



Vascular proliferation of the lumbar intervertebral discs during ageing

Proliferacja naczyniowa lędźwiowych krążków międzykręgowych w trakcie starzenia się

© J ORTHOP TRAUMA SURG REL RES 2 (14) 2009

Original article/Artykuł oryginalny

WOJCIECH J. ŁEBKOWSKI¹, JANUSZ DZIĘCIOŁ², URSZULA ŁEBKOWSKA³

¹ Klinika Neurochirurgii

² Zakład Anatomii Prawidłowej Człowieka

³ Zakład Radiologii

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Address for correspondence/Adres do korespondencji:

Wojciech J. Łebkowski

Klinika Neurochirurgii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A, 15-276 Białystok

tel. (085) 7468221; e-mail: wleb@umwb.edu.pl

Statistic/Statystyka

Word count/Liczba słów 1558/1353

Tables/Tabele 4

Figures/Ryciny 1

References/Piśmiennictwo 27

Received: 14.11.2008

Accepted: 24.03.2009

Published: 25.05.2009

The study was supported by Medical University Białystok, grants No 3-55 485 and No 3-55 678.

Badania były finansowane przez Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, programy Nr 3-55 485 oraz Nr 3-55 678.

Summary

Background. The nutrition of the discs is realized by diffusion. The nutrients diffuse from blood vessels localized in outer part of annulus fibrosus and independently across the end plates from vertebral bodies. During ageing the blood vessels in the outer lamellae of the annulus fibrosus disappear, however in this same time the neovascularisation processes may occur within the various components of the disc.

Material and methods. 308 lumbar discs were harvested during the autopsies. The symptoms and the degree of degeneration were evaluated followed by detection of neovascularisation. The vascularity pattern of discs was determined as: 1 - blood vessels in longitudinal ligaments, single vessels penetrating annulus fibrosus, 2 - numerous cracks between longitudinal ligaments and annulus fibrosus, several blood vessels within these cracks, 3 - numerous blood vessels penetrating deeply the annulus fibrosus, 4 - blood vessels within the disc close to the centre of the end plate, 5 - blood vessels penetrating the annulus fibrosus from vertebral rim distally to the end plate.

Results. The statistical analysis revealed relation between macroscopically determined degree of discs degeneration and vascularity pattern. The relation was found as well between the distribution of the vascularity pattern and specimens age.

Conclusion. We can state that some kind of vascular proliferation occurs in the lumbar disc during the ageing (pattern 3 and 5). In our opinion, vessels found deep in discs (pattern 2 and 4) are related to the disc degeneration, but not for sure with disc herniation.

Key words: lumbar disc, vascular proliferation, ageing

Streszczenie

Wstęp. Odżywianie krążków międzykręgowych odbywa się na drodze dyfuzji. Substancje odżywcze dyfundują z naczyń krwionośnych usytuowanych w zewnętrznych warstwach pierścienia włóknistego oraz niezależnie poprzez płytki graniczne z trzonów kręgow. W trakcie starzenia się ilość naczyń krwionośnych w zewnętrznych warstwach pierścienia włóknistego zmniejsza się, jednak w tym samym czasie w różnych elementach składowych krążków może mieć miejsce proces neowaskularyzacji.

Materiał i metody. 308 lędźwiowych krążków międzykręgowych pozyskano podczas autopsji. Oceniano objawy i stopień zwyrodnienia krążków międzykręgowych, a następnie oceniano proces neowaskularyzacji. Obserwowane naczynia krwionośne klasyfikowano jako: 1 - naczynia krwionośne w więzadle podłużnym z pojedynczymi naczyniami penetrującymi do pierścienia włóknistego, 2 - liczne szczelinki pomiędzy więzadłem podłużnym a pierścieniem włóknistym, liczne naczynia krwionośne obecne w szczelinkach, 3 - liczne naczynia krwionośne penetrujące głęboko do pierścienia włóknistego, 4 - naczynia krwionośne obecne głęboko w krążku w sąsiedztwie płytki granicznej, 5 - naczynia krwionośne penetrujące do pierścienia włóknistego z krawędzi kręgu obwodowo do płytki granicznej.

Wyniki. Analiza statystyczna wykazała relację pomiędzy makroskopowym stopniem zwyrodnienia a typem neowaskularyzacji. Stwierdzono także relację pomiędzy wiekiem a rozkładem naczyń w krążkach.

Wnioski. Pewne typy neowaskularyzacji w obrębie krążków międzykręgowych występują wraz z wiekiem (typ unaczynienia 3 oraz 5). W naszym przekonaniu, naczynia krwionośne usytuowane głęboko w obrębie krążków (typ 2 oraz 4) są związane ze zwyrodnieniem krążków, niekoniecznie jednak z tworzeniem się przepukliny krążkowej.

Słowa kluczowe: lędźwiowy krążek międzykręgowy, proliferacja naczyniowa, starzenie

The intervertebral disc, especially lumbar, is described as the biggest avascular structure of the human body. It means that the nutrition support of intervertebral disc is realized by diffusion, fundamentally in two different ways – from longitudinal ligaments and outer parts of the annulus fibrosus where blood vessels are localized, and independently from blood vessels within the vertebra across the end plates [1,2]. The blood vessels in outer layers of annuli fibroses are observed mainly in children (the nucleus pulposus is totally avascular structure), and with the skeletal maturation a number of these vessels disappear and diffusion across the end plate diminish dramatically [2,3]. The terminal result of above mentioned process is: insufficient nutrition with consecutive metabolism disturbances, and finally, necrosis of a number of primary observed disc cells (even 50%) [4,5,6]. Along with ageing the nucleus becomes fibrotic, primary notochordal cells disappear, remain only chondrocyte-like cells and border between nucleus and annulus is no longer distinct, what is presented in number of studies [6,7,8,9,10].

Natarajan states that vascular proliferation is observed in some cases in advanced age in the intervertebral discs, however in his opinion it is related to the disc degeneration and in part is a result of the mechanical injury [3]. First such observations presenting a number of proliferating vessels in discs with pronounced degeneration were done by Holm, however it was done in animal model [11].

The aim of our study was evaluation of the lumbar intervertebral disc vascular supply and as well estimation of its changes occurring during ageing.

MATERIAL AND METHODS

The intervertebral discs used for study were harvested during the autopsies. The specimens from cadavers with former spine operation or evident history of spine disturbances were excluded and discs not harvested. The spec-

krążek międzykręgowy, w szczególności lędźwiowy, jest opisywany jako największa struktura ciała nie posiadająca swojego unaczynienia. Oznacza to, że odżywanie krążka odbywa się na drodze dyfuzji, zasadniczo z dwóch źródeł – z naczyń krwionośnych usytuowanych w więzadłach podłużnych i zewnętrznych blaszkach pierścienia włóknistego, oraz niezależnie poprzez płytki graniczne z naczyń usytuowanych w obrębie trzonów kręgow [1,2]. Naczynia krwionośne w zewnętrznych blaszkach pierścieni włóknistych są obserwowane głównie u dzieci (jądro galaretowate jest całkowicie nieunaczynione), i wraz z wiekiem ilość naczyń krwionośnych maleje a dyfuzja poprzez płytkę graniczną spada drastycznie [2,3]. Wynikiem końcowym tego procesu jest niedożywienie krążka międzykręgowego z zaburzeniem jego metabolizmu, a ostatecznie obumieranie licznych pierwotnych komórek (nawet 50%) [4,5,6]. Wraz z wiekiem jądro galaretowate staje się zwłókniałe, zanikają pierwotne komórki notochordalne, pozostają tylko komórki chondrocyto-podobne, a granica pomiędzy jądrem i pierścieniem włóknistym zaciera się [6,7,8,9,10].

Natarajan wykazał proliferację naczyniową w zaawansowanych wiekowo krążkach międzykręgowych, jednak w jego mniemaniu jest to następstwo zwyrodnienia krążka międzykręgowego i w części efekt urazów mechanicznych [3]. Pierwsze obserwacje dotyczące proliferacji naczyniowej zostały dokonane przez Holm'a, jednakże na modelach zwierzęcych [11].

Celem prezentowanych badań była ocena unaczynienia lędźwiowych krążków międzykręgowych oraz ocena zmian unaczynienia zachodzących wraz z wiekiem.

MATERIAŁ I METODY

Krążki międzykręgowe niezbędne do przeprowadzenia badań pozyskano podczas autopsji. Do badań nie kwalifikowano krążków od osób z wywiadem chorobowym ze strony kręgosłupa, a w szczególności po przebytych

imens with pronounced spine degeneration revealed during autopsies were abandoned as well. The specimen preparation was performed in manner to preserve the intact end plates. As a next step the intervertebral disc was dissected in the horizontal plane and evaluated macroscopically with bare eye [9]. The macroscopic changes were classified according to Nachemson (see table 1)[12]. After macroscopic evaluation the specimens for microscopic evaluation were selected and taken.

The specimens for microscopic examination were prepared in typical manner, and cut into 5 μ m sections. All specimens for study with light microscopy were stained with hematoxylin and eosin, AZAN method according to Mallory modified by Heidenhein, Gomori silver impregnation for reticulin fibers, and alcian blue with PAS. Azan-Mallory stain allowed confirms the presence of fibers, hyalinization, and fibrinoid degeneration. The elastica von Gieson stain let to visualize the elastic fibers. Silver impregnation allowed observe reticulin fibers to define clearly the boundary between nucleus pulposus and annulus fibrosus, and alcian blue with PAS stain allowed to observe the distribution of mucopolysaccharide to determine and qualify the cartilage cells. The microscopic evaluation was performed with light microscope Olympus BX 41.

The vessels and vascular proliferation was detected immunohistochemically, using von Willebrand antibodies (DAKO, Catalogue No M 0616), LSAB/Kit (DAKO, Catalogue No K 0690), and DAB as a chromogen (DAKO, Catalogue No S 3000). The classification of observed vascular proliferation is presented in Table 2.

For statistical purposes we used ANOVA test, post hoc Scheffe test, Chi² test. All presented data are means \pm standard deviation (SD). The results were accepted as statistically significant when $p < 0.05$.

operacjach kręgosłupa. Analogicznie dyskwalifikowano preparaty wykazujące bardzo dużego stopnia zmiany zwyrodnieniowe określone podczas autopsji. Krążki preparowano tak, aby zachować nienaruszone płytki graniczne, a następnie przecinano je w płaszczyźnie horyzontalnej i makroskopowo oceniano zaawansowanie zmian zwyrodnieniowych [9]. Zmiany makroskopowe klasyfikowano zgodnie z klasyfikacją Nachemsona (Tabela 1)[12]. W etapie następnym preparaty poddawano ocenie mikroskopowej.

Preparaty do oceny mikroskopowej przygotowywano w sposób typowy i cięto na skrawki 5 μ m. Wszystkie preparaty mikroskopowe były barwione hematoksyliną i eozyną, metodą AZAN według Mallory zmodyfikowaną przez Heidenhein, impregnowane srebrem wg Gomori oraz błękitem alcian z PAS. Barwienie Azan-Mallory pozwoliło wykazać obecność włókien fibrynowych, zeszkliwienie oraz zwyrodnienie włóknikowe. Barwienie von Gieson pozwoliło uwidocznnić włókna elastyczne. Impregnacja srebrem pozwoliła na obserwowanie włókien retikuliny oraz jednoznaczne zdefiniowanie granicy pomiędzy jądrem galaretowatym i pierścieniem włóknistym, a barwienie błękitem alcian z PAS umożliwiło ocenić rozkład mukopolisacharydów oraz ocenić komórki chrzęstne. Badania mikroskopowe przeprowadzono mikroskopem świetlnym BX 41.

Naczynia krwionośne i ich proliferację wykrywano immunohistochemicznie z zastosowaniem przeciwciał von Willebrand (DAKO, Nr Katalogu M 0616), LSAB/Kit (DAKO, Nr Katalogu K 0690), oraz DAB-em, jako chromogenem (DAKO, Nr Katalogu S 3000). Klasyfikacja proliferacji naczyniowej jest przedstawiona w Tabeli 2.

Do analizy statystycznej użyto testu ANOVA, testu post hoc Scheffe, oraz testu Chi². Wszystkie prezentowane dane są wartościami średnimi \pm odchylenie standar-

Tab. 1. Classification of macroscopically estimated discs degenerative changes (by Nachemson) [12]

Grade I	the nucleus pulposus is a shiny structure and is well delineated from annulus fibrosus, these both structures are intact
Grade II	the macroscopically observed changes are in the nucleus only, the nucleus becomes fibrous, and the border between nucleus and annulus is still well defined
Grade III	changes are observed in the nucleus and in the annulus, the nucleus is fibrotic however is still soft, the border between nucleus and annulus is no longer well defined, the single cracks are in the annulus
Grade IV	the serious changes are in the nucleus and in the annulus as well, the cracks and fissures are visible in both structures, and traction osteophytes are at the vertebral rims

Tab. 1. Makroskopowa klasyfikacja zmian zwyrodnieniowych krążków międzykręgowych (wg Nachemsona) [12]

Stopień I	jądro galaretowate jest gładkie i dobrze odgraniczone od pierścienia włóknistego, obie składowe krążka nie wykazują zmian
Stopień II	zmiany makroskopowe są obserwowane tylko w jądrze, jądro wykazuje cechy zwłóknienia, granica pomiędzy jądrem a pierścieniem włóknistym jest nadal wyraźna
Stopień III	zmiany są widoczne zarówno w jądrze jak i w pierścieniu, jądro jest zwłókniałe i nadal pozostaje miękkie, granica pomiędzy jądrem i pierścieniem jest zatarta, widoczne są pojedyncze pęknięcia w pierścieniu
Stopień IV	w jądrze i w pierścieniu widoczne są zmiany zaawansowane, w obu strukturach widoczne są pęknięcia i szczeliny, na krawędziach trzonów obecne są osteofity trakcyjne

The goals and methods of the study were approved by the Local Bioethical Committee.

RESULTS

According to above mentioned rules we obtained 308 specimens of lumbar intervertebral discs during autopsies of 136 cadavers (79 males, 57 females, in age 0 – 77 years). Forty-one discs were from L2/L3 intervertebral spaces, 71 from L3/L4, 104 from L4/L5 level, and last 92 discs were harvested from L5/S1 intervertebral spaces. The mean age of discs was 41.97 ± 16.82 years. According to the gender we observed no statistical difference between age of male and female discs ($f = 41.84 \pm 18.17$; $m = 42.06 \pm 15.81$; $p =$ not significant, ANOVA test).

dowe (SD). Wyniki były akceptowane jako statystycznie znamienne przy $p < 0.05$.

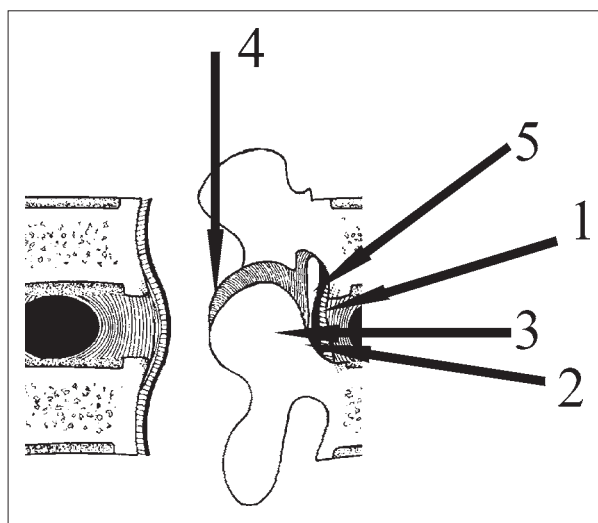
Cele i metodyka badań zostały zaakceptowane przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku.

WYNIKI

Stosując powyżej podane zasady, podczas 136 sekcji (79 mężczyzn, 57 kobiet, wiek 0 – 77 lat) uzyskano 308 lędźwiowych krążków międzykręgowych. Czterdzieści jeden krążków uzyskano z przestrzeni L2/L3, 71 z przestrzeni L3/L4, 104 z przestrzeni L4/L5, oraz 92 krążki uzyskano z przestrzeni L5/S1. Średni wiek krążków wyniósł 41.97 ± 16.82 lat. Analiza statystyczna nie wykazała różnic istotnych w odniesieniu do wieku krążków

Fig. 1. Pattern of vascularisation. 1 - vessels in longitudinal ligaments and single vessels are penetrating *annulus fibrosus*, 2 - a number of cracks filled with vessels between longitudinal ligaments and *annulus fibrosus*, 3 - a number penetrates *annulus fibrosus*, 4 - a number of vessels within intervertebral disc together with chondrocyte-like cells or bone marrow foci nearby the end-plate, 5 - vessels penetrate from vertebral rim distal to end-plates

Ryc. 1. Typy unaczynienia (prolifracji naczyniowej). 1 – naczynia krwionośne są obecne w więzadle podłużnym, nieliczne penetrują zewnętrzne blaszki pierścienia włóknistego, 2 – widoczne są liczne pęknięcia pomiędzy pierścieniem i więzadłem podłużnym wypełnione naczyniami krwionośnymi, 3 – liczne naczynia penetrują głęboko do pierścienia włóknistego, 4 – liczne naczynia są obecne w krążku razem z komórkami chondrocytopodobnymi lub ogniskami szpiku kostnego w bezpośrednim sąsiedztwie płytki granicznej, 5 – naczynia penetrują od krawędzi trzonu, obwodowo do płytki granicznej



Tab. 2. Types of vascularisation observed in autopsy specimens

Type	Pattern of vascular supply
1	blood vessels observed in longitudinal ligaments with single vessels penetrating annulus fibrosus
2	numerous cracks between longitudinal ligaments and annulus fibrosus with several blood vessels within these cracks
3	numerous blood vessels penetrating deep into the annulus fibrosus
4	close to the end plate a number of blood vessels within the disc close to the chondrocytes or focal necrosis and bone marrow
5	blood vessels penetrating the annulus fibrosus from vertebral rim distally to the end plate

Tab. 2. Typy unaczynienia obserwowane w preparatach autopsyjnych

Typ	Układ unaczynienia
1	naczynia krwionośne są obecne w więzadle podłużnym z pojedynczymi naczyniami penetrującymi zewnętrzne blaszki pierścienia włóknistego
2	widoczne są liczne pęknięcia pomiędzy więzadłem podłużnym i pierścieniem włóknistym z licznymi naczyniami krwionośnymi w tych pęknięciach
3	liczne naczynia krwionośne penetrują głęboko do pierścienia włóknistego
4	w bezpośrednim sąsiedztwie płytki granicznej widoczne są naczynia krwionośne w krążku z towarzyszącymi chondrocytami lub ogniskami martwicy II szpiku kostnego
5	naczynia krwionośne penetrują od strony krawędzi trzonu obwodowo do płytki granicznej

The macroscopic evaluation revealed no degenerative changes in 68 lumbar discs (grade I), in 116 specimens of small degree (grade II), in 82 specimens degeneration was evident (grade III), and in last 42 specimens degeneration was pronounced (grade IV). In general 240 discs presented degenerative changes and in 68 discs degeneration was not visualized with bare eye.

mężczyzn i kobiet (K – 41.84±18.17; M – 42.06±15.81; p = nieznamiennie, test ANOVA).

Ocena makroskopowa wykazała, że w 68 krążkach lędźwiowych nie występowały zmiany zwyrodnieniowe (stopień I), w 116 krążkach zmiany były niewielkie (stopień II), w 82 krążkach zwyrodnienie było ewidentne (stopień III), a w pozostałych 42 krążkach zmiany były nasilone (stopień IV). Ogółem 240 krążków wykazywało zmiany zwyrodnieniowe a w 68 krążkach ocena makroskopowa zmian nie wykazała.

Tab. 3. Distribution of vascularisation types according to specimens age

Age	Vascularisation type				
	1	2	3	4	5
1 - 10	14	-	-	-	-
11 - 20	15	-	-	-	-
21 - 30	41	7	-	-	-
31 - 40	50	12	-	-	-
41 - 50	17	30	8	4	11
51 - 60	2	32	14	3	10
61 - 70	-	1	14	9	5
71 - 80	-	-	4	5	-
Total	139	82	40	21	26

Tab. 3. Wiek badanych preparatów a typ proliferacji naczyniowej

Wiek (lata)	Typ unaczynienia				
	1	2	3	4	5
1 - 10	14	-	-	-	-
11 - 20	15	-	-	-	-
21 - 30	41	7	-	-	-
31 - 40	50	12	-	-	-
41 - 50	17	30	8	4	11
51 - 60	2	32	14	3	10
61 - 70	-	1	14	9	5
71 - 80	-	-	4	5	-
Razem	139	82	40	21	26

Tab. 4. Vascularisation types in relation to intervertebral discs degeneration

Type of vascularisation	Degree of degeneration			
	I	II	III	IV
1	56	60	18	5
2	11	39	29	3
3	-	9	12	19
4	-	2	10	9
5	1	6	13	6
Total	68	116	82	42

Tab. 4. Typ unaczynienia a zaawansowanie zmian zwyrodnieniowych krążków

Typ unaczynienia	Zaawansowanie zmian zwyrodnieniowych			
	I	II	III	IV
1	56	60	18	5
2	11	39	29	3
3	-	9	12	19
4	-	2	10	9
5	1	6	13	6
Razem	68	116	82	42

In 139 disc specimens type 1 of vascularisation was detected; type 2 in 82 discs, type 3 in 40 discs, type 4 in 21 discs, and type 5 in 26 investigated discs. (Figure 1),(Table 2). A strong relation was observed between the vascularisation and age of the specimens (vascularisation types 1 and 2 were observed more often in young individuals whereas patterns 3 and 5 in individuals in advanced age) – Chi² test, $p < 0.001$.(Table 3). As well the statistics revealed strong relation between type of vascularisation and macroscopically evaluated degree of disc degeneration (Chi² test, $p < 0.001$) (Table 4).

DISCUSSION

The intervertebral disc is composed of collagen, however the inner structure of annulus fibrosus and nucleus pulposus is completely different [13,14], and the only common feature is no vascularisation within these structures. The intervertebral disc was believed to be a totally avascular structure, with a small amount of vessels in peripheral layers of annulus fibrosus in young individuals, what pointed out studies of Natarajan, Grignon and Jamiołkowska [2,3,15].

Contrary to the above mentioned opinion, the blood vessels were found within the intervertebral discs in groups studied by Tanaka, Weidner and Rice [16,17]. These scientist found blood vessels deep within discs and stated that the vascular proliferation is realized in three various pathways: 1 – from longitudinal ligaments through annulus fibrosus, 2 – from vertebral body rim, peripheral to the end-plates, and 3 – from vertebral bodies through fissures and cracks of end-plates. The scientists conclude that this proliferation is “physiological”, and is inherent feature of ageing.

These observations are in general in line with our observations – we found vasculature within intervertebral disc not only in young individuals, and in deeper structures than peripheral layers of annulus fibrosus of the disc (see Table 3).

The presented study revealed the vascular proliferation within the intervertebral discs of various localization and various origins. In studied group we observed vascular proliferation, other than so-called “physiological” localized in outer layers of annulus, in people between 21 and 30 years of age. In older individuals we found vessels localized in cracks between longitudinal ligaments and annulus fibrosus, deep in central layers of annulus, within the disc close to the end plate, as well the vessels proliferation from vertebral rim distally to the end plate.

The vascular proliferation spreading from vertebral rim or vertebral body through degenerated end-plate was observed only in age over 40. The vessels proliferating from longitudinal ligament observed in young individuals were never observed in people over 60.

W 139 krążkach zaobserwowano unaczynienie typu 1, typu 2 w 82 krążkach lędźwiowych, typu 3 w 40 krążkach, typu 4 w 21 krążkach, oraz typu 5 w 26 badanych krążkach międzykręgowych. (Rycina 1), (Tabela 2). Analiza statystyczna wykazała znaczną zależność pomiędzy wiekiem krążków a typem obserwowanego unaczynienia (unaczynienie typu 1 oraz 2 obserwowano częściej u osób młodych, podczas gdy typu 3 oraz 5 u osób w wieku zaawansowanym) – test Chi², $p < 0.001$.(Tabela 3). Znamiennej zależność wykazano także pomiędzy typem unaczynienia a stopniem zaawansowania zmian zwyrodnieniowych ocenionym makroskopowo (test Chi², $p < 0.001$) (Tabela 4).

DYSKUSJA

Krążek międzykręgowy jest zbudowany zasadniczo z kolagenu, jednak struktura wewnętrzna jądra miążdżystego i pierścienia włóknistego całkowicie różnią się [13,14], a cechą wspólną tych struktur jest brak unaczynienia. Badacze w oparciu o uzyskiwane wyniki uważali, że krążek międzykręgowy jest całkowicie nieunaczyniony z niewielką ilością naczyń krwionośnych w zewnętrznych blaszkach pierścienia włóknistego u osób młodych [2,3,15].

W przeciwieństwie do powyższych opinii, badania Tanaka, Weidner’a i Rice’a wykazały obecność naczyń krwionośnych w obrębie krążków międzykręgowych [16,17]. Badacze wykazali obecność naczyń krwionośnych w głębokich strukturach krążków i stwierdzili, że proliferacja naczyniowa przebiega trzema drogami: 1 – od więzadła podłużnego poprzez pierścień włóknisty, 2 – od krawędzi trzonu kręgów, obwodowo do płytek granicznych, 3 – od trzonów kręgów poprzez szczeliny i pęknięcia płytek granicznych. W ocenie tychże badaczy proliferacja powyższa jest „fizjologiczna” i stanowi nieodłączny element procesu starzenia się.

Obserwacje powyższe są w zasadzie zgodne z obserwacjami naszymi – wykazaliśmy obecność unaczynienia w obrębie krążków międzykręgowych nie tylko u osób młodych, i w strukturach głębszych niż zewnętrzne blaszki pierścienia włóknistego (Tabela 3).

Prezentowane badania wykazały obecność unaczynienia w obrębie krążków międzykręgowych o różnej lokalizacji o różnym typie przebiegu. W grupie poddanej ocenie wykazaliśmy typy unaczynienia inne niż tzw. “fizjologiczne” usytuowane w powierzchniowych blaszkach pierścienia włóknistego, u osób w wieku pomiędzy 21 a 30 rokiem życia. U osób starszych wykazaliśmy naczynia krwionośne usytuowane w pęknięciach pomiędzy więzadłami podłużnymi a pierścieniem włóknistym, głęboko w przyśrodkowych warstwach pierścienia włóknistego w bezpośrednim sąsiedztwie płytek granicznych, jak też naczynia proliferujące od krawędzi trzonu obwodowo do płytki granicznej.

Naczynia proliferujące od krawędzi trzonu jak i trzonu kręgu poprzez zmienioną zwyrodnieniowo płytkę graniczną obserwowaliśmy wyłącznie u osób wieku ponad 40 lat. Naczynia proliferujące od więzadła podłuż-

Vascular proliferation could be observed in the nucleus and annulus in advanced age, however in general opinion this process is related to the degenerative changes, and is produced by mechanical injuries [3]. For the first time it was observed by Holm et al. in animal model, presenting vascular proliferation in discs with pronounced degeneration [11]. In Kauppila's opinion, the degenerative process per se, is related to the vascular proliferation enlarging cracks within the annulus. Kauppilla states also that the similar process takes place in the end plates by bone marrow penetration [19]. Słowiński et al. suggested that symptoms of the neovascularisation resulted from immunologic reactions toward the destructed intervertebral disc tissue, mainly herniated, and especially sequestered one [18].

Along with ageing the blood vessels could proliferate within disc in different ways – from the longitudinal ligament penetrating to disc across annulus fibrosus, – blood vessels proliferate from vertebral bodies (from the rim of vertebral body distally to the end-plate), – blood vessels proliferate from vertebral bodies through the crack and defects in the end-plates [3,15,17].

The blood vessels penetrating deep into the nucleus pulposus (type 3 of proliferation) was found by Małydyk et al. in some of specimens harvested from cadavera in age of 31 and over [5], and it is in line with our observations – nearly 13% of studied specimens presented this pattern of vascularisation. We believe that vascular proliferation deep within the nucleus pulposus is a result of degeneration-regeneration process.

The blood vessels we observed mainly (45%) in peripheral parts of annulus fibrosus (type 1 of proliferation), what is in line with studies of Jamiołkowska [2], or observed proliferation was classified as result of individuals ageing – 35% (type 2 and 5) [19].

The blood vessels we found in the autopsy specimens are typical for age groups where the vascular proliferation is observed [19]. On the basis of study we suggest, that vascular proliferation in the inner parts of annulus fibrosus is typical for age-related changes, and is not related to the changes supporting disc herniation.

The mechanism of neovascularization is not clear, and probably proliferation starts in the outer parts of the annulus fibrosus [6] or is a result of metaplasia of undifferentiated mesenchymal cells related to degenerative changes [1, 17,19,21,22,23,24-26]. The results of Carreon et al. studies show that annulus fibrosus may contain soluble substances that induce neovascularization, and cartilage end-plate induces no vascularization even diminish the neovascular response [27].

nego obserwowane u osób młodych nie były obserwowane u osób wieku ponad 60 lat.

Proliferacja naczyniowa może być obserwowana w jądrze miażdżystym I w pierścieniu włóknistym w wieku zaawansowanym, jednak uważa się, że proces ten jest związany ze zwyrodnieniem krążków międzykręgowych i jest efektem urazów natury mechanicznej [3]. Pierwsze tego typu obserwacje przeprowadził Holm i wsp. na modelach zwierzęcych, wykazując proliferację naczyniową w krążkach zmienionych zwyrodnieniowo w sposób znaczny [11]. W opinii Kauppila, proces zwyrodnieniowy jest sam w sobie związany z proliferacją naczyniową, która powiększa szczeliny i pęknięcia w pierścieniu włóknistym. Kauppilla uważa, że proces analogiczny zachodzi w płytkach granicznych na drodze penetracji szpiku kostnego [19]. Słowiński i wsp. Sugerują, że proliferacja naczyniowa jest efektem reakcji immunologicznej jako odpowiedzi na destrukcję tkanki krążków międzykręgowych, zasadniczo zmienionych przepuklinowo, w tym w szczególności wolnych [18].

Wraz z wiekiem naczyń krwionośnych mogą proliferować w różny sposób – od więzadeł podłużnych penetrując jądro poprzez pierścień włóknisty, – naczyń krwionośnych proliferują od strony trzonów kręgów (dystalnie do płytek granicznych), – naczyń krwionośnych proliferują od trzonów kręgów poprzez pęknięcia i uszkodzenia płytki granicznej [3,15,17].

Naczyń krwionośnych penetrujących głęboko do jądra miażdżystego (typ 3 proliferacji) Małydyk i wsp. Wykazali w części krążków osób w wieku powyżej 31 lat [5], co jest zgodne z obserwacjami naszymi – blisko 13% ocenianych krążków wykazywało taki typ unaczynienia. Uważamy, że naczyń krwionośnych penetrujących głęboko w jądrze są efektem procesu zwyrodnieniowego i naprawczego.

Unaczynienie jakie obserwowaliśmy zasadniczo (45%) to naczyń w peryferyjnych blaszkach pierścienia włóknistego (typ 1 proliferacji), i jest to zgodne z obserwacjami Jamiołkowskiej [2], lub też proliferacja była klasyfikowana jako wynik indywidualnego starzenia się – 35% (typ 2 oraz 5) [19].

Naczyń krwionośnych jakie wykazaliśmy w autopsyjnych preparatach krążków międzykręgowych są typowe dla grup wiekowych, w których proliferacja naczyniowa jest obserwowana [19]. W oparciu o przeprowadzone badania uważamy, że proliferacja naczyniowa w wewnętrznej części pierścienia włóknistego jest zmianą typową dla postępu wieku, nie ma natomiast związku z tworzeniem lub powiększaniem się przepukliny krążkowej.

Mechanizm proliferacji naczyniowej nie jest jasny, prawdopodobnie proliferacja zaczyna się w zewnętrznych blaszkach pierścienia włóknistego [6] lub jest wynikiem metaplazji niezróżnicowanych komórek mezenchymalnych w efekcie procesu zwyrodnieniowego [1, 17, 19, 21, 22, 23, 24-26]. Badania Carreon i wsp. wykazują, że pierścień włóknisty może zawierać substancje indukujące neowaskularyzację, podczas gdy płytki graniczne nie

Whereas we univocally state that vascular proliferation occurs in the lumbar intervertebral discs during the ageing, so we are not able to state that it is related to the degree of degeneration and is related to development of disc herniation.

indukują procesu proliferacji naczyniowej a nawet proliferację zmniejszają [27].

O ile zdecydowanie stwierdzamy, że proliferacja naczyniowa zachodzi w lędźwiowych krążkach międzykręgowych wraz z postępem wieku (starzeniem się), to jednocześnie nie możemy zdecydowanie stwierdzić, że jest to związane z nasileniem zmian zwyrodnieniowych lub też związane z tworzeniem się przepukliny krążkowej.

References/Piśmiennictwo:

- Guida G, Cigala F, Riccio V. The vascularisation of the vertebral body in the human fetus at term. *Clin Orthop* 1969; 65:229-234.
- Jamiolkowska K. Arterial vascularization of annuli fibrosi of intervertebral discs in man. *Folia Morphol (Warsz)* 1981;40(4):363-370.
- Natarajan R, Ke J, Andersson GB. A model to study the disc degeneration process. *Spine* 1994;19:259-265.
- Johnstone B, Bayliss MT. The large proteoglycans of the human intervertebral disc. changes in their biosynthesis and structure with age, topography and pathology. *Spine* 1995; 20:674-685.
- Małydk E, Żarski S, Prochorec M, Styczyński T. Obraz mikroskopowy jąder miażdżystych w różnych grupach wiekowych. *Reumatologia* 1990;28:1-8.
- Troutt JJ, Buckwalter JA, Moore KC, Landis SK. Ultrastructure of human intervertebral disc. I. Changes in notochordal cells with age. *Tissue and Cell* 1982;14:359-369.
- Buckwalter JA. Fine structural studies of the human intervertebral disc. In: White AA, Gordon SL, editors. *Idiopathic low back pain*. St. Louis. CV Mosby 1982, pp.108-143.
- Troutt JJ, Buckwalter JA, Moore KC. Ultrastructure of human intervertebral disc II. Cells of the nucleus pulposus. *Anat Rec* 1982;204:307-314.
- Łebkowski WJ. Autopsyjna ocena stopnia degeneracji lędźwiowych krążków międzykręgowych. *Polski Merkuriusz Lekarski* 2002;13(75):188-190.
- Łebkowski WJ., Dziecioł. Degenerated lumbar intervertebral disc. A morphological study. *Pol J Pathol* 2002;53(2):83-86.
- Holm S, Maroudas A, Urban JP, Selstam G, Nachemson A. Nutrition of the intervertebral disc. solute transport and metabolism. *Connect Tissue Res* 1981;8:101-119.
- Nachemson AL. Lumbar intervertebral pressure. Experimental studies on post-mortem material. *Acta Orthop Scand* 1960;(suppl. 43):42.
- Nachemson A, Elfstrom G. Intravital dynamic pressure measurements in lumbar disc. A study of common movements, manoeuvres and exercises. *Scand J Rehabil Med* 1970;2(suppl.1):1-40.
- White AA, Panjabi MM. *Clinical biomechanics of the spine*. Lippincott, 1990.
- Grignon B, Roland J, Gross S, Floquet J, Membre H, Braun M. Lumbar intervertebral disk. Intervertebral disk-vertebral body pathways and discal vascularization. *Bull Assoc Anat (Nancy)* 1994;78(243):53-7.
- Tanaka M, Nakahara S, Inuo H. A pathologic study of discs in the elderly separation between the cartilaginous endplate and the vertebral body. *Spine* 1993;18:1456-1462.
- Weidner N, Rice D. Intervertebral disc material. criteria for determining probable prolapse. *Hum Pathol* 1988;19:406-410.
- Słowiński J, Pieniążek J, Szydlik W, Mrówka R, Harabin-Słowińska M, Myrcik G, et al. Badanie roli neowaskularyzacji krążka międzykręgowego oraz odpowiedzi immunologicznej w patogenezie dyskopatii lędźwiowej. *Neur Neurochir Pol* 1998;32(2):341-350.
- Kauppila IL. Ingrowth of blood vessels in the disc degeneration. *J Bone Joint Surg* 1995;77A:26-31.
- Ratcliffe JF. The arterial anatomy of the adult human lumbar vertebral body. a microarteriographic study. *J Anat* 1980;131:57-59.
- Miller J, Schmatz C, Schultz A. Lumbar disc degeneration. correlation with age, sex, and spine level in 600 autopsy specimens. *Spine* 1988;13:173-178.
- Repanti M, Korovessis P, Stamatakis M. Comparative histological study of postmortem and intraoperative taken lumbar intervertebral discs for prolapsed disc. 6th annual meeting of European Spine Society, Noordwijk aan Zee, the Netherlands, September, 1995.
- Toro G, Roman G, Navarro-Roman L, Cantillo J, Serrano B, Vergara I. Natural history of spinal cord infarction caused by nucleus pulposus metabolism. *Spine* 1994;19:360-366.
- Yasuma T, Arai K, Yamauchi Y. The histology of lumbar intervertebral disc herniation. The significance of small blood vessels in the extruded tissue. *Spine* 1993;18:1761-1765.
- Yasuma T, Makino E, Saito S, Inui M. Histological development of intervertebral disc herniation. *J Bone Joint Surg* 1986;68A:1066-1072.
- Yu S, Haughton V, Ho P, Sether L, Wagner M, Ho K-C. Progressive and regressive changes in the nucleus pulposus. *Radiology* 1988;169:93-97.
- Carreon LY, Ito T, Yamada M, Uchiyama S, Takahashi HE. Neovascularization induced by anulus and its inhibition by cartilage endplate. Its role in disc absorption. *Spine* 1997;22(13):1429-34.