

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ CENTRO DE CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**

**HÉRNIA DE DISCO EM REGIÃO CERVICAL: CARACTERÍSTICAS
HISTOPATOLÓGICAS E IMUNOHISTOQUÍMICAS CORRELACIONADAS COM
MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E RADIOLÓGICAS**

Deise Cristiane Ebert

**CURITIBA
2010**

Deise Cristiane Ebert

**HÉRNIA DE DISCO EM REGIÃO CERVICAL: CARACTERÍSTICAS
HISTOPATOLÓGICAS E IMUNOHISTOQUÍMICAS CORRELACIONADAS COM
MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E RADIOLÓGICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do
Paraná, como parte dos requisitos para obtenção do título de
Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Roberto Aguiar

**CURITIBA
2010**

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central

E16h
2010 Ebert, Deise Cristiane
Hérnia de disco em região cervical : características histopatológicas e imunohistoquímicas correlacionadas com manifestações clínicas e radiológicas / Deise Cristiane Ebert ; orientador, Luiz Roberto Aguiar. – 2010
89 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná,
Curitiba, 2010
Bibliografia: 64-68

1. Disco intervertebral - Hérnia. 2. Imunohistoquímica. 3. Coluna cervical - Doenças. 4. Ciências médicas. I. Aguiar, Luiz Roberto. II. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDD 20. ed. – 617.559



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE EXAME DE DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE EM NÍVEL DE MESTRADO DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ.

Aos dois dias do mês de julho de 2010, realizou-se a sessão pública de defesa de dissertação "HÉRNIA DE DISCO EM REGIÃO CERVICAL: CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS E IMUNOHISTOQUÍMICAS CORRELACIONADAS COM MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E RADIOLÓGICAS" apresentada por DEISE CRISTIANE EBERT para obtenção do título de mestre; Área de Concentração: Medicina e áreas afins.

A Banca Examinadora foi composta pelos seguintes membros:

MEMBROS DA BANCA	ASSINATURA
Prof. Dr. Luiz Roberto Aguiar PUCPR - Presidente	
Prof. Dr. Édison Luiz Prisco Farias UFPR	
Prof. Dr. Apio Cláudio Martins Antunes UFRGS	
Prof. Dr. Ricardo Ramina PUCPR	

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

Prof. Dr. Luiz Roberto Aguiar

Conceito: APROVADO

Prof. Dr. Édison Luiz Prisco Farias

Conceito: APROVADO

Prof. Dr. Apio Cláudio Martins Antunes

Conceito: APROVADO

Conceito Final: APROVADO

Observações da Banca Examinadora:

Prof. Dr. Luiz Roberto Aguiar
Presidente da Banca Examinadora

Prof. Dr. Roberto Pecoits Filho
Coordenador do PPGCS PUCPR

Ao Senhor meu Deus que me dá força e coragem para lutar a cada dia...

*Ao meu esposo Rafael que teve paciência nos dias difíceis, nunca me
deixando desistir, muito obrigada meu amor.*

AGRADECIMENTOS

- Ao Senhor Deus que tudo criou e que sempre me abençoa e protege.
- Ao meu pai que sempre trabalhou muito para me proporcionar boa formação acadêmica.
- À minha mãe por seu carinho e dedicação.
- Ao meu esposo, o qual não posso parar de agradecer sua admiração, companheirismo, paciência e carinho.
- À minha filha Laura que ainda bebê se comportou muito bem para que eu pudesse concluir meu trabalho.
- Aos meus amigos que estiveram sempre me apoiando e compreenderam os momentos conturbados.
- Ao meu orientador Luiz Roberto Aguiar, por sua dedicação e paciência em me instruir.
- Ao Dr. Édison Prisco Farias, meu eterno professor, sei que poderei sempre contar com sua ajuda.
- A Dra. Lucia de Noronha que tanto me ajudou na pesquisa, na leitura das lâminas e tudo mais que eu precisei.
- À equipe do laboratório de patologia, em especial à Marina e Ana Paula, que ajudaram na confecção do meu material e as quais eu tanto perturbei.
- À Pontifícia Universidade Católica que me forneceu a bolsa de estudo através do prêmio Marcelino Champagnat.
- À professora Márcia Olandoski que me ajudou muito nas análises estatísticas.
- Ao Dr. Ricardo neurologista do Hospital Cajuru que sempre me atendia e me ajudou nas coletas de amostras.
- Aos residentes da neurologia do Hospital Cajuru na ajuda da coleta das amostras e na organização dos dados clínicos e radiológicos.
- As secretárias da pós-graduação e do Hospital Cajuru que sempre me ajudaram.

- A todos que de alguma forma direta ou indiretamente ajudaram neste trabalho.
- Aos animais, meus queridos pacientes, e seus proprietários que compreenderam quando eu estava ausente.

RESUMO

A hérnia de disco intervertebral cervical é uma doença de caráter degenerativo, com quadro clínico diverso e sendo comum sua ocorrência. Ela ocorre quando o disco se desloca do seu local anatômico em direção a medula ou às raízes nervosas, causando assim deformação mecânica ou irritação local por causa do seu conteúdo.

O disco intervertebral normal é uma estrutura avascular fibrocartilaginosa caracterizada por poucas células na extensa matriz. O processo degenerativo causa mudanças morfológicas no disco. Histologicamente a hérnia do núcleo pulposo, é circundada por tecido de granulação caracterizado por infiltração de células inflamatórias, crescimento de fibroblastos e formação de novos vasos sanguíneos. Há evidências indicando uma reação inflamatória em síndromes discogênicas.

Análises histopatológicas e imunohistoquímicas de hérnias de disco, em geral, têm sido estudadas principalmente na região lombar, assim há poucas descrições de estudos de hérnias cervicais. Mas, pela diferença anatômica e biomecânica das duas regiões a degeneração discal cervical merece estudos específicos.

O estudo aqui apresentado teve como objetivos identificar alterações histopatológicas e inflamatórias em discos intervertebrais cervicais herniados, caracterizar padrões histopatológicos e inflamatórios, quantificando tipos celulares inflamatórios e por fim correlacionar os dados histopatológicos com as manifestações clínicas e radiológicas.

Os discos intervertebrais cervicais foram obtidos de pacientes operados no com diagnóstico estabelecido de hérnia de disco cervical. Estes discos foram preparados para histopatologia e analisados em microscopia óptica.

As alterações histológicas encontradas foram variação no número de condrócitos, presença de reação inflamatória, neovascularização, presença de oxalato de cálcio em discos degenerados, presença de fosfato de cálcio em discos degenerados e sadios, presença de colágeno jovem e maduro. A presença de

reação inflamatória significativa e um maior número de vasos foi observado na porção do ânulo fibroso. Com relação às células inflamatórias pesquisadas, houve predominância de células T.

Foram encontradas poucas correlações clínicas e radiológicas quando comparados aos achados histológicos.

ABSTRACT

A herniated cervical intervertebral disc is a degenerative disease with a clinical diverse and they commonly occur. It occurs when the disc moves from one anatomical site into the spinal cord or nerve roots, thus causing mechanical deformation or local irritation because of its content.

The normal intervertebral disc is an avascular fibrocartilaginous structure characterized by few large cells in the matrix. The degenerative process causes morphological changes in the disc. Histologically hernia nucleus pulposus is surrounded by granulation tissue characterized by infiltration of inflammatory cells, growth of fibroblasts and formation of new blood vessels. There is evidence indicating an inflammatory reaction in discogenic syndromes.

Histopathological and immunohistochemical analysis of herniated disks in general have been studied mainly in the lumbar region, so there are few descriptions of studies of cervical disc degeneration deserves specific studies.

The study presented here aimed to identify the histopathological changes and inflammatory cervical herniated intervertebral discs, histopathological and inflammatory characterize and quantify inflammatory cell types and finally correlate the histopathological findings with clinical manifestations and radiographic findings.

The cervical intervertebral disc were obtained from patients operated on with an established diagnosis of cervical disc herniation. These discs were prepared for histopathology and examined with optical microscopy.

Histological changes were found variation in the number of chondrocytes, inflammatory reaction, neovascularization, presence of calcium oxalate in degenerated discs, the presence of calcium phosphate discs degenerated and healthy presence of young and mature collagen. The presence of significant inflammatory response and a greater number of vessels was observed in the portion of the annulus fibrous. With respect to inflammatory cells studied, a predominance of T cells.

There is very little clinical and radiological correlations when compared to histological findings.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Embriologia e Anatomia do disco intervertebral cervical	18
1.2. Aspectos biomecânicos da coluna	19
1.3. Histologia e Biologia Molecular do Disco Intervertebral	20
1.4. Fisiopatologia da degeneração discal	24
1.5. Reação Inflamatória	26
2. OBJETIVOS	29
2.1. Objetivos gerais	29
2.2. Objetivos específicos	29
3. MÉTODOS	30
3.1. População do Estudo: Critérios de inclusão	30
3.2. Procedimentos	30
3.2.1. Técnica Operatória	30
3.2.2. Caracterização Histopatológica	32
3.2.2.1. Análise dos vasos	33
3.2.2.2. Análise da presença de reação inflamatória	33
3.2.2.3. Contagem celular	33
3.2.2.4. Análise do cálcio	33
3.2.2.5. Análise da área e maturidade do colágeno	34
3.2.3. Caracterização Inflamatória	34
3.2.3.1. Metodologia Tissue Microarray	34
3.2.3.2. Imunohistoquímica	37
3.2.4. Caracterização Clínica	37
3.2.5. Caracterização Radiológica	38
3.3. Metodologia Estatística	39
4. RESULTADOS	40
4.1. Caracterização da amostra	40
4.2. Caracterização Radiológica	40
4.2.1. RX simples de coluna cervical	40

4.2.2. RMN de coluna cervical	41
4.3. Dados histopatológicos e suas correlações com manifestações clínicas e radiológicas	45
4.3.1. Número de vasos	45
4.3.2. Reação Inflamatória positiva	46
4.3.3. Área de colágeno	47
4.3.4. Presença de cálcio	49
4.3.5. Número de condrócitos	50
4.4. Dados Imunohistoquímicos	55
4.4.1. Células inflamatórias	55
5. DISCUSSÃO	56
6. CONCLUSÃO	63
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXOS	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Locais dos centros de ossificação da vértebra cervical	19
Figura 2: Imagens radiográficas da coluna vertebral cervical em diferentes posições	20
Figura 3: Micrografia de um corte em resina acrílica de um disco intervertebral	21
Figura 4: Disco Intervertebral Normal	22
Figura 5: Representação esquemática da molécula de proteoglicano	23
Figura 6: Ilustrações da cirurgia realizada na coluna cervical, em que foram obtidos espécimes para a pesquisa	32
Figura 7: Ilustração do método de retirada do fragmento desejado do bloco doador para análise imunohistoquímica	35
Figura 8: Mecanismo para identificação dos fragmentos removidos dos blocos doadores	35
Figura 9: Bloco receptor contendo os fragmentos dos blocos doadores	36
Figura 10: Lâminas histológicas, utilizadas para a imunohistoquímica, confeccionadas dos blocos receptores	37
Figura 11: Imagens radiográficas da coluna vertebral cervical demonstrando as características analisadas	41

Figura 12: Imagens de ressonância magnética da coluna vertebral cervical demonstrando as características analisadas 42

Figura 13: Imagens de ressonância magnética da coluna vertebral cervical em corte sagital demonstrando sinais de compressão medular e sinais de Modic 42

Figura 14: Imagens de ressonância magnética da coluna vertebral cervical demonstrando o local da extrusão do disco com compressão medular sem acometimento de outros níveis 43

Figura 15: Gráfico da correlação entre idade dos pacientes e o número de condrócitos presentes na cartilagem de discos degenerados 51

Figura 16: Gráfico da correlação entre tempo de início dos sintomas nos pacientes e o número de condrócitos presentes na cartilagem de discos degenerados 51

Figura 17: Resultado das imagens de microscopia óptica das lâminas 33

Figura 18: Resultado da imagem de microscopia óptica da lâmina, examinada com visualização polarizada 54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados da caracterização clínica: dados encontrados para os sinais e sintomas clínicos pesquisados 44

Tabela 2: Resultado da caracterização radiológica: dados encontrados para de alterações de imagens pesquisadas 44

Tabela 3: Resultados obtidos do número de vasos em cada porção do disco degenerado expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos. 45

Tabela 4: Resultado descritivo do número de vasos encontrados nas amostras de cada porção do disco degenerado 46

Tabela 5: Resultados obtidos do número de vasos em cada porção do disco do grupo controle, expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos 46

Tabela 6: Resultados obtidos da reação inflamatória em cada porção do disco degenerado expressos em frequência 47

Tabela 7: Resultado descritivo da reação inflamatória positiva encontrada nas amostras de cada porção do disco degenerado 47

Tabela 8: Resultados obtidos da porcentagem de área ocupada pelo colágeno jovem e maduro em cada porção do disco degenerado, expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos 48

Tabela 9: Resultado da correlação entre a área de colágeno jovem e maduro no ânulo fibroso de discos degenerados com osteófitos anteriores e posteriores em exames radiológicos 48

Tabela 10: Resultados obtidos da porcentagem de área ocupada pelo colágeno jovem e maduro em cada porção do disco do grupo controle, expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos 49

Tabela 11: Resultados obtidos na análise da presença de cálcio em cada porção do disco degenerado expressos em frequência 49

Tabela 12: Resultados obtidos na análise da presença de cálcio em cada porção do disco do grupo controle expressos em frequência 49

Tabela 13: Resultados obtidos do número de condrócitos em cada porção do disco degenerado, expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos 50

Tabela 14: Resultado da correlação entre número de condrócitos na cartilagem com osteófitos anteriores e posteriores em exames radiológicos 51

Tabela 15: Resultados obtidos do número de condrócitos em cada porção do disco do grupo controle, expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos 52

Tabela 16: Resultados obtidos da presença células inflamatórias encontradas na imunohistoquímica expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos 55

GLOSSÁRIO

TNF α - Fator de necrose tumoral –alpha

HNP – Hérnia de núcleo pulposo

RMN – Ressonância Magnética

HDI – Hérnia de disco intervertebral

MEC – Matriz extracelular

PEGs – Proteoglicanos

GAGs - Glicosaminoglicanos

1. INTRODUÇÃO

Hérnia de disco intervertebral (HDI) cervical é uma condição clínica comum, que causa dor no pescoço, freqüentemente com irradiação para os membros superiores, podendo evoluir para quadros de compressão medular. Ela ocorre quando o ânulo fibroso sofre ruptura e o núcleo pulposo do disco intervertebral se desloca para o espaço epidural ou para o forame neural causando deformação mecânica de tecidos nervosos e provocando dor severa (Nygaard *et al.*, 1997; Kuga *et al.*, 2001; Abbed *et al.*, 2007).

O quadro clínico das discopatias cervicais é formado por um grande número de sinais e de sintomas. A maioria é relacionada à lesão de estruturas próprias da região; outros sinais clínicos traduzem o sofrimento de células e fibras nervosas situadas à distância da região cervical, mas a ela indiretamente relacionadas (Abbed *et al.*, 2007).

Estudos epidemiológicos sobre dor observaram que 3,6% da população que sente algum tipo de dor descreve que ela ocorre na região cervical e 8,1% apresentavam dor nos ombros ou membros superiores. Eles revelam ainda que 29% dos pacientes que sofrem de dor na coluna, apresentam algia na região cervical (Kreling *et al.*, 2006; Tosato *et al.*, 2006).

Alguns autores relatam que a extrusão do material discal com ruptura do ânulo, sem outras alterações como espondilose, ocorre mais comumente em pacientes jovens (Debois *et al.*, 1999). Estes pacientes têm como característica sinais clínicos agudos, enquanto pacientes mais idosos possuem normalmente evolução clínica mais crônica (Abbed *et al.*, 2007).

A decisão sobre o tratamento da cervicobraquialgia é complexa e baseada em informações fornecidas por exames de imagem, principalmente radiografias e ressonância magnética (que são exames de rotina para estes pacientes) aliada à interpretação de sintomas e sinais clínicos (Christe *et al.*, 2005).

A HDI na região cervical atualmente tem sido pouco estudada sob o ponto de vista histopatológico e morfológico. A maioria das pesquisas realizadas até o momento é com discos lombares, até porque sua ocorrência é maior. Porém, por

toda sua diferença anatômica e biomecânica a região cervical merece estudos específicos para melhor entendimento da degeneração discal nesta região.

1.1. Embriologia e anatomia do disco intervertebral cervical

A vértebra cervical possui origem mesodérmica, aparecendo por volta da quarta semana de vida embrionária. Ela se desenvolve a partir da notocorda e do tubo neural. O disco inicialmente desenvolve-se rodeado de tecido pericondral e em um ambiente com poucos vasos sanguíneos (Oliveira, 2007). Durante a transição da fase embrionária para a fase fetal, aparecem três centros de ossificação que formarão o corpo vertebral no adulto. A vértebra primitiva possui também dois centros de ossificação que formarão o arco neural posterior (Figura 1). O disco intervertebral se desenvolve com relação direta com o centro de ossificação do corpo vertebral. Os centros de ossificação do arco neural formam o uncus, lateral e posteriormente ao corpo e ao disco. O uncus é uma estrutura vertical com a concavidade na superfície medial. Com isso, o uncus é anatomicamente posicionado para manter a rotação e o encurvamento do pescoço. No nascimento, o disco é separado do uncus por uma parte frouxa do ânulo fibroso. Este tecido frouxo é absorvido na segunda década da vida e dá origem à articulação de Luschka (Poletti, 1996).

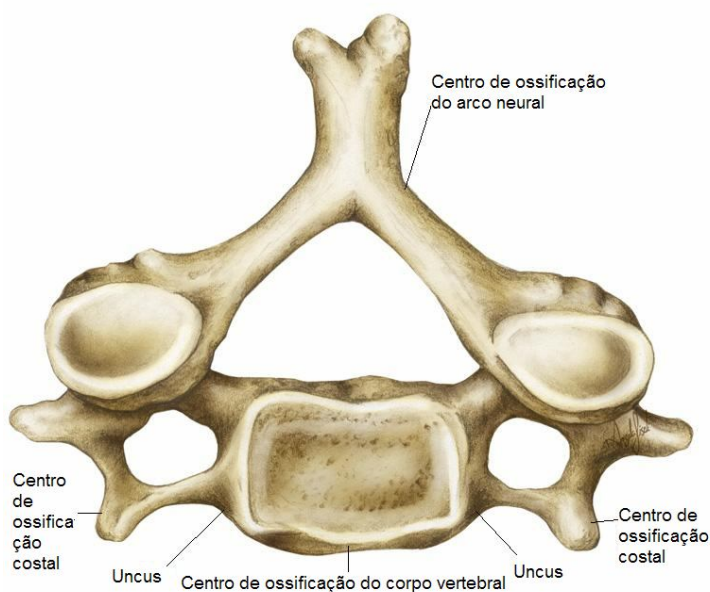


Figura 1: Locais dos centros de ossificação da vértebra cervical. Fonte: Giseli, A., 2008.

O núcleo pulposo é derivado da notocorda e esta estrutura aparece no 19º dia de desenvolvimento, as células da notocorda persistem até o nascimento. Em geral, a notocorda remanescente ocorre com maior frequência na região da coluna cervical (Mcinerney *et al.*, 2000).

O ânulo fibroso é formado por uma densa concentração de células mesenquimais derivadas do esclerotoma, que também formará os músculos, cartilagem e tecido conjuntivo da coluna. O desenvolvimento completo ocorre antes do nascimento e não é influenciado por movimentação ou estresse gravitacional (Mcinerney *et al.*, 2000).

1.2. Aspectos biomecânicos da coluna

O estudo de aspectos biomecânicos é um dos pontos importantes na compreensão da fisiopatologia da degeneração do disco intervertebral. Os movimentos da coluna cervical (Figuras 2), diferentemente da coluna lombar, incluem flexão, extensão, lateralização e rotação, tendo este último grande influência na degeneração do disco. Na coluna lombar, a linha central de rotação da vértebra se situa no meio do disco, enquanto na coluna cervical esta rotação

ocorre no corpo vertebral, acima do disco (Poletti, 1996). Isto determina um maior stress biomecânico no disco e, mesmo frente a movimentos rotacionais fisiológicos, pode-se verificar microtraumas na estrutura fibrocartilaginosa.

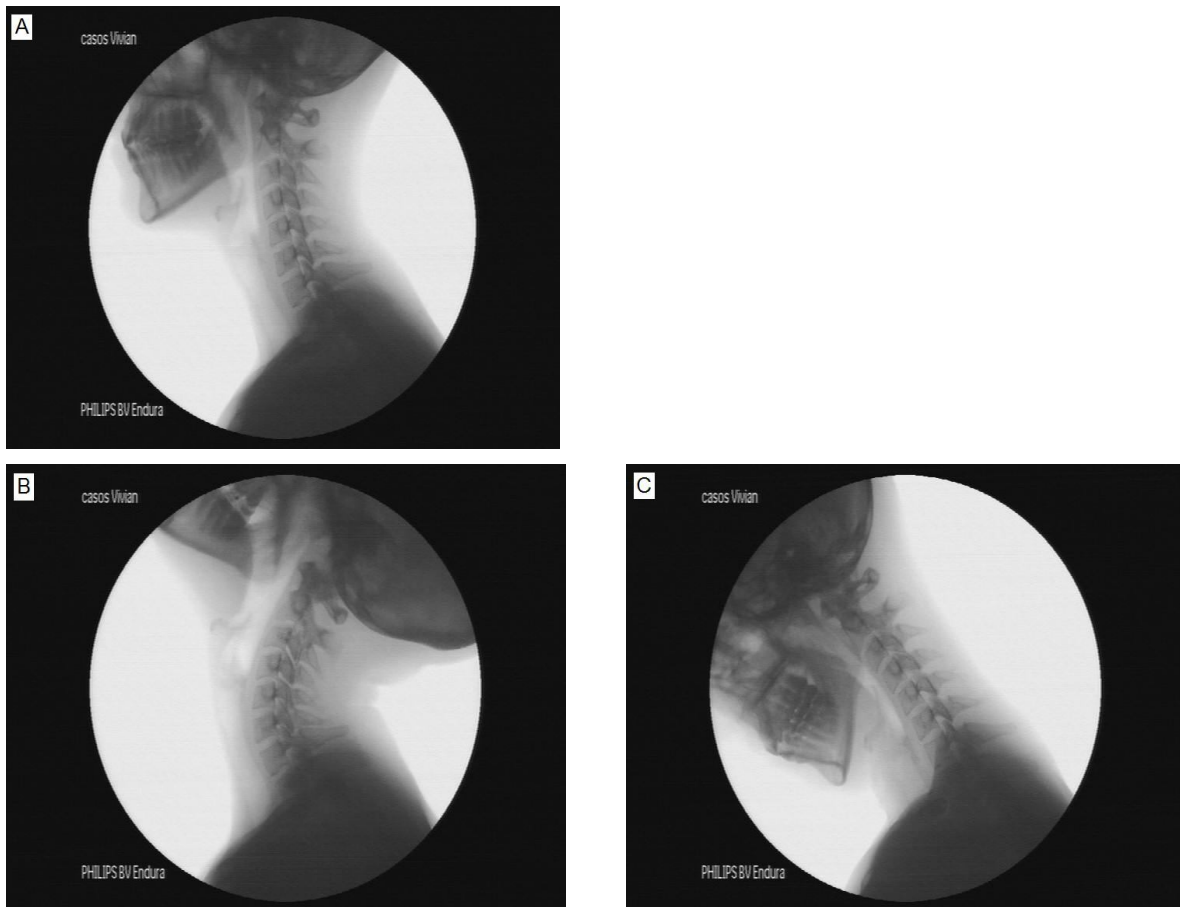


Figura 2: Imagens radiográficas da coluna vertebral cervical em diferentes posições

A. Repouso

B. Extensão.

C. Flexão.

Fonte: Pasqualin, V. D., 2008.

1.3. Histologia e Biologia Molecular do Disco Intervertebral

O núcleo pulposo do disco intervertebral normal é uma estrutura avascular fibrocartilaginosa caracterizada por poucas células na extensa matriz extracelular (MEC) (Figura 3) (Kang *et al.*, 1996; Guiot *et al.*, 2000). Dentro do núcleo pulposo as células são largamente separadas. Não somente mantém, mas fabricam a MEC, e recebem os nutrientes por difusão, tendo a matriz um papel fundamental

neste processo (Kang *et al.*, 1996; Le Maitre *et al.*, 2004; Christe *et al.*, 2005). Morfologicamente as células do disco são diferentes. No platô cartilaginoso e no ânulo fibroso encontramos células mais alongadas, caracterizadas como fibroblastos; comparadas com as do núcleo pulposo que são células arredondadas como condrócitos (Roberts *et al.*, 2006).

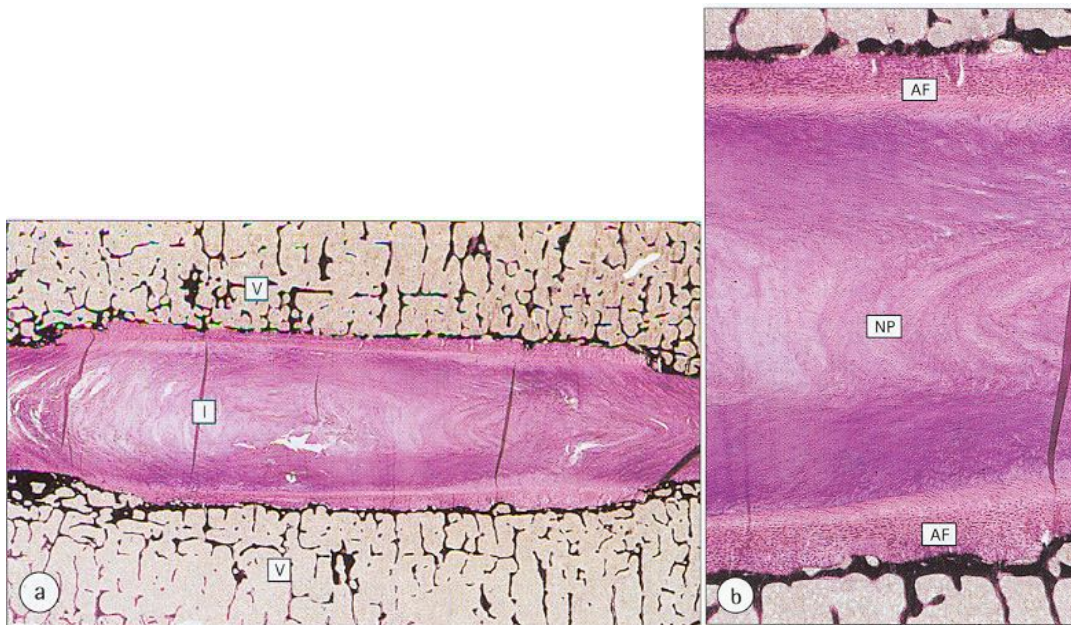


Figura 3 a. Micrografia de um corte em resina acrílica de um disco intervertebral (I) entre duas vértebras (V) coradas por HE; b. Micrografia de parte do mesmo disco intervertebral, em maior aumento, mostrando o anel fibroso (AF) formando uma região externa compacta adjacente ao osso vertebral e ao núcleo pulposo central. Fonte: Steven *et al.*, 2001.

O disco intervertebral normal consiste de um núcleo pulposo circundado por um ânulo fibroso e pelos platôs cartilaginosos adjacentes à superfície da vértebra (figura 4) (Le Maitre *et al.*, 2004). O ânulo fibroso é dividido em dois componentes, sendo composto por lâminas concêntricas de tecido fibrocartilaginoso, com as fibras arranjadas obliquamente em camadas concêntricas, cada camada com fibras dispostas perpendicularmente às fibras das camadas adjacentes. A parte mais externa (ânulo fibroso externo) participa principalmente na estabilização do segmento motor da coluna, juntamente com estruturas ligamentares e as articulações posteriores. A parte mais interna do ânulo fibroso (ânulo fibroso

interno) possui fibras colágenas em direção menos oblíqua, mais vertical, o que explica a relativa frequência de fissuras radiais vistas nesta região. Após os 50 anos de idade, torna-se difícil distinguir o ânulo fibroso interno do núcleo pulposos (Kawaguchi *et al.*, 2001; Roberts *et al.*, 2006).

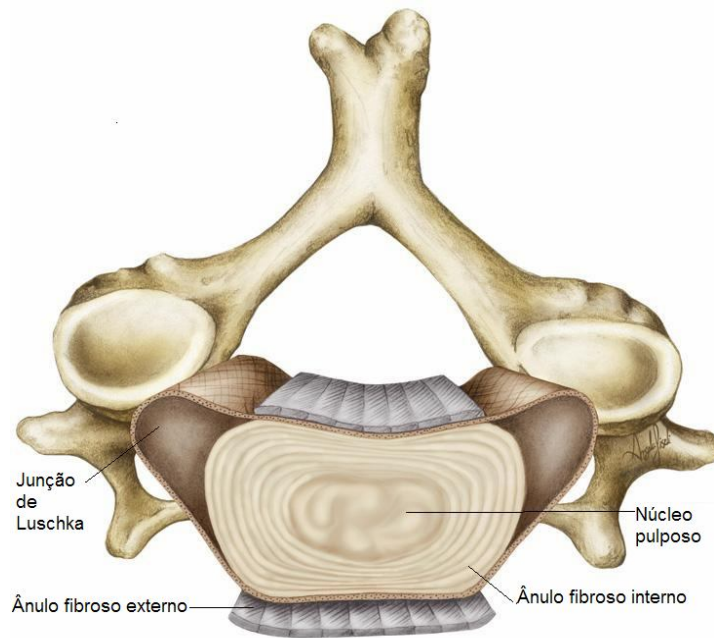


Figura 4: Disco Intervertebral Normal. Fonte: Giseli, A., 2008.

O núcleo pulposos é derivado embriologicamente da notocorda primitiva e funciona como um sistema de absorção de choque. A cartilagem hialina que reveste o platô ósseo (*end plate*) está intimamente aderida à estrutura óssea formando uma lâmina calcificada que contém finos poros que participam ativamente no processo de nutrição dos tecidos à sua volta. Ela é mais espessa na porção central e mais fina na periferia (Kawaguchi *et al.*, 2001; Roberts *et al.*, 2006).

As principais macromoléculas da MEC são colágenos e proteoglicanos (PEGs). Os colágenos conferem tensão e elasticidade ao disco, sendo encontrados principalmente no ânulo fibroso, sendo que neste predomina colágeno I, no núcleo pulposos encontramos em maior quantidade colágeno tipo II. Os PEGs são encontrados predominantemente na parte central do núcleo

pulposo, eles determinam a viscoelasticidade e resistência para forças compressivas, sendo compostos por ácido hialurônico e glicosaminoglicanos (GAGs). Os principais GAGs no núcleo pulposo são condroitim sulfato e queratam sulfato (Figura 5). Essas moléculas possuem carga negativa, atraindo então, cátions de cálcio, sódio e magnésio, desta maneira tornando-se mais concentrado que o plasma resultando na atração de água por osmose (Guiot *et al.*, 2000; Mcinerney *et al.*, 2000; Roberts *et al.*, 2006; Abbed *et al.*, 2007). Com o passar da idade a proporção de condroitim sulfato diminui e a de queratam sulfato aumenta, porém a última possui apenas um sítio de ligação para os cátions, enquanto a primeira possui dois sítios. Conseqüentemente a quantidade de água atraída para o interior do disco diminui (Kang *et al.*, 1996; Guiot *et al.*, 2000).

As fibras de elastina podem ter importante contribuição para a biomecânica do disco intervertebral apesar de não ser encontrada em grande quantidade. Isto se dá devido à sua localização específica, entre as lamelas e por algumas vezes com suas fibras atravessando-as perpendicularmente. Tem sido observado um aumento destas fibras em discos degenerados podendo indicar a progressão da degeneração discal (Roberts *et al.*, 2006; Cloyd *et al.*, 2007).

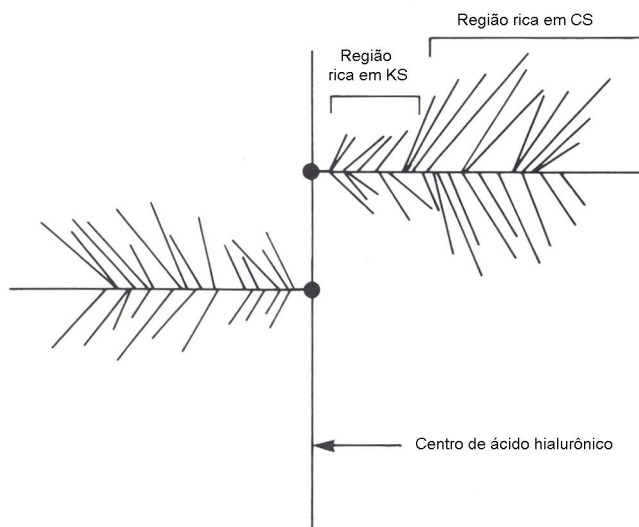


Figura 5: Representação esquemática da molécula de proteoglicano com os locais das cadeias de GAGs, CS (condroitim sulfato) e KS (queratam sulfato). Fonte:(Mcinerney *et al.*, 2000).

1.4. Fisiopatologia da degeneração discal

Os discos intervertebrais parecem sofrer, antes das outras estruturas e órgãos do corpo humano, os efeitos da idade. Sinais de degeneração do disco podem começar muito cedo na vida, estudos observaram os primeiros sinais de degeneração do disco no início da adolescência (Boos *et al.*, 2002). A elasticidade diminui, em consequência da desidratação progressiva do conteúdo nuclear (Abbed *et al.*, 2007)

A chamada involução fisiológica, por si só, não deve levar às alterações discais. Fosse isso verdade, todos os indivíduos deveriam exibir fenômenos patológicos em todos os discos quando atingissem idades avançadas (Maia, 1958; Nunes *et al.*, 2007).

Os micro-traumatismos do cotidiano, somados às diferentes pressões sofridas pelos discos intervertebrais, conseqüentemente às variações de posturas, conduzem, através de mecanismos diferentes, à desidratação nuclear e formação de fissuras no anel. Possivelmente o desencadeamento das fissuras no anel e nas placas cartilaginosas, que se devem aos traumas da movimentação da coluna, é observado independentemente das alterações do núcleo pulposos (Maia, 1958; Nunes *et al.*, 2007).

O fator microtrauma é responsável por algumas das alterações ditas involutivas, do mesmo modo que a desidratação por si mesma, acelerada ou não pelas conseqüências dos traumas. Estudos experimentais demonstram, entretanto, que, isoladamente, isto não é suficiente para justificar as alterações discais observadas em muitos pacientes, uma vez que um disco sadio suporta grandes pressões, sem se alterar de modo permanente (McInerney *et al.*, 2000; Norcross *et al.*, 2003). Somando-se a isso, numerosas vezes são observadas casos onde traumas violentos não produzem alterações, mesmo em se tratando de pessoas idosas, ao passo que em outras, um traumatismo leve, e freqüentemente despercebido, pode gerar o fenômeno patológico (Maia, 1958).

O início e a seqüência da degeneração do disco ainda não estão bem entendidos. Atualmente a degeneração discal tem sido sugerida como resultado

da quebra enzimática da MEC e de processo inflamatório local. A degeneração do disco envolve mudanças biológicas (núcleo) e mudanças estruturais (ânulo). As mudanças estruturais incluem: fissuras, distensão do ânulo, rompimento da borda do ânulo, entre outras. O disco intervertebral contém células, principalmente condrócitos, que respondem à diferenciação carregada por suas mudanças biológicas (Kanemoto *et al.*, 1996; Solovieva *et al.*, 2004).

Há ainda pesquisas que sugerem haver fatores genéticos, como polimorfismo no receptor de vitamina D, que poderiam ter participação na progressão da degeneração discal (Solovieva *et al.*, 2004).

O processo degenerativo causa mudanças morfológicas no disco. Análises anatomo-patológicas mostram mudanças regressivas e degenerativas, áreas de necrose, degeneração mixomatosa com perda da organização das fibras do colágeno na matriz do ânulo, calcificação, e, em parte, neovascularização, em graus variados. No núcleo observa-se perda de tensão pela desidratação, o número de células diminui e a concentração e o diâmetro das fibras colágenas aumenta. Durante o processo de degeneração, o número de células aumenta, porém com sua progressão, a difusão de substâncias diminui, ocorrendo também à privação de oxigênio no disco. Assim a viabilidade celular diminui, conseqüentemente afetando a síntese e manutenção da MEC, e em conjunto suas macromoléculas. A redução destas resulta em menor quantidade de água atraída para o disco. Histologicamente, a degeneração apresenta-se com morte celular e perda da metacromasia na superfície das camadas da cartilagem, as quais têm sido observadas a partir da segunda década de vida, precedendo as mudanças do ânulo fibroso e do núcleo pulposo. Essas mudanças levam a micro fissuras e calcificação da cartilagem, o que compromete os processos passivos de difusão de oxigênio, de hidratação e transporte de glicose do núcleo pulposo (Guiot *et al.*, 2000; Willburger *et al.*, 2004; Roberts *et al.*, 2006).

Havendo um enfraquecimento do ânulo fibroso, como conseqüência do mecanismo degenerativo acima descrito, poderá ocorrer ruptura do mesmo, resultando em hérnia do núcleo pulposo. Histologicamente a hérnia do núcleo pulposo (HNP), é circundada por tecido de granulação caracterizado por infiltração

de células inflamatórias, crescimento de fibroblastos e formação de novos vasos sanguíneos (Gronblad *et al.*, 1994; Haro *et al.*, 1996; Ito *et al.*, 1996; Furusawa *et al.*, 2001; Kawaguchi *et al.*, 2001; Kato *et al.*, 2004). As células inflamatórias provavelmente migram através de células endoteliais dos novos vasos sanguíneos, na periferia do disco lesado. Existem muitos tipos de células inflamatórias na HNP: neutrófilos, linfócitos e macrófagos, sendo estas as mais abundantes (Gronblad *et al.*, 1994; Schollmeier *et al.*, 2000; Kato *et al.*, 2004).

A análise histológica, correlacionada com exames de radiografia e ressonância magnética, possui resultados controversos. Estudos mostram que com a progressiva alteração da MEC, mudanças morfológicas também são vistas em exames radiográficos e de ressonância magnética; e que por isso são exames hábeis e não invasivos para distinguir diferentes estágios de degeneração (Kanemoto *et al.*, 1996; Matsui *et al.*, 1998; Siivola *et al.*, 2002; Burke *et al.*, 2003; Solovieva *et al.*, 2004; Albert *et al.*, 2007). Entretanto, em outras pesquisas não foram detectadas alterações nos exames de imagem correlacionadas com as alterações histológicas (Aydin *et al.*, 2005; Benneker *et al.*, 2005).

1.5. Reação Inflamatória

Há evidências indicando a existência de reação inflamatória em síndromes discogênicas. Isto é sugerido, primeiro, pelo alto índice da atividade enzimática da fosfolipase A2, enzima responsável pela liberação de ácido aracdônico pelas membranas celulares no local da inflamação. Ela é considerada o agente limitante na produção de prostaglandinas e leucotrienos, poderosos mediadores inflamatórios (Demircan *et al.*, 2007). Segundo, pela presença de várias células inflamatórias, principalmente macrófagos no tecido de disco herniado (Gronblad *et al.*, 1994; Ito *et al.*, 1996; Kanerva *et al.*, 1997; Matsui *et al.*, 1998; Rothoerl *et al.*, 1998; Willburger *et al.*, 2004). Por último, pela indução da inflamação em raízes de nervos espinhais, com significativa mudança histológica e funcional, observação de experimentos com animais, com tecido de núcleo pulposo (Gronblad *et al.*, 1994; Habtemariam *et al.*, 1996; Nygaard *et al.*, 1997).

Células inflamatórias produzem citocinas, que têm importante papel no recrutamento de células para o local da lesão (Gronblad *et al.*, 1994; Doita *et al.*, 1996; Haro *et al.*, 1996; Virri *et al.*, 2001a). Muitas formas de inflamação são exageradas, devido ao sistema de amplificação humoral que recruta componentes adicionais do sistema imune, iniciando a produção de mediadores pró-inflamatórios, incluindo citocinas sintetizadas por macrófagos ativados. A ativação de leucócitos causa liberação de enzimas proteolíticas, produção de radicais livres, e síntese de vários mediadores lipídicos (Virri *et al.*, 2001a)

Em tecido de disco herniado, inflamação pode ser induzida por irritação química direta do material do núcleo pulposo ou pode ser secundária à resposta auto-imune do tecido adjacente para o núcleo pulposo, incluindo tecido neural. Reação inflamatória pode ocorrer ao redor da raiz nervosa, independente da compressão mecânica (Doita *et al.*, 1996; Kawaguchi *et al.*, 2001; Virri *et al.*, 2001a; Willburger *et al.*, 2004).

Mudanças degenerativas, incluindo herniação de disco, estão frequentemente associadas à dor, especialmente à movimentação do segmento espinhal. Mas o fato de algumas pessoas com degeneração de disco não sofrerem dor, não está completamente entendido.

Diferentes estruturas podem estar envolvidas no processo da geração da dor, a origem pode ser mecânica e/ou bioquímica, incluindo respostas inflamatórias mediadas através de citocinas pró-inflamatórias (Fritzell *et al.*, 2004).

Citocinas pró-inflamatórias mediadoras da dor têm preferência pela substância P e fator de necrose tumoral α (TNF α). Estes são liberados ou ativados por estruturas nervosas em contato com o núcleo pulposo. Substância P ativa tanto um neuroregulador quanto um neurotransmissor na condução de estímulos nociceptivos, e é um modulador neuroimunológico. Sua presença tem sido demonstrada associada a aumento da permeabilidade vascular endoneural e lesão da raiz nervosa, e alguma função na transmissão da dor tem sido proposta. Altas concentrações de TNF α , e também interleucinas 1, 6 e 8 têm sido demonstradas em pacientes com síndrome crônica de dor (Gronblad *et al.*, 1994;

Burke *et al.*, 2003; Willburger *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2006; Demircan *et al.*, 2007).

Há uma grande quantidade de pesquisas relacionada à fisiopatologia do processo de degeneração de disco intervertebral. A grande maioria destes estudos diz respeito à degeneração do disco intervertebral envolvendo a região lombar, justificado pela grande incidência desta enfermidade nesta região (Gronblad *et al.*, 1994; Habtemariam *et al.*, 1996; Kang *et al.*, 1996; Nygaard *et al.*, 1997; Kawaguchi *et al.*, 2001; Virri *et al.*, 2001a; Solovieva *et al.*, 2004; Willburger *et al.*, 2004; Aydin *et al.*, 2005; Christe *et al.*, 2005). Não se pode esquecer, no entanto, que este problema também afeta a região cervical, o que vem sendo menos estudado (Furusawa *et al.*, 2001; Demircan *et al.*, 2007).

Um maior detalhamento da ocorrência e dos tipos celulares inflamatórios presentes poderá futuramente ajudar no entendimento da patologia do disco cervical, e a importante interação entre a lesão tecidual e o tecido circundante incluindo tecido neural.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais

O presente estudo tem como objetivos identificar alterações histopatológicas e inflamatórias em discos intervertebrais cervicais herniados, caracterizar padrões histopatológicos e inflamatórios, quantificando tipos celulares inflamatórios e correlacionar os dados histopatológicos com as manifestações clínicas e radiológicas, comparando-os com um grupo controle.

2.2. Objetivos específicos

- Identificar o tipo de reação inflamatória presente em discos herniados e a região do disco intervertebral com maior reação inflamatória;
- Avaliar a existência de proliferação vascular em discos degenerados;
- Avaliar a existência e tipo de deposição de Cálcio nas diferentes regiões do disco intervertebral;
- Quantificar as áreas de colágeno jovem e maduro nas diferentes regiões do disco intervertebral;
- Identificar se há variação no número de condrócitos em discos que sofreram alteração degenerativa.

3. MÉTODOS

3.1. População do Estudo: Critérios de inclusão

Os discos intervertebrais cervicais foram obtidos de pacientes operados no Hospital Cajuru. Todos estavam com diagnóstico estabelecido de HDI cervical e, por indicação terapêutica, foram submetidos à cirurgia para retirada do disco herniado. Os critérios de inclusão foram: pacientes de ambos os sexos, com idade entre 18 e 65 anos e com hérnia discal entre C3 à T1. Os pacientes não poderiam ter hérnia discal cervical proveniente de outra etiologia, como por exemplo, neoplasia e infecções, ou com manifestações reumáticas ativas (artrite reumatóide, espondiloartropatias reumáticas de outras etiologias).

Para o grupo controle os discos foram obtidos de pacientes que se submeteram à cirurgia com ressecção do disco intervertebral para realização de artrodese, devido a trauma agudo, com fratura ou luxação com instabilidade, e nos quais não havia evidência de doença degenerativa prévia.

Todos os participantes da pesquisa assinaram termo de consentimento livre e esclarecido, conforme resolução do Comitê de Ética em Pesquisa número 1595.

3.2. Procedimentos

3.2.1. Técnica operatória (figura 6)

Para a realização da discectomia cervical, os pacientes foram submetidos à anestesia geral e intubação orotraqueal e posicionados em decúbito dorsal, com a coluna cervical apoiada em um suporte. Ambos os membros superiores foram tracionados inferiormente, de modo a permitir a visualização da coluna cervical em perfil com auxílio de radioscopia. A incisão de pele foi realizada transversalmente na região cervical, obedecendo à altura do espaço intervertebral delimitado pela radioscopia. O músculo platíma foi descolado do tecido celular subcutâneo e aberto longitudinalmente. Com, dissecação romba, digital, foi realizado acesso à área pré-vertebral, mantendo o feixe vaso-nervoso, com a artéria carótida, veia

jugular e nervo vago permanecendo em posição lateral e a traquéia, esôfago e tireóide medialmente. Visualizado o músculo longo do pescoço de cada lado, foi realizada a incisão com cautério elétrico na linha mediana, permitindo o descolamento do ligamento longitudinal anterior e dos músculos lateralmente e a exposição da superfície vertebral anterior. Aplicados os afastadores de Caspar, sua posição foi confirmada por radioscopia. Em seguida procedeu-se à discectomia, com obtenção do material para esta pesquisa, a técnica utilizada de coleta do material em porções individuais do disco até então não havia sido descrita. Inicialmente, com auxílio de bisturi foram realizados a incisão do ânulo fibroso externo e interno e um espécime foi obtido num frasco para o estudo anatomopatológico, identificado como frasco número 1. Em seguida procedeu-se a remoção do núcleo pulposo, com auxílio de pinça de Love e cureta. Este material foi colhido no frasco de número 2. Após a obtenção da amostra, com auxílio de cureta foram obtidos material do platô cartilaginoso superior e inferior, correspondendo ao frasco número 3. Após a dissecação e exposição do material herniado, o fragmento de hérnia, extruso no canal ou no forame intervertebral, foi colhido e identificado como frasco número 4. Estes frascos foram preenchidos com formalina 10%. A amostra permaneceu em formalina por no mínimo 48 horas. Passado esse tempo o material foi embebido em parafina. As amostras em formalina podem permanecer assim por semanas sem sofrer alterações.

Após a realização de drilagem dos platôs ósseos, foi realizada a artrodese de coluna com enxerto ósseo autólogo e fixação com placa cervical e parafusos monocorticais em titânio. Procedeu-se então ao fechamento por planos separados, incluindo o músculo platisma, subcutâneo e pele.

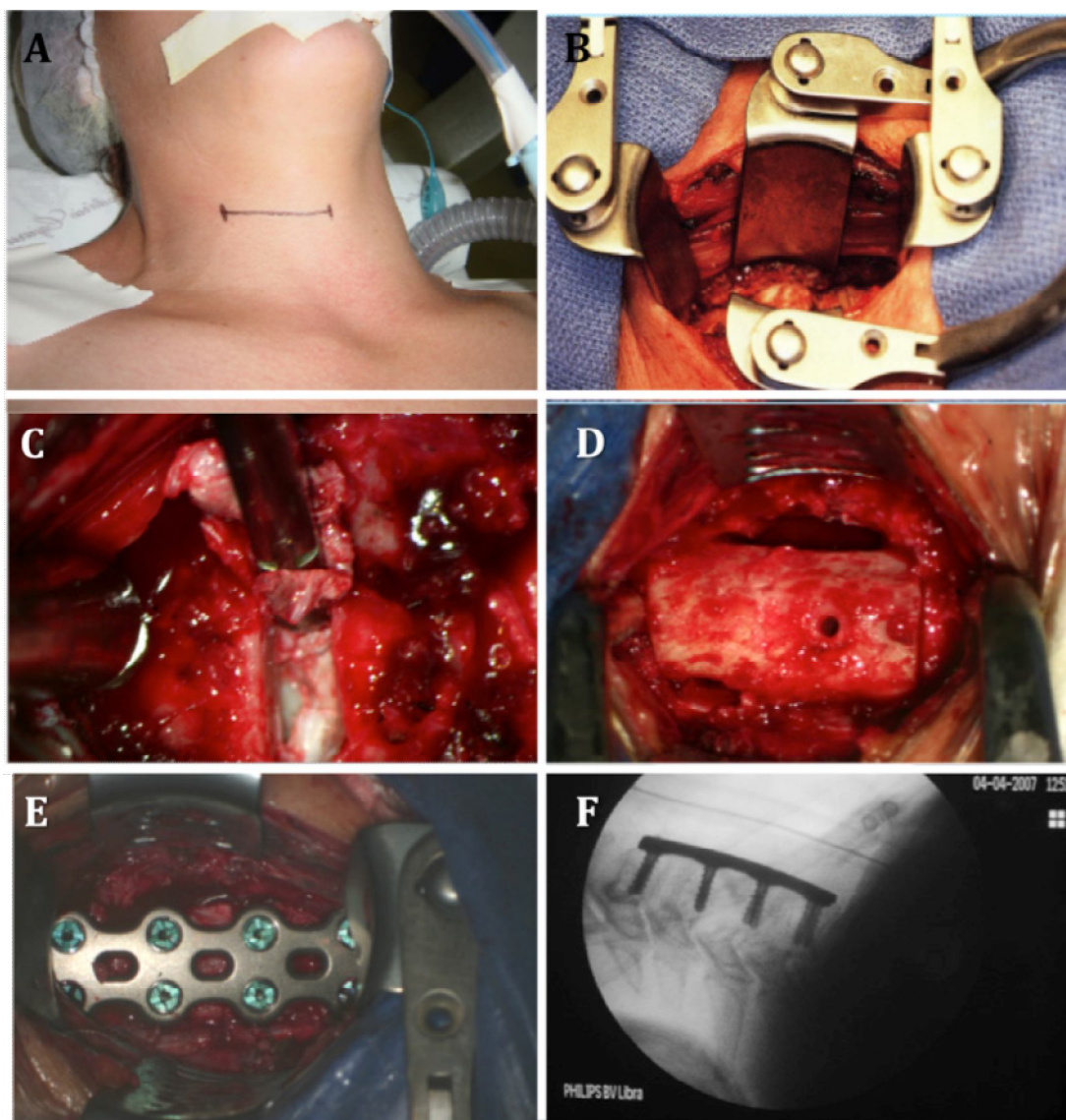


Figura 06.: Ilustrações da cirurgia realizada na coluna cervical, em que foram obtidos espécimes para a pesquisa. A. Posicionamento e delimitação da incisão; B. Após realizada a dissecação romba dos tecido, aplicado o afastador de Caspar para delimitar o campo operatório; C. Imagem microcirúrgica, evidenciando a remoção do núcleo pulposos com pinça Love; D. Interposição de enxerto ósseo no local da dissecctomia. E. Fixação do sistema com placa e parafusos; F. RX simples em perfil evidenciando o sistema de fixação implantado. Fonte: Aguiar, L. R., 2008.

3.2.2. Caracterização Histopatológica

Para a caracterização histopatológica, as amostras do ânulo fibroso, núcleo pulposos, cartilagem e material extruso foram embebidas em parafina, cortadas com micrômetro (4 μ m). Em banho-maria a 90°C foram colocadas em lâmina e

então coradas. Foram utilizadas colorações de hematoxilina e eosina, sirius red, alizarim em pH4,2 e alizarim em pH7. As três últimas colorações foram utilizadas para observar áreas de colágeno, deposição de fosfato de cálcio e deposição oxalato de cálcio, respectivamente.

A lâmina contendo a amostra foi examinada com o microscópio óptico marca Olympus, modelo BX 40 (USTT, Japão), inicialmente com aumento de 100x, e depois no aumento em 200x para melhor visualização.

3.2.2.1. Análise dos vasos

A contagem do número de vasos na amostra foi realizada em lâmina corada com hematoxilina e eosina e examinada em aumento de 200x. Os vasos eram caracterizados pela presença de células endoteliais, formando a parede dos vasos, ou pela presença de eritrócitos em fendas no meio da amostra. Eram descartadas fendas com eritrócitos na periferia da amostra, pois são locais que poderiam ter resíduos celulares do procedimento cirúrgico.

3.2.2.2. Análise da presença de reação inflamatória

A presença de reação inflamatória também foi pesquisada com as amostras coradas com hematoxilina e eosina. A lâmina foi analisada com aumento de 200x. A presença de células inflamatórias, especialmente em situação perivascular caracterizava as amostras consideradas como positivas.

3.2.2.3. Contagem celular

A contagem celular de condrócitos foi realizada com as amostras em lâminas coradas com hematoxilina e eosina e observada em aumento de 200x. A contagem foi realizada selecionando dois campos aleatoriamente.

3.2.2.4. Análise do cálcio

Foram pesquisados dois tipos de cálcio: oxalato de cálcio, utilizando a coloração de alizarim Ph7; e fosfato de cálcio, utilizando pH4,2. As lâminas foram

examinadas em aumento 100x observando a região corada de vermelho que demarca a presença de cálcio.

3.2.2.5. Análise da área e maturidade do colágeno

Para observarmos a área de colágeno e sua maturidade, as lâminas foram preparadas com a coloração de Sirius Red. A análise da área de colágeno foi realizada selecionando-se 5 campos aleatórios, com aumento de 200x e com auxílio de polarizador. Para marcar a área a ser considerada eram selecionadas locais em vermelho, indicando colágeno maduro e locais em verde, indicando colágeno jovem. Para quantificar a área de colágeno, as imagens foram submetidas à análise com o programa Image-Pro Plus (Media Cybernetics - EUA) que identificava a quantidade de áreas marcadas com as cores vermelho ou verde, assim calculava a área total de cada tipo de colágeno.

3.2.3. Caracterização da reação Inflamatória

Para a caracterização da reação inflamatória, as amostras que apresentaram reação inflamatória positiva na análise histológica foram selecionadas e seus blocos preparados pelo método Tissue Microarray. O método foi realizado de forma artesanal, sem o uso de aparelhos manuais ou automáticos como o desenvolvido pela Beecher Instruments (protocolo de patente nº. 1043).

3.2.3.1. Metodologia Tissue Microarray

Os blocos confeccionados com as amostras obtidas receberam o nome de blocos doadores. As lâminas destes blocos confeccionadas e coradas com hematoxilina e eosina foram analisadas com o microscópio para identificação da existência de células inflamatórias. Localizada a região de interesse para corte, esta foi marcada com caneta. Através do sistema de espelho, a lâmina marcada foi utilizada para localização da região no bloco-doador, que por sua vez, também recebeu uma marcação (Figura 7A). Para retirar o fragmento do bloco doador foi utilizada a pinça do tipo Punch de biópsia de pele, com diâmetro de 2 mm (Figura 7B). Para que os discos extrusos sejam devidamente localizados conforme sua

identificação individual, foi confeccionado um mapa que servirá de apoio. Esse mapa segue o estilo de um jogo de “batalha naval”, onde as colunas são identificadas com letras e as linhas com números. Cada fragmento recebeu a identificação de uma letra mais um número (Ex A1, C5, etc) (figura 8).

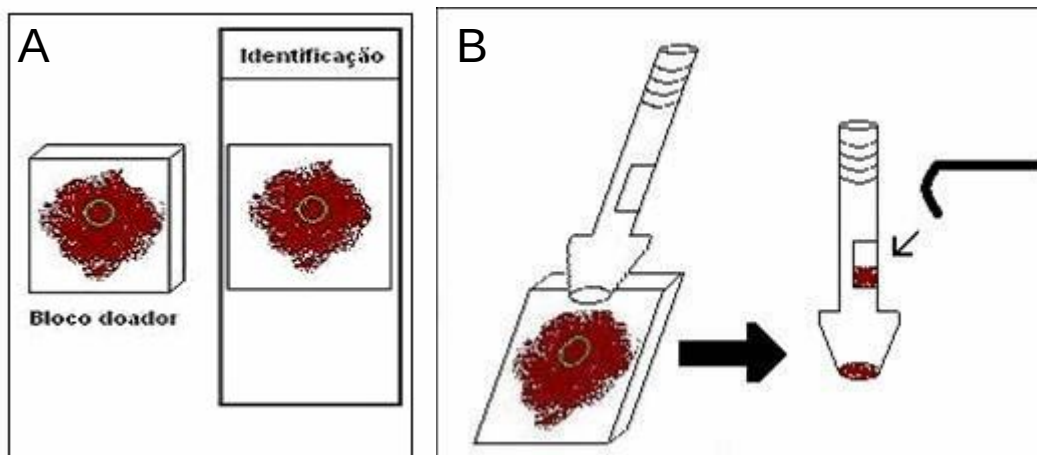


Figura 7: Ilustração do método de retirada do fragmento desejado do bloco doador para análise imunohistoquímica. A. Identificação na lâmina histológica do local de onde se deve remover o fragmento do bloco doador. B. Método de remoção do fragmento no bloco doador através da pinça de Punch. Fonte: Laboratório de Patologia Experimental PUC-PR.

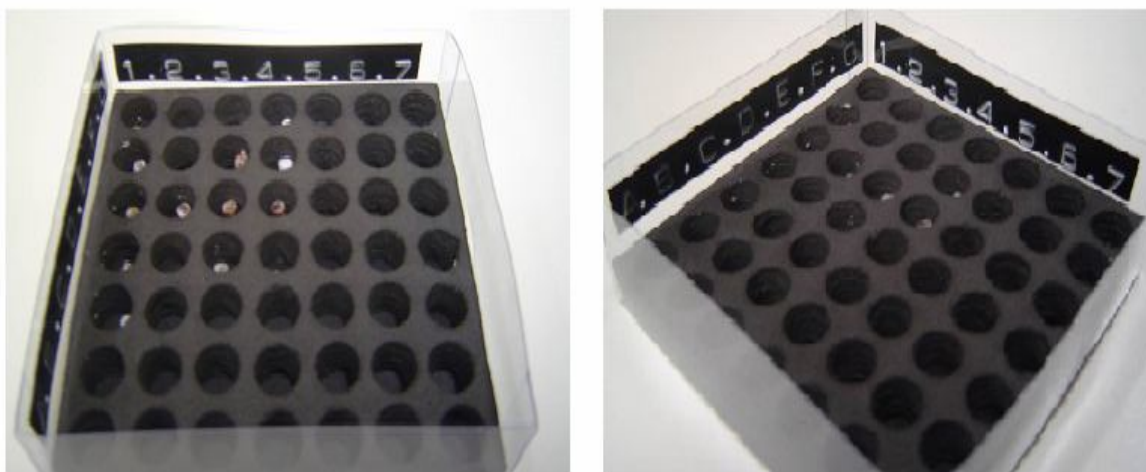


Figura 8: Mecanismo para identificação dos fragmentos removidos dos blocos doadores. Fonte: Laboratório de Patologia Experimental PUC-PR.

Uma vez montado o mapa, os blocos doadores foram organizados na bancada do laboratório conforme foi estabelecido pelo mapa, de forma a serem utilizados seqüencialmente para montagem do bloco final receptor. O bloco-receptor foi confeccionado, através dos seguintes passos:

- a) Aquecimento da pinça do tipo Punch para penetração no bloco de parafina.
- b) Introdução da pinça quente na área demarcada do bloco doador.
- c) Pressão e torção aplicadas na pinça para penetração e corte do fragmento.
- d) Retirada da pinça contendo o fragmento da amostra.
- e) Retirada do fragmento contido na pinça.

Depois de retirados os fragmentos de todos os blocos doadores, e organizados conforme o mapa, dois novos blocos receptores foram montados, contendo os múltiplos fragmentos dos discos (figura 9). Uma vez pronto o bloco receptor, foram confeccionadas novas lâminas histológicas (figura 10). Para isso os novos blocos foram cortadas com micrômoto (4 μ m) e em banho-maria a 90°C foram colocadas em lâmina e então coradas com coloração de hematoxilina.

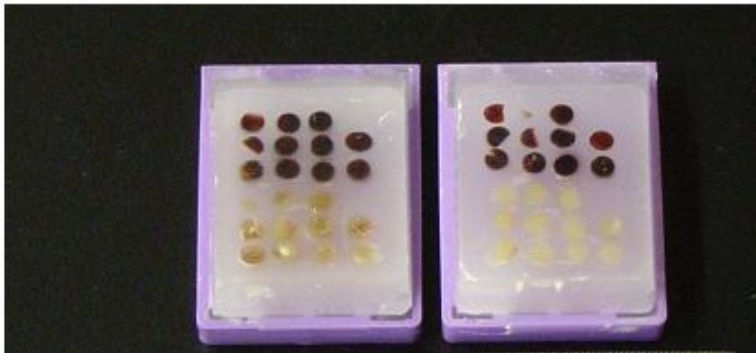


Figura 9: Bloco receptor contendo os fragmentos dos blocos doadores. Fonte: Laboratório de Patologia Experimental PUC-PR.

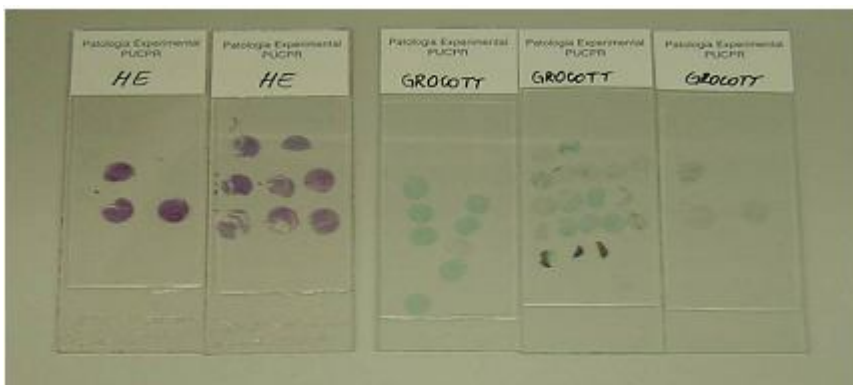


Figura 10: Lâminas histológicas, utilizadas para a imunohistoquímica, confeccionadas dos blocos receptores. Fonte: Laboratório de Patologia Experimental PUC-PR.

3.2.3.2. Imunohistoquímica

Para análise imunohistoquímica foram utilizados os anticorpos monoclonais CD68, CD45RO e CD74. Deste modo identifica-se a presença de macrófagos, linfócitos T e linfócitos B, respectivamente. Foi seguido o protocolo descrito no anexo 1.

Foi realizada a contagem do número de células: linfócitos T, linfócitos B e macrófagos encontrados em cada amostra, sendo considerado mais de 20 células como em grande número e de 1 a 20 células pequeno número (Furusawa *et al.*, 2001; Kato *et al.*, 2004; Solovieva *et al.*, 2004; Aydin *et al.*, 2005).

3.2.4. Caracterização Clínica

Os seguintes dados foram obtidos do prontuário, ou quando necessário, mediante exame específico do paciente. Estes dados foram coletados apenas dos pacientes do grupo caso.

- a) Idade e gênero
- b) Manifestações clínicas
 - Dor (sim, não);
 - Distúrbios de sensibilidade (sim, não);
 - Alteração de reflexos: ausente, hipoativo, normal, hiperativo e hiperreflexia;

- Presença de sinal de Hoffmann (sim, não);
- Déficit de força muscular, os pacientes foram avaliados através da escala "Medical Research Council" (MRC): grau 0 (ausência de contração), grau I (contração muscular sem deformidade articular), grau II (contração com deformidade anulando a gravidade) grau III (vence a gravidade) grau IV (vence pequenas resistências) grau V (normal);
- Presença de distúrbio de tônus muscular: hipotonia, hipertonia e sem alteração.

c) Tempo de aparecimento dos sintomas (dias)

d) Evolução temporal dos sintomas (piora, melhora ou inalterado).

e) Padrão da lesão

- Monoradicular (padrão de acometimento de nervo periférico, com déficit de força, hipotonia, hiporreflexia, alteração de sensibilidade em trajeto radicular);
- Poliradicular (padrão de acometimento de nervo periférico, com déficit de força, hipotonia, hiporreflexia, alteração de sensibilidade em trajeto de mais de uma raiz cervical);
- Medular (sinais de lesão de neurônio motor superior com espasticidade, hipertonia, hiperreflexia);

3.2.5. Caracterização Radiológica

Os dados para a caracterização radiológica foram obtidos apenas do pacientes do grupo caso.

a) Radiografia simples de coluna cervical: as imagens analisadas foram nas posições lateral e antero-posterior.

- Redução de altura do espaço intervertebral (sim, não);
- Presença de osteófitos posteriores (sim, não), anteriores (sim, não);
- Estenose de forame intervertebral (sim, não).
- Níveis vertebrais afetados (C4-T1).

b) Ressonância Magnética (RMN) de coluna cervical: as imagens analisadas foram em cortes transversais e sagitais.

- Presença de disco preto (sim, não);
- Presença de sinais de Modic I, II e III (sim, não);
- Acometimentos de níveis adjacentes (sim, não);
- Local da extrusão discal (direita, esquerda, central).

Os sinais de Modic são alterações de sinal dos platôs vertebrais adjacentes ao disco degenerado. No início da degeneração ou em casos agudos a imagem em RMN aparece com edema (branco em T2 e escuro em T1) chamado de tipo I da classificação de Modic; em seguida há as substituições gordurosas destes platôs (brancos em T1 e T2), sendo esta alteração o tipo II de Modic; e por fim ocorre a esclerose óssea (hipossinal em T1 e T2) caracterizando o tipo III de Modic (Modic *et al.*, 1988).

3.3. Metodologia Estatística

Os resultados obtidos no estudo foram expressos por médias, medianas, valores mínimos, valores máximos e desvios padrões ou por frequências e percentuais. Para a comparação dos grupos em relação a variáveis quantitativas, foi usado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Em relação a variáveis nominais dicotômicas, as comparações foram feitas usando-se o teste exato de Fisher. Para a avaliação da associação entre duas variáveis quantitativas foram considerados o coeficiente de correlação de Spearman e analisada a sua significância. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Os dados foram organizados e analisados pelo programa computacional EpiInfo v.3.4.3.

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização da amostra

Após a coleta das amostras algumas foram excluídas por terem sido coletadas de forma inadequada e pela realização de coleta de pacientes com mais de 65 anos.

No total foram obtidas 14 amostras. Destas 11 eram homens e 3 eram mulheres com idade média de 44,57 anos (23 a 63 anos). A média para o tempo de duração dos sintomas foi de 454 dias (10 a 2880 dias). Os demais dados clínicos estão organizados na tabela 1.

Para controle, foram coletadas 7 amostras de discos obtidos de pacientes que foram submetidos a cirurgia com ressecção do disco intervertebral para realização de artrodese, devido a trauma agudo, com fratura ou luxação com instabilidade, e nos quais não havia evidência de doença degenerativa prévia.

4.2. Caracterização Radiológica

4.2.1. Radiografia simples de coluna cervical

Podemos observar uma redução do espaço intervertebral em todos os pacientes examinados (figura 11B). A presença de osteófitos posteriores foi encontrada em 6 (42,9%) dos pacientes e a de osteófitos anteriores foram em 9 (64,3%) (figura 11A). Estenose do forame intervertebral foi observada em 4 (28,6%) dos casos.

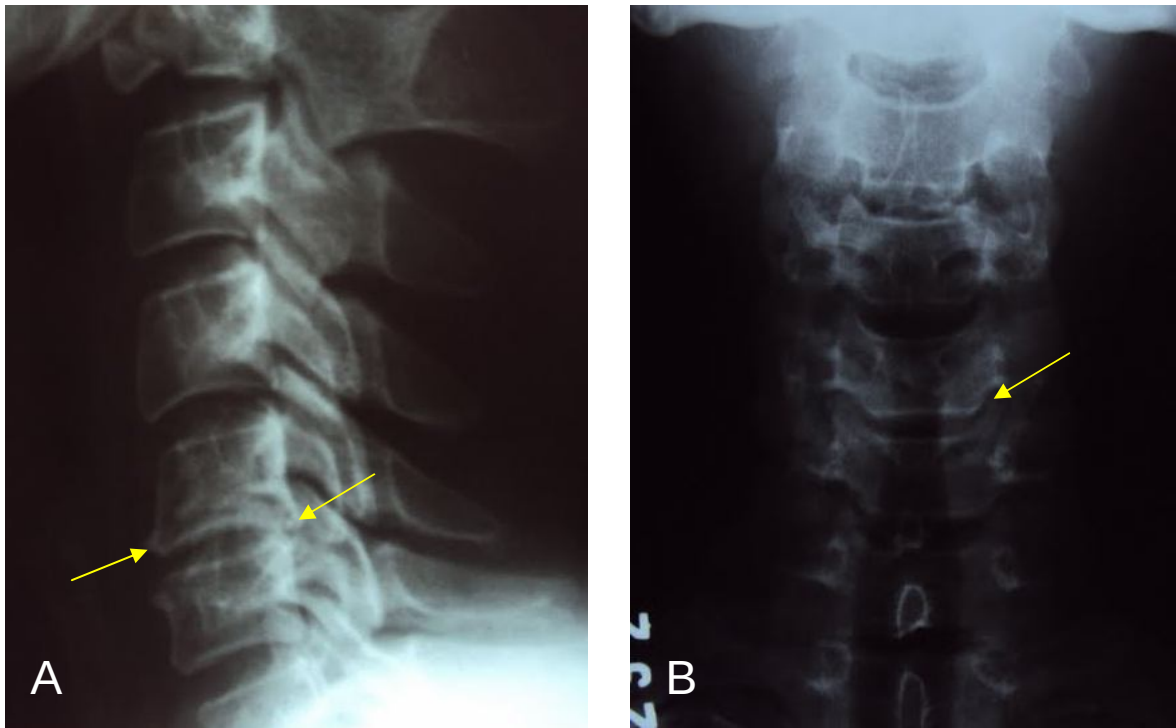


Figura 11: Imagens radiográficas da coluna vertebral cervical demonstrando as características analisadas

A: Imagem em incidência lateral, observar a proliferação de osteófitos anteriores e posteriores indicado pelas setas.

B: Imagem em incidência antero-posterior, observar a diminuição do espaço intervertebral indicado pelas setas.

4.2.2. RMN de coluna cervical

Com este exame de imagem foram registrados ocorrências de disco preto (figura 12B) e acometimentos de níveis adjacentes em 10 (71,4%) pacientes (figuras 13 e 14). Os locais de extrusão foram (figura 12A), direita em 6 (42,9%) casos, esquerda e central 4 (28, 6%) casos cada. Sinal de Modic tipo II foi encontrado em um paciente (figura 13).

Demais dados observados nos exames de imagens estão organizados na tabela 2.

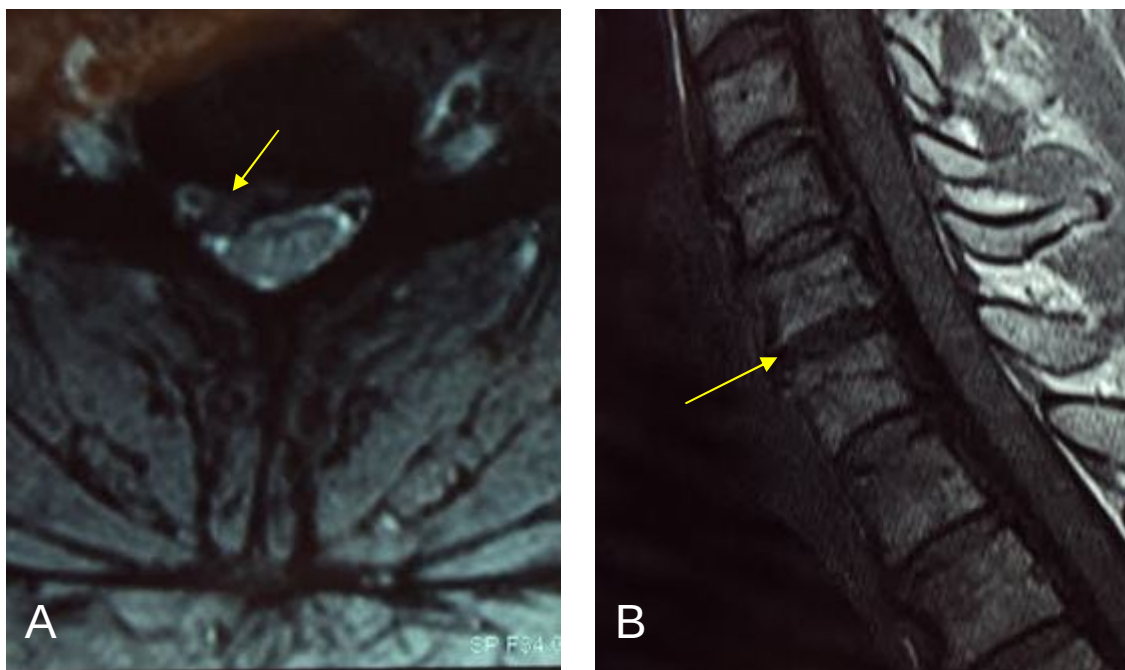


Figura 12: Imagens de ressonância magnética da coluna vertebral cervical demonstrando as características analisadas.

A. Imagem em corte transversal, observar o material extruso comprimindo a raiz nervosa indicada pela seta.

B. Imagem em corte sagital, observar o disco preto indicado pela seta.

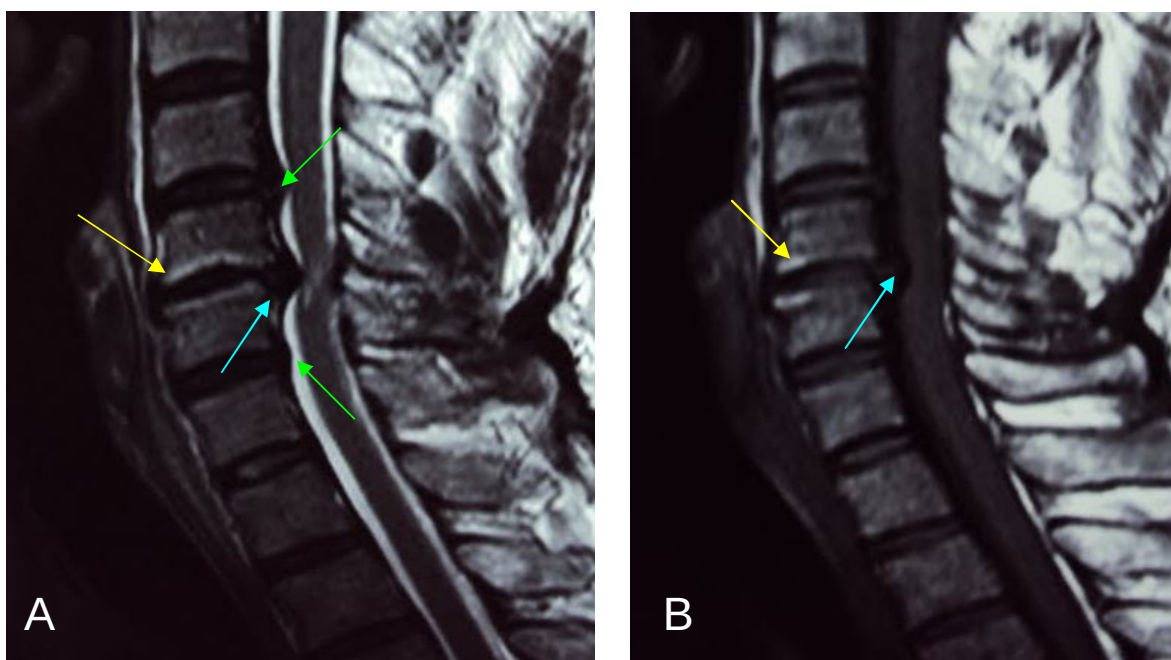


Figura 13: Imagens de ressonância magnética da coluna vertebral cervical em corte sagital demonstrando sinais de compressão medular e sinais de Modic.

A. Imagem em sequência T2 observar o sinal de Modic II indicado pela seta amarela. As setas verdes indicam acometimento de níveis adjacentes e a seta azul indica o local de maior compressão medular.

B. Imagem em sequência T1 observar o sinal de Modic II indicado pela seta amarela. A seta azul indica o local de maior compressão medular.



Figura 14: Imagens de ressonância magnética da coluna vertebral cervical demonstrando o local da extrusão do disco (indicado pela seta) com compressão medular sem acometimento de outros níveis.

A. Imagem em corte sagital em seqüência T2.

B. Imagem em corte sagital em seqüência T1.

Tabela 1: Resultados da caracterização clínica: dados encontrados para os sinais e sintomas clínicos pesquisados.

Idade	Sexo	Tempo início sintomas (dias)	Evolução temporal sintomas	Padrão da Lesão	DOR	Hoffmann	Distúrbio de sensibilidade	Alteração Reflexo	Força Muscular	Tônus muscular
28	Masc	20	Inalterado	Monoradicular	SIM	NÃO	NÃO	Hipoativo	grau IV	Normal
53	Masc	2880	Piora	Poliradicular	SIM	NÃO	SIM	Normal	grau II	Normal
37	Fem	30	Inalterado	Monoradicular	SIM	NÃO	SIM	Normal	grau V	Normal
51	Masc	365	Piora	Poliradicular	SIM	NÃO	SIM	Normal	grau V	Normal
39	Fem	180	Piora	Monoradicular	NÃO	NÃO	SIM	Ausente	grau V	Normal
51	Masc	365	Piora	Poliradicular	SIM	NÃO	SIM	Normal	grau V	Normal
23	Masc	10	Inalterado	Monoradicular	NÃO	NÃO	NÃO	Normal	grau II	Normal
57	Masc	60	Inalterado	Monoradicular	SIM	NÃO	SIM	Normal	grau V	Normal
35	Masc	1800	Piora	Medular	SIM	SIM	SIM	Hiperreflexia	grau III	Hipertonia
43	Masc	160	Melhora	Monoradicular	NÃO	NÃO	SIM	Normal	grau V	Normal
56	Masc	300	Piora	Medular	SIM	NÃO	SIM	Normal	grau IV	Normal
63	Fem	105	Piora	Monoradicular	SIM	NÃO	NÃO	Normal	grau V	Normal
45	Masc	21	Piora	Medular	NÃO	SIM	NÃO	Hiperreflexia	grau IV	Hipertonia
43	Masc	60	Inalterado	Poliradicular	SIM	NÃO	SIM	Hiperativo	grau V	Normal

Tabela 2: Resultado da caracterização radiológica: dados encontrados para de alterações de imagens pesquisadas

Redução da altura do espaço intervertebral	Presença de osteófitos posteriores	Presença de osteófitos anteriores	Estenose de forame intervertebral	Disco Preto	Sinal de Modic	Local de extrusão	Acometimento de níveis adjacentes
SIM	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	AUSENTE	DIREITA	NÃO
SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	AUSENTE	DIREITA	SIM
SIM	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	AUSENTE	DIREITA	NÃO
SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	AUSENTE	ESQUERDA	SIM
SIM	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	AUSENTE	DIREITA	NÃO
SIM	SIM	SIM	SIM	SIM	AUSENTE	ESQUERDA	SIM
SIM	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	AUSENTE	ESQUERDA	SIM
SIM	NÃO	SIM	NÃO	SIM	AUSENTE	ESQUERDA	SIM
SIM	SIM	SIM	NÃO	SIM	AUSENTE	CENTRAL	NÃO
SIM	SIM	SIM	NÃO	SIM	AUSENTE	CENTRAL	SIM
SIM	NÃO	SIM	SIM	SIM	AUSENTE	CENTRAL	SIM

4.3. Dados histopatológicos e suas correlações com manifestações clínicas e radiológicas

Com a técnica utilizada foi possível observar alterações individuais de cada porção do disco intervertebral. As alterações pesquisadas foram: número de vasos, presença de reação inflamatória, área de colágeno, maturidade do colágeno, presença de cálcio, tipo de cálcio e número de condrócitos. Os resultados da análise de cada alteração histopatológica estão em seguida descritos.

4.3.1. Número de vasos

Foi observada a presença de vasos em pelo menos uma das quatro porções discais de cada amostra de discos degenerados (figura 17C e 17D). Analisando porções separadamente, o ânulo fibroso possui o maior número de vasos encontrados (Tabela 3). Na cartilagem e no ânulo fibroso somente uma amostra não apresentou vascularização; no núcleo pulposo e no material extruso algumas amostras não apresentaram neovasos (tabela 4).

Tabela 3: Resultados obtidos do número de vasos em cada porção do disco degenerado expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos.

Material	Mínimo	Máximo	Média	Mediana
Cartilagem	0	19	5,4	2,5
Ânulo Fibroso	0	249	34,4	10,5
Núcleo Pulposo	0	24	3,5	1
Material Extruso	0	33	7,4	3

Tabela 4: Resultado descritivo do número de vasos encontrados nas amostras de cada porção do disco degenerado.

Amostra	Cartilagem	Ânulo Fibroso	Núcleo Pulposo	Material Extruso
1	9	20	8	4
3	1	3	0	10
6	13	29	0	0
12	1	83	0	4
13	3	31	2	0
15	1	2	2	26
16	3	0	6	2
17	2	11	5	17
18	19	3	24	33
20	4	27	0	0
23	1	8	0	0
24	2	6	0	0
25	17	249	2	0
27	0	10	0	7

O grupo controle apresentou vasos nas três porções do disco analisadas, sendo encontrado o maior número de vasos na porção do ânulo fibroso (tabela 5).

Tabela 5: Resultados obtidos do número de vasos em cada porção do disco do grupo controle, expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos.

Material	Mínimo	Máximo	Média	Mediana
Cartilagem	0	14	3,7	2
Ânulo Fibroso	0	28	11,9	6
Núcleo Pulposo	0	3	0,9	0

4.3.2. Reação inflamatória positiva

Entre as porções estudadas, o ânulo fibroso é a que apresenta maior frequência no aparecimento de inflamação (tabela 6). A reação inflamatória está presente em pelo menos uma das porções do disco de cada amostra de disco degenerado (tabela 7), (figura 17A e 17B). No grupo controle três amostras apresentaram reação inflamatória positiva na porção do ânulo fibroso.

Tabela 6: Resultados obtidos da reação inflamatória em cada porção do disco degenerado expressos em frequência.

Material	Frequência (n=14)
Cartilagem	14,3%
Ânulo Fibroso	78,6%
Núcleo Pulposos	7,1%
Material extruso	57,1%

Tabela 7: Resultado descritivo da reação inflamatória positiva encontrada nas amostras de cada porção do disco degenerado

Amostra	Cartilagem	Ânulo Fibroso	Núcleo Pulposos	Material Extruso
1	N	S	N	S
2	N	S	N	S
3	N	S	N	N
4	N	S	N	N
5	N	S	N	N
6	N	N	N	S
7	N	N	N	S
8	S	S	N	S
9	N	N	S	S
10	N	S	N	N
11	N	S	N	N
12	N	S	N	S
13	S	S	N	N
14	N	S	N	S

S = Sim; N = Não

4.3.3. Área de colágeno

O colágeno maduro e jovem (Figura 18) mostrou uma média de distribuição homogênea entre as porções do disco degenerado (tabela 8). Assim, observamos que não há uma região discal com maior ou menor quantidade de colágeno, seja ele maduro ou jovem.

Quando comparados os resultados obtidos através do teste exato de Fisher da área de colágeno de discos degenerados com exames de imagem, foi encontrada relação significativa entre a presença de osteófitos com a área de

colágeno (maduro e jovem) no ânulo fibroso $p = 0,008$ (tabela 9); outro dado de imagem que apresentou significância foi presença de disco preto em exames de ressonância magnética e a área de colágeno (maduro e jovem) no ânulo fibroso $p = 0,02$.

Tabela 8: Resultados obtidos da porcentagem de área ocupada pelo colágeno jovem e maduro em cada porção do disco degenerado, expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos.

Material	Mínimo %		Máximo %		Média %		Mediana %	
	Jovem	Maduro	Jovem	Maduro	Jovem	Maduro	Jovem	Maduro
Cartilagem	0,0	4,5	95,5	100	54,4	45,2	62,0	35,9
Ânulo								
Fibroso	12,8	15,0	85,0	87,1	50,6	49,3	53,7	45,9
Núcleo								
Pulposo	32,5	13,5	86,5	67,5	59,4	40,6	56,4	43,5
Material								
Extruso	6,0	4,7	95,3	94,0	58,6	41,4	59,9	40,1

Tabela 9: Resultado da correlação entre a área de colágeno jovem e maduro no ânulo fibroso de discos degenerados com osteófitos anteriores e posteriores em exames radiológicos.

	Classificação	n	Área colágeno jovem %	Área colágeno maduro %
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	42,4	57,5
	Sim	6	69,1	30,9
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	33,9	66,1
	Sim	9	62,8	37,2

A área de colágeno no grupo controle teve como resultado uma porcentagem discretamente maior de colágeno jovem em relação à área de colágeno maduro (tabela 10). Porém, entre as porções do disco a distribuição da área de maturidade do colágeno foi homogênea.

Tabela 10: Resultados obtidos da porcentagem de área ocupada pelo colágeno jovem e maduro em cada porção do disco do grupo controle, expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos.

Material	Mínimo %		Máximo %		Média %		Mediana %	
	Jovem	Maduro	Jovem	Maduro	Jovem	Maduro	Jovem	Maduro
Cartilagem	43,6	14,2	85,8	56,4	62,8	37,2	59,9	40,1
Ânulo								
Fibroso	30,4	6,9	93,1	69,6	55,5	44,5	46,2	53,8
Núcleo								
Pulposo	50,3	23,5	76,5	49,7	63,5	36,5	62,6	37,4

4.3.4. Presença de cálcio

A presença de fosfato de cálcio (figura 17G) mostrou-se positiva em todas as porções do disco degenerado, e em maior frequência na porção da cartilagem e do material extruso (tabela 11). O oxalato de cálcio (figura 17H) não apresentou positividade no núcleo pulposo, com uma frequência menor que o fosfato de cálcio nas outras porções discais.

Tabela 11: Resultados obtidos na análise da presença de cálcio em cada porção do disco degenerado expressos em frequência.

Material	Oxalato de Cálcio (n=14)	Fosfato de Cálcio (n=14)
Cartilagem	14,3%	21,4%
Ânulo Fibroso	7,1%	14,3%
Núcleo Pulposo	0	14,3%
Material extruso	7,1%	21,4%

No grupo controle não foi encontrado a presença de oxalato de cálcio em nenhuma das porções discais analisadas. A presença de fosfato de cálcio está uniformemente distribuída nas porções da cartilagem e ânulo fibroso (tabela 12).

Tabela 12: Resultados obtidos na análise da presença de cálcio em cada porção do disco do grupo controle expressos em frequência.

Material	Oxalato de Cálcio (n=14)	Fosfato de Cálcio (n=14)
Cartilagem	0	42,9%
Ânulo Fibroso	0	42,9%
Núcleo Pulposo	0	0

4.3.5. Número de condrócitos

O número de condrócitos (figura 17E e 17F) não apresentou uma diferença significativa entre as quatro porções discais degeneradas (tabela 13), entretanto, o núcleo pulposo tenha mostrado um número menor da presença de condrócitos e o ânulo fibroso tenha apresentado um número maior destas células. Portanto, observamos que não há diferença no número de células entre as porções do disco degenerado.

Quando comparado os resultados obtidos através do teste exato de Fisher do número de condrócitos de discos degenerados com exames de imagem, foi encontrada relação significante entre o número de condrócitos na cartilagem e a presença de osteófitos posteriores $p = 0,029$, e presença de osteófitos anteriores $p=0,002$ (tabela 14). A presença de osteófitos posteriores também apresentou significância com o número de condrócitos no núcleo pulposo $p=0,02$. Nos exames de ressonância magnética a presença de disco preto apresentou significância com o número de condrócitos na cartilagem $p = 0,014$.

Para compararmos duas variáveis quantitativas utilizamos o teste de Coeficiente de correlação de Spearman, deste modo pudemos encontrar correlação entre o número de condrócitos na cartilagem com o tempo de início dos sintomas $p=0,03$, e o número de condrócitos na cartilagem com idade $p=0,005$ (figura 15 e 16)

Tabela 13: Resultados obtidos do número de condrócitos em cada porção do disco degenerado, expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos.

Material	Mínimo	Máximo	Média	Mediana
Cartilagem	53	213	114,2	108
Ânulo Fibroso	66	253	131	123
Núcleo Pulposo	52	205	81,3	68
Material Extruso	35	426	124,6	114,5

Tabela 14: Resultado da correlação entre número de condrócitos na cartilagem com osteófitos anteriores e posteriores em exames radiológicos.

	Classificação	n	Média do número de condrócitos
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	87,5
	Sim	6	122,5
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	69
	Sim	9	121

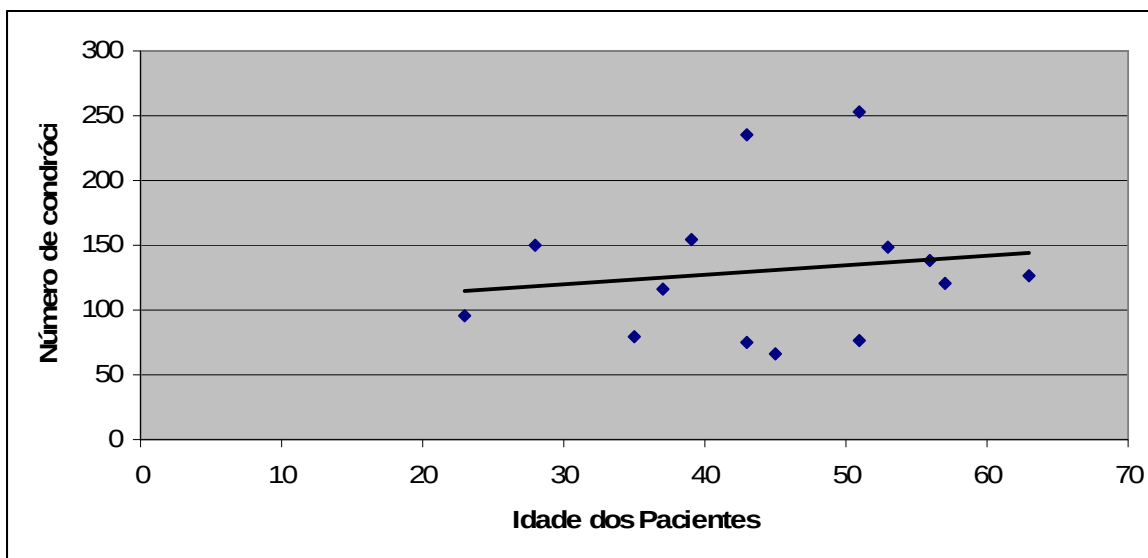


Figura 15: Gráfico da correlação entre idade dos pacientes e o número de condrócitos presentes na cartilagem de discos degenerados.

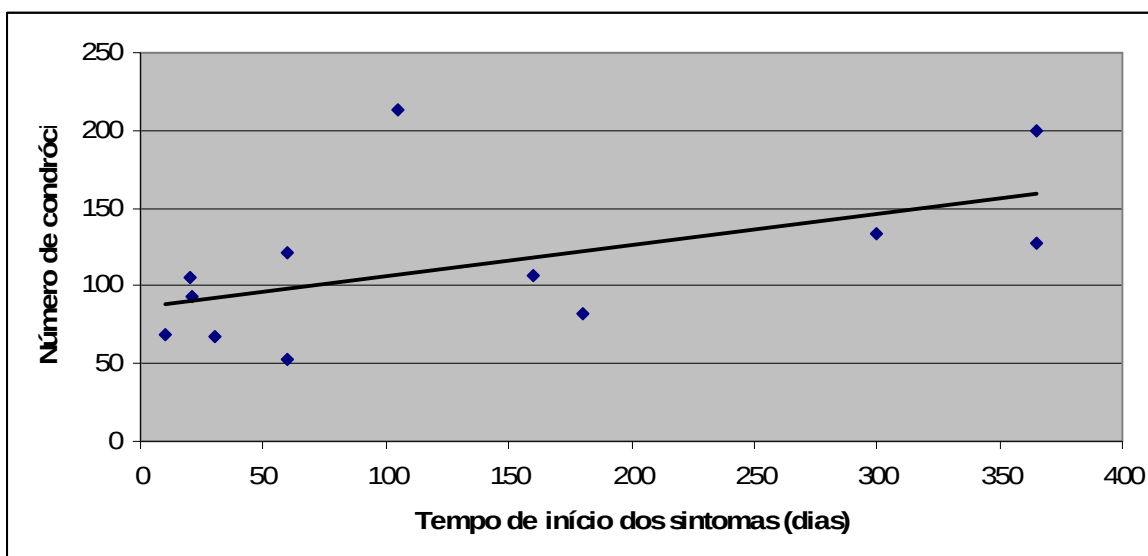


Figura 16: Gráfico da correlação entre tempo de início dos sintomas nos pacientes e o número de condrócitos presentes na cartilagem de discos degenerados.

O número de condrócitos no grupo controle teve a sua distribuição homogênea entre as porções do disco, tendo um número discretamente menor que no grupo caso (tabela 15).

Tabela 15: Resultados obtidos do número de condrócitos em cada porção do disco do grupo controle, expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos.

Material	Mínimo	Máximo	Média	Mediana
Cartilagem	45	128	81,4	74
Ânulo Fibroso	50	192	98,7	97
Núcleo Pulposo	34	89	71	80

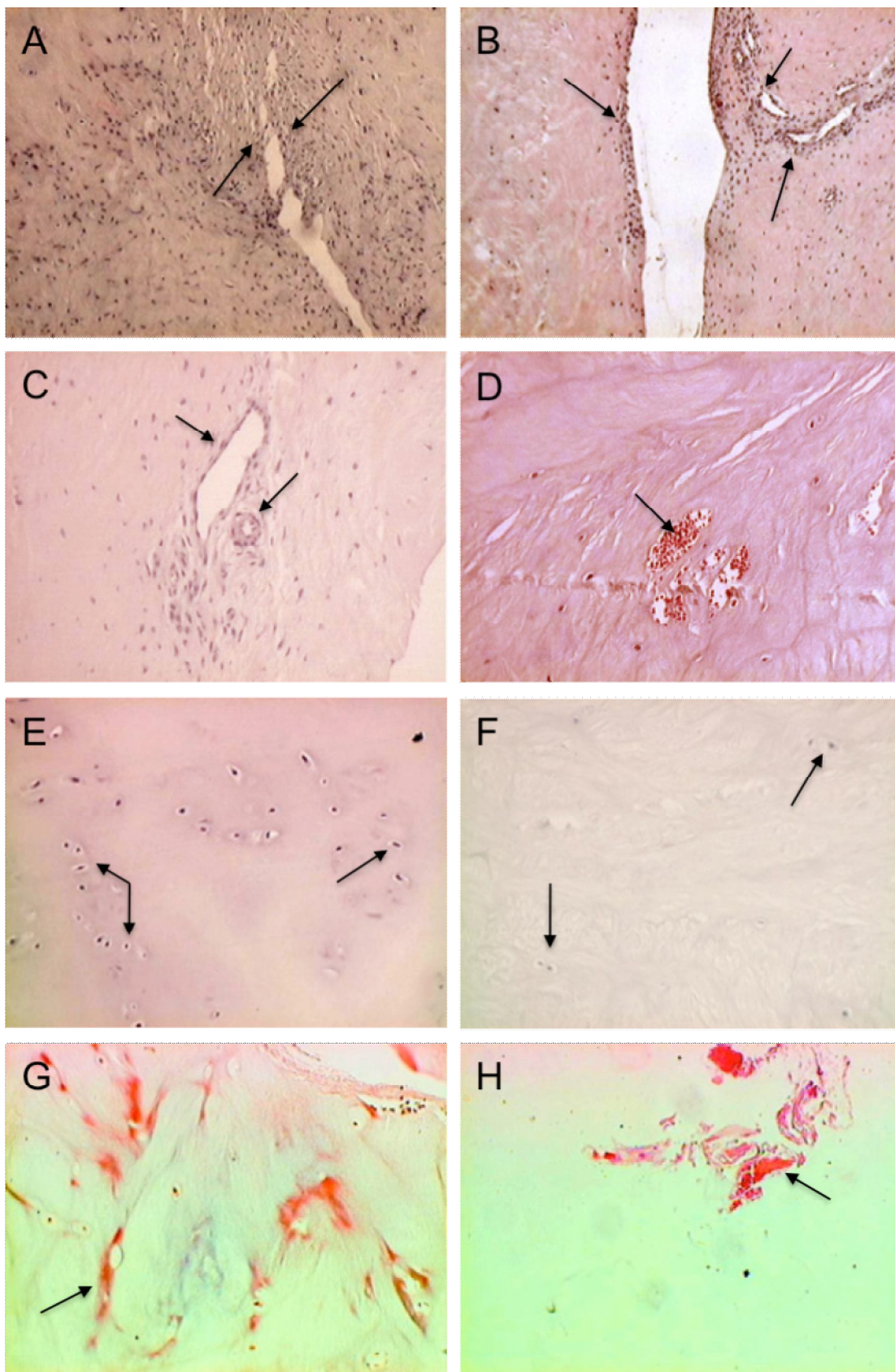


Figura 17: Resultado das imagens de microscopia óptica das lâminas.

- A.Reação inflamatória no núcleo pulposo, observar o grande número de células no espaço perivascular indicado pelas setas (coloração de hematoxilina e eosina em aumento de 100x).
- B.Presença de reação inflamatória no ânulo fibroso, observar acúmulo de células ao redor do vaso indicado pelas setas (coloração de hematoxilina e eosina em aumento de 100x).
- C.Presença de vasos sanguíneos no ânulo fibroso, observar as células endoteliais indicado pelas setas (coloração de hematoxilina e eosina em aumento de 200x).
- D.Vasos sanguíneos no ânulo fibroso, notar a presença de eritrócitos indicado pelas setas (coloração de hematoxilina e eosina em aumento de 200x).
- E.Cartilagem visualizada no aumento 200x com coloração de hematoxilina e eosina. Observar a extensa MEC e a presença de células distribuídas (setas).
- F.Núcleo pulposo visualizado no aumento 200x com coloração de hematoxilina e eosina. Observar a extensa MEC com fibras desorientadas e a pouca presença de células (setas).
- G. Presença de deposição de fosfato de cálcio em cartilagem observar as áreas em vermelho indicado pelas setas (coloração de alizarim em pH 4,2 com aumento de 100x).
- H. Presença de deposição de oxalato de cálcio em cartilagem observar as áreas em vermelho indicado pelas setas (coloração de alizarim em pH 7 com aumento de 100x).

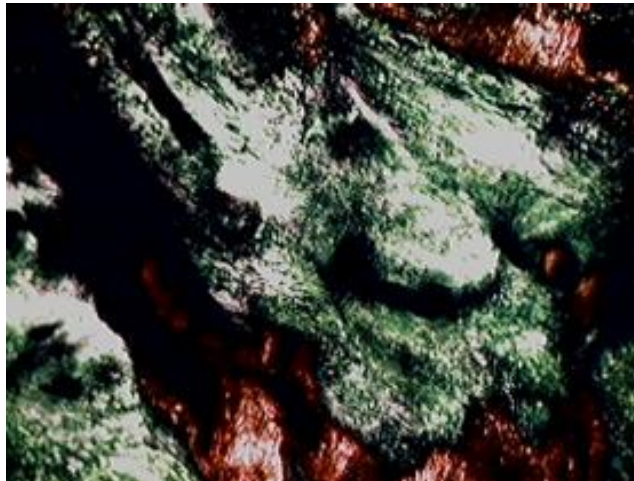


Figura 18: Resultado da imagem de microscopia óptica da lâmina, examinada com visualização polarizada. Observa-se área de colágeno jovem em verde e colágeno maduro em vermelho (coloração de sirius red em aumento de 200x).

4.4. Dados Imunohistoquímicos

4.4.1. Células inflamatórias

Durante o processo de confecção para a análise imunohistoquímica, algumas amostras foram perdidas devido às reações que ocorrem no tecido analisado.

As células inflamatórias mostraram-se positivas na imunohistoquímica. Foram observados os três tipos celulares inflamatórios presentes, em maior ou menor número. A célula inflamatória predominante foi linfócito T, seguido pelo linfócito B e por último os macrófagos (tabela 16).

Tabela 16: Resultados obtidos da presença células inflamatórias encontradas na imunohistoquímica expressos em médias, medianas, valores mínimos e valores máximos.

Anticorpos	Mínimo	Máximo	Média	Mediana
CD68	0	41	11,9	11
CD45-RO	3	240	48,3	23
CD74	0	51	19,5	7

5. DISCUSSÃO

No desenvolvimento e progressão da doença degenerativa do disco intervertebral cervical ocorre uma reorganização tecidual em graus variáveis. Neste processo observa-se: aparecimento de neovasos, alteração no número de células, calcificação e modificação na estrutura e qualidade do colágeno.

Levando em consideração material discal lombar extruso, estudos anteriores identificaram fragmentos dos três componentes discais (núcleo pulposo, ânulo fibroso e platô cartilaginoso). Em todos os componentes observaram mudanças degenerativas, incluindo neovascularização, áreas de necrose, calcificação. Estes elementos apresentam alterações morfo-tecduais distintas, dependentes da fase que se encontram no processo de degeneração do disco. Isto é devido a particularidades em seus componentes teciduais, bioquímicos e moleculares (Willburger *et al.*, 2004).

A neovascularização é uma das alterações histológicas observadas na doença degenerativa discal, e pode ocorrer isoladamente. Estudos prévios, com discos intervertebrais herniados lombares, demonstraram que a neovascularização não está presente em todos os casos e, além disso, pode ser encontrada em discos não degenerados (Doita *et al.*, 1996; Pai *et al.*, 1999). A neovascularização pode ser interpretada, também, como processo gradativo e natural do envelhecimento do disco (Ito *et al.*, 1996).

O estudo da vascularização do ânulo fibroso (interno e externo) do disco intervertebral vem sendo analisado e correlacionado a doenças degenerativas do disco intervertebral lombar (Doita *et al.*, 1996; Pai *et al.*, 1999). Dois aspectos podem ser distinguidos: de um lado o aumento da vascularização dos tecidos pode estar relacionado a um mecanismo compensatório da desidratação do núcleo pulposo. Por outro lado, o desenvolvimento de neovasos, correlacionado com o processo inflamatório, pode ser responsável pelo enfraquecimento do ânulo com predisposição à ruptura.

No presente estudo foi identificado maior número de vasos nas amostras do grupo operado por doença degenerativa, com predominante vascularização no ânulo fibroso, embora, em nem todas as porções discais tenham sido evidenciado vasos (tabela 3). A análise realizada de correlação da presença de vasos nas amostras com os sinais clínicos, e da presença de vasos com alterações de imagem não apresentaram significância estatística. Resultados semelhantes foram obtidos em estudos realizados com discos degenerados da coluna lombar (Ito *et al.*, 1996; Doita *et al.*, 1996).

A presença ou ausência de vasos neoformados pode estar relacionada com o tempo de aparecimento dos sintomas. Estudos com discos lombares indicam que a formação de neovasos aumenta progressivamente com o tempo transcorrido da doença. A incidência de vasos está próxima de 12,5% nos pacientes com menos de um mês do aparecimento dos sintomas, aumentando para 82% em pacientes com mais de 6 meses do início dos sintomas. O autor relata, também, que a neovascularização é mais comumente encontrada em discos herniados lombares do que em discos cervicais. Os discos herniados lombares apresentaram 61,2% das amostras com neovascularização, enquanto que nas amostras herniadas cervicais apenas 3,8% apresentavam neovasos (Chitkara, 1991).

Neste estudo aqui apresentado foi avaliada a frequência de vasos nos diferentes componentes dos discos cervicais (cartilagem, ânulo fibroso, núcleo pulposo e material extruso). Diferentemente do que se relata em discos lombares não foi encontrada correlação com o tempo de evolução da doença (caracterizado pelo tempo de início dos sintomas) e o número de vasos.

A presença de reação inflamatória foi o segundo elemento aqui estudado. Ela é observada no tecido de granulação composto por células inflamatórias e proliferação de vasos (Haro *et al.*, 1996), e foi descrita na maioria dos estudos já realizados com discos lombares (Gronblad *et al.*, 1994; Haro *et al.*, 1996; Ito *et al.*, 1996; Furusawa *et al.*, 2001; Kawaguchi *et al.*, 2001; Kato *et al.*, 2004). No presente estudo, a presença de células inflamatórias, caracterizando a presença

de reação inflamatória, está presente em pelo menos uma das porções discais degenerados, demonstrando maior positividade na porção do ânulo fibroso do disco degenerado (tabela 6). As análises comparativas entre a existência de reação inflamatória, sinais clínicos e alterações de imagem não apresentaram significância. Todavia, estudos prévios com discos lombares demonstraram haver correlação entre sinais clínicos e alterações de imagem com processo inflamatório (Gallucci *et al.*, 1995; Virri *et al.*, 2001a; Aydin *et al.*, 2005).

Foi descrito anteriormente, que a existência de aumento na intensidade do sinal observado ao redor da HDI em imagem de RM pós-contraste de pacientes com HDI lombar pode ser o resultado de processo inflamatório, que esteja sendo detectado, indiretamente, por este método (Gallucci *et al.*, 1995). Reações inflamatórias em hérnias discais lombares apresentam correlações estatísticas significativas quando comparadas com sinais clínicos. Destes os principais citados correlacionados com reação inflamatória são tipo e intensidade da dor e tempo de duração da doença (Virri *et al.*, 2001a; Aydin *et al.*, 2005). Com relação ao tempo de duração da doença, foi reportada a prevalência de células inflamatórias em estágios agudos da HDI sobre estágios crônicos (Virri *et al.*, 2001b).

Neste trabalho, a presença de reação inflamatória foi analisada sob o ponto de vista celular. As células inflamatórias (macrófagos, linfócitos T e linfócitos B) foram identificadas e contadas. O que se observa é a prevalência de positividade do anticorpo CD45-RO que marca os linfócitos T (tabela 16). Este achado difere dos dados relatados na literatura, que apontam o macrófago como célula predominante em hérnias de discos lombares (Gronblad *et al.*, 1994; Haro *et al.*, 1996; Ito *et al.*, 1996; Nygaard *et al.*, 1997; Kawaguchi *et al.*, 2001). Esses estudos indicam que o macrófago possui a função mais importante no processo inflamatório da hérnia de disco, devido à sua predominância sobre outras células inflamatórias. Para esses autores, os linfócitos T estão presentes em segundo lugar, e os linfócitos B em menor quantidade.

Estudos anteriores enfatizam alterações nas fibras e nos subtipos do colágeno, nas doenças degenerativas de discos lombares (Guiot *et al.*, 2000).

Estes autores demonstraram aumento na sua concentração e no diâmetro das fibras. Através de estudo com imunohistoquímica, foram observados os subtipos I, II, III, IV, V, VI, IX, X e XI. O colágeno também pode ser subdividido em subtipos conforme a idade (jovem e maduro)

No presente trabalho, por limitação metodológica, não foram estudados os subtipos classificados imunohistoquimicamente. Com relação às mudanças morfológicas e da composição da matriz seguindo-se processos degenerativos discais, foram analisados os colágenos (área ocupada por colágeno jovem e maduro), a presença e o tipo de calcificação, e o número de condrócitos. Desta forma, levando-se em consideração as quatro porções coletadas (cartilagem, ânulo fibroso, núcleo pulposo e material extruso) não foi observada diferença estatística de distribuição de colágeno jovem e maduro.

O envelhecimento do colágeno tem como consequência um enfraquecimento na estrutura do disco intervertebral, levando a herniação do núcleo pulposo (Guiot *et al.*, 2000). Estes autores também enfatizam a existência de alterações nas fibras colágenas e em sua qualidade nas doenças degenerativas discais lombares, evidenciando aumento na sua concentração e no seu diâmetro. Com relação ao tipo de colágeno, através de estudo com imunohistoquímica, observaram diversos subtipos de colágenos, entre eles os subtipos I, II, III, IV, V, VI, IX, X e XI.

Com o procedimento adotado neste estudo, não foi possível observar diferença no envelhecimento do colágeno, não tendo sido possível estabelecer correlação entre a idade do colágeno e o processo de degeneração discal. Apesar de não ter sido observada correlação significativa entre a área (que reflete a quantidade) de colágeno nas quatro estruturas estudadas e os sinais clínicos, esta correlação foi demonstrada em estudos realizados com discos intervertebrais degenerados lombares (Schollmeier *et al.*, 2000).

A avaliação realizada neste estudo da presença de osteófitos anteriores e/ou posteriores em imagens radiológicas e a quantidade de colágeno jovem ou maduro no ânulo fibroso mostrou uma correlação direta e significativa da quantidade de colágeno jovem e a presença de osteófitos (tabela 9).

Inversamente, uma quantidade menor de colágeno maduro foi observada em indivíduos do grupo caso que apresentavam osteófitos. Este achado sugere que a proliferação de colágeno (colágeno jovem) observada no ânulo fibroso, em resposta ao processo degenerativo, se relaciona à proliferação óssea necessária à estabilização do segmento doente. Não é possível afirmar que um seja a causa do outro, sendo mais provável que ambos aconteçam mediados pelo mesmo princípio fisiopatológico: instabilidade provoca progressão da doença degenerativa discal.

Calcificações e alteração na quantidade de condrócitos são mudanças morfológicas comuns e esperadas em discos degenerados lombares (Guiot *et al.*, 2000; Willburger *et al.*, 2004; Revel, 2006; Roberts *et al.*, 2006).

A presença de calcificação em discos intervertebrais tem sido descrita principalmente em exames de imagem como radiografias, portanto sem uma análise qualitativa do cálcio (Benneker *et al.*, 2005). Até o momento, não foram descritas análises da presença e do tipo de cálcio existente em disco herniados, utilizando coloração de alizarim. Este tipo de coloração, comumente utilizado para análise da presença e caracterização do tipo de cálcio em vasos sanguíneos, foi realizado neste estudo, nos dois grupos (caso e controle), não tendo sido possível observar histologicamente diferenças na deposição de cálcio no disco intervertebral entre os grupos.

Com relação ao tipo de cálcio, foi observada a presença do fosfato de cálcio em todas as porções discais do grupo caso e sendo também presente nas porções da cartilagem e do ânulo fibroso do grupo controle tendo uma distribuição homogênea entre si. Enquanto que o oxalato de cálcio não teve sua presença observada em nenhum indivíduo do grupo controle (tabela 11 e 12). Como o fosfato de cálcio é encontrado em meio básico a neutro e o oxalato de cálcio forma-se preferentemente em meio ácido (Strasinger, 1998), a acidificação do meio conseqüente ao processo isquêmico observado, *in vivo* e *in vitro*, nos discos intervertebrais que sofrem processo degenerativo (fato que é imputado na etiologia da degeneração discal) pode ser uma explicação para o achado de oxalato de cálcio, unicamente nos discos que sofreram degeneração. Esta é uma informação especulativa, no entanto que suporta uma investigação subsequente.

A presença de calcificação, especialmente no platô cartilaginoso, tem sido aventada tanto como causa, como consequência do processo degenerativo que se observa nos discos intervertebrais. Como consequência, pelos motivos óbvios de que a morte celular predisporia à formação de calcificações; e como causa da degeneração, porque cristais de cálcio foram observados obstruindo os microcanais nutrientes do platô cartilaginoso, levando a consequente piora da isquemia e hipóxia do núcleo pulposo (Urban *et al.*, 2004).

A quantidade de condrócitos também foi objeto de pesquisa no presente estudo. O número de condrócitos foi discretamente maior nos discos acometidos por degeneração que no grupo controle (tabela 13 e 15).

O tempo de aparecimento dos sintomas apresentou correlação estatística significativa com quantidade de condrócitos. No entanto, se observa que a maioria dos casos, em que o número de condrócitos foi pequeno, apresenta equivalência temporal (figura 16).

Da mesma maneira que a existência de colágeno jovem no ânulo fibroso esteve relacionada à maior incidência de osteófitos, a quantidade de condrócitos observada na cartilagem, no grupo caso, mostra uma correlação direta e significativa com a presença dos osteófitos (tabela 14).

Neste estudo, os sinais clínicos e alterações de imagem foram encontrados apenas alguns dados com significância quando comparadas com os demais achados morfológicos. Porém, outros estudos envolvendo imagem demonstram mudanças morfológicas e na composição da matriz como alterações no platô e calcificação. Essas alterações são mais comuns em pacientes com dor crônica. Durante a primeira fase de degeneração, pode ser observado, perda de PEGS e colágeno. Consequentemente há desidratação do disco, isso é visto em RMN com a perda do sinal de intensidade nas imagens do disco. Em imagens radiográficas também são esperadas alterações como: diminuição do espaço intervertebral, por perda da matriz; a presença de osteófitos, que se formam para agir como mecanismo de compensação de distribuição de forças por causa da instabilidade provocada pela perda de tensão do disco; e a calcificação intradiscal (Siivola *et al.*, 2002; Benneker *et al.*, 2005).

Alterações discais cervicais em RMN sem manifestação de sinais clínicos foram anteriormente descritas. Pacientes jovens assintomáticos apresentavam alterações discais em RMN que indicam degeneração de disco. Conseqüentemente mudanças patofisiológicas no disco nem sempre são acompanhadas de sinais clínicos (Siivola *et al.*, 2002).

Neste estudo foi possível realizar a análise de vários aspectos histológicos dos discos intervertebrais, para isso buscamos utilizar técnicas histológicas que fossem de conhecimento mundial, de fácil confecção e baixo custo. Conseqüentemente, facilitando o estudo e possibilitando que este possa ter continuidade em outros centros de pesquisa. Entretanto, os achados são multifatoriais, havendo assim diversas maneiras de estudá-los. Temos como exemplo a reação inflamatória; esta que neste trabalho foi observada apenas pelo seu aspecto celular, porém, como sabemos, há vários indicativos de inflamação que não só as próprias células. Isto também ocorre com os outros aspectos pesquisados, conseqüentemente dificultando a análise individual de cada um dos achados.

O achado histológico que merece destaque é a presença de oxalato de cálcio que foi encontrado apenas nos pacientes com disco degenerado, e não é citado na literatura como uma alteração discal. Este aspecto histológico instiga estudos posteriores, principalmente correlacionados com imagens (radiografia, tomografia ou ressonância) e análise do pH do disco.

6. CONCLUSÃO

Analisando individualmente as regiões discais, o ânulo fibroso apresentou alterações histopatológicas mais proeminentes, com maior presença de vasos e reação inflamatória significativa.

A reação inflamatória é mais acentuada em discos intervertebrais herniados, mas a sua presença não foi correlacionada com dados clínicos e de dados imagem. A análise imunohistoquímica apresentou o linfócito T como célula inflamatória mais freqüente.

Discos intervertebrais degenerados e herniados têm um maior número de vasos, porém não se observou correlação entre o tempo de evolução da doença e neovascularização.

A presença de oxalato de cálcio foi observada unicamente em discos herniados, enquanto a distribuição de fosfato de cálcio é igual nos dois grupos (caso e controle).

Não se observam modificações na quantidade de colágeno nas diferentes estruturas de discos nos dois grupos, porém se observa uma correlação direta em sua quantidade no ânulo fibroso e a existência de osteófitos.

O número de condrócitos está aumentado em discos degenerados, podendo se observar uma correlação direta com o tempo de instalação dos sintomas. O aumento de condrócitos na cartilagem também mostrou correlação direta com a presença de osteófitos anteriores e posteriores em exames radiológicos do grupo caso.

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABBED, K. M.; COUMANS, J. V. Cervical radiculopathy: pathophysiology, presentation, and clinical evaluation. *Neurosurgery* [S.I.], v. 60, n. 1 Suppl 1, p. S28-34, Jan 2007.

ALBERT, H. B.; MANNICHE, C. Modic changes following lumbar disc herniation. *Eur Spine J* [S.I.], v. 16, n. 7, p. 977-82, Jul 2007.

AYDIN, M. V.; SEN, O.; KAYASELCUK, F.; BOLAT, F.; TUFAN, K.; CANER, H.; ALTINORS, N. Analysis and prevalence of inflammatory cells in subtypes of lumbar disc herniations under cyclooxygenase-2 inhibitor therapy. *Neurol Res* [S.I.], v. 27, n. 6, p. 609-12, Sep 2005.

BENNEKER, L. M.; HEINI, P. F.; ANDERSON, S. E.; ALINI, M.; ITO, K. Correlation of radiographic and MRI parameters to morphological and biochemical assessment of intervertebral disc degeneration. *Eur Spine J* [S.I.], v. 14, n. 1, p. 27-35, Feb 2005.

BOOS, N.; WEISSBACH, S.; ROHRBACH, H.; WEILER, C.; SPRATT, K. F.; NERLICH, A. G. Classification of age-related changes in lumbar intervertebral discs: 2002 Volvo Award in basic science. *Spine (Phila Pa 1976)* [S.I.], v. 27, n. 23, p. 2631-44, Dec 1 2002.

BURKE, J. G.; RW, G. W.; CONHYEA, D.; MCCORMACK, D.; DOWLING, F. E.; WALSH, M. G.; FITZPATRICK, J. M. Human nucleus pulposus can respond to a pro-inflammatory stimulus. *Spine* [S.I.], v. 28, n. 24, p. 2685-93, Dec 15 2003.

CHITKARA, Y. K. Clinicopathologic study of changes in prolapsed intervertebral disks. *Arch Pathol Lab Med* [S.I.], v. 115, n. 5, p. 481-3, May 1991.

CHRISTE, A.; LAUBLI, R.; GUZMAN, R.; BERLEMANN, U.; MOORE, R. J.; SCHROTH, G.; VOCK, P.; LOVBLAD, K. O. Degeneration of the cervical disc: histology compared with radiography and magnetic resonance imaging. *Neuroradiology* [S.I.], v. 47, n. 10, p. 721-9, Oct 2005.

CLOYD, J. M.; ELLIOTT, D. M. Elastin content correlates with human disc degeneration in the anulus fibrosus and nucleus pulposus. *Spine* [S.I.], v. 32, n. 17, p. 1826-31, Aug 1 2007.

DEBOIS, V.; HERZ, R.; BERGHMANS, D.; HERMANS, B.; HERREGODTS, P. Soft cervical disc herniation. Influence of cervical spinal canal measurements on development of neurologic symptoms. *Spine* [S.I.], v. 24, n. 19, p. 1996-2002, Oct 1 1999.

DEMIRCAN, M. N.; ASIR, A.; CETINKAL, A.; GEDIK, N.; KUTLAY, A. M.; COLAK, A.; KURTAR, S.; SIMSEK, H. Is there any relationship between proinflammatory mediator levels in disc material and myelopathy with cervical disc herniation and spondylosis? A non-randomized, prospective clinical study. *Eur Spine J* [S.I.], v. 16, n. 7, p. 983-6, Jul 2007.

DOITA, M.; KANATANI, T.; HARADA, T.; MIZUNO, K. Immunohistologic study of the ruptured intervertebral disc of the lumbar spine. *Spine* [S.I.], v. 21, n. 2, p. 235-41, Jan 15 1996.

FRITZELL, P.; BERGSTROM, T.; WELINDER-OLSSON, C. Detection of bacterial DNA in painful degenerated spinal discs in patients without signs of clinical infection. *Eur Spine J* [S.I.], v. 13, n. 8, p. 702-6, Dec 2004.

FURUSAWA, N.; BABA, H.; MIYOSHI, N.; MAEZAWA, Y.; UCHIDA, K.; KOKUBO, Y.; FUKUDA, M. Herniation of cervical intervertebral disc: immunohistochemical examination and measurement of nitric oxide production. *Spine* [S.I.], v. 26, n. 10, p. 1110-6, May 15 2001.

GALLUCCI, M.; BOZZAO, A.; ORLANDI, B.; MANETTA, R.; BRUGHITTA, G.; LUPATTELLI, L. Does postcontrast MR enhancement in lumbar disk herniation have prognostic value? *J Comput Assist Tomogr* [S.I.], v. 19, n. 1, p. 34-8, Jan-Feb 1995.

GRONBLAD, M.; VIRRI, J.; TOLONEN, J.; SEITSALO, S.; KAAPA, E.; KANKARE, J.; MYLLYNEN, P.; KARAHARJU, E. O. A controlled immunohistochemical study of inflammatory cells in disc herniation tissue. *Spine* [S.I.], v. 19, n. 24, p. 2744-51, Dec 15 1994.

GUIOT, B. H.; FESSLER, R. G. Molecular biology of degenerative disc disease. *Neurosurgery* [S.I.], v. 47, n. 5, p. 1034-40, Nov 2000.

HABTEMARIAM, A.; GRONBLAD, M.; VIRRI, J.; SEITSALO, S.; RUUSKANEN, M.; KARAHARJU, E. Immunocytochemical localization of immunoglobulins in disc herniations. *Spine* [S.I.], v. 21, n. 16, p. 1864-9, Aug 15 1996.

HARO, H.; SHINOMIYA, K.; KOMORI, H.; OKAWA, A.; SAITO, I.; MIYASAKA, N.; FURUYA, K. Upregulated expression of chemokines in herniated nucleus pulposus resorption. *Spine* [S.I.], v. 21, n. 14, p. 1647-52, Jul 15 1996.

ITO, T.; YAMADA, M.; IKUTA, F.; FUKUDA, T.; HOSHI, S. I.; KAWAJI, Y.; UCHIYAMA, S.; HOMMA, T.; TAKAHASHI, H. E. Histologic evidence of absorption of sequestration-type herniated disc. *Spine* [S.I.], v. 21, n. 2, p. 230-4, Jan 15 1996.

KANEMOTO, M.; HUKUDA, S.; KOMIYA, Y.; KATSUURA, A.; NISHIOKA, J. Immunohistochemical study of matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 human intervertebral discs. *Spine* [S.I.], v. 21, n. 1, p. 1-8, Jan 1 1996.

KANERVA, A.; KOMMONEN, B.; GRONBLAD, M.; TOLONEN, J.; HABTEMARIAM, A.; VIRRI, J.; KARAHARJU, E. Inflammatory cells in experimental intervertebral disc injury. *Spine* [S.I.], v. 22, n. 23, p. 2711-5, Dec 1 1997.

KANG, J. D.; GEORGESCU, H. I.; MCINTYRE-LARKIN, L.; STEFANOVIC-RACIC, M.; DONALDSON, W. F., 3RD; EVANS, C. H. Herniated lumbar intervertebral discs spontaneously produce matrix metalloproteinases, nitric oxide, interleukin-6, and prostaglandin E2. *Spine* [S.I.], v. 21, n. 3, p. 271-7, Feb 1 1996.

KATO, T.; HARO, H.; KOMORI, H.; SHINOMIYA, K. Sequential dynamics of inflammatory cytokine, angiogenesis inducing factor and matrix degrading enzymes during spontaneous resorption of the herniated disc. *J Orthop Res* [S.I.], v. 22, n. 4, p. 895-900, Jul 2004.

KAWAGUCHI, S.; YAMASHITA, T.; YOKOGUSHI, K.; MURAKAMI, T.; OHWADA, O.; SATO, N. Immunophenotypic analysis of the inflammatory infiltrates in herniated intervertebral discs. *Spine* [S.I.], v. 26, n. 11, p. 1209-14, Jun 1 2001.

KUGA, N.; KAWABUCHI, M. Histology of intervertebral disc protrusion: an experimental study using an aged rat model. *Spine* [S.I.], v. 26, n. 17, p. E379-84, Sep 1 2001.

KRELING, M. C. G. D.; CRUZ, D. A. L. M.; PIMENTA, C. A. M. . Prevalência de dor crônica em adultos. *Rev. Bras. de Enferm*, v. 59 n.4, p. 509-13, Jul-Ago 2006.

LE MAITRE, C. L.; HOYLAND, J. A.; FREEMONT, A. J. Studies of human intervertebral disc cell function in a constrained in vitro tissue culture system. *Spine* [S.I.], v. 29, n. 11, p. 1187-95, Jun 1 2004.

MAIA, J. A. Discopatias cervicais: etiopatogenia, clínica e terapêutica. *Dissertação de Mestrado*. Recife, 1958.

MATSUI, Y.; MAEDA, M.; NAKAGAMI, W.; IWATA, H. The involvement of matrix metalloproteinases and inflammation in lumbar disc herniation. *Spine* [S.I.], v. 23, n. 8, p. 863-8; discussion 868-9, Apr 15 1998.

MCINERNEY, J.; BALL, P. A. The pathophysiology of thoracic disc disease. *Neurosurg Focus* [S.I.], v. 9, n. 4, p. e1, 2000.

MODIC, M. T.; MASARYK, T. J.; ROSS, J. S.; CARTER, J. R. Imaging of degenerative disk disease. *Radiology* [S.I.], v. 168, n. 1, p. 177-86, Jul 1988.

NORCROSS, J. P.; LESTER, G. E.; WEINHOLD, P.; DAHNERS, L. E. An in vivo model of degenerative disc disease. *J Orthop Res* [S.I.], v. 21, n. 1, p. 183-8, Jan 2003.

NUNES, F. T. B.; CONFORTI-FROES, N. D. T.; NEGRELLI, W. F.; SOUZA, D. R. S. Fatores Genéticos e Ambientais Envolvidos na Degeneração do Disco Intervertebral. *Acta Ortopédica Brasileira*, v. 15, n. 1, p. 9-13, 2007.

NYGAARD, O. P.; MELLGREN, S. I.; OSTERUD, B. The inflammatory properties of contained and noncontained lumbar disc herniation. *Spine* [S.I.], v. 22, n. 21, p. 2484-8, Nov 1 1997.

OLIVEIRA, V.M. Estudo comparativo dos mecanorreceptores dos discos intervertebrais normais e degenerados da coluna lombar de humanos pela radiografia, ressonância magnética e estudo anatomopatológico. *Acta ortp Bras*. v.15, n.1, p. 35-9, 2007.

PAI, R. R.; D'SA, B.; RAGHUVeer, C. V.; KAMATH, A. Neovascularization of nucleus pulposus. A diagnostic feature of intervertebral disc prolapse. *Spine* [S.I.], v. 24, n. 8, p. 739-41, Apr 15 1999.

PASQUALIN, V. D. Análise do Impacto da Artrodese Cervical Anterior nos Níveis Adjacentes a Fusão. *Dissertação de mestrado*. Setor de Ciências da Saúde. Pontifícia Universidade Católica, 2008.

POLETTI, S. The cervical spine. *The multidisciplinary approach to spine practice*. p. 16-23, 1996.

REVEL, M. [The concept of discolysis in intervertebral disk disease]. *Acta Reumatol Port* [S.I.], v. 31, n. 2, p. 133-40, Apr-Jun 2006.

ROBERTS, S.; EVANS, H.; TRIVEDI, J.; MENAGE, J. Histology and pathology of the human intervertebral disc. *J Bone Joint Surg Am* [S.I.], v. 88 Suppl 2, p. 10-4, Apr 2006.

ROTHOERL, R. D.; WOERTGEN, C.; HOLZSCHUH, M.; RUESCHOFF, J.; BRAWANSKI, A. Is there a clinical correlate to the histologic evidence of inflammation in herniated lumbar disc tissue? *Spine* [S.I.], v. 23, n. 11, p. 1197-200; discussion 1200-1, Jun 1 1998.

SCHOLLMEIER, G.; LAHR-EIGEN, R.; LEWANDROWSKI, K. U. Observations on fiber-forming collagens in the annulus fibrosus. *Spine* [S.I.], v. 25, n. 21, p. 2736-41, Nov 1 2000.

SIIVOLA, S. M.; LEVOSKA, S.; TERVONEN, O.; ILKKO, E.; VANHARANTA, H.; KEINANEN-KIUKAANNIEMI, S. MRI changes of cervical spine in asymptomatic and symptomatic young adults. *Eur Spine J* [S.I.], v. 11, n. 4, p. 358-63, Aug 2002.

SOLOVIEVA, S.; KOUHIA, S.; LEINO-ARJAS, P.; ALA-KOKKO, L.; LUOMA, K.; RAININKO, R.; SAARELA, J.; RIIHIMAKI, H. Interleukin 1 polymorphisms and intervertebral disc degeneration. *Epidemiology* [S.I.], v. 15, n. 5, p. 626-33, Sep 2004.

STEVEN, A.; LOWE, J. S. Sistema músculo esquelético. *Histologia Humana*. 2º ed. São Paulo: Manole, 2001. p. 248.

STRASINGER, S. K. *Uroanálise e fluidos biológicos*. 3. ed. São Paulo: Premier, 1998. p.233

TOSATO, J. P.; CESAR, G. M.; CARIA, P. H. F.; BIASOTTO-GONZALEZ, D. A.; CALONEGO, C. A. Avaliação da dor em pacientes com lombalgia e cervicalgia *Coluna/Columna*, v.6, n.2, p. 73-7, 2006.

URBAN, J. P.; SMITH, S.; FAIRBANK, J. C. Nutrition of the intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976)* [S.I.], v. 29, n. 23, p. 2700-9, Dec 1 2004.

VIRRI, J.; GRONBLAD, M.; SEITSALO, S.; HABTEMARIAM, A.; KAAPA, E.; KARAHARJU, E. Comparison of the prevalence of inflammatory cells in subtypes of disc herniations and associations with straight leg raising. *Spine* [S.I.], v. 26, n. 21, p. 2311-5, Nov 1 2001a.

_____. Comparison of the prevalence of inflammatory cells in subtypes of disc herniations and associations with straight leg raising. *Spine (Phila Pa 1976)* [S.I.], v. 26, n. 21, p. 2311-5, Nov 1 2001b.

WANG, Y. J.; SHI, Q.; LU, W. W.; CHEUNG, K. C.; DAROWISH, M.; LI, T. F.; DONG, Y. F.; ZHOU, C. J.; ZHOU, Q.; HU, Z. J.; LIU, M.; BIAN, Q.; LI, C. G.; LUK, K. D.; LEONG, J. C. Cervical intervertebral disc degeneration induced by unbalanced dynamic and static forces: a novel in vivo rat model. *Spine (Phila Pa 1976)* [S.I.], v. 31, n. 14, p. 1532-8, Jun 15 2006.

WILLBURGER, R. E.; EHIOSUN, U. K.; KUHNEN, C.; KRAMER, J.; SCHMID, G. Clinical symptoms in lumbar disc herniations and their correlation to the histological composition of the extruded disc material. *Spine* [S.I.], v. 29, n. 15, p. 1655-61, Aug 1 2004.

ANEXOS

ANEXO 01**Protocolo Imunohistoquímica LPE PUCPR**

Kit Envision Labeled / Advanced (Dako®)

1.0 – Controles:

- 1.1 – Humano: sempre usar (prova a eficiência do anticorpo)
- 1.2 – Específico do animal (prova reatividade do material)
- 1.3 – Negativo: sempre usar (possível reação inespecífica: não recebe anticorpo)

2.0 – Secagem das lâminas overnight: 37° C**3.0 – Desparafinização:** usar xilol em temperatura ambiente (2x 10 min); álcool etílico absoluto (3x 1 min); álcool etílico 80% (1x 1 min)**4.0 - Bloqueio da peroxidase endógena:** solução de peróxido de hidrogênio e metanol 5% (diluir o peróxido em metanol). Lavar em água destilada.**5.0 – Recuperação antigênica:** Levar as lâminas mergulhadas em recuperador Imuno Retrival (Dako®) à cuba de banho-maria à 99° C por 40 min. Após, deixar esfriar à temperatura ambiente.**6.0 – Lavar em água destilada, e riscar lâmina por lâmina com caneta hidrofóbica Dako pen (Dako®), delimitando a área do corte. Até pingar as alíquotas deixar em tampão TBS tris pH 7.3, evitando a secagem do corte.****7.0 – Pingar as alíquotas de anticorpos e levar em câmara úmida à geladeira overnight.****8.0 – Lavar as lâminas em tampão TBS tris pH 7.3 e deixar no tampão por 15 min.****9.0 – Lavar novamente em tampão, secar e pingar envision / Advanced link (Dako®) e deixar por 30 min.****10.0 – Lavar em tampão, secar e pingar cromógeno DAB (1:1) até a visualização da cor castanha e lavar rápido em água destilada.****11.0– Contracorar com Hematoxilina de Harris por 5 min. Lavar em água da torneira e deixar por 5 min.**

12.0 – Desidratar com álcool etílico absoluto (3x 1 min.)

13.0 – Diafanizar com xilol (3 x 5 min). Montar

ANEXO 02

CONSENTIMENTO INFORMADO PARA PESQUISA

Nº: _____

Projeto: HDI em Região Cervical: Características histopatológicas e imunohistoquímicas correlacionadas com manifestações clínicas e radiológicas

Propósito da Pesquisa:

HDIntervertebral cervical é uma condição clínica que causa dor no pescoço, braços, cefaléia, podendo evoluir para quadros medulares. Um maior detalhamento no conhecimento e na ocorrência das alterações histológicas e dos tipos celulares inflamatórios presentes, possa futuramente nos fazer entender a patologia do disco.

Descrição da Pesquisa:

Os voluntários serão questionados a respeito da doação do disco intervertebral herniado, sendo este coletado durante o procedimento cirúrgico normal, não oferecendo riscos à saúde do paciente, bem como não afetando o procedimento cirúrgico.

Possíveis desconfortos de inconveniências:

Não há nenhum problema para os pacientes voluntários à participação deste estudo. Especialmente se considerarmos que os discos intervertebrais são rotineiramente analisados pelo laboratório de patologia hospitalar.

Benefícios:

As informações obtidas por esta pesquisa podem não beneficiar os voluntários diretamente, mas serão utilizadas para um maior entendimento da patologia discal

Confidencialidade:

Não será divulgada nenhuma informação sobre a identidade dos voluntários. O material biológico será coletado, codificado e armazenado anonimamente.

Participação:

É voluntária. Se você não quiser participar neste momento, pode solicitar sua exclusão da pesquisa. Se desejar obter informações relacionadas aos resultados obtidos, favor entrar em contato com o grupo de pesquisa a qualquer momento, no Setor de Neurocirurgia do Hospital Universitário Cajuru, Rua São José, 300 - Cristo Rei- Curitiba. Fone: (41) 3271-2730.

Consentimento:

Tenho plena consciência de que estou doando este material biológico para fins de pesquisa científica relacionada ao estudo da fisiopatologia das hérnias discais. Confirmando ter conhecimento das informações e condições relativas ao conjunto de procedimentos que constituem esta Coleta.

Eu consinto em participar.

Assinatura

Curitiba, ____ de ____ de 200__.

Nome: _____

Endereço: _____

Telefone contato (____) _____

Idade: _____ anos.

ANEXO 03

Resultados das análises estatísticas das correlações entre os dados histopatológicos dos discos degenerados com os dados clínicos e radiológicos. Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística

Tabela 1: Resultado da análise comparativa da quantidade de vasos em discos degenerados com manifestações clínicas e radiológicas encontradas.

Número de Vasos na Cartilagem	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	2,5 (1 – 19)
	Sim	10	2,5 (0 – 17)
	Valor de p		0,945
Hoffmann	Não	12	2 (0 – 17)
	Sim	2	11 (3 – 19)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	5,5 (1 – 19)
	Sim	10	2,5 (0 – 17)
	Valor de p		0,539
Tônus muscular	Não	2	11 (3 – 19)
	Sim	12	2 (0 – 17)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	5,5 (0 – 19)
	Sim	6	2,5 (1 – 4)
	Valor de p		0,573
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	1 (0 – 13)
	Sim	9	3 (1 – 19)
	Valor de p		0,438
Estenose de forame intervertebral	Não	10	2,5 (0 – 19)
	Sim	4	2 (1 – 17)
	Valor de p		0,839
Disco Preto	Não	4	1 (0 – 19)
	Sim	10	3 (1 – 17)
	Valor de p		0,304
Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	6 (1 – 13)
	Sim	10	2 (0 – 19)
	Valor de p		0,539
Número de Vasos no Ânulo Fibroso	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	5,5 (3 – 27)
	Sim	10	15,5 (0 – 249)
	Valor de p		0,374

Continua na próxima página...

Hoffmann	Não	12	15,5 (2 – 249)
	Sim	2	1,5 (0 – 3)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	9,5 (3 – 20)
	Sim	10	18,5 (0 – 249)
	Valor de p		0,635
Tônus muscular	Não	2	1,5 (0 – 3)
	Sim	12	15,5 (2 – 249)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	9 (3 – 249)
	Sim	6	19 (0 – 83)
	Valor de p		0,950
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	10 (3 – 29)
	Sim	9	11 (0 – 249)
	Valor de p		0,898
Estenose de forame intervertebral	Não	10	9 (0 – 29)
	Sim	4	57 (2 – 249)
	Valor de p		0,142
Disco Preto	Não	4	5,5 (3 – 10)
	Sim	10	23,5 (0 – 249)
	Valor de p		0,188
Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	11,5 (0 – 29)
	Sim	10	10,5 (2 – 249)
	Valor de p		0,454

Número de Vasos no Núcleo Pulposos	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	0 (0 – 24)
	Sim	10	2 (0 – 8)
	Valor de p		0,635
Hoffmann	Não	12	0 (0 – 8)
	Sim	2	15 (6 – 24)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	6,5 (0 – 24)
	Sim	10	0 (0 – 6)
	Valor de p		0,106
Tônus muscular	Não	2	15 (6 – 24)
	Sim	12	0 (0 – 8)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	0 (0 – 24)
	Sim	6	2 (0 – 6)
	Valor de p		0,662

Continua na próxima página...

Presença de osteófitos anteriores	Não	5	0 (0 – 8)
	Sim	9	2 (0 – 24)
	Valor de p		0,298
Estenose de forame intervertebral	Não	10	0 (0 – 24)
	Sim	4	2 (0 – 2)
	Valor de p		0,945
Disco Preto	Não	4	0 (0 – 24)
	Sim	10	2 (0 – 8)
	Valor de p		0,635
Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	3 (0 – 8)
	Sim	10	1 (0 – 24)
	Valor de p		0,733
Número de Vasos no Material Extruso	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	5 (0 – 33)
	Sim	10	3 (0 -26)
	Valor de p		0,839
Hoffmann	Não	12	2 (0 – 26)
	Sim	2	17,5 (2 – 33)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	10,5 (0 – 33)
	Sim	10	1 (0 – 26)
	Valor de p		0,307
Tônus muscular	Não	2	17,5 (0 – 33)
	Sim	12	2 (0 – 26)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	2 (8 – 33)
	Sim	6	3 (0 – 26)
	Valor de p		0,755
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	4 (0 – 10)
	Sim	9	2 (0 – 33)
	Valor de p		0,898
Estenose de forame intervertebral	Não	10	3 (0 – 33)
	Sim	4	2 (0 – 26)
	Valor de p		0,839
Disco Preto	Não	4	8,5 (0 – 33)
	Sim	10	1 (0 – 26)
	Valor de p		0,240
Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	3 (0 – 10)
	Sim	10	2 (0 – 33)
	Valor de p		1

Final da tabela 1

Tabela 02: Resultado da análise comparativa da quantidade de vasos em discos degenerados com manifestações clínicas encontradas.

Variáveis	n	Coefficiente de correlação de Spearman	Valor de p
Tempo de início dos sintomas e vasos cartilagem	14	-0,21	0,479
Tempo de início dos sintomas e vasos no ânulo fibroso	14	0,09	0,759
Tempo de início dos sintomas e vasos no núcleo pulposo	14	-0,01	0,981
Idade e vasos na cartilagem	14	-0,02	0,958
Idade e vasos no ânulo fibroso	14	0,27	0,356
Idade e vasos no núcleo pulposo	14	0,04	0,904

Tabela 3: Resultado da análise comparativa da presença de reação inflamatória em discos degenerados com manifestações clínicas e radiológicas encontradas.

Presença de reação inflamatória	Classificação	n	Evolução temporal ¹	Padrão da lesão ²	Dor	Hoffmann	Distúrbio de sensibilidade
Cartilagem	Sim	2	2 (100%)	1 (50%)	2 (100%)	0 (0%)	1 (50%)
	Não	12	6 (50%)	10 (83,3%)	8 (66,7%)	2 (16,7%)	9 (75%)
	Valor de p		0,472	0,395	1	1	0,505
Ânulo Fibroso	Sim	11	5 (45,5%)	10 (90,9%)	8 (72,7%)	0 (0%)	8 (72,7%)
	Não	3	3 (100%)	1 (33,3%)	2 (66,7%)	2 (66,7%)	2 (66,7%)
	Valor de p		0,208	0,093	1	0,033	1
Núcleo Pulposo	Sim	1	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
	Não	13	7 (53,8%)	11 (84,6%)	10 (76,9%)	1 (7,7%)	10 (76,9%)
	Valor de p		1	0,214	0,285	0,142	0,285
Material Extruso	Sim	8	5 (62,5%)	6 (75%)	6 (75%)	2 (25%)	5 (62,5%)
	Não	6	3 (50%)	5 (83,3%)	4 (66,7%)	0 (0%)	5 (83,3%)
	Valor de p		1	1	1	0,473	0,580
Presença de reação inflamatória	Classificação	n	Força Muscular ³	Tônus muscular ⁴	Presença de osteófitos posteriores	Presença de osteófitos anteriores	Estenose de forame intervertebral
Cartilagem	Sim	2	1 (50%)	2 (100%)	1 (50%)	2 (100%)	1 (50%)
	Não	12	7 (58,3%)	10 (83,3%)	5 (41,7%)	7 (58,3%)	3 (25%)
	Valor de p		1	1	1	1	0,505
Ânulo Fibroso	Sim	11	7 (63,6%)	11 (100%)	4 (36,4%)	6 (54,5%)	3 (27,3%)
	Não	3	1 (33,3%)	1 (33,3%)	2 (66,7%)	3 (0%)	1 (33,3%)
	Valor de p		0,538	0,538	0,033	0,538	0,258
Núcleo Pulposo	Sim	1	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
	Não	13	8 (61,5%)	12 (92,3%)	6 (46,2%)	8 (61,5%)	4 (30,8%)
	Valor de p		0,428	0,428	0,142	1	1

Continua na próxima página...

¹ Piora no quadro clínico² Lesão Radicular³ Grau V – força normal⁴ Tônus muscular normal

Material Extruso	Sim	8	5 (62,5%)	6 (75%)	3 (37,5%)	5 (62,5%)	1 (12,5%)
	Não	6	3 (50%)	6 (100%)	3 (50%)	4 (66,7%)	3 (50%)
	Valor de p		1	1	0,472	1	1
Presença de reação inflamatória	Classificação	n	Disco Preto	Local da Extrusão ⁵	Reflexo ⁶	Acometimento de níveis adjacentes	
Cartilagem	Sim	2	2 (100%)	1 (50%)	2 (100%)	2 (100%)	
	Não	12	8 (66,7%)	9 (75%)	7 (58,%)	8 (66,7%)	
	Valor de p		1	1	0,505	0,505	
Ânulo Fibroso	Sim	11	8 (72,7%)	9 (81,8%)	8 (72,7%)	8 (72,7%)	
	Não	3	2 (66,7%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)	2 (66,7)	
	Valor de p		0,538	1	0,175	0,505	
Núcleo Pulposos	Sim	1	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	
	Não	13	10 (76,9%)	10 (77%)	9 (69,2%)	9 (69,2%)	
	Valor de p		0,428	0,285	0,285	0,357	
Material Extruso	Sim	8	5 (62,5%)	6 (75%)	3 (37,5%)	5 (62,5%)	
	Não	6	5 (83,3%)	4 (66,6%)	6 (100%)	5 (83,3%)	
	Valor de p		1	1	1	0,031	

Tabela 4: Resultado da análise comparativa da presença de reação inflamatória em discos degenerados com tempo de início dos sintomas apresentado pelos pacientes.

Presença de reação inflamatória	Classificação	n	Tempo início sintomas Mediana (Min – Max)
Cartilagem	Sim	2	202,5 (105 – 300)
	Não	12	110 (10 – 2880)
Ânulo Fibroso	Sim	11	105 (10 – 2880)
	Não	3	365 (21 – 1800)
	Valor de p		0,456
Núcleo Pulposos	Sim	1	21
	Não	13	160 (10 – 2880)
Material Extruso	Sim	8	82,5 (20 – 1800)
	Não	6	230 (10 – 2880)
	Valor de p		0,662

⁵ Local da extrusão - lateral

⁶ Reflexo normal

Tabela 5: Resultado da análise comparativa da área de colágeno em discos degenerados com manifestações clínicas e radiológicas encontradas.

Área de Colágeno Maduro na Cartilagem	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	34,8 (27,8 – 44, 3)
	Sim	10	42,2 (4,4 – 99,9)
	Valor de p		0,6
Hoffmann	Não	12	34,8 (4,4 – 99,9)
	Sim	2	54,2 (44,3 – 64,2)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	39,3 (31,8 – 48)
	Sim	10	35,8 (4,4 – 99,9)
	Valor de p		1
Tônus muscular	Não	2	54,2 (44,3 – 64,2)
	Sim	12	34,8 (4,4 – 99,9)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	39,3 (4,4 – 99,9)
	Sim	6	35,8 (19,6 – 64,2)
	Valor de p		0,6
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	31,8 (4,4 – 99,9)
	Sim	9	44,3 (19, 6 – 99,9)
	Valor de p		0,2
Estenose de forame intervertebral	Não	10	39,8 (4,4 – 99,9)
	Sim	4	28,2 (19,6 – 66)
	Valor de p		0,5
Disco Preto	Não	4	39,3 (27,8 – 99,9)
	Sim	10	35,8 (4,4 – 99,9)
	Valor de p		0,7
Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	29,8 (4,4 – 64,2)
	Sim	10	40,3 (19,6 – 99,9)
	Valor de p		0,2
Área de Colágeno Maduro no Ânulo Fibroso	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	57,5 (15,8 – 83)
	Sim	10	44,7 (14,9 – 87,1)
	Valor de p		0,6
Hoffmann	Não	12	45,9 (15,8 – 87,1)
	Sim	2	32 (14,9 – 49,0)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	50,9 (46,2 – 83)
	Sim	10	40,5 (14,9 – 87,1)
	Valor de p		0,2
Tônus muscular	Não	2	32 (14,9 – 49)
	Sim	12	45,9 (15,8 – 87,1)

Continua na próxima página...

Presença de osteófitos posteriores	Não	8	57,5 (43,8 – 87,1)
	Sim	6	30,8 (14,9 – 52,7)
	Valor de p		0,008
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	66,1 (45,6 - 87,1)
	Sim	9	37,2 (14,9 – 87,1)
	Valor de p		0,060
Estenose de forame intervertebral	Não	10	50,9 (14,9 – 87,1)
	Sim	4	35,8 (27,2 – 43,8)
	Valor de p		0,106
Disco Preto	Não	4	74,5 (49 – 87,1)
	Sim	10	40,5 (14,9 – 87,1)
	Valor de p		0,024
Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	29,8 (4,4 – 64,2)
	Sim	10	40,3 (19,6 – 99,9)
Área de Colágeno Maduro no Núcleo Pulposos	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	33,5 (13,4 - 41,4)
	Sim	10	51 (18,9 - 67,5)
	Valor de p		0,14
Hoffmann	Não	12	39,9 (13,4 - 67,5)
	Sim	2	47 (41,4- 52,5)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	45,4 (32,9 - 53,2)
	Sim	10	39,9 (13,4 - 67,5)
	Valor de p		0,83
Tônus muscular	Não	2	47 (41,4 - 52,5)
	Sim	12	39,9 (13,4 - 67,5)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	49,4 (13,4 - 67,5)
	Sim	6	31,9 (18,9 - 52,5)
	Valor de p		0,18
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	45,6 (13,4 - 53,6)
	Sim	9	41,4 (18,9 - 67,5)
	Valor de p		1
Estenose de forame intervertebral	Não	10	47,5 (13,4 - 53,6)
	Sim	4	25,9 (18,9 - 67,5)
	Valor de p		0,37
Disco Preto	Não	4	37,2 (13,4 - 53,6)
	Sim	10	47,5 (18,9 - 67,5)
	Valor de p		0,53

Continua na próxima página...

Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	49 (13,4 - 53,2)
	Sim	10	37,8 (18,9 - 67,5)
1			
Área de Colágeno Maduro no Material Extruso	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	47,3 (39,2 - 61,5)
	Sim	10	34,6 (4,6 - 94)
	Valor de p		0,24
Hoffmann	Não	12	38,9 (4,6 - 94)
	Sim	2	50,0215 (41 - 58,9)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	43,6 (30,7 - 53,7)
	Sim	10	38,9 (4,6 - 94)
	Valor de p		0,63
Tônus muscular	Não	2	50 (41 - 58,9)
	Sim	12	38,9 (4,6 - 94)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	39,8 (4,6 - 61,5)
	Sim	6	40,6 (13,3 - 94)
	Valor de p		0,66
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	46,2 (4,6 - 61,5)
	Sim	9	39,2 (13,3 - 94)
	Valor de p		0,89
Estenose de forame intervertebral	Não	10	40,1 (4,6 - 61,5)
	Sim	4	40,3 (13,3 - 94)
	Valor de p		0,94
Disco Preto	Não	4	47,3 (27,9 - 61,5)
	Sim	10	38,9 (4,6 - 94)
	Valor de p		0,45
Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	52,5 (4,6 - 61,5)
	Sim	10	38,9 (13,3 - 94)
	Valor de p		0,45
Área de Colágeno Jovem na Cartilagem	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	62,5 (55,6 - 72,1)
	Sim	10	57,7 (0,001 - 95,5)
	Valor de p		0,73
Hoffmann	Não	12	64,1 (0,001 - 95,5)
	Sim	2	45,7 (35,7 - 55,6)

Continua na próxima página...

Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	51,9 (58 - 68,1)
	Sim	10	64,1 (0,001 - 95,5)
	Valor de p		0,8
Tônus muscular	Não	2	45,7 (35,7 - 55,6)
	Sim	12	64,1 (0,001 - 95,5)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	58 (0,001 - 95,5)
	Sim	6	64,1 (35,7 - 80,3)
	Valor de p		0,4
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	68,1 (0,001 - 95,5)
	Sim	9	55,6 (0,001 - 80,3)
	Valor de p		0,4
Estenose de forame intervertebral	Não	10	58 (0,001 - 95,5)
	Sim	4	71,7 (33,9 - 80,3)
	Valor de p		0,4
Disco Preto	Não	4	58 (0,001 - 72,1)
	Sim	10	64,1 (0,001 - 95,5)
	Valor de p		0,5
Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	70,1 (35,7 - 95,5)
	Sim	10	58 (0,001 - 80,3)
	Valor de p		0,2
Área de Colágeno Jovem no Ânulo Fibroso	Classificação	n	Mediana (Min - Max)
Dor	Não	4	42,4 (16,9 - 84,1)
	Sim	10	55,2 (12,8 - 85)
	Valor de p		0,6
Hoffmann	Não	12	53,6 (12,8 - 84,1)
	Sim	2	67,9 (50,9 - 85)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	16,9 (49 - 53)
	Sim	10	59,4 (12,8 - 85)
	Valor de p		0,2
Tônus muscular	Não	2	67,9 (50,9 - 85)
	Sim	12	53,6 (12,84 - 84,1)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	42,4 (12,8 - 56,1)
	Sim	6	69,1 (47,2 - 85)
	Valor de p		0,008

Continua na próxima página...

Presença de osteófitos anteriores	Não	5	33,8 (12,8 - 54,3)
	Sim	9	62,7 (12,8 - 85)
	Valor de p		0,06
Estenose de forame intervertebral	Não	10	49 (12,8 - 85)
	Sim	4	64,1 (56,1 - 72,7)
	Valor de p		0,1
Disco Preto	Não	4	25,4 (12,8 - 50,9)
	Sim	10	59,4 (12,8 - 85)
	Valor de p		0,02
Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	53,6 (33,8 - 85)
	Sim	10	53,5 (12,8 - 84,1)
	Valor de p		0,7
Área de Colágeno Jovem no Núcleo Pulposo	Classificação	n	Mediana (Min - Max)
Dor	Não	4	66,4 (58,5 - 86,5)
	Sim	10	48,9 (32,4 - 81)
	Valor de p		0,1
Hoffmann	Não	12	60 (32,4 - 86,5)
	Sim	2	52,9 (47,4 - 58,5)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	46,7 (54,5 - 67)
	Sim	10	60,091 (32,4 - 86,5)
	Valor de p		0,8
Tônus muscular	Não	2	52,9 (47,4 - 58,5)
	Sim	12	60 (32,4 - 86,5)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	50,5 (32,4 - 86,5)
	Sim	6	68 (47,4 - 81)
	Valor de p		0,2
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	54,3 (46,3 - 86,5)
	Sim	9	58,5 (32,4 - 81)
	Valor de p		1
Estenose de forame intervertebral	Não	10	52,4 (46,3 - 86,5)
	Sim	4	74 (32,4 - 81)
	Valor de p		0,3
Disco Preto	Não	4	62,7 (46,3 - 86,5)
	Sim	10	52,4 (32,4 - 81)
	Valor de p		0,5

Continua na próxima página...

Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	50,9 (46,7 - 86,5)
	Sim	10	62,1 (32,4 - 81)
		Valor de p	1
Área de Colágeno Jovem no Material Extruso	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	52,6 (38,4 - 60,7)
	Sim	10	65,3 (5,9 - 95,3)
		Valor de p	0,2
Hoffmann	Não	12	61 (5,9 - 95,3)
	Sim	2	49,9 (41 - 58,9)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	46,2 (56,3 - 69,2)
	Sim	10	61 (5,9 - 95,3)
		Valor de p	0,6
Tônus muscular	Não	2	49,9 (41 - 58,9)
	Sim	12	61 (5,9 - 95,3)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	60,14 (38,4 - 95,3)
	Sim	6	59,3 (5,9 - 86,6)
		Valor de p	0,6
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	53,7 (38,4 - 95,3)
	Sim	9	60,7 (5,9 - 86,6)
		Valor de p	0,8
Estenose de forame intervertebral	Não	10	59,8 (38,4 - 95,3)
	Sim	4	59,6 (5,9 - 86,6)
		Valor de p	0,8
Disco Preto	Não	4	52,6 (38,4 - 72)
	Sim	10	61 (5,9 - 95,3)
		Valor de p	0,4
Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	47,4 (38,4 - 95,3)
	Sim	10	61 (5,9 - 86,6)
		Valor de p	0,4

Final da tabela 5

Tabela 6: Resultado da análise comparativa da presença de fosfato de cálcio em discos degenerados com manifestações clínicas e radiológicas encontradas.

Presença de fosfato de cálcio	Classificação	n	Evolução temporal ¹	Padrão da Lesão ²	DOR	Hoffmann	Dist sensibilidade
Cartilagem	Sim	3	2 (66,7%)	3 (100%)	2 (66,7%)	0 (0%)	2 (66,7%)
	Não	11	6 (54,5%)	8 (72,7%)	8 (72,7%)	2 (18,2%)	8 (72,7%)
	Valor de p		1	1	1	1	1
Ânulo Fibroso	Sim	2	1 (50%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)
	Não	12	7 (58,3%)	9 (75%)	10 (83,3%)	2 (16,7%)	9 (75%)
	Valor de p		1	1	0,065	1	0,505
Núcleo Pulposos	Sim	2	1 (50%)	2 (100%)	1 (50%)	0 (0%)	1 (50%)
	Não	12	7 (58,3%)	9 (75%)	9 (75%)	2 (16,7%)	9 (75%)
	Valor de p		1	1	0,505	1	0,505
Material Extruso	Sim	3	2 (66,7%)	3 (100%)	1 (33,3%)	0 (0%)	1 (33,3%)
	Não	11	6 (54,5%)	8 (72,4%)	9 (81,8%)	2 (18,2%)	9 (81,8%)
	Valor de p		1	1	0,175	1	0,175
Presença de fosfato de cálcio	Classificação	n	Força Muscular ³	Tônus muscular ⁴	Presença de osteófitos posteriores	Presença de osteófitos anteriores	Estenose de forame intervertebral
Cartilagem	Sim	3	1 (33,3%)	3 (100%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)
	Não	11	7 (63,3%)	9 (81,8%)	5 (45,5%)	8 (72,7%)	3 (27,3%)
	Valor de p		0,538	1	1	0,505	1
Ânulo Fibroso	Sim	2	1 (50%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Não	12	7 (58,3%)	10 (83,3%)	6 (50%)	9 (75%)	4 (33,3%)
	Valor de p		1	1	0,472	0,109	1
Núcleo Pulposos	Sim	2	1 (50%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Não	12	7 (58,3%)	10 (83,3%)	6 (50%)	9 (75%)	4 (33,3%)
	Valor de p		1	1	0,472	0,109	1
Material Extruso	Sim	3	2 (66,7%)	3 (100%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)	0 (0%)
	Não	11	6 (54,5%)	9 (81,8%)	5 (45,5%)	8 (72,7%)	4 (36,4%)
	Valor de p		1	1	1	0,505	0,505
Presença de fosfato de cálcio	Classificação	n	Disco Preto	Local da Extrusão ⁵	Reflexo ⁶	Acometimento de níveis adjacentes	
Cartilagem	Sim	3	2 (66,7%)	3 (100%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)	
	Não	11	8 (72,7%)	7 (63,7%)	8 (72,7%)	9 (81,8%)	
	Valor de p		1	0,505	0,175	0,505	
Ânulo Fibroso	Sim	2	0 (0%)	2 (100%)	1 (50%)	1 (50%)	
	Não	12	10 (83,3%)	8 (66,7%)	8 (66,7%)	9 (75%)	
	Valor de p		0,065	1	0,505	1	
Núcleo Pulposos	Sim	2	1 (50%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	
	Não	12	9 (75%)	8 (66,7%)	9 (75%)	10 (83,3%)	
	Valor de p		0,505	1	0,065	0,109	

Continua na próxima página...

Material Extruso	Sim	3	1 (33,3%)	3 (100%)	2 (66,7%)	2 (66,7%)
	Não	11	9 (81,8%)	7 (63,7%)	7 (63,6%)	8 (72,7%)
	Valor de p		0,175	0,505	1	1

Final da tabela 6

Tabela 7: Resultado da análise comparativa da presença de fosfato de cálcio em discos degenerados com tempo de início dos sintomas apresentado pelos pacientes.

Presença de fosfato de cálcio	Classificação	n	Tempo início sintomas Mediana (Min – Max)
Cartilagem	Sim	3	180 (20 – 2880)
	Não	11	105 (10 – 1800)
	Valor de p		0,769
Ânulo Fibroso	Sim	2	95 (10 – 180)
	Não	12	132,5 (20 – 2880)
Núcleo Pulposos	Sim	2	100 (20 – 180)
	Não	12	132,5 (10 – 2880)
Material Extruso	Sim	3	105 (10 – 180)
	Não	11	160 (20 – 2880)
	Valor de p		0,456

Tabela 8: Resultado da análise comparativa da presença de oxalato de cálcio em discos degenerados com manifestações clínicas e radiológicas encontradas.

Presença de oxalato de cálcio	Classificação	n	Evolução temporal ¹	Padrão da Lesão ²	Dor	Hoffmann	Dist sensibilidade
Cartilagem	Sim	2	1 (50%)	2 (100%)	1 (50%)	0 (%)	2 (100%)
	Não	12	7 (58,3%)	9 (75%)	9 (75%)	2 (16,7%)	8 (66,7%)
	Valor de p		1	1	0,505	1	1
Ânulo Fibroso	Sim	1	1 (100%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)
	Não	13	7 (53,8%)	10 (77%)	10 (76,%)	2 (15,4%)	9 (69,2%)
	Valor de p		1	1	0,285	1	1
Material Extruso	Sim	1	0 (0%)	1 (100%)	1 (100%)	0 (0%)	1 (100%)
	Não	13	8 (61,5%)	10 (77%)	9 (69,2%)	2 (15,4%)	9 (69,2%)
	Valor de p		0,357	1	1	1	1
Presença de oxalato de cálcio	Classificação	n	Força Muscular ³	Tônus muscular ⁴	Presença de osteófitos posteriores	Presença de osteófitos anteriores	Estenose de forame intervertebral
Cartilagem	Sim	2	2 (100%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Não	12	6 (50%)	10 (83,3%)	6 (50%)	9 (75%)	4 (33,3%)
	Valor de p		0,472	1	0,472	0,109	1
Ânulo Fibroso	Sim	1	1 (100%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Não	13	7 (53,8%)	11 (84,6%)	6 (46,2%)	9 (69,2%)	4 (30,8%)
	Valor de p		1	1	1	0,357	1

Continua na próxima página...

Material Extruso	Sim	1	1 (100%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	Não	13	7 (53,8%)	11 (84,6%)	6 (46,2%)	9 (69,2%)	4 (30,8%)
Valor de p			1	1	1	0,357	1
Presença de oxalato de cálcio	Classificação	n	Disco Preto	Local da Extrusão ⁵	Reflexo ⁶	Acometimento de níveis adjacentes	
Cartilagem	Sim	2	1 (50%)	2 (100%)	1 (50%)	0 (0%)	
	Não	12	9 (75%)	8 (66,7%)	8 (66,7%)	10 (83,3%)	
Valor de p			0,505	1	0,065	1	
Ânulo Fibroso	Sim	1	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	
	Não	13	10 (76,9%)	9 (69,2%)	9 (69,2%)	10 (76,9%)	
Valor de p			0,285	1	0,285	0,375	
Material Extruso	Sim	1	1 (100%)	1 (100%)	1 (100%)	0 (0%)	
	Não	13	9 (69,2%)	9 (69,2%)	8 (61,5%)	10 (76,9%)	
Valor de p			1	1	0,285	1	

Final da tabela 8

Tabela 9: Resultado da análise comparativa da presença de oxalato de cálcio em discos degenerados com tempo de início dos sintomas apresentado pelos pacientes.

Presença de oxalato de cálcio	Classificação	n	Tempo início sintomas Mediana (Min – Max)
Cartilagem	Sim	2	105 (30 – 180)
	Não	12	132,5 (10 – 2880)
Ânulo Fibroso	Sim	1	180
	Não	13	105 (10 – 2880)
Material Extruso	Sim	1	30
	Não	13	160 (10 – 2880)

Tabela 10: Resultado da análise comparativa da quantidade de condrócitos em discos degenerados com manifestações clínicas e radiológicas encontradas.

Número de Condrócitos na Cartilagem	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	87,5 (69 – 107)
	Sim	10	119 (53 – 213)
Valor de p			0,142
Hoffmann	Não	12	108 (53 – 213)
	Sim	2	105 (93 – 117)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	99 (69 – 213)
	Sim	10	113 (53 – 200)
Valor de p			0,839
Tônus muscular	Não	2	105 (93 – 117)
	Sim	12	108 (53 – 213)

Continua na próxima página...

Presença de osteófitos posteriores	Não	8	87,5 (53 – 134)
	Sim	6	122,5 (107 – 213)
	Valor de p		0,029
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	69 (53 – 105)
	Sim	9	121 (93 – 213)
	Valor de p		0,002
Estenose de forame intervertebral	Não	10	99 (53 – 213)
	Sim	4	131 (109 – 200)
	Valor de p		0,054
Disco Preto	Não	4	75,5 (53 – 93)
	Sim	10	119 (68 – 213)
	Valor de p		0,014
Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	93,5 (68 – 117)
	Sim	10	115 (53 – 213)
	Valor de p		0,240
Número de Condrocitos no Ânulo Fibroso	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	125 (66 – 236)
	Sim	10	123 (75 – 253)
	Valor de p		0,945
Hoffmann	Não	12	132 (75 – 253)
	Sim	2	72,5 (66 – 79)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	110,5 (66 – 150)
	Sim	10	129 (75 – 253)
	Valor de p		0,539
Tônus muscular	Não	2	72,5 (66 – 79)
	Sim	12	132 (75 – 253)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	118 (66 – 155)
	Sim	6	137 (77 – 253)
	Valor de p		0,414
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	116 (75 – 155)
	Sim	9	126 (66 – 253)
	Valor de p		0,898
Estenose de forame intervertebral	Não	10	118 (66 – 236)
	Sim	4	143 (77 – 253)
	Valor de p		0,454
Disco Preto	Não	4	85 (66 – 155)
	Sim	10	132 (77 – 253)
	Valor de p		0,188
Continua na próxima página...			

Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	133 (79 – 155)
	Sim	10	123 (66 – 253)
	Valor de p		0,733
Número de Condrócitos no Núcleo Pulposos	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	62 (54 – 70)
	Sim	10	76,5 (52 – 205)
	Valor de p		0,188
Hoffmann	Não	12	68 (52 – 205)
	Sim	2	85,5 (54 – 117)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	65 (54 – 90)
	Sim	10	73 (52 – 205)
	Valor de p		0,733
Tônus muscular	Não	2	85,5 (54 – 117)
	Sim	12	68 (52 – 205)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	62 (52 – 88)
	Sim	6	83,5 (62 – 205)
	Valor de p		0,029
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	64 (57 – 76)
	Sim	9	77 (52 – 205)
	Valor de p		0,298
Estenose de forame intervertebral	Não	10	68 (54 – 117)
	Sim	4	69,5 (52 – 205)
	Valor de p		1
Disco Preto	Não	4	62 (54 – 76)
	Sim	10	73,5 (52 – 205)
	Valor de p		0,240
Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	63 (57 – 117)
	Sim	10	73 (52 – 205)
	Valor de p		0,733
Número de Condrócitos no Material Extruso	Classificação	n	Mediana (Min – Max)
Dor	Não	4	136 (35 – 155)
	Sim	10	87,5 (51 – 426)
	Valor de p		0,635
Hoffmann	Não	12	103 (35 – 426)
	Sim	2	119,5 (99 – 140)
Distúrbio de Sensibilidade	Não	4	108 (35 – 148)
	Sim	10	114,5 (51 – 426)
	Valor de p		0,945

Continua na próxima página...

Tônus muscular	Não	2	119,5 (99 – 140)
	Sim	12	103 (35 – 426)
Presença de osteófitos posteriores	Não	8	75 (35 – 155)
	Sim	6	131 (51 – 426)
	Valor de p		0,414
Presença de osteófitos anteriores	Não	5	76 (35 – 155)
	Sim	9	130 (51 – 426)
	Valor de p		0,699
Estenose de forame intervertebral	Não	10	115,5 (35 – 426)
	Sim	4	99,5 (51 – 426)
	Valor de p		0,733
Disco Preto	Não	4	105 (35 – 155)
	Sim	10	114,5 (51 – 426)
	Valor de p		0,839
Acometimento de níveis adjacentes	Não	4	119,5 (76 – 155)
	Sim	10	102 (35 – 426)
	Valor de p		0,374

Final da tabela 10

Tabela 07: Resultado da análise comparativa da quantidade de condrócitos em discos degenerados com manifestações clínicas encontradas.

Variáveis	n	Coefficiente de correlação de Spearman	Valor de p
Tempo de início dos sintomas e condrócitos na cartilagem	14	0,56	0,039
Tempo de início dos sintomas e condrócitos no ânulo fibroso	14	0,27	0,349
Tempo de início dos sintomas e condrócitos no núcleo pulposo	14	0,36	0,204
Idade e condrócitos na cartilagem	14	0,71	0,005
Idade e condrócitos no ânulo fibroso	14	0,10	0,725
Idade e condrócitos no núcleo pulposo	14	0,19	0,512