

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 DEGENERATIV-DISTROFICE DIN
SEGMENTUL INTERVERTEBRAL LOMBAR

311.02 – ANATOMIE PATOLOGICĂ

Teză de doctor în științe medicale

Conducător științific: _____ **ZOTA Ieremie**, dr.hab.med., laureat al
premiului de stat din RM, prof. univ.,
Catedra morfopatologie a USMF „Nicolae
Testemițanu”, MC al AȘ RM, 311.02

Consultant științific: _____ **CAPROȘ Nicolae**, dr.hab.med., prof. univ.,
șef Catedra traumatologie și ortopedie a
USMF „Nicolae Testemițanu”, 321.18

Autorul: _____ **COCIUG Adrian**

CHIȘINĂU, 2016

© *COCIUG Adrian*, 2016

CUPRINS

ADNOTARE.....	6
АННОТАЦИЯ.....	7
SUMMARY.....	8
LISTA ABREVIERILOR.....	9
INTRODUCERE	10
1. PARTICULARITĂȚILE ANATOMICE ȘI BIOMECANICE A COLOANEI VERTEBRALE ȘI DISCURILOR INTERVERTEBRALE.....	19
1.1. Discul nemodificat.....	19
1.2. Noțiuni de embriologie a coloanei vertebrale și discurilor intervertebrale.....	21
1.3. Regresia vasculară postnatală în discurile intervertebrale.....	23
1.4. Structura biochimică a discurilor intervertebrale.....	24
1.5. Factorii etiologici și favorizanți ai schimbărilor degenerative în disc.....	27
1.6. Modele experimentale de boli degenerative ale discului intervertebral.....	29
1.7. Modele experimentale care imită presiunea asupra coloanei vertebrale pe discurile intervertebrale simulând locomoția bipedă	31
1.8. Concluzii la capitolul 1.....	32
2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE.....	33
2.1. Caracteristica generală a cercetării.....	33
2.2. Obiectul de studiu.....	33
2.3. Metodele cercetărilor științifice	33
2.4. Prelucrarea matematică a rezultatelor.....	35
2.5. Concluzii la capitolul 2.....	39
3. CARACTERISTICI MORFOPATOLOGICE ALE PROCESELOR DEGENERATIV-DISTROFICE ÎN DISCUL INTERVERTEBRAL LOMBAR.....	40
3.1. RMN în stadializarea schimbărilor degenerativ-distrofice și a herniei de disc lombare.....	40
3.2. Studiarea histologică a segmentului intervertebral lombar.....	42
3.2.1. Evaluarea lotului de studiu.....	42
3.2.2. Prelevarea și prelucrarea materialului discal.....	43
3.3. Desfășurare descriptivă a imaginii histologice la fiecare element al segmentului intervertebral.....	45

3.4. Corelațiile dintre RMN și histologia diagnosticării precoce a leziunilor discurilor intervertebrale.....	53
3.5. Concluzii la capitolul 3.....	55
4. DEREGLĂRILE DE CIRCULAȚIE ÎN DISCUL INTERVERTEBRAL LOMBAR.....	58
4.1. Sinteza și evaluarea cazurilor incluse în studiu.....	58
4.2. Mecanismul de fixare a cromogenului imunohistochimic.....	58
4.3. Tehnicile de prelevare, fixare și colorare a arterelor lombare.....	59
4.4. Evaluarea și descrierea histologică a arterelor lombare.....	61
4.4.1. Colorarea arterelor lombare cu hematoxin-eozină.....	61
4.4.2. Colorarea peretelui vascular cu orceină și impregnarea argentică.....	63
4.4.3. Colorarea imunohistochimică a arterelor lombare.....	64
4.4.3.1. Evidențierea imunohistochimică cu CD ₃₄ a elementelor structurale din peretele arterelor lombare în corelație cu histopatologia discurilor intervertebrale lombare.....	64
4.4.3.2. Prelucrarea statistică a datelor.....	67
4.4.4. Colorarea imunohistochimică cu anticorpi MCT (mastocit cell tryptase).....	74
4.4.5. Colorarea imunohistochimică cu anticorpii CD ₆₈	75
4.5. Corelația dintre schimbările imunohistochimice colorate cu CD ₃₄ ale arterelor lombare și schimbările histologice ale discurilor intervertebrale lombare.....	76
4.6. Concluzii la capitolul 4.....	81
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMENDAȚIILE DE LA FINALUL TEZEI.....	84
Influența discului intervertebral lombar asupra durerii în radiculopatie.....	87
Rezonanța magnetică nucleară în diagnosticarea schimbărilor degenerative în disc.....	89
Clasificarea schimbărilor degenerative în discul intervertebral lombar și importanța ei.....	90
Este necesară clasificarea modificărilor histopatologice ale materialului discal postoperator?	92
Neovascularizarea în discurile degenerativ-distrofice și semnificația ei.....	93
Influența factorilor de risc asupra degenerării discurilor intervertebrale.....	94
Evaluare clinică.....	94
Opțiunile terapiei chirurgicale.....	95
Viitoarele direcții de tratament.....	99
Terapia genică.....	100

Ingineria tisulară.....	101
CONCLUZII GENERALE.....	108
RECOMANDĂRI PRACTICE	110
BIBLIOGRAFIE.....	111
Anexa 1. Acordul informat al pacientului implicat în cercetare.....	134
Anexa 2. Acordul informat al persoanelor care permit includerea în studiu a cercetării cazului de deces al rudelor care participă în cercetare	136
Anexa 3. Acte de implementare a rezultatelor obținute.....	138
Anexa 4. Brevete de invenție	141
Anexa 5. Diplome și distincții	149
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII	159
CURRICULUM VITAE AL AUTORULUI	160

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 indiciile 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 afectarea 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 Модик. 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 ".

LISTA ABREVIERILOR

AI – fosete articulare
aL₁₋₅ – artera lombară 1-5
BP – dureri de spate
CV – corp vertebral
dL₁₋₅ – discul intervertebral 1-5
De – discectomie
DD – degenerescentă discului
DL – dureri lombare
Ilde – interlamendiscectomie
IHC - imunohistochimie
IF – inel fibros
Flavde – flavectomie decompresivă
Hlde – hemilamendiscectomie
H-E – hematoxelin-eozină
LCVL -
LT – lamele terminale cartilaginoase
LF – ligament flav
LI – ligament interspinal
LS – ligament spinal
LLA – ligament longitudinal anterior
LLP – ligament longitudinal posterior
Lde – lamenectomie decompresivă
MDD – modificări degenerativ-distrofice
MCT – mastocyt cell tryptase
Mde – microdiscectomie
NP – nucleu pulpos
PT – proces transvers
RMN – rezonanță magnetică nucleară

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța problemei abordate

Afecțiunile degenerativ-distrofice ale coloanei vertebrale la om sunt destul de frecvente. În 90% din cazuri se manifestă prin dereglări ale sistemului nervos periferic, cu tendință de creștere la persoanele de vârstă tânără, apte de muncă [294, 297, 299].

În Statele Unite ale Americii, durerea lombară afectează anual milioane de pacienți și generează costuri sociale de aproximativ 50 de miliarde de dolari. [75]

Un studiu retrospectiv din Statele Unite efectuat pe muncitorii din industria grea, a demonstrat că 41% din totalul costurilor medicale se adresa pacienților cu afecțiuni degenerative ale coloanei vertebrale lombare. [240]. Anual, 80% dintre pacienții din industria grea au cel puțin 8 săptămâni de concediu medical, a cărei cauză este durerea lombară datorată unei afectări degenerative a discului intervertebral lombar. [160]

Unele date epidemiologice din Europa arată că, durerile lombare la adulți, prevalența, se estimează că 12-30%, și ea variază între 60% și 85%, iar în țările cele mai industrializate, între 2% și 8% (Hoy și colab 2010). [105]

Un studiu efectuat de Centrul National de Sanatate din Germania a constatat că, afecțiunile ortopedice ca artrita reumatoidă, osteoartrita și osteoporoza sunt cele mai comune comorbiditățile asociate cu durerile de spate, urmate de morbidități cardiovasculare și cerebrovasculare (Schneider et al 2007). [105]

Durerile de spate se întâlnesc în 84%, iar prevalența durerilor cronice este de aproximativ 23%, dintre care 11-12% din populație sunt cele lombare. Factori mecanici ca ridicarea greutăților, transportul, și cei genetici au un rol major în patogenia modificărilor degenerative [240].

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 [232].

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 [297].

Shulz S. et al. [229], în 2015, a efectuat un studiu pe 929 sportivi de elita din Germania, în care s-a determinat incidența, localizare, tratarea și factorii care influențează durerile de spate (BP). Ca rezultat s-a determinat că, cel puțin la fiecare al zecelea atlet suferă temporar de BP, și chirurgia coloanei vertebrale ar putea fi singura opțiune pentru tratament. BP are loc mai frecvent la stres suplimentar.

Rajasekaran S. et al. [203], a examinat 695 adulți din India, determinând rolului exact al predispoziției genetice pentru DD. S-a dovedit a fi cinci gene (COL11A1, ADAMTS5, CALM1, IL1F5 și COX2), care au rol în diferite etape ale metabolismului matricei, semnalizarea intracelulară și cascada inflamatorie, inducând degenerarea discului.

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

Descrierea situației și identificarea problemei în domeniu 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 [87, 143].

O clasificare a degenerării discului coloanei vertebrale lombare prin metode imagistice a fost propusă de Modic Mt. et al. [169]. 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. [245], în 1990, au propus clasificarea macroscopică a modificărilor degenerative ale discurilor intervertebrale legate de vîrstă, fiind utilă pentru evaluarea discurilor prelevate postmortem, evidențiind caracterele morfometrice (dimensiunile, consistența, culoarea,

înălțimea). Tot ei au clasificat, imagistic prin RMN în discurile nemodificate, începutul degenerescentei, degenerescență moderată, degenerescență severă, care se folosesc actualmente în clasificarea histologică a schimbărilor degenerative în disc.

Kurunlahti M. et al., în 2001, folosind imaginile sagitale T2 ale coloanei vertebrale lombare la 37 de voluntari asimptomatici, cu vârsta cuprinsă între 22-68 ani, a calculat coeficientul de difuzie (CD) din 98 discuri intervertebrale lombare, investigate bidimensional și angiografie prin rezonanță magnetică pe 98 perechi de artere lombare (totale artere = 196). Drept rezultat a fost că, fluxul afectat în arterele lombare este asociat cu scăderea difuziei în discuri lombare, și poate juca un rol important în degenerescența discului intervertebral lombar [142].

Kauppila Li., în 2009, studiind histologic ateroscleroza aortei a dovedit că, ea îngustează ramificațiile aortei abdominale inclusiv patru artere lombare pare și artera sacrală medie, care alimentează segmental intervertebral lombar. Au fost identificate o sută șaptezeci și nouă lucrări, din ele au fost incluse 25 de lucrări. Studiile post-mortem au arătat o asociere între leziunile ateromatoase la nivelul aortei și degenerescența discului (DD), precum și între gradul de ocluzie al arterelor lombare și durerile lombare (DL). În studiile clinice, ateroscleroza cu calcificarea aortei a fost asociată cu DL, iar stenoza arterelor lombare a fost asociată atât cu DD cât și DL. În studiile epidemiologice, fumatul și mărirea nivelului de colesterol din serul sanguin, s-au dovedit a avea influență majoră în DD și DL [129].

Urban J.P. et al. [255], în 2004 au dovedit că țesutul discului intervertebral este avascular și alimentația depinde de difuzia din vasele sanguine de pe marginea discului, ce furnizează substanțe nutritive pentru activitatea și viabilitatea celulară, și elimină deșeurile metabolice, acidul lactic. Calcifierea lamelelor terminale scade difuzia discului, cu micșorarea aportului de substanțe nutritive, scăzând producerea matricei, ducând la moartea celulelor, și prin urmare, la degenerarea discului.

Nerlich A.G. et al. [179], în 2007, folosind colorarea imunohistochimică cu CD₃₁ a discurilor lombare schimbate degenerativ-distrofice, 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. [272], 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-distrofice 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, luând în vedere cele expuse anterior, se impune o examinare individuală mai detaliată a particularităților degenerative din segmentul intervertebral lombar cu investigație RMN, histologie și imunohistochimie.

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

Obiectivele cercetării:

1. Evidențierea concordanței dintre histologia modificărilor degenerative ale discurilor intervertebrale lombare și schimbările imagistice RMN conform stadializării după Modic.
2. Determinarea gradului și consecutivității afectării degenerativ-distrofice a discului și elementelor segmentelor intervertebrale lombare.
3. Stadializarea histopatologică a schimbărilor degenerativ-distrofice ale discurilor intervertebrale lombare colorate cu hematoxelin-eozină și picrofuxină.
4. Examinarea histologică a segmentelor intervertebrale lombare (lamelele terminale, ligamentele longitudinale anterioare și posterioare, ligamentul flav) după vârstă, 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 afectate aterosclerotice, colorate imunohistochimic cu CD₆₈ și MCT și dezorganizarea fibrilară prin colorarea cu orceină și impregnarea argentică.

În baza studiului putem face o analiză profundă a schimbărilor ce au loc în disc și în

segmentele adiacente, iar în funcție de stadializarea lor din punct de vedere histologic-funcțional, o intervenție terapeutică promptă și adecvată, apelând la ultimele achiziții chirurgicale miniinvazive și biologice.

Pentru a formula concluzii corecte, s-a folosit analiza retrospectivă a foilor de observație. Au fost analizați 173 de pacienți, internați și operați în perioada 2009-2011 cu diagnosticul de osteocondroză lombară, hernie de disc la acest nivel, 87 operații sau investigat histologic fragmentele de disc și grupate conform gradelor de afectare degenerativă, de la 20 pacienți decedați am examinat 100 artere lombare L₁ – L₅, discurile integral, lamelele terminale, fosele articulare, ligamentul flav, ligamentele longitudinale anterioare și posterioare.

Noutatea științifică și originalitatea rezultatelor obținute.

Au fost elucidate histologic caracterul morfopatologic ale proceselor degenerative-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 vîrstă;

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

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

Un astfel de studiu imunohistochimic cu CD₃₄ al endoteliului peretelui vascular al arterelor lombare s-a efectuat 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. A fost elaborat și implementat în practică mai multe brevete de invenție: Dispozitiv pentru secționarea țesuturilor biologice. MD 867 (13)Y, A61B 10/02 (2006.01). Cererea depusă 2014.08.01. BOPI, nr. 1/2015, p.44. Permite prelevarea țesutului discal din toate straturile, permițînd o examinare mai

adecvată a schimbărilor degenerative din țesutul fibro-cartilaginos și os spongios.

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.

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. Alegerea metodei de tratament la fel este influențată de eficacitatea tratamentului anterior efectuat.

3. Colorarea imunohistochimică cu CD₃₄ a arterelor lombare arată gradul de afectare a intimei 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 ar fi bine venită o 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.

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.

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. Arhive 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 degenerescenta discurilor intervertebrale lombare. Volum de rezumate. Societatea Română de Morfologie. Craiova, România, 28-31 mai 2014.

Sumarul compartimentelor 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.

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.

Capitolul 1 „Particularitățile anatomice și biomecanice a coloanei vertebrale și discurilor intervertebrale”, cuprinde 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 patogeniza 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 collagen 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 collagen. 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.

Capitolul 2 „Materialul și metodele de cercetare” 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.

În capitolul 3 „Caracteristici morfopatologice ale proceselor degenerativ-distrofice în discul intervertebral lombar” este analizat imagistic RMN – stadializarea schimbărilor degenerativ-distrofice și herniei de disc lombare la 173 bolnavi. conform clasificării Modic. Sau studiat 87 de discuri intervertebrale obținute postoperator de la bolnavii operați în secția de vertebrologie a IMSP SCTO în ianuarie 2008 – decembrie 2009 și din materialul prelevat (segmente vertebrale lombare) de la 8 cadavre cu diferite patologii somatice, vîrste și sex din SCM „Sfînta Treime”. Histologic s-a constatat 10 pacienți ($11,49 \pm 3,42\%$) au forme incipiente de degenerescență a discului intervertebral cu aspecte de degenerescență mixoidă, central condroblaste cu condrocite, la 32 pacienți ($36,78 \pm 4,32\%$) în forme medii de degenerescență a discului intervertebral, s-a depistat: țesut discal fibrozat, cu zone de edem interfibrilar; țesut cartilaginios discal, cu condrocite în condroblaste, aspect papilar și zone hemoragice, zone de

hialinizare. La 45 de pacienti ($51,72 \pm 5,36$ %), după 61 ani cu forme avansate de degenerescență a discului intervertebral, s-a determinat: cartilaj discal hialinizat, calcificări intradiscale sau zone de osificare, infiltrat limfocitar. Sau efectuat concordanțele RMN și histologia diagnosticului precoce al leziunilor discurilor intervertebrale în cele 87 de cazuri, cu trei tipuri majore de modificări la nivelul discului intervertebral și al platourilor vertebrale.

În capitolul 4 „Deregările de circulație în discul intervertebral lombar” este studiată structura arterelor lombare și discurilor intervertebrale prin investigație histologică, colorare cu hematoxilin-eozină. Colorarea cu orceină, impregnarea argentică și imunohistochimia cu anticorpi MCT (mastocyte cell tryptase), CD₆₈ (identificarea macrofagelor) și CD₃₄ (determină starea intimei 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 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 – având modificări incipiente în 14 cazuri ($70 \pm 10.25\%$).

1. PARTICULARITĂȚILE ANATOMICE ȘI BIOMECHANICE A COLOANEI VERTEBRALE ȘI DISCURILOR INTERVERTEBRAL

Elementele structurale ale coloanei vertebrale

Coloana vertebrală are o structură complexă, formată prin suprapunerea a 34 de vertebre, 24 dintre ele sunt separate, mobile și independente unele față de altele, fiind dispuse în 3 regiuni distincte: cervicală, toracală și lombară. Articulațiile intervertebrale permit mișcări limitate, dar care conferă axului vertebral un caracter robust, elastic, adaptat stațiunii bipede.

1.1. Discul nemodificat

Discurile intervertebrale sunt situate între corpurile vertebrale, care le unesc între ele.

Discurile sunt articulațiile principale ale coloanei vertebrale și ocupă o treime din lungimea sa. Rolul lor major este cel mecanic, ca acestea să transmită în mod constant sarcina din greutatea corporală și activitatea musculară a coloanei vertebrale. Aceasta îi oferă flexibilitate la mișcare, permițând îndoire, flexiune și torsiune. Ele au aproximativ 7-10 mm grosime și 4 cm în diametru (planul antero-posterior) a regiunii lombare (figura 1.1.) [157, 284].

Discurile intervertebrale au o structură complexă, care constă dintr-un inel exterior gros de cartilaj fibros, numit inelul fibros, ce înconjoară nucleul pulpos, iar superior și inferior sunt delimitate de plăcile terminale.

Nucleul pulpos este situat central și conține fibre de collagen, care sunt aranjate haotic [284], și fibre de elastină (aproximativ până la 150 μm în lungime), care sunt dispuse radial [157] și unite cu un număr mic de condrocite. Aceste fibre sunt situate într-un mediu gelatinos foarte hidratat și constituie o densitate mică (aproximativ 5000/mm³) [156]. Granița dintre inelul fibros și nucleul pulpos (figura 2) se distinge foarte bine la copiii de până la 10 ani.

Inelul fibros (figura 1.2.) este format din 15-25 de foițe concentrice orientate în formă de spirală (a) [164]. Fibrele collagen sunt orientate aproximativ la 60° față de axa verticală, fiind mărginite superior și inferior de lamelele terminale bine unite cu corpurile vertebrale. Această structură permite amortizarea coloanei vertebrale. Fibroblastele sunt unitatea structurală a inelului fibros, avînd o structură alungită, aranjate de-a lungul fibrelor collagen. Fibroblastele foițelor interne ale inelului fibros au forma ovală [119, 216].

În nucleul pulpos (b), cît și-n inelul fibros s-au depistat niște rețele endoplasmaticice (WEB-Джонсон) de pînă la 30 mcm și s-au presupus că ele scad suprasolicitarea discului la efort fizic.

Lamelele terminale au formă de farfurie, structură cartilaginoasă și un strat subțire

(1mm) de cartilaj sticlos (c), situat orizontal, constituit din cartilaj hialin. Fibrele collagen sunt orientate orizontal, paralel cu corpurile vertebrale, și inserate de trabeculele osoase [166].

La adulți, în discurile intervertebrale normale lipsește vascularizația, dar ele sunt inervate preponderent de lamelele terminale ce conțin receptori ai terminațiunilor nervoase [159]. Ultimii conțin celule gliale (Schwann) [122].

Lamelele terminale sunt vascularizate numai la copiii de până la vârsta de 12 luni, apoi ele dispar, drept sursă de alimentație servind capilarele (din ramificațiile art. vertebrale) ale ligamentelor longitudinale ce mărginesc discurile intervertebrale [156].

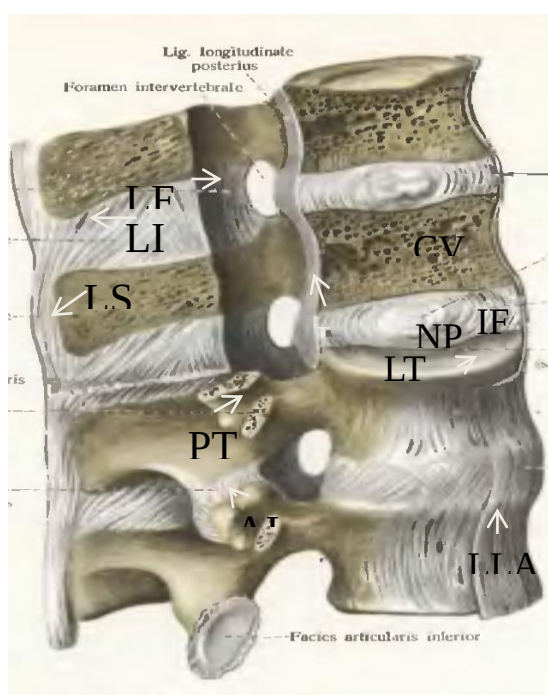


Fig. 1.1. Structura segmentului intervertebral lombar (modificat după Sinelnikov R. D. *Atlas de anatomie umană*, 1978): Figura reprezintă structura discului: nucleul pulpos (NP), înconjurat de foițele inelului fibros (IF) și separate de corpurile vertebrale (CV) prin lamele terminale cartilaginoase (LT); ligamentul flav – (LF), ligamentul interspinal – (LI), ligamentul spinal – (LS), ligamentul longitudinal anterior – (LLA), ligamentul longitudinal posterior – (LLP), procesul transvers – (PT) și fosețele articulare – (AI).

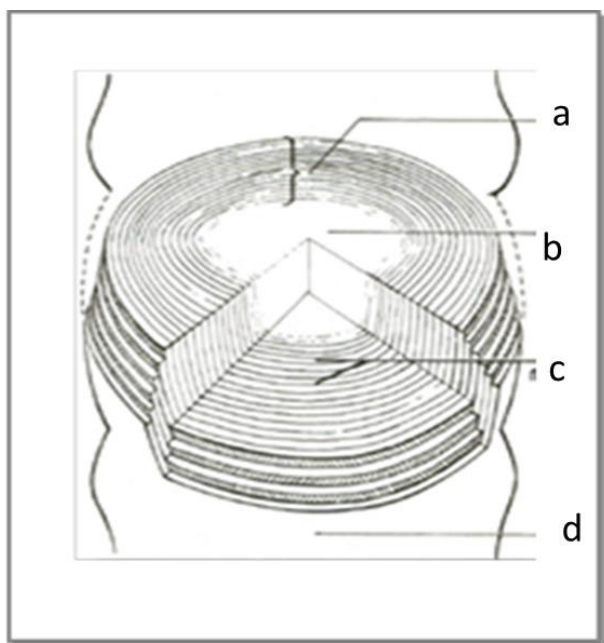


Fig. 1.2. Structura fibrilară a discului intervertebral (modificat după Abrahams P.H., Hutchings R.T. *Atlas de anatomie a omului*, 2007): inelul fibros (a), nucleul pulpos (b), țesut fibro-cartilaginos (c), corp vertebral (d).

1.2. Noțiuni de embriologie a coloanei vertebrale și discurilor intervertebrale

Coloana vertebrală. Cea mai primitivă formă de schelet axial este *notocordul* sau *coarda dorsală*, întâlnită la *amfioxus*, un nevertebrat marin primitiv, la care formează tot scheletul. La pești este înlocuit cu o „tijă” cartilaginoasă, iar la om apare doar în primele faze ale dezvoltării embrionare, care ulterior dispare. La adult găsim doar resturi degenerate în cursul dezvoltării scheletului, și anume în nucleii pulpoși ai discurilor intervertebrale [7, 78, 111]. La pești, coloana are rolul unui instrument de propulsie, pe când la animalele terestre ea constituie un aparat de susținere. În raport cu funcția pe care o îndeplinește, își modifică forma: la pești este dreaptă; la animalele cu stațiune patrupedă apar curbura cervicală, cifoza toracală și se formează unghiul sacro-lombar. La mamiferele bipede și la om, apare lordoza lombară și curbura sacro-coccigiană, ca adaptare la poziția bipedă [78, 111].

La naștere, coloana copilului are doar o curbură cu concavitatea anterioară (cifoza toracală) și unghiul sacro-lombar format. La 4 luni după naștere, când copilul încearcă să mențină capul ridicat, începe să se contureze lordoza cervicală și se schițează cifoza sacrată. Mai târziu, când copilul începe să meargă, apare lordoza lombară și se definitivează lordoza cervicală și cifoza sacrată [198].

Discurile intervertebrale. Dezvoltarea embrionară a centrelor coloanei vertebrale este

din notocord, o structură derivată din mezoderm [44, 197]. Pentru dezvoltarea discului intervertebral, notocordul este important atât ca centru de semnalizare, care mediaza migrarea celulelor, diferențierea și supraviețuirea, cât și ca structură, care dă creșterea nucleului pulpos [109, 197, 265].

Regiunile inelului fibros și nucleului pulpos în disc apar simultan, de-a lungul căilor distincte în dezvoltare. La aproximativ a 30-a zi de gestație fetală la oameni (la a 12-a zi la șoareci), celulele de sclerotom migrează medial din somitele paraxiale, condensându-se în jurul notocordului [12, 219]. Această condensare adoptă un model metameric al regiunilor condensate, care mai târziu dau naștere inelului fibros și corpului vertebral, respectiv [93]. Celulele din inelul fibros adoptă o morfologie fibroblastică. Aceste celule se aliniază și se orientează lamelar și unghiular-pliat pentru depunerea matricei, care mai târziu definește structură inelului fibros [12]. Organizarea celulelor inelului fibros este mediată de filamente actinice citoscheletice. Stress fibre se aliniază și organizează fibrele de collagen matur al inelului fibros [195].

Concomitent cu morfogeneza inelului fibros, din notocord cu perioada de creștere se formează rudimentele corpurilor vertebrale și regiunile intervertebrale [12, 193, 196]. Pentru a evidenția această transformare, a fost propus acțiunile forțelor biomecanice: umflarea și condensarea condrogenică la prevertebrate contractează notocordul în aceste regiuni, inducând migrarea celulelor notocordului spre rudimentele intervertebrale [278]. Această ipoteză este susținută în observațiile făcute pe șoarecii collagen-II-deficitari, la care formarea corpului vertebral este afectată și notocordul persistă ca o structură similară mezodermului. În cazul în care foițele notochordale sunt insuficient dezvoltate, în timpul morfogenezei normale lipsesc și, prin urmare, nucleul pulpos nu se formează [278].

După naștere, celulele din nucleul pulpos au aceleași caractere morfologice ca și celulele precursori sau notocordale [108, 109, 248, 249]. Datorită acestor similarități, aceste celule au fost numite „identice-notocordale” (30-40 microni în diametru), apar, de regulă în grupuri și posedă filamente de actină cu vacuole intracelulare, care ocupă mai mult de 25% din suprafața celulei [3, 110]. Aceste vacuole reprezintă o particularitate comună a celulelor embrionare notocordale, deoarece conțin glicozaminoglicani ce generează o presiune osmotică cu umflare care contribuie la alungirea celulelor notocordale [252].

În primii 10 ani de viață, numărul celulelor „identice-notocordale” scade, apoi ele dispar [108, 208, 248]. În același timp, apare o altă populație de celule mici, denumite „identice-condrocite” din cauza similitudinilor fenotipice și morfologice cu condrocitele cartilajului [228]. În continuare, aceste celule sunt numite „celule mature ale nucleului pulpos”, deosebindu-se de condrocitele cartilajinoase. În comparație cu celulele identice-notocordale, cele mature ale

nucleului pulpos sunt mai mici (~ 10 microni în diametru) și lipsite de vacuole intracelulare [208].

Rata de tranziția între diferite tipuri de celule variază în funcție de specie: la om, celulele identic-notocordale ale nucleului pulpos persistă doar în primii ani de viață și dispar cu creșterea și dezvoltarea organismului. În alte specii, cum ar fi șobolanii, aceste celule persistă permanent [3, 110]. Originea celulelor mature ale nucleului pulpos a fost un subiect de dezbatere [136, 41], întrucât unele studii afirmă că aceste celule sunt recrutate din țesuturile adiacente – din plăcile hialine [231].

Celulele identic-notocordale și cele mature ale nucleului pulpos prezintă unele asemănări genice și diferențieri morfologice. Deși ambele tipuri exprimă aceiași markerii tipici condrogenici ca aggrecanul, collagen II și Sox9 [231, 106, 272], mai puțin fiind collagen I, precum biglicanul, decorinul și lumicanul, bogate în proteoglicani, care sunt sintetizate în fibrogeniza collagenului, având un raport mai mare pentru celulele nucleului pulpos matur decât cele notocordale [272]. Există unele dovezi că numărul total de celule care exprimă acești markeri scade după 30 de ani [84].

Factorii care stau la baza dezvoltării celulelor nucleului pulpos sunt puțin studiați, bazându-se pe modificările micromediului, mecanicii și nutriției discale. Forțele mecanice în disc cresc considerabil după naștere, cu debutul mersului biped. Acest stres suplimentar mecanic induce apoptoza celulelor notocordale. La compresiunea discului a fost demonstrată diferențierea condrogenică și a celulelor-stem mezenchimale [85]. Pe modele la iepuri, în urma compresiunii discului, a scăzut numărul de celulele identic-notocordale și a crescut numărul de celule mature [179]. Celulele nucleului pulpos trebuie să supraviețuiască într-un mediu slab oxigenat și sărac în substanțe nutritive, devenind progresive în urma regresiei vasculare postnatale. Ca urmare, cerințele nutritive și metabolismul sunt mai mari în celulele identic-notocordale decât în celulele mature [252].

1.3. Regresia vasculară postnatală în discurile intervertebrale

Aprovizionarea nutrițională săracă a celulelor din discurile intervertebrale avasculare a indus patogeneza degenerării legate de vârstă. La oameni, în primii ani după naștere, vasele sangvine, care au pătruns în inelul fibros și endoplatele cartilajului hialin încă la a 35-a săptămână de gestație, încep să se retragă, lăsând în cele din urmă, discul ca o structură complet avasculară [188, 301].

Vascularizarea discului în timpul ontogenezei suferă schimbări semnificative. Până la 25-26 de ani, irigarea discului este asigurată de șase ramuri arteriale: cîte două vase dorsale,

axiale și ventrale. Ramurile arteriale creează conexiuni numite „arcade”. Vasele penetrează discurile din corpurile vertebrale [162]. Plexurile vasculare sunt mai dense pe suprafața frontală a discului [234]. La sfîșitul perioadei de creștere a organismului (25-26 de ani), vasele discului se obliterează complet, alimentația fiind furnizată prin difuzie din placa hialină. Obermuth H. (1930); Coventry M. (1945) consideră că discul este avascular și mai uzurat la persoanele de vîrstă înaintată. În locul uzurii se evidențiază o proliferare a vaselor cu revascularizare, ce aparține unui fenomen patologic.

Cauzele posibile pentru regresia vasculară includ cerințe scăzute de substanțe nutritive în perioada inițială de creștere rapidă sau, mai probabil, diferența de presiune circulantă intracelulară cu tensiunea din matricea extracelulară. Există dovezi că, în urma regresiei, caile urmate de vasele sangvine nu sunt pe deplin modelate în microarhitectura discului [34, 74]. De aici reiese că discul are o capacitate slabă de a se remodela și repara [68]. Probabil că aceste resturi vasculare influențează asupra mecanicii inelului fibros, iar ca răspuns la factorii de stres apar deformări radiale și transversal. Însă, nu este clar dacă această influență ar putea ajuta sau afecta funcția discului intervertebral.

1.4. Structura biochimică a discurilor intervertebrale

Histologic, pînă la 50% din substratul discului intervertebral conține celule supuse apoptozei și reacției acide, observîndu-se proliferarea fibroblastelor și formarea sectoarelor granulare [25]. Foițele lamelare ale inelului fibros capătă un contur neregulat (figura 1.3), exfoliat, iar fibrele de collagen și elastină sunt întrerupte și ondulate.

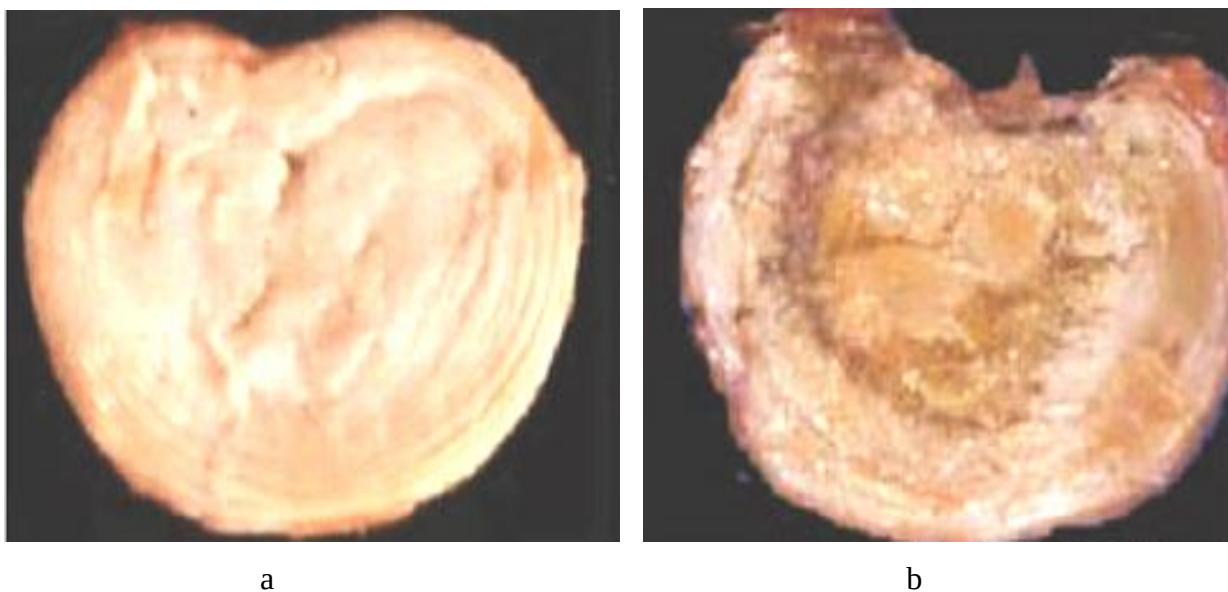


Figura 1.3. a) - structura discului intervertebral la persoanele pînă la 20 ani; b) schimbări patologice după 40-50 ani.

Activitatea mecanică a discului intervertebral este asigurată de cele două componente macromoleculare – fibrele de collagen tip I și tip II, care formează aproximativ 70% și respectiv 20% din masa inelului fibros și nucleului pulpos [69]. Ele mențin rezistența discului la tracțiune față de trabeculele țesutului osos. Proteoglicanii constituie componentul de bază al ambelor tipuri de collagen, care prin lanțurile de cheratin sulfat mențin apa în țesuturile hidratate, furnizată de condrocite, și normalizează presiunea osmotică [255].

Proteoglicanii și apa (figura 1.4.) sunt elemente esențiale și în nucleul pulpos (50% și 80% din greutate), iar în inelul fibros – respectiv 20% și 70% din greutate. Ei sunt alcătuiți din complexe formate dintr-un miez proteic (*core*) și lanțuri de glicozaminoglicani (figura 1.5). Sunt câteva tipuri de proteoglicani, una din ele cei extracelulari (matriciali), format din: agrecan – ce stă în componența cartilajelor discurilor și suprafețelor articulare, versicanul în pereții vaselor; neurocan, brevican structuri importante a țesutului nervos, decorină, lumican – cornee, biglican, perlecan – membranele bazale. Un rol important a lor este – stabilitate la presiunea expusă asupra discurilor, migrare celulară în cursul morfogenezei și repararea țesuturilor lezate în urma proceselor degenerative. Există de asemenea diferite tipuri de collagen: III, V, VI, IX, X, XI, XII și XIV; proteoglicani formează macromolecule ce stau la baza structurilor fibrilare: agrecanul, fracție mică – lumicanul, biglicanul, decorinul, fibromodulina, fibropectina și amiloidul [163, 214].

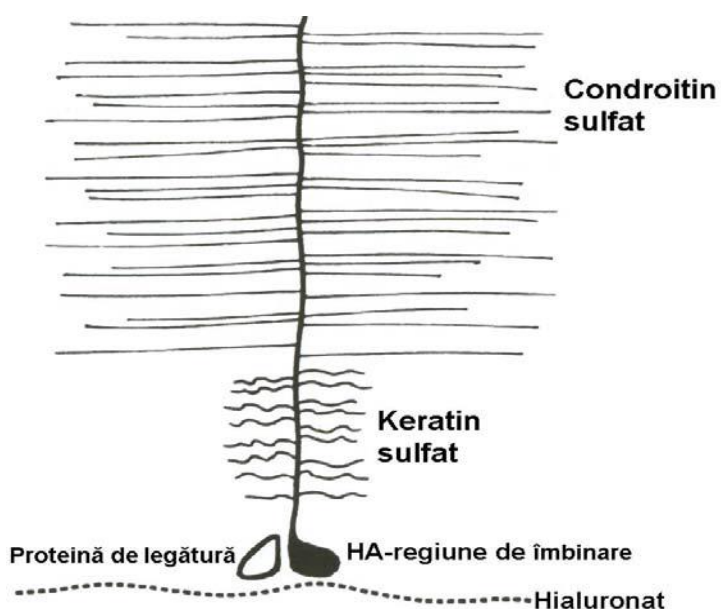


Fig. 1.4. Moleculă de proteoglican (reprezentare schematică) (modificat după Alan Stevens, Lowe J. S Histologie humaine, Paris : Elsevier, 2006):

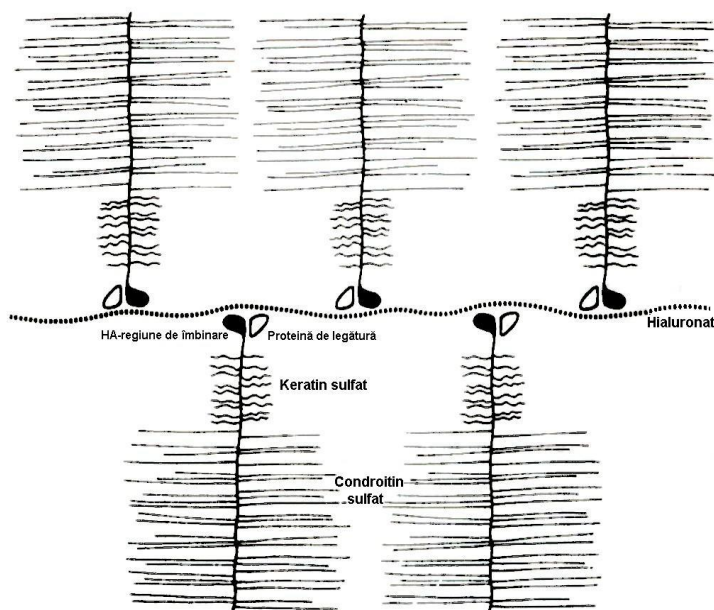


Fig. 1.5. Agrecanul (reprezentare schematică), structură fibrilară compusă din multiple molecule de proteoglicani (modificat după Alan Stevens, Lowe J. S Histologie humaine, Paris : Elsevier, 2006):

Colagenul IX este implicat în formarea legăturilor dintre fibrele de colagen [70]. Moleculele nucleului pulpos sunt dezintegrate de metaloproteinaze matriceale (MMPs), fiind sintetizat de celulele discului [214, 241, 271]. Echilibrul dintre dezagregare și sinteză, cu acumularea macromoleculelor matriceale, determină calitatea și integritatea matricei nucleului pulpos, caracterizînd comportamentul mecanic al discului intervertebral.

După datele unor autori, discul intervertebral este adesea comparat cu cartilajul articular, însă se deosebesc vădit după structura biochimică. Între aceste două țesuturi există diferențe semnificative – componența și structura agrecanului. În disc, agrecanul este mai mult substituit de cheratin sulfat, iar în articulații, el se găsește în stratul profund al cartilajului articular, în raport de 30% la 80% la aceeași persoană. Proteoglicanii din matricea moleculară în disc scad odată cu înaintarea în vârstă și sunt înlocuiți de țesut conjunctiv [65].

Schimbările biochimice importante apărute în degenerarea discului intervertebral duc la pierderea proteoglicanilor [152]. Agrecanul (Figura 4) se degradează în fragmente mici de molecule fibrilare, formînd conglomerate mari și ducînd la pierderea glicozaminoglicanilor, apt ce influențează scăderea presiunii osmotice cu deshidratarea matricei discului intervertebral. În degenerarea discului intervertebral, sinteza agrecanului persistă și atacă regiunile intacte, cu formarea agregatelor [120].

Mai puțin cunoscute sunt modificările proteoglicanilor cu fracție mică în degenerescența

discurilor, deși există unele dovezi că concentrația decorinului și, mai ales, a biglicanului, este mai mare în discurile degenerate decât în cele normale [113]. Matricea fibrelor de collagen ale discului suportă modificări degenerative, însă sunt mai puțin evidente în proteoglicani. Cel mai denaturat de enzime este collagenul de tip II în discurile intervertebrale, decât în cartilajul articular de la aceeași persoană [11, 98].

1.5. Factorii etiologici și favorizanți ai schimbărilor degenerative în disc

Cu o deosebită atenție a fost studiată apariția schimbărilor degenerativ–distrofice epidemiologic, pe modele experimentale. Prin acest studiu s-au găsit asocieri între factorii de mediu și munca fizică grea, conducerea auto, obezitate și fumat [63, 202, 246]. În baza studiului, au tras concluzia că sunt necesare schimbări privind condițiile la locul de muncă [246].

În ultimul deceniu, cu dezvoltarea și apariția unor utilaje medicale performante, diagnosticarea degenerescentei discului a devenit mai simplă și exactă [263, 29], fiind apreciată calea corectă de abord chirurgical cu metode miniinvazive.

O deosebită atenție a fost acordată predispoziției genetice și familiale [18, 155, 256]. S-a demonstrat că la gemenii examinați în ultimul deceniu, degenerarea discului a fost identică în circa 60% din cazurile clinice, fiind confirmată prin rezonanță magnetică [19, 225] și biochimic prin aprecierea polimorfismului matricei macromoleculare.

O mare atenție a fost acordată și caracterului mutagen al fibrelor de collagen tip I și tip II [8], fenomen des observat în degenerarea discurilor lombare și a collagenului tip IX, cauzată de mutațiile din două gene alele – *COL9A2* și *COL9A3*, fapt întâlnit mai ales la populația finlandeză [130, 191], asociată cu o boală ereditară dominantă. În ambele mutații, un rol deosebit îl are triptofanul. Fiind un aminoacid hidrofob, el poate fi înlocuit ușor cu alți aminoacizi, care afectează proprietățile matricei macromoleculare [8].

Watanabe H., et al. au efectuat un studiu asupra altor gene care codifică agrecanul, o proteină ce în urma mutației obține lanțuri cu diferite lungimi și un număr mic de lanțuri de condroitin sulfat. Ultimul este un component structural important al lanțurilor macromoleculare și asigură, în mare parte, rezistența la compresiune [266]. Alterarea sintezei condroitin sulfatului duce la o degenerare mai intensă a cartilajului, cu pierderea proteoglicanilor.

Până în prezent, toate mutațiile genetice asociate cu degenerarea discului au fost descoperite prin evidențierea genei afectate, care determină integritatea și funcția matricei extracelulare. Cu toate acestea, mutații în alte sisteme, cum ar fi cele de la nivelul căilor de semnalizare sau metabolice, ar putea duce la modificări ale activității celulare, care pot dezvolta degenerarea discului [254]. Cartografierea genetică are un rol deosebit în stabilirea și

înregistrarea zonelor cu predispoziție sporită la hernii de disc, dar nefiind determinate genele implicate [205].

Sumarul investigațiilor genetice și epidemiologice arată că natura apariției schimbărilor degenerativ-distrofice este polietiolologică. Mai multe gene suportă mutații, modificând astfel morfologia și biochimia matricei macromoleculare și, în final, fiind soldate cu fisuri la nivelul inelului fibros, cu protruzia și formarea unui sac hernial ce conține elemente ale nucleului pulpos schimbat degenerativ. Ultimul compresează radiculele nervoase generând simptome de durere, iar histologia lor arată o fibroză a discului intervertebral cu calcificate și infiltrat inflamator cronic [42, 43, 51, 52, 53, 214, 236].

Maladiile coloanei vertebrale, asociate cu tulburări degenerative în structurile sale, constituie una dintre cele mai actuale probleme în ortopedia modernă. Prevenirea și tratarea acestor boli necesită o cercetare mult mai largă în studierea patogenezei, aflând profunzimea și gradul de implicare în procesul patologic a elementelor segmentelor coloanei vertebrale. La momentul actual s-a constatat că la baza afecțiunilor coloanei vertebrale stau modificările degenerative ale nucleului pulpos, mecanismul fiind încă neelucidat [126].

În baza informațiilor disponibile din literatura de specialitate [126], putem presupune că printre factorii care favorizează dezvoltarea proceselor degenerativ-distrofice în țesuturi o importanță considerabilă au dereglările circulației în vasele coloanei vertebrale [42, 43, 44, 51, 52, 53]. Cu toate acestea, nici până în prezent nu există răspunsuri satisfăcătoare la întrebările privind declanșarea procesului de sclerozare și fazele timpurii de dezvoltare, a ei.

Succesivitatea dereglărilor degenerative în discurile intervertebrale, în general, este cunoscută nu doar din observațiile clinice, ci și dintr-o evaluare detaliată în dinamică a schimbărilor morfofuncționale, reproducerea tulburărilor patologice fiind posibilă numai într-un studiu experimental, pe animale de laborator. Unii savanți au găsit o asemănare în arhitectura structurală dintre discul intervertebral lombar de origine umană și de origine animală (iepuri) [105]. În plus, s-a confirmat biochimic natura generală a procesului de degenerare a discului la oameni și iepuri [135]. În special, nucleele diferă; la rozătoare și mamifere ele sunt structurate de celule notocordale pe tot parcursul vieții, în timp ce la om, aceste celule dispar din nucleul pulpos, după perioada copilariei [155].

Actualmente, în literatura de specialitate, datele privind scleroza discului intervertebral, dezvoltată în urma dereglărilor circulației sangvine, sunt insuficiente. Vladimir Kozlov (1969 – 1971) demonstrează convingător efectul dereglărilor circulatorii în manifestarea procesului degenerativ-distrofic al discului intervertebral [117].

În prezent, factorul etiologic rămâne în discuție, însă ateroscleroza cu îngroșarea

peretelui vascular influențează semnificativ asupra viabilității elementelor structurale ale discului intervertebral, inițial fiind afectat nucleul pulpos, apoi inelul fibros [46, 47, 48]. Aceste fenomene se datorează mecanismelor de scindare a fibrelor de colagen, cu fragmentarea, ondularea și, în final, proliferarea fibroblastelor, cu sclerozarea lor [49, 50].

Zota Ie. (1982-1987), în repetate studii asupra mecanismului de inițiere a aterosclerozei a demonstrat că ateroscleroza, în stadiile sale incipiente, începe în intima vasculară, și nu în adventice, care este asigurată de sistemul *vasa vasorum* [305, 306, 307, 308]. În lucrarea de față este efectuat un studiu histologic al peretelui arterelor lombare, pentru a vedea dacă există vreo corelare cu schimbările ce au loc în discul intervertebral lombar.

Una dintre cauzele primare de degenerescență în disc este deficitul de substanțe nutritive în celulele discale [187]. Celulele necesită glucoză și oxigen, pentru a rămâne viabile și active. *In vitro*, viabilitatea celulelor discale este foarte dependentă de aportul de oxigen extracelular și pH, pentru menținerea și sinteza matricei celulare. În cazul concentrațiilor scăzute, pH devine acid [102, 99], iar celulele nu supraviețuiesc [129]. Se mărește concentrația acidului lactic, care afectează capacitatea celulelor de a sintetiza și a menține matricea extracelulară, urmată de degenerarea discului. Discul este avascular, însă vitalitatea celulelor depinde de aprovizionarea cu sânge a structurilor marginale (lamelele terminale, ligamentele longitudinale, corpurile vertebrale), de furnizarea substanțelor nutritive și de eliminarea produselor catabolice ale proceselor metabolice [121].

Factorii care afectează alimentarea cu sânge a discurilor intervertebrale sunt: ateroscleroza [97, 98], anemia drepanocitară, boala Gaucher [210]. Toate duc la degenerescența discului într-un termen îndelungat, cu dereglarea circulației nutriților în disc și în țesuturile învecinate [211, 253]. Mecanismul nu este cunoscut, dar se menține ipoteza că este modificată arhitectura patului capilar dintre disc și os. În cele din urmă, chiar dacă alimentarea cu sânge rămâne neafectată, elementele nutritive nu pot ajunge la celulele discului, din cauza calcificării plăcilor hialine [102, 287]. Calcificarea intensă în plăcile terminale este întâlnită mai des în scolioză [269, 288], cu perturbarea alimentării cu oxigen și glucoză, urmată de eliminarea acidului lactic din disc, fenomen observat pe model experimental [183] și la pacienți [72].

1.6. Modele experimentale de boli degenerative ale discului intervertebral

Principalele abordări ale biomodelării patologiei în discurile intervertebrale s-au efectuat după o analiza din literatura străină, care examinează metode actuale de modelare a proceselor patologice în țesuturile discurilor intervertebrale. S-a acordat o mare atenție dezavantajelor identificate prin diferite metode și modalităților de depășire a acestora.

Hir. Pozvonoc (2007) a studiat herniile de disc la mai multe grupe de mamifere, în funcție de specie, vârstă și de alți factori [97].

În literatura de specialitate 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).

În studiul nostru ne interesează schimbările ce au loc în disc și care ar fi modelul optim experimental.

Miyamoto S. et al. (1990) au efectuat rezecția musculaturii paravertebrale, cu secționarea proceselor spinose și a ligamentelor coloanei vertebrale la șoareci. Prejudiciu important în disc s-a dezvoltat după 6 luni, atingând efectul maxim de degenerescență la 12 luni. Procesele degenerative-distrofice în țesuturile discului intervertebral au fost exprimate prin dispariția nucleului pulpos, inelului fibros, cu dezorganizare, reducerea apei și apariția unor fisuri și chisturi multiple, urmate de prolabare [41, 166].

Masuda K. et al. (2005) în studiul lor au indus puncția inelului fibros la iepure cu obiecte ascuțite, distrugând nucleul pulpos și înlocuindu-l cu țesut fibros de 6 săptămâni după operație. S-a efectuat RMN, vizualizându-se imagistic în T₂ o hipoecogenitate bazată pe scăderea progresivă a cantității de apă în țesuturi [159].

Kaapa E. et al. (1994) au perforat inelul fibros la 20 porci și au remarcat dispariția nucleului pulpos cu predominarea sintezei de collagen de tipurile I și III [122].

Lipson S. et al. (1981) au studiat fenomenul polimorfismului și metaplazia celulelor inelului fibros la deteriorarea chirurgicală. După șapte zile de la experiment, a urmat extrudarea nucleului pulpos [150].

Anderson D.G. et al. (2002) au demonstrat procesele degenerative la iepuri, perforând inelul fibros cu un obiect ascuțit de 3 mm în diametru. După 7 zile, au urmat reducerea metaloproteinazelor 1, 9, 13 din toate tipurile de collagen și dispariția nucleului pulpos [6].

Kim J.S. et al. (2004) în urma deteriorării inelului fibros cu ace de diferite diametre, au observat la RMN, după 8 săptămâni, semne radiografice modificate în discul intervertebral (în T₂). Nivelul glicozaminoglicanilor a fost mai mic decât la animalele de control. S-a mărit deshidratarea discului, urmărind greutatea probelor care au fost cântărite înainte și după experiment [124].

Kim K.S. et al. (2005) au injectat în disc enzime proteolitice, cum ar fi camptotechina (Sigma Chem., St Louis, MO)—o substanță care induce apoptoza celulelor notocordale, rezultând schimbări degenerative majore la nivelul glicozaminoglicanilor peste 8 săptămâni [138].

Norcross J.P. et al. (2003) au demonstrat că introducerea de 0.25 U hondroitinkinază în nucleul pulpos al coloanei vertebrale caudale la șobolani invocă fibroza după 14 zile. Roentghenul a indicat reducerea înălțimii discului [185].

Takahashi T. et al. (1996) au utilizat hondroitinkinaza (12,5 UI) în tratamentul herniei de disc intervertebral la 59 de cîini. Ei au observat o regresie după o singură injecție și au sugerat că această tehnică poate fi aplicată în tratamentul conservator la oameni. Efectul terapeutic al acestei metode de tratament se bazează pe liza sechelelor nucleului pulpos, cu regresia și decompresia radiculelor nervoase, urmată de micșorarea simptomelor neurologice [242].

1.7. Modele experimentale care imită presiunea asupra coloanei vertebrale pe discurile intervertebrale simulînd locomoția bipedă, au fost efectuate de:

Cassidy J.D. et al. (1988) au efectuat amputația labelor membrelor anterioare și cozii la 21 șobolani nou-născuți Wistar. După două luni de aflare în poziție vertical, la toți șobolani s-au observat semne ale schimbărilor degenerative în țesuturile discurilor intervertebrale, iar în cinci cazuri, s-a format hernia de disc cu prolabarea ei în canalul spinal, compresînd structurile neuronale adiacente [36].

Kroeber M.W. et al. (2002) au echipat un șurub pentru a regla gradul de încărcare a clipurilor metalice exterioare ce fixează corpurile vertebrale adiacente. Sarcina a fost ajustată treptat, de 2,5 MPa, mai mare de 5 ori față de masa corpului. Examenul roentgenologic a demonstrat că reducerea înălțimii discului a avut loc progresiv, pe parcursul perioadei de experiment. Animalele au fost examinate după 1, 14, 28 de zile. Histologic, după a 28-a zi, nucleul pulpos s-a redus, cu fragmentarea sau dispariția lui completă și defibrilarea inelului fibros [140].

Ching C.T. et al. (2004) au propus compresiunea periodică. Într-un studiu pe șobolani Sprague-Dawley (cu greutatea de 430 g), ei au aplicat un fixator Ilizarov de la coada coloanei vertebrale pînă la nivelul C8-C9 și, periodic (de mai multe ori pe zi), supunea vertebrele unei compresiuni de 440 – 960 kPa. Pînă în ziua a 17-a de studiu, biochimic, s-a dovedit o scădere a nivelului de glicozaminoglicanilor cu schimbarea calitativă a structurilor fibroase din disc, exprimată prin creșterea nivelului de procollageni [141].

Pazzaglia U.E. et al. (1997) au legat cu fir metalic cozile a 24 șobolani (de 3 luni), imitînd flexia fiziologică a coloanei vertebrale la nivel caudal. Rezultatele examinărilor histologice după 30 și 90 de zile au arătat că există o decentrare a nucleului pulpos cu scădere calitativă, sechestrare și prolabare, formarea țesutului conjunctiv fibros în zona de compresie maximă [194].

1.8. Concluzii la capitolul I

1. Schimbările degenerative se inițiază în agrecan cu degradare în fragmente mici de moleculele fibrilare, formînd conglomerate mari și ducînd la pierderea proteoglicanilor și glicozaminoglicanilor, apt ce influențează scăderea presiunii osmotice cu deshidratarea matricei discului intervertebral.

2. Mersul biped al animalelor induce schimbări degenerative-distrofice în disc, reprezentate de suprasolicitarea discului cu sarcină, similar schimbărilor petrecute la om.

3. După analiza modelelor experimentale prezentate anterior, în studiul schimbărilor degenerative-distrofice ale discurilor intervertebrale rămân multe lacune: nu a fost evidențiat factorul etiologic, mecanismul de regenerare și răspunsurile celulare, după înlăturarea factorilor dăunători induși. Toate argumentările evidențiate necesită o studiere mai amplă și continuă.

4. După 25-26 de ani, vasele discului se obliterează, alimentația fiind furnizată prin difuzie din placa hialină, ligamentele longitudinale anterioare și posterioare, avînd o capacitate slabă de a se remodela și repara.

2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

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 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%) (tabelul 3.3).

S-au investigat RMN 173 pacienți, care 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.

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.

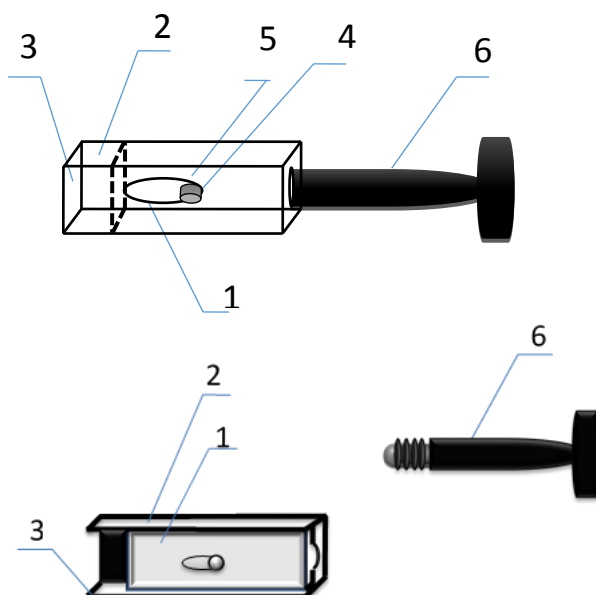


Fig 2.1. Dispozitiv pentru secționarea țesuturilor. Prezintă un piston dreptunghiular (1) intact turnat din oțel inoxidabil aranjat în interiorul unui dreptunghiular gol (2) turnat și confecționat din oțel inoxidabil, pe partea anterioară a căruia este formată fereastră (3) cu margini ascuțite pentru 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 captura 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 3 μ m, 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 75 μ m, 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 ($23,69 \pm 3,23$ %)) degenerare discală timpurie; semnal de tip lichidian inflamator. Aspect de hipersemnal în T₂, hiposemnal în T₁. Tipul II – (55 pacienți ($31,72 \pm 3,54$ %)) semnal de tip grăsos al platourilor vertebrale, aspect de hipersemnal în T₁ și T₂. Tipul III – (77 pacienți ($44,51 \pm 3,78$ %)) 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 ($11,49 \pm 3,42$ %) aveau **forme incipiente de degenerescență** a discului intervertebral, 32 pacienți ($36,78 \pm 4,32$ %) – **forme medii de degenerescență** a discului intervertebral, și 45 de pacienți ($51,72 \pm 5,36$ %), 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 anticorpul specific, 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 criterii de interpretare din literatura de specialitate (Jasani și Schmidt, 1993) [108], conform căroră, 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 grosisment de 4 și obiective corectate optic planapocromate cu grosismente 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 modului „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 lombară 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 L₁ – L₅ 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 L₁ – L₅, 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 investigare 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 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. 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	L ₁ n ₁ = 86		L ₂ n ₂ = 87		P
	Abs.	P ₁ ± ES ₁ (%)	Abs.	P ₂ ± ES ₂ (%)	
L ₁ – L ₂	-	-	-	-	
L ₂ – L ₃	-	-	3	3,4±1,94	>0.05
L ₃ – L ₄	12	14,0±3.74	8	9,2±3,09	>0.05
L ₄ – L ₅	40	46,5±5.38	46	52,9±5,35	>0.05
L ₅ – S ₁	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 (%)	
Pîna la 20	-		7	8,04±1,07	<0.01
21-30	5	5,8±2.52	14	16,09±3,94	<0.05
31-40	6	7,0±2.75	23	26,43±4,73	<0.001
41-50	26	30,2±4.95	24	27,58±4,79	>0.05
51-60	35	40,7±5.29	14	16,09±3,94	<0.001
61-70	12	14,0±3.74	3	3,44±1,94	<0.05
Mai mult de 71	2	2,3±1.61	2	2,29±1,61	>0.05

Vîrsta medie în lotul L_I =50.7±1.22 ani, în lotul L_{II} =40,1±1,41 ani (p<0.001)

Concluzii la capitolul 2

1. Studiul a fost realizat pe materialul tisular, recoltat din disc prin biopsii țintite din leziunile evidente macroscopic, cât și materialul postoperator, în lotul II fiind colectate de la 87 pacienți cu vârsta cuprinsă între 18 și 76 ani, vârsta medie = $40,1 \pm 1,41$ ani ($p < 0.001$). Pentru investigațiile imunohistochimice a fost selectat materialul respectiv de la 27 pacienți. Numărul total de obiecte confecționate și studiate (preparate microscopice și imunohistochimice) a fost de 194.

2. Din fiecare bloc s-au realizat secțiuni de 3p,m, care au fost montate pe lame histologice uzuale în cazul colorațiilor histologice. În colorațiile imunohistochimice secțiunile au fost montate pe lame silanate, cu o grosime de $75\mu\text{m}$, care asigură o adeziune superioară și nu necesită adezivi suplimentari, care ar putea interfera cu rezultatele imunoreacțiilor ulterioare.

3. În studiu au fost utilizate metode histologice (H-E) și imunohistochimice cu CD₃₄, MCT, CD₆₈, impregnarea argentică, și orceină.

4. Cuantificarea datelor obținute a fost realizată utilizând metodele hot-spot propusă de Weidner și modificată de van der Auera. Au fost respectate criteriile de interpretare propuse de Gee M.S.

5. Materialul acumulat a fost analizat statistic, ceea ce a permis sistematizarea datelor, formularea concluziilor și recomandărilor practice.

6. La femei schimbările degenerative predomină în lotul I - 55 persoane ($64,0 \pm 5.18\%$) și în lotul II - 45 persoane ($51,7 \pm 5.36\%$). ($p > 0.05$).

7. Cel mai afectat nivel este L₄-L₅ în lotul I – 40 persoane ($46,5 \pm 5.38\%$) și lotul II – 46 persoane ($52,9 \pm 5.35\%$). ($p > 0.05$).

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

3.1. RMN în stadializarea schimbărilor degenerativ-distrofice și a herniei de disc lombar

Obiectivul acestui studiu a fost remarcarea schimbărilor degenerative și a herniei de disc lombar 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, clasificând de modificările de la nivelul discului intervertebral lombar și platourilor vertebrale în trei tipuri majore, conform stadializării Modic [169].

Tabelul 3.1. Distribuția cazurilor lotului de studiu după tipul modificărilor evidențiate 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

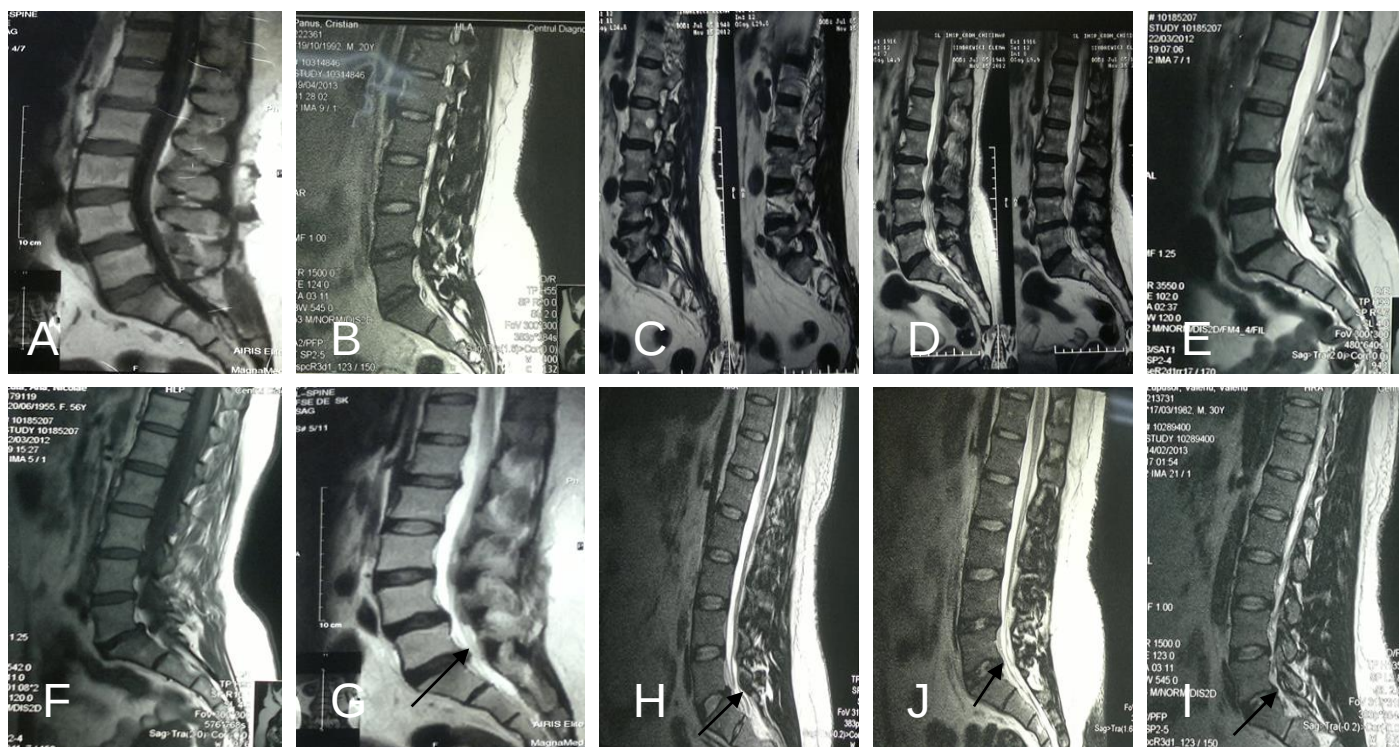


Fig. 3.1. Reprezentarea clișeurilor RMN și evidențierea modificărilor conform stadializării Modic la pacienții din loturile de studiu.

A. Pacientul A , 55 ani, corespund (41 persoane ($23,69 \pm 3,23$ %)), cu modificări de: a) tip I hipersemnal în T_1 și un semnal izointens sau ușor hiperintens în T_2 la nivelul discurilor $L_4 - L_5$; b) osteofit la nivelul corpului vertebral 5, IRM.

B, C, D, E, F. Pacienții E, F, G, H, J, de 56, 58, 61, 47, 45 ani, corespund (55 pacienți ($31,72 \pm 3,54$ %)), cu modificări de tip II hipersemnal în T_1 și un semnal izointens sau ușor hiperintens în T_2 în discurile intervertebrale L_5 , protruzie în ligamentul longitudinal posterior, RMN.

H, J, I. Pacienții B, C, D, 71, 69, 65 ani, corespund (77 pacienți ($44,51 \pm 3,78$ %)), cu modificări de tip III hiposemnal atât în T_1 cât și în T_2 , a) la nivelul discurilor $L_5 - S_1$, cu: a)semne de protruzie și extinderea ligamentului longitudinal posterior; b) scăderea înălțimii discurilor, RMN.

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 T_2 , aceste structuri nemaiputând fi individualizate de fibrele Sharpey externe ale inelului fibros [169]. Ulterior, fisurile concentrice, radiale sau transversale, ale inelului fibros sunt vizibile datorită conținutului lor lichidian ca zone liniare în hipersemnal T_2 sau după administrarea de gadolinium [161]. Degenerarea discală era prezentă la 173 de pacienți din studiu (100%) și

asociată cu scăderea înălțimii discului – la 77 de pacienți ($44,51 \pm 3,78$ %). Deteriorarea discului era însoțită de alterarea plăcii cartilaginoase care separă inelul fibros de platoul vertebral.

Rezultatele RMN evaluate în studiu

Tipul I – (41 persoane ($23,69 \pm 3,23$ %)) degenerare discală timpurie; semnal de tip lichidian inflamator.

Aspect de hipersemnal în T_2 , hiposemnal în T_1 , semnifică întreruperea și fisurarea platourilor cartilaginoase 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 ($31,72 \pm 3,54$ %)) semnal de tip grăsos al platourilor vertebrale, aspect de hipersemnal în T_1 și T_2 ; este datorat involuției medulare; este un stadiu ireversibil, însoțit întotdeauna de reducerea înălțimii discului.

Tipul III – (77 pacienți ($44,51 \pm 3,78$ %)) semnal de tip fibros, aspect de hiposemnal în T_1 și T_2 – corespunde dispariției spongioasei osoase în regiunile adiacente degenerescenței discale, unde se instalează procesele de reconstrucție osoasă reactivă; corespunde stadiului de condensare a platourilor vertebrale vizibile pe radiografia standard.

3.2. Studiarea 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).

3.2.1. 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 ($8,04 \pm 1,07$ %); 21-30 ani – 14 ($16,09 \pm 3,94$ %), 31-40 ani – 23 ($26,43 \pm 4,73$ %), 41-50 ani – 24 ($27,58 \pm 4,79$ %), 51-60 ani – 14 ($16,09 \pm 3,94$ %), după 61 ani – 5 ($5,73 \pm 3,55$ %).

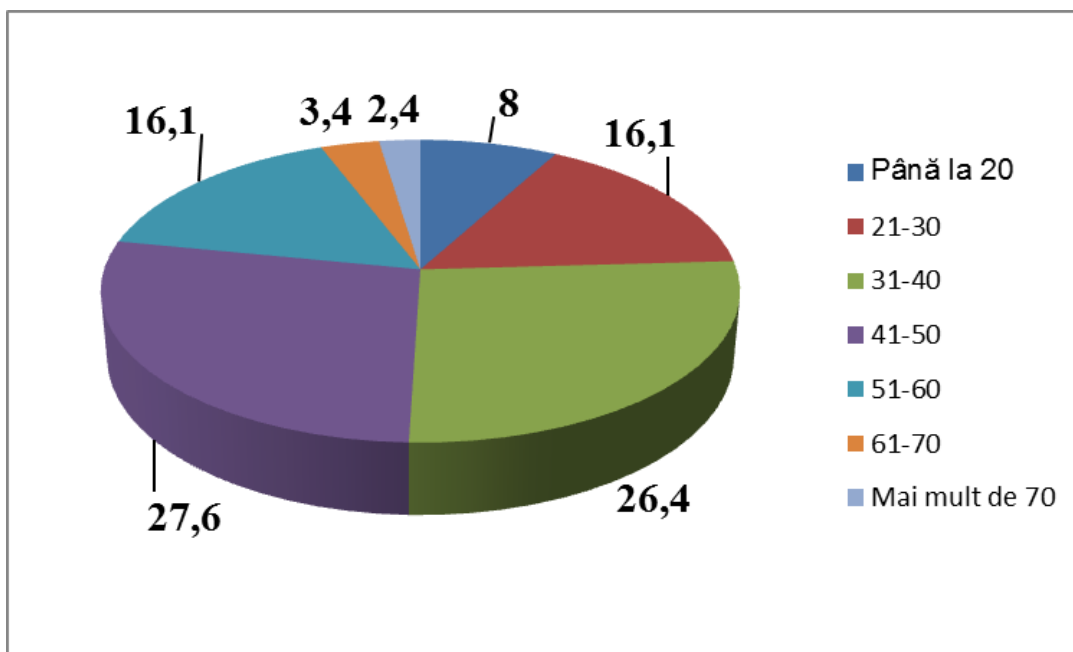


Fig. 3.2. Structura lotului LII în funcție de grupele de vârstă (ani) (%).

Vârsta medie pentru LII este de $40,1 \pm 1,41$ 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 ligamenelor).

3.2.2. Prelevarea și prelucrarea materialului discal

1. Înregistrare – acordarea de numar/caz; se prelevează 3 fragmente cu numerotare, cazul se poate înregistra înainte sau în cursul orientării macroscopice.
2. Orientare macroscopică/fasonare – descrierea pieselor, secționarea lor și recoltarea fragmentelor pentru prelucrare histopatologică în concordanță cu particularitățile fiecărui caz.
3. Fixare – în formol 10% tamponat, minimum 24 h.
4. Decalcificare – dacă se recoltează fragmente osoase sau calcificate.
5. Prelucrare histopatologică pe baterie manuală sau procesare automată (histochinetă, histoprosesor, autotehnicon). Etapele prelucrării histopatologice diferă în funcție de tipul țesutului prelucrat, de reactivii preferați și de aparatura existentă. Cel mai des se folosesc agenți de deshidratare (alcool etilic, eventual acetona, alte substanțe de acest fel), agenți de clarificare (alcool izopropilic, alcool amilic, alcool de 70%, 80%, 90%, 96 % și absolut de 100%, benzen,

toluen, xilen sau alte substanțe de acest fel), impregnare cu parafină. Perioada de procesare variază între 17 ore (procesare automată) și 5 zile lucrătoare (procesare manuală).

6. Includere în parafină. Dacă se formează blocuri de parafină, acestea vor fi fasonate și etichetate; dacă se include pe casete, casetele vor fi fasonate și se va verifica etichetarea lor.

7. Secționarea blocurilor de parafină la microtom (până la 5 micromi).

8. Etalarea secțiunilor pe lame.

9. Deparafinarea și rehidratarea lamelelor; se va efectua prin treceri prin băi succesive de agent de deparafinare (benzen, toluen, xilen sau alte substanțe asemănătoare), alcool etilic și apă de robinet. Numărul băilor și timpul de expunere variază în funcție de desfășurarea manuală sau automată a procesului (minimum 25 de minute – automat, 1 oră – manual).

10. Colorare după rețeta colorației respective (hematoxelin-eozină, picrofuxină).

11. Deshidratare (eventual uscare), clarificare (benzen, toluen, xilen sau alte substanțe asemănătoare).

12. Montare (cu mediu de montare).

13. Etichetare.

Pentru analiza microscopică a acestor parametri am utilizat 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.

Studiul histologic s-a desfășurat sub îndrumarea directă a dlui prof. univ. Ieremie Zota, șef Catedră anatomie patologică a USMF „Nicolae Testemițeanu”.

Tabelul 3.2. Repartizarea pacienților după sancțiunile operatorii de prelevare.

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

Notă:

Ilde – interlamendisectomie

Hlde – hemilamendisectomie

Led – lamenectomie decompresivă

Mde – microdisectomie

De – disectomie

Flavde – flavectomie decompresivă

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

Rezultatele investigației histologice a discului intervertebral lombar

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

3.3. Desfășurarea descriptivă a imaginii histologice la fiecare element al segmentului intervertebral

La persoanele tinere, care suferă de osteocondroză lombară cu dureri acute, histologic (10 pacienți ($11,4 \pm 3,42$ %)) nucleul pulpos (figura 3.3.) dispune de o structură fibrilară, cu stromă conjunctivală dezorganizată, conglomerate fibrilare (b) ce înconjoară sectoarele normale (a).

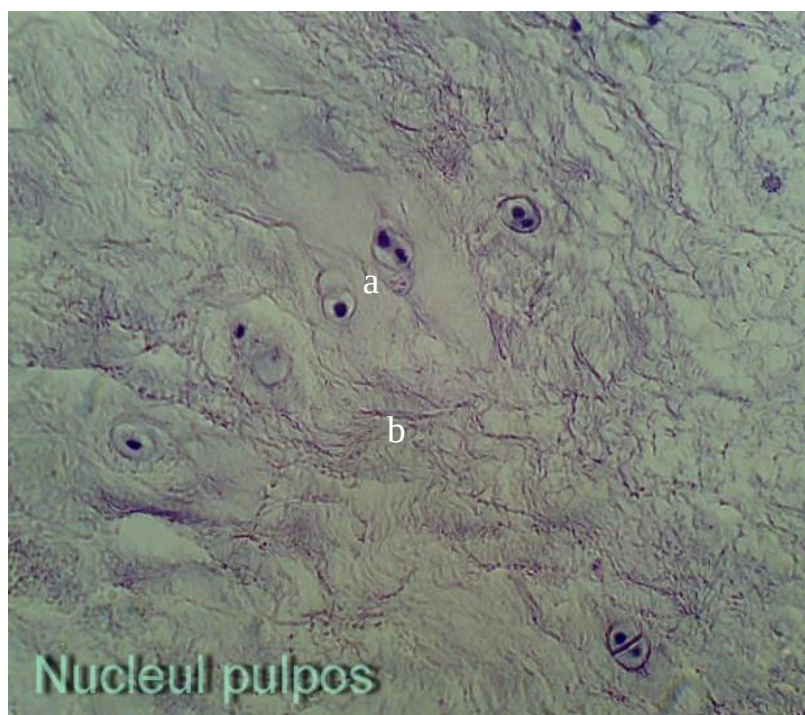


Fig. 3.3. Conglomerate fibrilare în nucleul pulpos: a) insulițe de țesut nemodificat cu condrocite la mijloc; b) sectoare de fibrilare cu epuizarea elementelor structurale ale condrocitelor; hematoxelin-eozină x 90. (Pacientul L., 28 ani).

La vârstele mai înaintate (32 pacienți ($36,78 \pm 4,32\%$)), în nucleul pulpos (figura 3.4.) se formează conglomerate fibrilare cu condrocite solitare (a), defibrilarea vădită a fibrelor colagene, fragmentarea structurii tisulare cu fibrozare (c), edem interstițial (b).

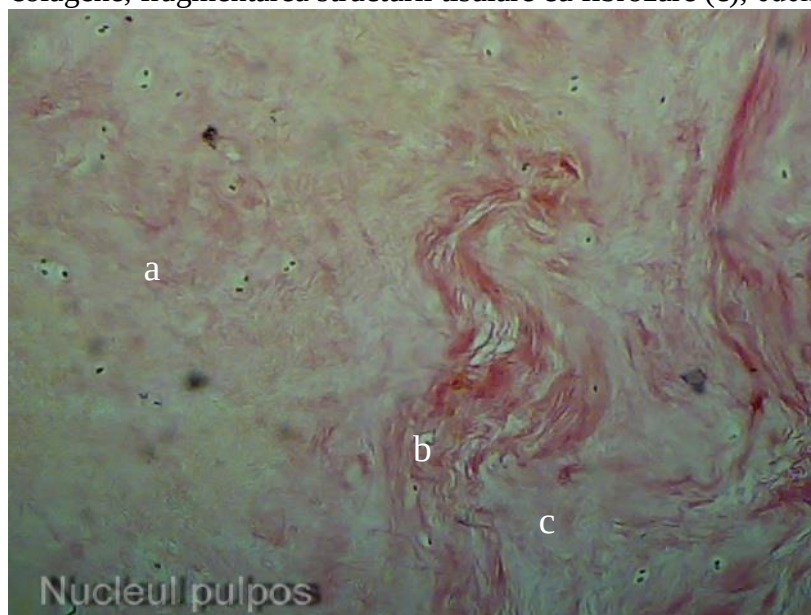


Fig. 3.4. Nucleu pulpos cu defibrilarea vădită a fibrelor colagene, fragmentare a

arhitectonicii tisulare (c), conglomerate fibrilare cu condrocite solitare (a), edem interstițial (b); picrofuxină x 90. (Pacienta S., 65 ani).

Condrocitele, în marea majoritate (figura 3.5.), sunt supuse schimbărilor degenerativ-distrofice, cu dispariția conturului celular, nucleeele sunt cariolizate, deplasate periferic, pericelular hialinizate, iar celulele tinere practic lipsesc.



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

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



Fig. 3.6. Inel fibros: dezorganizare structurală (a), epuizarea celulelor condrocitare

tinere (b îngroșarea fibrelor colagene, schimbări în membrana condrocitelor, cu dispariția conturului (c), nucleeele sunt supuse cariopiclozei și cariolizei (d); hematoxelin-eozină x 90. (Pacientul B., 36 ani).

În inelul fibros la apogeul degenerescenței (figura 3.7) are loc hialinizarea substanței fundamentale condrogene, cu granulare și dezorganizare fibrilară (a), iar în sectoarele cu rezistență scăzută – fisurare (b), cu menținerea condrocitelor supuse autolizei (c).

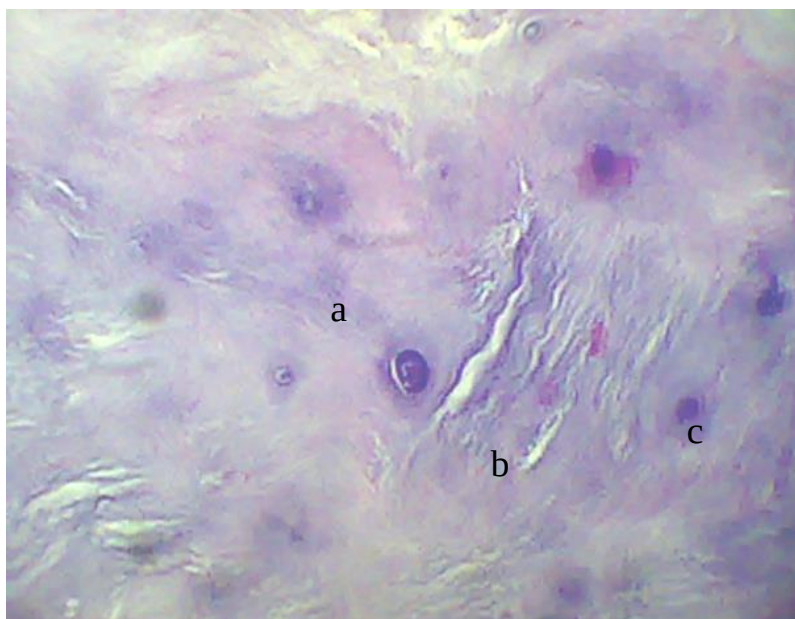


Fig. 3.7. Inel fibros cu fisurare (a), calcinate interstițiale (b), condrocite lizate (c); hematoxelin-eozină x140. (Pacientul R., 62 de ani).

La persoanele în vârstă (figura 3.8), schimbările degenerative devin mai profunde (45 de pacienți ($51,72 \pm 5,36$ %)) și depunerea calciului ocupă un areal mai vast (a), periferic fiind bine delimitat de țesut conjunctiv hialinizat (b), înconjurat de structură fibrilară dezorganizată (c), cu atrofierea și dispariția condrocitelor (d).



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

În normă la tineri (figura 3.9), **lamellele terminale** conțin un strat sticlos fin (a), cu condrocite bine conturate, înconjurate de substanță intercelulară bazofilă (b). Aceste plăcuțe delimitează nucleul pulpos (c) de țesutul osos (d) al corpurilor vertebrale.

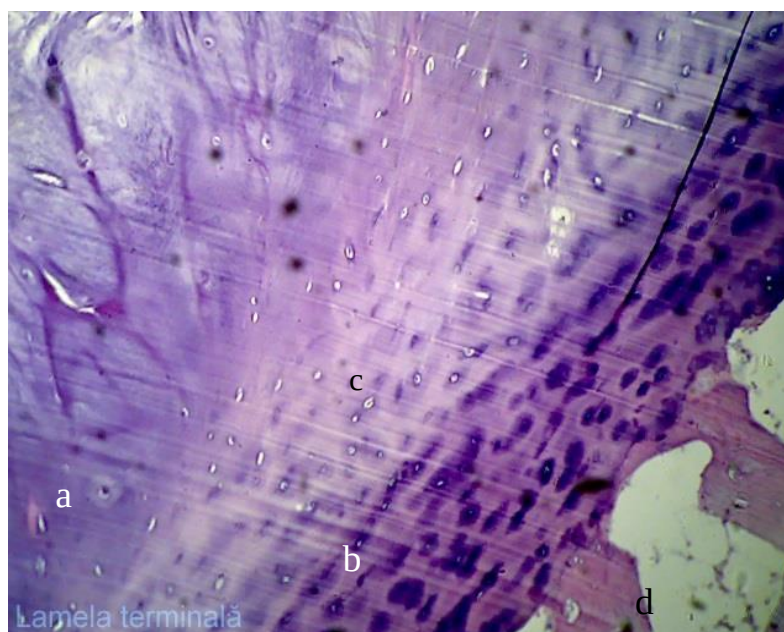


Fig. 3.9. Lamelă terminală cu strat sticlos (a), substanță intercelulară bazofilă (b), nucleu pulpos (c), trabeculele țesutului osos spongios (d); hematoxelin-eozină x140. (Pacientul

N., 25 ani).

Majoritatea condrocitelor se dezvoltă din celule-stem mezenchimale, care se divizează în precondroblaste, condroblaști (a), și în condrocite (b), însă în unele cazuri (figura 3.10), celulele mature le înconjoară pe cele blastice (c), formînd conglomerate gigantice. În cazul nostru se pun în discuție celulele gigantice ce apar deseori în lamelele terminale. Unii le consideră rămășițe structurale provenite din notocord [265, 109, 197], alții – centre germinative ale celulelor condrogene și substanței fundamentale condrogene.



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

La persoanele în vîrstă, care suportă schimbări degenerativ-distrofice, în lamelele terminale (figura 3.11) sunt înlocuite de țesut conjunctiv, cu hialinizarea fibrelor colagene (a); stratul sticlos dispare, iar în spațiul subcondral apar multiple formațiuni chistice (b). Numărul condrocitelor scade pînă la dispariție, stratul sticlos este, în mare majoritate, acelular c), condrocitele din nucleul pulpos sunt cariolizate (d), celulele blastice lipsesc, substanța intercelulară este tumefiată și granulată (e).

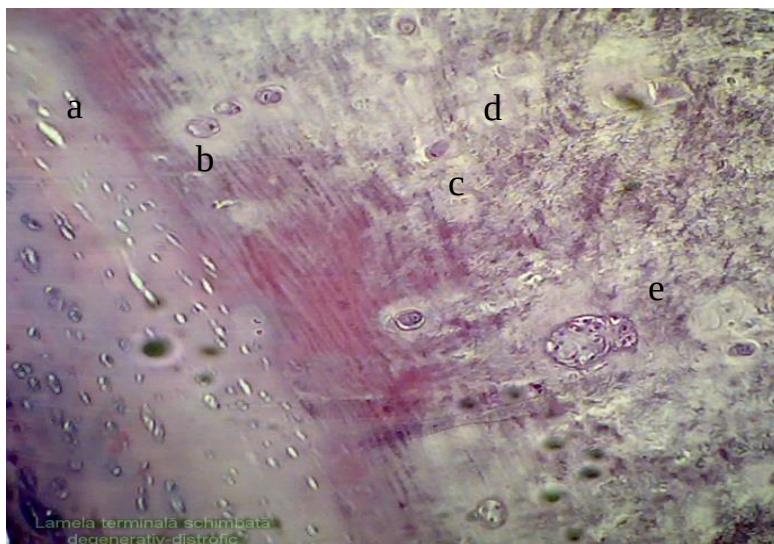


Fig. 3.11. Lamelă terminală: lacune aceluare (a), condrocite carioliolate (b), substanță intercelulară tumefiată (c), condrocitele nucleului pulpos – carioliolate (d), celulele blastice lipsesc, substanța intercelulară – tumefiată și granulată (e); picrofuxină x 140. (Pacientul M., 83 ani).

Ligamentele longitudinale anterioare și posterioare reprezintă o panglică fibro-conjunctivă, care se întinde de la baza occipitalului până la S₂, formată dintr-o rețea de fibre împletite și bine aranjate, ce aderă strâns de corpurile vertebrale și mai slab de discurile intervertebrale. Între ligament, marginea vertebrei și disc există un spațiu umplut cu țesut conjunctiv lax. La tineri (figura 3.12), fibrele își păstrează continuitatea (a), un interstițiu cu conținut seros (b) și, pe alocuri, fibroblaste (c).

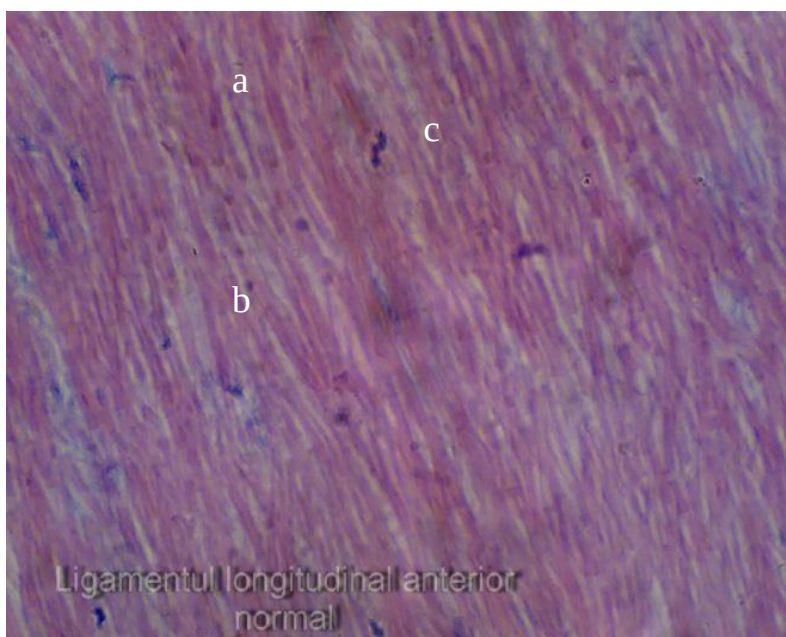


Fig. 3.12. Ligamente longitudinale: fibre conjunctive (a), interstițiul fibrilar (b), fibroblaști (c).

(c), hematoxelin-eozină x140. (Pacientul G., 23 ani).

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

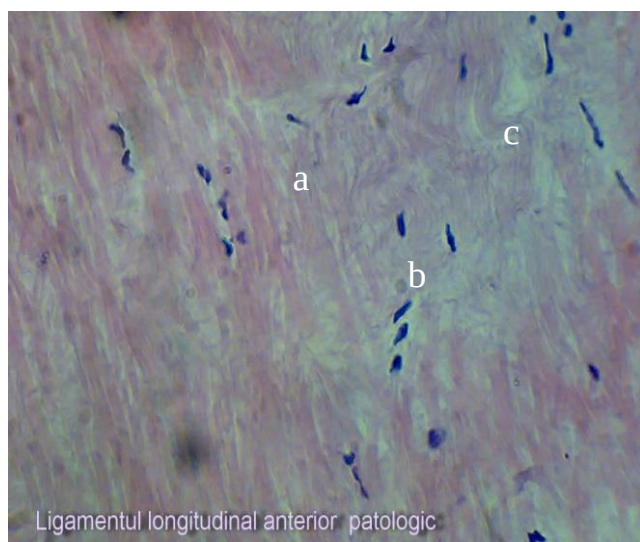


Fig. 3.13. Ligamente longitudinale: fibre conjunctive întrerupte (a), arhitectură fibrilară haotică (b), proliferarea fibroblaste (c); hematoxelin-eozină x 140. (Pacientul V., 63 ani).

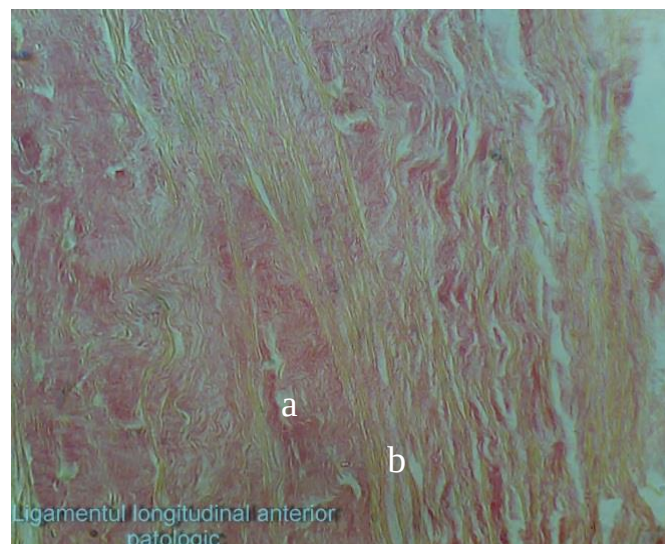


Fig. 3.14. Ligamente longitudinale: țesut conjunctiv în interstițiu (a), dezorganizarea stromei conjunctivale (b); picrofuxină x 140. (Pacientul H., 69 ani).

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

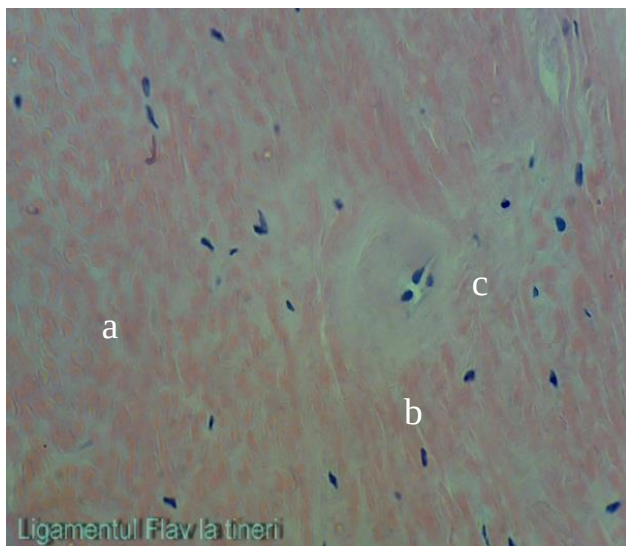


Fig. 3.15. Ligament flav constituit din fibre elastice (a), celule fibroblaste (b), vase de calibru mic (c); hematoxelin-eozină x90. (Pacientul D., 26 ani).

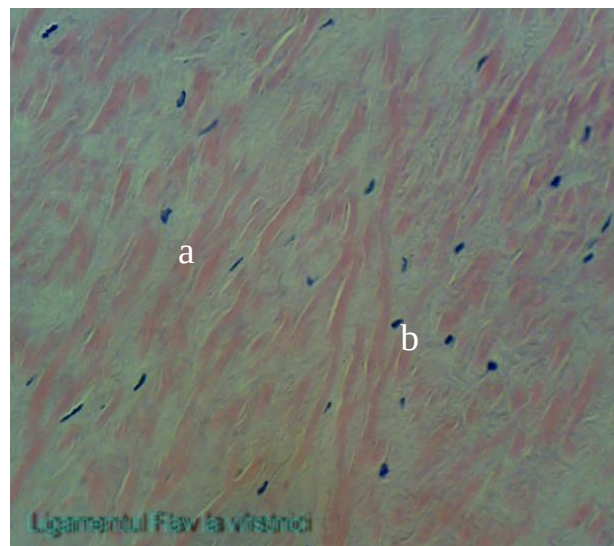


Fig. 3.16. Ligament flav cu fibre subțiate, ondulate și hipertrofiate (a), interstițial –țesut conjunctiv (b); hematoxelin-eozină x90. (Pacientul L., 53 ani).

La pacienții cu vârsta de după 50-60 ani (figura 3.16), (7 cazuri) aceste fibre devin subțiate, ondulate și hipertrofiate (a), în spațiul interstițial țesut conjunctiv (b).

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 3.3), 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 constat 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±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 ($36,78 \pm 3,67$ %) 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 ($44,51 \pm 3,78$ %) 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 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.

Modificări histopatologice de tip III, în formele avansate de degenerescență a discului intervertebral, au fost descoperite la 45 ($51,72 \pm 5,36$ %) 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

3.5. Concluzii la capitolul III

Includerea în studiu a investigației RMN are ca scop aprecierea unor markeri ai diagnosticului și evoluției schimbărilor degenerativ-distrofice cu hernie de disc, util în aprecierea deciziei terapeutice și a gradului de modificare.

1. 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. Studiul efectuat are menirea să demonstreze importanța depistării modificărilor și să aprecieze stadiul de modificare și stagnare a evoluției, care are un rol implicit în evaluarea tratamentului.

3. La o vîrstă înaintată în nucleul pulpos se formează conglomerate fibrilare solitare, repartizate la hotarul dintre nucleul pulpos și inelul fibros, cu fragmentarea și ondularea fibrelor colagene și dispariția conturului. Fiind sărace în condroblaste, fibrele au tendință de regenerare.

4. În inelul fibros la apogeul degenerescenței se depun săruri de calciu în interstițiu și la periferia zonelor fisurate, cu menținerea condrocitelor supuse autolizei. Fisurile formate în urma compresiunii și șocului duc la eliminarea conținutului nucleului pulpos în sacul hernial, cu excitarea radiculelor nervoase, urmată de sindromul algic.

5. La vîrsta de pînă la 1 an, lamelele terminale servesc drept sursă de alimentație pentru discurile intervertebrale, deoarece la această vîrstă ele sunt penetrate de multiple capilare, care mai apoi se atrofiază, păstrîndu-se ganglionii formațiunilor nervoase. În studiul efectuat de noi, în modificările histopatologice de tipul III ele 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 scolioză, lamelele terminale se calcifică.

6. În perioada a treia de viață, ligamentele longitudinale suportă schimbări degenerative cu întreruperea conturului fibrilar, arhitectonică haotică, iar în interstițiu sunt multiple celule fibroblaste în faza de proliferare, care formează țesut conjunctiv, care se colorează bine cu picrofuxină în roșu.

7. Există ipoteze că discurile intervertebrale lombare se alimentează prin difuzie din ligamentele longitudinale anterioare și posterioare, iar fibrotizarea lor duce la scăderea alimentației cu oxigen și substanțe nutritive și intensifică schimbările degenerativ-distrofice în discurile intervertebrale.

8. Ligamentul flav devine inert la declanșarea maladiilor degenerativ-distrofice doar la persoanele tinere. La vîrstnici, el are au o structură fragmentată și hipertrofiată, iar la persoanele cu stenoză de canal medular, fibrele colagene capătă un caracter metaplastic, ce se transformă în țesut cartilaginos, intensificîndu-se proliferarea fibroblastelor, urmată de îngroșarea ligamentului și scăderea elasticității lui.

9. Rezultatele obținute pe parcursul cercetării arată că de dureri discogene suferă persoanele cu vîrsta de după 50 ani, preponderent femeile ($99; 56,07 \pm 5,24\%$), $p > 0,05$ cu o medie de vîrstă de 45,3 ani, vîrsta medie în lotul I $= 50,7 \pm 1,22$ 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 degenerescentei discale.

10. Din examinările efectuate se evidențiază un număr sporit de intervenții chirurgicale de tip interlamendisectomie ($42; 48,3 \pm 5,36\%$) care sugerează un abord operator mai accesiv și de scurtă durată, favorabil pentru pacient.

11. Modificările histopatologice evidențiate în formele incipiente de degenerescentă a discului intervertebral, identificate la 10 ($11,49 \pm 2,42\%$) pacienți operați, au fost următoarele: degenerescentă mixoidă la nivelul cartilajului discal, cu condroblaste și condrocite în centrul imaginii; – hialinizare și zone de edem interfibrilar în țesutul discal fibrozat.

12. Modificări histopatologice în faza a doua, forme medii de degenerescentă a discului intervertebral, au fost depistate la 32 ($36,78 \pm 3,67\%$) pacienți: țesut cartilaginos discal cu condrocite în condroblaste de aspect papilar și zone hemoragice condroblaste cu condrocite asociate în zona de degenerescentă mixoidă.

13. Modificări histopatologice de tip trei, în formele avansate de degenerescentă a discului intervertebral, au fost descoperite la 45 pacienți ($51,72 \pm 5,36\%$) degenerescentă mixoidă, cartilaj discal hialinizat cu zone de calcificare intradiscală, prezența celulelor tinere (fibroblaste

și condroblaste), țesut cartilaginos cu zone de fibroză și infiltrat inflamator cronic.

14. La 4/5 din subiecți, examinarea histologică a confirmat leziuni avansate de degenerare a discului intervertebral, evidențiate de IRM.

15. Un element important evidențiat de noi a fost identificarea celulelor tinere (fibroblaste) în leziunile medii degenerative, oferindu-ne astfel posibilitatea reparării leziunilor discale.

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 hematoxin-eozină (efectuată în Republica Moldova). Colorarea cu orceină, impregnare argentică și imunohistochimia cu anticorpi MCT (mastocyte cell tryptase), CD₆₈ (identificarea macrofagelor) și CD₃₄ (determină starea intimei vasculare și celulele-stem), au fost efectuate în perioada 2011-2012, în Centrul de Cercetare în Angiogeneză 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 „Sfânta Treime”. Vârsta persoanelor decedate din lotul de studiu (tabelul 4.1): pînă la 60 ani – 4 persoane (20,0±8.94), 61-70 ani – 2 persoane (10,0±6.71), 71-80 ani – 8 persoane (40,0±10.95), 81-90 ani – 6 persoane (30,0±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 lombare 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 ± 2.28 ani

4.2. Mecanismul de fixare a cromogenului imunohistochimic

Imunohistochimia (IHC) reprezintă o tehnică nouă de microscopie optică, prin care se pot identifica antigenele celulare și tisulare. Imunocolorarea are la bază afinitatea dintre un

antigen și anticorpul specific, situsul de legare a anticorpului fiind identificat fie prin metode directe de colorare a anticorpului, fie printr-o metodă indirectă de colorare, în care marcarea este adusă de anticorpi numiți secundari sau chiar terțiari. Imunohistochimia este un procedeu de localizare a unor componente moleculare din celule și țesuturi, utilizând ca principiu capacitatea anticorpilor de a se lega de antigene specifice în țesuturi. Această reacție antigen-anticorp este marcată cu un cromogen, făcând posibilă vizualizarea ei prin microscopie optică. În ultimii ani, în întreaga lume, tehnicile de imunohistochimie sunt utilizate pe larg în stabilirea diagnosticului pozitiv și diferențial al diverselor leziuni tisulare și celulare.

Pentru a înțelege mai bine noile date oferite de colorațiile imunohistochimice, voi prezenta câteva date sumare privind moleculele și reacțiile care fac posibilă exprimarea antigenelor.

Antigenele sunt reprezentate de orice substanță exogenă sau endogenă capabilă să declanșeze un răspuns imun și să reacționeze specific cu anticorpii sau receptorii pentru antigen de pe suprafața unor celule. Când un antigen a pătruns în fluidele extracelulare, el va fi transportat pe calea vaselor sangvine ori limfatice până la nivelul ganglionilor limfatici. La acest nivel, molecula de antigen va veni în contact cu limfocitele B, care se transformă în plasmocite, acestea sintetizând și secretând anticorpii specifici pentru acel antigen. În afară de antigenele artificiale, și unele substanțe întâlnite în natură au proprietăți antigenice (proteinele, polizaharidele, lipidele, acizii nucleici, lipopolizaharidele sau lecitinele).

O moleculă antigenică prezintă unul sau mai multe situsuri de legare a anticorpilor. Aceste situsuri sunt regiuni cu o înaltă specificitate topografică, alcătuite dintr-un număr mic de unități de aminoacizi sau monozaharide, ce poartă numele de determinanți antigenici sau epitopi. Termenul de epitop definește o unitate funcțională a unei proteine, și nu un element structural fix, el neputând fi recunoscut independent de către anticorp. Structural, epitopii se pot clasifica în epitopi continui și epitopi discontinui. Cei dinții sunt alcătuiți dintr-un reziduu continuu al unui lanț polipeptidic, în timp ce al doilea tip reprezintă reziduuri din părți diferite ale unui lanț polipeptidic. Acest aspect reflectă influența variabilă a fixării inițiale a țesuturilor asupra antigenității.

4.3. Tehnici de prelevare, fixare și colorare a arterelor vertebrale

Materialul histopatologic studiat prin tehnici de imunohistochimie, în prezenta teză de doctorat, a fost reprezentat de fragmente de artere lombare recoltate de la nivelul aortei abdominale. Ele au fost secționate fin de la peretele aortei și porținea care se îndreaptă spre disc, având o lungime de 0,8 cm, iar vasul secționat transversal – de 0,2-0,3 cm în diametru, și

grosimea de 0,03 -0,05 cm. Deoarece arterele lombare sunt pare se caută cu acuratețe orificiile de intrare în arterele vertebrale de pe suprafața posterioară a aortei abdominale L₁ – L₄ (figura 4.1). Discul intervertebral 5 se alimentează din artera sacrală medie, care se ramifică în două artere vertebrale L₅. Ele se detașează ușor de țesuturile adiacente și, anterior de disc, se secționează.

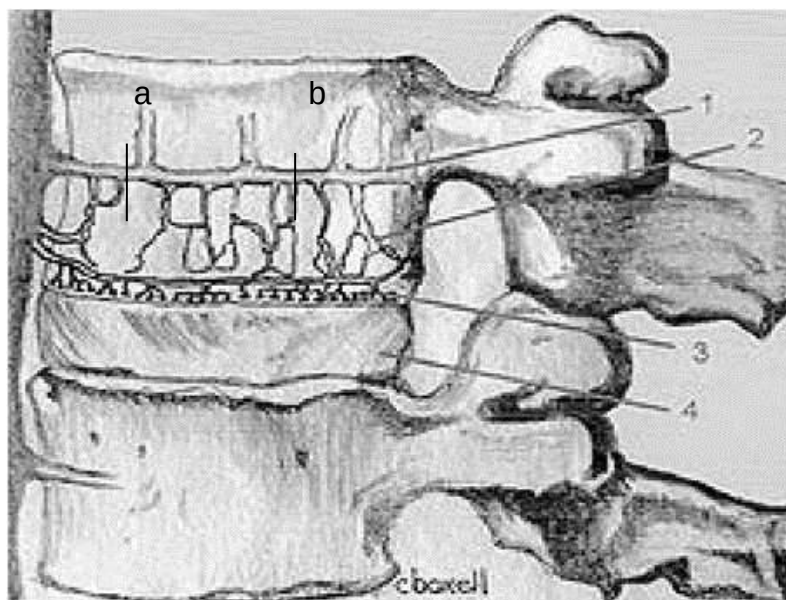


Fig. 4.1. Segmentul intervertebral lombar (modificat după Abrahams P.H., Hutchings R.T. *Atlas de anatomie a omului*, 2007) a,b – locurile de secționare a arterei lombare; 1) artera lombară; 2) artera interosoasă; 3) capilarele din lamela terminală; 4) discul intervertebral.

Materialul biologic astfel recoltat este supus unei tehnici riguroase de selectare și prelucrare, deoarece este cunoscut faptul că procesul de fixare inadecvat poate duce la alterarea rezultatelor obținute ulterior prin inactivarea epitopilor sau alterarea lor structurală.

În același timp, fixarea este absolut necesară, prin ea încercându-se o preservare a țesuturilor cât mai apropiată de aspectele intravitale; totodată, ea previne autoliza și contaminarea acestora. Pentru realizarea în condiții optime a unei imunocolorări, este necesar ca fixatorul să păstreze integritatea antigenelor și să limiteze difuziunea, extracția sau deplasarea acestora în cursul proceselor subsecvente. De aceea este necesară o fixare optimă, care să nu denatureze sau să distrugă epitopii.

Tehnica de utilizare a IHC

Materialul biologic inclus în parafină (după Mogoantă L., Carmen Florina Popescu, Claudia Valentina. Ghid de tehnici de histologie, citologie și imunohistochimie. 2007) , după cum am descris mai sus, am secționat cu ajutorul unui microtom (Microm HM 350), dotat cu un sistem special de transfer al secțiunilor (Section Transfer System, STS), obținându-se cupe

histologice de 4 μm grosime. Fiecare secțiune a fost transferată pe o cascada de apă într-o baie de apă rece, reciclată permanent și apoi culeasă pe o lamă histologică curățată și degresată, netratată cu alte substanțe pe suprafața de contact cu cupa histologică. Ulterior, secțiunea a fost transferată pe o baie de apă încălzită la 40°C, pentru întindere și uniformizare. De aici, secțiunile au fost culese pe lame speciale acoperite cu un strat de reziduuri de aminoacizi încărcăți pozitiv, lame portobiect acoperite cu polilizină (Poly-L-lizină) (Sigma), în scopul creșterii aderenței secțiunilor de lame. După o perioadă de uscare rapidă de 5-10 minute pe o plită încălzită, secțiunile au fost transferate într-un incubator la 60°C și păstrate peste noapte, timp în care materialul biologic a aderat perfect la suprafața lamei histologice portobiect. În vederea începerii secvențelor de imunohistochimie, secțiunile au fost mai întâi deparafinate în trei băi succesive de xilen (câte 15 minute în fiecare) și apoi rehidratate prin spălare în alcooluri cu concentrație descrescândă (100%, 70%, 50%), câte 15 minute în fiecare. În final secțiunile au fost puse în apă distilată, pentru a înlătura orice urmă de alcool.

4.4. Evaluarea și descrierea histologică a arterelor lombare

4.4.1. Colorarea arterelor lombare cu hematoxelin-eozină

La secțiunea aortei abdominale și bifurcația arterelor iliace se constată ateroscleroza peretelui vascular, cu formarea petelor lipidice, plăcilor aterosclerotice și ulcerațiilor [255, 272-275]. Însă, este paradoxal faptul că formarea plăcilor aterosclerotice (figura 4.2) este mai evidentă la persoanele la marginea orificiilor de intrare a arterelor lombare I-IV paraaortale (a) și V alimentată din artera sacrală medie, cu îngustarea lumenului (b).



Fig. 4.2. Aorta abdominală: orificiile de intrare a arterelor lombare îngustate (a),

înconjurate de plăci aterosclerotice (b). Macroscopic, se evidențiază pete lipidice și plăci aterosclerotice. (Pacientul J., 60 ani).

La examinarea macroscopică a arterelor lombare (figura 4.3), în 8 cazuri ($40 \pm 10.95\%$) se depistează o îngustare a orificiului de intrare pe suprafața aortei abdominale (b); pe secțiune, intima este acoperită de pete lipidice și plăci aterosclerotice de diferit grad [287].

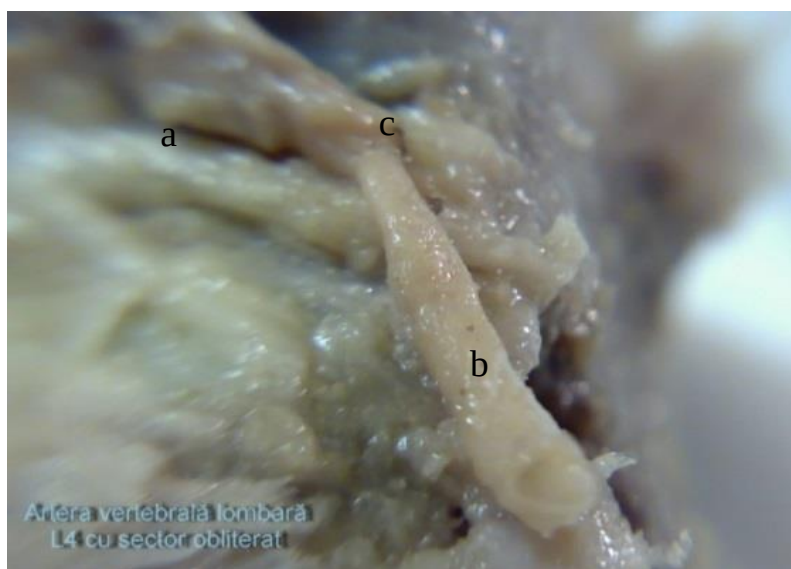


Fig. 4.3. Rădăcina dorsală a nervului lombar IV (a), nivelul obliterației (b), artera lombară IV (c). Macroscopic, porțiunea arterei lombare – obliterate. (Pacientul K., 68 ani).

La nivelul îngustării (microscopic) (figura 4.4), de endoteliu (a) este strâns alipit un conglomerat de natură trombotică (b), îngustare lumenului (c), ce conține trombocite (d) și o rețea densă de fibrină(e).

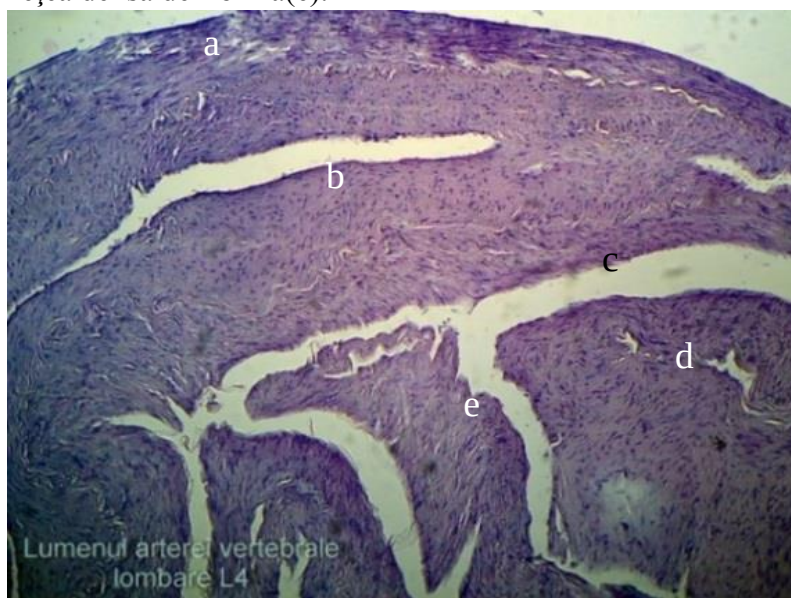


Fig. 4.4. Endoteliu vascular (a), tromb organizat (b), îngustarea lumenului cu trombocite (d) și o rețea densă de fibrină(e).

recanalizare (c) trombocite (d), rețea de fibrină (e), hematoxelin-eozină x 90. (Pacientul S, 68 ani).

Discul intervertebral la acest nivel (figura 4.5), este profund schimbat – degenerativ-distrofic, cu cariopicioză (a), carioliză (a), hialinizare pericelulară (b).

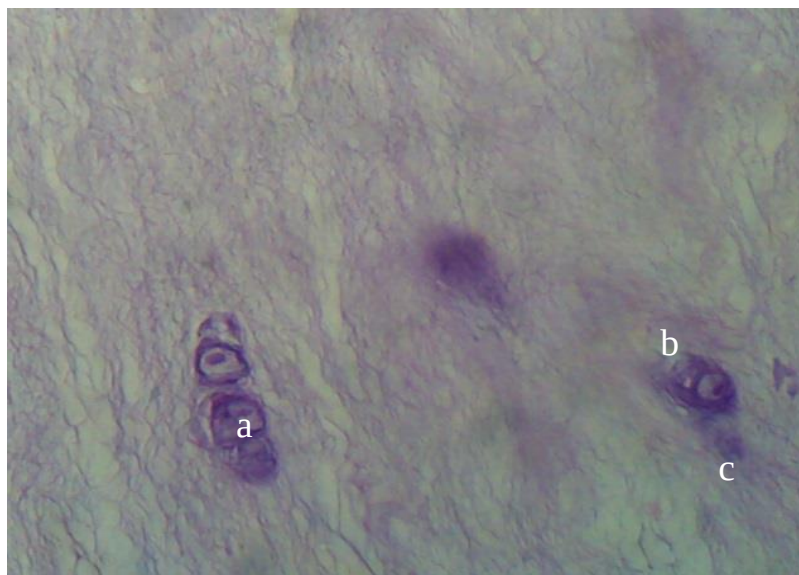


Fig. 4.5. Nucleu pulpos cu carioliza condrocitelor (a), hialinizare pericelulară (b), celulă tânără atrofiată (c); hematoxelin-eozină x 140. (Pacienta S., 68 ani).

4.4.2. Colorarea peretelui vascular cu orceină și impregnarea argentică

Impregnarea argentică Gomori – compus chimic din permanganat de potasiu (KMnO_4) 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 4.28.).

La investigarea histologică a arterelor lombare cu impregnare argentică (figura 4.6) 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 4.7), fibrele sunt roșu – cărămizii (a), care evidențiază bine prezența plăcilor aterosclerotice la nivelul peretelui vascular, și caracterelor morfometrice.

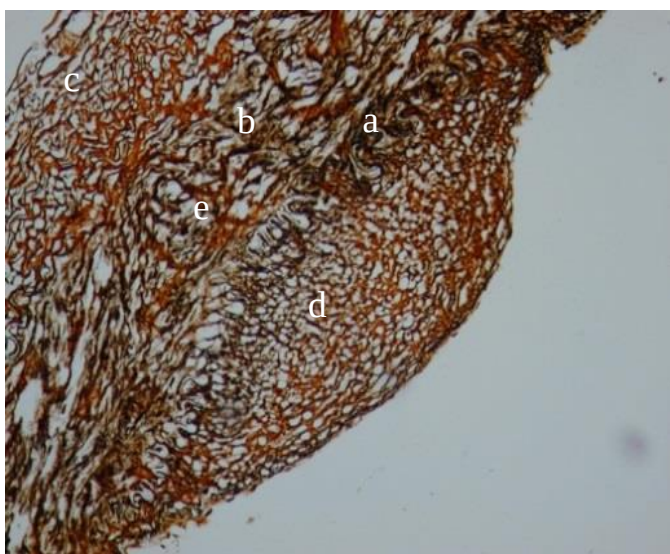


Fig. 4.6. Artera lombară 5: a) fibre de reticulină, b) nucleul celulelor colorare în negru, c) fibre de collagen colorate în roșu, d) placă fibroasă, e) citoplasma celulelor colorată în galben; impregnare argentică x 90. (Pacientul C., 81 ani).

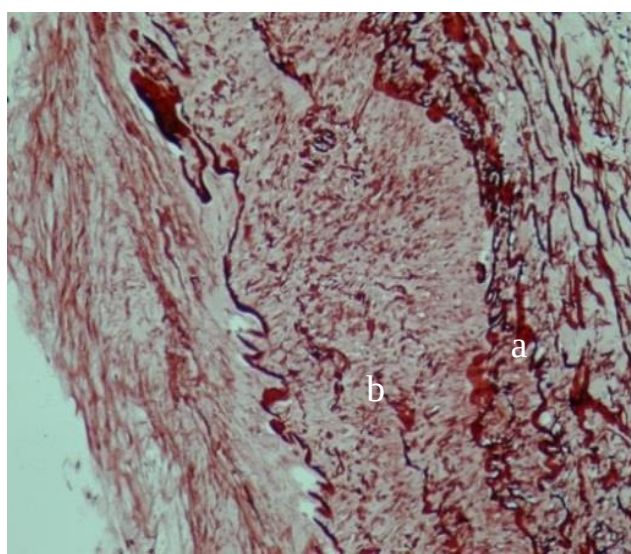


Fig. 4.7. Artera lombară 5: a) dezorganizarea structurilor fibrilare, b) placă fibroasă la nivelul intimei; orceină x 90. (Pacienta B., 74 ani).

4.4.3. Colorarea imunohistochimică a arterelor lombare

4.4.3.1. Evidențierea imunohistochimică cu CD₃₄ a elementelor structurale din peretele 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 anticorpii prezentați mai sus, am aplicat criterii de interpretare din literatura de specialitate (Jasani M.K. și Schmidt S., 1993) [118], 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

vertebrale); reacție de intensitate slabă (+) – în 5 – 30% din celulele izolate, bine vizibilă la examinare cu obiectiv cu mărire mare (48 (48±4.99) artere vertebrale); reacție de intensitate foarte redusă (+/-) – imunocolorare în mai puțin de 5% din celule (5 (5±2.2%) artere lombare); lipsa reacției (-).

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

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

La examinarea modificărilor imunohistochimice cu CD₃₄ ale arterelor lombare, din tabel 4.4, se evidențiază la nivelul aL₁ - 57 puncte, din care predomină intensitate moderată (++) în 14 (70±10.25%) artere, iar discurile intervertebrale lombare la acest nivel colorate cu hematoxelin-eozină prezintă - 62 puncte, din care 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 vîrsta de peste 71 ani). La nivelul L₄-L₅, de determină la imunohistochimia arterelor lombare - 33 de puncte, ce prezintă 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, din tabel conține 41 puncte, care 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.

De aici reiese că, cel mai mare punctaj o are arterele lombare aL₅ – 57 puncte, și discurile cu 62, fiind cele mai puțin afectate la acest nivel, iar cel mai afectate sunt arterele lombare la nivelul L₄ - L₅ avînd 33 puncte, și discurile intervertebrale lombare la acest nivel conține 41 – puncte.

Notă:

aL ₁ – artera lombară L ₁	dL ₁ – discul intervertebral L ₁
aL ₂ – artera lombară L ₂	dL ₂ – discul intervertebral L ₂
aL ₃ – artera lombară L ₃	dL ₃ – discul intervertebral L ₃
aL ₄ – artera lombară L ₄	dL ₄ – discul intervertebral L ₄
aL ₅ – artera lombară L ₅	dL ₅ – discul intervertebral L ₅

Intensitatea colorării peretelui vascular al arterelor lombare 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.

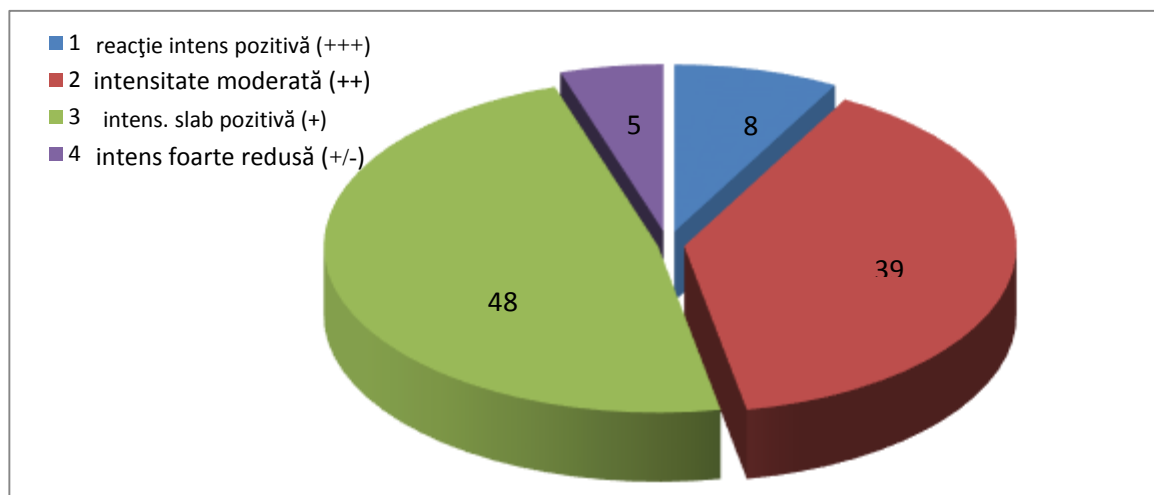


Fig. 4.8. Reprezentarea grafică a intensității de colorare a arterelor lombare colorate cu CD₃₄

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

distrofic

Grad de afectare	aL ₁ n ₁ = 100 (artere vertebrale)		dL 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.

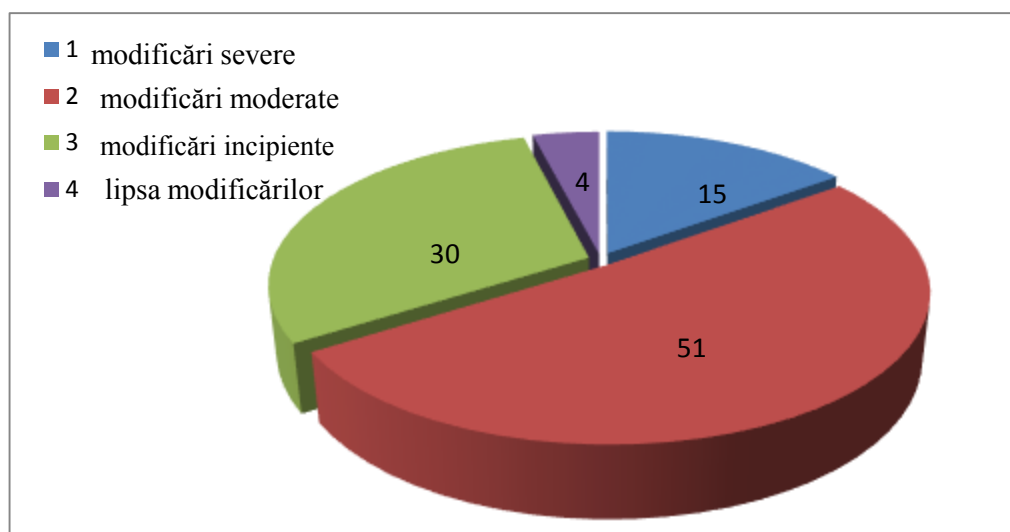


Fig. 4.9. Structura distribuirii modificărilor degenerative în funcție de numărul de discuri afectate.

4.4.3.2. 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 bine colorarea arterelor lombare L_1 , ce demonstrează că (figura 4.10) prevalează reacția intens pozitivă (+++) în 3 cazuri ($15 \pm 7.98\%$) (până la 60 ani), intensitate moderată (++) – în 16 cazuri ($80 \pm 8.94\%$) cu vârsta cuprinsă între 60-70 ani, intensitate slab pozitivă (+) – 1 caz ($5 \pm 4.9\%$), de 81 ani.

La acest nivel a fost examinat discul intervertebral lombar dL_1 , histologic colorat cu hematoxelin-eozină, la toți pacienții din lotul de studiu și s-a vizualizat: fără modificări degenerativ-distrofice – 1 ($5 \pm 4.9\%$) (până la 60 ani), cu modificări incipiente – 14 cazuri ($70 \pm 10.25\%$) și cu modificări morfologice moderate – 5 ($25 \pm 9.7\%$) toți cu vârsta de peste 71 ani).

De aici reiese că variabila care interpretează datele despre colorarea imunohistochimică cu CD_{34} a arterelor lombare aL_1 și gradul de afectare histologică a discurilor intervertebrale lombare dL_1 prezintă un indice de corelare Pearson $r = 0,54$, care se interpretează (după Hopkins) ca mediu, asociere substanțială (după Devis); $p < 0.05$.

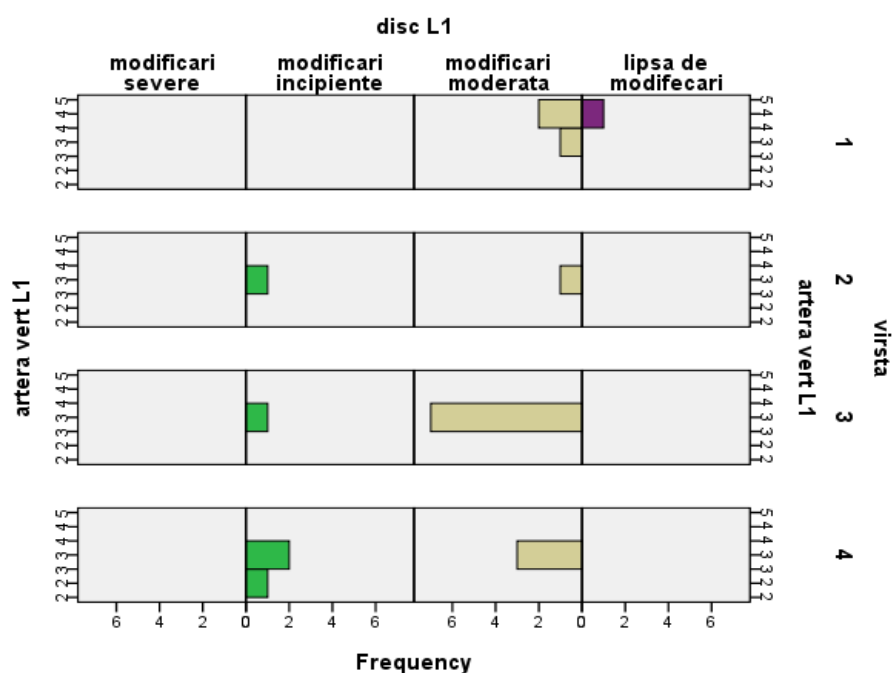


Fig. 4.10. Repartizarea intensității colorării imunohistochimice cu CD_{34} a intimei endoteliale a arterelor lombare aL_1 în corelație cu gradul de afectare histologică a discurilor intervertebrale dL_1 . Prevalează reacția de intensitate intens pozitivă (+++) și de intensitate moderată (++) a endoteliului vascular în corelație cu modificările incipiente și moderate în discul intervertebral lombar.

În urma examinării imunohistochimice cu CD₃₄ a arterelor lombare aL₂ (figura 4.11), 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 grup, care s-au calculat analogic avînd indicele de corelare Pearson, $r = 0,32$, interpretat ca moderat, mediu sau asociere moderată.

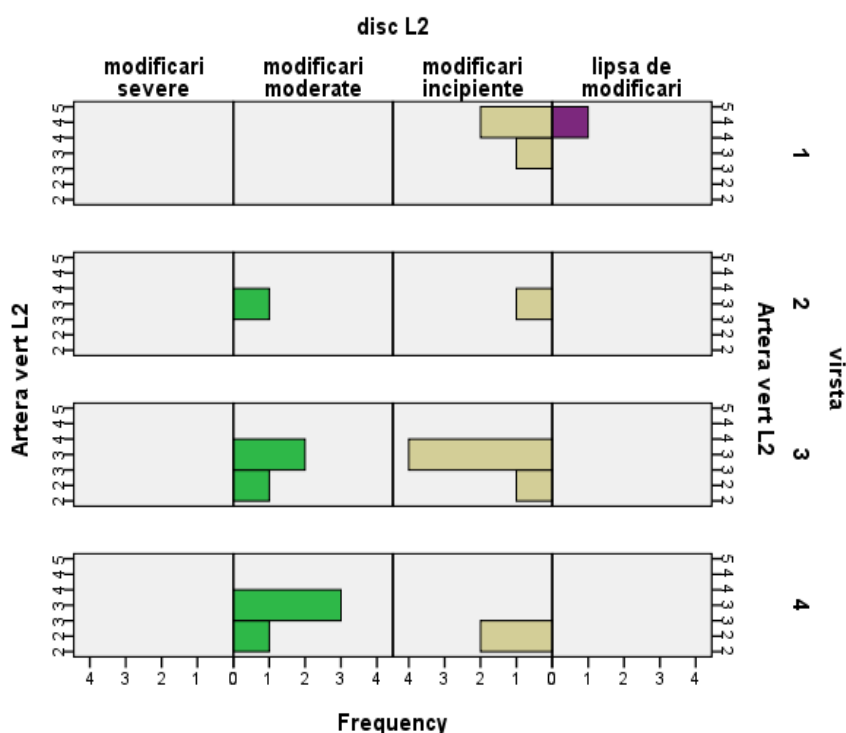


Fig. 4.11. Repartizarea intensității colorării imunohistochimice cu CD₃₄ a intimei endoteliale a arterelor lombare aL₂ în corelație cu gradul de afectare histologică a discurilor intervertebrale dL₂. Prevalează reacția de intensitate intens pozitivă (+++) și de intensitate moderată (++) , dar apar și cazuri de colorare intens slabă (+) a endoteliului vascular în corelație cu modificările incipiente și moderate în discul intervertebral lombar.

Imunohistochimic, arterele lombare aL₃ (figura 4.12) 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 ($5 \pm 4.9\%$) fără modificări degenerative (de 51 ani), 3 cazuri ($15 \pm 7.98\%$) modificări degenerative incipiente, 15 cazuri ($75 \pm 9.68\%$) cu modificări moderate și 1 caz ($5 \pm 4.9\%$) (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.

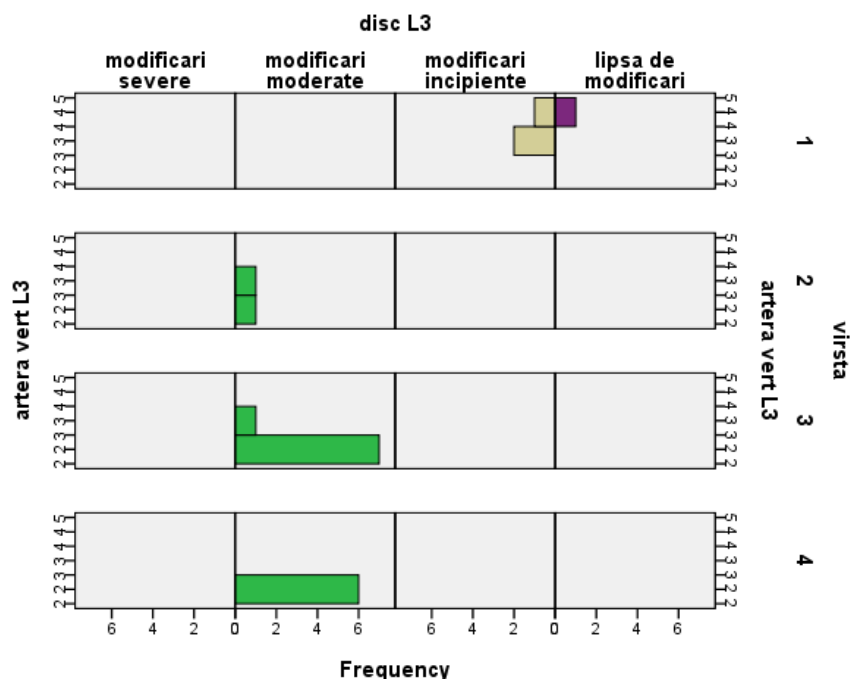


Fig. 4.12. Repartizarea intensității colorării imunohistochimice cu CD₃₄ a intimei endoteliale a arterelor lombare aL₃ în corelație cu gradul de afectare histologică a discurilor intervertebrale dL₃. Prevalează reacția de colorare intens slabă (+) a endoteliului vascular în corelație cu modificările moderate în discul intervertebral lombar.

La colorarea imunohistochimic cu CD₃₄ a intimei endoteliului vascular în arterelor lombare aL₄ (figura 4.13) se determină următoarele rezultate: 4 cazuri ($20 \pm 8.94\%$) cu reacție de intensitate moderată (++), 13 cazuri ($65 \pm 10.67\%$) colorate intens slab (+) și 3 cazuri ($15 \pm 7.98\%$) de intensitate foarte redusă (+/-). Discul intervertebral lombar la acest nivel suportă următoarele schimbări: 1 caz ($5 \pm 4.9\%$) cu modificări degenerativ-distrofice incipiente, 11 cazuri ($55 \pm 11.12\%$) cu modificări moderate și 8 cazuri ($40 \pm 10.95\%$) cu modificări degenerative severe.

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

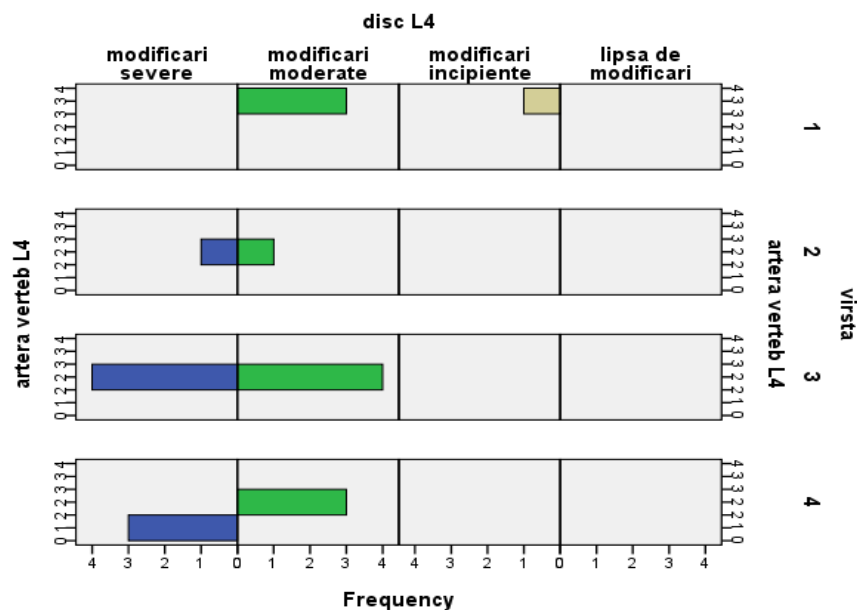


Fig. 4.13. Repartizarea intensității colorării imunohistochimice cu CD₃₄ a intimei endoteliale a arterelor lombare aL₄ în corelație cu gradul de afectare histologică a discurilor intervertebrale dL₄. Prevalează vădit reacția de colorare intens slabă (+) a endoteliului vascular în corelație cu modificările moderate balansată cu modificările severe în discul intervertebral lombar.

La colorarea imunohistochimică cu CD₃₄ a intimei endoteliului vasculare din arterele lombare aL₅ (figura 4.14) 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 dL₅ 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.

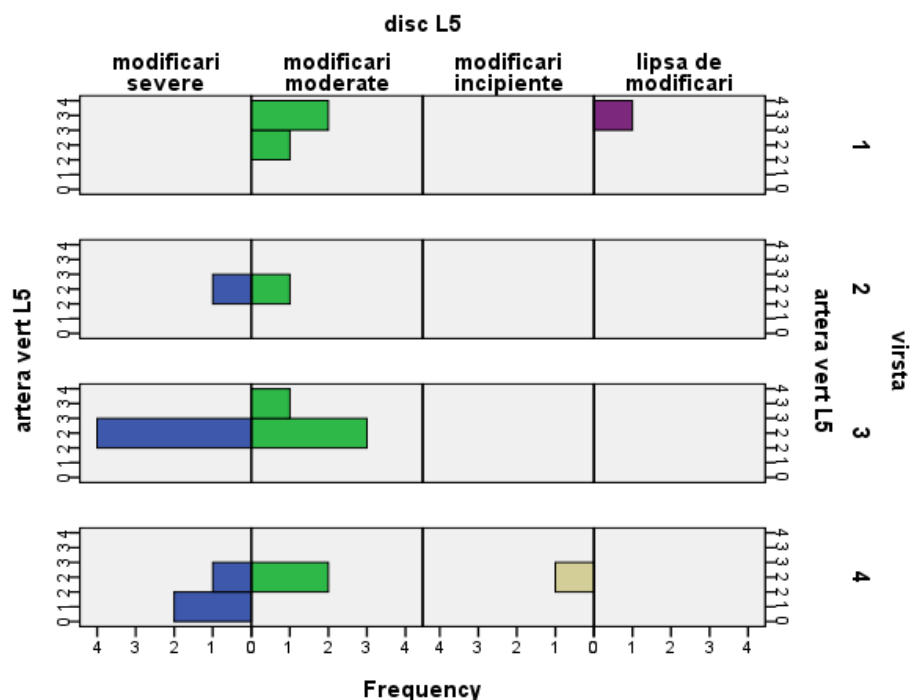


Fig. 4.14. Repartizarea intensității colorării imunohistochimice cu CD₃₄ a intimei endoteliale din arterele lombare aL₅ manifestă gradul de afectare histologică a discurilor intervertebrale dL₅. Prevalează vădit reacția de colorare intens slabă (+) a endoteliului vascular în corelație cu modificările moderate din discul dL₅, acoperind modificările severe în discul intervertebral lombar (manifestările predomină la vârsta de peste 71 ani).

Tabelul 4.4. Distribuirea pacienților după nivelul și intensitatea colorării endoteliului arterelor 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. Distribuirea pacienților după nivelul și stadiul digenerscenței discului intervertebral lombar

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

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

Tabelul 4.6. Repartizarea indicelui de corelare Pearson conform nivelului afectat

Nivelul afectat	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	L ₅
Indeele 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). Sumînd datele și făcînd 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 afectate. 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 .

Drept exemplu servește imaginea de mai jos a arterei lombare 5 (figura 4.15), în care se vizualizează bine lamina internă cu stratul de celule endoteliale cu o intensitate moderată de colorare (++) (a), tunica medie cu elementele fibrelor musculare conturate puțin dezorganizate (b), conturarea unei plăci aterosclerotice (c) cu menținerea structurilor vasculare din adventița

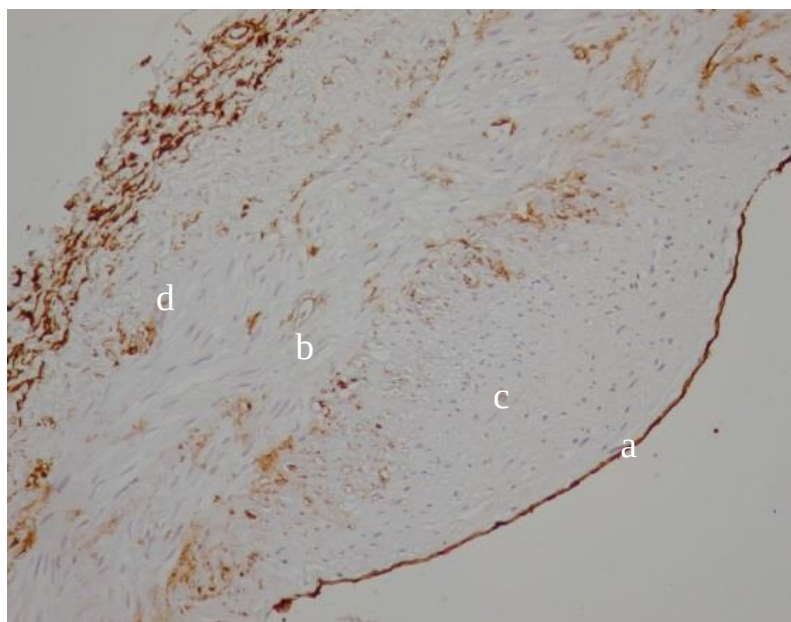


Fig. 4.15. Artera lombară L_5 : lamina internă cu stratul de celule endoteliale avînd o intensitate moderată de colorare (++) (a), tunica medie cu elementele fibrelor musculare conturate puțin dezorganizate (b), conturarea unei plăci aterosclerotice (c) cu menținerea structurilor vasculare din adventicie (d); IHC cu CD_{34} x 90. (Pacientul N., 51 ani) .

4.4.4. 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,

cunoscînd 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 4.16), cu prezența mastocitelor în faza de degranulare (a), preponderent în peretele arterelor lombare aL₅ și aL₄, la nivelul plăcilor cu proliferarea fibroblastelor (b), înconjurată de o întumescență mucoidă (c).

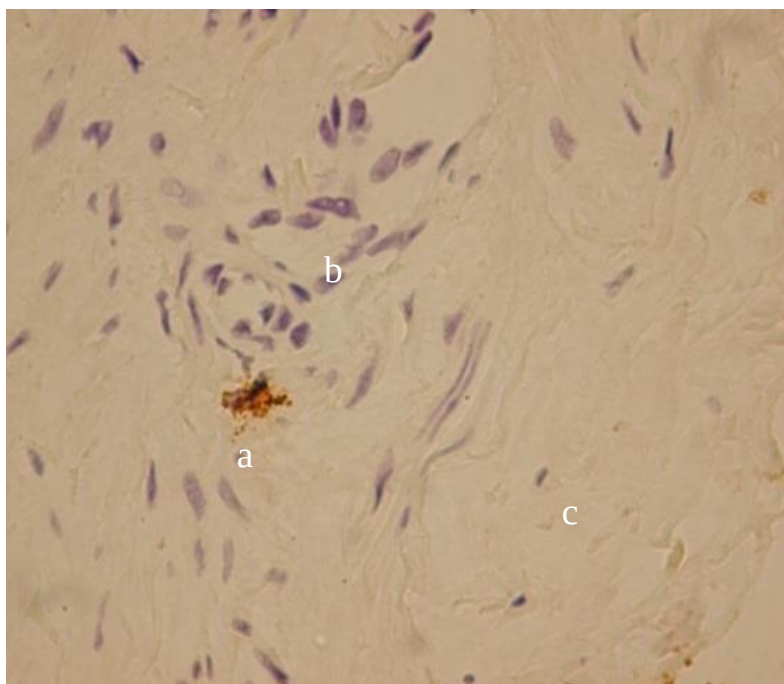


Fig. 4.16. Artera lombară 4: a) mastocit degranulat, b) proliferarea fibroblastelor, c) întumescență mucoidă, IHC MCT x 90; (Pacientul G., 68 ani).

4.4.5. 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, formînd 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 [287]. Un caz similar se evidențiază în unul din examenele cu anticorpi macrofagali (figura 4.17); care determină un macrofag cu conținut spumos (b), situat într-un mediu ce conține reziduri ale scindării fibrilare, cu întumescență mucoidă (a) și fibrinoidă (e), mărginite de cîteva celule limfocitare (c), și un mastocit (d), la etapele incipiente de degranulare.

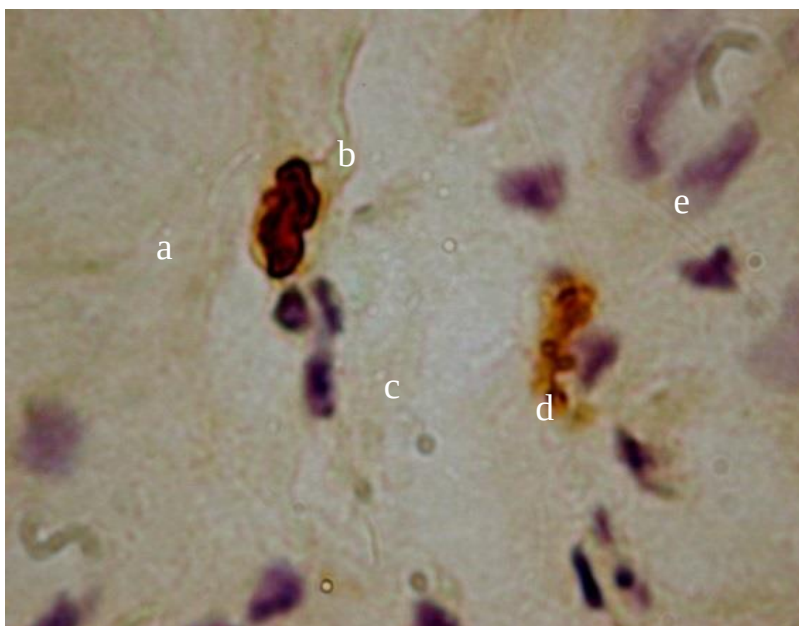


Fig. 4.17. Artera lombară 5: a) intumescență mucoidă, b) macrofag cu conținut spumos, c) limfocite, d) mastocit la etapele incipiente de degranulare, e) intumescență fibrinoidă; IHC CD₆₈ x 90. (Pacientul K., 83 ani) .

4.5. 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(+/-) – 5 (5±2.2%) artere lombare, endoteliul vascular practic lisește (a) (figura 4.18).

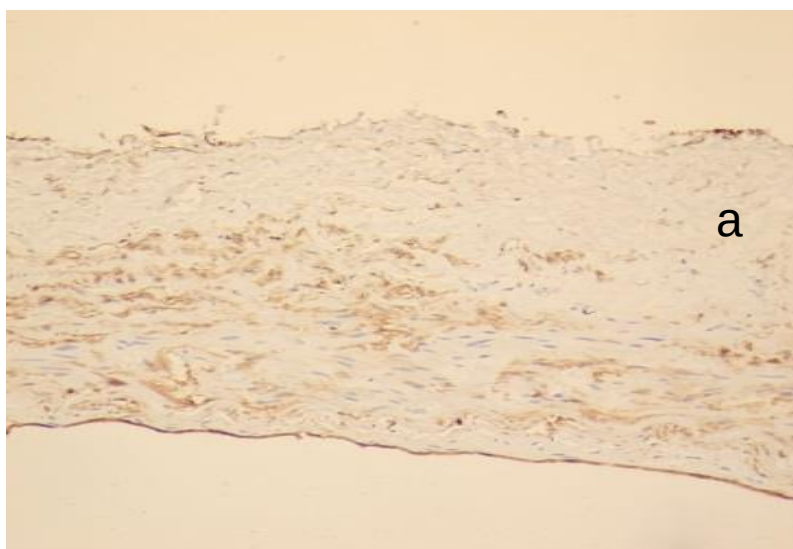


Fig. 4.18. Pacientul K., 82 ani. Artera lombară 5 cu intensitate foarte redusă(+/-), endoteliul

IHC CD₃₄ x140.

Histologic, la nivelul discului intervertebral colorat cu hematoxelin-eozină se observă forme severe de degenerescență – 15 ($15 \pm 3,6\%$) discuri (figura 4.19) cu cartilaj discal epuizat(a); hialinizat (a), calcificări intradiscale sau zone de osificare (b), infiltrat limfocitar(c).

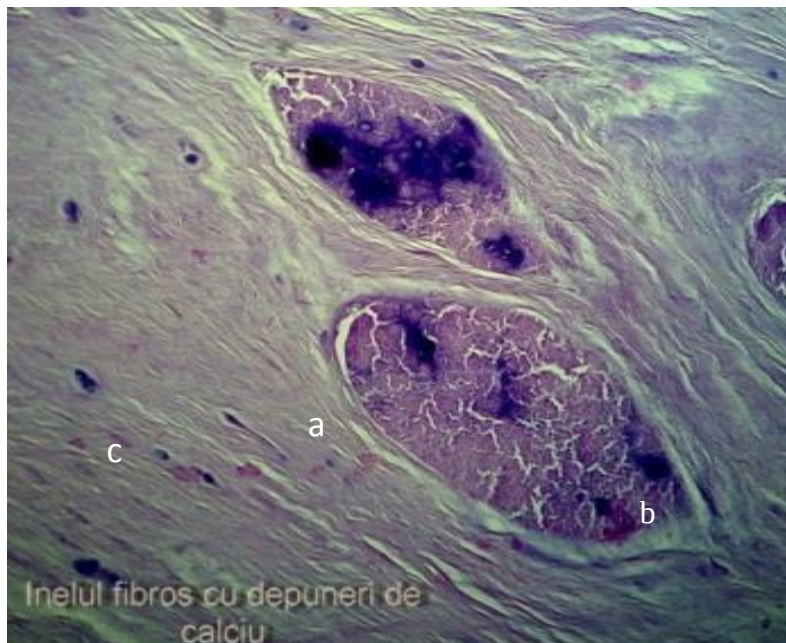


Fig. 4.19. Pacientul K., 82 ani. Inelul fibros din discul intervertebral 5 a) cartilaj discal hialinizat, b) calcifieri intradiscale sau zone de osificare, c) infiltrat limfocitar; H-E x 140.

Grupa II – arată intensitate slab pozitivă (+) – 48 (48 ± 4.99) artere lombare (figura 4.20), 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).

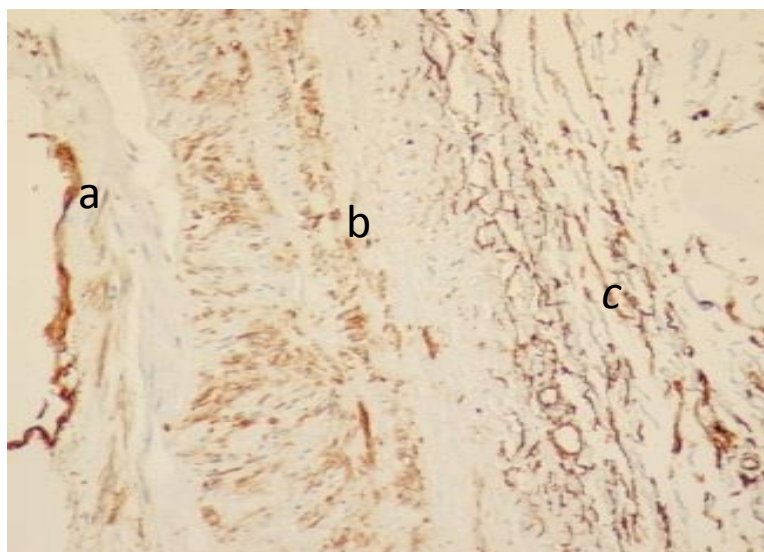


Fig. 4.20. Pacientul A., 62 ani. Artera lombară 5: a) intensitate slabă (+) de colorare a

stratului de celule endoteliale, pe alocuri cu detașare, b) tunica medie – cu elementele fibrelor musculare rarefiate, c) capilare din adventicie; IHC CD₃₄ x140.

Formele moderate de degenerescență a discului intervertebral – 51 (51±4.99%) discuri (figura 4.21) pun în evidență: țesut discal fibrozat (**a**), cu zone de edem interfibrilar (**b**); țesut cartilaginos discal cu condrocite în condroblaste (**c**), aspect papilar (**d**) și zone hemoragice (**e**), zone de hialinizare (**f**), și de proliferare a fibroblastelor (**g**). Modificările prezente sunt frecvent situate la periferia nucleului pulpos, cu includerea în procesul degenerativ și inflamator a marginii inelului fibros.

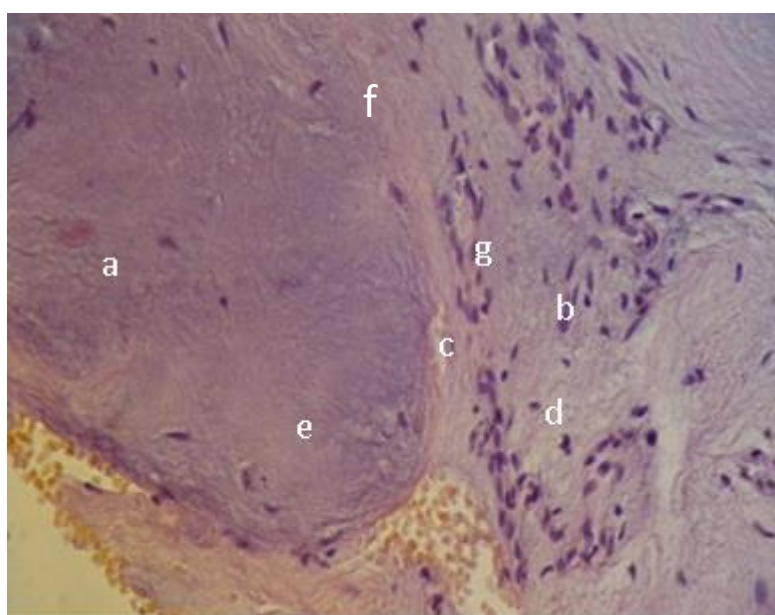


Fig. 4.21. Pacientul A., 62 ani. Nucleul pulpos din discurile intervertebrale lombare 4, 5: a) țesut discal fibrozat, b) zone de edem interfibrilar; c) țesut cartilaginos discal cu condrocite în condroblaste, d) aspect papilar, e) zone hemoragice, f) zone de hialinizare, g) fibroblaste proliferate; H-E x 140.

În grupa III – endoteliul intimei de intensitate moderată (++) – 39 (39±4.88%) artere lombare (figura 4.22), (a) cu celule endoteliale ce formează diferite grosimi, slab conturate, (b) fibrele musculare păstrate în tunica medie.

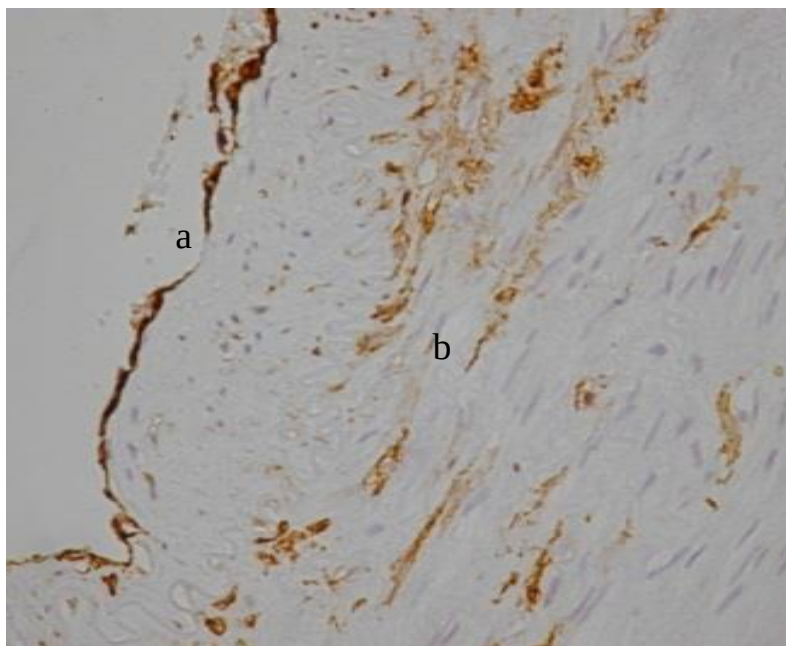


Fig. 4.22. Pacientul B., 42 ani. Artera lombară 5: a) intima cu celule endoteliale de intensitate moderată (++), întreruptă pe alocuri, subțiată, cu contur neregulat, b) structuri fibrilare cu vase de calibru mic; IHC CD₃₄ x140.

Histologic, colorat cu hematoxelin-eozină, sunt evidențiate schimbările incipiente de degenerescență a discului intervertebral – 30 (30±4.6%) discuri (figura 4.23): aspecte de degenerescență mixoidă (a), central – condroblaste cu condrocite (b).

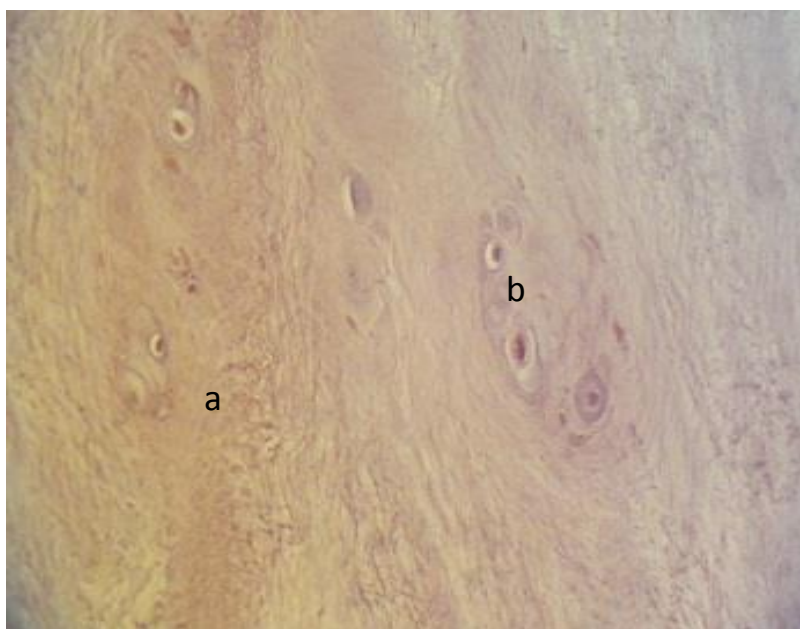


Fig. 4.23. Pacientul D., 51 ani a) degenerescență mixoidă, b) în centru – condroblaste cu condrocite; H-E x 140

Grupă IV – cu celule endoteliale a intimei colorat intens pozitiv (+++) – 8 ($8 \pm 2.71\%$) artere lombare (figura 4.24). Imunohistochimic, se evidențiază bine intima vasculară cu celule endoteliale bine conturate (a), cu persistența elementelor structurale din tunica medie și adventicie (b). Astfel de modificări sunt întâlnite preponderent la nivelul L₁ la persoane tinere, cu modificările incipiente de ateroscleroză ale arterelor peretelui vascular și degenerescențe incipiente a discului la acest nivel.

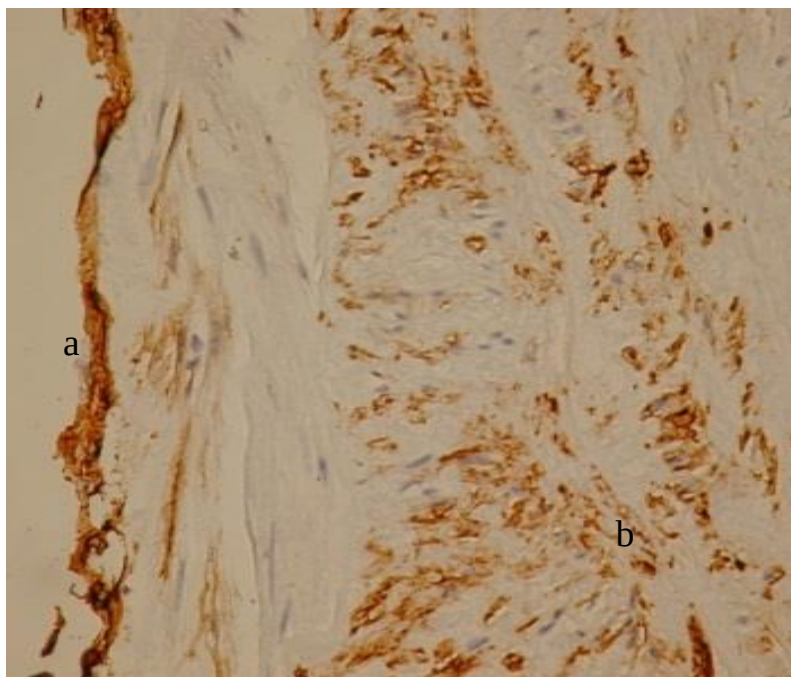


Fig. 4.24. Pacientul C., 32 ani Artera lombară L₂ cu intima vasculară bine conturată avînd celulare endoteliale conturate; IHC CD₃₄ x140.

Histologic, colorat cu hematoxelin-eozină (figura 4.25), lipsa modificărilor, – 4 ($4 \pm 1.96\%$) discuri; sunt bine vizualizate: condrocitele (a) și condroblastele (b) nemodificate, cu elementele structurale ale țesuturilor fibrilare bine conturate (c), persistența substanței fundamentale condrogene (d).

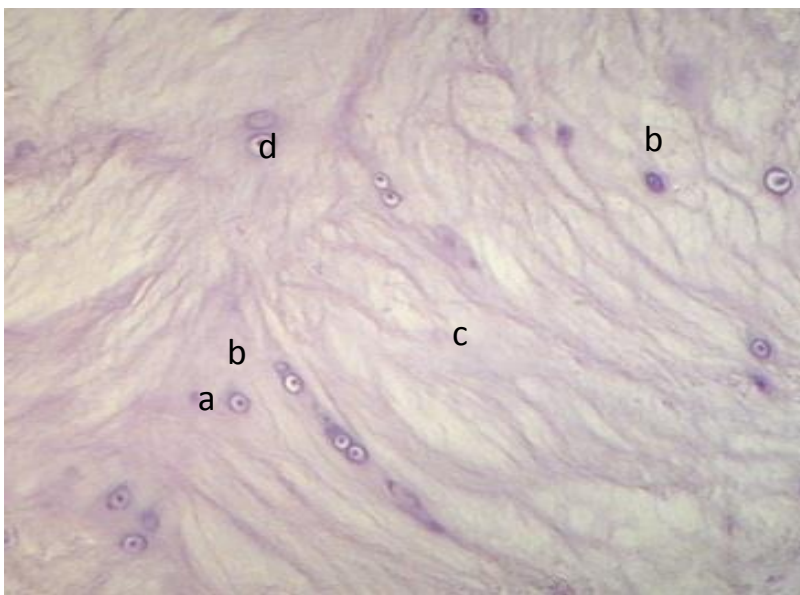


Fig. 4.25. Nucleul pulpos din discul intervertebral lombar 2: a) condrocite și b) condroblaste conturate, c) structură fibrilară organizată, cu persistența substanței fundamentale condrogene (d); H-E x 140. (Pacientul C., 32 ani) .

4.6. Concluzii la capitolul IV

1. La examinarea macroscopică a arterelor lombare în 8 cazuri ($40 \pm 10.95\%$) s-a depistat o îngustare a orificiului de intrare de pe suprafața aortei abdominale, înconjurată de pete lipidice și plăci aterosclerotice, care ar fi una din cauzele dereglării circulației în discul intervertebral lombar.

2. La investigarea histologică a arterelor vertebrale cu impregnare argentică se evidențiază bine structurile fibrilare din arhitectura peretelui vascular, și modificările patologice – plăcile fibroase la etapele incipiente și avansate de ateroscleroză.

3. În colorarea cu orceină, fibrele sunt roșii-cărămizii și evidențiază clar prezența plăcilor aterosclerotice la nivelul peretelui vascular și caracterelor morfometrice.

4. În arterele lombare aL₁, imunohistochimic, prevalează intensitate intens pozitivă (+++) – 3 cazuri ($15 \pm 7.98\%$), intensitate moderată (++) – 16 cazuri ($80 \pm 8.94\%$), intensitate slab pozitivă (+) – 1 caz ($5 \pm 4.9\%$), în discul intervertebral lombar dL₁, histologic colorat cu hematoxin-eozină la toate cazurile din lotul de studiu, s-au vizualizat: lipsa modificărilor degenerativ-distrofic – 1 caz ($5 \pm 4.9\%$), modificări incipiente 14 cazuri ($70 \pm 10.25\%$) și dereglări morfologice moderate – 5 cazuri ($25 \pm 9.7\%$). Indicele de corelare Pearson, $r = 0,54$, se interpretează ca medie.

5. În arterele lombare aL₂, imunohistochemic, s-au vizualizat: endoteliu vascular cu o reacție intens pozitivă (+++) – 4 cazuri (20± 8.94%), intensitate moderată (++) – 10 cazuri (50± 11.2%), colorate intens slab (+) – 6 cazuri (30 ± 10.3%), în discurile vertebrale la acest nivel: lipsă modificărilor – 1 caz (5± 4.9%), degenerare incipientă – 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.

6. Arterele lombare aL₃, imunohistochemic, 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%), degenerescențe incipientă – 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.

7. Examenul imunohistochemic al arterelor lombare aL₄ 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 incipientă – 1 caz (5±4.9%), moderate – 11 cazuri (55±11.12%) și severe – 8 cazuri (40± 10.95%). Indicele de corelare Pearson, $r = 0,64$, este interpretat ca medie.

8. Arterele lombare aL₅, colorate imunohistochemic, au arătat următoarele rezultate: reacție de intensitate moderată (++) – 4 cazuri (20±8.94%), intensitate de colorare intens slabă (+) – 14 cazuri (70±10.25%) și intensitate foarte redusă (+/-) – 2 cazuri (10±6.71%). Discul intervertebral dL₅ în această regiune: lipsa de modificări degenerativ-distrofice – 1 caz (5± 4.9%), degenerescență incipientă – 1 caz (5±4.9%), moderată – 11 cazuri (55±11.12%) și severă – 7 cazuri (35±10.67%). Indicele de corelare Pearson, calculat la aceste două variabile de grupuri, arată, $r = 0,54$, interpretat ca moderat, mediu sau asociere moderată.

9. 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.

10. Cele mai afectate artere sunt arterele lombare aL₄, evidențiinduse 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%, $p > 0.05$) dar sumarul intensității colorării prevalează la aL₁ fiind mai puțin afectate; cel mai afectat este discul intervertebral dL₄ – modificări severe fiind în 8 cazuri (40±10.95%) iar

mai puțin afectat discul dL₁ – avînd modificări incipiente în 14 cazuri (70±10.25%).

11. 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.

12. 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.

13. în grupa I – colorarea imunohistochimică cu markerul endotelial CD₃₄ pune în evidență: – intensivitate foarte redusă (+/-); histologic, la nivelul discului intervertebral se observă forme severe de degenerescență cu cartilaj discal hialinizat, calcificări intradisciale sau zone de osificare, infiltrat limfocitar.

14. în grupa II – intima arterelor lombare intens slabă (+), avînd formele medii de degenerescență a discului intervertebral, și evidențiind: 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.

15. în grupa III – endoteliul intimei de intensitate moderată (++); histologic, sunt evidențiate schimbările incipiente de degenerescență a discului intervertebral: aspecte de degenerescență mixoidă, în centru – condroblaste cu condrocite.

16. în grupa IV – endoteliul intimei colorat intens pozitiv (+++); histologic, sunt bine vizualizate: condrocitele și condroblastele – nemodificate, cu elementele structurale ale țesuturilor fibrilare bine conturate, persistența substanței fundamentale condrogene.

17. Prezența celulelor blastice în formele histopatologice incipiente și medii indică o tendință de regenerare, cu formarea insulițelor de elemente celulare noi.

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

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRILE DE LA FINALUL TEZEI

Afecțiunile degenerativ-distrofice ale coloanei vertebrale la om adesea au o tendință de creștere la persoanele de vîrstă tînă, apte de muncă [294, 297, 298, 299].

Schimbările structurale ale țesuturilor în regiunea lombară a coloanei vertebrale, de regulă, cu timpul, capătă un caracter ireversibil [50, 51, 55, 56, 57].

Discurile sunt articulațiile principale ale coloanei vertebrale și au un rol major în mecanică, oferind flexibilitate la mișcare, permițînd îndoirea, flexiunea și torsiunea [157, 284].

Cel mai des sunt intîlniți *nodulii Schmorf* – resturi notocordale la nivelul defectului de obstrucție a canalului notocordal, cu aspect de hernie a nucleului pulpos intraspongios. Pentru resturile notocordale sunt caracteristice: localizarea în treimea posterioară a plăcilor cartilaginease și prezența în mai multe vertebre [1].

Discul intervertebral fiind subiectul de discuție în cadrul studiului efectuat, conchidem că în schimbările degenerativ-distrofice un pilon important este caracterul etiologic asupra inelului fibros în coraport cu nucleul pulpos, fapt ce necesită o analiză detaliată la nivel celular și tisular [53].

În ultimii ani, în baza mecanismelor etiopatogenetice cunoscute, s-au obținut realizări însemnate în tratamentul afecțiunilor degenerative ale coloanei vertebrale. Acest obiectiv rămîne totuși actual, în pofida multiplelor investigații în domeniile ortopediei, neurologiei, neurochirurgiei, morfopatologiei, fiziopatologiei. Tentativele de a soluționa problema prin metode chirurgicale de tratament încă n-au adus rezultatele scontate [183, 298, 299].

Studii repetate au arătat că există o puternică predispoziție familială pentru degenerarea discală. Defectul genetic poate avea drept urmare diferite perturbări în segmentarea coloanei vertebrale, ca de exemplu: blocul de disegmentare, vertebra-fluture, hemivertebre sau modificări ale discului intervertebral, care însoțesc malformații mai întinse ale coloanei vertebrale [2]. Alți factori dovediți epidemiologic prin modele experimentale sunt munca fizică grea cu efort sporit, conducerea auto, obezitatea și fumatul [63, 202, 246].

Mixter W.J., și Barr J.S. în ultimii 60 de ani, au publicat un articol de mare importanță privind legătura dintre degenerarea discului lombar, anomalile mecanice și sindroamele dureroase de la nivelul regiunii lombare inferioare. În prezent, apar date noi referitoare la proprietățile histochemice, comportamentul mecanic și factorii care predispun la disfuncția discului intervertebral, stîrnind dezbateri aprinse privind rolul real asupra discului intervertebral [59].

Schimbările de mediu, nivelul ridicat de radiație și poluarea aerului au o mare influență

asupra caracterului mutagen al fibrelor de collagen de tipurile I și II [8], întâlnite adesea în degenerarea discurilor lombare și în collagenul tip IX cu mutații în două gene alele-*COL9A2* și *COL9A3*, întâlnite la populația finlandeză [130, 191].

Maladiile coloanei vertebrale, asociate cu tulburări degenerative, sunt una dintre cele mai actuale probleme în ortopedia modernă. Prevenirea și tratarea acestor boli necesită o cercetare mult mai largă în studierea patogenezei, profunzimii și gradului de implicare în procesul patologic a elementelor segmentelor coloanei vertebrale. La momentul actual s-a constatat că la baza afecțiunilor coloanei vertebrale stau modificările degenerative ale nucleului pulpos, mecanismul cărora rămîne încă neelucidat [297].

Un rol important în dezvoltarea proceselor degenerativ-distrofice în disc au dereglările de circulație în vasele coloanei vertebrale [46, 47, 48, 55, 56, 57, 297]. Cu toate acestea, pînă în prezent nu există răspunsuri satisfăcătoare la întrebările privind declanșarea procesului de ateroscleroză și fazele timpurii de dezvoltare.

Lucrarea de față, care are ca temă „Particularitățile morfologice ale proceselor degenerativ-distrofice din segmentul intervertebral lombar”, reprezintă rodul unei activități, științifice și practice, pe care noi am desfășurat-o în ultimii 3 ani, perioadă în care am încercat să combin informațiile din literatura de specialitate cu rezultatele profesionale, în diagnosticarea, profilaxia și tratamentul chirurgical al schimbărilor degenerative distrofice ale discurilor și complicațiilor lor. În stațiunea bipedă, centrul de greutate al corpului se deplasează anterior de zona lombo-sacrală, accentuează lordoza lombară fiziologică și orientează discurile vertebrale în planuri diferite față de cele toracale, determinîndu-le să privească spre partea antero-inferioară a bazinului. Consecințele acestui fapt sunt tendința la deplasare anterioară a coloanei lombare față de sacru și apariția unor forțe de translație puternice în discurile lombare inferioare, mai ales în discul L₅. Consecutiv, arcul vertebral L₅ s-a adaptat, liniile de forță s-au concentrat îndeosebi la nivelul istmului vertebral, iar articularele L₅ au căpătat o orientare paralelă cu un plan frontal, spre deosebire de orientarea sagitală sau oblică a articularelor vertebrelor de deasupra. O leziune anatomică la nivelul discului intervertebral sunt schimbările degenerativ-distrofice cu hernie, cu afect compresiv asupra radiculelor nervoase cu senzații de durere.

În această cercetare noi am avut intenția să elucidăm și să demonstrăm următoarele aspecte:

- consecutivitatea afectării degenerativ-distrofice a discului și elementelor segmentelor intervertebrale lombare;
- stadializarea histopatologică a schimbărilor degenerativ-distrofice ce au loc în

discurile intervertebrale lombare colorate cu hematoxelin-eozină și picrofuxină;

- modificările biologice (histologice și imunohistochimice) produse la nivelul segmentelor discurilor intervertebrale prelevate în cursul intervențiilor chirurgicale efectuate la bolnavi și cadavre din lotul de studiu;

- prezența unor concordanțe între aspectele histologice ale discurilor intervertebrale și arterele lombare colorate imunohistochimic cu CD₃₄;

Partea generală a acestei lucrări prezintă informații de bază cu privire la detaliile anatomo-clinice, diagnosticul histologic și posibilitățile prevenirii acestei boli.

Capitolul de anatomie trece în revistă particularitățile morfologice și pe cele de anatomie chirurgicală referitoare la canalul vertebral, la foramenul neural, vascularizația vertebrală, raporturile anatomice, a căror înțelegere este necesară pentru explicarea tabloului clinic al pacientului. *Tabloul clinic și sindroamele neurologice* sunt detaliate în următorul capitol, alături de clasificările și stadiile evoluției schimbărilor degenerative, acestea încercând să ofere o imagine de ansamblu asupra implicațiilor socio-profesionale ale bolii.

Date istorice

În 1794, Cotugno Domenico – teoria afecțiunilor nervului sciatic, diferențierea dintre sciatica artritică și cea nervoasă; a descris pe larg pentru prima dată lichidul cefalorahidian.

În 1857, Virchow Rudolf – a descris primul disc intervertebral lombar traumatic [262].

În 1888, Babinsky S. și Bekhterev V. – au studiat clinica leziunilor coloanei vertebrale [20].

În 1908, Fedor Krause – a făcut prima operație pentru hernie de disc în 1908, prin laminectomie. Materialul discal a fost considerat un „encondrom”, nerecunoscându-i legătura cu spațiul intervertebral.

În 1929, Dandy W.E. – a evidențiat structura cartilaginoasă a discului intervertebral [61].

În 1932, Schmorl C.G. – scrie o lucrare clasică despre cartilaj și leziunile degenerative ale discului [226].

În 1933, Hildenbrandt – a caracterizat modificările degenerative ale discurilor intervertebrale și a introdus conceptul „osteocondroză”.

În 1934, Mixter W.J. și Barr. J.S. – pentru prima dată au folosit termenul de „hernie de disc” [167].

În 1940, Margulis M.S. – a introdus termenul „sciatică” și a descris radiculita lombo-sacrală;

Popelyansky Ya.Yu., – a creat școala axată pe studerea osteocondrozei (1970-1980) [297]

Influența discului intervertebral lombar asupra durerii în radiculopatie

În degenerarea discului, un rol deosebit are deficitul de substanțe nutritive în celule [187]. Ele necesită glucoză și oxigen, pentru a rămâne viabile și active. *In vitro*, viabilitatea celulelor discale este foarte sensibilă la oxigen extracelular și pH, pentru menținerea și sinteza matricei celulare. În cazul concentrațiilor scăzute de acești nutrienți, pH devine acid [99, 102], iar celulele nu supraviețuiesc [128]. Crește concentrația acidului lactic, care afectează capacitatea celulelor de a sintetiza și a menține matricea extracelulară, urmată de degenerarea discului. Discul este avascular, însă vitalitatea celulelor depinde de aprovizionarea cu sânge a structurilor marginale (lamellele terminale, ligamentele longitudinale, corpurile vertebrale), ce furnizează substanțe nutritive și elimină produsele metabolice [121].

Toate manifestările se soldează, în final, cu deshidratarea nucleului pulpos și uzarea inelului fibros – consecințe ale factorilor mecanici și biochimici. O serie de modificări degenerative pot fi descrise ca procese de destabilizare urmate de procese de restabilire. (Unele sunt descrise în continuare). Inițial, leziunile inelului fibros duc la pierderea capacității de conținere a nucleului pulpos. Modificările simultane interne ale nucleului pulpos duc la pensarea spațiului articular și la o capacitate redusă de încărcare a respectivului segment vertebral. Materialul nuclear nu mai este ferm conținut în interiorul discului intervertebral și va migra în direcția rezistenței minime, aceasta fiind, de obicei, înspre posterior sau postero-lateral. Această migrare conduce la o „proeminență” sau „hernie încapsulată” a inelului fibros înspre gaura vertebrală sau canalul radicular. Dacă mijloacele de conținere inelară își pierd stabilitatea, materialul nuclear poate hernia. Aceasta este așa-numita „hernie adevărată” sau „hernie neîncapsulată” [88, 96].

Manifestările patologice la nivelul discului intervertebral în stadiile avansate duc la pierderea înălțimii discului și, totodată, la reducerea capacității de stabilizare a inelului fibros, cu afectarea stabilității segmentului de mobilitate, numită instabilitate segmentară [118]. Degenerarea progresivă se răsfrânge asupra nivelului marginilor corpului vertebral, și la nivelul arcului vertebral ca un proces de formare osoasă reactivă, care are aspectul radiologic clasic de osteofitoză și scleroză subcondrală [21, 23].

S-a demonstrat că inelul fibros are la exterior, la nivelul lamellelor terminale, niște terminații nervoase libere și canale vasculare; astfel, afectarea acestor țesuturi, cu sau fără migrarea materialului nuclear, a fost propusă drept cauză pentru durerea lombară joasă [27]. Pensarea spațiului discal, asociată cu modificările degenerative ale discului intervertebral, influențează mecanica mișcării articulare și a fost postulată ca o cauză primară de instabilitate segmentară, totodată putând fi asociată cu durerea lombară. Discul intervertebral lombar herniat

este deseori implicat în producerea radiculopatiei și a neuropatiei, din cauza efectelor sale mecanice și chimice asupra rădăcinilor nervoase lombosacrate și a caudaei equine [59].

Osteofitele formate la nivelul elementelor osoase ale coloanei împreună cu hipertrofia ligamentelor galbene duc la stenoză de canal medular, iar fibrele colagene capătă un caracter metaplastic, ce se transformă în țesut cartilagin, intensificându-se proliferarea fibroblastelor, urmată de îngroșarea ligamentului și scăderea elasticității lui [59]. Aceste modificări pot afecta mobilitatea țesuturilor nervoase, iar în cazuri extreme pot cauza o compresiune îndelungată, ducând la paralizie la nivelul membrului inferior, însoțită de hipoestezie, disfuncție vezicală și intestinală.

Cercetătorii suedezi H. Brisby, K. Olmarker (2002) au determinat prezența factorilor de inflamație (interleukinele VI și VIII) în lichidul cefalorahidian (LCR), în puseele dureroase de lombosciatică, legate de degenerescențele discale [23]. Citokinele sunt mediatori importanți în efectele algice asupra rădăcinilor nervoase în hernia de disc [60].

Examenul histologic cu hematoxin-eozină și picrofuxină evidențiază un element important în leziunile degenerative – celule tinere (fibroblaste), ce indică, regenerarea leziunilor discale.

Schimbările biochimice importante apărute în degenerarea discului intervertebral duc la pierderea proteoglicanilor [152]. Agrecanul degradează în molecule fibrilare cu fragmente mici, formând conglomerate mari ceea ce duce la pierderea glicozaminoglicanilor și, drept urmare influențează la scăderea presiunii osmotice, cu deshidratarea matricei discului intervertebral. În degenerarea discului intervertebral, sinteza agrecanului persistă și atacă regiunile intacte, cu formarea agregatelor [120].

Mai puțin cunoscute sunt modificările proteoglicanilor cu fracție mică în degenerescența discurilor, deși există unele dovezi că concentrația decorinului, mai ales a biglicanului, este mai înaltă în cele degenerate, decât în cele normale [113]. Matricea fibrelor de collagen ale discului suportă modificări degenerative, însă sunt mai puțin evidente în proteoglicani. Collagenul de tip II de enzime inflamatorii este mai denaturat în discurile intervertebrale, decât în cartilajul articular la aceeași persoană [11, 98].

Degenerarea discurilor cu herniere se caracterizează prin scăderea globală a glicozaminoglicanilor și creșterea collagenului paralel cu durata evoluției clinice a cazului. Totodată, are loc o perturbare a compoziției chimice, care, la un moment dat, devine ireversibilă. Unii autori afirmă că senescența simplă este însoțită de ruptura progresivă a legăturilor dintre polizaharide și proteinele nefibrilare, în timp ce degenerescența este marcată de numeroase rupturi, care interesează și alte legături chimice [87].

Rezonanța magnetică nucleară în diagnosticarea schimbărilor degenerative în disc

Rezonanța magnetică nucleară (RMN) este utilizată pentru evaluarea segmentului lombar al coloanei vertebrale în depistarea schimbărilor degenerative sau leziunilor discurilor intervertebrale, țesutului osos, rădăcinilor nervoase, măduvei spinării, ligamentelor, mușchilor și vaselor de sânge. Echipamentul RMN creează un câmp magnetic puternic, realiniază moleculele de apă în țesuturi, urmată de o trecere de unde radio prin corp, care detectează „relaxarea”, adică revenirea la poziția inițială, a moleculelor de apă și generează un semnal de rezonanță, înregistrat de un detector computerizat ce reconstruiește imaginile tridimensionale sau bidimensionale ale segmentelor analizate. De regulă, această procedură este utilizată pentru a identifica anumite patologii care necesită intervenție chirurgicală urgentă.

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 [87, 130].

RMN deține o rezoluție înaltă și imagini multiaxiale, care reprezintă „felii” subțiri de țesut. Datorită faptului că examinarea prin RMN este non-invazivă și nu folosește radiații ionizante, aceasta prezintă un risc mai mic pentru pacient decât alte procedee de imagistică, cum ar fi tomografia computerizată, discografia sau mielografia [87].

RMN are un aport deosebit nu numai în diagnosticarea discului, dar și în știință, pentru efectuarea unor studii mai aprofundate în evidențierea schimbărilor patologice în disc. De exemplu, Hajek P.C., Baker L.L., Goobar J.E., și colaboratorii [87] au descris „o zonă de mare intensitate” în partea posterioară a inelului fibros, care adesea identifică discurile intervertebrale la nivelul cărora apar simptome în timpul discografiei. Îmbunătățirea rezoluției și a contrastului, cât și tehnologia „fast-scan” (scanare rapidă). Există prototipuri de incinte magnetice mari care vor permite explorarea pacienților într-o varietate de posturi și totodată este perfectată examinarea dinamică prin RMN (dynamic RMN) [147].

Modic a tins să stadializeze schimbările ce au loc în disc, clasificându-le în trei tipuri (I, II, III). Utilizându-le în studiul efectuat de noi, ce au permis să facem o estimare a schimbărilor degenerative cu hernie de disc. Însă, ele nu măsoară exact volumul și nu permit o comparație statistică [53, 54].

În urma sintezei rezultatelor studiului efectuat, am constatat că peste 80% din cazurile a caror hernie de disc a fost supusă intervenției chirurgicale prezentau la RMN, modificari tipice

avansate la nivelul focarului lezional, iar la examinarea histologică s-au confirmat leziuni avansate de degenerare a discului intervertebral lombar.

În Republica Moldova sunt câteva centre RMN, dar numărul lor tinde să crească și în regiunile rurale. Astfel, schimbările degenerative vor fi diagnosticate în fazele lor incipiente, cu scop profilactic.

Clasificarea schimbărilor degenerative în discul intervertebral lombar și importanța ei

Recent, Boos și al. (2002) au dezvoltat un sistem de clasificare de încredere [26], care permite o evaluare (semi –) cantitativă a modificărilor histologice în disc, punând accentul pe următoarele criterii: **densitatea celulară** (proliferarea condrocitelor), **modificările structurale** (dezorganizare și fisuri) ale fibrelor de collagen în inelul fibros și la nivelul nucleului pulpos cu implicarea plăcilor terminale; **modificările granulate** colorate cu hematoxelin-eozină, evidențiind granule amorfe în fibrocartilag; **degenerarea mucoidă** a mucopolizaharidelor (glicozaminoglican sulfat) colorate cu albastru-alcian, pas-pozitiv. Scorul general al acestor criterii este de 15 puncte. Această clasificare este rezultativă pentru discurile prelevate postmortem.

Thompson J.P. et al. [245], în 1990, au propus clasificarea macroscopică a modificărilor degenerative ale discurilor intervertebrale legate de vîrstă, împărțindu-le în grade: I – disc juvenil nemodificat, II – disc de adult nemodificat, III – degenerare incipientă a discului, IV – degenerare moderată a discului, V – degenerare severă de disc. Este 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.

Sinteza collagenului în disc variază în funcție de vîrstă. Studiile efectuate de Bernick S. și Cailliet R. [24] au demonstrat o reducere treptată a formării cartilajului de pe lamelele terminale de la vîrsta de 16 ani. Antoniou S. et al. [9, 10], într-un studiu, au determinat că discul trece prin trei faze de sinteză a collagenului: 1) fază timpurie – sinteza intensă de collagen, 2) faza de maturare – întreține și reînnoiește collagenul, 3) faza degenerativă alternată cu sinteza redusă de collagen.

Gruber H. și Hanley E. [83, 222] au corelat modificările collagenului cu plăcile terminale și moartea (apoptoza) celulelor discului, căutarea unei tangențe în expresie genetică și degenerarea progresivă în disc. Roberts S. et al. [212] au demonstrat anterior că degenerarea

progresivă de disc și placi terminale cauzează fisuri și cavități, dezvoltând hernii Schmorle, care mai apoi au descoperit cavități nodulare în corpurile vertebrale și lamelele terminale vizualizate pe clișeele roentgen, fiind rămășițe din notocord, numindu-le nodulii Schmorle. Roberts S., în 1996, a demonstrat importanța proteoglicanilor în schimbul de substanțe nutritive în disc, iar pierderea lor reduce funcția în lamelele terminale [217]. În 1932 a apărut clasificarea Schmorle G. [226] a schimbărilor degenerative ale discului, având următoarele forme: noduli cartilaginoși în corpurile vertebrale și discuri, spondiloza, spondiloartroza, osteocondroza. În prezent această clasificare și-a pierdut semnificația, având un spectru mai generalizat.

O clasificare a degenerării discului coloanei vertebrale lombare prin metode imagistice a fost propusă de Modic Mt. et al. [169]. 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.

Kim K.Y. et al.[134] au fost primii care au descris hernia de disc în imagini prin rezonanță magnetică.

În 1995, Kramer J. [139] a descris o clasificare mult mai complexă pentru hernia de disc lombară, în care menționează dimensiunea și poziția herniei față de structurile neuronale.

La completarea studiilor lui Kim K.Y. și Kramer J. [134, 135, 139, 164], Militte P.C. [165] a furnizat o nouă clasificare, în care recomandă utilizarea tomografiei și discografiei. Aceste lucrări au pus baza studierii prin rezonanță magnetică a schimbărilor degenerative de disc.

Southern E.P. et al. [237] au propus o altă clasificare a bolii degenerative de disc prin rezonanță magnetică la cadavre umane și corelate cu discometria cantitativă, – metodă care constă în injectarea unui lichid de contrast în spațiul intradiscal, ce măsoară presiunea intradiscală și evaluează ulterior imaginile schimbate RMN.

În 2001, Pfirrmann C. et al. [200] au avansat studiile lui Southern, desfășurând un studiu morfologic al discului cu RMN, clasificându-le în 5 tipuri. Ei au descris structura discului, culoarea nucleului pulpos, intensitatea semnalului și înălțimea discului.

În studiul efectuat, mi-a fost foarte greu să aleg o clasificare potrivită, deoarece am tins să studiez, în afară de discul intervertebral, segmentul vertebral cu investigarea histologică a ligamentelor longitudinale anterioare și posterioare, ligamentul flav, colorat cu hematoxelin-eozină și picrofuxină, și asocierea schimbărilor din ele cu degenerarea discului. De aceea am ales clasificarea Thompson, folosită de mai mulți autori, care mi-a permis să fac o corelare mai precisă cu stadializarea imagistică prin RMN după Modic, evidențiind histologic gradele de

afectare a discului intervertebral, corelate imagistic cu modificările RMN, servind drept markeri în evidențierea primară a schimbărilor degenerative ca scop profilactic. Clasificarea dată pune accentul pe studierea materialului postoperator, avînd un grad înalt de degenerare a discului.

Mi-a fost ușor să corelez această clasificare cu patru grade după Thompson, și clasificarea după Jasani și Schmidt (1993) [118], care îmi permite aprecierea intensității colorației peretelui arterelor lombare colorate imunohistochimic cu CD₃₄, avînd 5 tipuri: reacție intens pozitivă (+++), reacție de intensitate moderată (++) , reacție de intensitate slabă (+), reacție de intensitate foarte redusă (+/-), reacție absentă (-). Ultimul tip, – reacția absentă (-), nu a fost întîlnită în nici un caz. Acest fapt mi-a ușurat corelarea cu cele patru grade de degenerare după Thompson și aprecierea gradului de corelare Pearson fiind de $r = 0,54$, interpretată ca o asociere foarte puternică.

Clasificarea intensității de colorare a arterelor lombare mi-a permis să găsesc o asociere între schimbările degenerative în disc și afectarea aterosclerotică a peretelui vascular, ceea ce îmi ajută să dovedesc că dereglările de circulație în disc sunt una din cauzele modificărilor degenerative în discul intervertebral lombar.

Este necesară clasificarea modificărilor histologice ale materialului discal postoperator?

În literatura de specialitate există multiple date [29, 63, 204, 206, 279, 280] care sugerează că examenul histopatologic de rutină al elementelor discului postoperator este financiar inefficient. Însă, sunt și dovezi clare că determinarea gradului sau punctajului degenerării histologice a discului stabilește cerințe adecvate în amenajarea calitativă a locului de muncă, perfectarea personalului medical, prezintă date importante în constituirea eșantionului de studiu. Aceste date morfologice sunt de o importanță majoră, deoarece ele formulează o concluzie mai amplă privind starea de degenerare a discului în corelație cu cele rămase. O altă însemnătate a evaluării modificărilor histologice degenerative în materialul discului excizat este că ea servește drept act medico-legal și o dovadă a calității lucrului medicilor implicați în intervențiile chirurgicale.

Sumînd datele expuse, ne dăm seama că în tratamentul degenerescenței discului există multe lacune, ce necesită o atenție deosebită – atît therapeutic, cît și științific. Viitorul, aparține terapiilor bazate pe celule, inginerii tisulare, nanoelemente, care necesită o justificare morfologică, avînd drept scop recepționarea informației detaliate cu privire la starea țesutului discului intervertebral, pentru a alege opțiunile terapeutice corecte.

Neovascularizarea în discurile degenerativ-distrofice? și semnificația ei

Rätsep T. et al. (2013) [205], în studiile lor pe discul intervertebral degenerat, au dovedit că există nivel înalt de neovascularizare în lamelele terminale sau la periferia conținutului hernial. Nivelul de neovascularizare s-a asociat semnificativ cu scorul degenerării histologice a herniei de disc.

Degenerescențele severe ale discurilor lombare cu herniere sunt însoțite de neovascularizare – un factor favorabil în regresarea herniei, inducând procesul de regenerare.

Deși au existat numeroase studii experimentale pe disc – cel mai mult conțineau probe din tesuturile cadaverice umane, modele animale – și investigații cohortice a materialului postoperator din secțiunile de vertebrologie. Mai multe studii histologice au demonstrat apariția țesutului de granulație cu neovascularizație abundentă, ce servește drept semn distinctiv exprimat prin prolabarea materialului discal [35, 116, 207, 259]. Weidner N. și colab. [259] au declarat că neovascularizarea are o localizare marginală. Alți autori resping această ipoteză socotind-o ca nesemnificativă pentru cercetare [283, 32, 171]. Unele studii histologice, axându-se pe criterii histologice de diferențiere, s-au concentrat pe compoziția conținutului herniei (nucleul pulpos, inelul fibros și lamelele terminale) [67, 90, 170, 273, 282, 283].

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.

Hasegawa T. et al. [92] în experiențele pe cîini, au arătat că în fragmentele de nucleu pulpos degenerat există o reacție inflamatorie care atrage limfocitele, macrofagele, fibroblastele și mastocitele. Alții au examinat probele umane și au constatat prezența macrofagelor în marea majoritate a inflamațiilor acute și cronice ale herniilor [80, 86, 112].

Mastocitele prezente în inflamație în urma degranulării elimină enzime proinflamatorii – interleuchine, factorul de necroză tumorală (TNF), histamine, prostoglandine, fosfolipaza A2, PGE 46 –, care contribuie la stimularea procesului de neovascularizare [29, 64, 81, 221].

În studiul efectuat am folosit colorarea imunohistochimică MCT a peretelui arterelor vertebrale aterosclerotice și am observat că 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.

Din cele expuse este clar că la colorarea imunohistochimică cu CD₃₁ a materialului prelevat postoperator din elementele discului degenerat în el vom găsi formațiuni neovasculare.

Eu nu am folosit această colorare, dar în studiul histologic am depistat foarte multe fibroblaste în faza de proliferare – un indiciu favorabil cu caracter regenerativ și formarea granulațiilor neovasculare.

Influența factorilor de risc asupra degenerării discurilor invertebrale

Studiile genetice și epidemiologice efectuate până acum au oferit unele dovezi pentru un fond ereditar de aparență a schimbărilor degenerative în discurile intervertebrale [15, 16, 17, 18, 40,

123, 124, 232]. Actualmente, sunt identificați mai mulți factori de risc, ce au o legătură direct cu locul de muncă și stilul de viață [91, 95, 233, 235, 239]. Indiferent de complexitatea evaluării datelor epidemiologice, unele rezultate sunt parțial controversate. Există date ferme precum că obezitatea joacă un rol important [28, 95, 96, 125, 144, 151, 129, 236, 248] printre factorii potențiali de risc. Din punct de vedere biomecanic, prin suprasolicitare mecanică, sunt explicate lumbalgiile asociate cu degenerarea discului [161, 270, 271]. Un alt factor de risc este dereglarea sistemelor metabolic și imunitar [96]. De exemplu, diabetul de tip 2 insulinodependent și obezitatea, se asociază strâns cu „inflamația” cronică și caracterizează o producție anormală de citokine, stimulează producerea unui exces de TNF- α în țesuturile obezilor [97, 133]. Este dovedit faptul [145, 146, 161, 173, 192, 251, 270, 271] că citokinele inflamatorii joacă un rol important în procesul accelerat de degenerare a discului intervertebral. Soloviova S. et al. [236] au îndus părerea precum că degenerarea discului este un proces polietologic dependent de factorii de mediu și cei genetici, corelați sinergic între ei. Este inevitabilă evidențierea efectelor negative ale fumatului – acțiunea nicotinei asupra receptorilor nicotinici din pereții vaselor, cu efect spastic în arterele vertebrale, care accentuează degenerescenta discului.

Evaluarea clinică

Stabilirea diagnosticului începe cu o anamneză completă și examenul fizic. Medicul adresează întrebări referitoare la simptome și afectarea activităților zilnice, se interesează despre pozițiile și activitățile care accentuează sau micșorează durerile. Apoi, pacientul este examinat prin verificarea poziției și volumului mișcărilor în coloana vertebrală, pentru a preciza care mișcări produc durere. Sunt testate sensibilitatea pielii, forța musculară și reflexele.

Durerea și dizabilitatea prezente la pacienții cu hernie de disc lombară au un impact negativ recunoscut asupra capacității funcționale și a calității vieții acestora. Testele specifice pentru investigare la pacienții cu disfuncții osteoarticulare au început să apară cu peste 25 de ani

în urmă. În 1987, Sullivan sublinia că testele de evaluare a funcției trebuie să se bazeze pe capacitatea de a performa activitățile cotidiene (ADL; Activities of Daily Living) și să ofere o evaluare competente a funcțiilor de ansamblu [66].

Aplicând criteriile dizabilității Oswestry [71] la subiecții implicați în studiu, am evaluat infirmitatea generatoare de dizabilitate. În lucrarea de față, scorul Oswestry ne-a ajutat în definirea statusului funcțional și aprecierea eficacității tratamentului chirurgical.

Valorile procentuale ce indică dizabilitatea persoanei ca întreg (whole pearson) variază între 20% și 25%, în funcție de diagnostic, arată impactul important pe care îl are boala asupra organismului, confirmând definiția acestei afecțiuni. Prin urmare, hernia de disc lombară este o boală invalidantă, indiferent de tratamentul aplicat.

Sperăm ca rezultatele acestui studiu, pe lângă stadializarea discopatiilor vertebrale, să reprezinte puncte de pornire aprofundate în diagnosticarea precoce și tratamentul leziunilor discale.

Tratamentele actuale tind să reducă durerea, și termenul de reparare a discului degenerat. Tratamentele folosite în prezent – conservator și paliativ – au drept scop revenirea pacienților la locul de muncă. Tratamentul conservator: analgezicele, miorelaxantele, corticosteroizi, terapia manuală, fizioterapia [267]. Tratamentul chirurgical: discectomia sau de imobilizarea vertebrelor afectate. În Marea Britanie, intervențiile chirurgicale constituie 1:2000 episoade de durere de spate, iar în Statele Unite ale Americii, incidența tratamentului chirurgical este de cinci ori mai mare [77]. Rata succesului este înaltă, deși un studiu recent a indicat faptul că o intervenție chirurgicală îmbunătățește lotul de recuperare la pacienții bine selectați [247]. În 70-80% din cazurile cu dureri de spate, drept indicație pentru operație a fost hernia de disc [147, 158].

Opțiunile terapiei chirurgicale

În prezent, tehnica chirurgicală performantă reduce numărul traumelor chirurgicale. Intervențiile chirurgicale minim invazive pretind să se încadreze în una din procedurile de puncție.

În ultimele decenii, s-a dezvoltat o varietate de tehnici punționale pe discul intervertebral, scopul principal fiind accelerarea procesului de fibroză și eliminarea impulsurilor dureroase din el. Afară de aceasta, unele intervenții pot elimina o parte din nucleul pulpos modificat degenerativ-distrofic [199, 244, 247, 300].

Din 1929, când Walter Dandy raporta primul caz de hernie de disc lombară operată, tratamentul chirurgical al acestei patologii a reprezentat o provocare pentru toții cei implicați în

chirurgia spinală. [61]

Datele istorice arată că una dintre primele metode de tratament a fost introducerea substanțelor corozive în disc. Introducerea a 96% de alcool sau a preparatului enzimatic papaină este capabilă să dizolve cartilajul discului, ducând la distrugerea receptorilor de durere, și înlocuirea lor cu țesut fibros (deretsepsie) [76, 271]. Introducerea în disc a alcoolului sau papainei are efect pozitiv în 20-85 % din cazuri [190, 296]. Însă, manipulațiile date pot fi însoțite de complicații, cum ar fi șocul anafilactic, discita și spondilita. Alcoolul poate să se scurgă în afara discului, cauzând inflamația în canalul spinal, și deteriorarea rădăcinilor din cauda equina și măduva spinării, sub forma de mielite acute sau caudită [76, 289]. Rezultatele pozitive instabile au risc sporit de complicații grave. De aceea, medicii au renunțat la introducerea alcoolului în discul intervertebral, precum și utilizarea papainei, contraindicată în multe țări.

Coagularea termică a discului intervertebral are un efect identic deretsepsiei, obținând o compactare a discului cu decompresie, ce elimină durerea discală. Tehnica dată constă în introducerea unei sonde în zona de punționare a nucleului pulpos și încălzirea cu radiunde la 70-90°C, fără vre un efect semnificativ [227]. Nereușita procedurii era cauzată de expunerea limitată numai a nucleului pulpos, iar zonele terminațiunilor nervoase situate în inelul fibros rămâneau neatinse. Mai mult succes a avut impactul termic din treimea posterioară a inelului fibros, cu o sondă SpineCathTM flexibil. Această metodă dată este numită terapie electrotermică intradiscală (IDET; Tratamentul electrotermic intradiscal). Încălzirea spațiului inelar pînă la 75°C timp de 20 min. permite a obține rezultate pozitive în 60-70 % din cazuri [233].

Alte metode sunt: ablația cu laser (evaporare) și decompresia herniei de disc [76]. Dezavantajele acestei abordări sunt: supraîncălzirea țesuturilor adiacente zonei de ablație, cu formarea unui țesut cicatricial dur, și probabilitatea înaltă de recidivare a bolii.

Utilizarea instrumentelor microchirurgicale și a microscopului a permis, în 1970, dezvoltarea microdissectomiei, constituind îndepărtarea herniei de disc printr-o incizie mică, fără înlăturarea unei porțiuni de vertebre [45]. Această operație reduce durata aflării în staționar pînă la 3 zile și restabilește capacitatea de muncă în termen de 20 de zile, dar succesul reintervenției este de 56-88 % [201].

În 1991 Foley și Caspart au dezvoltat în Statele Unite ale Americii, primul sistem tubular pentru abordul interlaminar al herniei de disc lombare, pentru ca în 1997 Foley și Smith să raporteze prima microdissectomie endoscopică.

În 1993 Destandau a dezvoltat, în Franța, sistemul Endospine și raporta prima ablație endoscopică a unei hernii de disc lombare.

O altă tehnică, mai puțin traumatică, este discectomia endoscopică, utilizată cu succes în practica clinică. Ea însă, are aceleași complicații ca și microdiscectomia.

Mixter și Barr publică în 1934, o descriere a durerii și a semnelor neurologice asociate herniei de disc lombare, într-un studiu pe 19 pacienți. [167] Tehnica chirurgicală Mixter și Barr implica o discectomie lombară agresivă. Această tehnică chirurgicală a fost utilizată la nivel mondial, aproape 40 de ani, începând să fie modificată la sfârșitul anilor '70, odată cu apariția tehnicilor microchirurgicale, mai puțin invazive, care au scăzut perioada de spitalizare și au permis pacienților o reinserție profesională mai rapidă. [38, 79, 107, 126, 275, 276, 281, 285]

Primele serii publicate despre microdiscectomia lombară, au demonstrat că această tehnică chirurgicală, mai puțin invazivă decât tehnica clasică, a înjumătățit timpul operator și astfel a redus perioada de spitalizare. [275]

A apărut apoi o dezbateră despre ce tehnică microchirurgicală are cele mai bune rezultate postoperatorii, cu rata cea mai mică de recidivă, care să necesite o nouă intervenție. Williams a sugerat o abordare mai conservatoare, numai cu excizia herniei discale. [275]

În același timp Caspar și alți autori au susținut că o excizie mai largă a materialului discal este necesară pentru a preveni recidiva herniei de disc lombare și pentru a se realiza o mai bună decompresie a rădăcinii nervoase afectate. [38, 277]

Cu toate aceste discuții, rezultatele postoperatorii net superioare ale microdiscectomiei față de tehnica clasică de discectomie lombară, au impus microdiscectomia lombară în arsenalul terapeutic chirurgical al herniei de disc lombare. [39, 218, 230, 277]

Succesul microdiscectomiei se datorează și evoluției tehnice, care a făcut posibilă introducerea în neurochirurgie a microscopului chirurgical. [39, 58, 275]

Există o prevalență masculină în incidența herniei de disc lombare operate, care variază de la 1,3:1 la 2:1. [33, 131, 238, 268].

Kelsey și Ostfeld aduc argumente că nu există o „adevărată diferență” în incidența herniei de disc lombare între cele două sexe, dar pacienții de sex masculin sunt mai frecvent operați datorită tipului de efort depus la locul de muncă și a faptului că nu pot aștepta evoluția favorabilă a tratament conservator medicamentos. [132]

Alți autori susțin că sexul masculin este mai susceptibil de a face hernie de disc

lombară, deoarece degenerarea discală este mai importantă la bărbați decât la femei, la toate grupele de vârstă comparate, datorită unui stres discal mai crescut și unei nutriții a discului mai deficitară, pentru că pacienții de sex masculin prezintă căi de difuzie- nutriție mai lungi. [164, 177]

Rezultatele tratamentelor chirurgical și conservator au demonstrat că durerile de spate la pacienții operați au scăzut cu 33%; 25% dintre pacienți au revenit la o viață activă, iar lombalgiile au devenit cronice [73]. Incidența complicațiilor în perioada postoperatorie precoce a fost de 17 %.

Într-un studiu ce a inclus 100 de pacienți cu hernie de disc lombară, operați prin discectomie deschisă, Lewis și colaboratorii au constatat că la un an postoperator, 73% dintre pacienți nu mai prezentau dureri radiculare și 63% nu mai aveau dureri lombare. La 5 ani postoperator procentul a fost de 62% pentru ambele categorii simptomatice. Între 5 și 10 ani postoperator 14% dintre pacienți au descris același tip de durere lombară și/sau radiculară, de aceeași intensitate sau de intensitate crescută față de durerea preoperatori. [148]

Actualmente, o abordare fundamentală nouă pentru chirurgie este utilizarea radiației laser. În 1992, experimental s-a demonstrat că iradierea cu laser de mică intensitate poate schimba proprietățile cartilajului, fără a-i deteriora integritatea [39]. În prezent, se utilizează cu mare succes în otolaringologia nechirurgicală, dezvoltând remodelarea septului nazal [38, 290, 302]. Paradoxal, dar, în afară de modificările plastice ale cartilajului, laserul expus în anumiți parametri determină creșterea cartilajului [303]. Experimental, in vivo s-a demonstrat că expunerea discurilor intervertebrale razelor laser provoacă creșterea cartilajului [291]. Folosirea acestei metode în tratamentul discurilor intervertebrale degenerative ar putea stopa evoluția procesului patologic, cu regenerarea cartilajului discal, eliminându-se sindromul algic și instabilitatea segmentului vertebral. În mod semnificativ se vor reduce și complicațiile microdiscectomiei .

Laminotomia și laminectomia sunt procedee realizate cu scopul de a scădea presiunea asupra coloanei vertebrale, cauzată de schimbările apărute odată cu creșterea vârstei. Laminotomia constă din îndepărtarea uneia din porțiunile componente ale arcului osos ce înconjoară canalul vertebral, numită lamina. Laminectomia reprezintă îndepărtarea în totalitate a laminei, precum și a unor țesuturi moi care îngustează canalul vertebral (canalul ce se formează prin suprapunerea mai multor vertebre). Oricare din aceste operații poate fi, realizată simultan cu discectomia.

Discectomia percutanată este folosită pentru discurile deplasate complet sau care ajung în interiorul canalului vertebral. Descrierea procedurii: un instrument special se inserează

printr-o incizie mică, apoi discul herniat va fi tăiat sau extras în afară, scăzând astfel dimensiunea herniei. Acest procedeu este considerat mai puțin eficient decât discectomia deschisă.

Neurotomia prin radiofrecvență folosește un instrument special (fluoroscop) pentru a plasa un electrod sub formă de ac în apropierea nervului afectat. Un curent cu frecvență înaltă va distruge nervul și astfel va înceta transmiterea de semnale prin acel nerv.

Nucleoplastia este o metodă chirurgicală miniminvasivă; se efectuează în ambulatoriu și îi permite pacientului să părăsească clinica în aceeași zi. Procedul se efectuează cu ajutorul unei sonde speciale, de unică folosință, plasată exact în discul intervertebral. Această manoperă se face sub control radiologic strict. Prin canulă se introduce o sondă specială care dezintegrează țesutul nucleului pulpos la nivel molecular prin radiofrecvență, în prima fază (coblație), redându-i consistența prin coagulare (prin plastifierea nucleului pulpos) în a doua fază. Aceasta permite, în același timp, păstrarea consistenței nucleului pulpos (coblație și coagulare) și reducerea presiunii în discul intervertebral, eliberând nervii de sub compresie și reducând sau înlăturând durerile. Nucleoplastia percutanată se face sub anestezie locală.

Viitoare direcții de tratament

Terapiile bazate pe celule

În prezent, obiectivele generale ale tratamentului proceselor degenerativ-distrogice, sunt atât atenuarea simptomelor dureroase, cât și restabilirea funcțiilor mecanice. În funcție de gradul de degenerare, strategiile de tratament trebuie să posede efect regenerator sau reparator. Cel regenerator (terapia celulară, genică și proteică), este mai eficient în stadiul incipient al procesului degenerativ, fiind localizat în nucleul pulpos [189, 223, 235, 243, 264].

Culturile celulare autologice și alogene își manifestă caracteristicile osteoinductoare la inocularea în regiunea osului cu osteogeneză (activează regenerarea osoasă), dar, datorită caracterului lichid, ele nu se mențin în locul inoculării. De aceea, folosirea lor în substituția defectelor osoase de dimensiuni mai mari este dificilă [175, 293].

Terapia celulară are drept scop, repararea matricei discului degenerat și stimularea celulelor de producerea matricei țesutului fibro-cartilagos al discului intervertebral. Factorii de creștere sporesc sinteza matricei de până la cinci ori [89,147], iar citokinele o inhibă [147]. Injectarea directă a factorilor de creștere sau a inhibitorilor de citokine s-a dovedit a fi inefficientă, deoarece este de scurtă durată.

Terapia celulară cu celule-stem mezenchimale joacă un rol semnificativ în regenerare. Fiind introduse local în discul degenerat, aceste celule proliferază în celule specifice discului intervertebral cu același fenotip. Drept rezultat, ele ameliorează efectele degenerative și duc la

producerea matricei extracelulare, destinată să restabilească funcția discului sănătos [180, 127]. Tratamentul reparator este adecvat pentru mai multe stadii avansate de degenerare, care se caracterizează prin degradarea structurii nucleului pulpos și a inelului fibros [182, 186, 209].

Injectarea factorilor de creștere asupra proteinelor țesutului osos cu (BMP-7), β (TGF β) duce la transformarea țesutului cu efect metaplastic, diferențierea celulelor cu (GDF-5) ș.a. Toate sunt studiate pe scară largă, stimulând producția de matrice extracelulară și proliferarea celulelor [235]. Efectele factorilor anabolici injectați direct în disc sunt limitate, din cauza perioadei scurte de înjumătățire și difuziei rapide a lor.

Identificarea factorului de creștere TGF β 3 are un efect precursor asupra celulelor inelului fibros. În timpul morfogenezei, el participă activ la restaurarea arhitecturii și funcției inelului fibros degenerat. În discurile intervertebrale la șobolani s-a constatat că TGF β 3 menține viabilitatea celulară și îmbunătățește matricea extracelulară *in vitro* [180, 181]. Afară de aceasta, aplicarea TGF β 3 asupra celulelor adulte ale inelului fibros la bovine, cultivate pe nanofibre polimere, a stimulat producerea matricei extracelulare, cu optimizarea proprietăților mecanice *in vitro* [299]. Aceste nanofibre au o structură laminară și, spre deosebire de cele native (fibrele colagene), sunt împachetate în lanțuri macromoleculare, în formă de spirală și cu efect amortizator, iar într-un segment intervertebral induce flexia și torsiunea [184, 215].

Terapia genică

Terapia genică este o metodă ce reduce alterarea informației genetice celulare și se aplică în tratamentul leziunilor prin transfer genetic al codurilor factorilor specifici de creștere în celulele diferențiate sau în cele progenitoare. Pentru expresia genică, ADN-ul transferat trebuie să ajungă la nucleu, unde poate fi transcris [22]. După aceasta, ARN-ul generat este transportat în afara nucleului, servind ca matrice pentru producerea, în ribozomi, a proteinelor, cum ar fi factorii de creștere. Pentru livrarea materialului genetic în celule pot fi utilizați vectori virali și non-virali. Sistemele de livrare non-virale includ iposomi, ADN dezgolit și liganzi ADN, care sunt mai ușor de produs, deoarece posedă o toxicitate și imunogenitate mai mici, însă eficiența de livrare a lor este umbrită de rata scăzută a reușitei [176].

În terapia genică, un interes deosebit îl are gena responsabilă pentru producerea unor factori de creștere sau inhibarea interleukinei-1 din celula țintă, care produc proteine specifice discului [250]. Aceste experimente au fost făcute pe iepuri. Rezultatele au indicat o creștere a celulelor β de aproape șase ori [31]. Cu toate acestea, tratamentul expus este departe de utilizarea clinică, deoarece, în afară de problemele tehnice de livrare a genelor în celulele discului uman, diferă și densitatea celulară din discuri, la oameni fiind scăzută, iar multe dintre ele sunt

degenerate, supuse apoptozei [83]. Stimularea celulelor rămase poate fi insuficientă pentru a repara matricea rămasă.

Implantarea celulelor-stem sau în combinație cu terapia genică este o abordare care poate depăși numărul mic de celule degenerate în discul intervertebral. Aici, celulele degenerate sunt completate prin regenerarea cu celule noi. Această tehnică a fost folosită cu succes pentru cartilajul articular [4, 117] și încercată, mai puțin cu succes în discurile de origine animală [156]. În unele situații, când în discurile degenerate irigarea cu sânge este compromisă [6], nu sunt favorabile pentru supraviețuirea unor celule implantate. Deaceia, transferul de celule autologe a fost utilizat clinic la un număr mic de pacienți [30].

Pe modelele de animale, degenerarea discului intervertebral a fost diminuată sau chiar tratată [235]. Însă, această metodă se utilizează cu greu în clinică, deoarece este un proces de lungă durată, cu caracter progresiv [168]. Alternativ, celulele discului pot fi manipulate prin terapie genică, care implică introducerea genelor prin intermediul vectorilor virali mediați [189].

Ingineria tisulară

Ingineria tisulară are un efect deosebit în repararea discului, deși există mai multe metode non-biologice, care, cu timpul, vor fi aplicate în tratament [52, 55, 56, 57]. Celulele generate din țesuturi își păstrează capacitatea de remodelare și de creștere. Paradigma dominantă a ingineriei tisulare este faptul că celulele pe un substrat biomaterial sau schelă pot induce formarea unui țesut nou, stimulat (biologic sau fizic) corespunzător. S-a demonstrat că hidrogelurile, cum ar fi alginatul, gelurile de colagen pe bază de hialuronan, sprijină supraviețuirea celulelor nucleului pulpos matur și favorizează formarea matricei extracelulare [182]. Ingineria țesuturilor nucleului pulpos și inelului fibros a pus un accent deosebit, de-a lungul anilor, pe creșterea discurilor compozite (in vitro), inclusiv aplicarea acestor tehnologii pe modele de animale mari (bovine) pentru studii clinice, respectând cerințele nutriționale (in vivo) [154, 209, 212].

Un rol deosebit îi revine implementării experimentale și practice a matricei osoase demineralizate, luându-se în considerație faptul că matricea osoasă este unul dintre puținele alotransplanturi biologice cu capacități osteoinductive [174]. Prin amplasarea matricei osoase demineralizate în cavitatea peritoneală servind o cameră de difuziune s-a arătat că matricea provoacă nu doar osteogeneza, ci și hematopoieza (în țesutul nou-format apar insulițe hematopoietice) [292].

Tulburările asociate cu degenerarea discului intervertebral impun o povară economică similară cu cea a bolilor coronariene și a altor boli – diabetul zaharat, boala Alzheimer,

afecțiunile renale [115, 30]. Noile tehnologii în diagnosticul imagistic, dezvoltarea biologiei celulare și genetice permit a înțelege mai bine etiologia, diagnosticul și a alege un tratament mai eficient. Cu toate acestea, discul intervertebral este puțin studiat, în comparație cu alte sisteme de organe.

În Republica Moldova, tratamentul discurilor degenerate are viitor. În 2011 și-a luat activitatea Banca de Țesuturi Umane, care dispune de multiple grefe alogene de os cortical, ligamente alogene, alonervi, iar acum se fac pregătiri pentru transplantarea alocorneei. Transplantul de os cortical a fost folosit în scop științific în substituirea defectelor postoperatorii ale discurilor. Prin urmare, posibilitatea de a-l implementa și în practică.

În viitorul apropiat va fi pregătit transplantul de celule-stem (mezenchimale, adipoase etc.) care va fi implementat mai întâi în scop științific, apoi practic [174, 175, 176] în tratamentul schimbărilor degenerative ce au loc în discul intervertebral lombar.

Unele aspecte epidemiologice: la vârsta de 60 de ani, incidența durerilor lombare poate fi de 80%; lombalgia este a doua cauză, după răceală, care determină prezentarea la medic [15, 16, 17]. Prevalența durerii cronice la populația generală este de 10-20%, 1-2% primesc tratament în spital [18, 43, 257]. 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% [15, 18, 40, 123, 124, 257].

Tulburările degenerative în discul intervertebral impun o povară economică similară cu cea a bolilor coronariene, diabetului zaharat, bolii Alzheimer și patologiilor renale [153, 154]. 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 [153].

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 vertebrale 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 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 degenerescență a discului intervertebral, au fost descoperite la 45 ($51,72 \pm 5,36$ %) pacienți: degenerescență mixoidă și calcificări intradiscale; cartilaj discal hialinizat cu zone de calcificare intradiscală 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.

Studiul histologic al segmentului intervertebral lombar a inclus 87 de discuri intervertebrale obținute postoperator de la bolnavii operați în secția de vertebrologie a IMSP SCTO în ianuarie 2008 – decembrie 2009. La 10 ($11,49 \pm 2,42$ %) pacienți s-au determinat forme incipiente de degenerescență a discului intervertebral, cu aspect de degenerescență mixoidă, central –condroblaste cu condrocite; la 32 ($36,78 \pm 3,67$ %) pacienți în forme medii de degenerescență a discului intervertebral, s-au depistat: țesut discal fibrozat, cu zone de edem interfibrilar; țesut cartilagininos discal cu condrocite în condroblaste, aspect papilar și zone hemoragice, zone de hialinizare. La 45 ($51,72 \pm 5,36$ %) de pacienți, după 61 ani, în formele avansate de degenerescență a discului intervertebral s-au determinat: cartilaj discal hialinizat, calcificări intradiscale sau zone de osificare, infiltrat limfocitar. Nucleul pulpos, inelul fibros, lamelele terminale, ligamentele longitudinale anterioare și posterioare, ligamentul flav au fost examinate histologic.

În dereglările de circulație în discul intervertebral este studiată structura arterelor lombare și a discurilor intervertebrale, prin investigație histopatologică, colorare cu hematoxelin-eozină (efectuat în Republica Moldova), colorare cu orceină, impregnare argentică și imunohistochimie cu anticorpi MCT (mastocyte cell tryptase), CD₆₈ (identificarea macrofagelor) și CD₃₄ (determină starea intimei vasculare și celulelelor-stem) (efectuat în Centru Cercetării în Angiogeneză din Timișoara, România), pe un eșantion de 20 cazuri a arterele lombare aL₁ până la aL₅ (100 artere lombare) și discul intervertebral dL₁ – L₅ la acest nivel.

În arterele lombare aL₁, imunohistochimic, prevalează intensitate intens pozitivă (+++) – 3 cazuri ($15 \pm 7,98$ %), intensitate moderată (++) – 16 cazuri ($80 \pm 8,94$ %), intensitate slab pozitivă (+) – 1 caz ($5 \pm 4,9$ %), în discul intervertebral lombar dL₁, histologic colorat cu hematoxelin-eozină la toate cazurile din lotul de studiu, s-au vizualizat: lipsa modificărilor

degenerativ-distrofic – 1 caz ($5 \pm 4.9\%$), modificări incipiente 14 cazuri ($70 \pm 10.25\%$) și dereglări morfologice moderate – 5 cazuri ($25 \pm 9.7\%$). Indicele de corelare Pearson, $r = 0,54$, se interpretează ca medie.

În arterele lombare aL₂, imunohistochimic, s-au vizualizat: endoteliu vascular cu o reacție intens pozitivă (+++) – 4 cazuri ($20 \pm 8.94\%$), intensitate moderată (++) – 10 cazuri ($50 \pm 11.2\%$), colorate inens slab (+) – 6 cazuri ($30 \pm 10.3\%$), în discurile vertebrale la acest nivel: lipsă modificărilor – 1 caz ($5 \pm 4.9\%$), degenerare incipientă – 11 cazuri ($55 \pm 11.12\%$) și moderate – 8 cazuri ($40 \pm 10.95\%$). Indicele de corelare Pearson, $r = 0,32$, este interpretat ca moderat, mediu sau asociere moderată.

Arterele lombare aL₃, imunohistochimic, sunt colorate în: intens pozitiv (+++) – 2 cazuri ($10 \pm 6.71\%$), intensitate moderată (++) – 4 cazuri ($20 \pm 8.94\%$) și intensitate slabă (+) – 14 cazuri ($70 \pm 10.25\%$). Discurile la acest nivel suportă următoarele modificări: lipsa schimbărilor degenerative – la 1 caz ($5 \pm 4.9\%$), degenerescențe incipiente – 3 cazuri ($15 \pm 7.98\%$), moderate – 15 cazuri ($75 \pm 9.68\%$) și modificări degenerative severe – 1 caz ($5 \pm 4.9\%$). Indicele de corelare Pearson, $r = 0,84$, este interpretat ca foarte mare, foarte ridicat sau asociere foarte puternică.

Examenul imunohistochimic al arterelor lombare aL₄ determină următoarele rezultate: reacție de intensitate moderată (++) – 4 cazuri ($20 \pm 8.94\%$), colorate intens slab (+) – 13 cazuri ($65 \pm 10.67\%$) și intensitate foarte redusă (+/-) – 3 cazuri ($15 \pm 7.98\%$). 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 aL₅, 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 dL₅ 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 aL_4 , 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 vertebrale 2, în 4 cazuri ($20 \pm 8.94\%$, $p > 0.05$) dar sumarul intensității colorării prevalează la aL_1 fiind mai puțin afectate; cel mai afectat este discul intervertebral dL_4 – modificări severe fiind în 8 cazuri ($40 \pm 10.95\%$), iar mai puțin afectat discul dL_1 – avînd modificări incipiente în 14 cazuri ($70 \pm 10.25\%$).

Din cele relatate reiese că ordinea consecutivității afectării este următoarea:

- arterele lombare $aL_4 > aL_5 > aL_3 > aL_2 > aL_1$; cele mai afectate artere sunt arterele lombare L_4 , iar mai puțin afectate - arterele lombare L_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 .

Imunohistochimia cu anicorpi 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 CD_{68} , 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 CD_{34} pune în evidență: – intensivitate foarte redusă (+/-), 5 ($5 \pm 2.2\%$) artere lombare; histologic, la nivelul discului intervertebral se observă forme severe de degenerescență (15 discuri ($15 \pm 3.6\%$)) cu cartilaj discal hialinizat, calcificări intradiscuale sau zone de osificare, infiltrat limfocitar;

În grupa II – intima arterelor lombare intens slabă (+) în 48 (48 ± 4.99) artere lombare, avînd formele medii de degenerescență a discului intervertebral (51 discuri ($51 \pm 4.99\%$)), se evidențiază: țesut discal fibrozat, cu zone de edem interfibrilar; țesut cartilaginios 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 ($39 \pm 4.88\%$) artere lombare; histologic, sunt evidențiate schimbările incipiente de degenerescență a discului intervertebral (30 discuri ($30 \pm 4.6\%$)) au aspecte de degenerescență mixoidă, în centru – condroblaste cu condrocite.

În grupa IV – endoteliul intimei colorat intens pozitiv (+++) în 8 ($8 \pm 2.71\%$) artere

lombare; histologic – lipsa modificărilor în 4 discuri ($4\pm 1,96\%$), 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 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 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 cartilaginos discal cu condrocite în condroblaste de aspect papilar și zone hemoragice condroblaste cu condrocite asociate în zona de degenerescență mixoidă. Formele avansate de degenerescență a discului intervertebral, au fost descoperite la 45 pacienți ($51,72 \pm 5,36\%$) degenerescență mixoidă, cartilaj discal hialinizat cu zone de calcificare intradiscală, țesut cartilaginos cu zone de fibroză și infiltrat inflamator cronic.

3. Rezultatele obținute pe parcursul cercetării arată că de dureri discogene suferă persoanele cu vîrsta de după 50 ani, preponderent femeile ($99; 56,07 \pm 5,24\%$), $p > 0,05$ cu o medie de vîrstă de 45,3 ani, vîrsta medie în lotul I = $50,7 \pm 1,22$ ani, în lotul II = $40,1 \pm 1,41$ ani ($p < 0,001$) care suferă de hernie discală la nivelul regiunii lombare, segmentul dL₄ – 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 dL₄ -

modificări severe fiind în 8 cazuri ($40 \pm 10.95\%$) iar mai puțin afectat discul dL_1 – avînd modificări incipiente în 14 cazuri ($70 \pm 10.25\%$). Valoarea medie a indicelui de corelare Pearson este $r = 0,54$, fiind interpretată ca 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 CD_{68} , 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. Aguiar D. J., Johnson S. L., Oegemat T. R. Notochordal cells interact with nucleus pulposus cells: regulation of proteoglycan synthesis. *Exp Cell Res* 1999 Jan 10; 246(1):129-137.
2. Ala-Kokko L. Genetic risk factors for lumbar disc disease. *Ann.Med.* 2002;34(1):47-7.
3. Adams D.S., Keller R., Koehl M.A. The mechanics of notochord elongation, straightening and stiffening in the embryo of *Xenopus laevis* *Development.* 1990;110, p 115-130.
4. Alini M., Roughley P.J., Antoniou J., Stoll T., Aebi M. O abordare biologică a degenerarea discului tratata: nu pentru ziua de azi, dar poate pentru mâine. *Euro coloanei vertebrale J.* 2002;11(Supl 2): p S215-S220.
5. Alini M., Eisenstein S.M., Ito K., Little C., Kettler A.A., Masuda K., Melrose J., Ralphs J., Stokes I., Wilke H.J.. Are animal models useful for studying human disc disorders/degeneration. *Eur. Spine J.* 2008, 17, p 2-19.
6. Anderson D.G., Izzo M.W., Hall D.J., et al. Comparative gene expression profiling of normal and degenerative discs: analysis of a rabbit annular laceration model. *Spine.* 2002. Vol. 27. P. 1291-1296.
7. Andronescu A. Anatomia dezvoltării omului. Embriologie medicală. Editura Medicală, București. 1987, pag. 180-196.
8. Annunen S., Paassilta P., Lohiniva J., Peral M., Pihlajamaa T., Karppinen J., Tervonen A., Kroger H., Lahde S., Vanharanta H., Ryhanen L., Goring H.H., Ott J., Prockop D.J., Ala-Kokko L. A allele COL9A2 associated with intervertebral disc disease. *Science.* 1999, 285: p 409-412.
9. Antoniou J., Steffen T., Nelson F. The Human lumbar intervertebral disc: Evidences for changes in biosyntheses and denaturation oof the extracelular matrix with growth, maturation, ageing and degeneration. *Jclini Invest.* 1996;98:996-1003.
10. Antoniou J., Goudsouzian B.S.C., Steffen T. The human lumbar Endplate Evidence of changes in biosynthesis and denaturation of the extracellular matrix with growth, maturation, aging and degeneration. *Spine.* 1996;21:1153-61.
11. Antoniou J., Steffen T., Nelson F., Winterbottom N., Hollander A.P., Poole RA, Aebi M., Alini M. The human lumbar intervertebral disc: evidence for changes in the biosynthesis and denaturation of the extracellular matrix with growth, maturation, ageing, and degeneration. *J Clin Invest.* 1996;98: p 996-1003.

12. Aszodi A., Chan D., Hunziker E., Bateman J.F., Fassler R. Collagen II is essential for the removal of the notochord and the formation of intervertebral discs. *J. Cell Biol.* 1998;143, p 1399-1412.
13. Baker D., Pynsent P., Fairbank J. The Oswestry Disability Index revisited. In: Roland M, Jenner J, eds. *Back pain: New Approaches to Rehabilitation and Education*. Manchester: Manchester University Press, 1989:174-186
14. Balague F., Mannion A.F., Pellisé F., Cedraschi C. Nonspecific low back pain. *Lancet.* 2012 : 379 (9814): 482-491.
15. Battie M.C., Videman T., Parent E. Lumbar Disc Degeneration: Epidemiology and Genetic Influences. *Spine.* 2004; 29:2679-2690.
16. 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.
17. Battie M.C., Videman T. Lumbar disc degeneration: epidemiology and genetics. *J. Bone Joint Surg Am.* 2006;88(Suppl 2):3-9.
18. 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.
19. Battie M.C., Haynie D.R., Fisher L.D., Gill K., Gibbons L.E., Videman T. Similarities in degenerative findings on magnetic resonance images of the lumbar spines of identical twins. *J Bone Joint Medi Am.* 1995, 77: p 1662-1670.
20. Bekhterev V.M.: *Obshchaya Diagnostika Boleznei Nervnoi Sistemy*. Chast 1-2. Sankt-Peterburg. 1913, c.332 .
21. Berlemann U., Gries N.C., Moore R.J., Fraser R.D., Vernon-Roberts B. Calcium pyrophosphate dihydrate deposition in degenerate lumbar discs. *Eur. Spine. J.* 1998; 7(1): 45-49.
22. Bernardo M.E. și alții. Human bone marrow derived mesenchymal stem cells do not undergo transformation after long-term in vitro culture and do not exhibit telomere maintenance mechanisms, *Cancer Res* (2007), 67, p. 9142-9149.
23. Bernick S., Walker J.M., Paule W.J. Age changes to the annulus fibrosus in human intervertebral discs. *Spine* 1991;16: 520-524.
24. Bernik S., Cailliet R. Vertebral endplates changes with aging of and human vertebrae. *Spine.* 1983;8:151-61.

25. Buckwalter J.A. Aging and degeneration of the human intervertebral disc. *Spine*. 1995;20: p 1307-1314.
26. Boos N., Weissbach S., Rohrbach H., Weiler C., Spratt K.F., Nerlich A.G. Spine Classification of age-related changes in lumbar intervertebral discs: 2002 Volvo Award in basic science. Source Orthopaedic University Hospital Balgrist, Zürich, Switzerland. *Spine*. 2002; 27(23):2631-2644.
27. Borenstein DG. – Epidemiology, etiology, diagnostic evaluation, and treatment of low back pain. *Curr Opin Rheumatol* 1997;9:144-50.
28. Bostman O.M. Body mass index and height in patients requiring surgery for lumbar intervertebral disc herniation. *Spine*. 1993; 18:851-854.
29. Boutin P., Hogshead H. Surgical pathology of the intervertebral disc. Is routine examination necessary? *Spine* 1992, 17:1236-1238.
30. Bowles R.D., Williams R.M., Zipfel W.R., Bonassar L.J.. Self-assembly of aligned tissue-engineered annulus fibrosus and intervertebral disc composite via collagen gel contraction. *Tissue Eng. Part A*. 2010;16, p 1339-1348.
31. Brittberg M. Autolog condrocitelor transplant. *Clin Orthop*. 1999;367 (Supl): p S147-S155.
32. Brock M., Patt S., Mayer H.M. The form and structure of the extruded disc. *Spine* 1992, 17:1457-1461.
33. Bruske-Hohlfeld I., Merritt J.L., Onofrio B.M. Incidence of lumbar disk surgery: a population-based study in Olmsted County, Minesota, 1950-1979. *Spine* 1990;15:31-35
34. Buckwalter J.A. Aging and degeneration of the human intervertebral disc. *Spine*. 1995;20, p 1307-1314.
35. Carreon L.Y., Ito T., Yamada M., Uchiyama S., Takahashi H.E. Neovascularization induced by anulus and its inhibition by cartilage endplate. Its role in disc absorption. *Spine* 1997, 22:1429-1434.
36. Cassidy J.D., Yong-Hing K., Kirkaldy-Willis W.H., et al. A study of the effects of bipedism and upright posture on the lumbosacral spine and paravertebral muscles of the Wistar rat. *Spine*. 1988. Vol. 13. P. 301-308.
37. Castro W.H. et al. Changes in the lumbar intervertebral disk following use of the Holmium:YAG laser a biomechanical study. *Zeitschrift fur Orthopädie und Ihre Grenzgebiete* .1993 . vol.131. N6 . P.610-614.
38. Caspar W. A new surgical procedure for lumbar disk herniation causing less tissue damage through microsurgical approach. *Adv Neurosurg* 1977;4

39. Caspar W., Campbell B., Barbier D.D., Kretschmmer R., Gotfried Y. The Caspar microsurgical disectomy and comparison with a conventional standard lumbar disk procedure. *Neurosurgery* 1991;28:78-87
40. Chan D., Song Y., Sham P., Cheung K.M. Genetics of disc degeneration. *Eur Spine J* 2006, 15(Suppl 3):S317-25.
41. Chen J., Yan W., Setton L.A. Molecular phenotypes of notochordal cells purified from immature nucleus pulposus. *J. Eur. Spine* 2006;15, S303-S311.
42. Ching C.T., Chow D.H., Yao F.Y., et al. Changes in nuclear composition following cyclic compression of the intervertebral disc in an in vivo rat-tail model. *Med. Eng. Phys.* 2004. Vol. 26. P. 587-594.
43. Chiu J. et al. Lower-Energy Non-Ablative Holmium Laser Thermodiskoplasty for Intervertebral Disk Shrinkage with a Tightening Effect. *Holmium Laser Spinal Endoscopy Workshop: book of abst. San Diego, 1997, P.22.*
44. Choi K.S., Cohn M.J., Harfe B.D. Identification of nucleus pulposus precursor cells and notochordal remnants in the mouse: implications for disk degeneration and chordoma formation. *Dev. Dyn.* 2008;237, p 3953-3958.
45. Choy D.S. Familial incidence of intervertebral disc herniation: an hypothesis suggesting that laminectomy and disectomy may be counterproductive. *J Clin Laser Med Surg.* 2000. N1. P.29-32.
46. Cociug A., Munteanu A., Zota Ie., Caproș N., Reniță V., Borovic E. Dinamica schimbărilor peretelui vascular în discul intervertebral lombar în osteocondroză. Rezultate și perspective. *Buletinul AȘM. Științe Medicale.* 3(39); 2013, p.213-218.
47. Cociug A., Munteanu A., Zota Ie. Al X-lea Congres Național de Morfopatologie Microscopică cu Participare Internațională. Aspectele dereglărilor circulatorii a discului intervertebral lombar în osteocondroză. Volum de rezumate. Societatea Română de Mofologie. Timișoara, România, 24-26 mai 2012, p 91–92.
48. Cociug A., Zota Ie., Munteanu A. Dereglările circulatorii în discul intervertebral lombar în osteocondroză. *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină.* 3(42);2012, p. 120-124.
49. Cociug A. 4th International Medical Congres for Students and Young Doctors. Some clinical morphopatological aspects of lumbar intervertebral formations. Abstract book. May 17-19, 2012. Chisinau, Republic of Moldova, p.18.
50. Cociug A., Zota Ie., Baciuc I., Marin I., Caproș N. Aspectele clinic-morfologice ale formațiunilor intervertebrale lombare. *Arta Medica.* 4(47); 2011, p.18-21.

51. Cociug A., Baciuc I., Zota Ie., Caproș N. Particularitățile morfologice ale țesuturilor intervertebrale în regiunea lombară la pacienții afectați de osteocondroză. *Arta Medica*. 4(43);2010, p.6-10.
52. Cociug A., Zota Ie., Caproș N., Macagonova O., Nacu V., Marin I. 2 nd International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering Geman-Moldovian Workshop on Novel Nanomaterials for Electronic, Photonic and Biomedical Applications. The Dynamics of the Vascular Wall Changes Evolution in the Lumbar Intervertebral Disc. Insights. Proceedings. April 18-20, 2013; p.532-536.
53. Cociug A., Zota Ie., Caproș N., Macagonova O., Nacu V. The XIX-th session of the balcan medical days and the second congress of emergency medicine of the Republic of Moldova. The Concordances between MRI and histology evolution of the lumbar intervertebral disc degenerative changes. *Arhives of the Balcan Medical Union*. 3(48); 2013, p. 44.
54. Cociug A. Congruența imagistică RMN corelativ cu histologia în diagnosticul leziunelor degenerative a discurilor intervertebrale lombare. *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină*. 4(42);2013, p. 120-124.
55. Cociug A. The XVIth Craiova International Medical Students Conference. The neovascularization of degenerative-dystrophic discs in osteochonrosis. *Abstracts journal*. Craiova, România. 6-9 noiembrie 2014, p 123.
56. Cociug A., Munteanu A., Zota Ie. Al XII-lea simpozion național de morfologie microscopică cu participare internațională. Evaluarea imagistică RMN, imunohistochimie cu CD 34 ale arterelor vertebrale în degenerescenta discurilor intervertebrale lombare. Volum de rezumate. *Societatea Română de Mofologie*. Craiova, România, 28-31 mai 2014, p 37-39.
57. Cociug A., Nacu V., Caproș N., Macagonova O. Neovascularizarea în discurile degenerative-distrofice și semnificația ei. *Buletinul AȘM. Științe Medicale*. 2(43); 2014, p.90-94.
58. Cooper D., Feuer H. Lumbar microdisectomy. *J Indiana State Med Assoc* 1981;74:674-675
59. Coppes M.H., Mixter W.J., Barr J.S., Marani E., Thomeer R.T., Groen G.J. - Innervation of "painful" lumbar discs. *Spine* 1997 Oct 15; 22(20):2342–9;discussion 2349
60. Dancescu M., Wu C., Rubio M., Delespesse G., Sarfati M. IL-4 induces conformational change of CD 20 antigen via a protein kinase C-independent pathway. Antagonistic effect of anti-CD40 monoclonal antibody. *J Immunol* 1992 Apr 15;148(8):2411-6.
61. Dandy W.E. Loose cartilage from intervertebral disk simulating tumor of the spinal cord. *Arch Surg*. 1929;19(4):660-672.

62. Daftari T.K., Levine J., Fischgrund J.S., Herkowitz H.N. Is pathology examination of disc specimens necessary after routine anterior cervical discectomy and fusion? *Spine*. 1996; 21:2156-2159.
63. Deyo R.A., Bass J.E. Lifestyle and low-back pain: the influence of smoking and obesity. *Spine*. 1989, 14: p 501-506.
64. Doita M., Kanatani T., Harada T., et al. Immunohistologic study of the ruptured intervertebral disc of the lumbar spine. *Spine*. 1996;21:235-241.
65. Donohue P.J., Jahnke M.R., Blaha J.D., Caterson B. Characterization of link protein(s) from human intervertebral-disc tissues. *Biochem J*. 1988;251: p 739-747.
66. Dougados M. – La Mesure. Methodes d'evaluation des affections rhumatismales. Paris Expansion Scientifique Publications, 1997;15:233-235.
67. Eckert C., Decker A. Pathological studies of intervertebral discs. *J Bone Joint Surg Am*. 1947, 29:447-454.
68. Elfering O., Semmer N., Birkhofer D., Zanetti M., Holder J., Boos N. Risk factors for lumbar disc degeneration: 5-year prospective MRI study in asymptomatic individuals. *Spine*. 2002, 27: p 125-134.
69. Eyre D.R., Muir H. Quantitative analysis of types I and II collagens in the human intervertebral disc at various ages. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1977;492: p 29-42.
70. Eyre D.R., Wu J.J., Fernandes R.J., Pietka T.A., Weis M.A. Recent developments in cartilage research: matrix biology of the collagen II/IX/XI heterofibril network. *Biochem Soc Trans*. 2001;30: p 893–899.
71. Fairbank JCT, Couper J, Davies JB, O'Brien JP – The Oswestry low back pain disability questionnaire. *Physiotherapy*, 1980; 66:271-273.
72. Fleming A., Keynes R.J., Tannahill D. The role of the notochord in vertebral column formation. *J. Anat*. 2001;199, p 177-180.
73. Freemont A.J. et al. Nerve ingrowth into diseased intervertebral disc in chronic back pain. *Lancet*. 1997, N350, P.178-81.
74. Fritzell P., Hägg O., WESSBERG P., Nordwall A. 2001 Volvo award winner in clinical studies: lumbar fusion versus nonsurgical treatment for chronic low back pain: a multicentre randomized controlled from the Swedish Lumbar Spine Study Group. *Spine*. 2001, 26:p 2521-2532.
75. Frymoyer J.W., Cats-Baril WL. An overview of the incidences and costs of low back pain. *Orthop Clin North Am* 1991;22:263-271

76. Gevargez A., Groenemeyer D.W., Czerwinski F. et al. CT– guided percutaneous laser disc decompression with Ceralas D, a diode laser with 980-nm wavelength and 200-microm fiber optics. *Eur Radiol.* 2000. vol.10. N 8, P.1239-1241.
77. Gibson J.N., Grant I.C., Waddell G. Surgery for lumbar disc prolapse. *Cochrane database syst rev* 2000. P 13.
78. Gill G.G., Manneng F.G., While H.L.: Surgical treatment of spondylolisthesis without spine fusion. *J Bone Joint Surg Am.* 1955;37:493-520.
79. Goal H.J. Microlumbar disectomy: follow up of 147 patients. *Spine* 1978;3:183-185
80. Gronblad M., Virri J., Tolonen J., et al. A controlled immunohistochemical study of inflammatory cells in disc herniation tissue. *Spine.* 1994; 19:2744-2751.
81. Gronblad M., Virri J., Ronkko S., et al. A controlled biochemical and immunohistochemical study of human synovial-type (Group II) phospholipase A2 and inflammatory cells in macroscopically normal, degenerated, and herniated human lumbar disc tissues. *Spine.* 1996; 21:2531-2538.
82. Gruber E.S., Johnson T.L., Leslie K., Ingram J.A., Martin D., Hoelscher G., Băncilor D., Phieffer L., Coldham G., Hanley R.O. jr. Implantare de celule autologe intervertebrale disc: un model utilizând obesus *Psammomys*, șobolan nisip. *Coloanei vertebrale.* 2002; 27: p 1626-1633.
83. Gruber H., Hanley E. Analysis of Aging and Degeneration of human intervertebral disc - Comparison of surgical specimens with normal controls. *Spine.* 1998;23:751-757.
84. Guehring T., Nerlich A., Kroeber M., Richter W., Omlor G.W. Sensitivity of notochordal disc cells to mechanical loading: an experimental animal study. *J. Eur. Spine.* 2010;19, p 113-121.
85. Guehring T., Wilde G., Sumner M., Grunhagen T., Karney G.B., Tirlapur U.K., Urban J.P. Notochordal intervertebral disc cells: sensitivity to nutrient deprivation. *Arthritis Rheum.* 2009;60, p 1026-1034.
86. Habtemariam A., Gronblad M., Virri J., et al. A comparative immunohistochemical study of inflammatory cells in acute-stage and chronic-stage disc herniations. *Spine.* 1998; 23:2159-2166.
87. Hajek P.C., Baker L.L., Goobar J.E., Sartoris D.J., Hesselink J.R., Haghighi P., Resnick D. - Focal fat deposition in axial bone marrow: MR characteristics. *Radiology* 1987;162:245-249.
88. Halbert I. et al. – *Proc. Natl. Acad Sci., USA*, 1996;93: 9748.

89. Hall R.A., Kang J.D., Kang J.D. Degeneration, disc repair and regeneration. *Opinion Rheum currency*. 2000, 11: p 413-420.
90. Harada Y., Nakahara S. A pathologic study of lumbar disc herniation in the elderly. *Spine*. 1989, 14:1020-1024.
91. Hassett G., Hart D.J., Manek N.J., Doyle D.V., Spector T.D. Risk factors for progression of lumbar spine disc degeneration: the Chingford Study. *Arthritis Rheum*. 2003; 48:3112-3117.
92. Hasegawa T., An H.S., Inufusa A., et al. The effect of age on inflammatory responses and nerve root injuries after lumbar disc herniation: an experimental study in a canine model. *Spine*. 2000; 25: 937-940.
93. Hayes A.J., Benjamin M., Ralphs J.R. Role of actin stress fibres in the development of the intervertebral disc: cytoskeletal control of extracellular matrix assembly. *Dev. Dyn*. 1999;215, p 179-189.
94. Heliovaara M. Body height, obesity, and risk of herniated lumbar intervertebral disc. *Spine* 1987, 12:469-472.
95. Heliovaara M., Makela M., Knekt P., Impivaara O., Aromaa A. Determinants of sciatica and low-back pain. *Spine*. 1991; 16:608-614.
96. Herbert C.M., Lindberg K.A., Jaysonivi. I., Bailey A.J. – Proceedings: Intervertebral disc collagen in degenerative disc disease. *Ann Rheum Dis*. 1975 Oct; 34(5):467-468.
97. Hir. Pozvonoc. The paper reviews the literature on experimental models of intervertebral disc degenerative-dystrophic diseases. Basic principles of biological modeling of disc pathology are presented. 2007;(4):41-46.
98. Hollander A.P., Heathfield T.F., Liu J.J., Pidoux I., Roughley P.J., Mort J.S., Poole A.R. Enhanced denaturation of the alpha (II) chains of type-II collagen in normal adult human intervertebral discs compared with femoral articular cartilage. *J Orthop Res*. 1996; 14: p 61-66.
99. Holm S., Maroudas A., Urban J.P., Selstam G., Wachemson A. Nachemson A. Nutrition of the intervertebral disc: solute transport and metabolism. Nutrition of the intervertebral disk. An in vivo study of solute transport. *Clin. Orthop.*, 1977,(129): p 101-114.
100. Holm S., Nachemson A. Variation in the nutrition of the canine intervertebral disc induced by motion. *Spine*. 1983;8:866-874.
101. Holm S., Nachemson A. Nutritional changes in the canine intervertebral disc after spinal fusion. *Clin Orthop*. 1982;169:243-258.

- 102.Horner H.A., Urban J.P. Volvo Award Winner in Basic Science Studies: effect of nutrient supply on the viability of cells from the nucleus pulposus of the intervertebral disc. *Spine*. 2001;26:2543-2549.
- 103.Hotamisligil G.S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006; 444:860-867.
- 104.Hotamisligil G.S., Arner P., Caro J.F., Atkinson R.L., Spiegelman B.M. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-[alpha] in human obesity and insulin resistance. *J. Clin Invest*. 1995, 95:2409-2415.
- 105.Hoy L. et al. European Health Interview Survey (EHIS) consists of four modules on health status, health care use, health determinants and socio-economic. 2010, p 31-32
- 106.Huang A.H., Farrell M.J., Kim M., Mauck R.L. Long-term dynamic loading improves the mechanical properties of chondrogenic mesenchymal stem cell-laden hydrogel. *Eur. Cell Mater*. 2010;19, p 72-85.
- 107.Hudgins R.W. The role of microdisectomy follow up of 477 patients. *Orthop Clin* 1980;2:95-100
- 108.Hunter C.J., Matyas J.R., Duncan N.A. The notochordal cell in the nucleus pulposus: a review in the context of tissue engineering. *Tissue Eng*. 2003(a); 9, p 667-677.
- 109.Hunter C.J., Matyas J.R., Duncan N.A. The three-dimensional architecture of the notochordal nucleus pulposus: novel observations on cell structures in the canine intervertebral disc. *J. Anat*. 2003(b); 202, p 279-291.
- 110.Hunter C.J., Matyas J.R., Duncan N.A. Cytomorphology of notochordal and chondrocytic cells from the nucleus pulposus: a species comparison. *J. Anat*. 2004;205, p 357-362.
- 111.Hutton W.C., Cynon B.M. Spondylolysis. The role of the posterior elements in resisting the intervertebral compressive force. *Acta Orthop Scand*. 1978;49:604-609.
- 112.Ikeda T., Nakamura T., Kikuchi T., et al. Pathomechanism of spontaneous regression of the herniated lumbar disc: histologic and immunohistochemical study. *J Spinal Disord*. 1996;9:136-140.
- 113.Inkinen R.I., Lammi M.J., Lehmonen S., Puustjarvi K., Kaapa E., Tammi M.I. Relative increase of biglycan and decorin and altered chondroitin sulfate epitopes in the degenerating human intervertebral disc. *J Rheumatol*. 1998;25: p 506-514.
- 114.Inoue N. A simple and accurate way of measuring root canal length. *Journal of Endodontics* 11. 1985: p 421-427.
- 115.Inoue H. Three-dimensional architecture of lumbar intervertebral discs. *Spine*. 1981; 6:139-146.

- 116.Ito T., Yamada M., Ikuta F., Fukuda T., Hoshi S.I., Kawaji Y., et al. Histologic evidence of absorption of sequestration-type herniated disc. *Spine* 1996, 21:230-234.
- 117.Ishihara H., Urban J.P. Effects of low oxygen concentrations and metabolic inhibitors on proteoglycan and protein synthesis rates in the intervertebral disc. *J Orthop Res.* 1999;17:829-835.
- 118.Jasani B, Schmid KW. Historical perspective. *Immunocytochemistry in Diagnostic Histopathology*. Edinburgh: Churchill Livingstone;1993; p. 3-9.
- 119.Johnson W.E., Evans H., Menage J., Eisenstein S.M., El Haj A., Roberts S. Immunohistochemical detection of Schwann cells in innervated and vascularized human intervertebral discs. *Spine*. 2001;26:2550-2557.
- 120.Johnstone B., Bayliss M.T. The large proteoglycans of the human intervertebral disc. Changes in their biosynthesis and structure with age, topography, and pathology. *Spine*. 1995;20: p 674-684.
- 121.Jones J.P., Urbaniak J.R. Subchondral osteonecrosis can conceivably cause disk degeneration and 'primary' osteoarthritis. In: Urbaniak JR, Jones JP, editor. *Osteonecrosis*. Park Ridge, Illinois: American Academy of Orthopedic Surgeons; 1997. pp. 135-142.
- 122.Kaapa E., Holm S., Han X., et al. Collagens in the injured porcine intervertebral disc. *J. Orthop. Res.* 1994. Vol. 12. P. 93-102.
- 123.Kalichman L., Hunter D.J. The genetics of intervertebral disc degeneration. Familial predisposition and heritability estimation. *Joint Bone Spine* 2008, 75:383-387.
- 124.Kalichman L., Hunter D.J. The genetics of intervertebral disc degeneration. Associated genes. *Joint Bone Spine* 2008, 75:388-396.
- 125.Kalichman L., Guermazi A., Li L., Hunter D.J. Association between age, sex, BMI and CT-evaluated spinal degeneration features. *J. Back Musculoskelet Rehabil.* 2009; 22:189-195.
- 126.Kahanovitz N., Viola K., Muculloch J. Limited surgical disectomy and microdisectomy: a clinical comarison. *Spine* 1989;14:79-81
- 127.Kandel R., Roberts S., Urban J.P. Tissue engineering and the intervertebral disc: the challenges. *J. Eur. Spine.* 2008;17, p 480-491.
- 128.Kauppila Li. Prevalence of stenotic changes in arteries supplying the lumbar spine. A postmortem angiographic study on 140 subjects. *Ann Rheum Dis.* 1997,(56): p 591-595.
- 129.Kauppila Li. Pain and disc degeneration atherosclerosis / low back - a systematic review
Eur J Vasc Endovasc Surg. 2009; 37(6):661-70.

- 130.Kawaguchi Y., Osada R., Kaname M., Ishihara H., Ohmori K., Matsui H., Kimura T. An association between aggrecan gene polymorphism and lumbar disc degeneration. *Spine*. 1999, 24: p 2456-2460.
- 131.Kelsey J.L., Githens P.B., O'Conner T., et al. Acute prolapsed lumbar intervertebral disk: an epidemiologic study with special reference to driving automobiles and cigarette smoking. *Spine* 1984;9:608-613
- 132.Kelsey J.L., Ostfeld A.M. Demographic characteristics of persons with acute herniated lumbar intervertebral disk. *J Chronic Dis* 1975;28:37-50
- 133.Kern P.A. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J. Clin Invest.* 1995, 95:2111-2119.
- 134.Kim K.Y., Kim Y.T., Lee C.S., Shin M.I. MRI classification of lumbar herniated intervertebral disc. *Ortopedics*. 1992;15: 493-497.
- 135.Kim K.Y., Kim Y.T., Lee C.S., Shin M.L. MRI in the evolution of lumbar herniated intervertebral disc. *Ortopedics*. 1993;17:241-244.
- 136.Kim J.H., Deasy B.M., Seo H.Y., Studer R.K., Vo N.V., Georgescu H.I., Sowa G.A., Kang J.D. Differentiation of intervertebral notochordal cells through live automated cell imaging system in vitro. *Spine*. 2009;34, p 2486-2493.
- 137.Kim J.S., et al. Successful in vivo gene transfer to inter-vertebral discs in a slowly progressive and reproducible animal model of disc degeneration. 50th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society, San Francisco, 2004. Vol. 30. P. 33-37.
- 138.Kim K.S., Yoon S.T., Li J., et al. Disc degeneration in the rabbit: a biochemical and radiological comparison between four disc injury models. *Spine*. 2005.Vol. 30. P. 33-37.
- 139.Kramer J. A new classification of lumbar motion segments for microdiscectomy. *Eur Spine J*. 1995;4: 327-34.
- 140.Kroeber M.W., Unglaub F., Wang H., et al. New in vivo animal model to create intervertebral disc degeneration and to investigate the effects of therapeutic strategies to stimulate disc regeneration. *Spine*.2002. Vol. 27. P. 2684-2690.
- 141.Kuisma M., Karppinen J., Haaapea M., Niinimäki J., Ojala R., Heliovaara M., et al. Are the determinants of vertebral endplate changes and severe disc degeneration in the lumbar spine the same? A magnetic resonance imaging study in middle-aged male workers. *BMC Musculoskelet Disord*. 2008, 9:51.

- 142.Kurunlahti M., Kerttula L., Jauhiainen J., Karppinen J., Tervonen O. Linking diffusion lumbar intervertebral discs lumbar artery occlusion: a study in adult volunteers. *Radiologi*. 2001; 221 (3): 779-86.
- 143.Lang P., Chafetz N., Genant H.K., Morris J.M. – Lumbar spinal fusion assessment offunctional stability with Magnetic Resonance Imaging. *Spine* 1990;15:581-588.
- 144.Leboeuf-Yde C. Body weight and low back pain. A systematic literature review of 56 journal articles reporting on 65 epidemiologic studies. *Spine*. 2000; 25:226-237.
- 145.Le Maitre C.L., Richardson S.M., Baird P., Freemont A.J., Hoyland J.A. Expression of receptors for putative anabolic growth factors in human intervertebral disc: implications for repair and regeneration of the disc. *J. Pathol*. 2005; 207:445-452.
- 146.Le Maitre C.L., Hoyland J.A., Freemont A.J. Catabolic cytokine expression in degenerate and herniated human intervertebral discs: IL-1beta and TNFalpha expression profile. *Arthritis Res Ther*. 2007; 9:R77.
- 147.Leung V.Y., Chan D., Cheung K.M. Regeneration of intervertebral disc by mesenchymal stem cells: potentials, limitations, and future direction. *J. Eur. Spine*. 2006;15, S406-S413.
- 148.Lewis P.J., Weir B.K., Broad R., et al.: Long-term prospective study of lumbar sacral discectomy. *J Neurosurg* 1987;67:49-53
- 149.Lipson S.J., Muir H. Proteoglycans in experimental intervertebral disc degeneration. *Spine*. 1981. Vol. (6): p 6-8.
- 150.Lipson S.J., Muir H. Proteoglycans in experimental intervertebral disc degeneration. *Spine*. 1981. Vol. 6.P. 194-210.
- 151.Liuke M., Solovieva S., Lamminen A., Luoma K., Leino-Arjas P., Luukkonen R., et al. Disc degeneration of the lumbar spine in relation to overweight. *J. Int Obes (Lond)*. 2005; 29:903-908.
- 152.Lyons G., Eisenstein S.M., Sweet M.B. Biochemical changes in intervertebral disc degeneration. *Biochim Biophys Acta*. 1981;673: p 443-453.
- 153.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.
- 154.Maniadakis N., Gray A. The economic burden of back pain in the UK. *Pain*. 2000, 84: p 95-103.
- 155.Matsui H., Kaname M., Ishihara H., Yudoh K., Naruse Y., Tsuji H. family predisposition for lumbar degenerative disc disease. A case-control study. *Spine*. 1998, 23: p 1029-1034.

156. Marchand F., Ahmed A.M. Investigation of the laminate structure of lumbar disc annulus fibrosus. *Spine*. 1990;15:402-410.
157. Maroudas A., Nachemson A., Stockwell R., Urban J. Some factors involved in the nutrition of the intervertebral disc. *J Anat*. 1975;120:113-130.
158. Masuda K. Biological repair of the degenerated intervertebral disc by the injection of growth factors. *J. Eur. Spine*. 2008;17, p 441-451.
159. Masuda K., Aota Y., Muehleman C. et al. A novel rabbit model of mild, reproducible disc degeneration by an annulus needle puncture: correlation between the degree of disc injury and radiological and histological appearances of disc degeneration. *Spine*. 2005. Vol. 30. p 5-14.
160. Mayer T, Gatchel J, Mayer H. A prospective two-year study of functional restoration in industrial low back injury. *JAMA* 1987;258:1763-1767
161. McDowell I., Newell C. – *Measuring Health: a Guide to Rating Scales and Questionnaires*. Oxford University Press, New York, 1996. p 8.
162. Melrose J., Smith S.M., Appleyard R.C., Little C.B. Aggrecan, versican and type VI collagen are components of annular translamellar crossbridges in the intervertebral disc. *J. Eur. Spine* 2008;17, p 314-324.
163. Melrose J., Ghosh P., Taylor T.K. A comparative analysis of the differential spatial and temporal distributions of the large (aggrecan, versican) and small (decorin, biglycan, fibromodulin) proteoglycans of the intervertebral disc. *Anat*. 2001;198: p 3-15
164. Miller J., Schmatz C., Schultz A. Lumbar disc degeneration: Correlation with Age, Sex, and Spine Level in 600 Autopsy Specimens. *Spine*. 1988;13:173-178.
165. Milette P.C. Classification, diagnostic imaging, and imaging characterization of lumbar herniated disk. *Radiol Clin North Am* 2000; 38:1267-92.
166. Miyamoto S., Yonenobu K., Ono K. Experimental cervical spondylosis in the mouse. *Spine*. 1991. Vol. 16. P. S495-S500.
167. Mixter W.J., Barr J.S. Rupture of the intervertebral disk with involvement of the spinal canal. *N Engl J Med* 1934;211:210-215
168. Mizuno H., Roy A.K., Zaporozan V., Vacanti C.A., Ueda M., Bonassar L.J.. Biomechanical and biochemical characterization of composite tissue-engineered intervertebral discs. *Biomaterials*. 2006, 27, p 362-370.
169. Modic M., Masaryk T.J., Ross J.S., et al. Imaging of degenerative disk disease. *Radiology*. 1988;168:177-86.
170. Moore R.J., Vernon-Roberts B., Fraser R.D., Osti O.L., Schembri M. The origin and fate of herniated 176. Mochida J. et al. The importance of preserving disc structure in surgical

approaches to lumbar disc herniation. Spine.1996, vol.21.N 13, P.1556-1563; discussion 1563-1564.

171.Moskowitz R.W., Ziv I., Denko C.W., Boja B., Jones P.K., Adler J.H. Spondylosis in sand rats: a model of intervertebral disc degeneration and hyperostosis. J Orthop Res. 1990; 8:401-411.

172.Moskowitz R.W., Ziv I., Denko C.W. Degeneration lumbar intervertebral disc tissue. Spine. 1996, 21:2149-2155.

173.Murakami H., Yoon S.T., Attallah-Wasif E.S., Tsai K.J., Fei Q., Hutton W.C. The expression of anabolic cytokines in intervertebral discs in age-related degeneration. Spine. 2006; 31:1770–1774.

174.Nacu V. Metodele biologice de stimulare a procesului reparator osos. Curierul medical, Chişinău, 2009, nr. 3 (309), p. 37-45.

175.Nacu V., Topor B., Beţişor V. Stimularea osteogenezei în fracturi neconsolidate la şobolani. Primul congres european de utilizare a factorilor de creştere şi a citochinelor în ortopedie - traumatologie. 30 sept. – 2 oct, 1998, p.14.

176.Nacu V. Optimizarea regenerării oaselor scurte prin transplantarea celulelor osteomedulare autologice. Anale ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu”. Chişinău, 2006, voi. 1, p. 41-45.

177.Nachemson A., Lewin T., Maroudas A., Freeman M.A. In vitro diffusion of dye through the end-plates and the annulus fibrosus of human lumbar inter-vertebral disks. Acta Orthop Scand 1970;41:589-607

178.Nerlich A.G., Bachmeier B.E., Boos N. Expression of fibronectin and TGF-β1 mRNA and protein suggest altered regulation of extracellular matrix in degenerated disc tissue. J. Eur Spine. 2005; 14:17-26.

179.Nerlich A.G., Schaaf R., Walchli B., Boos N. Temporo-spatial distribution of blood vessels in human lumbar intervertebral discs. J. Eur. Spine. 2007;16, p 547-555.

180.Nerurkar N.L., Baker B.M., Sen S., Wible E.E., Elliott D.M., Mauck R.L. Nanofibrous biologic laminates replicate the form and function of the annulus fibrosus. Nat. Mater. 2009;8, p 986-992.

181.Nerurkar N.L., Elliott D.M., Mauck R.L. Mechanical design criteria for intervertebral disc tissue engineering. J. Biomech. 2010;43, p1017-1030.

182.Nerurkar N.L., Elliott D.M., Mauck R.L. Mechanics of oriented electrospun nanofibrous scaffolds for annulus fibrosus tissue engineering. J. Orthop. Res. 2007;25, p 1018-1028.

- 183.Nicolae Caproș. Corecția chirurgicală a deformităților scoliotice ale coloanei vertebrale. *Arta medica* nr.15 2007, p 34-35.
- 184.Nishida K., Kang J.D., Gilbertson L.G., Moon S.H., Suh J.K., Vogt M.T., Robbins P.D., Evans C.H. Modulating the biological activity of the rabbit intervertebral disc by gene therapy: An in vivo study of adenovirus-mediated transfer of human transforming growth factor beta gene coding. *Spine*. 1999, 24: p 2419-2425.
- 185.Norcross J.P., Lester G.E., Weinhold P., et al. An in vivo model of degenerative disc disease. *J. Orthop. Res*. 2003. Vol. 21. P. 183-188.
- 186.O'Halloran D.M., Pandit A.S. Tissue-engineering approach to regenerating the intervertebral disc. *Tissue Eng*. 2007;13, p 1927-195.
- 187.Ohshima H.J., Urban P.G. Effect of lactate concentrations and pH on matrix synthesis rates in the intervertebral disc. *Spine*. 1992;17:1079-1082.
- 188.Onik G.M., Helms C. *Radiol. Clin. North Am*. 1998.vol.36, (N 3): p 523-532.
- 189.Osada R., Ohshima H., Ishihara H., Yudoh K., Sakai K., Matsui H., Tsuji H. autocrine paracrine mechanism of insulin-like growth factor-1 secretion, and the effect of insulin-like growth factor-1 on proteoglycan synthesis in discs intervertebral cattle. *J Orthop Res*. 1996, 14:p 690-699.
- 190.Ozgen S., Naderi S., Ozek M.M., Pamir M.N. Findings and outcome of revision lumbar disc surgery. *J Spinal Disord*.1999.vol.12. N 4, P.287-292.
- 191.Paassilta P., Lohiniva J., Goring H.H., Peral M., Raina S.S., Karppinen J., Hakala M., Palm T., Kroger H., Kaitila I., Vanharanta H., Ott J., Ala-Kokko L. Identification of a new genetic risk factor for disease lumbar disc. *JAMA*. 2001, 285: p 1843-1849.
- 192.Paesold G., Nerlich A.G., Boos N. Biological treatment strategies for disc degeneration: potentials and shortcomings. *J. Eur Spine*. 2007; 16:447-468.
- 193.Paul R., Haydon R.C., Cheng H., Ishikawa A., Nenadovich N., Jiang W., Zhou L., Breyer B., Feng T., Gupta P., et al. Potential use of Sox9 gene therapy for intervertebral degenerative disc disease. *Spine* 2003;28, p 755-763.
- 194.Pazzaglia U.E., Andrini L., Di Nucci A. The effects of mechanical forces on bones and joints. Experimental study on the rat tail. *J. Bone Joint Surg. Br*. 1997.Vol. 79. P. 1024-1030.
- 195.Pazzaglia U.E., Salisbury J.R., Byers P.D. Development and involution of the notochord in the human spine. *J. R. Soc. Med*. 1989;82, p 413-415.
- 196.Peacock A. Observations on the postnatal development of the intervertebral disc in man. *J. Anat*. 1952;86, p 162-179.

197. Peacock A. Observations on the prenatal development of the intervertebral disc in man. *J. Anat.* 1951;85, p 260-274.
198. Peek R.D., Wiltse L.L., Reynolds J.B. et al: In situ arthrodesis without decompression for Grade-III or IV isthmic spondylolisthesis in adults who have severe sciatica. *J Bone Joint Surg Am.* 1989;71:62–68.
199. Phillips F.M., Reuben J., Wetzel F.T. Intervertebral disc degeneration adjacent to a lumbar fusion. An experimental rabbit model. *J Bone Joint Surg. Br.* 2002, N 84, p.289-294.
200. Pfirrmann C., Metzdorf A., Zanetti M. Magnetic resonance classification of lumbar intervertebral disc degeneration. *Spine.* 2001;26:1873-78.
201. Postacchini F., Lami R., et al. Familial predisposition to discogenic low back pain: an epidemiologic and immunogenetic study. *Pugliese O. Spine.* 1988, 13: p 1403-1406.
202. Pope M.H., Goh K.L., Magnusson M.L. Ergonomic spine. *Annu Rev Biomed Eng.* 2002, 4: p 49-68.
203. Rajasekaran S., Kanna R.M., Senthil N., Raveendran M., Ranjani V., Cheung K.M., Chan D., Kao P.Y., Yee A., Shetty A.P. Genetic susceptibility of lumbar degenerative disc disease in young Indian adults. *Eur Spine J.* 2015 Sep; 24(9):1969-1975
204. Rankine J., Gill K., Hutchinson C., et al. The clinical significance of high- intensity zone on lumbar spine magnetic resonance imaging. *Spine* 1999; 24: 1913–1920.
205. Rätsep T., Minajeva A., Asser T. Relationship between neovascularization and degenerative changes in herniated lumbar intervertebral discs. Source Department of Neurology and Neurosurgery, University of Tartu. *J. Eur Spine.* 2013; 510-14.80.
206. Reddy P., Williams R., Willis B., Nanda A. Pathological evaluation of intervertebral disc tissue specimens after routine cervical and lumbar decompression. A cost-benefit analysis retrospective study. *Surg Neurol.* 2001, 56:252-255.
207. Repanti M., Korovessis P.G., Stamatakis M.V., Spastris P., Kosti P. Evolution of disc degeneration in lumbar spine: a comparative histological study between herniated and postmortem retrieved disc specimens. *J Spinal Disord.* 1998, 11:41-45.
208. Risbud M.V., Schaer T.P., Shapiro I.M. Toward an understanding of the role of notochordal cells in the adult intervertebral disc: from discord to accord. *Dev. Dyn.* 2010;239, p 2141-2148.
209. Risbud M.V., Di Martino A., Guttapalli A., Seghatoleslami R., Denaro V., Vaccaro A.R., Albert T.J., Shapiro I.M. Toward an optimum system for intervertebral disc organ culture: TGF-beta 3 enhances nucleus pulposus and anulus fibrosus survival and function through modulation of TGF-beta-R expression and ERK signaling. *Spine.* 2006;31, p 884-890.

- 210.Roberts S., Urban J.P., Evans H., Eisenstein S.M. The cartilage end-plate and intervertebral disc in scoliosis: calcification and other sequelae. *J Orthop Res.* 1993,(11): p 747-757.
- 211.Roberts S., Menage J., Eisenstein S.M. The cartilage end-plate and intervertebral disc in scoliosis: calcification and other sequelae. *J Orthop Res.* 1993;11:747-757.
- 212.Roberts S., Menage J., Urban J.P. Biochemical and structural properties of the cartilage end-plate and its relation to the intervertebral disc. *Spine.* 1989;14: p 166-174.
- 213.Roberts S., Menage J., Duance V., Wotton S., Ayad S. 1991 Volvo award in basic sciences: Collagen types around the cells of the intervertebral disc and cartilage end plate: An immunolocalization study. *Spine.* 1991;16: p 1030-1038.
- 214.Roberts S., Caterson B., Menage J., Evans E.H., Jaffray D.C., Eisenstein S.M. Matrix metalloproteinases and aggrecanase: their role in disorders of the human intervertebral disc. *Spine.* 2000;25: p 3005-3013.
- 215.Roberts S., Hollander A.P., Caterson B., Menage J., Richardson J.B. Matrix turnover in human cartilage repair tissue in autologous chondrocyte implantation. *Arthritis Rheum.* 2001, 44: p 2586-2598.
- 216.Roberts S., Eisenstein S.M., Menage J., Evans E.H., Ashton I.K. Mechanoreceptors in intervertebral discs. Morphology, distribution, and neuropeptides. *Spine.*1995;20:2645-2651.
- 217.Robert S., Urban J., Evans B.C. Transport proprieties of the Human cartilage endplate in relation to its composition and calcification. *Spine.* 1996;21:415-420.
- 218.Rogers L.A. Experience with limited versus extensive disk removal in patients undergoing microsurgical operations for ruptured lumbar disk. *Neurosurgery* 1988;22:82-85
- 219.Rufai A., Benjamin M., Ralphs J.R. The development of fibrocartilage in the rat intervertebral disc. *Anat. Embryol. (Berl.)* 1995,192, p 53-62.
- 220.Saal J.S. The role of inflammation in lumbar pain. *Spine.* 1995;20:1821-1827.
- 221.Saal JS, Franson RC, Dobrow R, et al: High levels of inflammatory phospholipase A2 activity in lumbar disc herniations. *Spine.* 1990;15:674-678.
- 222.Saifuddin A., Braithwaite I., White J., et al. The value of lumbar spine magnetic resonance imaging in the demonstration of annular tears. *Spine* 1998; 23; 453-457.
- 223.Sakai D. Future perspectives of cell-based therapy for intervertebral disc disease. *J. Eur. Spine.* 2008;17, p 452-458.
- 224.Samartzis D., Karppinen J., Luk K., Cheung K. Body Mass Index and Its Association With Disc Degeneration of the Lumbar Spine in Adults: *Spine Journal Meeting Abstract.* 2010, p 17.

- 225.Sambrook P.N., MacGregor A.J., Spector T.D. Genetic influences on cervical and lumbar disc degeneration: a magnetic resonance imaging study in twins. *Arthritis Rheum.* 1999, 42: p 366-372.
- 226.Schmorl G. Über Knorpelknotchen an der Wirbelbandscheiben. *Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen*, 1928; 38: 265-279.
- 227.Schaffer J., Kambin P. Percutaneous posterolateral lumbar discectomy and decompression with a 6.9-millimeter cannula. *J. Bone Joint Surg. Am.* 1991,N 73. p 322-331.
- 228.Shapiro I.M., Risbud M.V. Transcriptional profiling of the nucleus pulposus: say yes to notochord. *Arthritis Res. Ther.* 2010;12, p 117.
229. Schulz S.S., Lenz K., Buttner-Janzen K. Severe back pain in elite athletes: a cross-sectional study on 929 top athletes of Germany. *Eur Spine J.* 2015 Sep 3. PMID:26337926. p 31
- 230.Silvers H.R. Microsurgical versus standard lumbar discectomy. *Neurosurgery* 1988;22:837-841
- 231.Sive J.I., Baird P., Jeziorski M., Watkins A., Hoyland J.A., Freemont A.J. Expression of chondrocyte markers by cells of normal and degenerate intervertebral discs. *Mol. Pathol.* 2002;55, 91-97.
- 232.Simona Stiuriuc, *Ro Medica*. Boala de disc degenerativă, 2009; p.4514.
- 233.Singh V., Derby R. Percutaneous lumbar disc decompression. *Pain Physician.* 2006. N9. P. 139-146.
- 234.Smith L.J., Schaer T., Liechty K., Elliott D.M. Developmental origins of the annulus fibrosus lamellar cross bridge network. In *Transactions of the 56th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society*, New Orleans, LA. 2010, p. 420.
- 235.Sobajima S., Kim J.S., Gilbertson L.G., Kang J.D. Gene therapy for degenerative disc disease.*Gene Ther.* 2004;11, p 390-401.
- 236.Soloviev S., Lohiniva J., Leino Arjas-P., Raininko R., Section S.K., Luoma, Alakokko L., Riihimäki H. COL9A3 gene polymorphism and obesity in intervertebral disc degeneration of the lumbar spine: evidence of gene-environment interaction. *Spine.* 2002, 27: p 2691-2696.
- 237.Southern E.P., Fye M.A., Panjabi M.M., Patel P.C., Cholewicki J. Disc degeneration: a human cadavers study correlating magnetic resonance imaging and quantitative discomanometry. *Spine.* 2000;25:2171-2175.
- 238.Spangfort EV. The lumbar disk herniation: a computer-aided analysis of 2504 operations. *Acta Orthop Scand Suppl* 1972;142:1-95

- 239.Stemple D.L. Structure and function of the notochord: an essential organ for chordate development. *Development*. 2005;132, p 2503-2512.
- 240.Stevenson R.C., McCabe C.J., Findlay A.M. An economic evaluation of a clinical trial to compare automated percutaneous lumbar discectomy with microdiscectomy in the treatment of contained lumbar disc herniation. *Spine* 1995;20:739-742
- 241.Sztrolovics R., Alini M., Roughley P.J., Mort J.S. Aggrecan degradation in human intervertebral disc and articular cartilage. *J.Biochem* 1997;326: p 235-241.
- 242.Takahashi T., Kurihara H., Nakajima S., et al. Chemonucleolytic effects of chondroitinase ABC on normal rabbit intervertebral discs. Course of action up to 10 days postinjection and minimum effective dose *Spine*. 1996. Vol. 21. P. 2405-2411.
- 243.Takegami K., Thonar E.J., Kamada H. I., Masuda K. Osteogenic protein-1 enhances matrix power intervertebral disc cells previously exposed to interleukin-1. *Spine*. 2002, 27: p 1318-1325.
- 244.Tanaka Y. Epidemiology of low back pain. *Clin Calcium*. 2005, – vol.15. N3, p 35-38.
- 245.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.
- 246.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.
- 247.Thompson J.P., Oegema T.R., Bradford D.S. Stimulation of mature canine intervertebral disc by growth factors. *Spine*. 1991, 16: p 253-260.
- 248.Trout J.J., Buckwalter J.A., Moore K.C., Landas S.K. Ultrastructure of the human intervertebral disc. I. Changes in notochordal cells with age. *Tissue Cell* 1982(a); 14, p 359-369.
- 249.Trout J.J., Buckwalter J.A., Moore K.C. Ultrastructure of the human intervertebral disc. II. Cells of the nucleus pulposus. *Anat. Rec.* 1982(b); 207, p 307-314.
- 250.Trout J.J., Buckwalter J.A., Moore K.C. Ultrastructure of human intervertebral disc: II. Nucleus pulposus cells. *ANAT Rec.* 1982, 204: p 307-314.
- 251.Ulrich J.A., Liebenberg E.C., Thuillier D.U., Lotz J.C. ISSLS prize winner: repeated disc injury causes persistent inflammation. *Spine*. 2007; 32:2812-2819.
- 252.Urban J.P., Roberts S. Development and degeneration of the intervertebral discs. *Mol. Med. Today*. 1995;1, p 329-335.

253. Urban M.R., Fairbank J.C., Etherington P.J., Loh F.L., Winlove C.P., Urban J.P. Electrochemical measurement of transport into scoliotic intervertebral discs in vivo using nitrous oxide as a tracer. *Spine*. 2001; 26:984-990.
254. Urban J.P., Maroudas A., Bayliss M.T., Dillon J. Swelling pressures of proteoglycans at the concentrations found in cartilaginous tissues. *Biorheology*. 1979;16: p 447-464.
255. Urban J.P., Smith S., Fairbank J.C. Nutrition of intervertebral disc. *Spine*. 2004; 29 (23): 2700-9.
256. Varlotta G.P., Brown M.D., Kelsey J.L., Golden A.L. family predisposition for lumbar disc herniation in patients who are less than twenty-one years. *J Bone Joint Medi Am*. 1991, 73: p 124-128.
257. 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.
258. Videman T., Nurminen M., Troup J.D. 1990 Volvo Award in clinical sciences. Lumbar spinal pathology in cadaveric material in relation to history of back pain, occupation, and physical loading. *Spine*. 1990; 15:728-740.
259. Videman T., Battie M.C. The influence of occupation on lumbar degeneration. *Spine*. 1999; 24:1164-1168.
260. Videman T., Levalahti E., Battie M.C. The effects of anthropometrics, lifting strength, and physical activities in disc degeneration. *Spine*. 2007; 32:1406-1413.
261. Videman A., Leppavuori T.J., Kaprio J., Battie M.C., Gibbons L.E., Peltonen L., Koskenvuo M. Intragenic polymorphisms of the vitamin D receptor gene associated with intervertebral disc degeneration. *Spine*. 1998, 23: p 2477-2485.
262. Virchow R. Untersuchungen über die Entwicklung des Schädelgrundes im gesunden und krankhaften Zustande: und über den Einfluss derselben auf Schädelform, Gesichtsbildung und Gehirnbau. 1857, 1 edition, p. 100-128
263. Waddell G. The back pain revolution. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1998. p 23
264. Wallach C.J., Gilbertson L.G., Kang J.D. Gene therapy applications for intervertebral disc degeneration. *Spine*. 2003;28, p S93-S98.
265. Walmsley R. The development and growth of the intervertebral disc. *Edinb. Med. J*. 1953;60, p 341-364.

- 266.Watanabe H., Nakata K., Kimata K., Nakanishi I., Yamada Y. Dwarfism and spinal degeneration associated with age heterozygous cmd mice defective aggrecan. Proc Natl Acad Sci USA. 1997, 94: p 6943-6947.
- 267.Weber H., Gibson J.N., Grant I.C., Waddell G. A controlled study prospectively ten years of observation. Surgery for lumbar disc prolapse. Cochrane database syst rev. Spine. 1983, 8:131-140.
- 268.Weber H. Lumbar disk herniation: a controlled, prospective study with ten years of observation. Spine 1983;8:131-140
- 269.Weidner N., Rice D.T. Intervertebral disk material: criteria for determining probable prolapse. Hum Pathol. 1988, 19:406-410.
- 270.Weiler C., Nerlich A.G., Bachmeier B.E., Boos N. Expression and Distribution of Tumor Necrosis Factor Alpha in Human Lumbar Intervertebral Discs: A Study in Surgical Specimen and Autopsy Controls. Spine. 2005; 30:44-53.
- 271.Weiler C., Nerlich A.G., Zipperer J., Bachmeier B.E., Boos N. 2002 SSE Award Competition in Basic Science: expression of major matrix metalloproteinases is associated with intervertebral disc degradation and resorption. J. Eur Spine. 2002; 11:308-320.
- 272.Weiler C., Nerlich A., Schaaf R., Bachmeier B.E., Wuertz K., Boos N. Immunohistochemical identification of notochordal cell markers in cells in the aging human lumbar intervertebral disc. J. Eur. Spine. 2010;19, p 1761-1770.
- 273.Willburger R.E., Ehiosun U.K., Kuhn C., Kramer J., Schmid G. Clinical symptoms in lumbar disc herniations and their correlation to the histological composition of the extruded disc material. Spine. 2004, 29:1655-1661.
- 274.Williams R.W. Microlumbar disectomy: a conservative surgical approach to the virgin herniated lumbar disk. Spine 1978;3:175-182
- 275.Williams R.W. Microsurgical lumbar disectomy. Report to the American Association of Neurology and Surgery, 1975. Neurosurgery 1979;4:140
- 276.Wilson D.H., Kenning J. Microsurgical lumbar disectomy: preliminary report of 83 consecutive cases. Neurosurgery 1979;4:137-140
- 277.Wilson D.H., Harbaugh R. Microsurgical and standard removal of the protruded lumbar disk: a comparative study. Neurosurgery 1981;8:422-427
- 278.Wolfe H.J., Pustchar W.G.J., Vickery A.L. Role of the notochord in human intervertebral disk. I. Human and infant. Clin Orthop Relat Res. 1965;39, p 205-212.
- 279.Wu A.S., Fourney D.R. Histopathological examination of intervertebral disc specimens: a cost-benefit analysis. Can J Neurol Sci. 2007; 34:451-455.

- 280.Wu A.S., Fourney D.R. Incidence of unusual and clinically significant histopathological findings in routine discectomy. J Neurosurg Spine. 2006; 5:410-413.
- 281.Yasargil M.G. Microsurgical operations for herniated lumbar disk. Adv Neurosurg 1977;4:81-82;
- 282.Yasuma T., Makino E., Saito S., Inui M. Histological development of intervertebral disc herniation. J Bone Joint Surg Am. 1986, 68:1066-1072.
- 283.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.
- 284.Yu J., Winlove C.P., Roberts S., Urban J.P. Elastic fibre organization in the intervertebral discs of the bovine tail.J Anat. 2002;201:465-475.
- 285.Zahrawi F. Microlumbar discectomy: is it safe as an outpatient procedure? Spine 1994;19:1070-1074
- 286.Zortam A., Vettori M.A., Trevisan C.P., Bellini S., Vazza G., Armani M., Simon A., Mostacciolo M.L. Genetic mapping of a susceptibility locus for disc herniation, 6q23.3-q24.1 spastic paraplegia on. J Med Genet. 2002, 39: p 387-390.
- 287.Zota Ieremie. Атерогенез и иммунное воспаление. Стр.10-14.
- 288.Автандилов Г.Г. Динамика атеросклеротического процесса у человека. Визуальная оценка степени атеросклеротических изменений. Стр. 60-63.
- 289.Благодатский М.Д., Балашов Б.В. К вопросу о механизме терапевтического действия внутридисковых инъекций папаина. Вопр. нейрохирургии. 1979 .№ 5 . С.44-49.
- 290.Баграташвили В.Н. (под ред. Собол Э.Н., Шехтер А.Б. Лазерная инженерия хрящей.: Физматлит, 2006, 488 с.
- 291.Басков А.В. и др. Влияние лазерного излучения на процессы регенерации хрящевой ткани межпозвонковых дисков. Предварительное сообщение. Лазерная медицина, 2002, №2, с.18-23.
- 292.Волкова Л. Т. Биологические свойства деминерализованного костного матрикса плодов и возможности его практического применения. Куйбышев, 1988, с. 51-54.
- 293.Гринь В. К. и др. Остеогенные стволовые клетки стратегия клинического выбора. Материалы симпозиума, Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии”. Москва, ЦИТО, 25-26 апреля 2007, с. 19-20.
- 294.Епифанов В.А. Остеохондроз позвоночника, 2004, 5-6 с.

- 295.Козлов Владимир, Митбрейт И.М., Илизаров Г.А., Мархашов Н.М., Казьмин А.И. Об эффективности лечения поясничного остеохондроза внутримышечным введением папаина. Ортопедия, травматология, протезирование . – 1977 № 10: p 12-17.
- 296.Казьмин А.И., Ветрилэ С.Т. Об эффективности лечения поясничного остеохондроза внутримышечным введением папаина. Ортопедия, травматология, протезирование . 1977 № 10 . С. 12-17.
- 297.Попелянский Я.Ю. Болезни периферической нервной системы. М.: Медицина, 1989.-462 с.
- 298.Пульбере П.В. Диагностика и лечение дегенеративных заболеваний позвоночника 1984; 3-4 с.
- 299.Пульбере П.В. Диагностика и лечение дегенеративных заболеваний позвоночника 1984; 10-12 с.
- 300.Педаченко Е.Г. и др. Пункционная лазерная дискэктомия при шейном остеохондрозе. Вопросы нейрохир. 2001, № 1, с.3-5.
- 301.Рутенбург М. Д. Некоторые данные о хирургической анатомии нижнепоясничного отдела позвоночника и его содержимого. Остеохондроз позвоночника. Ч.(2) Новокузнецк, 1973, с. 260-265.
- 302.Соваков А.Н. Чрезкожная фенестрация и декомпрессия межпозвонковых дисков при компрессионных формах поясничного остеохондроза: Автореф. дисс. канд. мед. наук. Л., 1989. 16 с.
- 303.Шехтер А.Б. и др. Изменение структуры и регенерация суставного хряща при неабляционном воздействии лазерного излучения с длинами волн 2,09 и 1,56 мкм. Лазерная медицина. 2001. Т5. №4, С.27-31.
- 304.Чепой В.М. Воспалительные и дегенеративные заболевания позвоночника . М.: Медицина, 1978,188 с.
- 305.Зота Е. Г. Долипидная стадия морфогенеза атеросклероза. Арх. патол., 1986. N: 6. с. 23-24.
- 306.Зота Е. Г. Особенности развития соединительной ткани атеросклеротических бляшек в условиях атерогенеза. Тез. III конф. по ультраструктуре. Кишинев: Штиинца, 1986 (б). с. 81.
- 307.Зота Е. Г., Савва В. М. Ранние изменения сосудистой стенки при атерогенезе. Тезисы докл. IX Всемирного конгресса кардиологов. Москва. 1982. Т. I, с. 926.
- 308.Зота Е. Г. Функциональная морфология артерий и атерогенез. Автореф. докт. дисс. М., 1987.

Acordul informat al pacientului implicat în cercetare

Cercetătorul de la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” efectuează un studiu al pacienților cu osteocondroză urmată de hernii discale și spondilolisteze. Pentru a face acest lucru, avem nevoie de ajutorul oamenilor care sunt de acord să ia parte la un studiu de cercetare. Acest formular vă informează despre scopul studiului de cercetare.

Dvs. sunteți rugat(ă) să luați parte la un studiu de cercetare care se numește:

Particularitățile morfopatologice ale proceselor degenerativ-distrofice din segmentului intervertebral lombar

Persoana care se ocupă de acest studiu de cercetare, **Cociug Adrian**, este responsabilă și se numește cercetătorul principal.

Scopul acestui studiu este de a investiga histologic segmentul intervertebral și a permite aprecierea metodelor de profilaxie și a tehnicilor chirurgicale aplicate în tratamentul maladiilor degenerativ-distrofice în porțiunea lombară a coloanei vertebrale.

Luând parte la acest studiu, în urma intervențiilor chirurgicale de herniectomie în secția de vertebrologie a IMSP SCTO, se vor efectua investigații histologice ale elementelor sacului hernial (nucleul pulpos și inelul fibros). Aceste investigații vor fi fotografiate și publicate, păstrându-se confidențialitatea Dvs.

Această cercetare va avea un risc minim. Asta înseamnă că riscurile asociate cu acest studiu vor fi aceleași ca și cele cu care vă confrunțați zi de zi.

Confidențialitatea

Noi trebuie să ținem evidența Dvs. în studiu că toate datele cu putință sunt confidențiale. Dosarele ce le despun la păstrare aparțin limitelor pentru respectarea confidențialității:

- toate datele vor fi păstrate timp de 4 ani, cât va dura studiul;
- informația va fi codificată.

Cu toate acestea, anumite persoane ar avea nevoie să privească înregistrările Dvs.

Prin lege, oricine ce privește înregistrările Dumneavoastră trebuie să le păstreze complet confidențial. Unicile persoane cărora li se va permite să le privească sunt:

- Echipa de cercetare, inclusiv cercetătorul principal, coordonatorul studiului, asistentele medicale de cercetare, precum și celelalte persoane implicate în cercetare.

- Reprezentanți ai Ministerului Sănătății și ai Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, care au nevoie să știe mai multe despre studiu. De exemplu, persoanele care asigură supravegherea acestui studiu au nevoie să privească înregistrările

Dumneavoastră. Acest lucru se face pentru a ne asigura că studiul se execută corect. Ei asigură protejarea drepturilor și siguranța Dvs.

Dvs. trebuie să participați voluntar la acest studiu și să vă exprimați acordul direct, nesilit de nimeni, fiind conștient de acțiunile Dvs., precum și de rezultatele investigațiilor. Sunteți liber să participați la această cercetare sau să vă retrageți în orice moment. Nu va fi nici o penalizare în cazul în care încetați să luați parte la acest studiu.

Dacă aveți întrebări, nelămuriri sau reclamații la acest studiu, apălați: Cociug Adrian; tel. 079741902.

Consimțământul persoanelor care iau parte la acest studiu de cercetare

Dvs. decideți dacă doriți să luați parte la acest studiu. Dacă doriți să luați parte, vă rugăm să semnați formularul, din moment ce afirmațiile depuse sunt adevărate.

Îmi dau consimțământul în mod liber să iau parte la acest studiu. Am înțeles că prin semnarea acestui formular sunt de acord să iau parte la cercetare. Am primit o copie a acestui formular.

Semnătura persoanei care participă la studiu_____

Data_____

Numele (scris de mână) ale persoanei care participă în cercetare

Declarația persoanei care obține Consimțământul informat

I-am explicat cu atenție persoanei care ia parte la studiu urmările așteptate.

Prin prezenta, certific că persoana care semnează acest formular a luat cunoștință despre cercetare. El sau ea înțelege:

- ce se studiază;
- ce intervenții și investigații vor fi utilizate;
- care ar putea fi riscurile.

Semnătura persoanei care obține consimțământul informat_____

Data _____

Numele (scris de mână) al persoanei care obține Consimțământul informat_____

Acordul informat al persoanelor care permit includerea în studiu a cercetării cazului de deces al rudelor care participă în cercetare

Cercetătorul de la Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițeanu” efectuează un studiu al persoanelor decedate cu diferite patologii somatice. Pentru a face acest lucru, avem nevoie de acordul rudelor. Acest formular vă informează despre scopul studierii de cercetare.

Dvs. sunteți rugat(ă) să permiteți de a efectua un studiu de cercetare care se numește:

Particularitățile morfopatologice ale proceselor degenerativ-distrofice din segmentul intervertebral lombar

Persoana care se ocupă de acest studiu de cercetare, **Cociug Adrian**, este responsabilă și se numește cercetătorul principal.

Scopul acestui studiu este de a investiga histologic segmentul intervertebral și a permite aprecierea metodelor de profilaxie și a tehnicilor chirurgicale aplicate în tratamentul maladiilor degenerativ-distrofice în porțiunea lombară a coloanei vertebrale.

În cadrul studiului, se vor preleva țesuturi ale segmentelor intervertebrale lombare de la cadavre din secția morfopatologie a SCM „Sfânta Treime”, se vor efectua investigații histologice asupra discului (nucleul pulpos și inelul fibros), arterelor vertebrale lombare, lamelelor terminale, ligamentului flav, ligamentelor longitudinale anterioare și posterioare, foselelor articulare. Investigațiile vor fi fotografiate și publicate, păstrându-se confidențialitatea datelor.

Această cercetare va avea un risc minim. Asta înseamnă că riscurile asociate cu acest studiu vor fi aceleași ca și cele cu care vă confrunțați zi de zi.

Confidențialitatea

Noi trebuie să ținem evidența Dvs. în studiu că toate datele cu putință sunt confidențiale. Dosarele ce le despun la păstrare aparțin limitelor pentru respectarea confidențialității:

- toate datele vor fi păstrate timp de 4 ani ,cât va dura studiul;
- informația va fi codificată.

Cu toate acestea, anumite persoane ar putea avea nevoie să privească înregistrările Dvs. în studiu.

Prin lege, oricine ce privește înregistrările Dumneavoastră trebuie să le păstreze complet confidențial. Unicele persoane cărora li se va permite să le privească sunt:

- Echipa de cercetare, inclusiv cercetătorul principal, coordonatorul studiului, asistentele medicale de cercetare, precum și celelalte persoane implicate în cercetare.

• Anumite persoane de la Ministerul Sănătății și Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, care au nevoie să știe mai multe despre studiu. De exemplu, persoanele care asigură supravegherea acestui studiu au nevoie să privească înregistrările Dumneavoastră. Acest lucru se face pentru a ne asigura că studiul se execută corect. Ei asigură protejarea drepturilor și siguranța Dvs.

Dvs. permiteți voluntar studiul cazului de deces al rudei Dvs. și vă exprimați acordul direct, nesilit de nimeni, fiind conștient de acțiunile Dvs., precum și de rezultatele investigațiilor. Sunteți liber să vă dați acordul participării la această cercetare sau să vă retrageți în orice moment. Nu va fi nici o penalizare în cazul în care vă retrageți participarea la acest studiu. Dacă aveți întrebări, nelămuriri sau reclamații la acest studiu, apălați: Cociug Adrian; tel. mob. 079741902.

Consimțământul rudelor care permit includerea în studiu a cercetării cazului de deces al persoanei apropiate

Dvs. decideți dacă permiteți cercetarea cazului de deces al rudei. Vă rugăm să semnați formularul, din moment ce afirmațiile depuse sunt adevărate.

Îmi dau consimțământul în mod liber să iau parte la acest studiu. Am înțeles că prin semnarea acestui formular sunt de acord să iau parte la cercetare. Am primit o copie a acestui formular.

Semnătura persoanei care permite cercetarea cazului de deces al rudei sale.

_____data_____

Numele (scris de mână) ale persoanei care permite cercetarea cazului de deces al rudei sale.

Declarația persoanei care obține Consimțământul informat

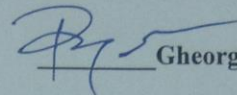
Prin prezenta, certific că persoană care semnează această formular a luat cunoștințe despre cercetare:

Semnătura persoanei care obține consimțământul informat_____

Data _____

APROB

Prorector pentru activitatea științifică USMF
„Nicolae Testemițanu” medicină, profesor
universitar

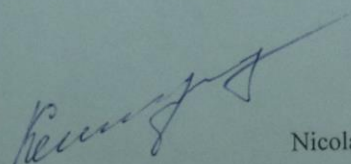
 **Gheorghe Rojnovanu**

ACT DE IMPLEMENTARE

**În procesul didactic a rezultatelor cercetărilor științifice a doctorandului catedrei de
Morfopatologie USMF „Nicolae Testemițanu” Cociug Adrian**

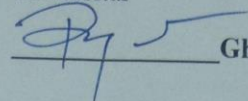
1. Denumirea ofertei pentru implementare: utilizarea colorației imunohistochimice cu CD₃₄, CD₆₈, și MCT a arterelor vertebrale lombare, și hematoxilin-eozină a elementelor postoperatorie din discurilor intervertebrale lombare .
2. De cine și când a fost propusă: Cociug Adrian, 26 februarie 2014
3. Unde a fost implementată: catedra Traumatologie și Ortopedie a USMF „Nicolae Testemițanu”
4. Data implementării: 28 Februarie 2014
5. Numărul investigațiilor: 20 pacienți
6. Rezultatele folosirii metodei: rezultatele studiului au fost folosite pentru completarea cunoștințelor de către studenții anului IV facultatea Medicină, Stomatologie, Sănătate Publică la tema „Osteocondroza vertebrală” și al spectrului funcțional caracteristic a aterosclerozei în peretele arterelor vertebrale asupra modificărilor degenerative în discul intervertebral lombar. Rolul fibroblastelor în regenerarea țesutului discal afectat degenerativ-distrofic.
7. Eficacitatea implementării : Aplicarea datelor noi a permis o mai bună înțelegere de către studenți a structurii discului lezat în ateroscleroza arterelor vertebrale, funcția macrofagelor și mastocitelor, cât și familiarizarea cu metoda imunohistochimică de diagnostic morfologic.
8. Este recomandată: Utilizarea noului algoritm de predare a temelor respective pentru studenții USMF „Nicolae Testemițanu”.

Șef catedră Traumatologie și Ortopedie
dr. hab. med., prof. univ.

 **Nicolae Caproș**

APROB

Prorector pentru activitatea științifică USMF
„Nicolae Testemițanu” medicină, profesor
universitar

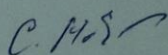
 **Gheorghe Rojnovanu**

ACT DE IMPLEMENTARE

**În procesul didactic a rezultatelor cercetărilor științifice a doctorandului catedrei de
Morfopatologie USMF „Nicolae Testemițanu” Cociug Adrian**

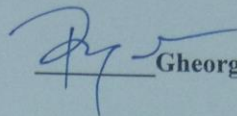
1. Denumirea ofertei pentru implementare: utilizarea colorației imunohistochimice cu CD₃₄, CD₆₈, și MCT a arterelor vertebrale lombare, și hematoxin-eozină a elementelor postoperatorie din discurile intervertebrale lombare .
2. De cine și când a fost propusă: Cociug Adrian, 26 februarie 2014
3. Unde a fost implementată: catedra Morfopatologie a USMF „Nicolae Testemițanu”
4. Data implementării: 28 Februarie 2014
5. Numărul investigațiilor: 20 pacienți
6. Rezultatele folosirii metodei: rezultatele studiului au fost folosite pentru completarea cunoștințelor de către studenții anului II și III facultatea Medicină, Stomatologie, Sănătate Publică la tema „Degenerescența discului în osteocondroză” și al spectrului funcțional caracteristic a aterosclerozei în peretele arterelor vertebrale asupra modificărilor degenerative în discul intervertebral lombar. Rolul fibroblastelor în regenerarea țesutului discal afectat degenerativ-distrofic.
7. Eficacitatea implementării : Aplicarea datelor noi a permis o mai bună înțelegere de către studenți a structurii discului lezat în ateroscleroza arterelor vertebrale, funcția macrofagelor și mastocitelor, cât și familiarizarea cu metoda imunohistochimică de diagnostic morfologic.
8. Este recomandată: Utilizarea noului algoritm de predare a temelor respective pentru toți studenții USMF „Nicolae Testemițanu”.

Șef catedră Morfopatologie
dr. șt. med., conf. univ.



Constantin Marian

Prorector pentru activitatea științifică USMF
„Nicolae Testemițanu” medicină, profesor
universitar

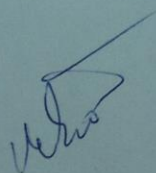
 **Gheorghe Rojnovanu**

ACT DE IMPLEMENTARE

**În procesul didactic a rezultatelor cercetărilor științifice a doctorandului catedrei de
Morfopatologie USMF „Nicolae Testemițanu” Cociug Adrian**

1. Denumirea ofertei pentru implementare: utilizarea colorației imunohistochimice cu CD₃₄, CD₆₈, și MCT a arterelor vertebrale lombare, și hematoxilin-eozină a elementelor postoperatorie din discurilor intervertebrale lombare .
2. De cine și când a fost propusă: Cociug Adrian, 14 martie 2014
3. Unde a fost implementată: catedra Anatomie Topografică și Chirurgie Operatorie, curs opțional de Medicină Regenerativă a USMF „Nicolae Testemițanu”
4. Data implementării: 17 martie 2014
5. Numărul investigațiilor: 20 pacienți
6. Rezultatele folosirii metodei: rezultatele studiului au fost folosite pentru completarea cunoștințelor de către studenții anului IV facultatea Medicină, Stomatologie, la tema „Evidențierea celulilor. Rolul fibroblastelor în regenerarea țesutului discal afectat degenerativ-distrofic.”
7. Eficacitatea implementării : Aplicarea datelor noi a permis o mai bună înțelegere de către studenți modalități de vizualizare și tipizare a celulelor, funcția macrofagelor și mastocitelor, cât și familiarizarea cu metoda imunohistochimică de diagnostic morfologic.
8. Este recomandată: Utilizarea noului algoritm de predare a temelor respective pentru toți studenții USMF „Nicolae Testemițanu”.

Șeful Laboratorului de Inginerie
Tisulară și culturi Celulare
dr. hab. med., prof. univ.



Viorel Nacu



REPUBLICA MOLDOVA

Agenția de Stat pentru
Proprietatea Intelectuală

BREVET DE INVENȚIE DE SCURTĂ DURATĂ

Nr. 793

Eliberat în temeiul Legii nr. 50/2008 privind protecția invențiilor

Titlul: Dispozitiv pentru prepararea țesuturilor biologice

**Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN
REPUBLICA MOLDOVA, MD**

Data depozit: 2014.01.13

Descrierea invenției, revendicările și desenele constituie parte
integrantă a prezentului brevet de invenție de scurtă durată

Director General



COPIE

CHIȘINĂU



REPUBLICA MOLDOVA

Agencia de Stat pentru
Proprietatea Intellectuala

BREVET DE INVENTIE DE SCURTĂ DURATĂ

Nr. 866

Eliberat in temeiul Legii nr. 50/2008 privind protectia inventiilor

Titlul: Dispozitiv pentru prepararea tesuturilor biologice

**Titular: IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINA SI
FARMACIE "NICOLAE TESTEMITANU" DIN
REPUBLICA MOLDOVA, MD**

Data depozit: 2014.08.01

Durata brevetului : 6 ani

Descrierea inventiei, revendicarile si desenele constituie parte
integranta a prezentului brevet de inventie de scurta durata

Director General



COPIE

CHIȘINĂU



REPUBLICA MOLDOVA

Agenția de Stat pentru
Proprietatea Intelectuală

BREVET DE INVENȚIE DE SCURTĂ DURATĂ

Nr. 867

Eliberat în temeiul Legii nr. 50/2008 privind protecția invențiilor

Titlul: Dispozitiv pentru secționarea țesuturilor biologice

**Titular: IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN
REPUBLICA MOLDOVA, MD**

Data depozit: 2014.08.01

Durata brevetului : 6 ani

Descrierea invenției, revendicările și desenele constituie parte
integrantă a prezentului brevet de invenție de scurtă durată

Director General



CHIȘINĂU

COPIE



REPUBLICA MOLDOVA

Agenția de Stat pentru
Proprietatea Intelectuală

BREVET DE INVENȚIE DE SCURTĂ DURATĂ

Nr. 868

Eliberat în temeiul Legii nr. 50/2008 privind protecția invențiilor

Titlul: Dispozitiv pentru fixarea grefei osoase

**Titular: IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN
REPUBLICA MOLDOVA, MD**

Data depozit: 2014.08.22

Durata brevetului : 6 ani

Descrierea invenției, revendicările și desenele constituie parte
integrantă a prezentului brevet de invenție de scurtă durată

Director General



COPIE

CHIȘINĂU



REPUBLICA MOLDOVA

Agenția de Stat pentru
Proprietatea Intelectuală

BREVET
DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ
Nr. 898

Eliberat în temeiul Legii nr. 50/2008 privind protecția invențiilor

Titlul: Dispozitiv pentru înlăturarea cartilajului articular

**Titular: IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN
REPUBLICA MOLDOVA, MD**

Data depozit: 2014.11.17

Durata brevetului : 6 ani

Descrierea invenției, revendicările și desenele constituie parte
integrantă a prezentului brevet de invenție de scurtă durată



Director General

COPIE

CHIȘINĂU



REPUBLICA MOLDOVA

Agencia de Stat pentru
Proprietatea Intelectuală

BREVET DE INVENȚIE DE SCURTĂ DURATĂ

Nr. 914

Eliberat în temeiul Legii nr. 50/2008 privind protecția invențiilor

**Titlul: Dispozitiv de fixare a oaselor spongioase pentru
prepararea grefei osoase**

**Titular: IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "NICOLAE TESTEMITANU" DIN
REPUBLICA MOLDOVA, MD**

Data depozit: 2014.11.27

Durata brevetului : 6 ani

Descrierea invenției, revendicările și desenele constituie parte
integrantă a prezentului brevet de invenție de scurtă durată

Director General



CHIȘINĂU



REPUBLICA MOLDOVA

Agencia de Stat pentru
Proprietatea Intelectuala

BREVET DE INVENTIE DE SCURTĂ DURATĂ

Nr. 915

Eliberat în temeiul Legii nr. 50/2008 privind protecția invențiilor

Titlul: **Dispozitiv pentru curățarea oaselor tubulare de
măduva osoasă**

Titular: **IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN
REPUBLICA MOLDOVA, MD**

Data depozit: 2014.12.03

Durata brevetului : **6 ani**

Descrierea invenției, revendicările și desenele constituie parte
integrantă a prezentului brevet de invenție de scurtă durată



Director General

CHIȘINĂU



REPUBLICA MOLDOVA

Agencia de Stat pentru
Proprietatea Intelectuala

BREVET

DE INVENTIE DE SCURTĂ DURATĂ

Nr. 916

Eliberat în temeiul Legii nr. 50/2008 privind protecția invențiilor

Titlul: Dispozitiv pentru înlăturarea cartilajului și
țesuturilor moi de pe suprafața articulară

Titular: IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN
REPUBLICA MOLDOVA, MD

Data depozit: 2015.02.27

Durata brevetului : 6 ani

Descrierea invenției, revendicările și desenele constituie parte
integrantă a prezentului brevet de invenție de scurtă durată



Director General

COPIE

CHIȘINĂU



NATIONAL INSTITUTE OF
INVENTICS, JASSY, ROMANIA

Diploma

GOLD MEDAL

INVENTICA 2014

Offered Mr / Ms

NACU VIOREL, MACAGONOVA OLGA,
COCIUG ADRIAN

DISPOZITIV PENTRU PREPARAREA ȚESUTURILOR

THE XVIII-TH INTERNATIONAL EXHIBITION
OF RESEARCH, INNOVATION AND
TECHNOLOGICAL TRANSFER

“INVENTICA 2014”

IASI, ROMANIA
2-4 JULY 2014

General Manager





**EURO
INVENT**

EUROPEAN EXHIBITION OF
CREATIVITY AND INNOVATION

EXPOZIȚIA EUROPEANĂ A
CREATIVITĂȚII ȘI INOVĂRII

IAȘI - ROMÂNIA



DIPLOMA OF EXCELLENCE

DEVICE FOR TISSUE PROCESSING

Macagonova Olga, Nacu Viorel, Cociug Adrian



**EURO
INVENT**



**EURO
INVENT**



UNIVERSITATEA TEHNICA DIN CLUJ-NAPOCA

sub egida MINISTERULUI EDUCAȚIEI NAȚIONALE și
ACADEMIEI DE ȘTIINȚE TEHNICE DIN ROMÂNIA, FILIALA CLUJ

SALONUL INTERNAȚIONAL DE INVENTICĂ PRO INVENT ediția a XII-a, 2014, Cluj-Napoca, România

DIPLOMA

DE EXCELENȚĂ PRO INVENT

Se acordă: doctorand Macagonova Olga; Dr.hab. prof. univ. Nacu Viorel; doctbrand.Cociug Adrian

Pentru: DISPOZITIV PENTRU PROCESAREA ȚESUTURILOR



PREȘEDINTELE SALONULUI,
Prof. dr. ing. AUREL VLAICU
Rector al
Universității Tehnice din Cluj-Napoca

PREȘEDINTELE JURIULUI,
Prof. dr. ing. RADU MUNTEANU

Radu Munteanu



ASSOCIATION OF POLISH INVENTORS AND RATIONALIZERS
WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY PATENT OFFICE OF THE
REPUBLIC OF POLAND



DIPLOMA



INTERNATIONAL WARSAW INVENTION SHOW
IWIS 2014

SILVER MEDAL

FOR

NACU VIOREL , MACAGONOVA OLGA , COCIUG ADRIAN

FROM

LABORATORY OF TISSUE ENGINEERING AND CELLULAR CULTURE FROM
THE UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY "NICOLAE TESTEMITANU"
OF THE REPUBLIC OF MOLDOVA
MOLDOVA

FOR THE INVENTION

DEVICE FOR BIOLOGICAL TISSUE PREPARING

THE PRESIDENT OF JURY

PROF. LESZEK RAFALSKI

THE PRESIDENT OF SPWIR

PROF. MICHAŁ SZOTA

WARSAW, 14-16TH OF OCTOBER 2014



UNIVERSITATEA TEHNICĂ DIN CLUJ-NAPOCA

sub egida MINISTERULUI EDUCAȚIEI ȘI CERCETĂRII ȘTIINȚIFICE
și ACADEMIEI DE ȘTIINȚE TEHNICE DIN ROMÂNIA, FILIALA CLUJ

SALONUL INTERNAȚIONAL DE INVENTICĂ

PRO INVENT, Ediția a XIII-a, 2015, Cluj-Napoca, România

DIPLOMA

DE EXCELENȚĂ
ȘI MEDALIA DE AUR CU MENȚIUNE SPECIALĂ

Se acordă

ADRIAN COCIUG, OLGA MACAGONOVA,
NICOLAE CAPROS, VIOREL NACU

UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMITANU"
REPUBLICA MOLDOVA

Pentru

DISPOZITIV PENTRU SECȚIONAREA TESUTURILOR BIOLOGICE

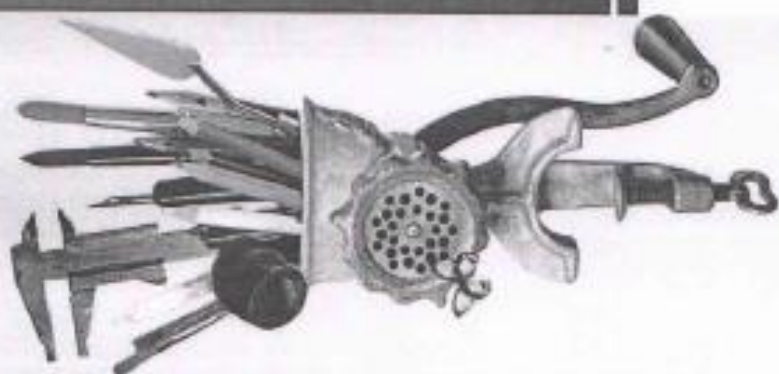
PREȘEDINTELE SALONULUI,
Prof. dr. ing. AUREL VLAICU

Rector al
Universității Tehnice din Cluj-Napoca



PREȘEDINTELE JURIULUI,
Prof. dr. ing. RADU MUNTEANU

Radu Munteanu





Transplant Procurement Management

Awards this diploma for the accomplishment of the

International On-line Course in Tissue Banking and Advanced Therapies

To

Adrian Cociug

from 23rd of March to 24th of May 2015 and taught under the auspice of the University of Barcelona

Barcelona (Spain), July 2015

Course Director

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Scott A. Brubaker".

Mr Scott Brubaker

Course Director

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Martí Manyalich".

Dr Martí Manyalich

Registry number: IOTB_2015_003

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII ȘI PROTECȚIEI SOCIALE AL REPUBLICII MOLDOVA



UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"NICOLAE TESTEMIȚANU"

LUCENDO ALLIS EGO IPSE ARDEO!

Diplomă

SE DECERNEAZĂ
DOAMNEI / DOMNULUI

Cociug Adrian

PENTRU MERITE DEOSEBITE ÎN ACTIVITATE

RECTOR

PROFESOR UNIVERSITAR
ION ABABII



**SOCIETATEA ROMÂNĂ DE MORFOLOGIE (S.R.M.)
UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA
COLEGIUL MEDICILOR DOLJ**



DIPLOMĂ

Se acordă D-nei/D-lui **COCIUG ADRIAN** cu ocazia participării la cel de-al

**XII-lea Simpozion Național de Morfologie Microscopică,
cu participare internațională.**

În conformitate cu Adresa CMR Nr. 2936 / 20.05.2014.

12 ore EMC – participare la Simpozion.

Președinte S.R.M.,
Prof. univ. dr. **LAURENȚIU MOGOANTĂ**

Președinte Colegiul Medicilor Dolj,
Prof. univ. dr. **TUDOR UDRIȘTOIU**



**CRAIOVA
29-30 mai 2014**

Seria CMDJ/2014 Nr. **1709**..... / 30.05.2014

USMF

EIS "INFOINVENT"

DIPLOMĂ

MEDALIA DE AUR

se acordă

COCIUG ADRIAN, NACU VIOREL, CAPROȘ NICOLAE,
ZOTA IEREMIA, MACAGONOVA OLGA

pentru ciclul de invenții

DISPOZITIVE DE PREPARARE A ȚESUTURILOR BIOLOGICE

PREȘEDINTELE
COMITETULUI ORGANIZATORIC

PREȘEDINTELE
JURIULUI INTERNAȚIONAL

25-28 noiembrie 2015, Chișinău, Republica Moldova



UNIVERSITATEA TEHNICĂ DIN CLUJ-NAPOCA

sub egida MINISTERULUI EDUCAȚIEI NAȚIONALE ȘI CERCETĂRII ȘTIINȚIFICE
ȘI ACADEMIEI DE ȘTIINȚE TEHNICE DIN ROMÂNIA, FILIALA CLUJ

SALONUL INTERNAȚIONAL DE INVENTICĂ PROINVENT, Ediția a XIV-a, 2016, Cluj-Napoca, România

DIPLOMA

DE EXCELENȚĂ PROINVENT

Se acordă

Adrian Cocîug, Olga Macagonova, Eremia Zota, Viorel Nacu, Ion Baciu

De la

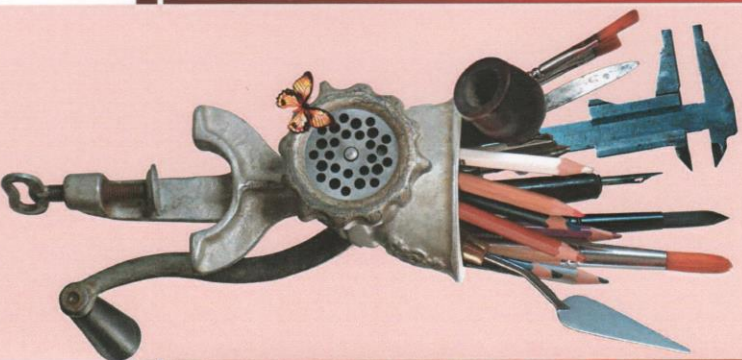
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINA ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMITANU" DIN REPUBLICA
MOLDOVA

Pentru

DISPOZITIV PENTRU FIXAREA GREFELI OSOASE

PREȘEDINTELE SALONULUI,
Prof. dr. ing. VASILE ȚOPA
Rector al
Universității Tehnice din Cluj-Napoca

PREȘEDINTELE JURIULUI,
Prof. dr. ing. RADU MUNTEANU
Radu Munteanu



DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

Subsemnatul, Cociug Adrian, declar pe propria răspundere că materialele prezentate în teza de doctor cuprind propriile activități și realizări. În caz contrar, voi suporta consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Cociug Adrian

2016



CURRICULUM VITAE

Nume / Prenume **Cociug Adrian**

Adresă Or.Ialoveni str. Petre Ștefănuță 34 ap.71

Telefon(oane) Mobil:079048217

E-mail adriancociug77@gmail.com; adi-co@mail.ru

Naționalitate Republica Moldova

Data nașterii 12. 08.1 977

Locul de muncă vizat / Domeniul ocupațional IMSP SCTO, BȚCU medic specialis în prelevarea și procesarea țesuturilor
Anatomie patologică

Experiența profesională 2003-2006 – Rezidențiat clinic în morfopatologie, USMF “Nicolae Testemitanu”, Rep. Moldova
2007-2011 – medic morfopatolog la IMSP Spitalul Clinic de Ortopedie și Traumatologie. Chișinău, Republica Moldova.
2011– până în prezent – medic în Banca de Țesuturi și Celule Umane în IMSP SCTO. Chișinău, Republica Moldova.

2010 – doctorat în USMF “Nicolae Testemitanu”, Republica Moldova, specialitatea morfopatologie.

Perioada 2003-2006

Funcția sau postul ocupat Medic rezident morfopatolog, CNȘP Medicină de Urgență

Activități și responsabilități principale Consultanță curajie

Numele și adresa angajatorului IMSP Spitalul Clinic de Traumatologie și Ortopedie str.Ștefan cel Mare 190

Tipul activității sau sectorul de activitate Medic morfopatolog

Educație și formare	1984-1990 – Școala medie Nr.2 or.Leova, raionul Leova, Rep. Moldova 1990-1994 – Liceul Teoretic "Milescu Spătaru" or.Leova, raionul Leova, Rep. Moldova 1994-2003 – Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu", Rep. Moldova
Calificarea / diploma obținută	Diploma de licență, specialitatea morfopatologie
Participări la foruri științifice naționale și internaționale	• Al X-lea Congres Național de Morfopatologie Microscopică cu Participare Internațională. Aspectele dereglărilor circulatorii ale discurilor intervertebrale lombare în osteocondroză. Volum de rezumate. Societatea Română de Morfologie. Timișoara, România, 24-26 mai 2012. • 4th International Medical Congress for Students and Young Doctors. Some clinical morphopathological aspects of lumbar intervertebral formations. Abstract book. May 17-19, 2012. Chișinău, Republic of Moldova. • 2 nd International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering Geman-Moldovian Workshop on Novel Nanomaterials for Electronic, Photonic and Biomedical Applications. The Dynamics of the Vascular Wall Changes Evolution in the Lumbar Intervertebral Disc. Insights. Proceedings. April 18-20, 2013. • The XIX-th session of the balcan medical days and the second congress of emergency medicine of the Republic of Moldova. The Concordances between MRI and histology evolution of the lumbar intervertebral disc degenerative changes. Archives of the Balcan Medical Union. 2013. • Al XII-lea simpozion național de morfologie microscopică cu participare internațională. Evaluarea imagistică RMN, imunohistochimia cu CD 34 ale arterelor vertebrale în degenerescența discurilor intervertebrale lombare. Volum de rezumate. Societatea Română de Morfologie. Craiova, România, 28-31 mai 2014. • 3 nd International Conference on Nanotechnologies and Biomedical Engineering Geman-Moldovian Workshop on Novel Nanomaterials for Electronic, Photonic and Biomedical Applications. The Modality of the Regeneration of the Intervertebral Lumbar Disc in Osteochondrosis. September 23-25 Chișinău, 2015.
Numele și tipul instituției de învățământ / furnizorului de formare	Universitatea de Stat Medicină și Farmacie „N. Testemițanu
Nivelul în clasificarea națională sau internațională	Medic
Aptitudini și competențe personale	
Limba maternă	Română
Limba(i) străină(e) cunoscută(e)	Rusă, franceză, engleza - intermediar
Competențe și abilități sociale	Adaptare la un mediu multicultural
Competențe și aptitudini organizatorice	Aptitudini de lucru în echipă, sociabil, comunicabil
Competențe și aptitudini de utilizare a calculatorului	Microsoft Office Word, Microsoft Office Excel, Internet, utilizarea PC
Permis(e) de conducere	Categoria- B
Informații suplimentare	Publicații, 12 articole, 6 brevete de invenție. Locotenent în rezervă