

PROFILUL HISTOMORFOPATOLOGIC REGIONAL AL DEFECTULUI CONGENITAL AL PERETELUI ABDOMINAL ANTERIOR LA NOU-NĂSCUȚI CU GASTROSCHIZIS

THE REGIONAL HISTOMORPHOPATOLOGICAL PROFILE OF THE CONGENITAL ANTERIOR ABDOMINAL WALL DEFECT IN NEWBORNS WITH GASTROSCHISIS

Negru Ion

Catedra de Chirurgie, Ortopedie și Anestezologie Pediatrică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"

IMSP Institutul Mamei și Copilului

Rezumat

Obiective. Prioritar în gastroschizis este reducerea primară a defectului, cu închiderea lui unimomentană. Această strategie chirurgicală se asociază cu diverse complicații grave, care determină evoluția nefavorabilă a bolii.

Scopul studiului dat a constat în evaluarea particularităților morfopatologice regionale ale defectului congenital primar al peretelui abdominal la nou-născuți cu gastroschizis.

Rezultate și discuții. Rezultatele investigațiilor histomorfopatologice, efectuate în 20 de cazuri, au permis de a constata o gamă largă de modificări structural-vicioase de origine displazică și inflamatorie, dezvoltate în diverse perioade de timp. Microanatomic, la marginea zonei defectului musculofascial al peretelui abdominal, localizat în toate cazurile analizate în dreapta cordonului ombilical, a fost atestată prezența unui inel de pli conjunctiv lax și/sau fibroziv, dotat cu o rețea vasculară artereo-venoasă alcătuită din capilare și vase de calibru mic. Spre abdomenul regional, pe parcursul rețelei vasculare, în aria țesutului muscular abdominal se dispersează fâșii sau platouri conjunctive, ce trec lent în fasciile intramusculare sau direct în tecile conjunctive musculare, unele cu aspecte cicatriciale. Astfel, la acest nivel se formează puncte de trecere dintre două tipuri de structuri tisulare care formează, în opinia noastră, o joncțiune fibroneuromusculară.

Concluzie. Modificările regionale în gastroschizis la nou-născuți sunt dominate de neconcordanța marcantă în maturizarea elementelor musculofasciale și ganglioneuronale, indiferent de termenul de gestație, asociată cu aranjamentul dezordonat al miocitelor și al fasciculelor musculare, cu dereglări ale intensității de expresie imunohistochimică a structurilor neuronale, fapt ce denotă prezența unor dereglări funcționale neuromusculare, atât în preajma defectului, cât și la distanță. Aceste modificări morfopatologice sunt substanțiale în dezvoltarea unor complicații postoperatorii.

Summary

Objective. The priority in gastroschisis has the primary reduction of the defect with its unimomentan closure. This surgical strategy is associated with various severe complications which cause an unfavorable evolution of the disease.

Purpose. To assess the morphopathological changes in the tissues of the congenital abdominal wall defect region in neonates with gastroschisis.

Results. The results of histomorphopathological investigations, which was applied in 20 cases, allowed us to identify a wide range of vicious dysplastic and inflammatory structural changes, developed at different gestational periods. Microanatomically, on the edge of the musculofascial defect of the abdominal wall, which was located, in all analyzed cases, on the right side of the umbilical cord, there was attested the presence of a ring of connective lax and/or fibrous fold, supplied with an arterio-venous network, made up of capillaries and small blood vessels. Toward the regional abdomen, on the vasculature path, in the area of the abdominal muscle tissue, connective strips or plates are slowly dispersed passing into intramuscular fascia or directly into the connective muscle sheaths, some of them looking as scars. Thus, in our opinion, at this level, crossing points between two types of tissue structures are formed, that form a fibroneuro-muscular junction.

Conclusion. Regional changes in gastroschisis in newborns are dominated by marked inconsistency in the maturation of musculofascial and ganglioneuronal elements, regardless of the gestational age, associated with the disordered arrangement of myocytes and muscular fascicles, with disorders of the intensity of immunohistochemical expression of neural structures. This fact denotes the presence of some functional neuromuscular disorders, both around the defect and away from it. These morphopathological changes are significant in the development of postoperative complications.

Gastroschizisul reprezintă un defect structural congenital complet paraombilical al peretelui abdominal ventral cu eviscerarea organelor în afara cavității abdominale și expuse acțiunii directe a lichidului amniotic [5, 9]. De obicei, defectul peretelui abdominal este localizat din dreapta locului de inserție normală a cordonului ombilical, fără a avea o oarecare membrană protectoare [3], rareori acesta fiind observat din

stânga [1, 11].

Deși au fost propuse mai multe ipoteze, etiologia acestei malformații fatale rămâne incertă [6]. Conform unor teorii, originea gastroschizisului este determinată de: 1) perturbarea vasculară a plicii laterale drepte; 2) ocluzia arterei omfalomezenterice in utero; 3) atrofia prematură sau persistența anormală a venei ombilicale drepte; 4) ruptura intrauterină a

unui omfalocel mic cu absorbția sacului [1, 2, 8, 14].

Dacă, în cazurile de omfalocel, musculatura abdominală este intactă, oferind posibilitatea utilizării diferitor tehnici de reconstrucție cu țesuturile proprii [13], modificările structurale ale țesuturilor regionale ale defectului primar în gastroschizis, cât și potențialul local de regenerare, sunt puțin cunoscute, acestea având un rol important în selectarea diferențiată a metodei de închidere.

Scopul studiului dat a constat în evaluarea particularităților morfopatologice regionale ale defectului congenital primar al peretelui abdominal la nou-născuți cu gastroschizis.

Material și metode

Studiul include 20 cazuri de gastroschizis supuși intervenției chirurgicale. În prealabil probele tisulare au fost fixate în sol. Formol 10%, ulterior fiind procesate conform protocolului standard pentru investigațiile histomorfologice, cu utilizarea histoprocăsării (firma «Diapath») și rețeaua de colorație automatizată (firma «Raffaello») a testelor histomorfologice, fiind utilizate metodele de colorație hematoxilină-eozină și selectiv Van Gieson.

Pentru aplicarea reacției imunohistochemice, probele tisulare prealabil sau fixat în sol. Formol tamponat (pH 7,2-7,4) timp de 12-24 ore, ulterior fiind procesate conform standardului histologic, la etapa de colorație derularea procedurii conform standardului pentru examenul imunohistochimic, utilizând anticorpii primar monoclonal *Neurofilament Protein (NF)* și sistemului de vizualizare *En Vision TM*. Examinarea reacției imunohistochemice se efectua la microscopul « Micros» la amplificările $\times 2,5$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, pentru estimarea expresiei reacției utilizându-se scara recomandată 0 – 3+: 0 – fără reacție, + reacție slabă, ++ reacție moderată și +++ reacție pronunțată.

Rezultate și discuții

Rezultatele investigațiilor histomorfopatologice, efectuate în 20 de cazuri, au permis de a constata o gamă largă de modificări structural-vicioase de origine displazică și inflamatorie, dezvoltate în diverse perioade de timp. Microanatomic, la marginea zonei defectului musculofascial al peretelui

abdominal, localizat în toate cazurile analizate în dreapta cordonului ombilical, a fost atestată prezența unui inel de pli conjunctiv lax și/sau fibroziv, dotat cu o rețea vasculară artereo-venoasă, alcătuită din capilare și vase de calibr mic. Spre abdomenul regional, pe parcursul rețelei vasculare, în aria țesutului muscular abdominal se dispersează fâșii sau platurii conjunctive, ce trec lent în fasciile intramusculare sau direct în tecile conjunctive musculare, unele cu aspecte cicatriciale. Astfel, la acest nivel se formează puncte de trecere sau de „joncțiune” dintre două tipuri de structuri tisulare. La nivelul așa-numitei „joncțiuni” se atestă prezența componentelor vasculomusculare și fascicule trunchulare nervoase, formând, în opinia noastră, o joncțiune fibroneuromusculară (fig. 1. A, B).

Remarcăm faptul că la acest nivel are loc o interacțiune a învelișului peritoneal cu cel cutanat, care pe marginea defectului evoluează într-un simplu pli conjunctiv vascularizat diferit. Comparativ cu structura joncțiunii, în pliul marginal, pe diverse arii, prevalează țesutul conjunctiv, cu predilecție bogat în fibre de colagen.

O altă particularitate, atestată la acest nivel în 18 cazuri, a constituit faptul că pe unele arii pliul conjunctiv fibrovascular, corespunzător joncțiunii fibroneuromusculare, era format doar din țesut conjunctiv lax, cu un număr redus de structuri nervoase și vasculare (fig. 1. C). În toate cazurile, la nivelul pliului s-au atestat dereglări de circulație sanguină, edem și reacții inflamatorii celulare (fig. 1. D), precum și procese inflamatorii productive proliferative cu neoformarea structurilor cicatriciale (19 cazuri), prezența elementelor amnionale, celulelor cheratinizate, cu predilecție în zona peritoneală (fig. 1. E). Dimensiunile pliului conjunctiv-vascular au oscilat de la microscopice până la 0,5-1,0 cm, variațiile de grosime fiind determinate de activitatea procesului inflamator.

Particularitățile atestate nu aveau un caracter similar pe tot perimetrul marginal al defectului. Pe unele arii, la o distanță de 1-2 cm de la joncțiune, peretele abdominal regional era lipsit complet de stratul muscular sau acesta era constituit din miocite repartizate haotic în masa de țesut conjunctiv organizat. Prin urmare, peretele abdominal era prezentat doar de tunica peritoneală, țesut conjunctiv cu unele anexe cutanate hipoplazice și epidermă (fig. 1. F).

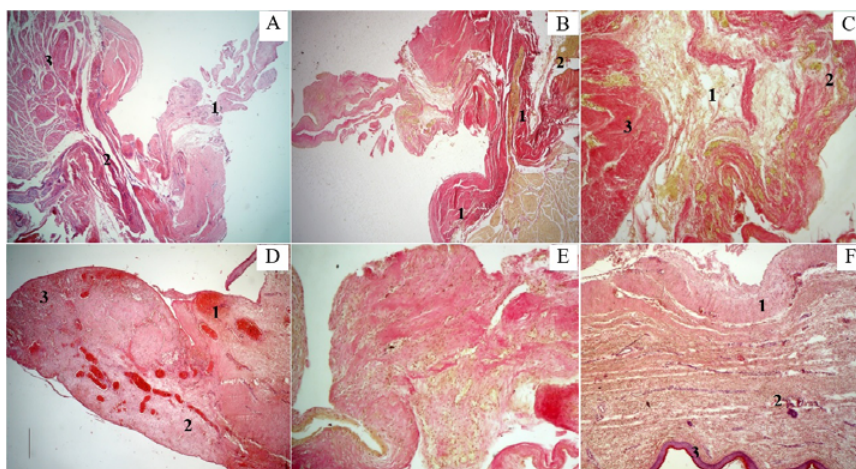


Fig. 1. A - zona inelară marginală a defectului: 1 - pli conjunctiv; 2 - joncțiune fibro-neuromusculară cu fascicul nervos (→); 3 - platurii musculare ale mușchilor abdominali. $\times 25$. Color. H&E; B - Joncțiune fibroneuromusculară: 1 - fascicule musculare; 2 - partea cutană - țesut adipos subcutanat; 3 - partea peritoneală - fascicule conjunctive pseudonodulare colagenizate. $\times 25$. Color. VG; C - Zona inelară a defectului: 1 - joncțiune fibroneuromusculară; 2 - pli fibrovascular; 3 - fascicule musculare. $\times 50$. Color. VG; D - dereglări de circulație și inflamatorii: 1 - stază vasculară cu hemoragii; 2 - edem cu pseudomixomatoză; 3 - leziuni inflamatorii și microerozive. $\times 50$. Color. H&E; E - zonă peritoneală cu procese inflamatorii productive-proliferative și sclerogene cicatriciale, cu impurități de celule cheratinizate amniolichidiene. $\times 50$. Color. H&E; F - Perete abdominal la 1,5 cm distanță de la defect: 1 - tunica peritoneală îngroșată; 2 - țesut conjunctiv ordonat; 3 - înveliș epidermal. $\times 50$. Color. H&E

Testarea componentei elastice a țesutului conjunctiv a relevat reducerea acestuia în joncțiunea fibroneuromusculară. Fibrele elastice erau prezente cu predilecție în zona cutanată a

joncțiunii, comparativ cu cea peritoneală, și la nivelul frontierei fibromusculare. În unele cazuri, fibrele elastice au fost observate și la nivelul pliului conjunctiv-vascular (fig. 2. A, B).

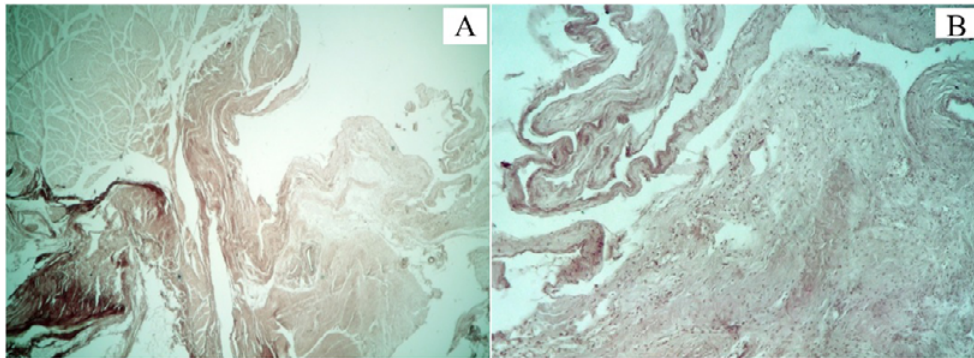


Fig. 2. A - joncțiune fibroneuromusculară. Se determină impregnarea coloră cu orceină a fibrelor elastice la nivelul zonei cutanate și de frontieră fibromusculară; B - pli conjunctiv vascular - impregnare coloră cu orceină a fibrelor elastice. $\times 25$. Color. histochimică cu orceină

În opinia noastră, această joncțiune fibroneuromusculară are un rol morfofuncțional predictiv în reglarea proceselor trofice și regenerative cu semnificație în intervențiile de plastic. La nivelul zonei pliului conjunctiv sunt prezente procese inflamatorii, cicatriciale, precum și elemente amniolichidien, e care, nimerind în plaga de plastic, pot contribui la apariția unor complicații inflamatorii la acest nivel.

Examinările histomorfoopatologice ale musculaturii abdominale de la graniță cu joncțiunea fibroneuromusculară au relevat prezența unor procese displazice. Fasciculele musculare aveau orientări dezordonate, cu semne de dismaturitate, hipertrofie și/sau hipotrofie. Țesutul conjunctiv intermuscular, de asemenea, era slab dezvoltat, mai accentuat în cazurile de nașteri mature (fig. 3. A, B). Miocitele cu un grad de maturizare diferit, neuniform hipertrofiate (fig. 3. C) și dezordonate, formau pseudonoduli fasciculari miocitari hipertrofiați (fig. 3. D).

Structurile nervoase erau reprezentate de fascicule nervoase trunchulare, dislocate pe traiectul vaselor, mai accentuate la o distanță de 1,5-2,0 cm de la defect (fig. 3. E). Testarea țesutului conjunctiv intramuscular a relevat predominarea fibrelor elastice (fig. 3. F).

La testarea imunohistochimică (IHC) a probelor din toate

elementele investigate, în 45% din cazuri s-a atestat o expresie pronunțată a anticorpului NFP cu o reacție de 3+, în 15% o expresie cu reacție mixtă de 3+ și 2+, iar în 40% de 3+ și nulă „0”. În probele din joncțiunea fibroneuromusculară, în zona dintre pliul conjunctiv al inelului defectului și platoul muscular abdominal, s-au depistat structuri nervoase fasciculare de diversă grosime cu o expresie pronunțată a anticorpului NFP, mai ales la nivelul fibrelor „3+”, indiferent de grosimea acestora (fig. 4. A). Totuși, acestea nu prezentau o rețea omogenă pe traiectul fibrelor nervoase din fascicule și s-a manifestat prin impregnare micro- sau macrofocală, adică în mici segmente (fig. 4. B).

Testarea probelor din țesuturile peretelui abdominal, de asemenea, au relevat o expresie pronunțată cu reacție de 3+ în fasciculele din țesutul celulo-adipos subcutanat (fig. 4. C), precum și din partea trunchiurilor nervoase pe parcursul vaselor din zona peritoneală a abdomenului (fig. 4. D).

Atenționăm asupra faptului că și la nivelul fibrelor nervoase trunchulare s-a atestat același tablou ca și în zona joncțiunii fibroneuromusculare. Însă, paralel cu impregnarea segmentară, unele fibre au înregistrat și o reacție de 2+, iar altele o reacție nulă.

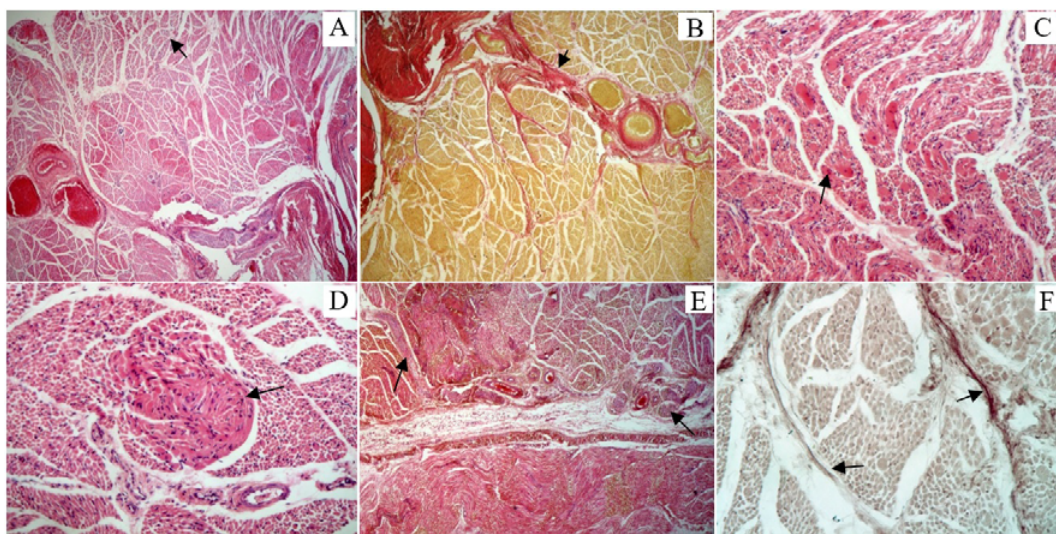


Fig. 3. A - dismaturitate a musculaturii abdominale cu semne de hiper- și hipotrofie. $\times 50$. Color. H&E; B - Diferențiere slabă a țesutului conjunctiv în țesutul muscular. $\times 50$. Color. H&E; C - Musculara abdominală. Discronism morfologic al miocitelor și al fasciculelor cu hipertrofie asincronă dispersă a miocitelor. $\times 100$. Color. H&E; D - Musculara abdominală. Fascicule cu dezorganizare haotică a miocitelor sub formă de pseudonoduli cu hipertrofie asincronă. $\times 100$. Color. H&E; E - Fascicule vasculo-nervoase în zonele fasciilor intermusculare. $\times 50$. Color. H&E; F - impregnare coloră a fibrelor elastice din spațiile interfasciculare musculare cu orceină. $\times 100$. Color. histochimică cu orceină

Rețeaua nervoasă a stratului muscular, de asemenea, prezenta structuri neurale displazice, care, deși manifestau o expresie pronunțată a anticorpului, erau localizate adesea haotic, în fâșii trunchulare înguste și încovoiate, mici insulițe sau grupuri de fibre nervoase.

Testarea structurilor nervoase la nivelul musculaturii abdominale în toate cazurile a relevat prezența structurilor

nervoase fasciculare și trunchulare, reacția imunohistochimică înregistrând o expresie a anticorpului NFP pronunțată cu reacție de 3+ la nivelul trunchiurilor nervoase și a dispozitivelor neurovasculare de rang magistral (fig. 5. A) și intermediar, inclusiv a unor fascicule și fibre nervoase repartizate haotic printre fibrele musculare (fig. 5. B).

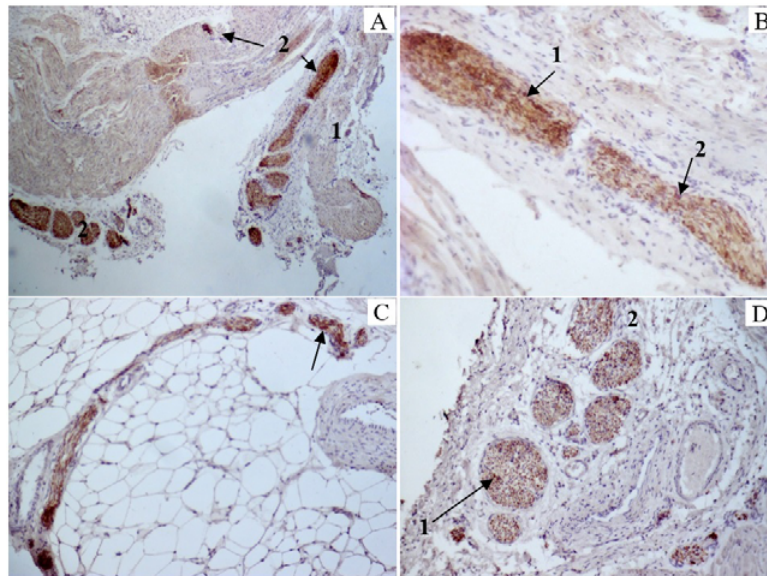


Fig. 4. A - expresie imunohistochimică a NFP cu reacție de 2+ (1) și 3+ (2). $\times 25$; B - expresie imunohistochimică a NFP cu reacție de 3+ difuză (1) și focală (2) a fibrelor nervoase din fascicule. $\times 100$; C - expresie imunohistochimică a NFP cu reacție difuză și focală de 3+ în fasciculele nervoase din adipoasa subcutanată. $\times 75$; D - expresie imunohistochimică a NFP cu reacție de 3+ (1) și 2+ (2) focală în fibrele din structurile trunchulare ale dispozitivului neuro-fascicular. $\times 75$.

Comparativ cu zonele distanțate de la defect, în probele din zonele adiacente sau la distanță minimă de la defect, cu predilecție în zonele cu hipotrofie asincronă a fibrelor musculare sau dismaturitate, structurile nervoase prezentau o dezorganizare mai accentuată, cu dispozitive neurovasculare mult mai sărace în fascicule de fibre nervoase. Deși testarea imunohistochimică a înregistrat o reacție semnificativă a

anticorpului NFP cu reacția de 3+, aceasta marca un aspect divers, de la granular la microfocal sau mixt (fig. 5. C, D).

Gastroschizisul diferă de omfalocel prin localizarea defectului peretelui abdominal față de cordonul ombilical, lipsa sacului embrionar și frecvența și natura malformațiilor asociate [12].

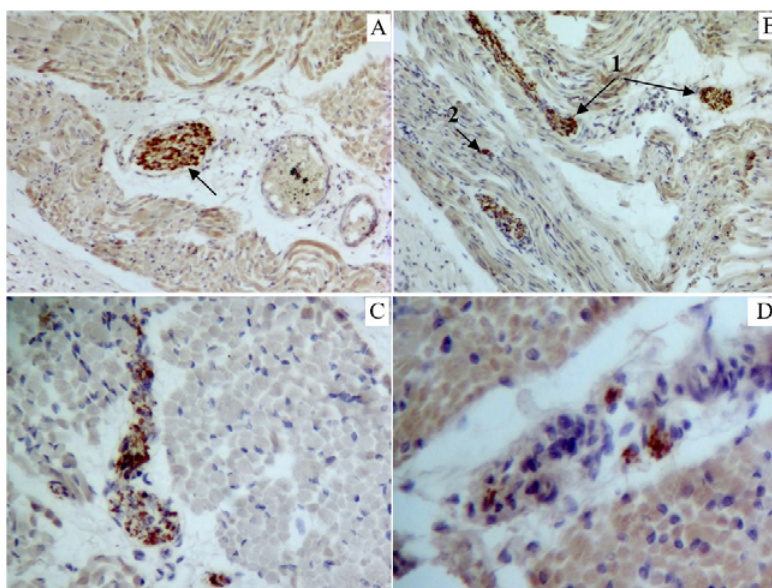


Fig. 5. A - expresie imunohistochimică a NFP cu reacție de 3+ în trunchiurile nervoase ale dispozitivului neurovascular intramuscular la nivelul abdomenului. $\times 150$; B - expresie imunohistochimică a NFP cu reacție de 3+ în rețeaua nervoasă trunchulară (1) și a unor fascicule (2) intramuscular în musculatura abdomenului $\times 100$; C - expresie imunohistochimică a NFP microfocală și granulară cu semnificație de 3+ în trunchiuri și fascicule nervoase din zona muscularei abdomenului $\times 125$; D - expresie imunohistochimică a NFP granulară cu semnificație de 3+ în fascicule nervoase la nivelul dispozitivului neurovascular. $\times 150$.

Ipozeza vasculară propusă de Hoyme H.E. și coaut. (1981) a fost destul de răspândită, autorul considerând că gastroschizisul se dezvoltă ca rezultat al ocluziei arterei omfalomezenterice, care contribuie la necroza peretelui abdominal [7]. Felkamp M.L. și coaut. (2007), asemănător opiniei lui Duhamel, au indicat că gastroschizisul este consecința eșecului uneia sau mai multor plăci responsabile de închiderea peretelui ventral [5]. Unii autori accentuează rolul structurilor viteline în patogeneza gastroschizisului [12], pe când alții susțin că gastroschizisul nu este un defect complet al peretelui abdominal, dar reprezintă defectul inelului ombilical cu inserția anormală a cordonului spre partea stângă a inelului ombilical, lăsând partea dreaptă neacoperită, permițând în așa fel eviscerarea organelor abdominale în cavitatea amniotică [10]. În același timp, în literatura de specialitate există puține rapoarte care ar reflecta descrierea precisă a aspectelor morfologice a țesuturilor

regionale în gastroschisis, care influențează rezultatele tratamentului chirurgical.

Așadar, rezultatele studiului histomorfopatologic convențional, completat cu metoda imunohistochimică, ne permit a conchide că modificările regionale în gastroschisis sunt dominate de o disconcordanță de maturizare marcantă a elementelor musculofasciale și ganglion neuronale, indiferent de termenul de gestație, asociată cu dezordonarea miocitelor și a fasciculelor musculare, cu hipertrofia miocitelor. Dereglările intensității de expresie imunohistochimică a structurilor neuronale reprezintă o dovadă a prezenței unor dereglări funcționale neuromusculare, atât în preajma defectului, cât și la distanță. Aceste modificări morfopatologice necesită de a fi luate în considerare în selectarea procedurii de închidere cu siguranță a defectului peretelui abdominal, fiind substanțiale în dezvoltarea unor complicații postoperatorii.

Bibliografie

1. Ankr Mandelia, Sandeep Agarwala, Nitin Shaki, Shailesh Solan, Shashank Panda. Left-sided gastroschisis: a rare congenital anomaly. *J. Clin. Diag. Res.* 2013. 7(10):2300-2.
2. Boia E.S., Iacob R.E., Adam O. et al. Surgical treatment of gastroschisis using silimed gastroschisis container – case report. *J. Peditrului.* 2006. 9(35-36):39-45.
3. Buys Roessingh A.S., Damphousse A., Ballabeni P., Dubois J., Bouchard S. Predictive factors at birth of the severity of gastroschisis. *World J. Gastrointest. Pathophysiol.* 2015. 6(4): 228-34.
4. Faugstad T.M., Brantberg A., Blaas H.K., Vogt C. Prenatal examination and postmortem findings in fetuses with gastroschisis and omphalocele. *Prenatal Diag.* 2014. 34:570-6.
5. Feldkamp M.L., Carey J.C., Sadler T.W. Development of gastroschisis: review of hypotheses, a novel hypothesis, and implications for research. *Am. J. Med. Genet. A.* 2007. 143(7):639-52.
6. Folkert R.D., Habbe D.M., Boyd T.K. et al. Gastroschisis, destructive brain lesions, and placental infarction in the second trimester suggest a vascular pathogenesis. *Pediatr. Dev. Pathol.* 2013. 16(5):391-6.
7. Hoyme H.E., Higginbottom M.C., Jones K.L. The vascular pathogenesis of gastroschisis: intrauterine interruption of the omphalomesenteric artery. *J. Peditr.* 1981. 98(2):228-31.
8. Insinga V., Lo Verso C., Antona V. et al. Perinatal management of gastroschisis. *J. Peditr. And Neonat. Indiv. Med.* 2014. 3(1):e030113. doi:10.7363/030113.
9. Mendez-Martinez S., Garcia-Carrasco M., Menoza-Pinto C. et al. Surgical complications of simple and complex gastroschisis in newborn. *Eur. J. Gen. Med.* 2016. 13(2):88-93.
10. Rittler M., Vauthay L., Mazzitelli N. Gastroschisis is a defect of the umbilical ring: evidence from morphological evaluation of stillborn fetuses. *Birth Defects Res. (Part A).* 2013. 97:198-209.
11. Shi Y., Farinelli C.K., Chang M.S., Carpenter Ph.M. Left-sided gastroschisis with placenta findings: case report and literature review. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2012. 5(3):243-6.
12. Stevenson R.E., Rogers R.C., Chandler J.C., Gauderer M.W.L., Hunter A.G.W. Escape of the yolk sac: a hypothesis to explain the embryogenesis of gastroschisis. *Clin. Genet.* 2009. 75:326-33.
13. van Eijck F.C., de Blaauw I., Bleichrodt R.P. et al. Closure of giant omphaloceles by the abdominal wall component separation technique in infants. *J. Peditr. Surg.* 2008. 43:246-50.
14. Werler M.M., Mitchel A.A., Moore C.A. et al. Is There epidemiologic evidence to support vascular disruption as a pathogenesis of gastroschisis? *Am. J. Med. Genet. A.* 2009. 149A(7):1399-1406.