. **Cociug Adrian**, Marin Ion, Zota Eremie. Dispozitiv pentru înlăturarea cartilajului articular. (MD) 898 (13)Y. A61B 17/56 (2006.01); A61B 17/3205 (2006.01); A61B 17/3209 (2006.01). Crerea depusă 2014.11.17. BOPI, nr. 4/2015, p.35-36.
22. Brevet de invenție. **Cociug Adrian**, Marin Ion, Zota Eremie, Caproş Nicolae, Macagonova Olga, Nacu Viorel, Baciu Ion. Dispozitiv de fixare a oaselor spongioase pentru prepararea grefei osoase. (MD) 914 (13)Y. A61B 17/00 (2006.01); A61B 17/16 (2006.01); Crerea depusă 2014.11.27. BOPI, nr. 6/2015, p.28.
23. Brevet de invenție. **Cociug Adrian**, Nacu Viorel, Caproş Nicolae, Zota Eremie, Macagonova Olga. Dispozitiv pentru curățarea oaselor tubulare de măduva osoasă. (MD) 915 (13)Y. A61B 17/00 (2006.01); A61B 17/16 (2006.01); Crerea depusă 2014.12.03. BOPI, nr. 6/2015, p.29.
24. Brevet de invenție. **Cociug Adrian**, Nacu Viorel, Zota Eremie, Caproş Nicolae, Macagonova Olga. Dispozitiv pentru înlăturarea cartilajului și țesuturilor moi de pe suprafața articulară.

(MD) 916 (13)Y. A61B 17/56 (2006.01); A61B 17/3205 (2006.01); A61B 17/3209 (2006.01);
Creerea depusă 2015.02.27. BOPI, nr. 6/2015, p.30.

25. Brevet de invenție. Macagonova Olga, Nacu Viorel, **Cociug Adrian**. Dispozitiv pentru prepararea țesuturilor biologice. MD 866 (13)Y, A61B 17/56 (2006.01); A61B 17/66 (2006.01); A61B 17/68 (2006.01); A61B 17/76 (2006.01). Cererea depusă 2014.08.01. BOPI, nr. 1/2015, p.43.
26. Brevet de invenție. Macagonova Olga, Nacu Viorel, **Cociug Adrian**. Dispozitiv pentru prepararea țesuturilor biologice. MD 793 (13)Y. A61C 5/02 (2006.01); A61B 10/02 (2006.01). Cererea depusă 2014.01.13. BOPI, nr. 7/2014, p.30.
27. Brevet de invenție. Macagonova Olga, Ababii Ion, **Cociug Adrian**, Nacu Viorel, Jian Mariana, Ignatov Olga. Dispozitiv pentru separarea țesuturilor biologice. MD 905 (13)Y, A61B 10/00 (2006.01); A61B 10/02 (2006.01); Cererea depusă 2014.12.12. BOPI, nr. 5/2015, p.29.

ADNOTARE

Cociug Adrian

„Particularitățile morfologice ale proceselor degenerativ-distrofice din segmentul intervertebral lombar”

Teză de doctor în medicină. Chișinău, 2016

Structura tezei. Lucrarea este expusă pe 161 de pagini de text electronic și include: introducere, 4 capitole, încheiere, concluzii, recomandări practice și bibliografie (308 de surse). Teza este ilustrată cu 13 tabele, 48 de figuri, 5 anexe. Rezultatele obținute sunt publicate în 18 lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: discurile intervertebrale, artera vertebrală, schimbări degenerativ-distrofice.

Domeniul de studiu: anatomie patologică.

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: Evidențierea concordanței dintre histologia modificărilor degenerative ale discurilor intervertebrale lombare și schimbările imagistice RMN conform stadializării după Modic. Determinarea gradului și consecutivității afectării degenerativ-distrofice a discului și elementelor segmentelor intervertebrale lombare. Prezența unor corelații între aspectele histologice degenerativ-distrofice ale discurilor intervertebrale și arterele lombare colorate imunohistochimic cu CD₃₄. Identificarea celulelor participante la manifestările inflamatorii în arterele, colorate imunohistochimic cu CD₆₈ și MCT și dezorganizarea fibrilară cu orceină și impregnarea argentică.

Noutatea și originalitatea științifică. Studiile corelative dintre RMN și histologia discului, în 80% din cazurile de hernie de disc supusă intervenției chirurgicale, histologic, arată modificări tipice avansate la nivelul focarului lezional, iar în modificările incipiente și medii, cu prezența fibroblastelor, pune în evidență caracterul regenerativ al nucleului pulpos și inelului fibros. Investigarea corelativă a arterelor lombare L₁ – L₅, colorate cu CD₃₄, și a discurilor intervertebrale lombare la acest nivel, examinate histologic, prezintă indicele de corelație Pearson $r=0,54$, fiind interpretată ca asociație medie, care este un indiciu în diagnosticarea gradului de afectare a discului.

Problema științifică soluționată: Gradul de degenerescență a discului corelează cu stadiul examenului RMN la același nivel, și prezența unei asocieri dintre afectarea peretelui arterelor lombare cu degenerescența discului intervertebral lombar la nivelul afectat.

Semnificația teoretică. Studiul a confirmat utilitatea și prioritatea examenului histologic și imunohistochimic în aprecierea gradului și consecutivitatea de afectare a discului, implicarea structurilor segmentului vertebral, și stadiul de afectare a peretelui vascular corelează cu gradul degenerescenței discului intervertebral lombar.

Valoarea aplicativă a lucrării. Rezultatele obținute în urma studiului completează cunoștințele medicilor de specialitate, cu referire la diagnosticul, evoluția schimbărilor degenerativ-distrofice, perfectarea tacticii de tratament și profilaxie.

Implementarea rezultatelor științifice. Rezultatele studiului au fost implementate în activitatea IMSP SCTO, Laboratorul de Inginerie tisulară și culturi celulare, Banca de țesuturi și celule umane, SCM „Sfânta Treime”.

АННОТАЦИЯ

Кочуг Адриан

«Морфологические особенности дегенеративно-дистрофических изменений межпозвоночного поясничного отдела»

Диссертация. Кишинев, 2016

Структура диссертации. Работа изложена на 161 страницах электронного текста и включает в себя: введение, 4 главы, заключение, выводы, практические рекомендации и библиографию (308 источников). Диссертация иллюстрирована 13 таблицами, 48 рисунками, 5 приложениями. Результаты исследования опубликованы в 18 научных работах.

Ключевые слова: межпозвоночный диск поясничного отдела, позвоночная артерия, дегенеративно-дистрофические изменения.

Область исследования: патологическая анатомия.

Цель диссертации: Выделение соответствия между гистологией дегенеративных изменений в межпозвоночных дисках и исследованием посредством магнитного резонанса в соответствии со стадиялизацией по Модуку. Определение степени и последовательности дегенеративно-дистрофических повреждений поясничных межпозвоночных сегментов и элементов диска. Наличие корреляции между гистологическими дегенеративно-дистрофическими аспектами межпозвоночных дисков и поясничных артерий, окрашенных посредством CD₃₄ иммуногистохимии. Идентификация клеток участвующих в воспалительных процессах в артериях, и окрашенных посредством иммуногистохимии CD₆₈ и посредством магнитного резонанса и фибриллярная дезорганизация с орсеином и пропитки серебром.

Научная новизна и актуальность. Корреляционные исследования межпозвоночного диска посредством магнитного резонанса и гистологии в 80% клинических случаев, где грыжа диска была подвержена хирургическому вмешательству, после гистологического окрашивания были обнаружены обширные типичные изменения в очагах поражения, а в начальной и средней стадии изменений наличие фибробластов указывает на регенеративный характер студенистого ядра и фиброзного кольца. При корреляционном исследовании поясничных артерий П₁ – П₅ посредством окрашивания CD₃₄ и поясничных межпозвоночных дисков рассмотренных на этом уровне при помощи гистологии, было выявлено среднее значение индекса корреляции Пирсона $r=0,54$, интерпретированное как средняя ассоциация, которая является показателем степени поражения межпозвоночного диска.

Решенная научная проблема: Степень дегенерации диска коррелирует с этапом поражения обнаруженного посредством магнитного резонанса на этом же уровне, а также наличие ассоциации между поражением артерий и дегенерации поясничного межпозвоночного диска на уровне поражения.

Теоретическая значимость: Исследование подтвердило полезность и приоритет гистологических и иммуногистохимических исследований для оценки степени и последовательности повреждения диска и, вовлечение позвоночного сегмента, и стадия повреждения стенки сосуда коррелирует со степенью дегенерации межпозвоночного диска.

Ценность применения работы. Полученные результаты исследования дополняют знания врачей относительно диагностики, эволюции дегенеративно-дистрофических изменений, совершенствования тактики лечения и профилактики.

Применение научных результатов. Результаты исследования были применены в практики Республиканской больницы Ортопедии и Травматологии, Лаборатории тканевой инженерии и клеточной культуры, Банка тканей, Клинической муниципальной больницы „ Святой Троицы ”.

ANNOTATION

Cociug Adrian

"The morphological particularities of the degenerative-dystrophic processes of lumbar intervertebral segment"

Thesis in medicine. Chisinau, 2016

Thesis structure. The thesis is exposed on 161 pages of electronic text and includes: introduction, four chapters, conclusion, conclusions, practical recommendations and bibliography (308 sources). The thesis is illustrated with 13 tables, 48 figures, 5 annexes. The results are published in 18 scientific papers.

Keywords: intervertebral disc, vertebral artery, degenerative-dystrophic changes.

Domain of study: Pathological Anatomy.

The research purpose evaluation of degenerative-dystrophic damage consecutiveness of the lumbar intervertebral disc with histopathological staging and assessment of biological changes (histological and immunohistochemical) produced in the compromised vertebral segments.

Objectives: Highlighting of the correspondence between histology of the degenerative changes in intervertebral discs and lumbar MRI imaging changes according the staging of Modic. Determination of the degree and degenerative-dystrophic damage consecutiveness of lumbar intervertebral disc segments and elements. The presence of correlation between histological degenerative-dystrophic aspects of intervertebral discs and lumbar arteries stained by CD₃₄ immunohistochemistry. Identification of the cells attend the inflammatory manifestations in the arteries, and MCT colored by CD₆₈ immunohistochemistry and fibrillary disorganization by orcein and silver impregnation.

Scientific novelty. The correlative studies between MRI and histology of the disc in 80% of cases of herniated disc surgical histology shows changes typical advanced in the outbreak lesion and the early changes and environments, with the presence of fibroblasts reveal character regenerative kernel pulposus and annulus. Investigation of L₁ lumbar arteries correlative - L₅, stained with CD₃₄, and at this level lumbar of intervertebral discs, examined histologically presents Pearson correlation index $r = 0.54$, average being interpreted as association, which is a clue in diagnosing degree damage to the disc.

Scientific problem solved: The degree of degeneration of the disc with stage MRI correlated at the same level, and the presence of an association between damage of the arteries wall lumbar with the intervertebral lumbar disc degeneration.

The theoretical significance. The study confirmed the usefulness and priority of the histological and immunohistochemical examination in assessing the degree and consistency of damage of the disc, involving of the vertebral segment structures, and stage of the vessel wall damage correlates with the degree of lumbar intervertebral disc degeneration.

The value of the work. The results obtained in the study complete the specialized medical knowledge on the diagnosis, evolution of the degenerative-dystrophic changes, perfecting tactics of treatment and prophylaxis.

Implementaea scientific results. The study results were implemented in the work of PMSI SCTO, Laboratory of Tissue Engineering and Cells Cultures, Tissue bank, SCM,, Holy Trinity ".

COCIUG ADRIAN

**PARTICULARITĂȚILE MORFOPATOLOGICE ALE PROCESELOR DEGENERATIV-
DISTROFICE DIN SEGMENTUL INTERVERTEBRAL LOMBAR**

311.02 - ANATOMIE PATOLOGICĂ

Autoreferatul tezei de doctor în științe medicale

Aprobat spre tipar: 15.03.2016 Formatul hârtiei 60x84 1/16

Hârtie ofset. Tipar ofset.

Coli de tipar: 1,8 Tiraj 100 ex. Comanda nr.1087