

Clujul Medical

Revistă de Medicină și Farmacie

Editată de
Universitatea de Medicină și Farmacie
"Iuliu Hațieganu"
Cluj Napoca

1

Volumul LXXX
2007
ISSN 1222-2119

Redacția revistei Clujul Medical
Str. Moșilor, nr. 33
Cluj Napoca

Colegiul de redacție

Redactor șef: N. Olinic

Redactori șefi adjuncți: A. Cocârlă
Al. Rotaru
H. Popescu

Secretar științific: H.D. Boloșiu

Membri:

M. Bojiță, Elvira Cocârlă, Gh. Funariu, Paula Grigorescu-Sido,
M. Grigorescu, Ștefania Kory-Calomfirescu, S. Leucuța, N. Maier,
Adriana Mureșan, Luminița Pleșca Manea.

Redactor: Patricia Oprea

Tehnoredactare computerizată: Nicoleta Mișan

Tiparul executat la
Tipografia
U.M.F. "Iuliu Hațieganu" Cluj Napoca

Manuscrisele și corespondența vor fi expediate pe adresa:

Redacția revistei Clujul Medical
str. Moșilor nr. 33
400609 Cluj Napoca
Tel/fax: 0264-596086
Email: patricia.oprea@umfcluj.ro

Clujul Medical

Nr. 1/2007

CUPRINS

Articole de orientare

ADRIANA BULBOACĂ, D. I. POP, A. BRĂCAN: Rolul neurokininelor în medierea inflamației	11
VICTORIA CREȚ, MARIELA MILITARU, CRISTINA RUSU, MARIA PUIU, CRISTINA SKRYPNYK, LIGIA BARBARII, KATALIN CSEP, E. TOMESCU: Detecția rearanjamentelor subtelomerice prin mlpa (multiplex ligation-dependent probe amplification) – metodă nouă de diagnostic în formele idiopatice de retard mental.....	17
FULGA FLORESCU, N. COSTIN: Influența terapiei estrogenice asupra creierului: implicațiile acesteia în bolile neurodegenerative	22
CLAUDIA GHERMAN, DIANA SĂCUI, LAURA PALCĂU: Actualități în patogenia bolii varicoase	29
RODICA MANASIA: Infecția urinară și nefropatia de reflux la copil	36
D. I. POP: Psihodiagnosticul clinic post accident vascular cerebral prin intermediul bateriei de teste psihologice de aptitudini cognitive.....	42

Cercetare clinică

IOANA CRĂCIUN, IOANA MICLUȚIA, RODICA MACREA, CODRUȚA POPESCU: Early course of cognitive dysfunctions during alcohol cessation in chronic alcoholic patients	47
R. A. TRÎMBIȚAȘ, N. OLINIC: Reacția hipertensivă ortostatică la o populație de pacienți hipertensivi din ambulator.....	52
VALERIU BUZA, NICOLAS GUEVARA, BENOIT LAFFONT, ARNAUD DEVEZE, JACQUES MAGNAN: Acouphenes invalidants par conflit neuro-vasculaire.....	60
DANIELA MOȘOIU, L. PETROV: Grupul focus ca metodă de cercetare calitativă. Utilitatea metodei în explorarea atitudinilor medicilor față de comunicarea diagnosticului și prognosticului în oncologie, hemato-oncologie și îngrijiri paliative	70
ANCA CIUREA, SORANA BOLBOACA, LILIANA ROGOJAN: Aportul biopsiei histologice ecoghidate în diagnosticul leziunilor mamare maligne.....	79

BOGDANA NĂSUI, CARMEN IONUȚ: Legumele și fructele – factori de protecție în cancerogeneza mamară	88
--	----

CAMELIA GEORGETA RĂCĂREANU, GABRIELA ROMAN, N. HÂNCU: Screeningul sindromului metabolic la persoanele cu diabet zaharat tip 2 nou depistat	94
--	----

ELENI STERGIOPOULOU, D. DUMITRAȘCU: Asocierea tulburărilor digestive funcționale.....	103
---	-----

DANIELA VODĂ, GH. POPA, N. MIU: Neutropenii asociate cu anemii aplastice dobândite - aspecte clinico-evolutive.....	109
---	-----

Cercetări experimentale și de laborator

FR. GRIGORESCU SIDO, ANCA ZIMMERMANN: Nervii frenici și diafragma (partea II-a). Pacing-ul diafragmatic	116
---	-----

L. JĂNTSCHI, SORANA-DANIELA BOLBOACĂ: Antiallergic activity of substituted benzamides: characterization, estimation and prediction	125
--	-----

Cazuri clinice

ALIZ HORÁK, R. BUIGA, OLGA ȘORIȚĂU, ȘTEFANIA NEAMȚU, M. CUCUIANU: Acute Megakaryocytic Leukemia and Myelofibrosis. Considerations Based on a Case Report	133
--	-----

D. RĂDULESCU, F. CIOVICESCU, S. PRIPON, C. DUNCEA, ELENA BUZDUGAN, ANCA CRISTEA: Polyserositis and multisystemic dysfunction in a case of unclassifiable connective tissue disease. Undifferentiated versus overlapping (mixed) syndrome? A case report and a literature review	137
---	-----

Medicină dentară

SORANA BACIU, T. ZAHARIE, ALEXANDRA ROMAN, CAMELIA ALB, SORINA SAVA, M. MANOLE , ONDINE LUCACIU, VOICHIȚA SĂBĂDUȘ: Aspecte morfopatologice ale leziunilor inflamatorii ale parodontiului marginal la un lot de subiecți cu insuficiență renală cronică	143
--	-----

DANIELA CONDOR, SMARANDA BUDURU: Ameliorarea esteticii zonei anterioare prin terapie complexă protetico-chirurgicală.....	152
---	-----

LIANA MARIA LASCU, ALINA ZAHARIA, OANA CRISTINA TĂȘCĂU, H. A. ALMĂȘAN: Particularități în conceperea protezelor scheletate destinate tratamentului edentației totale	157
--	-----

C. D. OLTEANU, ALEXANDRA CRĂCIUN, R. CÂMPEANU: Citokine proinflamatorii în boala parodontală	163
--	-----

VOICHITA SĂBĂDUȘ, D. BORZEA, DIANA DUDEA, MARIANA CONSTANTINIUC, SORANA BACIU, SORINA SAVA: Contribuții la amprente fonetice în realizarea protezelor totale pe câmpuri protetice nefavorabile.....	169
--	-----

Farmacie

VERONICA AVRIGEANU, SILVIA IMRE, ELEONORA MIRCIA: Studii asupra structurii moleculare a unor noi tereftaldiamide cu rest de amine secundare aciclice sau ciclice prin spectrometrie de masă	181
---	-----

LORENA FILIP, L. VLASE, IOANA MÎNDRUȚĂU, DOINA MIERE, DANIELA HANGANU: Determination of caffeine from instant coffee and cappuccino by liquid chromatography – mass spectrometry.....	190
---	-----

C. MORGovan, C. POLINICENCU, STELIANA GHIBU, DIANA TĂNASE: Studiu privind achiziția medicamentelor în spitalele publice.....	195
---	-----

ANCA TOIU, ILIOARA ONIGA, M. TĂMAȘ: Cercetări preliminare asupra compușilor polifenolici din <i>Viola tricolor</i> L. (<i>Violaceae</i>)	203
---	-----

In memoriam

G. PETRESCU: Profesorul Leon Daniello (1898 – 1970). Evocare postumă la 35 de ani.....	208
---	-----

Idei în medicină

M. CUCUIANU: Cercetarea științifică, politica și economia.....	209
--	-----

Clujul Medical

Nr. 1/2007

CONTENTS

General articles

- ADRIANA BULBOACĂ, D. I. POP, A. BĂRĂCAN: The importance of neurokinins in the inflammation mechanism 11
- VICTORIA CREȚ, MARIELA MILITARU, CRISTINA RUSU, MARIA PUIU, CRISTINA SKRYPNYK, LIGIA BARBARII, KATALIN CSEP, E. TOMESCU: Detection of subtelomeric rearrangements by MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) – a new diagnostic method in idiopathic mental retardation..... 17
- FULGA FLORESCU, N. COSTIN: The influence of estrogen therapy on the brain: its implications in the neurodegenerative diseases..... 22
- CLAUDIA GHERMAN, DIANA SĂCUI, LAURA PALCĂU: New issues in varicose disease pathogeny 29
- RODICA MANASIA: The urinary tract infection and the reflux nephropathy in children 36
- D. I. POP: The clinical post-stroke psychodiagnosis by BTPAC evaluation..... 42

Clinical Investigations

- IOANA CRĂCIUN, IOANA MICLUȚIA, RODICA MACREA, CODRUȚA POPESCU: Early course of cognitive dysfunctions during alcohol cessation in chronic alcoholic patients 47
- R. A. TRÎMBIȚAȘ, N. OLINIC: The orthostatic hypertensive reaction in a hypertensive population from ambulatory 52
- VALERIU BUZA, NICOLAS GUEVARA, BENOIT LAFFONT, ARNAUD DEVEZE, JACQUES MAGNAN: Acouphenes invalidants par conflit neuro-vasculaire..... 60
- DANIELA MOȘOIU, L. PETROV: The focus group as a qualitative research method. The appropriateness of using the method in exploring attitudes of the physician in communicating diagnoses and prognoses in oncology, hemato-oncology and palliative care 70
- ANCA CIUREA, SORANA BOLBOACA, LILIANA ROGOJAN: The value of ultrasound guided tru-cut biopsy in the diagnosis of malignant breast lesions 79
- BOGDANA NĂSUI, CARMEN IONUȚ: Vegetables and fruits – protective factors against mammary cancerogenesis 88

CAMELIA GEORGETA RĂCĂREANU, GABRIELA ROMAN, N. HÂNCU: Screening for metabolic syndrome in persons with newly diagnoses type 2 diabetes	94
--	----

ELENI STERGIOPOULOU, D. DUMITRAȘCU: The overlap of functional digestive disorders	103
--	-----

VODĂ DANIELA, POPA GHEORGHE, MIU NICOLAE: Neutropenia with acquired aplastic anemia – clinical aspects and evolution	109
---	-----

Cercetări experimentale și de laborator

FR. GRIGORESCU SIDO, ANCA ZIMMERMANN: Phrenic nerves and diaphragm (second part). Diaphragm pacing	116
---	-----

LORENTZ JĂNTSCHI, SORANA-DANIELA BOLBOACĂ: Antiallergic activity of substituted benzamides: characterization, estimation and prediction	125
--	-----

Clinical cases

ALIZ HORÁK, R. BUIGA, OLGA ȘORIȚĂU, ȘTEFANIA NEAMȚU, M. CUCUIANU: Acute megakaryocytic leukemia and myelofibrosis. considerations based on a case report	133
--	-----

D. RĂDULESCU, F. CIOVICESCU, S. PRIPON, C. DUNCEA, ELENA BUZDUGAN, ANCA CRISTEA: Polyserositis and multisystemic dysfunction in a case of unclassifiable connective tissue disease. Undifferentiated versus overlapping (mixed) syndrome? A case report and a literature review	137
--	-----

Dental medicine

SORANA BACIU, T. ZAHARIE, ALEXANDRA ROMAN, CAMELIA ALB, SORINA SAVA, M. MANOLE, ONDINE LUCACIU, VOICHIȚA SĂBĂDUȘ: Morphopatological aspects of the periodontium in patients with chronic renal failure	143
---	-----

DANIELA CONDOR, SMARANDA BUDURU: Achieving anterior dental esthetics by complex surgical-prosthetic therapy	152
--	-----

LIANA MARIA LASCU, ALINA ZAHARIA, OANA CRISTINA TĂȘCĂU, H. A. ALMĂȘAN: Peculiarities in conceiving removable prosthodontics in treating the total edentulous patient	157
--	-----

C. D. OLTEANU, ALEXANDRA CRĂCIUN, R. CÂMPEANU: Proinflammatory cytokines in periodontal disease	163
--	-----

VOICHIȚA SĂBĂDUȘ, D. BORZEA, DIANA DUDEA, MARIANA CONSTANTINIUC, SORANA BACIU, SORINA SAVA: Contributions to phonetic impressions, as a stage in realizing total dentures on inauspicious dental fields	169
--	-----

Pharmacy

VERONICA AVRIGEANU, SILVIA IMRE, ELEONORA MIRCIA: Mass spectrometry study of some terephthalamides with acyclic and cyclic aminic rests 181

LORENA FILIP, L. VLASE, IOANA MÎNDRUȚĂU, DOINA MIERE, DANIELA HANGANU: Determination of caffeine from instant coffee and cappuccino by liquid chromatography – mass spectrometry 190

C. MORGOVAN, C. POLINICENCU, STELIANA GHIBU, DIANA TĂNASE: Public acquisitions modalities used in drug procurement in budgetary hospitals 195

ANCA TOIU, ILIOARA ONIGA, M. TĂMAȘ: Preliminary research of polyphenolic compounds from *Viola Tricolor L. (violaceae)* 203

In memoriam

G. PETRESCU: Professor Leon Daniello (1898 – 1970) 208

Ideas in medicine

M. CUCUIANU: Scientific research, politics and economy 209

ROLUL NEUROKININELOR ÎN MEDIEREA INFLAMAȚIEI

ADRIANA BULBOACĂ, D. I. POP, A. BĂRĂCAN

Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu-Hațieganu”, Cluj-Napoca

Rezumat

Lucrarea este axată pe mecanismele prin care neuropeptidele interacționează cu receptorii celulari pentru stimularea evenimentelor fiziopatologice în inflamație. Una dintre peptidele care este și la ora actuală investigată este substanța P (SP), membră a familiei tahikininelor. SP a fost intens studiată din cauza multiplelor sale implicații în fenomene fiziologice și fiziopatologice cum sunt: contracția mușchilor netezi, inflamația, neurotransmisia, vasodilatația, eliberarea de histamină, activarea sistemului imun. SP se găsește în fibrele aferente primare de tip C și joacă un rol important în durerea neuropatică din inflamație. Efectul principal al SP în cadrul inflamației este creșterea permeabilității vasculare, cu formarea edemului inflamator și extravazarea leucocitelor, două componente cheie ale răspunsului inflamator. Adicional, SP determină stimularea macrofagelor, activarea complementului pe cale clasică și producția de intermediari reactivi ai oxigenului. SP este o componentă cheie în inflamație și poate avea un impact semnificativ pentru strategiile terapeutice ale multor afecțiuni.

Cuvinte cheie: inflamație, neuropeptide, substanță P.

Introducere

Cu mai bine de un secol în urmă, a fost observat faptul că stimularea periferică a rădăcinilor nervoase duce la vasodilatație și creșterea temperaturii cutanate. Astfel, această observație a fost punctul de plecare pentru studiile care au urmărit rolul sistemului nervos în inflamație. Inițial, s-a constatat că acest tip de vasodilatație este produsă de impulsuri care sunt conduse de-a lungul fibrelor aferente, în direcție eferentă. Consecutiv, se introduce termenul de „antidromic” pentru acest tip de conducere nervoasă. Ulterior, s-a observat că acest fenomen este dependent de integritatea fibrelor nervoase din regiunea afectată de inflamație, deoarece anestezia locală sau degenerarea nervoasă inhibă vasodilatația. Această observație a dus la apariția termenului de „reflex de axon”, termen care face referință la reflexul de la nivelul fibrelor simpatice preganglionare, reflex generat în întregime de un singur neuron. Rolul vasodilatației antidromice a început să fie intens studiat, sugerându-se că anumite structuri nervoase sunt implicate în vasodilatația antidromică, fenomen care contribuie la creșterea permeabilității capilare, componentă activă a fenomenului inflamator (1).

Implicațiile acestui fenomen au devenit deosebit de importante, mai ales la nivelul organelor separate de fluxul sanguin, în cursul ontogenezei, prin bariere extrem de specializate (alcătuite, în principal, din endotelii). La nivelul acestor organe, creșterea permeabilității capilare poate deveni un fenomen extrem de nociv asupra

funcționalității lor ulterioare. Câteva dintre cele mai studiate bariere de acest tip sunt bariera hemato-encefalică, bariera hemoato-retiniană și bariera sânge-umoare apoasă.

Vasodilatația antidromică constituie doar unul din mecanismele prin care este demonstrată implicarea sistemului nervos în inflamație. Studiile moderne acordă importanță deosebită implicării unor neurotransmițători în inflamație, implicare care demonstrează existența medierii neurogene a inflamației. Mecanismele medierii neurogene ale inflamației sunt incomplet cunoscute.

Structura și funcția tahikininelor

Mediatorii eliberați din aferențele nervoase sensitive au fost izolați începând cu substanța P (SP). Treptat, au început să apară noi candidați care generează răspunsuri SP-like. Aceste substanțe, generatoare de răspunsuri SP-like, au primit denumirea generică de tahikinine. Cel mai intens studiate tahikinine sunt substanța P (SP), neurokinina A (NKA) și neurokinina B (NKB), toate trei fiind prezente la nivelul sistemului nervos (2).

Prezența celor trei tahikinine a fost semnalată atât la nivelul sistemului nervos central, cât și la nivelul sistemului nervos periferic. Activarea repetitivă a receptorilor specifici substanței P, de la nivelul măduvei spinării (în cazul durerii cronice), determină creșterea densității receptorilor pentru această tahikinină (3,4). Acest mecanism face parte din fenomenul complex al neuroplasticității (5,6). Pe de altă parte, excesul de SP produce alodinie, cu activarea mecanismelor durerii nociceptive (7).

Din punct de vedere structural, tahikininele se caracterizează printr-o secvență terminală de aminoacizi de tip Phe-X-Gli-Leu-Met-NH₂, unde X poate fi un rest alifatic (valină, izoleucină) sau aromatic (fenilalanină, tirozină) (8). Atât NKA, cât și NKB au același fragment C terminal, în secvența polipeptidică, ca și o tahikinină prezentă la amfibii, kasinina. Aceste tipuri de tahikinine sunt localizate la nivelul terminațiilor nervoase senzitive. Capsaicina are un rol de depletiv, determinând eliberarea lor. Stimularea receptorilor N-metil-D-aspartat (NMDA) de către glutamat (aminoacid excitator major) intensifică acțiunea de eliberare a SP din terminațiile nervoase senzitive indusă de capsaicină. Dimpotrivă, blocarea selectivă a receptorilor NMDA inhibă eliberarea de SP. Acest fenomen indică faptul că SP poate contribui la excitotoxicitatea indusă de glutamat, excitotoxicitate care induce apoptoza neuronilor (9).

Ordinea eficienței lor în acțiunea de a induce extravazarea plasmatică este NKB > SP > NKA. Deoarece NKB se găsește în cantități mici la nivelul neuronilor senzoriali, iar potența asupra extravazării plasmatică a NKA este mică, atenția cercetătorilor a fost îndreptată preponderent asupra SP (10).

Substanța P a fost descoperită de Euler și Goddum în 1931 în extract de țesut nervos și intestin de iepure. Ulterior, au fost făcute câteva încercări de izolare, dar fără succes, până în anul 1970. În 1970, Chany și Leeman reușesc să izoleze acest peptid din hipotalamusul bovin. Sinteza sa începe din același an. Izolarea și sinteza SP duc la disponibilitatea preparatului pentru cercetări și la deschiderea unei noi ere în studiul inflamației. Datorită faptului că administrarea exogenă de SP determină formarea de anticorpi specifici, anti-SP, este posibilă studierea sa prin tehnici imunohistochimice (11). Aceste tehnici au permis alcătuirea unei hărți cu topografia distribuției SP la nivelul tuturor țesuturilor organismului, hartă care încă nu este completă. A fost demonstrată implicarea acestor neurotransmițători în funcționalitatea sistemelor cardiovascular, respirator, cutanat, digestiv și sistem nervos central. Majoritatea receptorilor activați de aceste neuropeptide sunt acum clonați, cunoscându-se agoniștii și antagoniștii selectivi pentru multe subtipuri de receptori din aceste clase (12). Totodată, izolarea, purificarea și sinteza SP au dus la o studiere mai atentă a mecanismului antidromic al vasodilatației.

Receptorii tahikininelor

Receptorii tahikininelor corespund celor trei tipuri de tahikinine și sunt reprezentați de (11):

NK-1 pentru SP,

NK-2 pentru NKA,

NK-3 pentru NKB.

Încercările de a determina subtipurile de receptori implicați specific în vasodilatația antidromică s-au dovedit a fi complicate. De fapt, acțiunile induse de SP în cursul inflamației sunt simultane cu cele induse de alți mediatori proinflamatori, procesul de identificare a receptorilor specifici ai SP pentru vasodilatația antidromică fiind, din acest motiv, deosebit de complex. La nivelul celulelor care participă activ la inflamație, au fost identificați receptori pentru SP la nivelul macrofagelor, mastocitelor și la nivelul polimorfonuclearelor neutrofile (13). Receptorii NK-1 se găsesc și la nivelul celulelor endoteliale ale arterei bazilare, carotide și pulmonare. Vasodilatația mediată de acești receptori este dependentă de formarea de cGMP și necesită prezența unui endotelii intact (14). Identificarea receptorilor tahikinici a dus la descoperirea și sinteza subtipurilor de antagoniști selectivi.

Antagoniștii substanței P

Credibilitatea contribuției neurotransmițătorilor de tipul tahikinelor la vasodilatația neurogenă din cursul inflamației este demonstrată de studiile care au evidențiat rolul antagoniștilor specifici pentru acest fenomen. În acest sens s-a demonstrat eficiența Baclofenului (derivat de GABA) în antagonizarea acțiunii depolarizante a SP la nivelul motoneuronilor spinali. Același preparat este capabil de a antagoniza vasodilatația neurogenă și extravazarea plasmatică induse de SP. Studiile cu privire la efectele antagoniștilor SP asupra extravazării plasmatice au arătat că aceste substanțe sunt capabile de a neutraliza nu numai acțiunea SP, dar și acțiunea altor substanțe cum sunt serotonina și histamina. Mai mult, acțiunea antagoniștilor specifici sintetici este mai intensă decât cea a capsaicinei (15). Descoperirea faptului că antagoniștii specifici ai SP au eficiență și asupra serotoninei și histaminei, demonstrează că extravazarea plasmatică indusă de acești compuși (histamina și serotonina) este parte componentă a mecanismului neurogen al inflamației.

În ciuda problemelor date de potența scăzută, agonism parțial și activitate eliberatoare de histamină, a antagoniștilor SP, rolul lor în studiul vasodilatației antidromice și a mecanismelor neurogene ale inflamației este esențial. La ora actuală se studiază existența unor receptori de natură non-petidică pentru SP (16).

Mecanismul proinflamator al substanței P

După stimularea antidromică nociceptivă, polinodală, a unei singure fibre amielinice de tip C, apar efecte la nivelul celulelor endoteliale ale venulelor postcapilare. Aceste efecte constau în creșterea spațiilor interendoteliale și penetrarea unor molecule cu greutate moleculară mare în spațiul extravascular. Mecanismul acestui fenomen nu este cunoscut încă în întregime. S-a sugerat că extravazarea plasmatică, care însoțește inflamația neurogenă, poate fi indusă de neurotransmițători cum este SP, prin intermediul activării receptorului NK-1 (17).

Răspunsul vasodilatator indus de SP este dependent de un endotelii intact. Există studii care demonstrează că acest răspuns este similar cu cel indus de acetilcolină. În anumite vase a fost demonstrat chiar un efect de eliberare a acetilcolinei sub acțiunea SP. În condiții de leziuni tisulare determinate de un traumatism sau de ischemie, substanțe vasodilatatoare cum sunt SP, acetilcolina, histamina sau bradikina sunt incapabile să inducă vasodilatația arteriolelor din țesuturile lezate. Acest fenomen demonstrează că răspunsul vascular indus de vasodilatatoarele endogene este dependent de integritatea endoteliului vascular (11).

Mecanismul intracelular implicat în acțiunea vasodilatatoare indusă de SP depinde de activarea receptorilor specifici ai SP, via cGMP. S-a mai demonstrat că SP determină diminuarea ieșirilor ionilor de potasiu din interiorul celulei. Pe de altă parte, SP are capacitatea de a influența și fagocitoza. Similaritatea de structură dintre SP și tufstin (moleculă capabilă de a iniția și amplifica fagocitoza), la nivelul porțiunii N terminale, a dus la investigarea proprietăților SP de a influența fagocitoza la nivelul neutrofilelor și macrofagelor. În acest sens, a fost demonstrat faptul că SP poate iniția și

amplifica fagocitoza, într-un mod similar cu tufstinul. Această observație conferă noi dimensiuni abilităților SP de a influența mecanismele inflamației. Caracteristica SP de a activa și amplifica acțiunea fagocitară a macrofagelor deschide perspective asupra studiului unor noi mecanisme mediate de activarea receptorilor specifici pentru SP. Studiile experimentale au demonstrat că la nivelul macrofagelor, receptorii SP diferă de cei ai altor celule, prin imposibilitatea antagoniștilor specifici ai SP de a se lega la nivelul lor (13).

Acțiunea SP duce la stimularea sintezei și eliberării de metaboliți proinflamatori ai acidului arahidonic, de tipul tromboxanului și a leucotrienelor (18). S-a demonstrat că SP poate induce eliberarea de prostaciclina (PGI_2) din culturi de celule endoteliale umane, prin intermediul activării receptorilor NK-1 (19). Pe de altă parte, activarea receptorilor pentru PGI_2 determină eliberarea concomitentă de SP. PGI_2 , care se eliberează în cantități crescute în inflamație, poate fi considerată ca și un intermediar al creșterii sintezei SP (20).

Există evidențe, din studii anterioare, că SP este implicată în medierea neurogenă a extravazării plasmatică și, o parte a acestui răspuns, este intermediat de eliberarea de histamină și serotonină din mastocite (sub acțiunea SP) (21). Deoarece NKA este localizată la nivelul aferențelor senzitive primare împreună cu SP, poate lua și ea parte la acest mecanism. Deși NKB nu este localizată împreună cu SP și NKA la nivelul aferențelor senzitive primare, unii autori îi atribuie un rol important în creșterea permeabilității vasculare și extravazarea plasmatică (22).

Este descrisă și intensificarea sintezei de TNF-alfa, IL-1, IL-6 și IFN-gama de către monocite și astrocite, sub acțiunea SP. De asemenea, s-a constatat că SP poate iniția și interacțiunea unor molecule de adeziune de tipul LFA-1/ICAM-1, prin acest fenomen contribuind la mecanismele caracteristice extravazării leucocitelor (23). În cazul durerii neuropate, creșterea numărului de leucocite, a proteinei C reactive și a interleukinei-6 se însoțește de creșterea concentrației SP (24).

Pe de altă parte, SP amplifică producția anionului superoxid și a peroxidului de hidrogen, în cursul procesului inflamator, contribuind, în acest fel, la amplificarea stresului oxidativ. Influența SP asupra mecanismelor eliberatoare de substanțe proinflamatoare de tipul celor descrise demonstrează capacitatea SP de a amplifica inflamația. Pe de altă parte, producția crescută de oxid nitric (NO), în cursul procesului inflamator, stimulează eliberarea de SP la nivelul fibrelor amielinice de tip C, fibre implicate în transmiterea durerii. Acest fenomen sugerează că NO poate avea un rol important în medierea durerii asociată fenomenului inflamator (25).

Influența SP se extinde și asupra sistemului imun. SP se leagă de receptori specifici de la nivelul limfocitelor T, stimulând proliferarea acestora. Legarea de receptorii limfocitelor B este instabilă. Anumite studii semnalează că SP poate regla sinteza de imunoglobuline in vitro. S-a sugerat că neuropeptidele pot induce răspunsul imun, parțial, prin efecte asupra funcției macrofagelor, contribuind la prezentarea antigenică. Descoperirea acestui fenomen demonstrează unul din mecanismele prin care sistemul nervos, prin intermediul neurotransmițătorilor, poate contribui la răspunsul inflamator-imun al organismului. Totodată, s-a demonstrat că SP poate determina alterarea privilegiului imunologic, la nivelul sistemului nervos central, facilitând fenomenele inflamatorii (15).

Bibliografie

1. WILLIS W.D.: Role of neurotransmitters in sensitization of pain responses, *Ann NY Acad Sci*, 2001, 933, 142-56.
2. KIMURA S., OKADA M., SUGITA Y. ȘI COL.: Novel neuropeptides, neurokinin alpha and beta isolated from porcine spinal cord, *Proc Jpn Acad*, 1989, 59, 101-104.

3. MCCARSON K.E.: Central and peripheral expression of neurokinin-1 and neurokinin-3 receptor and substance P-encoding messenger RNAs: peripheral regulation during formalin-induced inflammation and lack of neurokinin receptor expression in primary afferent sensory neurons, *Neuroscience*, 1999, 93, 361-70.
4. LINTHORST A.C., REUL J.M.: Brain neurotransmission during peripheral inflammation, *Ann NY Acad Sci*, 1998, 840, 139-152.
5. HAINS B.C., WILLIS W.D., HULSEBACH C.E.: Temporal plasticity of dorsal horn somato-sensory neurons after acute and chronic spinal cord hemisection in rats, *Brain Res*, 2003, 970, 110-118.
6. BULBOACĂ ADRIANA: *Teorii fiziopatologice – afecțiuni ale sistemului nervos*, Ed. Echinoc, Cluj, 2004, p.88 -89.
7. AMBALAVANAR R., MORITANI M., MOUTANNI A. ȘI COL.: Deep tissue inflammation upregulates neuropeptides and evokes nociceptive behaviors which are modulated by a neuropeptide antagonist, *Pain*, 2006, 120, 53-68.
8. ERSPARMER V., The tachykinin peptide family, *Trends Neuroscience*, 1981, 4, 267-269.
9. CUESTA M.C., ARCAYA J.L., CANO G. ȘI COL.: Opposite modulation of capsaicin-evoked substance P release by glutamate receptors, *Neurochem Int*, 1999, 35, 471-478.
10. GAMSE R., HOLZER P., LEMBEK F.: Decrease of SP in primary afferent neurons and impairment of neurogenic plasma extravasation by capsaicin, *Br J Pharmacol*, 1985, 68, 207-213.
11. DE SWERT K.O., JOOS G.F.: Extending the understanding of sensory neuropeptides, *Eur J Pharmacol*, 2006, 533, 171-81.
12. BRAIN S.D., COX H.M.: Neuropeptides and their receptors: innovative science providing novel therapeutic targets, *Br J Pharmacol*, 2006, 147 Suppl 1, S202-11.
13. HARTUNG H.P.: SP-binding properties and studies on cellular responses in guinea pig macrophages, *J Immunol*, 1986, 136, 3856-3863.
14. MIONE M.C., RALEVIC V., BURNSTOK G.: Peptides and vasomotor mechanisms, *Pharmacol Therap*, 1990, 46, 429-468.
15. REINKE E., FABRY Z.: Breaking or making immunological privilege in the central nervous system: The regulation of immunity by neuropeptides, *Immunol Lett*, 2006, 104, 102-9.
16. FREIDINGER R.M.: Nonpeptidic ligands for peptide and protein receptors, *Curr Opin Chem Biol*, 1999, 3, 395-406.
17. GONZALEZ H.L., CARMICHAEL N., DOSTROVSKY J.O. ȘI COL.: Evaluation of the time course of plasma extravasation in the skin by digital image analysis, *J Pain*, 2005, 6, 681-8.
18. AFRAH A.W., FISKA A., GJERSTAD J. ȘI COL.: Spinal substance P release in vivo during the induction of long-term potentiation in dorsal horn neurons, *Pain*, 2002, 96, 49-55.
19. MARCEAU F., FEMBLAY B., COUTURE R. ȘI COL.: Prostacyclin release induced by neurokinins in cultured human endothelial cells, *Can J Physiol and Pharmacol*, 1989, 67, 159-162.
20. NAKAE K., SAITO K., IINO T. ȘI COL.: Prostacyclin receptor antagonist inhibits the sensitized release of substance P from rat sensory neurons, *Pharmacol Ther*, 2005, 31, 1136-42.
21. COUTURE R., CUELLO A.C.: Studies on the trigeminal antidromic vasodilatation and plasma extravasation in the rat, *J Physiology*, 1984, 346, 273-285.
22. OGAWA T., KANAZAWA I., KIMURA F.: Regional distribution of SP, neurokinin alpha and neurokinin beta in rat spinal cord, nerve roots and dorsal root ganglia, and the effects of dorsal root section or pinal transection, *Brain Res*, 1985, 359, 152-157.

23. SABAN M.R.: Involvement of leukotrienes, TNF-alpha, and LFA-1/ICAM-1 interaction in substance P – induced granulocyte infiltration, *J Leukoc Biol*, 1997, 61, 45-451.
24. SCHINKEL C., GAERTNER A., ZASPEL J. ȘI COL., Inflammatory mediators are altered in the acute phase of posttraumatic complex regional pain syndrome, *Clin J Pain*, 2006, 22, 235-9.
25. YONEHARA H., YOSHIMURA M.: Effect of nitric oxide on substance P release from the peripheral endings of primary afferent neurons, *Neurosci Lett*, 1999, 271, 199-201.

The importance of neurokinins in the inflammation mechanism

ADRIANA BULBOACĂ, D. I. POP, A. BĂRĂCAN

Summary

This paper focuses on the mechanisms by which neuropeptides interact with cellular receptors to stimulate pathophysiological events in inflammation. One peptide currently under investigation is substance P (SP), member of the tachykinin family. SP has been extensively studied because of its many general physiological and pathophysiological effects (smooth muscle contraction, inflammation, neurotransmission, blood vessel dilatation, histamine release, and activation of immune system). SP is present in the primary afferent C-fibers, and plays important roles in neuropathic pain and inflammation. The main effects of SP in inflammation are the increase of vascular permeability leading to edema, and leucocytes extravasation, two key components of the inflammatory response. In addition, there is stimulation of macrophages, activation of complement via the classical pathway, and production of reactive oxygen intermediates. SP is a key player in inflammation, and may have a significant impact on the therapeutic strategies against many diseases.

Key words: inflammation, neuropeptides, substance P.

DETECȚIA REARANJAMENTELOR SUBTELOMERICE PRIN MLPA (MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION) – METODĂ NOUĂ DE DIAGNOSTIC ÎN FORMELE IDIOPATICE DE RETARD MENTAL

VICTORIA CREȚ¹, MARIELA MILITARU², CRISTINA RUSU³, MARIA PUIU⁴, CRISTINA SKRYPNYK⁵, LIGIA BARBARII⁶, K. CSEP⁷, E. TOMESCU⁸

¹Clinica Pediatrie I “Axente Iancu” – Compartimentul Genetică Medicală, Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii Cluj; ²Catedra de Genetică Medicală – UMF Cluj, ³Disciplina de Genetică Medicală, UMF Iași; ⁴Genetică Medicală UMF Timișoara, Departamentul de Genetică Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii “Louis Țurcanu”; ⁵Universitatea Oradea - Facultatea de Medicină, Departamentul de Genetică Oradea; ⁶Laboratorul ADN-Institutul Național de Medicina Legală “Mina Minovici” București; ⁷Genetică Medicală UMF Târgu Mureș, ⁸I.O.M.C. “Alfred Rusescu” București

Rezumat

Retardul mental reprezintă o perturbare semnificativă a abilităților cognitive și adaptative, cu debut sub vârsta de 18 ani și evoluție cronică, afectând 2 – 3% din populația generală. Etiologia retardului mental este foarte variată, incomplet precizată implicând factori genetici și de mediu, proporția formelor idiopatice depășind însă 50% din cazuri.

Rearanjamentele subtelomerice sunt responsabile de aproximativ 5% din cazurile de retard mental idiopatic. Dintre tehnicile propuse, în timp, pentru detectarea acestor rearanjamente, “Multiplex Ligation - dependent Probe Amplification” – MLPA, s-a detașat ca fiind metoda de elecție, relativ ușor de utilizat și cu un raport cost/eficiență avantajos.

Introducerea acestei metode în România ar crește șansa unui diagnostic specific la pacienții cu retard mental, permițând o abordare profilactică adecvată, cu consecințe atât asupra familiei pacientului cât și asupra societății.

Cuvinte cheie: retard mental, scor clinic, rearanjamente subtelomerice, tehnici de hibridizare, amplificare multiplex - MLPA

Retardul mental (RM) reprezintă o perturbare semnificativă a abilităților cognitive și adaptative cu debut sub vârsta de 18 ani și evoluție cronică, ce afectează 2 – 3% din populația generală, cu consecințe majore atât pentru individ și familia acestuia cât și pentru societate, constituind astfel o problemă importantă de sănătate publică (1).

Din punct de vedere etiologic, în RM sunt implicați atât factori genetici (cel mai important fiind Sindromul X fragil, urmat de alte anomalii cromozomiale numerice sau structurale, boli monogenice, mitocondriale) cât și factori de mediu. În funcție de gradul de severitate al RM, s-a constatat o frecvență mai mare a

cauzelor genetice la pacienții cu RM moderat și sever, în timp ce factorii de mediu (în special cei sociali) au fost mai frecvent implicați în RM ușor. În toate formele clinice de RM însă, ponderea cazurilor cu etiologie neprecizată (formele idiopatice) este încă foarte ridicată (1; 2). Peste 50% dintre persoanele instituționalizate sau din școlile speciale nu au un diagnostic specific (3), motiv pentru care majoritatea cercetărilor actuale referitoare la RM se concentrează asupra studierii RM de cauză neprecizată cu scopul identificării unor noi cauze.

Dintre acestea, studiul rearanjamentelor subtelomerice a constituit o preocupare a multor cercetători în ultimii ani, fiind consemnate prevalențe între 5 și 10% (4; 5). Întrucât se cunoaște faptul că majoritatea translocațiilor implică telomerele iar regiunile adiacente telomerelor sunt foarte bogate în gene (rearanjamentele care implică AND-ul adiacent telomerelor având, foarte probabil, consecințe fenotipice), o investigație a capetelor cromozomului va detecta toate anomaliile, indiferent de mărime (6).

O selectare riguroasă a cazurilor crește mult eficiența investigațiilor de laborator, numeroase studii clinice având ca scop identificarea semnelor clinice asociate RM care ar putea să sugereze existența unui rearanjament subtelomeric și să stabilească scoruri clinice de diagnostic (3) lu scorul Sandig (7), mai frecvent utilizat fiind scorul de Vries (tabelul I):

Tabel I. Criterii clinice pentru pacienții cu rearanjamente subtelomerice submicroscopice (de Vries, 2000)

Criteriu	Scor
Istoric familial de RM :	
• compatibil cu transmiterea monogenică	1
• incompatibil cu transmiterea monogenică	2
Retard de creștere cu debut prenatal	2
Anomalii de creștere postnatală (pentru fiecare din următoarele : 1 punct, maxim 2 puncte) :	
• microcefalia	1
• macrocefalia	1
• hipostatură	1
• hiperstatura	1
2 / > trăsături dismorfice faciale (în special hipertelorism, anomalii nazale, auriculare)	2
Anomalii extrafaciale (pentru fiecare anomalie 1 punct, maxim 2 puncte) ; mai ales :	
• anomalii ale mâinii	1
• defecte cardiace	1
• hipospadias / criptorhidie	1

Pentru includerea în studiu se recomandă ca pacientul să îndeplinească un scor de >/ 3 puncte.

Până de curând, screeningul rearanjamentelor subtelomerice a fost împiedicat de complexitatea structurii secvențelor telomerice și de prețul crescut al investigațiilor.

Studiile de laborator au inclus diferite metode: de la tehnici citogenetice obișnuite (cariograma bandată) sau de înaltă rezoluție (studierea cromozomilor în prometafază) la diverse variante de hibridizare fluorescentă in situ – Fluorescece in situ Hybridization (FISH) (6; 8; 9). Mai recent au fost propuse tehnici de hibridizare a probei cu amplificare multiplex: Multiplex Amplifiable Probe Hybridization (MAPH); Quantitative Multiplex PCR of Short fluorescent Fragments (QMPSF) (10) și Multiplex Ligation - dependent Probe Amplification (MLPA) (11; 12).

MLPA a devenit metoda cea mai folosită pentru dozările genomice, fiind considerată metoda de elecție în detectarea rearanjamentelor subtelomerice, având avantajul analizei concomitente a 40 de loccusuri (5;13;14), relativ ușor de efectuat și cu un raport cost / eficiență avantajos. Laboratoare din întreaga lume au preluat tehnica, atât pentru aprecierea frecvenței reale a rearanjamentelor subtelomerice (15), cât și pentru tentativa de a contura tabloul clinic al fiecărui rearanjament subtelomeric în parte (16).

Tehnica MLPA are următoarele caracteristici (5;13;14):

- constă în detecția numărului anormal de baze azotate, concomitent în 40 de secvențe de ADN genomic, printr-o reacție de tip « protein chain reaction » (PCR);
- necesită minim 20 ng ADN uman;
- poate face diferența între secvențe ce diferă printr-o singură bază azotată;
- necesită un termocycler și un sistem de electroforeză de tip secvențiere;
- protocolul este identic pentru diferite aplicații (detecția rearanjamentelor subtelomerice, detecția aneuploidiilor cromozomilor 13, 18, 21, X și Y; detecția delețiilor sau duplicațiilor cromozomiale mari; detecția delețiilor sau duplicațiilor genice în cancer; detecția deleției/duplicației unui singur exon – BRCA, NF; cuantificarea metilării insulelor CpG în promotorii genelor supresoare în tumori);
- datorită secvenței scurte de recunoaștere a sondei, metoda poate fi folosită și pe ADN parțial degradat (extras din țesuturi fixate, blocuri de parafină);
- sunt amplificate prin PCR sondele fixate la probă, nu acizii nucleici din proba de examinat;
- două sonde sunt hibridizate pe secvențele țintă, apoi se face legarea sondelor și amplificarea secvenței țintă ;
- reacția PCR necesită numai o pereche de primeri pentru amplificarea tuturor fragmentelor ;
- produșii amplificați variază ca mărime de la 130 la 490 pb și sunt analizați prin electroforeza de tip secvențiere.

Koolen, într-un studiu pe cel mai mare lot de pacienți cu RM (210 pacienți cu RM idiopatic) a consemnat o prevalență de 6,7% a rearanjamentelor subtelomerice. Autorul a constatat, în plus, că utilizarea unui scor clinic de ≥ 3 crește de două ori șansa diagnosticului (la 12,4%), screeningul rearanjamentelor subtelomerice fiind necesar chiar și în formele ușoare de RM, dacă se asociază anomalii clinice relevante (15). Studiul condus de Rooms, în 2004, pe un lot de 75 pacienți cu RM mediu și sever, a consemnat o prevalență de 5,3% a rearanjamentelor subtelomerice prin metoda MLPA (confirmate și prin metoda FISH) (5). Eficiența metodei MLPA a fost confirmată și de alți autori, la cazurile diagnosticate inițial prin FISH (17), unele studii susținând superioritatea MLPA în detecția rearanjamentelor subtelomerice criptice față de FISH (18).

Întrucât studiul rearanjamentelor subtelomerice în RM nu s-a efectuat până în prezent în România, introducerea tehnicii MLPA ar crește șansa unui diagnostic specific în cazurile de RM idiopatic și, implicit, a unei abordări profilactice mai adecvate în familiile cu risc, cu impact major (medical, social și economic) asupra familiei și societății.

Bibliografie

1. COVIC M., STEFANESCU D., SANDOVICI I.: *Genetica Medicală, Retardul mental*, p 457-472; Editura Polirom, 2004;
2. RIMOIN L. DAVID, CONNOR J. MICHAEL, PYERITZ E. REED – EMERY AND RIMOIN'S: *Principles and Practice of Medical Genetics*, 3rd Edition,

- Churchill Livingstone 1997, Abnormal mental development p 725-736;
3. DE VRIES B.B.A., WHITE S.M., KNIGHT S.J.L., REGAN R., HOMFRAY T., YOUNG I.D., SUPER M., MCKEOWN C., SPLITT M., QUARRELL O.W.J., TRAINER A.H., NIERMEIJER M.F., MALCOM S., FLINT J., HURST J.A., WINTER R.M.: Clinical studies on submicroscopic subtelomeric rearrangements: a checklist, *J. Med. Genet* 2001; 38: 145-150;
 4. FLINT J., WILKIE AOM, BUCKLE VJ, WINTER RB, HOLLAND AJ, MCDERMID HE.: The detection of subtelomeric chromosomal rearrangements in idiopathic mental retardation. *Nat Genet* 1995; 9: 132-139;
 5. ROOMS LIESBETH, REYNIERS E., VAN LUIJK ROB, SCHEERS S., WAUTERS JAN, CEULEMANS BERTEN, VAN DEN ENDE JENNEKE, VAN BEVER YOLANDE, KOOY R. FRANK: Subtelomeric Deletions Detected in Patients With Idiopathic Mental Retardation Using Multiplex Ligation- Dependent Probe Amplification (MLPA), *Human Mutation* 23: 17-21 (2004);
 6. KNIGHT J.L. SAMANTHA, LESE M. CHRISTA, PRECHT S. KATHRIN, KUC JULIE, NING YI, LUCAS SARAH, REGAN REGINA, BRENNAN MARY, NICOD ALISON, LAWRIE MARTIN N., CARDY L.N. DONALD, NGUYEN HUY, HUDSON J. THOMAS, RIETHMAN C. HAROLD, LEDBETTER H. DAVID, FLINT JONATHAN: An Optimized Set of Human Telomere Clones for Studying Telomere Integrity and Architecture, *Am. J. Hum. Genet.* 67: 320-332, 2000;
 7. SANDIG K.S. WALTER, HINKEL G.K., MITULLA B., OUNAP K., SIMS G., SITSKA M., UTERMANN B., VIERTEL P., KALSCGEUER V., BARTSCH O.: Subtelomere FISH in 50 children with mental retardation and minor anomalies, identified by a checklist, detects 10 rearrangements including a de novo balanced translocation of chromosomes 17p13.3 and 20q13.33, *Am J Med Genet A.* 2004 Aug 1;128 (4): 364-73;
 8. KNIGHT J.L. SAMANTHA, HORSLEY W. SHARON, REGAN REGINA, LAWRIE N. MARTIN, MAHER E.J., CARDY L.N. DONALD, FLINT JONATHAN, KEARNEY LYNDAL: Development of Clinical Application of an Innovative Fluorescence in situ Hybridization Technique Which Detects Submicroscopic Rearrangements Involving Telomeres, *Eur. J. Hum. Genet* 1997; 5: 1-8;
 9. KNIGHT J.L. SAMANTHA, FLINT JONATHAN: Perfect endings: a review of subtelomeric probes and their use in clinical diagnosis, *J. Med. Genet* 2000; 37: 401-409;
 10. PASCALE SAUGIER-VEBER, ALICE GOLDENBERG, VALERIE DROUIN-GARRAUD, CELINE DE LA ROCHEBROCHARD, VALERIE LAYET, NATHALIE DROUOT, NATHALIE LE MEUR, BRIGITTE GILBERT-DU-SSARDIER, GERALDINE JOLY-HELAS, HELENE MOIROT, ANNICK ROSSI, MARIO TOSI AND TIERRY FREBOURG: Simple detection of genomic microdeletions and microduplications using QMPSF in patients with idiopathic mental retardation, *Eur J Hum Genet.* 2006 (14):1009-1017.
 11. ARMOUR J.A.L., BARTON D.E., COCKBURN D.J., TAYLOR G.R.: The Detection of Large Deletions or Duplications in Genomic DNA, *Human Mutation* 20: 325-337 (2002);
 12. SELNER N. LORYN, TAYLOR R. GRAHAM – MLPA and MAPH: New Techniques for Detection of Gene Deletions, *Human Mutation* 23: 413-419 (2004);
 13. JORIS A VELTMAN: Diagnostics: Genomic copy number analysis in mental retardation: finding the needles in the haystack, *Eur J Hum Genet.* (2007) 15, 1-2. doi : 10.1038/sj.eshg.5201728 ; online Oct 18 2006

14. MLPA, MRC-Holland, Amsterdam (www.mlpa.com);
15. KOOLEN D.A., NILLESEN W.M., VERSTEEG M.H.A., MERKS G.F.M., KNOERS N.V.A., KETS M., VERMEER S., VAN RAVENSWAALJ C.M.A., DE KOVEL C.G., BRUNNER H.G., SMEETS D., DE VRIES B.B.A., SISTERMANS E.A.: Screening for subtelomeric rearrangements in 210 patients with unexplained mental retardation using multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA), J. Med. Genet. 2004; 41: 892-899;
16. ROSSI ELENA, PICCINI FLAVIA, ZOLLINO MARCELLA, NERI GIOVANNI, CASELLI DESIREE, TENCONI ROMANO, CASTELLAN CLAUDIO, CARROZZO ROMEO, DANESINO CESARE, ZUFFARDI ORSETTA, RAGUSA ANGELA, CASTIGLIA LUCIA, GALESI ORNELLA, GRECO DONATELLA, ROMANO CORRADO, PIERLUIGI MAURO, PERFUMO CHIARA, DI ROCCO MAIA, FARAVELLI FRANCESCA, BRICARELLI FRANCA DAGNA, BONAGLIA MARIA CLARA, BEDESCHI MARIA FRANCESCA, BORGATTI RENATO: Cryptic telomeric rearrangements in subjects with mental retardation associated with dysmorphism and congenital malformations, J. Med. Genet 2001; 38: 417-420;
17. PALOMARES M, DELICADO A, LAPUZINA P, ARJONA D, AMINOSO C, ARCAS J, MARTINEZ BERMEJO A, FERNANDEZ L, LOPEZ PAJARES I: MLPA vs multiprobe FISH: comparison of two methods for the screening of subtelomeric rearrangements in 50 patients with idiopathic mental retardation, Clin Genet. 2006 Mar; 69 (3):228-33;
18. MONFORT S, ORELLANA C, OLTRA S, ROSELLO M, GUITART M, MARTINEZ F: Evaluation of MLPA for the detection of cryptic subtelomeric rearrangements, J Lab Clin Med. 2006 Jun; 147(6): 295-300.

**The detection of subtelometric rearrangements using
MLPA (Multiplex Ligation-Dependent Probe
Amplification): A new method for the diagnosis of
idiopathic mental retardation**

**VICTORIA CREȚ, MARIELA MILITARU, CRISTINA RUSU,
MARIA PUIU, CRISTINA SKRYPNYK, LIGIA BARBARII,
K. CSEP, E. TOMESCU**

Summary

Mental retardation is a significant disturbance of cognitive and adaptative abilities, with onset under the 18 years of age and chronic evolution, 2 – 3% of general population being affected. Mental retardation etiology involved genetic and enviromental factors but unknown forms exceed 50%..

Subtelomeric rearrangements are responsible for 5% of idiopathic forms of mental retardation. For detection of this rearrangements, "Multiplex Ligation - dependent Probe Amplification" – MLPA, is a fast and reliable method potentially suitable for use in routine diagnostics.

Using this method in Romania would rise the chance of specific diagnosis for patients with mental retardation, a better profilactic approach.

Key words: mental retardation, clinical score, subtelomeric rearrangements, hibridization technics, multiplex amplification - MLPA

INFLUENȚA TERAPIEI ESTROGENICE ASUPRA CREIERULUI: IMPLICAȚIILE ACESTEIA ÎN BOLILE NEURODEGENERATIVE

FULGA FLORESCU, N. COSTIN

Catedra Obstetrică-Ginecologie II, UMF Cluj Napoca

Rezumat

Pe termen lung, scăderea nivelului estrogenic postmenopauzal accentuează depresia și anxietatea, crește riscul maladiei Alzheimer și al bolii Parkinson, influențează rata accidentelor vasculare ischemice.

Studiile asupra tratamentului de substituție estrogenică sugerează efectele benefice asupra funcțiilor de cunoaștere (și în special asupra memoriei), dar și asupra motilității și stării psihice. Estrogenii protejează creierul de neurodegenerescență, inducând formarea de novo a sinapselor, favorizând transmiterea colinergică, promovând supraviețuirea neuronală.

Tratamentul estrogenic în menopauză determină întârzierea modificărilor cognitive legate de vârstă, influențând sistemele neurotransmițătorilor estrogenosensibili, reglând vascularizația creierului și protejând creierul împotriva stressului oxidativ.

Depistarea efectului neuroprotector al estrogenilor dezvoltă noi oportunități farmaceutice în redefinirea terapiei estrogenice substitutive.

Cuvinte cheie: neurotransmițători, neurodegenerescență, terapie estrogenică substitutivă, funcția de cunoaștere, coordonarea motorie.

Estrogenii nu sunt numai hormoni reproductivi feminini, ci, în cadrul multiplelor influențe sistemice, exercită efecte la diferite nivele ale sistemului nervos central, intervenind în controlul motilității fine și al senzației dureroase, al stării psihice și emotive, al memoriei și cogniției.

Într-adevăr, astăzi se știe că estrogenii pot proveni din androgeni – în țesutul grasos, dar și în creier (atât la femeie, cât și la bărbat) și deci nu provin numai din țesutul ovarian. Astfel, rolul lor în controlarea și stabilirea *diferențelor sexuale neuroanatomice* în timpul dezvoltării somatice este actualmente recunoscut, considerându-se a fi major și în timpul perioadei de adult. Steroizii ovarieni afectează creierul în dezvoltarea sa în numeroase moduri și influența lor durează toată viața; de exemplu, estrogenii sunt implicați în programarea structurală și funcțională a diferențelor sexuale la nivel cerebral, începând din viața embrionară și neonatală. Aceste procese presupun exprimarea receptorilor estrogenici intracelulari din creier, încă din dezvoltarea *embrionară* (1).

Chiar dacă bărbații și femeile au atât receptori estrogenici, cât și androgenici, diferențele sexuale în nivelurile circulante de estrogeni și androgeni rezultă din diversele rate de ocupare a receptorilor la nivelul creierului și în alte organe. Răspunsul la hormonii gonadali depinde de sex. Diferențele sexuale în programul genomic sunt instituite în creier în timpul perioadei de *diferențiere sexuală*.

Estrogenii pot, de asemenea, influența creierul la *pubertate*. Influența lor asupra hipotalamusului induce ciclismul ovarian la pubertate și neuronii care produc GnRH sunt elementele cheie în acest proces (1).

La nivelul ovarelor, estrogenii sunt produși din colesterol, via testosteron. La nivelul țesutului gras și în creier, ei derivă din testosteronul gonadic și din alți androgeni adrenalieni. Cum atât femeile, cât și bărbații sintetizează estrogeni, nu este surprinzător că ambele sexe exprimă la nivel celular *receptori intracelulari estrogenici*, în multe părți ale corpului, incluzând creierul. Acești receptori sunt de natură proteică, care după legarea de estrogeni intră în nucleii celulelor țintă și reglează expresia genelor (2). Forma clasică a receptorilor estrogenici este α (α -ER), dar recent au fost omologați receptori de tip β (β -ER). Estrogenii au diferite modalități de acțiune la nivel central. Studiile asupra activității celulei nervoase au arătat că efectele estrogenilor pot surveni la acest nivel atât de rapid, încât activarea sau reprimarea genetică nu pot fi implicate (3). De exemplu, la nivelul cerebelului, hipocampului, corpurilor striate, cortexului cerebral activitatea electrică celulară poate fi stimulată în decursul secundelor. În multe cazuri, aceste mecanisme non-genomice operează pe suprafața celulară sau în apropierea acesteia, afectând excitabilitatea nervoasă sau a celulelor musculare netede prin intermediul mișcării ionilor de *Na*, *K*, *Ca* care generează un impuls nervos (mecanismele nongenomice sunt încă puțin cunoscute).

De peste 40 ani, experiențele pe animale au arătat că estrogenii influențează puternic *activitatea cerebrală*. Cele mai vechi studii cercetau influența estrogenilor asupra hipotalamusului și rolul acestuia în ovulație și în comportamentul reproductiv. Astăzi se știe că estrogenii pot acționa asupra unor arii din creier importante pentru memorie și învățare, pentru emotivitate și afectivitate, pentru coordonarea motorie și sensibilitatea dureroasă. De fapt, interacțiunea estrogenilor cu sistemele serotoninergic, noradrenergic, dopaminergic și colinergic determină influența acestora asupra *stării psihice și emotivității*. De exemplu, în sindromul premenstrual inhibiția ciclului ovarian estrogenic determină o stare de depresie premenstruală. Mai mult, dozele mari de estrogeni administrate în sindroamele depresive au clar efect antidepresiv (1).

În ceea ce privește *funcția de cunoaștere*, estrogenii influențează memoria de scurtă durată precum și performanțele în coordonarea motilității fine și a orientării în spațiu. Terapia estrogenică are astfel un beneficiu net în îmbunătățirea funcției cognitive la vârstnicele non-demente și potențează celelalte tratamente la femeile vârstnice cu demență. În caracterizarea efectelor menopauzei asupra funcției de cunoaștere, este importantă diferențierea între efectul imediat și cel tardiv (4). În general perimenopauza are efecte imediate reduse asupra funcției de cunoaștere. Pe de altă parte, anumite simptome menopauzice pot contribui la apariția diferențelor individuale ale funcției cognitive, tulburări ale stării psihice și ale somnului. Efectele tardive sunt puțin cunoscute, dar datele sugerează că utilizarea din timp a hormonoterapiei poate conferi protecție asupra declinului în cunoaștere, mai ales prin activarea funcției hipocampului.

Estrogenii controlează și *comportamentul locomotor* prin influențarea activității cerebelului și a sistemului dopaminergic. Nivelurile crescute de estrogeni antagonizează sistemul dopaminergic și pot exacerba simptomele Parkinsonului, în timp ce dozele scăzute potențează funcționalitatea dopaminergică. Tipul de epilepsie asociat cu menstuația ("epilepsia catamenială") survine când fracția progesteron/estrogeni este cea mai redusă din timpul ciclului menstrual; astfel, estrogenii au efect excitant asupra hipocampusului, progesteronul scade excitabilitatea nervoasă (5).

Studiile recente sugerează că atât femeile cât și bărbații își folosesc steroizii gonadali prin diverse mecanisme patogenetice, mai ales estrogenii, în medierea *senzațiilor dureroase*, deși există diferențe între sexe raportate la analgezie, mai ales că estrogenii au un efect sex-dependent la formele de analgezie non-opioidă.

Estrogenii și creierul în vârstă:

Lista acțiunilor estrogenilor asupra creierului vârstnicilor este foarte lungă, fiind accentuate mai ales influențele asupra dezvoltării creierului, funcționării și

îmbunătățirii acestuia. Achizițiile noi ale neurologiei indică corelația între fenomenele de cunoaștere și estrogeni precum și afecțiunile neurologice și estrogeni, în special maladia Alzheimer.

Termenul de “cogniție” include un spectru larg de abilități care presupun: atenția, învățarea, memoria, limbajul, judecata. Hipocampusul este structura creierului care coordonează aceste funcții. Prezența ambelor tipuri de receptori α și β pentru estrogeni este demonstrată la nivelul hipocampusului. 90% din celulele creierului sunt celule gliale și numai 10% sunt neuroni. Estrogenii acționează asupra ambelor tipuri de celule – stem, influențând transcrierea genelor estrogen-senzitive. Efectul estrogenilor asupra fiecărui tip de celulă se va exprima în acord cu rolul funcțional al celulei respective (6).

Hipocampusul adultului primește semnale de la sistemul nervos senzitiv, inclusiv de la ariile corticale senzitive. El procesează aceste date pentru a le distribui hipotalamusului, dar și ariilor motorii corticale. Integritatea acestor sisteme determină eficacitatea depozitării și utilizării informațiilor (aspecte de memorare și rememorare).

Estrogenii sunt importanți în reglarea și întreținerea mai multor arii ale creierului. Ei sunt folosiți și în schimbările corticale datorate aspectelor cognitive, reglând structurarea și conectarea hipocampusului la zonele asociate. Scăderea nivelului estrogenic după menopauză coincide cu momentul deteriorării multor activități ale sistemului nervos central, mai ales ale acelor asociate funcționării hipocampusului (memoria, atenția, cogniția și controlul autonomic).

Leziunile hipocampusului în postmenopauză sunt relativ comune. În creier, leucocitele și celulele gliale lucrează să izoleze aceste injurii prin procese inflamatorii localizate. Acest sistem de apărare este numit “*bariera imună a creierului*” și permite un răspuns imun local conservând integritatea celulelor creierului. Pentru a reuși acest lucru, “bariera imună a creierului” induce apoptoza leucocitelor activate ca răspuns la injuriile creierului, fiind influențată de estradiol care induce apărarea în fața generalizării injuriilor (7).

Creșterea speranței de viață conduce implicit la mărirea duratei postmenopauzice, care este o perioadă de deficit estrogenic. Deficiența estrogenică cauzează atât modificări reversibile ale funcției de cunoaștere, cât și modificările ireversibile asociate cu demența. De exemplu, scăderea memoriei și a coordonării motorii (ca urmare a supresiei funcției ovariene după administrare de GnRH agoniști sau chirurgical și prin menopauza naturală) sunt cunoscute a fi tratabile prin terapie de substituție hormonală estrogenică. Starea psihică este, de asemenea, sensibilă la estrogeni, depresia perimenopauzală putând fi tratată cu estrogeni. Pe termen îndelungat, scăderea nivelului estrogenic poate accentua riscul bolii Alzheimer, care ar răspunde și ea la terapia estrogenică. Oricum, studiile recente sugerează că beneficiile tratamentului nu sunt evidente odată ce boala s-a stabilit deja.

Estrogenii protejează creierul de neurodegenerescență prin două modalități:

- 1) mențin funcționalitatea structurilor neuronale-cheie;
- 2) împiedică acțiunea agenților neurotoxici.

Tratamentul estrogenic induce formarea de novo a sinapselor între neuroni piramidali și reglează transmiterea colinergică, precum și receptorii factorilor de creștere neuronală care promovează supraviețuirea neuronală. Mai mult, estrogenii au efect protectiv împotriva ischemiei cerebrale (8).

Atât in vivo, cât și in vitro, estrogenii influențează celulele gliale ale creierului, care sunt implicate în metabolismul energetic oxidativ, în plasticitatea cerebrală și neuroprotecție. Celulele gliale și epiteliul vascular sunt capabile să utilizeze glucoza ca sursă de energie primară. Pentru bărbați, scăderea funcției gonadale nu este așa dramatică, deficitul de androgeni nefiind așa de catastrofic. Existența diferențelor de dezvoltare neuronală pe sexe induce ideea răspunsului neuronal diferit la estrogeni sau androgeni. Efectul neuroprotectiv al estrogenilor pe creier ar fi evident la ambele sexe, chiar și androgenii ar putea fi benefici.

Depresia la persoanele în postmenopauză:

Depresia este definită prin semnalarea simptomelor depresive: stare psihică proastă; îngrijorare; insomnie (30-40% din persoanele în vârstă vor admite ca au aceste simptome când sunt chestionate, dar sunt tranzitorii și fac parte din experiența de viață).

Sindrom depresiv – simptomele sunt mai numeroase, severe și persistă suficient timp cât să împietzească viața de zi cu zi. La acest nivel medicul trebuie să se gândească la o formă de intervenție, chiar dacă medicația nu este strict necesară (12% din populație este diagnosticată cu acest sindrom).

Depresia majoră – este conceptul psihiatric care mută depresia în categoria de boală. Este relativ rară (1-2%), dar populația în vârstă se pare că nu raportează toate simptomele care ar putea-o categorisi astfel (subdiagnosticare).

Depresia este cea mai comună afecțiune psihiatrică a femeii în vârstă (10-12%), urmată de demență (5-6%) și anxietate (5%); poate fi detectată în cadrul unui screening sau prin interogatoriul medical (anamneza pentru altă afecțiune). Rezultatele după tratament nu sunt mulțumitoare: 60% din cazuri rămân în depresie la 1 an de la diagnosticare. Asocierea depresiei cu diverse dizabilități este frecventă, riscul lor crescând de 2-6 ori(9).

Factorii de risc pentru depresie:

- limitarea activității zilnice;
- lipsa familiei;
- insomnia;
- perioade de amnezie.

Datele clinice și paraclinice sugerează că scăderea nivelului de estrogen endogen poate juca un rol important în patogeneza depresiei de postmenopauză, estrogenii având efect pozitiv asupra stării psihice, cunoașterii, emoțiilor și comportamentului. Dozele mari de estrogeni conjugați sunt folosite în tratamentul depresiei recurente din postmenopauză(10). Datele pe care se bazează rolul estrogenilor și a serotoninei la nivel central sunt confirmate de prezența a două tulburări: sindromul premenstrual și depresia postmenopauzală (estrogenii scăzând starea de anxietate).

În postmenopauza imediată, utilizarea estrogenilor sau a SERM a condus la îmbunătățirea scorului osteoporozei, depresiei și anxietății (în comparație cu grupul placebo). La femeile cu postmenopauză tardivă, la care osteoporoza era instituită, nu a existat nicio îmbunătățire la administrarea estrogenilor asupra simptomelor depresiei sau asupra funcției cognitive; în schimb scade rata anxietății.

Aceste date sugerează că estrogenii sau SERM au efect pozitiv asupra sistemului nervos central mai ales dacă sunt administrați din timp (postmenopauza imediată), la femeile la care depresia menopauzică nu este încă instalată, dar îmbunătățesc oricum starea de anxietate (11).

Afecțiunile neurodegenerative:

Există date clinice și experimentale care susțin efectele protective ale terapiei estrogenice împotriva afecțiunilor neurodegenerative umane. Cele mai importante efecte neuroprotective sunt recunoscute în atacurile vaculare cerebrale, boala Parkinson și maladia Alzheimer.

Femeile în premenopauză sunt expuse unui risc scăzut de **accidente vasculare cerebrale (AVC)** în comparație cu bărbații; aceasta diferență nu mai este observată în postmenopauză, când riscurile se egalizează, sugerând protecția estrogenică la AVC (11).

Mai multe studii observaționale raportează asocierea între terapia estrogenă substitutivă și riscul mai scăzut la afecțiuni cardiovasculare. Totuși, eficacitatea terapiei estrogenice postmenopauzice în reducerea recurenței AVC rămâne controversată, unii susținând că riscul afecțiunilor coronariene nu a fost redus după terapie.

Una din probleme este momentul menopauzei la care tratamentul hormonal este inițiat. Această ipoteză sugerează că inițierea tratamentului în perimenopauză este

benefică pentru protecția cardiovasculară, dar aceste efecte benefice sunt pierdute dacă tratamentul s-a început târziu în postmenopauză (12).

Deși majoritatea femeilor din studiile observaționale sunt în perimenopauză în momentul inițierii hormonoterapiei, recente trialuri clinice studiază femeile mai în vârstă în postmenopauză ce au avut inițiat tratamentul substitutiv în diverse perioade (11). Concluziile arată că utilizarea hormonoterapiei trebuie începută cât mai repede după constatarea deficienței estrogenice pentru a se putea inhiba progresiunea aterosclerozei coronariene, dar această protecție se pierde dacă tratamentul se întârzie în inițiere cu aproximativ 2 – 6 ani.

Boala Parkinson rezultă din degenerarea neuronilor care sintetizează dopamina în substanța nigra, conducând la reducerea dopaminei în corpii striati unde sunt localizate terminațiile lor neuronale. Cauza morții celulare rămâne necunoscută, dar boala Parkinson este cu certitudine mai frecventă la bărbați decât la femei. Studiile experimentale sugerează că estrogenii pot influența debutul și severitatea bolii Parkinson. Legătura clinică între estrogeni și boala Parkinson rămâne controversată, unele studii indică reducerea riscului prin terapie estrogenică postmenopauzală (13). Estrogenii inhibă degenerarea dopaminergică printr-o varietate de mecanisme, incluzând reducerea apoptozei, reglând factorii de creștere neurotrofică, reduc neuroinflamația, reglează vascularizația creierului și protejează împotriva stressului oxidativ.

Maladia Alzheimer este cauza primară a demenței la vârstă avansată și se caracterizează prin pierderea memoriei și a altor abilități cognitive. Deși numeroasele studii indică reducerea riscului de Alzheimer ale terapiei estrogenice, alte date indică lipsa eficienței terapiei estrogenice la femeile postmenopauzale care au fost diagnosticate deja cu maladia Alzheimer (14).

Maladia Alzheimer este o maladie distrofică care afectează primar neuronii și conexiunile sinaptice. Diagnosticul clinic se pune prin anamneză, lipsa semnelor neurologice de disfuncția sistemului nervos central, absența semnelor de ischemie cerebrală vasculară și prin teste de laborator. În Alzheimer demențierea are loc insidios (15). Deși hormonoterapia pare să întârzie declanșarea clinică a bolii Alzheimer, mecanismele care determină această protecție sunt necunoscute. Există totuși probe asupra rolului imunitar în dezvoltarea bolii Alzheimer, iar estrogenii par să regleze sistemul imunitar al creierului (funcția imunocitelor cerebrale fiind implicată în distrofia creierului) (16).

S-a sugerat că tratamentul estrogenic în menopauza imediată (mai degrabă decât în menopauza tardivă) ar putea conduce la întârzierea modificărilor cognitive legate de vârstă sau să reducă riscul severității maladiei Alzheimer. Estrogenii pot reduce riscul și severitatea maladiei Alzheimer prin reducerea stressului oxidativ, creșterea fluxului sangvin cerebral și creșterea transportului de glucoză la nivel cerebral (17). Estradiolul este un puternic antioxidant la concentrații reduse și poate proteja creierul de stricăciunile produse de radicalii liberi la nivelul neurotransmițătorilor sistemului nervos central.

De asemenea, estrogenii influențează sistemele neurotransmițătorilor. Alta modificare histologică în boala Alzheimer este pierderea sinapselor și a ramificațiilor dendritice, estrogenii având influență asupra acestor structuri. Alterările sinaptice din boala Alzheimer se referă la scăderea densității terminațiilor presinaptice (18). Prezența unor plăci senile la acest nivel ar putea fi responsabilă de disfuncția neurotransmițătorilor în anumite arii, mai ales ca principalele sisteme de neurotransmitere (acetilcolina, glutamatul, acidul gamaaminobutiric) sunt estrogen-sensibile.

Concluzii

~Rolul deficienței estrogenilor în afecțiunile creierului nu este pe deplin cunoscut.

~Noua perspectivă asupra reglării și efectului substanțelor neuroactive, asupra proteinelor cerebrale și mecanismelor de apărare a gazdei aruncă o lumină asupra posibilităților informative.

~Efectele terapiei estrogenice includ rolurile în funcționalitatea normală a creierului, ale mecanismelor de reparație și reglarea vascularizației cerebrale, precum și controlul aspectelor inflamatorii de către sistemul imun.

~Cum oricare din acești factori sunt implicați în răspunsurile creierului atât la îmbătrânire cât și la depleția hormonală, va fi necesar să se separe rolurile specifice ale îmbătrânirii și schimbărilor hormonale ale tulburărilor creierului la femeie și la bărbat.

~Este clar că terapia estrogenică are impact asupra multor aspecte ale funcționalității creierului, incluzând starea psihică, controlul motilității, al durerii și al procesului cognitiv superior, oferind un anumit grad de neuroprotecție.

~Recenta identificare a diverselor tipuri de receptori estrogenici și ale mecanismelor lor intracelulare de acțiune a făcut posibilă investigarea efectelor estrogenilor asupra creierului, încât se vor dezvolta noi oportunități farmaceutice pentru a reduce impactul distructiv al radicalilor liberi asupra creierului, redefinind terapia substitutivă estrogenică.

Bibliografie

1. FISCHL F.: *Menopause- Andropause. Hormone replacement therapy through the ages. New cognition and therapy concepts*, 2001, 115-131.
2. BURGER HG.: The endocrinology of the menopause. *Maturitas* 1996; 23:129-136.
3. TORAN- ALLERAND CD, SINGH M, SETALO G.: Novel mechanisms of estrogen action in the brain: New players in an old story. *Front Neuroendocrinol* 1999; 20: 97-121.
4. GARCIA- SEGURA LM, AZCOITIA I, DONCARLOS LL.: Neuroprotection by estradiol. *Progr Neurobiol* 2001;63: 29-60.
5. KUIPER GG, SHUGHRUE PJ, MERCHENTHALER I, GUSTAFSSON JA.: The estrogen receptor beta subtype: a novel mediator of estrogen action in neuroendocrine systems. *Front Neuroendocrinol* 1998;19: 253-286.
6. GAUTHIER S. (ed): *Clinical diagnosis and management of Alzheimer's disease*, 2nd ed. Martin Dunitz Ltd., London, 1999; 457-489
7. BEHL C.: Alzheimer's disease and oxidative stress; implications for novel therapeutic approaches. *Prog Neurobiol* 1999; 57: 301-323.
8. OSTERLUND MK, HARD YL.: Estrogen receptors in the human forebrain and the relation to neuropsychiatric disorders (Review). *Prog Neurobiol* 2001; 64: 251-267.
9. MARKESBERRY WR, CARNEY JM.: Oxidative alterations in Alzheimer's disease (Review), *Brain Pathol* 1999; 9; 133-146.
10. MCEWEN BS.: Clinical review 108: the molecular and neuroanatomical basis for estrogen effects in the central nervous system. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1790-1797.
11. ISHUNINA TA, SWAAB DF.: Increased expression of estrogen receptor alpha and beta in the nucleus basalis of Meynert in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2001; 22: 417-426.
12. HENDERSON VW.: Estrogen replacement therapy for the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *CNS Drugs* 1997; 8: 343-351.
13. YAFFE K, SAWAYA G, LIEBERBURG I, GRADY D.: Estrogen therapy in postmenopausal women: effects on cognitive function and dementia. *JAMA* 1998; 279: 688-695.
14. BEHL C, HOLSBOER F.: The female sex hormone oestrogene as a neuroprotectant. *Trends Pharm Sci* 1999; 20: 441-444.
15. BEHL C, MANTHEY D.: Neuroprotective activities of estrogen. An update. *J Neurocytol* 2001; 29: 351-358.

16. JAFFE AB, TORAN- ALLERAND CD, GREENGARD P, GANDY SE.: Estrogen regulates metabolism of Alzheimer amyloid β precursor protein. *J Biol Chem* 1994; 269: 13065-13068.
17. PETANCESCA SS, NAGY V, FRAIL D, GANDY S.: Ovariectomy and 17 beta-estradiol modulate the levels of Alzheimer's amyloid beta peptides in brain. *Exp Gerontol* 2000; 35: 1317-1325
18. PAGANINI- HILL A., HENDERSON VW.: Estrogen deficiency and risk of Alzheimer's disease in women. *Am J Epidemiol* 1994; 140: 256-261 .

The influence of estrogen therapy on the brain: its implications in the neurodegenerative diseases

FULGA FLORESCU, N.COSTIN

Summary

In the long term, the decrease of post-menopausal estrogen level increases depression and anxiety, the risk of Alzheimer's disease and Parkinson, influences the rate of ischemic strokes.

The studies of estrogen substitution treatment show benefic effects on the cognitive functions (especially on the memory), but also on motility and psychical state. The estrogen protects the brain from neuro-degenerescence, inducing the formation of novo-synapses, favoring the cholinergic transmission, and promoting neural survival.

The estrogen treatment at menopause delays the age related cognitive alterations, influences the estrogen sensitive neuro-transmitters, regulates brain vascularization, and protects the brain from oxidating stress.

The detection of the neuroprotective effect of estrogen offers new pharmaceutical opportunities when it comes to redefine the estrogen substitution therapy.

Key words: neurotransmitters, neurodegenerescence, estrogen substitution therapy, cognitive function, motility.

ACTUALITĂȚI ÎN PATOGENIA BOLII VARICOASE

CLAUDIA GHERMAN, DIANA SĂCUI, LAURA PALCĂU

Clinica Chirurgie II, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu"
Cluj-Napoca

Rezumat

Boala varicoasă, capitol de patologie în permanentă actualitate, reprezintă o entitate nozologică evolutivă. Alterarea peretelui vascular, incompetența valvulară sau trombozele venoase profunde în antecedente cauzează refluxul venos, care la rândul său generează hiperpresiune venoasă, stază și hipoxie tisulară.

Dezorganizarea celulelor musculare netede și a componentelor matricei extracelulare a peretelui venei varicoase sunt prezente. Sinteza de collagen este modificată, alături de expresia metaloproteazelor matriceale. Alți parametri biologici, factori de creștere, mecanisme ale apoptozei par să fie implicați în patogeneza bolii varicoase. Fenomenele inflamatorii joacă rol primordial în geneza ulcerului varicos.

Studiul concluzionează faptul că mecanismul patogenic al bolii varicoase, cea mai comună manifestare a insuficienței venoase cronice, este încă în curs de dezbatere. Un loc aparte îl ocupă studiul factorilor genetici implicați în apariția bolii varicoase, intenția fiind de a stabili un adevărat profil genic al bolnavului cu varice.

Cuvinte cheie: vene varicoase, remodelare parietală, collagen, predispoziție genetică.

Introducere

Evoluția istorică a cunoștințelor despre varice

Boala varicoasă este o boală "veche de când lumea", cunoașterea sa istorică asociindu-se cel mai adesea evoluției cunoașterii medicale. În lucrările lui Hipocrate (V –IV î.e.n.) se regăsesc date despre cunoașterea venelor și varicelor, puncții, flebotomii. Celsus (120-201 î.e.n.) descrie operația de varice în enciclopedia sa. Galen din Pergam (164 î.e.n.) a cercetat experimental circulația sângelui și funcțiile inimii și a descris tratamentul varicelor prin "discizia subcutanată cu cârlige". Opera lui a dominat gândirea în medicină peste 1500 de ani. Plutarh din Cheronea (46-120 î.e.n.) descrie operația de varice efectuată lui Caius Marcus.

Andreas Vesalius (1514-1564) elaborează prima anatomie complexă "De corporis humani fabrica" în 1546, dar în care descrie venele fără valve. Lui Fabricii D'Aquapendente (1603) îi aparține primatul descoperirii valvulelor venoase. Circulația sângelui și funcția cardiacă sunt puse pe baze științifice de către William Harvey (1578-1657) (1).

Din vremurile preistorice și până în zilele noastre numeroase studii și lucrări elaborate de autori care și-au înscris numele în istoria medicinei au completat arsenalul de cunoștințe în domeniul patologiei varicoase, fără ca să îl epuizeze.

Notiuni de ordin general.

Boala varicoasă reprezintă o entitate nozologică evolutivă. Varicele sunt un capitol de patologie în permanentă actualitate, datorită morbidității ridicate pe care o

înregistrează și complicațiilor care sunt urmate de grade diferite de invaliditate. Diagrama elementelor importante în diagnosticul și tratamentul afecțiunilor venoase este o întrepătrundere în proporții variabile între 4 elemente: etiologie, anatomie, fiziopatologie și clinică (2).

Patologia varicoasă este cauzată de un fenomen de inversare a circulației de întoarcere, respectiv de refluxul venos. Acest reflux este consecința: alterării peretelui vascular (varicele primare), insuficienței valvulare (variabilitate în poziție și distribuție) sau unei tromboze venoase profunde în antecedente.

Refluxul venos generează hiperpresiune venoasă ortostatică, cu stază și hipoxie la periferie. Hiperpresiunea venoasă cu staza se transmite la nivel venulo-capilar, unde sub influența fluxului încetinit are loc un fenomen de agregare leucocitară, cu eliberare de enzime proteolitice, radicali liberi de oxigen și leziuni ale membranei bazale capilare. Proteine, cum ar fi: fibrinogenul, traversează membrana lezată, ajung în țesuturile din jur, se transformă în fibrină, apare edemul, cu scăderea concentrației de oxigen și apariția, într-un final, a tulburărilor trofice. Hipoxia duce la: afectarea microcirculației, modificarea permeabilității cu edem, modificări ale țesutului conjunctiv și, în cele din urmă, apariția tulburărilor trofice (3,4).

Natura factorilor patogenici, la care se adaugă capacitatea naturală de compensare a microcirculației, caracterizează aspectele clinice și morfopatologice ale bolii varicoase.

Mecanismul patogenetic al bolii varicoase, cea mai comună manifestare a insuficienței venoase cronice, este încă în curs de dezbateri. Cunoașterea aprofundată a mecanismelor intime de funcționare a endoteliului venos, a mediei, a reglării vegetative din adventice, ne oferă o imagine nouă asupra ductului venos, ne ajută să găsim explicație și, eventual, remedii manifestărilor clinice legate de insuficiența venoasă cronică (1).

Modificări esențiale ale peretelui varicos

Deși afecțiunea varicoasă constituie un capitol de patologie comun, factorii etiologici care predispun la dilatații, elongații și tortuozitatea peretelui venos sunt deocamdată incomplet cunoscuți.

Distensibilitatea peretelui vascular este controlată de: collagen, elastină și celule musculare netede. Studii de morfologie a peretelui venei varicoase au fost efectuate, ocazie cu care s-a constatat numeroase modificări structurale. Endoteliul venei varicoase este lezat sau chiar absent. Hipertrofia intimală este datorată infiltrației cu țesut fibros. Se constată o reducere neuniformă a stratului muscular, cu diminuarea până la absența celulelor musculare netede. La nivelul mediei sau adventiției celulele musculare netede sunt distruse sau cu morfologia alterată. Cantitatea de țesut conjunctiv, la acest nivel, este crescută, cu organizare neregulată a fibrelor de collagen și disrupția rețelei elastice din jurul benzilor de celule musculare netede. Fibrele elastice sunt deficitare, dispuse la întâmplare, cu pierderea rețelei normale (în formă de zăbrele) de elastină-collagen. Diminuează proporțiile celule musculare netede-collagen și elastină-collagen (5).

Laminina, molecula de adeziune intercelulară 1 (ICAM-1) și molecula de adeziune a celulelor vasculare 1 (VCAM-1) sunt crescute la nivelul peretelui venei varicoase (6).

Dezorganizarea celulelor musculare netede și a componentelor matricei extracelulare a peretelui venei varicoase au fost demonstrate (7). Dacă alterarea matricei extracelulare s-a stabilit că este implicată în apariția venelor varicoase, s-au aprofundat studiile legate de acest capitol.

Rolul remodelării parietale în apariția dilatațiilor varicoase

Studii numeroase au arătat că remodelarea parietală anormală apare la nivelul venei varicoase(7) și că aceste alterări ale peretelui venos pot fi privite ca și cauză primară a varicelor (8).

Aproximativ $\frac{1}{4}$ din proteinele corpului sunt reprezentate de collagen. Proteină structurală majoritară, collagenul formează cabluri moleculare de forță la nivelul: tegumentului, tendoanelor, pereților vasculari, structurilor de rezistență care susțin organele interne, care conectează țesuturile moi la schelet. Collagenul are o structură de triplu helix stabilă, constituită din secvențe de aminoacizi. Fiecare al 3-lea aminoacid este glicina, iar din restul majoritatea sunt prolina și hidroxiprolina. Până la ora actuală au fost izolate 19 tipuri de collagen la om, primele 5 tipuri fiind mai frecvent întâlnite.

Collagenul III, proteină majoritară a vaselor sanguine și tegumentului, care asigură împreună cu elastina proprietățile elastice ale acestor structuri, prezintă un nivel scăzut la nivelul pereților venelor varicoase. Sinteza de collagen de tip I, III și V a fost cuantificată în culturi de celule musculare netede venoase. Proporția de collagen de tip III în heterofibrilele compuse din collagen de tip I, III și V a fost calculată. Cuantificarea sintezei de collagen în culturile celulare denotă o proporție semnificativ scăzută a collagenului de tip III. Scăderea producției collagenului III, dar nu și expresia sa mRNA, care rămâne nemodificată, la nivelul celulelor musculare netede ale venelor varicoase, induce o supraproducție de collagen I prin expresia mRNA și sinteza proteinelor de structură a collagenului de tip I crescute la nivelul mediei venei varicoase. Nivelul de hidroxiprolină a fost găsit crescut în vena varicoasă, ceea ce sugerează o creștere a conținutului de collagen. Această creștere a collagenului în țesuturi este asociată cu o creștere a expresiei mRNA a collagenului de tip I, în timp ce expresia, stabilitatea și funcționalitatea mRNA-ului collagenului de tip III nu este modificată (9,10,11).

Collagenul III nu este degradat în interiorul celulei prin mecanisme implicând proteaze și, de asemenea, el este normal maturat și secretat înafara celulei. Collagenul III este degradat în spațiul extracelular prin mecanisme implicând metaloproteaze matriceale secretante (sMMP). Collagenaza și gelatinazele par a nu fi implicate în degradarea collagenului III, pe când stromelizina (MMP3) ar fi implicată cel puțin parțial. Degradarea collagenului III prin mecanisme implicând metaloproteazele sMMP, cu posibila implicare a MMP3, explică scăderea acumulării de collagen III fără modificări de mRNA, cu consecințe funcționale la nivelul venei varicoase legate de reducerea elasticității (12,13,14).

Alte studii arată conținut semnificativ crescut al MMP1 (colagenaza), MMP2 (gelatinaza A), MMP9 (gelatinaza B) doar în peretele venelor varicoase complicate cu tromboflebită, pe când conținut crescut al MMP3 (stromelizina) este întâlnit în mod obișnuit în peretele venelor varicoase (15,16).

Factorii de creștere sunt cei care induc producția de MMP3 în celulele varicoase. Factorul de creștere vascular endotelial (VEGF) este descris a fi inductorul expresiei de pro-MMP3 și un activator al expresiei activatorului de plasminogen tip urokinază (u-PA) și activatorului tisular de plasminogen (t-PA). Producția majorității factorilor de creștere nu este modificată, cu excepția creșterii sintezei de VEGF (17,18,19).

Inhibitorul activatorului de plasminogen 1 (PAI-1) joacă rol în limitare migrării celulelor musculare netede induse de flux și astfel poate constitui un mecanism important în controlarea procesului de remodelare vasculară. Producția totală de (PAI-1) este crescută, la fel și producția și activitatea t-PA (20,21).

Cantitatea de fibronectină este scăzută în compartimentele peri- și extracelulare. Fibronectina este substratul cu afinitatea cea mai mare pentru MMP3. Fibronectina și collagenul sunt degradate prin același mecanism dependent de MMP. Interacțiunea între collagenul I, III și fibronectină suntb importante pentru polimerizarea heterofibrilelor collagenului, cu repercursiuni asupra ultrastructurii și elasticității tisulare (19,22).

Factorul de creștere transformare beta 1 (TGF-beta1), factor cunoscut a menține balanța între apoptoză și disfuncționalitatea celulară, s-a demonstrat a avea un rol pivot în remodelarea vaselor pe parcursul patogenezei dezordinilor vasculare, în infiltrarea de monocite/macrofage și pierderea celulelor musculare netede. Sintetaza indusibilă a oxidului nitric (iNOS) pare, de asemenea, a juca un rol în patofiziologia moleculară a afecțiunilor venoase cronice (18).

Expresia enzimelor citocromului P450 și a cicloxigenazei (COX), investigate prin tehnici de RT-PCR, atunci când este crescută este implicată în perturbări ale tonusului vascular, contribuind la dezvoltarea patologiei varicoase. Modulatorii lor pot fi potențial activi în tratamentul insuficienței venoase cronice (23).

Catepsina D, protează lizozomală care degradează intracelular materialele înconjurate de membrană, joacă rol esențial în inițierea procesului de: distrucție efectivă a peretelui venei varicoase, eliminarea trombilor din varicoflebită, distrucția cutanată și apariția ulcerului varicos (24).

Integritatea tisulară normală este mediată prin apoptoza intrinsecă (moartea celulară programată). Toți anticorpii antiapoptoici testați au detectat o semnificativă diminuare a celulelor imunoreactive în secțiunile efectuate din media venelor varicoase comparativ cu venele sănătoase. Acest fapt dovedește o dereglare a mecanismelor celulare ale apoptozei în varice (19).

Dilatațiile apar datorită subțierii și slăbirii peretelui venos, incompetența valvulară părând să fie mai degrabă secundară decât primară. Întrucât collagenul de tip III este implicat în elasticitatea tisulară, aceasta ar fi o explicație a distensibilității anormale a venei varicoase. Acest defect în sinteza de collagen III este generalizat în țesuturile care îl conțin, argument care este în favoarea ipotezei alterării genetice a proceselor de remodelare la acești pacienți (11,25).

Modulări fenotipice ale celulelor musculare netede la nivelul venelor varicoase există, acestea fiind reproductibile și în vitroculturi. Prin reacții de polimerizare în lanț (RT-PCR reverse transcription-polymerase chain reaction) s-au obținut diferite profile ale expresiei mRNA cu scopul de a stabili cauza numeroaselor schimbări în expresia proteinelor decelate în peretele venelor varicoase primare. Clonele de ADN complementar (cDNA) izolate se constituie în markeri utili ai diagnosticului genetic al venelor varicoase primare, aceste gene fiind implicate în codarea proteinelor structurale. (Kim DI) S-au izolat astfel 3,063 clone de cDNA, 82 de gene care codează proteine structurale ale matricei extracelulare, citoscheletului sau miofibroblastelor precum: collagen, elastină, tropomiozină, factorul de creștere și transformare indus de gena 3 (BIGH3), actină, actinină, tubulină, lumican, versican (24,26).

Aspecte esențiale ale ulcerului varicos

Fenomenele care trebuiesc luate în considerare atunci când se elaborează noi teorii ale patogenezei, esențiale în tratamentul ulcerului varicos, au ca element de bază inflamația, ca reacție biologică generală (27).

În insuficiența venoasă cronică permeabilitatea vasculară este modificată. Spațiul extravascular este invadat de hematii ce vor secreta hemosiderină, molecule protidice și complexe lipidice. Toți acești produși vor fi degradați. În concordanță cu legile biologiei resorbția produșilor degradați poate fi efectuată pe calea reacției inflamator celulară de fază acută (leucocitară) și cronică (macrofagică).

Este de presupus că principalul semnal al activării leucocitare este acumularea produșilor de descompunere sus menționați, mai degrabă decât hiperpresiunea care, în formele nonocluzive ale insuficienței venoase cronice nu poate fi cuantificată numeric.

Cauza primară a tulburărilor trofice constă în permanentizarea fazei acute celulare a reacției inflamatorii de apărare, datorată prezenței nontranzitorii a factorilor lezionali. Triada inflamatorie: vascular, celular, fază reparatorie, în corelații diferite se succede ciclic, în permanență, formând la nivelul ulcerăției un sistem neobișnuit care interferează cu procesele de vindecare, perturbându-le (27,28).

Contaminarea bacteriană și colonizarea leziunilor trofice apar negreșit, dar aceste procese prezintă un caracter secundar după alterarea funcției barierei tegumentare, cu apariția soluțiilor de continuitate la nivelul pielii. În același timp diferite procese au loc la nivelul ulcerăției, cum ar fi: exsudația seroasă sau sero-purulentă, formarea de depozite fibrino-necrotice, a țesutului de granulație, precum și apariția insulelor de epitelizare.

Din punct de vedere conceptual acest stadiu poate fi privit ca și un sistem închis marcat de o activitate pseudohaotică. Pentru a obține vindecarea, acest sistem care se autoreproduce trebuie întrerupt, transformând astfel ulcerele trofice într-o plagă care urmează liniar fazele succesive ale vindecării (28).

Concluzii

1. Boala varicoasă reprezintă un capitol de patologie frecvent întâlnit. Etiologia exactă și fiziopatologia afecțiunilor varicoase rămâne neclară.
2. Venele varicoase reprezintă o arhitectură mai dezorganizată decât venele sănătoase, având un număr crescut de fibre de collagen și o scădere a densității și dimensiunii fibrelor elastice.
3. Remodelarea anormală la nivelul venelor varicoase duce la alterări parietale venoase, care pot fi privite ca și cauză primară a varicelor.
4. Distensibilitatea anormală a venei varicoase pare a fi consecința deficienței de collagen de tip III. Scăderea collagenului III este cel care determină creșterea nivelului collagenului I la nivel parietal venos.
5. Alterarea extensivă a conținutului și activității unor metaloproteaze matriceale, care intervin în remodelarea matricei extracelulare, influențează proprietățile mecanice ale peretelui venos și predispune la progresia ulterioară a afecțiunii.
6. Mecanismele celulare ale apoptozei sunt derulate în varice, aceasta putând fi o eventuală cauză a varicelor primare.
7. Predispoziția genetică la boala varicoasă este susținută de prezența în număr crescut a cazurilor cu varice în familiile majorității pacienților. În acest context, este impetuos necesar a identifica anomaliile genetice responsabile de apariția acestei afecțiuni, cu stabilirea unui profil genic.

Bibliografie

1. IVAN V, IVAN C: *Varicele membrelor inferioare. Terapie chirurgicală*, Ed. Brumar, Timișoara, 2004.
2. KISTNER RL, EKLOF B: Classification and diagnostic evaluation of venous disease. In: GLOVICZKI P, YAO ST, eds. *Handbook of Venous Disorders. Guidelines of the American Venous Forum*. London. Arnold; 2001.
3. WEISS RA, FEIED CF, WEISS MA: *Vein Diagnosis & Treatment: A Comprehensive Approach*. 1st ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2001: 1-304.
4. TRETBAR LL: *Venous Disorders of the Legs*. 1st ed. New York, NY: Springer Publishing; 1998: 1-138.
5. WALI MA, DEWAN M, EID RA.: Histopathological changes in the wall of varicose veins. *Int Angiol*. 2003 Jun; 22 (2): 188-93.
6. AUNAPUU M, ARENDT A: Histopathological changes and expression of adhesion molecules and laminin in varicose veins. *Vasa*. 2005 Aug; 34 (3): 170-5.
7. KHAN A, REFAAT AE, HAMDI A: Structural changes in the tunica intima of varicose veins: a histopathological and ultrastructural study. *Pathology* 2000; 32: 253-257.
8. KIRSCH D, DIENES HP, KUCHLE R, DUSCHNER H, BOTTGER T, JUNGINGER T: Changes in the extracellular matrix of the vein wall: the causes of primary varicosis? *VASA* 2000; 29: 173-177.

9. SANSILVESTRI-MOREL P, RUPIN A, BADIER-COMMANDER C, Kern P, FABIANI J-N, VERBEUREN TJ, VANHOUTTE PM: Imbalance in the synthesis of collagen type I and collagen type III in smooth muscle cells derived from human varicose veins. *J Vasc Res* 2001; 38: 560-568.
10. SANSILVESTRI-MOREL P, RUPIN A, Jaisson S, FABIANI J-N, VERBEUREN TJ, VANHOUTTE PM: Synthesis of collagen is dysregulated in cultured fibroblasts derived from skin of subjects with varicose veins as it is in venous smooth muscle cells. *Circulation* 2002; 106: 479-483.
11. SANSILVESTRI-MOREL P, RUPIN A, BADIER-COMMANDER C, FABIANI J-N, VERBEUREN TJ: Chronic venous insufficiency: dysregulation of collagen synthesis. *Angiology* 2003; 54: S13-S18.
12. WOODSIDE KJ, HU M, BURKE A, MURAKAMI M, POUNDS LL, KILLEWICH LA, DALLER JA, HUNTER GC: Morphologic characteristics of varicose veins: possible role of metalloproteinases. *J Vasc Surg.* 2003 Jul; 38 (1): 162-9.
13. BUJAN J, JURADO F, GIMENO MJ, GARCIA-HONDUVILLA N, PASCUAL G, JIMENEZ J, BELLON JM: Changes in metalloproteinase (MMP1, MMP2) expression in the proximal region of the varicose saphenous vein wall in young subjects. *Phlebology* 2000; 15: 64-70.
14. SANSILVESTRI-MOREL P, RUPIN A, JULLIEN ND, LEMBREZ N, MESTRIES-DUBOIS P, FABIANI JN, VERBEUREN TJ.: Decreased production of collagen Type III in cultured smooth muscle cells from varicose vein patients is due to a degradation by MMPs: possible implication of MMP-3. *J Vasc Res.* 2005 Sep-Oct; 42 (5): 388-98.
15. GILLESPIE DL, PATEL A, FILETA B, CHANG A, BARNES S, FLAGG A, KIDWELL M, VILLAVICENZIO JL, RICH NM: Varicose veins possess greater quantities of MMP1 than normal veins and demonstrate regional variation in MMP1 and MMP13. *J Surg Res* 2002; 106: 233-238.
16. KOWALEWSKI R, SOBOLEWSKI K, WOLANSKA M, GACKO M: Matrix metalloproteinases in the vein wall. *Int Angiol* 2004; 23: 164-169.
17. BADIER-COMMANDER C, COUVELARD A, HENIN D, VERBEUREN T, MICHEL JB, JACOB MP. Smooth muscle cell modulation and cytokine overproduction in varicose veins. An in situ study. *J Pathol.* 2001 Mar; 193 (3): 398-407.
18. JACOB T, HINGORANI A, ASCHER E. Overexpression of transforming growth factor-beta1 correlates with increased synthesis of nitric oxide synthase in varicose veins. *J Vasc Surg.* 2005 Mar; 41 (3): 523-30.
19. DUCASSE E, GIANNAKAKIS K, CHEVALIER J, DASNOY D, PUPPINCK P, SPEZIALE F, FIORANI P, FARAGGIANA T. Dysregulated apoptosis in primary varicose veins. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2005 Mar; 29 (3): 316-23.
20. LIJNEN HR: Plasmin and Matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *Thromb Haemost* 2001; 86: 324-333.
21. CULLEN JP, NICHOLL SM, SAYEED S, SITZMANN JV, OKADA SS, CAHILL PA, REDMOND EM. Plasminogen activator inhibitor-1 deficiency enhances flow-induced smooth muscle cell migration. *Thromb Res.* 2004; 114 (1): 57-65.
22. VELLING T, RISTELI J, WENNERBERG K, MOSHER DF, JOHANSSON S: Polymerization of type I and III collagens is dependent on fibronectin and enhanced by integrins $\alpha_{11}\beta_1$ and $\alpha_2\beta_1$. *J Biol Chem* 2002; 277: 37377-37381.
23. BERTRAND-THIEBAULT C, FERRARI L, BOUTHERIN-FALSON O, KOCKX M, DESQUAND-BILLIALD S, FICHELLE JM, NOTTIN R, RENAUD JF, BATT AM, VISVIKIS S. Cytochromes P450 are differently expressed in normal and varicose human saphenous veins: linkage with varicosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2004 May-Jun; 31 (5-6): 295-301.

24. LEE S, LEE W, CHOE Y, KIM D, NA G, IM S, KIM J, KIM M, KIM J, CHO J. Gene expression profiles in varicose veins using complementary DNA microarray. *Dermatol Surg.* 2005 Apr; 31 (4): 391-5.
25. PISTORIUS MA: Chronic venous insufficiency: the genetic influence: *Angiology* 2003; 54: S5-S12.
26. KIM DI, EO HS, JOH JH.: Identification of differentially expressed genes in primary varicose veins. *J Surg Res.* 2005 Feb; 123 (2): 222-6.
27. PASCARELLA L, PENN A, SCHMID-SCHONBEIN GW. Venous hypertension and the inflammatory cascade: major manifestations and trigger mechanisms. *Angiology.* 2005 Sep-Oct; 56 Suppl 1: S3-10.
28. SHVAL'B PG, GRIAZNOV SV, SHVAL'B AP. Some aspects of the pathogenesis of trophic venous ulcers. *Angiol Sosud Khir.* 2005; 11 (1): 61-4.

New issues in varicose disease pathogeny

CLAUDIA GHERMAN, DIANA SĂCUI, LAURA PALCĂU

Summary

The varicose disease, a pathology chapter of permanent interest, represents a nosological evolutive entity. The damage of the venous wall, the valvular insufficiency or the deep venous thrombosis among the patient's pathological antecedents cause venous reflux, which at its turn generates venous hypertension, venous stasis and tissue hypoxia.

The disorganization of the smooth muscle cells and of the extracellular matrix components of the varicose vein is present. Other biological parameters, growth factors, apoptosis mechanisms seem to be involved in the pathogeny of the varicose disease. The inflammatory reactions play an essential role in the genesis of varicose ulcers.

The survey concludes the fact that the pathogenic mechanism of the varicose disease, the most common occurrence of chronic venous insufficiency, are still in debate. An important aspect resides in the study of the genetic factors involved in the onset of the varicose disease, intending to establish a true genetic profile of the varicose patient.

Keywords: varicose veins, parietal remodeling, collagen, genetic predisposition

INFECȚIA URINARĂ ȘI NEFROPATIA DE REFLUX LA COPIL

RODICA MANASIA

Catedra Pediatrie I , UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

Rezumat

Infecția urinară (IU) , relativ frecventă la copil, are o simptomatologie cu atât mai atipică, cu cât copilul este mai mic, fiind asociată adesea unei uropatii funcționale sau malformative, cum este refluxul vezico-ureteral (RVU) sau obstrucția pe căile urinare. Toate infecțiile urinare trebuie să fie investigate din punct de vedere imagistic (neinvaziv și invaziv). Prognosticul IU simple este excelent dar devine rezervat dacă este asociat unei uropatii. Dezvoltarea leziunilor pielonefritice poate să ducă la atrofie cicatricială a rinichiului. Prezența RVU intrarenal , legat de un tip particular de papile, este probabil responsabil de leziunile pielonefritice. Dacă IU este simplă se recomandă un tratament antiinfecțios de durată scurtă. Un tratament antiinfecțios profilactic se aplică când IU este recidivantă sau când este asociată RVU. Agravarea refluxului sub tratament profilactic , sau apariția leziunilor de pielonefrită reprezintă o indicație pentru corectarea chirurgicală a refluxului. Această indicație intră în discuție în caz de malformație urologică majoră. Fie că este medical sau chirurgical, tratamentul IU trebuie urmat de controale riguroase ale uroculturii, mai mulți ani.

Cuvinte cheie: infecție urinară, reflux vezico-ureteral, cicatrici renale, nefropatie de reflux, copil.

Introducere

Infecția urinară (IU) este una din îmbolnăvirile cele mai comune ale copilului. Simptomatologia sa variază, fiind cu atât mai atipică cu cât copilul este mai mic. Un diagnostic precoce este important deoarece IU comportă riscuri imediate, mai ales la nou-născut. Infecția urinară este adesea primul semn al unei uropatii subiacente (reflux, obstrucție) al cărui prognostic pe termen lung este uneori rezervat.

Scopul acestui articol de orientare este de a reaminti pe scurt, caracteristicile IU la copil și de a descrie condițiile în care IU, asociată unei uropatii, poate duce la distrucția parenchimului renal.

Definiția și frecvența IU la copil

Infecția urinară este definită prin prezența unei bacteriurii ≥ 100.000 germeni/ml, cel mai adesea asociată cu leucociturie $> 10.000/\text{ml}$. Anatomopatologic, IU este , în covârșitoarea majoritate, un proces inflamator de natură bacteriană, care interesează concomitent atât căile urinare cât și interstițiul, cu repercursiuni secundare asupra structurii și funcției nefronului.

Frecvența IU variază în funcție de vârstă, sex și loturile de studiu. Se apreciază că 3-5% din fete și 1% din băieți prezintă o IU. La nou-născut și sugar domină la sexul masculin, apoi la cel feminin (raportul global, sex feminin/sex masculin este de 1,4/1).(1, 2, 3, 4)

Tabloul clinic

Clinic, infecțiile urinare ale copiilor se caracterizează prin polimorfism simptomatic, cu atât mai pregnant cu cât copilul este mai mic. La nou-născut, tabloul clinic poate fi dramatic cu: deshidratare, oligurie, convulsii sau icter. Semnele digestive: vărsături, refuzul alimentației, pierderea în greutate – nu sunt rare.

La copilul mare, simptomele devin mai tipice pentru suferința aparatului urinar: disurie, enurezis, polakiurie, febră și dureri lombare.

Simptomele variază și în funcție de localizarea IU: joasă (cistită); înaltă (pielonefrită). Semnele clinice și biologice întâlnite în pielonefrită constau în : febră; frison; alterarea stării generale; dureri lombare și abdominale; rinichi măriți la palpare; creșterea fibrinogenului și a proteinei C reactive; polinucleoză; hemoculturi pozitive. Acestea nu se regăsesc într-o IU joasă. La nou-născut în particular, pielonefrita poate fi o manifestare locală a unei septicemii. (2, 5, 6, 7, 8)

Diagnosticul infecției urinare

Acesta impune următoarele etape:

1. **Confirmarea IU** prin examen bacteriologic și citologic al urinei (urocultură cu bacteriurie semnificativă; examen complet de urină; testul Addis; cu leucociturie patologică; testul de aglutinare pe lamă). Recoltarea urinei va trebui să se efectueze steril prin următoarele procedee: puncție vezicală suprapubiană; cateterism vezical; cu ajutorul colectoarelor sterile, aplicate în jurul organelor genitale; din mijlocul jetului urinar în flacoane sterile. Principalii germeni responsabili de IU la copil sunt: E. Coli, Proteus, streptococul D, Klebsiella, stafilococul, Pseudomonas aeruginosa. (1, 9, 10)
2. **Precizarea factorului favorizant al IU**, local sau general. Factorul local poate fi reprezentat de anomalii congenitale sau câștigate ale aparatului urinar care produc obstrucție, stază urinară și compromiterea drenajului urinar, cum sunt: refluxul vezico-ureteral; leziuni obstructive ale căilor urinare; anomalii congenitale renale; sexul feminin (uretra scurtă) ; leziuni de glomerulonefrită; sindrom nefrotic; existența de receptori uroepiteliali pentru fimbrii de tip II P ale unor bacterii Gram negative; cateterizarea ureterală; etc. Cauzele de ordin general sunt: diabetul zaharat, hipopotasemia, carența de vitamina A, disgamaglobulinemii, constipație cronică, etc. (11, 12, 13). Precizarea cauzei favorizante se bazează pe: ecografie reno-vezicală; cistografie micțională; radiografia abdominală simplă (“pe gol”); urografie intravenoasă; scintigrama izotopică; tomografia computerizată. Aceste investigații vor fi recomandate în toate situațiile clinice în care se suspectează malformații obstructive ale aparatului reno-urinar, reflux vezico-ureteral sau calculi pielo-caliceali. După 3 săptămâni de la sterilizarea urinei se recomandă cistografie micțională la copiii mai mici de 5 ani la primul episod de IU, pentru a exclude refluxul vezico-ureteral. Pentru fetele mai mari de 5 ani investigația se practică cu ocazia celui de-al doilea episod de IU. Orice IU recurentă corect tratată obligă la investigație urologică.
Un studiu multicentric foarte recent (8 centre din 7 țări europene) al cărui rezultat a fost publicat în ianuarie 2007 (14) a demonstrat că cistouretrografiile pot fi evitate la 1/3 din copii cu o primă IU febrilă pe baza dozării procalcitoninei. Dacă aceasta este crescută este un puternic factor predictiv pentru RVU și deci pentru cistografie. În caz contrar, cistografia nu este necesară. (12, 13, 14).
3. **Investigarea răsunetului** pe care îl are IU asupra rinichiului, respectiv precizarea dacă IU s-a localizat sau nu în parenchimul renal și modificările anatomo-funcționale generate, inclusiv căutarea cicatricilor renale.

Cicatricile renale apar tardiv, la 6 luni-1an după un episod de pielonefrită acută. Ecografia nu este foarte performantă (asimetria taliei rinichilor, atrofie corticală). De aceea se completează cu urografia intravenoasă sau numai cu scintigrafia cu

acidimercaptosuccinic (DMSA) care este mai sensibilă și tinde să o înlocuiască.(15, 16, 17)

Localizarea IU este uneori ușor de afirmat după simptomele menționate la tabloul clinic. La nou-născut și sugarul mic, toate IU trebuie considerate a priori ca o pielonefrită. Se impune investigarea funcțiilor glomerulare și tubulare.

Evoluția infecției urinare

a) **Infecția urinară simplă**, care nu se însoțește de nici o malformație a tractului urinar, are un prognostic excelent, cedează rapid sub tratament antiinfecțios de durată scurtă (10 zile) și nu evoluează niciodată spre pielonefrită cronică. Există riscul de recidive, de unde necesitatea repetării sistematice a uroculturii. (18)

b) **IU asociată cu uropatie obstructivă** are un prognostic mult mai rezervat. Distrucția cicatricială a rinichiului este determinată de influența conjugată a infecției și a presiunii retrograde care se dezvoltă în bazinet și calice și este accelerată de fenomenele ischemice care interesează papilele. În aceste cazuri se impune investigarea completă funcțională renală și urologică în vederea indicației operatorii.

Rezultatele corecției chirurgicale depind în particular de vârsta pacientului și de starea funcțională renală. De aceea, se impune depistarea uropatiei obstructive prin ecografie antenatală care permite luarea unor măsuri medicale și chirurgicale înainte de apariția infecției urinare (18, 19, 20). Rezultatele imediate după intervenția chirurgicală nu sunt întotdeauna favorabile. Unii pacienți se reinfectează cu toate că s-a restabilit o morfologie normală. De aceea este indicat ca toți pacienții operați să beneficieze de un tratament profilactic al IU pentru o perioadă de 6-12 luni. Rezultatele pe termen lung ale corectării chirurgicale depind de mai mulți factori, în particular de vârsta pacientului și de starea funcției renale la momentul intervenției. Corectarea precoce a stazei, când ea este posibilă, oferă cea mai bună garanție pentru succes. Corectarea tardivă, din contră este incapabilă de a opri procesul de distrucție pielonefritică prezent la momentul operației, atrofia progresivă a parenchimului producându-se chiar dacă urina se menține sterilă (22, 23).

c) **Refluxul vezico-ureteral (RVU)** este uropatia malformativă cea mai frecventă, întâlnit la 30-50% din cei cu IU. Acesta dispare în câteva săptămâni la 80% din pacienții tratați medicamentos. La cei la care persistă există riscul apariției cicatricilor renale și a nefropatiei de reflux.

Se clasifică în 5 grade după aspectul cistografic (fig. 1): grad I : reflux în ureterul pelvin; grad II: reflux uretero-pielo-caliceal fără dilatație; grad III : reflux uretero-pielo-caliceal însoțit de o dilatare moderată a ureterului; grad IV: dilatație globală uretero-pielo-caliceală dar papilele renale rămân bine definite; grad V: dilatație importantă, ureter sinuos, calice în măciucă (clasificarea Duckett - Bellinger). Refluxul intrarenal care reprezintă un factor de gravitate în plus, nu este inclus în această clasificare (23, 24, 25, 26)

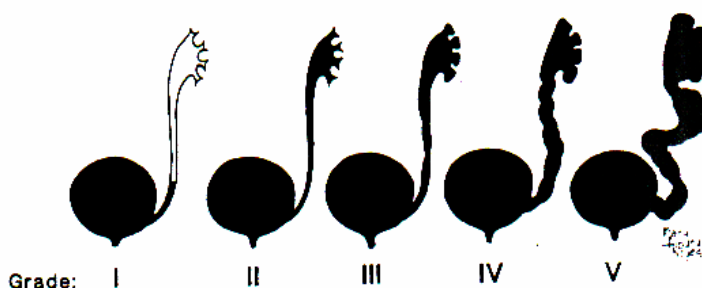


Fig. 1. Gradele de reflux vezico-ureteral.

Maturarea joncțiunii uretero-vezicale odată cu creșterea explică dispariția RVU la unii copii până la vârsta de 5 ani. De aceea, tratamentul medical profilactic al IU este singurul indicat la copilul mic dacă refluxul este de grad mic. În caz contrar se impune tratament chirurgical: reimplantarea ureterului în vezică pe cale endovezicală cu alungire traiectului ureterului în mucoasa vezicală (tehnica Cohen); nefroureterectomie subtotală sau totală și mai nou injectarea endoscopică a unui gel dextranomer (Deflux) combinat cu acid hialuronic sau injectarea endoscopică subureterală de calciu hidroxiapatită, tehnici miniinvasive. (27, 28, 29, 30)

Nefropatia de reflux

Majoritatea pacienților cu leziuni cicatriceale de pielonefrită cronică au reflux vezico-ureteral (90%). Cicatricile atrofiante apar , în general, înaintea vârstei de 6 ani și la formarea lor contribuie grade variate de fibroză și inflamație interstițială , atrofie tubulară, scleroză glomerulară segmentară și focală cu subțierea corticalei renale.

De aici rezultă importanța unui diagnostic precoce a IU și a unui tratament adecvat, medical sau chirurgical. (32, 33, 34)

Măsurile de prevenire a nefropatiei de reflux trebuie să includă :

- diagnosticul precoce la sugarii și copiii mici după primul episod de IU și cu diagnostic antenatal de hidronefroza;
- tratamentul eficient al IU;
- atitudine terapeutică diferențiată în funcție de gradul RVU;
- dispensarizare riguroasă a copiilor cu IU recidivante, cu sau fără RVU.

Concluzii

IU simplă la copil are un prognostic favorabil, în timp ce IU asociată cu uropatie are un prognostic mai rezervat. Toate IU trebuie investigate conform unui protocol care include: examenul clinic; ecografie de aparat urinar; cistografie; urografie i.v.; scintigrafie. RVU, congenital sau dobândit reprezintă uropatia cea mai frecventă putând fi cauză sau efect al IU, a cărei consecință severă este nefropatia de reflux și evoluția spre insuficiență renală cronică. Atitudinea terapeutică, fie medicală sau chirurgicală trebuie individualizată.

Bibliografie

1. ELDER JS.: Urinary tract infections in *Nelson Textbook of Pediatrics*; 16th Edition; W. B. Saunders Company, 2000, 1621-24.
2. GRIGORESCU SIDO P.: Infecția urinară în *Tratat elementar de pediatrie*, Editura Casa Cărții de Știință, Cluj-Napoca, 1995, 96-111.
3. HOBERMAN A., CHAO H.P., KELLER D.M. et al: Prevalence of urinary tract infection in febrile infant, *J.Pediatr.* 1993, 123: 17.
4. RUSHTON H.G.: Urinary tract infection in children. Epidemiology, evaluation and management. *Pediatr. Clin. North Nephrol.* 1997, 11: 108.
5. URSEA N.: *Esențialul în Nefrologie*, Ed. Fundației Române a Rinichiului, București, 2000.
6. KOFF S. A., WAGNER T.T., JAYANTI V.R.: The relationship among dysfunctional elimination syndroms, primary vesicoureteral reflux and urinary tract infections in children, *J. Urol.*, 1998, 160: 1019.
7. CHAUDRA M., MADDIX H.: Transient urodynamic dysfunction of infancy relationship to urinary tract infection at vesicoureteral reflux in *The Journal of Urology*, 1996.
8. ROBERTS J.A.: Factors predisposing to urinary tract infections in children, *Pediatr. Nephrol.* 1996, 10: 517.

9. BULUCEA D. , GEORMĂNEANU M.: *Manual de Pediatrie*, vol. II, Ed. Aius, Craiova, 1997.
10. SALINAS MADRIGAL L.: Complex pathology of obstructive nephropathy, *Dialogues Pediatr. Urol.* 1990, 13 (6): 2-3.
11. BORLEA L., NANULESCU M., ICHIM G. et al: Factorii de risc pentru cicatrici renale la copilul cu reflux vezico-ureteral, *Rev. Rom. de Pediatrie*, vol. LI, nr.1 , 2002: 51-53.
12. STEFANIDIS CJ, SIOMOU E: Imaging strategies for vesicoureteral reflux diagnosis. *Pediatr Nephrol* 2007; 64-75.
13. SUPAVEKIN S, KUCIVILIZE K, HUNNANSKUL S et al: The relation of vesicoureteral reflux and renal scarring in childhood urinary tract infection; *J Med Assoc Thai* 2006; 89: 541-7.
14. LEROY S, ROMANELLO C, SALETTO-LACOUR A, SMOLKIN V. et al: Procalcitonina to reduce the number of unnecessary cystographies in children with a urinary tract infection: A Europlan Validation Study. *J Pediatr* 2007; 150 (1): 89-95.
15. DACHER J.N., PFISTER C., MONROC M. et al: Power Doppler sonographic pattern of acute pyelonephritis in children: Comparison with CT. *AJR* 1996, 166: 1451.
16. DITCHFIELD M.R., de CAMPO J.F., NOLAN Th. et al: Risk factors in the development of early renal cortical defect in children with urinary tract infection. *AJR* 1994, 162: 1393.
17. VERNON S.J., COULTHARD M.G., LAMBERT H.J. et al: New renal scarring in children who at age 3 and 4 years had normal scans with dimercaptosuccinic acid: Follow up study. *Br. Med. J.*, 1997, 315: 905.
18. WELCH T.R. et al: Recurrent urinary tract infection in girls : Group with lower tract findings and a benign course. *Arch. DIS Child* 1996; 71: 114-119.
19. ELDER J.S.: Commentary: Importance of antenatal diagnosis of vesicoureteral reflux, *J. Urol.* 1992, 148: 1750.
20. NONY P.A., SCHNELLMAN R.G.: Mechanisms of renal cell repair and regeneration after acute renal failure, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* , 2003, 304 (3):905-12.
21. MEVORACH A.R.: Obstructed Megaureter , *Medicine Last Updated* , 2002.
22. GOLDIN AB, SAWIN R, SEIDEL KD, FLUM DR: Do antireflux operations decrease the rate of reflux-related hospitalizations in children? *Pediatrics* 2006; 118 (6): 2326-33.
23. VACHVANICHSANONS P, DISSANEEWATE P, LIM A, GEATER A: Outcome of conservative treatment of primary vesicoureteral reflux in 87 Thai children in a single center. *Int J Urol* 2006, 13 (11): 1393-7.
24. HEMAL A.K., ANSARI M.S., DODDAMANI D. et al: Symptomatic and complicated adult and adolescent primary obstructive megaureter – indications for surgery, *Urology*, 2003, 61: 703.
25. CONNOLY L.P., TREVES S.T., CONNOLY S. A. et al: Vesicoureteral reflux in children: incidence and severity in children; *J.Urol.* 1997, 157: 2287.
26. DITCHFIELD M.R. de CAMPO J.F., COOK D.J. et al: Vesicoureteral reflux: An accurate predictor of acute pyelonephritis in childhood urinary tract infection, *Radiology* 1994, 190: 413.
27. ELDER J.S., PETERS CA, ARANT BS Jr, et al: Pediatric vesicoureteral reflux guidelines panel summary report on the management of primary vesicoureteral reflux in children. *J. Urol.* 1997, 157:1846.
28. RICHARD N YU, ROTH D. R.: Treatment of vesicoureteral reflux using endoscopic injection of nonanimal stabilized hyaluronic acid/dextranomer gel: initial experience in pediatric patients by a single surgeon: *Pediatrics* vol. 118, 2006, 698-703.

29. ERYILDIRIM B, TARHAN F, KUYUMCOUSLU U et al: Endoscopic subureteral infection treatment with calcium hidroxyapatite in primary vesicoureteral reflux. *Int Urol Nephrol*. 2006; 524-9.
30. JUNG C, DeMarco RT, LOWRANCE WT et al: Subureteral injection of dextranomer hyaluronic acid copolymer for persistent vesicoureteral reflux following ureteroneocystostomy. *J Urol* 2007; 177 (1): 312-5.
31. HSIEH MH, SWANA HS, BASKIN LS, MENS MV: Cost-utility anasysis of treatment algorithms for maderate grade vesicoureteral reflux using Maarkov models. *J Urol* 2007; 177 (2): 703-9.
32. HIRAOKA M., HORI C., TSUKAHARA H., et al: Congenitaly small kidneys with reflux as a common cause of nephropathy in boys. *Kidney Int*. 1997, 52: 811.
33. NOE HN: The long term results of prospective sibling reflux screening. *J. Urol*. 1992, 148: 1733.
34. COMAN I., STANCA D.V., MIU N., BIZO A.: *Infecțiile de tract urinar la copil*, Ed. Med. Universitară „Iuliu Hațieganu” Cluj – Napoca, 2003, 85-123.

The urinary tract infection and the reflux nephropathy in children

RODICA MANASIA

Summary

Urinary tract infection (UTI) is relatively frequent in children. The symptoms are often atypical; the more so, the younger the child. The UTI is often associated with functional or malformative uropathy, such as vesico-ureteral reflux or obstruction. Radiological investigation should be carried out in every child presenting with his first UTI. The prognosis of uncomplicated UTI is very good, but is less favorable when UTI is associated with urological abnormalities. Development of pielonephritic lesions can lead to kidney scarring for which the occurrence of intrarenal reflux associated with a specific type of pappila, is probably responsible. Short-term treatment is recommended for uncomplicated UTI. Uncomplicated UTI with frequent relapses or UTI associated with vesico-ureteral reflux requires prophylactic chemotherapy. Worsening of reflux and/or development of pielonephritic lesions while on prophylactic treatment are an indication for surgical intervention. Surgery is always indicated in the presence of a major urological malformation. Be it medical or surgical, treatment of UTI should always be followed by regular urine cultures for several years.

Keywords: urinary tract infection, vesico-ureteral reflux, pielonephritic lesions, child.

PSIHODIAGNOSTICUL CLINIC POST ACCIDENT VASCULAR CEREBRAL PRIN INTERMEDIUL BATERIEI DE TESTE PSIHOLOGICE DE APTITUDINI COGNITIVE

D.I. POP

Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu-Hațieganu”, Cluj-Napoca

Rezumat

Articolul de față își propune să aducă argumente în favoarea efectuării unui psihodiagnostic complet asupra pacienților cu accident vascular cerebral, insistând asupra performanțelor cognitive ale acestora. Psihodiagnosticul este ramura psihologiei clinice ce se ocupă cu aplicarea testelor specifice în vederea evaluării aspectelor psihice normale și patologice. Lucrarea prezintă succint bateria de teste psihologice de aptitudini cognitive (BTPAC), o modernă și complexă modalitate de testare, indicând motivele pentru care considerăm această opțiune menită să contribuie la reabilitarea pacienților cu accident vascular cerebral (AVC).

Cuvinte cheie: *accident vascular cerebral, cogniție, evaluare.*

Introducere

Actualitatea și utilitatea cercetărilor centrate asupra accidentului vascular cerebral (AVC) sunt pe deplin justificate din mai multe rațiuni, cum ar fi frecvența ridicată, severitatea simptomelor, dizabilitățile post AVC etc. AVC este a treia cauză de deces și morbiditate în majoritatea țărilor industrializate și una dintre principalele cauze de dizabilitate neurologică. Fapt și mai îngrijorător, în ultimele două decenii, se constată creșterea incidenței AVC la populația tânără (1). Acest grup de bolnavi atrage în mod special atenția cercetătorilor, din cauza consecințelor dramatice ale afecțiunii. Comparativ cu pacienții cu AVC de vârstă înaintată, problematica pacienților tineri cu AVC este mult mai complexă, având în vedere status-rolul acestora. În intervalul de vârstă cuprins între 40-50 ani, productivitatea persoanei este maximă în condiții normale. Statistic, 10-15% dintre pacienți prezintă dizabilități permanente în urma unui accident vascular cerebral (2). Acest aspect ridică problema reinserției profesionale a acestor pacienți, cu atât mai mult, cu cât avem de-a face cu persoane care susțin economic atât ascendenții (părinți), cât și descendenții (copii). Reinserția profesională poate viza vechea profesie sau, în cazul anumitor dizabilități, reorientarea profesională. În acest sens, metaanalize efectuate la mijlocul anilor '90 arată că aptitudinile cognitive sunt principalul predictor asupra performanței de lucru, precum și în eficiența instruirii profesionale. BTPAC conține în baza sa de date peste 450 de profile ocupaționale (PO) din Catalogul Ocupațiilor din România (COR), facilitând astfel rezolvarea eficientă a reinserției socio-profesionale.

Efectuarea psihodiagnosticului clinic la pacienții cu accident vascular cerebral.

Având în vedere cele relevate mai sus, examenul clinic neurologic post AVC este extrem de important. În cadrul examenului clinic post AVC, un rol important îl are

psihodiagnosticul. Prin intermediul psihodiagnosticului clinic, mai precis a testelor utilizate, obținem o imagine de ansamblu în legătură cu aspectele psihologice, atât normale, cât și patologice ale pacientului (2). Testul psihologic înseamnă proba care implică o sarcină identică de executat pentru toți subiecții examinați și care dispune de tehnici precise pentru aprecierea succesului sau eșecului și/sau pentru notarea numerică a reușitei. (3) Astfel, testele psihologice efectuate în vederea evaluării post AVC pot fi grupate în două mari categorii, descrise mai jos.

În primul rând, este vorba despre testele de personalitate, care vor releva modificările caracteriale și comportamentale survenite în urma unui AVC, cunoscut fiind faptul că efectele secundare ale acestuia implică modificarea anumitor trăsături de personalitate, relaționare și de sistem emoțional. Alături de observație și interviu – inerente oricărei abordări psiho-clinice, testele de personalitate pot fi : a. obiective - cu ajutorul cărora se urmărește cunoașterea directă a comportamentului subiectului, a diferitelor lui reacții perceptibile; b. subiective - în care subiectul, pentru a fi cunoscut, este pus să vorbească despre sine ; în prezent, psihologii consimt că anumite fațete ale personalității pot fi investigate și evaluate cu ajutorul anamnezei, chestionarelor și a scalelor de apreciere; c. teste proiective de personalitate sau metode proiective - sunt constituite din totalitatea tehnicilor prin care subiectului i se solicită răspunsuri față de stimuli nestructurați, pe care acesta va tinde să-i interpreteze prin prisma propriilor trăsături de personalitate (4);

A doua categorie, testele de performanță, evaluează preponderent aptitudinile cognitive ale pacienților, punând în evidență tipul și gradul afectării funcțiilor cognitive superioare în urma unui AVC. Argumentarea utilității efectuării unor astfel de teste este susținută de concluziile unui mare număr de lucrări de specialitate. Este cunoscut faptul că există corelații între topografia leziunilor relevate prin rezonanța magnetică nucleară craniană și diminuarea specifică a anumitor funcții cognitive (5). Această asumție este întărită de cercetări ce arată că alături de problemele medicale specifice, accidentul vascular cerebral are o influență negativă asupra psihicului, atât în ceea ce privește consecințele afectiv-emoționale, cât și cele cognitive. Într-un studiu efectuat pe pacienți la 6 luni după AVC, s-a constatat că 80 % aveau modificări psihologice. Dintre aceștia, 51 % prezentau tulburări emoționale, în timp ce 73% prezentau tulburări cognitive. Așa cum putem observa din acest studiu, $\frac{3}{4}$ dintre pacienți prezintă tulburări cognitive recunoscute ca atare, la 6 luni după AVC, moment în care recuperarea lor se află în plin proces (6).

Testele de performanță sunt extrem de numeroase, de la simple metode de evaluare – metoda Vierregge, metoda Bernstein – și până la scale și teste complexe – Wechsler. La ora actuală, nu există o metodologie unitară de selecționare și de efectuare a bateriilor de teste psihologice la pacienții cu AVC. Testele psihologice, atât neuropsihologice, cât și cognitive, utilizate în studiile din ultimul deceniu sunt: MMSE (Mini-Mental State Examination), CAMCOG, CLCE-24, DSST (Digit Symbol-Substitution Test), 3MS (Modified Mini-Mental State Examination), HADS (Hospital Anxiety and Depression Scale) (7, 8). În acest context, o baterie de teste cu coeficienți de validitate și fidelitate ridicați este BTPAC.

În practica clinică neurologică, cel mai utilizat test este MMSE (Mini Mental State Examination). Acest test se corelează pozitiv și semnificativ cu testele aptitudinale cognitive, printre care și BTPAC (9). În urma AVC, 57,7 % dintre pacienți prezintă cel puțin un deficit cognitiv – verbal, spațial, mnezic, inferențial etc (10). Problema rezidă, însă, din faptul că evaluarea exclusivă prin intermediul MMSE, efectuată în marea majoritate a secțiilor de neurologie, eșuează în diagnosticarea a 30 % dintre pacienții cu deficite cognitive post AVC, deficite relevate și cuantificate de teste de aptitudini cognitive, cum este BTPAC (10). Așadar, alături de evaluarea performanțelor aptitudinale brute, orientarea și reconversia profesională, evaluarea aptitudinală specifică unui domeniu de activitate, BTPAC își poate dovedi utilitatea în evaluarea clinică a pacienților după AVC.

Aptitudinile cognitive evaluate cu ajutorul bateriei de teste psihologice de aptitudini cognitive

Bateria de teste psihologice de aptitudini cognitive (BTPAC) cuprinde 23 de teste și măsoară aptitudinile cognitive, adică principalele capacități endogene de prelucrare a informației. Despre aceste capacități endogene de prelucrare a informației putem afirma că sunt stabile în timp și slab contaminate de cunoștințe, în cazul persoanelor sănătoase din punct de vedere fizico-psihic. În cazul pacienților cu AVC, se constată posibilitatea îmbunătățirii performanțelor cognitive, în special în primele 6 luni. Desigur, măsura acestei îmbunătățiri este specifică aptitudinii cognitive vizate și implică o serie de variabile, de la cele medicale – neurologice și fiziologice, până la cele psiho-sociale. Testele prin care se evaluează fiecare aptitudine în parte, împreună cu o succintă descriere a fiecărui test prezentate în continuare (9). Menționăm că s-a omis descrierea testelor de Abilități Funcționarești și de Capacitate Decizională, acestea neregăsindu-se în scopul și problematica acestui articol.

1. Abilitatea generală de învățare - abilitatea generală de învățare este o aptitudine extrem de complexă care vizează asimilarea, organizarea și operarea cu noi cunoștințe și conține: **A. Testul de Raționament Analitic** – evaluează capacitatea subiectului de a obține informații noi din combinarea celor deja existente. **B. Testul de Transfer Analogic** - evaluează acele procese care ne oferă posibilitatea rezolvării de noi probleme pe baza similitudinii cu probleme deja rezolvate. **C. Testul de Flexibilitate a Categorizării** - evaluează capacitatea de a schimba rapid criteriul de categorizare și de a grupa obiectele pe baza noului criteriu. **D. Testul de Inhibiție Cognitivă și Memorie de Scurtă Durată** - evaluează capacitatea de a ignora fluxurile informaționale nerelevante în raport cu sarcina de rezolvat, precum și retenția, pentru un scurt timp, a informațiilor în memorie. **E. Testul de Memorie de Lucru** - evaluează capacitatea sistemului cognitiv de a stoca pe o durată scurtă de timp informații relevante din punct de vedere al sarcinii și de a opera în paralel cu aceste informații. **F. Testul de Interferență Cognitivă** - evaluează capacitatea de a rezista la intruziunile altor fluxuri informaționale decât cel relevant pentru sarcină. **G. Testul de Atenție Concentrată** - evaluează capacitatea de concentrare a atenției prin sarcini de amorsaj negativ.

2. Aptitudinea Verbală - abilitățile verbale rezultă din capacitatea subiectului de a înțelege sensul cuvintelor (lexicul), de a combina unitățile lexicale pe baza unor reguli gramaticale (sintaxă) și de a înțelege textele, prin efectuarea de inferențe adecvate. Se compune din următoarele teste: **A. Vocabular** – test ce evaluează capacitatea de a opera cu sensul cuvintelor, pentru a stabili gradul de apropiere semantică. **B. Sintaxa** - evaluează abilitatea de a construi propoziții și fraze. **C. Înțelegerea Textelor** - evaluează capacitatea de a deriva sensul adecvat al unui text citit și de a face inferențe pe baza textului.

3. Aptitudinea Numerică - aptitudinea numerică este o rezultantă a calculului și raționamentului matematic. Deși apropiate, cele două procese – de calcul numeric și de raționament – sunt componente distincte. Testele pe care această aptitudine le cuprinde sunt următoarele: **A. Calcul Matematic** - evaluează capacitatea de a realiza rapid și corect calcule matematice simple utilizând cele patru operații aritmetice: adunare, scădere, înmulțire, împărțire. **B. Raționament Matematic** - evaluează capacitatea de a face raționamente pe baza unor șiruri numerice.

4. Aptitudinea Spațială - aptitudinea spațială este capacitatea de a genera, reține și transforma imagini vizuale abstracte. Ea are trei fațete, relevate de cele trei teste care o compun: **A. Imagini Mintale** – transformări: testul evaluează capacitatea unei persoane de a transforma reprezentările imagistice, în particular prin rotire. **B. Orientare Spațială**: evaluează capacitatea unei persoane de a analiza un câmp de stimuli dintr-o perspectivă dată și de a oferi informații despre acel câmp, pornind de la o nouă perspectivă cerută. **C. Generare de Imagini**: evaluează capacitatea unei persoane de a reține mintal o serie de imagini și apoi de a le combina (11).

5. Aptitudinea de Percepție a Formei - abilitățile de percepție a formei integrează trei tipuri de operații, standardizate de următoarele teste: **A. Constanța Formei** - evaluează abilitatea de percepere a constanței formei obiectelor. **B. Perceperea Detaliilor** - evaluează abilitatea de percepere a detaliilor din materialele grafice și obiecte. **C. Analiza Perceptuală Complexă** - evaluează abilitatea de discriminare figură-fond.

6. Rapiditatea în Reacții - cuantifică rapiditatea reacțiilor motorii voluntare, ca și răspuns la un stimul dat. Cuprinde următoarele teste: **A. Timp de reacție simplu** - măsoară rapiditatea reacției motorii la apariția unui stimul. **B. Timp de reacție în alegeri** - măsoară rapiditatea alegerii între două situații-stimul. **C. Timp de reacție în accesarea memoriei** - măsoară rapiditatea reactualizării unei informații din memorie.

Articolul de față și-a propus să argumenteze utilitatea efectuării psihodiagnosticului clinic la pacienții cu AVC, sugerând și instrumentul de lucru adecvat analizei funcțiilor, respectiv aptitudinilor cognitive ale acestora. Dacă majoritatea testelor existente pe piață, în special pe cea din România, prezintă un decalaj de cel puțin 20 de ani, față de cercetările din domeniu, BTPAC reușește să aducă instrumentele de măsurare la nivelul teoriilor actuale. Complexitatea bateriei de teste permite alcătuirea unui tablou psiho-cognitiv coerent a pacientului, o excelentă bază, în vederea intervenției psihoterapeutice, ce are ca finalitate reinsertia socio-profesională a acestuia. Baza de date ce conține profilele ocupaționale (PO) conform COR constituie un argument în plus, în vederea utilizării acestei baterii de teste la pacienții cu AVC.

Bibliografie

1. BARNES M., DOBKIN B., BOGOUSSLAWSKY J.: Recovery after stroke, Cambridge University Press, Cambridge, 2005, 1-46.
2. ZLATE M., MITROFAN N.: Psihologia la Raspântia Mileniilor – Psihometria și direcțiile ei de dezvoltare la început de mileniu, Editura Polirom, Iași, 2001, 63 – 74.
3. BURKE, M. J.: Validity generalization. A review and critique of the correlation model, *Personnel Psychology*, 1984, 37, 93-115.
4. DAFINOIU I. : Personalitatea – Metode calitative de abordare, Editura Polirom, Iași, 2002, 87 – 90.
5. MOSLEY T.H., KNOPMAN D.S., CATELLIER D.J. ȘI COL.: Cerebral MRI findings and cognitive functioning, *Neurology*, 2005, 64, 2056-2062.
6. RASQUIN S.M., VAN HEUGTEN C.M., WINKENS L. ȘI COL.: Checklist for the detection of cognitive and emotional consequences after stroke, *Tijdschr Gerontol Geriatr*, 2006, 37, 112-116.
7. SACKLEY C.M., HOPPITT T.J., CARDOSO K.: An investigation into the utility of the Stroke Aphasic Depression Questionnaire (SADQ) in care home settings, *Clinical Rehabilitation*, 2006, 20, 598-602.
8. ELKINS J.S., LONGSTRETH W.T., MANOLIO T.A.: Education and the cognitive decline associated with MRI-defined Brain infarct, *Neurology*, 2006, 67, 435 – 440.
9. MICLEA M. DOMUȚA ANCA ȘI COL.: Bateria de teste psihologice de aptitudini cognitive – Manual de utilizare, Editura ASCR, Cluj-Napoca, 2003, 3-12.
10. FURE B, BRUUN WYLLER T, ENGEDAL K SI COL.: Cognitive impairments in acute lacunar stroke, *Acta Neural Scand*, 2006, 114, 17-22.
11. LINN M.C., PETERSON A.C.: Emergence and characterization of sex differences in spatial abilities – a meta analysis, *Child Development*, 1991, 56, 1479-1498.

The clinical post-stroke psychodiagnosis by BTPAC evaluation

D.I. POP

Summary

The article's purpose was to reveal the medical arguments for an in depth clinical psychodiagnosis - the branch of clinical psychology that emphasizes the use of psychological tests and techniques for assessing both, the normality and the psychological dysfunction – to the patients with stroke, pointing on cognitive performances. Then, we made a brief presentation of BTPAC, a modern and complex cognitive test, showing the reasons for what we consider it our option to reach the rehabilitation goals.

Key words: stroke, cognition, evaluation.

EARLY COURSE OF COGNITIVE DYSFUNCTIONS DURING ALCOHOL CESSATION IN CHRONIC ALCOHOLIC PATIENTS

**IOANA CRĂCIUN², IOANA MICLUȚIA¹, RODICA MACREA¹,
CODRUȚA POPESCU²**

¹University of Medicine & Pharmacy Cluj-Napoca, Department of Psychiatry

²Second Psychiatric Clinic Cluj-Napoca

Background

It is well known that chronic alcoholism affects cognitive functions and various hypotheses about the brain areas involved have been advanced. Many authors agree upon the specificity of the cognitive function related the frontal lobe call them “executive functions” (1, 2).

Heavy alcohol consumption is associated with global neurophysiological change, including cortical atrophy, hypometabolic activity, reduced cerebral blood flow and altered neurotransmitter activity (reduced glutamate and enhanced GABA) (3). Although changes are diffuse, the prefrontal and temporal regions appear especially impacted (4). Acute effects of moderate drinking include impaired immediate learning and subsequent retrieval of information learned while intoxicated. On occasion, acute heavy consumption produce blackout (5). Alcohol abuse is associated with a clear and consistent pattern of general cognitive deficits, which resolved to some extent with protracted abstinence. Frequent consumption of large quantities of alcohol rather than lifetime consumption poses the highest risk for cognitive deficits (6).

Objective

1. Assessment of cognitive functions (verbal memory, concentration, psychomotor speed and executive functions) after 10 days for date of last alcohol use.
2. Level's course of cognitive functions after 6 weeks of abstinence.

Material and Methods

Thirty-two patients (13 males and 19 females) with Alcohol Dependence and thirty healthy control subjects participated in the study. Patients were diagnosed according to the ICD-10 and DSM-IV-TR criteria. Patients were recruited from Second Psychiatric Clinic – Cluj Napoca. A clinical semi structured interview was used to obtain the participant's age, years of education, medical history, duration and date of last of alcohol use. The Michigan Alcoholism Screening Test (MAST) was administrated. Exclusion criteria for all subjects was psychiatrically (other than alcohol use disorder – for patients), neurological and medical diseases that could affect cognitive functioning. The two groups were matched for age, sex, and number of years of education. Patients had an average of years of education by 11,4 and an average of years of alcohol abuse by 15,06.

Cognitive performances were assessed by administering Ray Auditory Verbal Learning Test (RAVLT), Trail making Test A (TMA) and Trail making Test B (TMB). Tests were administered at 10 days after date of last alcohol use and at 5-6 weeks after date of last alcohol use for following course of cognitive functions. Frontal and parietal neurocognitive functions were assessed using Trail Making Test A and B (7). The test is thought to require executive control, specifically flexibility of thinking and a greater demand of working memory. Rey Auditory Verbal Learning Test (8) is a test for episodic memory which relies on semantic memory because well-known words are used.

Results

Statistics for performance on cognitive test revealed significant difference between the patients and the control subjects.

At baseline, difference versus controls was found in the score for TMA ($F=32.56$, $p<0.001$). An improvement of TMA score was recorded at patients, after 6 weeks abstinence (paired t test=2.2, $p<0.05$). In spite of this fact, TMA scores of patients were less than controls ($F=76.82$, $p<0.001$) (fig.1).

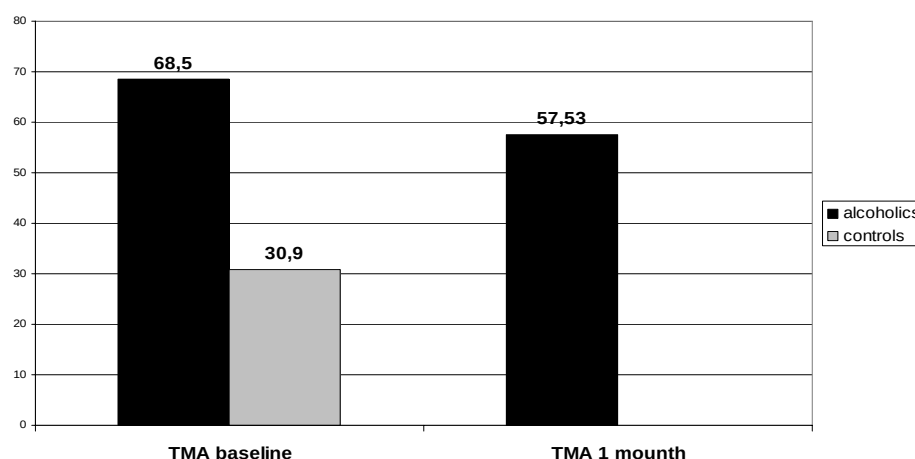


Fig. 1 Comparative evolution of attentional task

At baseline, the TMB score is significantly less in patients than in control subjects ($F=73.37$, $p<0.001$). After 6 weeks of sobriety, there could be recorded an increase of TMB scores in patients (paired t test=2.32, $p<0.05$). But, that improvement didn't rise the TMB scores of controls ($F=52.83$, $p<0.001$).

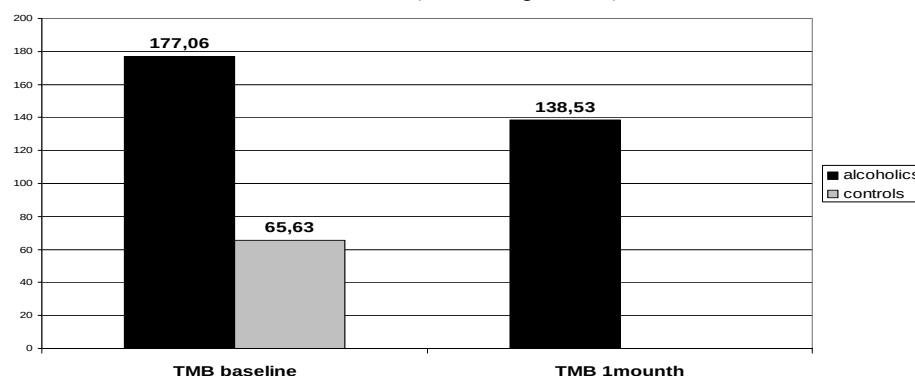


Fig. 2 Evolution of the visual motor processing

The verbal memory, evaluated by RAVLT, recorded a similar range and dynamics over time. In the patients with chronic alcoholism, verbal memory was worse than control subjects. RAVLT scores of patients, at baseline, was significant less than RAVLT score of controls ($F=79.024$, $p<0.001$). The comparison in alcoholics group regarding RAVLT scores at 10 days and 6 weeks after the date of last alcohol use revealed significant improvement between two dates (paired t test= 2.79 , $p<0.05$). The RAVLT scores in patients after 6 weeks of sobriety is still less than controls ($F=76.93$, $p<0.001$).

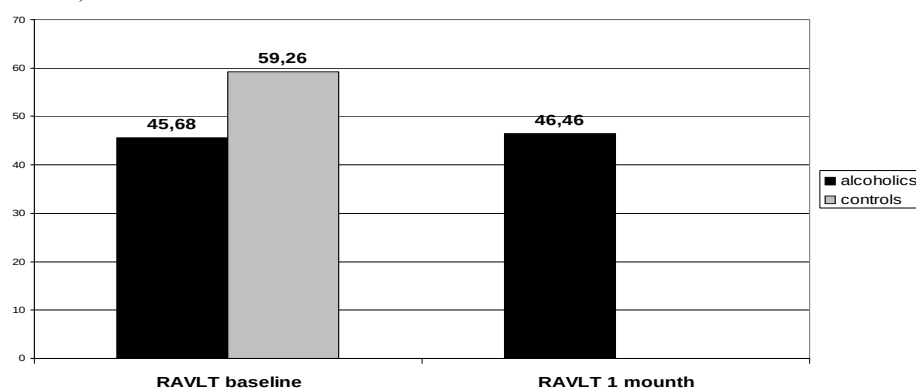


Fig. 3 The dynamics of memory tasks

Discussion

Our study showed alcoholics to be impaired in every cognitive functions assessed, results that other previous studies have demonstrated. Patients performed significantly worse than controls in the trail making and Rey Auditory Verbal tests. Patients of this study have had over 15 years to abusive alcohol use and this fact influenced negative the results. The 6 weeks of abstinence improved the cognitive functions but scores of the neurocognitive tests remained still less than controls. There are many studies that showed recovery of cognitive abilities was evidenced during the initial weeks of abstinence and continues for many month (even years), albeit at a slower rate (9, 3, 4). Rodgers's study (10) has considered that is non-linear relationships between cognitive function and alcohol consumption and abstainers have poor cognitive function that light drinkers. Other studies (5, 11) showed that detoxified alcoholics exhibit relatively intact verbal and general intellectual abilities, but impaired non verbal abilities. During the first 2 to 4 weeks of abstinence, verbal skill and general intellectual functioning among alcoholic appear minimally impact compared with nonalcoholic controls (6, 11). In general, over a period of several weeks, individuals with impaired in cognition demonstrated considerable recovery, particularly verbal learning (4).

Conclusion

Heavy alcohol consumption is associated with impaired in cognitive functions.

Patients with alcohol dependence at 10 days of abstinence have poorer cognitive functions than nonalcoholic controls.

Improvements of cognitive functions are evidence during the initial weeks of abstinence, but after 6 weeks patients didn't still raise the cognitive abilities of non alcoholics.

References

1. SHALLICE T.: From neuropsychology to mental structure. Cambridge: Cambridge University Press, 1988. In: Ratti MT, Giardini A, Soranga D et al.: Chronic alcoholism and the frontal lobe: which executive functions are impaired?, 2002, *Acta Neurol Scand*, 105: 276-281.
2. BADDELEY A.: Working memory. Oxford: Oxford University Press, 1986. In: Ratti MT, Giardini A, Soranga D et al.: Chronic alcoholism and the frontal lobe: which executive functions are impaired?, 2002, *Acta Neurol Scand*, 105: 276-281.
3. VIK P. W., CELLUCCI T., JARCHOW A. et al.: Cognitive impairment in substance abuse, 2004, *Psychiatr Clin N Am*, 27, 97-109.
4. BATES ME, BOWDEN SC, BARRY D.: Neurocognitive impairment associated with alcohol use disorders: implication for treatment, 2002, *Exp Clin Psychopharmacol*, 10: 193-212.
5. KUHN C, SWARTZWELDER S, WILSON W.: Buzzed: the straight facts about the most used and abused drugs from alcohol to ecstasy. New York: WW Norton and Company; 1998. In: Vik P. W., Cellucci T., Jarchow A. et al.: Cognitive impairment in substance abuse, 2004, *Psychiatr Clin N Am*, 27, 97-109.
6. FALS-STEWART W., SCHAFER J., LUCENT S. et al.: Neurobehavioral consequences of prolonged alcohol and substance abuse: a review of findings and treatment implications, 1994, *Clin Psychol Rev*, 14: 775-88.
7. REITAN RM, WOLFSON D (1985) The Halstead-Reitan Neuropsychological Test Battery. Tucson, AZ, Neuropsychology Press.
8. SPREEN O, STRAUSS E. (1991). *A compendium of neuropsychological tests*. New York: Oxford University Press;.
9. PETERSON M.A., PETERSON B., PILLMAN B.M. et al.: Cognitive recovery following alcohol detoxification: A computerised remediation study, *Neuropsychological Rehabilitation*, 2002, 12 (1), 63-64.
10. RODGERS B, WINNDSOR TD, ANSTEY KJ et al.: Non-linear relationships between cognitive function and alcohol consumption in young, middle-age and older adults: the PATH Through Life Project, 2002, *Addiction*, 100: 1280-1290.
11. ROURKE SB, LOBERG T.: The neurobehavioral correlates of alcoholism. In: Grant I, Adams KM, editors. Neuropsychological assessment of neuropsychiatric disorders. 2nd edition. New York: Guilford; 1998.p. 423-85. In: Vik P. W., Cellucci T., Jarchow A. et al.: Cognitive impairment in substance abuse, 2004, *Psychiatr Clin N Am*, 27, 97-109.

Evoluția pe termen scurt a tulburărilor cognitive la pacienții cu dependență cronică alcoolică

**IOANA CRĂCIUN, IOANA MICLUȚIA, RODICA MACREA,
CODRUȚA POPESCU**

Introducere: Consumul masiv de alcool are o influență negativă asupra funcțiilor cognitive. Diferite ipoteze avansează ideea recuperării lor (parțiale) chiar din primele săptămâni de abținere.

Obiective: Evaluarea funcțiilor cognitive (memorie verbală, viteză psihomotorie și funcție executivă la 10 zile și la 6 săptămâni de la ultimul consum de alcool.

Material și metode: Loturile sunt compuse din: 32 subiecți dependenți de alcool, și 30 de subiecți sănătoși corespunzători ca vârstă, statut social și educațional. S-au aplicat următoarele scale: MAST (sceening pentru alcoolism), proba Rey (memorie), trail making (atenție, funcție executivă) în două momente (la 10 zile și la 6 săptămâni de la ultimul consum de alcool).

Rezultate: La zece zile de la consumul de alcool, alcoolicii prezintă rezultate semnificativ mai slabe decât lotul de control la toate probele cognitive. La șase săptămâni, rezultatele la probele cognitive se îmbunătățesc, fără însă a le atinge pe cele ale lotului de control.

Concluzii: Consumul abuziv de alcool este asociat cu deteriorarea funcțiilor cognitive. Abstința îmbunătățește într-o oarecare măsură funcțiile cognitive.

Cuvinte cheie: consum de alcool, funcția cognitivă, memorie.

REAȚIA HIPERTENSIVĂ ORTOSTATICĂ LA O POPULAȚIE DE PACIENTI HIPERTENSIVI DIN AMBULATOR

R.A.TRÎMBIȚAȘ¹, N.OLINIC²

¹Centrul Medical „Dr. Luca”, Pitești

²Clinica Medicală I, Medicină Internă și Cardiologie, UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj Napoca

Rezumat

Fundament: Reacția hipertensivă ortostatică (RHO) reprezintă creșterea cu cel puțin 10 mmHg a tensiunii arteriale (TA) sistolice după trecerea de la clino- la ortostatism. Spre deosebire de hipotensiunea arterială ortostatică (hO), RHO este un fenomen puțin studiat, de curând intrat în atenția lumii medicale.

Obiective: 1. Stabilirea prevalenței RHO într-o populație de hipertensivi din ambulatoriu; 2. precizarea profilului clinic, electrocardiografic, ecocardiografic și ultrasonografic carotidian al pacienților hipertensivi cu RHO.

Material: Din 1000 hipertensivi cu valori semnificativ crescute ale TA în clinostatism (TA sistolică ≥ 160 mmHg sau/și TA diastolică ≥ 100 mmHg) luați inițial în observație, au rămas în urmărire până la final 707 pacienți.

Metodă: TA s-a măsurat la ambele brațe în clinostatism și în ortostatism, atât imediat după ridicarea completă în picioare, cât și la 3 minute ulterior. Tuturor pacienților li s-a efectuat ECG, ecocardiografie, ultrasonografie carotidiană. Studiul este observațional, descriptiv, de tip transversal.

Rezultate: Prevalența RHO în populația luată în observație a fost surprinzător de mare (21.64%), mai ales comparativ cu prevalența hO (12.6%). Aproximativ jumătate din pacienții cu RHO au avut în antecedente cel puțin un episod documentat de sindrom coronarian acut (SCA)(49%) sau de accident vascular cerebral (AVC)(56.9%). La mai mult de jumătate din pacienți s-a constatat hipertrofie ventriculară stângă (HVS) pe ECG (62.7%) sau creșterea peste 0.8 mm a grosimii intimă-medie (GIM) carotidiene (58.8%). La aproape trei sferturi dintre pacienți (72.5%), s-a evidențiat ecocardiografic HVS; la peste jumătate din situații HVS este asimetrică, mai exprimată septal.

Concluzii: La pacienții hipertensivi cu valori moderat sau sever crescute ale TA în clinostatism: 1. RHO este un fenomen cel puțin la fel de frecvent ca și hO, cu condiția să fie căutată sistematic; 2. RHO se asociază cu o proporție înaltă de evenimente acute aterotrombotice în istoric și de indicii ale afectării organelor-țintă.

Cuvinte cheie: hipertensiune arterială, ortostatism, evenimente acute aterotrombotice.

Introducere

Spre deosebire de hO, hipertensiunea ortostatică (HO) este abia de curând intrată în atenția lumii medicale. Definirea ei este variabilă, în funcție de autor. Importanța depistării acestui fenomen are la bază corelația dovedită cu atingerea

organelor-țintă (HVS pe ECG, leziuni ischemice cerebrale la rezonanța magnetică nucleară, boală coronariană)^{1,2} și cu evenimentele acute coronariene², în cazul reacției hipertensive ortostatice (RHO) la hipertensivi deja diagnosticați.

Studiul de față este observațional, descriptiv, de tip transversal. El urmărește prevalența RHO într-o populație de pacienți hipertensivi în ambulator; se încearcă de asemenea caracterizarea eșantionului de hipertensivi cu RHO.

Material

Studiul s-a desfășurat într-un ambulator de cardiologie, în perioada noiembrie 2002 - noiembrie 2004. Numărul pacienților luați inițial în observație a fost 1000. Doar 707 subiecți au rămas pînă la final în studiu (prezentându-se la control și la explorările ultrasonografice).

Criteriile de includere în studiu au fost: 1) vîrsta cuprinsă între 40 și 70 de ani; 2) antecedente familiale de HTA prezente; 3) creatininemie ≤ 1.2 mg/dL; 4) valori semnificativ crescute ale TA în clinostatism: TA sistolică ≥ 160 mmHg sau/și TA diastolică ≥ 100 mmHg (cu alte cuvinte, pacienți încadrați în stadiul II de HTA, conform clasificării JNC VII). S-au luat în studiu numai pacienții cu probabilitate mare de HTA primară (esențială), evitîndu-se subiecții cu suspiciune de HTA secundară. S-au luat în considerare numai pacienții cu valori semnificativ crescute ale TA în condiții standard, în decubit dorsal.

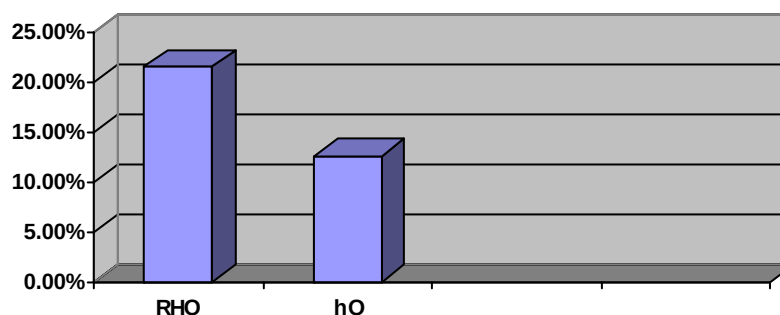
Metodă

RHO a fost definită ca o creștere cu cel puțin 10 mmHg a TA sistolice la trecerea din clinostatism în ortostatism. TA s-a măsurat la ambele brațe în clinostatism, ulterior la ambele brațe în ortostatism, imediat după ridicarea completă în picioare și la aproximativ 3 minute după aceea (timp în care pacientul a fost rugat să rămînă în stațiune bipedă, fără a-și schimba poziția). Măsurarea TA în ortostatism s-a făcut cu brațele atîrnînd firesc pe lîngă corp, în poziție normală, evitînd efortul izometric de menținere a lor într-o altă poziție, mai ales cea orizontală. S-a luat în considerare cea mai mare variație de presiune arterială constatată între dreapta și stînga. La toți pacienții descoperiți a avea RHO, s-a efectuat un minim „test de efort”, reprezentat de efectuarea a 10 genuflexiuni, urmat de o nouă măsurare a TA bilateral, de asemenea în ortostatism. S-a definit „reacția hipertensivă la efort” (RHE) ca fiind o creștere suplimentară a TA sistolice cu cel puțin 50 mmHg.

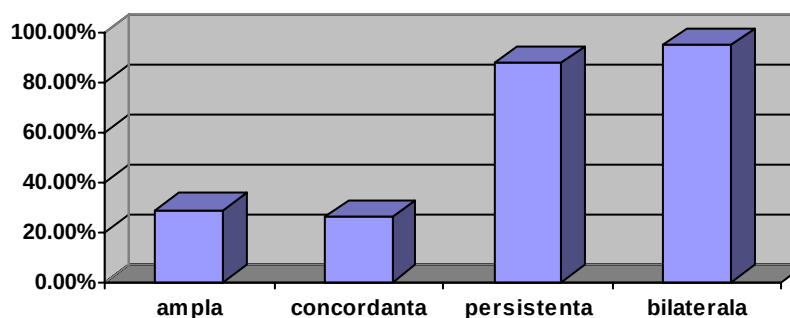
La toți pacienții luați în observație, au fost disponibile electrocardiograma în 12 derivații, glicemia, colesterolemia, creatininemia, ecografia cardiacă și ecografia vasculară carotidiană. Explorările ultrasonografice s-au realizat cu echipament Agilent Sonos 4500.

Rezultate

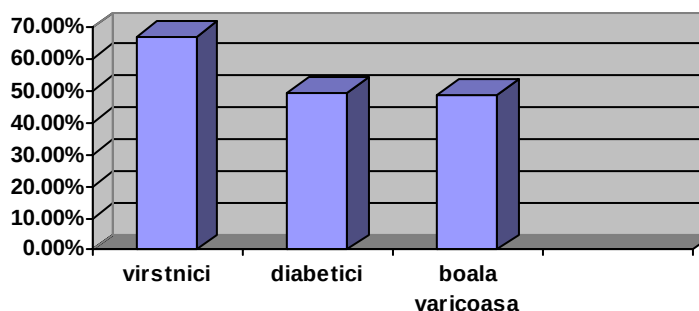
Prevalența RHO în populația luată în observație a fost de 21.64% (din cei 707 pacienți rămași în observație, 153 au prezentat la prima vizită RHO). Prevalența hipotensiunii ortostatice (hO) în populația luată în observație a fost de 12.6% (din cei 707 pacienți rămași în observație, 89 au prezentat la prima vizită hO).



Dintre cei 153 pacienți cu RHO la prima vizită: 67.3% (103) au avut vîrsta peste 60 de ani; 53.6% (82) au fost bărbați; 49% (75) omiseseră tratamentul în ziua respectivă, iar 26.8% (41) se aflau sub tratament respectat inclusiv în ziua consultației, dar ineficient. RHO “amplă” (definită ca o creștere cu cel puțin 20 mmHg a TA sistolice la trecerea din clino în ortostatism) a apărut la 28.75% (44) dintre pacienți; 26% (40 pacienți) au avut RHO “concordantă” (în același timp cu TA sistolică, a crescut și TA diastolică cu cel puțin 10 mmHg); RHO “persistentă” și la 3 minute s-a constatat la 87.6% (134) dintre pacienți; 94.8% (145) dintre pacienți au avut RHO prezentă la ambele brațe iar 51% (78 pacienți) au prezentat în plus RHE.

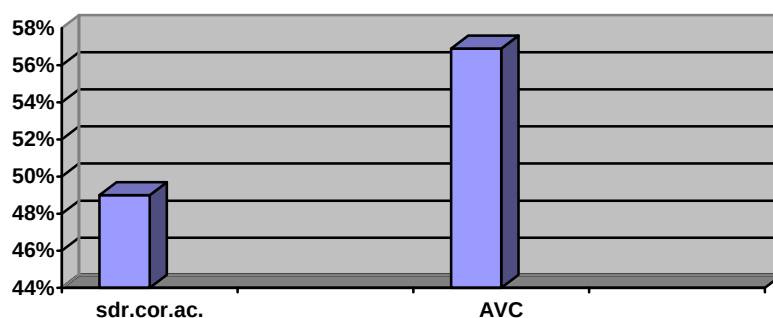


Diabetul a fost prezent la 49.67% (76) pacienți; 49% (75) dintre pacienți au prezentat boală varicoasă a membrilor inferioare, iar 37.2% (57 pacienți) au prezentat în același timp diabet zaharat și boală varicoasă a membrilor inferioare. La 32.7% (50) dintre pacienți, RHO a fost însoțită pe tot parcursul său de amețeli intense; practic toți acești pacienți se aflau în categoria de vîrstă peste 60 de ani.



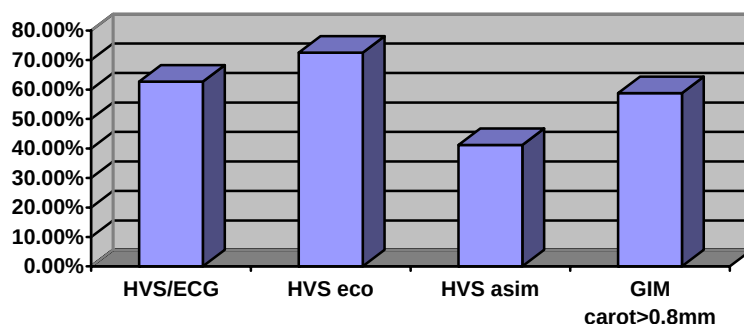
La 51% (78) dintre pacienți, în istoricul recent a existat angină pectorală de efort tipică, iar 49% (75) dintre pacienți au avut în antecedente cel puțin un episod de sindrom coronarian acut, documentat prin bilet de externare din spital. Accidentul

vascular cerebral documentat prin bilet de externare din spital a fost prezent în istoricul a 56.9% (87) dintre pacienți.



HVS electrocardiografic a fost constatată la 62.7% (96) pacienți. La 72.5% (111) pacienți HVS a fost diagnosticată ecocardiografic; dintre aceștia, 56.75% (63 pacienți) (reprezentând 41.17% din totalul subiecților cu RHO) au prezentat HVS asimetrică, mai exprimată septal, cu un sept interventricular de cel puțin 1.3 ori mai gros decât peretele posterior al ventriculului stâng, cu flux bifazic (incisură protosistolică) în calea de ejecție a VS (dar fără mișcare sistolică anterioară a cuspei anterioare a valvei mitrale), cu disfuncție diastolică (tip relaxare alterată sau pseudonormalizare).

O grosime intimă-medie carotidiană (măsurată la nivelul carotidei comune, la nivelul peretelui posterior („far wall”), la aproximativ 20 mm caudal de bifurcație) de peste 0.8 mm a fost observată la 58.8% (90) pacienți.



După aproximativ 6 luni de tratament corect respectat (în majoritatea cazurilor constând în diuretic tiazidic, betablocant înalt cardioselectiv cu timp lung de înjumătățire și inhibitor al enzimei de conversie a angiotensinei cu timp lung de înjumătățire) 79% (121 pacienți) au prezentat atenuarea netă, până la dispariție, a RHO.

Discuții

Încă nu există o definiție unanim acceptată a fenomenului pe care l-am luat în discuție³. În prezentul studiu am folosit noțiunea de reacție hipertensivă ortostatică (RHO), desemnând un răspuns la adoptarea poziției bipede, ce poate fi prezent atât la normotensivi cât și la hipertensivi. Literatura descrie cazuri de normotensiune de fond, cu apariția ascensiunilor presionale doar în ortostatism^{4,5,6,7,8,9}. Am preferat însă studierea RHO numai la hipertensivii deja diagnosticați, deoarece este un fapt clinic bine delimitat, ce poate avea semnificație agravantă. Am preferat evitarea noțiunii de hipertensiune ortostatică (HO), care implică prin semantica sa ideea de permanență a creșterii tensionale pe tot parcursul păstrării ortostatismului.

Am luat în considerare o creștere a TA sistolice cu cel puțin 10 mmHg. Această definiție este cea mai operativă pentru practica clinică. În primul rând, o creștere cu cel puțin 10 mmHg exclude posibilitatea unor erori de măsurare, chiar și în condițiile din ambulatoriu. În al doilea rând, deoarece TA sistolică nu trebuie să crească la adoptarea ortostatismului, am apreciat ca inutilă o variație mai mare (de exemplu 20 mmHg). Protocolul anumitor studii¹ și analogia cu definiția hO sugerează, totuși, o astfel de magnitudine a creșterii. Mai mult, singura revizuire a fenomenului de HO, publicată de Fessel și Robertson în 2006³, propune ca definiție creșterea valorilor TA sistolice cu minim 20 mmHg. Cercetarea de față a avut însă loc în perioada 2002-2004.

Nu am inclus în definiția RHO referiri la TA diastolică deoarece există multe neclarități în această privință. În mod fiziologic, se poate înregistra o ușoară creștere a TA diastolice (mai puțin de 5 mmHg), la adoptarea poziției ortostatice³. Există autori care definesc HO drept orice creștere a TA diastolice, de la valori sub 90 mmHg, la valori peste 90 mmHg^{10,11}. În cercetarea noastră, am considerat semnificativă creșterea TA diastolice doar atunci când ea a depășit 10 mmHg și când a însoțit creșterea de cel puțin 10 mmHg a TA sistolice, necesară definiției RHO. În acest caz, RHO a fost denumită „concordantă”.

Prevalența HO în literatura consultată variază între 10% și 12.8 %^{3,10,11}. Pacienții selecționați în studiile precedente aparțin însă unor categorii extrem de heterogene. Prevalența RHO găsită în cadrul acestui studiu observațional, de 21.64% (într-o populație de adulți cu HTA primară cel puțin moderată), este probabil cea mai mare raportată pînă acum. Rezultatul este surprinzător și necesită confirmare. S-ar putea argumenta că variația mai mică luată în calcul (de doar 10 mmHg) a determinat o creștere a sensibilității definiției și o prevalență fals crescută a fenomenului. Însă principalele date de prevalență provin tocmai din studiile care au folosit cele mai laxe definiții: trecerea TA peste pragul de 140 mmHg pentru cea sistolică și peste cel de 90 mmHg pentru cea diastolică^{10,11}.

Prevalența hO, de 12.6 %, este asemănătoare celei raportate pînă acum în majoritatea lucrărilor.

Deoarece la majoritatea subiecților cu RHO (87.6%) acest fenomen persistă cel puțin 3 minute și la jumătate dintre subiecți (51%) apare suplimentar așa numita RHE, se ridică întrebări cu privire la scopurile terapiei corecte a HTA. Experiența acestui studiu arată că sînt necesare câteva luni pentru a obține dispariția RHO și a RHE. Dacă aceste obiective nu sunt avute în vedere, pacientul rămîne la risc: studiile recente au arătat că variabilitatea diurnă excesivă a valorilor TA este asociată cu afectarea mai frecventă a organelor-țintă și cu o probabilitate crescută de evenimente cardio- și cerebrovasculare¹². Hipertensivul este de regulă o persoană activă, care se află în ortostatism pe parcursul zilei, care își schimbă adesea poziția și depune eforturi fizice. Reacțiile de creștere disproporționată a TA în situațiile enumerate trebuie urmărite cu aceeași atenție ca și valorile din repaus, atunci cînd se apreciază eficiența unui tratament antihipertensiv.

Faptul că aproape jumătate (49.67%) din pacienții cu RHO au fost diabetici este în concordanță cu datele din literatură¹¹. Se speculează că HO ar putea fi o altă formă de manifestare a neuropatiei autonome diabetice, pe lângă hO. Prevalența crescută (67.3%) a RHO în rîndul persoanelor vîrstnice (peste 60 de ani) este o constatare de asemenea concordantă cu datele din literatură¹³. La vîrstnici, există o creștere dovedită a rigidității pereților arteriali, inclusiv la nivelul arterelor carotide, arie în care se află cei mai importanți baroreceptori, a căror funcționalitate este, în aceste condiții, evident perturbată. Un fenomen asemănător se produce la diabetici, chiar înaintea vîrstei de 60 de ani.

Mai greu explicabil este faptul că există procente importante de pacienți cu RHO care nu sunt vîrstnici și care nu au diabet zaharat. Este unul din principalele domenii de investigat în viitor.

Constatarea că aproape jumătate din pacienții cu RHO au prezentat boală varicoasă a membrelor inferioare este concordantă cu rapoartele precedente^{3,10}. Un mecanism propus pentru HO este exacerbarea baroreflexelor, ca urmare a cantonării gravitaționale excesive a sîngelui în pachetele varicoase ale membrelor inferioare.

Semnificația prevalenței înalte a anginei pectorale de efort tipice în istoricul recent (51%) și a istoricului documentat de sindrom coronarian acut (49%), la pacienții cu RHO, este de discutat. Nu avem nici un fel de date despre prezența reală a aterosclerozei coronariene semnificative hemodinamic la acești pacienți (care ar trebui investigată coronarografic). Este posibil ca un plus de ateroscleroză coronariană la subiecții cu RHO să explice această constatare. Frecvența crescută a îngroșării de intimă-medie carotidiană la pacienții cu RHO poate fi un indicator indirect de ateroscleroză coronariană semnificativă.

Cu privire la prevalența înaltă (56.9%) a antecedentelor documentate de AVC, se știe că există o asocieră între boala cerebrovasculară silențioasă (certificată imagistic prin rezonanță magnetică nucleară) și RHO la hipertensivii vârstnici, de peste 60 de ani, non-diabetici¹. Dar anomaliile TA la trecerea în ortostatism pot fi la fel de bine o consecință, și nu o cauză, a modificărilor cerebrale: este cunoscut faptul că în cazul infarctelor cerebrale silențioase poate fi perturbată activitatea centrilor vegetativi din etajele superioare, care au rol coordonator inclusiv asupra baroreflexelor.

Nu este surprinzător faptul că 72.5% din pacienții cu RHO au prezentat HVS ecocardiografic, atîta vreme cît majoritatea au fost cu valori moderate/severe de HTA și în același timp vârstnici și/sau diabetici. Neobișnuită este prevalența mare a hipertrofiei asimetrice septale. Studiile efectuate în ultimii 30 de ani indică HVS concentrică drept cea mai frecventă formă de remodelare miocardică la hipertensivi; în numai 6-18% din cazuri se poate observa hipertrofia asimetrică septală. În lotul luat în studiu, 63 (adică 56.75%) din cei 111 pacienți cu RHO și cu HVS ecocardiografic, respectiv 41% din totalul pacienților cu RHO, au prezentat acest tip de hipertrofie. Mai mult, incizura protosistolice din anelopa fluxului în tractul de ejeție al VS sugerează un grad de obstrucție dinamică la acest nivel (insuficient însă pentru a determina mișcare sistolică anterioară a cuspei anterioare a valvei mitrale). Este dificil de precizat dacă acest profil ecocardiografic e determinat de prezența RHO.

Frecvența însemnată (58.8%) a unei grosimi de intimă-medie carotidiană de peste 0.8 mm este un indicator de prezență subclinică a aterosclerozei, la pacienții cu RHO. Este de interes studierea grosimii intimă-medie în diferite segmente carotidiene și urmărirea prospectivă a apariției evenimentelor acute aterotrombotice, comparativ, la hipertensivi cu și fără RHO. Există dovezi că cea mai rapidă rigidizare arterială se petrece la nivelul porțiunii proximale a bulbului carotidei interne (adică exact unde este sediul baroreceptorilor)¹⁴.

Departă de a fi o constatare anecdotică, RHO este frecvent întâlnită atunci cînd este căutată sistematic. Datele prezentate și poate cercetări viitoare vor stabili importanța alocării cîtorva minute suplimentare, într-o consultație, pentru a măsura TA măcar de patru ori (bilateral în clinostatism și bilateral în ortostatism). Principalele întrebări care așteaptă un răspuns sînt: 1) este RHO un criteriu de luat în seamă cînd se apreciază eficiența tratamentului antihipertensiv? 2) este RHO un factor de risc independent pentru evenimente acute cardio- și/sau cerebrovasculare? Dacă se vor obține răspunsuri afirmative, o manoperă simplă din examenul clinic va deveni un instrument puternic de evaluare a pacientului hipertensiv.

Concluzii

1) Reacția hipertensivă ortostatică este un fenomen puțin avut în vedere, cu toate că este prezent într-o proporție mai mare (21.64%) decît hipotensiunea arterială ortostatică (12.6%), la hipertensivii cu valori moderate/severe.

2) Principalele categorii de hipertensivi cu reacție hipertensivă ortostatică sunt vîrstnicii de peste 60 de ani, diabeticii și subiecții cu boală varicoasă a membrelor inferioare.

3) Pacienții hipertensivi cu reacție hipertensivă ortostatică supraadăugată au, în istoric, o frecvență ridicată de evenimente acute aterotrombotice (sindrom coronarian acut, accident vascular cerebral) și prezintă frecvent factori majori de risc pentru astfel de evenimente în viitor (hipertrofie ventriculară stîngă ecocardiografic, creștere a grosimii de intimă-medie carotidiană).

Bibliografie

1. KARIO K, EGUCHI K, HOSHIDE S, HOSHIDE Y, UMEDA Y, MITSUHASHI T, SHIMADA K: U-curve relationship between orthostatic blood pressure change and silent cerebrovascular disease in elderly hypertensives; orthostatic hypertension as a new cardiovascular risk factor. *Journal of the American College of Cardiology* 2002; 40 (1) : 133-141
2. NARDO CJ, CHAMBLESS LE, LIGHT KC: Descriptive epidemiology of blood pressure response to change in body position: the ARIC study. *Hypertension* 1999; 33: 1123-1129
3. FESSEL J, ROBERTSON D: Orthostatic Hypertension: when pressor reflexes overcompensate. *Nat Clin Pract Nephrol* 2006; 2(8): 424-431
4. SAPRU RP, SLEIGHT P, ANAND IS, SAMBHI MP, LOPEZ R, CHHUTTANI PN: Orthostatic hypertension. *Am J Med* 1979; 66(1): 177-182
5. TAKADA Y, SHIMIZU H, KAZATANI Y, AZECHI H, HIWADA K, KOKUBO T: Orthostatic hypertension with nephroptosis and aortitis disease. *Arch Intern Med* 1984; 144:152-154
6. FOMMEI E, PALLA L, GAZETTI P, COCCI F, GUZZARDI R, GHIONE S: Arterial blood pressure and the rennin-angiotensin-aldosterone system during postural changes in hypertensive patients with unilateral renal mobility. *Nephron*. 1985; 40(1): 104-107
7. TSUKAMATO Y, KOMURO Y, AKUTSU F, FUJI K, MARUMO F, KUSANO S, KIKAWADA R: Orthostatic hypertension due to coexistence of renal fibromuscular dysplasia and nephroptosis. *Jpn Circ J* 1988; 52: 1408-1414
8. ARAKI K, UEDA Y, KONO I, OOKAWARA T, KASHIMA K: A case of neurogenic orthostatic hypertension. *Jpn J Med* 1991; 30:446-451
9. BENOWITZ NL, ZEVIN S, CARLSEN S, WRIGHT J, SCHAMBELAN M, CHEITLIN M: Orthostatic hypertension due to vascular adrenergic hypersensitivity. *Hypertension* 1996; 28: 42-46
10. STREETEN DHP, AUCHINCLOSS JH JR., ANDERSON GH, RICHARDSON RL, THOMAS FD, MILLER JW: Orthostatic Hypertension. Pathogenic study. *Hypertension* 1985; 7:196-203
11. YOSHINARI M, WAKISAKA M, NAKAMURA U, YOSHIOKA M, UCHIZONO Y, IWASE M: Orthostatic hypertension in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 1783-1786
12. KAPLAN NM, FLYNN JT: Kaplan's Clinical Hypertension, 9th Edition. Lippincott Williams Wilkins 2006. 1-49
13. KARIO K, EGUCHI K, NAKAGAWA Y, MOTAI K, SHIMADA K: Relationship between extreme-dippers and orthostatic hypertension in elderly hypertensive patients. *Hypertension* 1998; 31: 77-82
14. VAN MERODE T, BRANDS PJ, HOEKS AP, RENEMAN RS: Faster ageing of the carotid artery bifurcation in borderline hypertensive subjects. *J Hypertens* 1993; 11: 171-176

The orthostatic hypertensive reaction in a hypertensive population from ambulatory

R.A. TRÎMBIȚAȘ, N. OLINIC

Summary

The orthostatic hypertensive reaction is defined as the increase with at least 10 mmHg in the systolic blood pressure when changing the posture from decubitus to orthostatism. Unlike orthostatic hypotension, it is a less studied phenomenon, only recently taken into account. The aim of this study was to establish the prevalence of the orthostatic hypertensive reaction in a hypertensive population from ambulatory and to emphasise some clinical, electrocardiographic, echocardiographic and carotid ultrasonographic features of these patients. A number of 1000 hypertensives with systolic blood pressures ≥ 160 mmHg and/or diastolic blood pressures ≥ 100 mmHg were initially considered; only 707 remained in the follow-up. The blood pressure was measured bilaterally in dorsal decubitus, then immediately after standing and after 3 minutes of orthostatism. An electrocardiogram, an echocardiography and a carotid ultrasonography were undertaken in all the 707 patients. This study is an observational, descriptive and cross-sectional one.

The prevalence of the orthostatic hypertensive reaction in the studied population was an unexpected high one (21.46%), especially comparing to the prevalence of the orthostatic hypotension (12.6%). Aproximatively a half of the subjects had an acute coronary syndrome (49%) or stroke (56.9%) in their history. Left ventricular hypertrophy was encountered in 62.7% on the electrocardiogram and in 72.5% on the echocardiogram; more than a half of the patients with ultrasonographic left ventricular hypertrophy had an asymmetric septal hypertrophy. An increased (more than 0.8 mm) carotid intima media thickness was observed in 58.8% of the patients with orthostatic hypertensive reaction. We can conclude that in patients with moderate or severe primary hypertension the orthostatic hypertensive reaction is at least as frequent as the orthostatic hypotension; the phenomenon is associated with a high rate of acute atherothrombotic events in the clinical history and a high prevalence of markers of target organ damage.

Key words: hypertension, orthostatism, acute atherothrombotic events.

ACOUPHENES INVALIDANTS PAR CONFLIT NEURO-VASCULAIRE

V. BUZA¹, N. GUEVARA², B. LAFFONT³, A. DEVEZE³ J. MAGNAN³

¹Service d'ORL et Chirurgie Cervico-faciale, CHU, Cluj-Napoca, Romania

²Service d'ORL et Chirurgie Cervico-faciale, CHU Pasteur, Nice, France

³Service d'ORL et Chirurgie Cervico-faciale, CHU Nord, Marseille, France

Mots clés : Acouphènes invalidants, voie rétro-sigmoïde, l'endoscopie de l'angle ponto-cérébelleux, nerf cochléo- vestibulaire, décompression neuro-vasculaire .

Résumé

Introduction : La réalité des conflits neuro- vasculaires dans l'angle ponto-cérébelleux s'est imposée ces dernières années au vue des résultats de la chirurgie de décompression des nerfs crâniens responsables du spasme de l'hémiface ou de la névralgie faciale. Le nerf auditif, aussi, n'échappe pas à cette pathologie. Cependant, le syndrome de compression du nerf cochléaire par une boucle vasculaire reste actuellement controversé.

Matériel et Méthode. Nous avons évalué les résultats d'une chirurgie de décompression neuro-vasculaire du nerf cochléaire effectuée, par voie rétro-sigmoïde 'a minima' et endoscopie. Les critères de sélection chez 15 patients ont été : acouphènes unilatéraux invalidants associés à des potentiels évoqués auditifs (P.E.A) de type rétro cochléaire et à une boucle vasculaire visualisée sur l'imagerie par résonance magnétique (I.R.M).

Résultats : Une compression vasculaire a été retrouvée chez tous les patients au cours de l'intervention. Nous avons obtenu : 53,3% d'amélioration des acouphènes avec 20% de disparition complète. Les résultats pré et post-opératoires de l'audiométrie, V.N.G. et des P.E.A. sont discutés. Les complications sont réduites à un patient présentant des troubles régressifs de la déglutition.

Conclusion : En présence d'un acouphène invalidant altérant l'activité socioprofessionnelle des patients, un conflit neuro- vasculaire doit être recherché. Son traitement par décompression et isolation du nerf peut-être résolutif du symptôme fonctionnel.

Introduction

Suggérée par Dandy en 1934(1), proposée par Gardner dans les années 60 (2), puis largement développée par Jannetta (3), la notion de conflits neuro-vasculaire dans l'angle ponto - cérébelleux est maintenant confirmée par l'imagerie en Résonance Magnétique et les résultats de la chirurgie de décompression neuro-vasculaire. Ainsi la décompression du nerf trijumeau pour la névralgie faciale, et celle du nerf facial pour le spasme de l'hémiface permettent de guérir le patient dans respectivement 94% et 87% des cas (4 ; 5). Cependant, cette même chirurgie de décompression micro-vasculaire du

nerf cochléaire pour acouphènes invalidants reste discutée et discutable. Ceci pour plusieurs raisons :

Tout d'abord plusieurs pathologies peuvent entraîner un acouphène. Il existe donc une difficulté dans la sélection des patients pouvant bénéficier d'une chirurgie de décompression. Ensuite l'acouphène est un syndrome subjectif dont l'intégration centrale reste incomplètement connue. Ainsi, le syndrome de compression du VIII entraînant un acouphène isolé et invalidant demeure une hypothèse jugée par certains comme trop 'nébuleuse' (6).

Le pourcentages de succès d'une chirurgie de décompression du VIII entre 40% et 60% (7 ; 8 ; 9), rapportés dans la littérature ne constitue pas un taux suffisant pour être convaincant.

Le but de notre travail a été de sélectionner un groupe homogène de patients souffrant d'acouphènes invalidants pouvant appartenir à une étiologie neuro-vasculaire et d'en étudier les résultats de la chirurgie de décompression vasculaire du nerf cochléaire.

Matériel et Méthode

Cette étude rétrospective a été réalisée sur une série de patients traités chirurgicalement par décompression vasculaire à l'hôpital Nord à Marseille, durant la période 1994-2001.

Tous ces patients ont été opérés par un opérateur, habitué à la chirurgie de l'angle ponto-cerebelleux.

La série comporte 15 patients (8 femmes et 7 hommes) dont l'âge moyen était de 57 ans, avec des extrêmes allant de 37 à 71 ans. La durée moyenne d'évolution de l'acouphène au moment de la chirurgie était de 3,2 ans (1-8 ans). La durée du suivi post-opératoire a été comprise entre 1 an et 7 ans (moyenne de 3,5ans)

Critères de sélection des patients.

Afin d'avoir une série homogène de patients, trois critères essentiels ont été retenus avant de proposer la chirurgie :

- L'acouphène devait être unilatéral, résistant au traitement médical et invalidant, c'est-à-dire qu'il interférait de façon assez importante sur la vie du patient, empêchant la réalisation de ses activités journalières (travail ou loisirs), et /ou, le gênant dans son sommeil. Le type d'acouphène, pulsatile, fluctuant, aiguë ou grave, n'a pas été pris en compte dans la décision opératoire.
- Les potentiels évoqués auditifs (P.E.A) étaient perturbés, chez tous les patients, avant l'opération, avec un intervalle I-III augmentée de plus de 0, 2ms par rapport au côté sain ou désynchronisé. (*Schéma 1*)
- L'imagerie par résonance magnétique (I.R.M), en séquence T1 gadolinium et T2 CISS, a identifié chez tous les patients un conflit neuro-vasculaire sur le VIII (*photo Nr.1A*) ; conflit défini par un contact orthogonal entre le nerf et la boucle vasculaire, (*photo Nr.1 B*) et une déformation des structures nerveuses. (*photo Nr. 2 et Nr.3*)

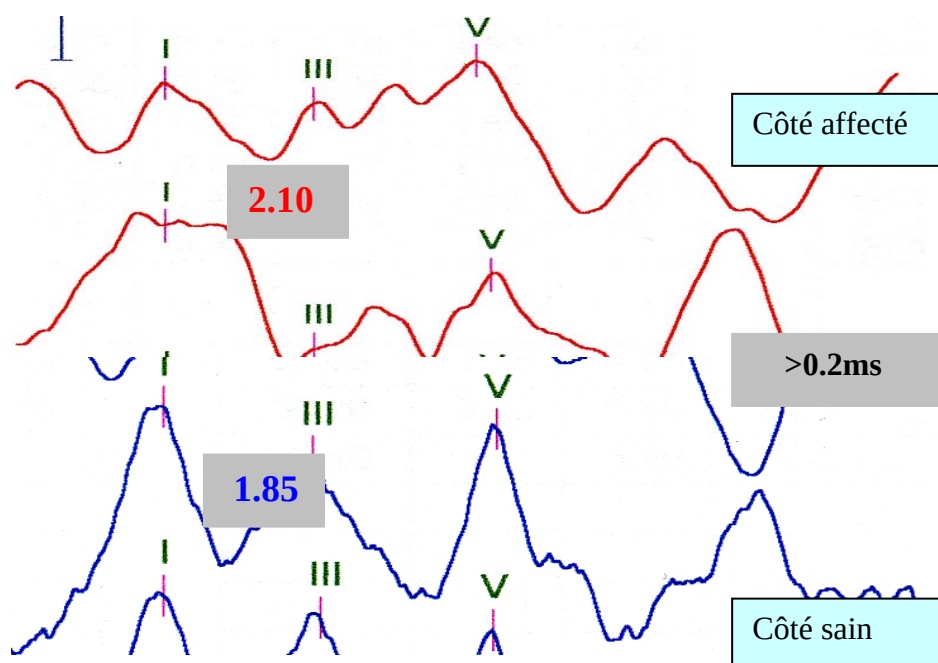


Schéma I. Modification des potentiels auditifs évoqués avec le critère de l'intervalle I-III supérieur à 0,2 ms. **I**- nerf cochléaire (segment distal), **II**- nerf cochléaire (segment proximal), **III**- noyau cochléaire dorsal, **IV**- noyau cochléaire dorsal complexe olivaire supérieur, **V**- noyau du lemnisque latéral.

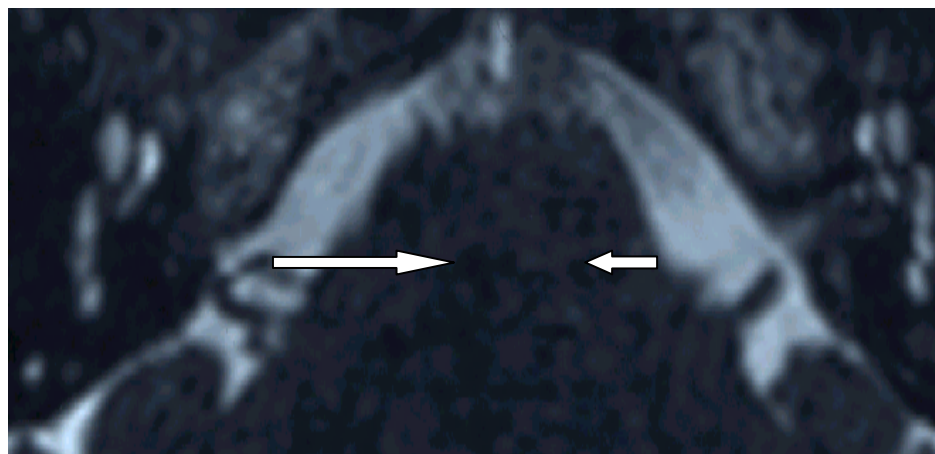


Photo Nr.1 A. Séquences en CISS, coupe axiale. Boucle vasculaire de l'aica au niveau du méat auditif interne droit écartant le nerf facial (←) du nerf auditif, et déformant le nerf auditif (←-----) par un contact orthogonal.

Une *audiométrie tonale* a été réalisée en préopératoire et, une perte auditive associée a été retrouvée chez 11 patients. Afin d'évaluer la fonction vestibulaire en préopératoire et post-opératoire, un examen vidéo nystagmo-graphie (V.N.G) a été réalisé. Tous les patients ont été opérés par un abord rétro- sigmoïde dit 'minimale invasive' utilisant de façon combinée le microscope opératoire et l'endoscope. L'évaluation postopératoire de l'acouphène a été réalisée de façon subjective par le

patient à l'aide d'un questionnaire recueilli par courrier ou par téléphone. Quatre groupes de patients ont, ainsi, pu être individualisés, suite à cette évaluation :

- 1. Disparition complète de l'acouphène.
- 2. Amélioration (diminution de l'acouphène).
- 3. Acouphène inchangé
- 4. Aggravation de l'acouphène.

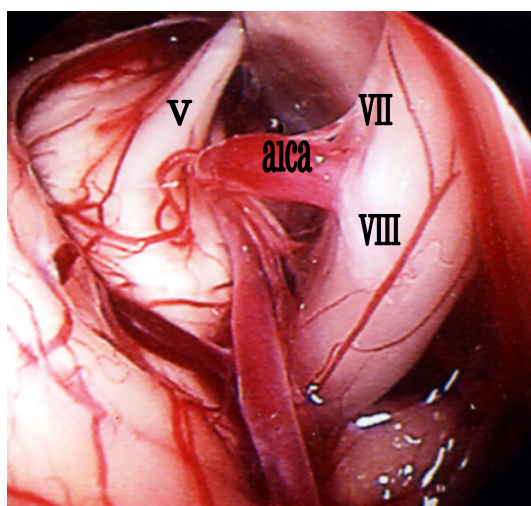


Photo Nr. 1 B. Vue opératoire du même patient: l'aica passe entre le VII et le VIII et réalise un conflit avec le nerf auditif déformé à sa sortie du méat auditif.

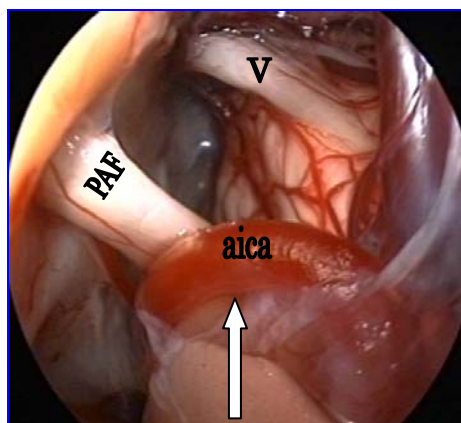
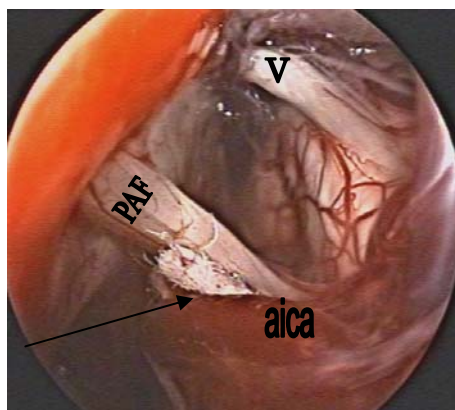


Photo Nr. 2. Angle ponto- cérébelleux gauche. **A.** Boucle de l'aica sous-jacente au paquet nerveux acoustico-facial (PAF), soulevant et déformant en angle droit le nerf auditif.



2B. Mise en place d'un téflon interposé entre l'aica et le VIII.

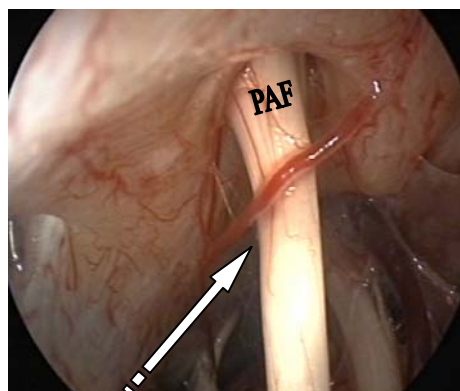
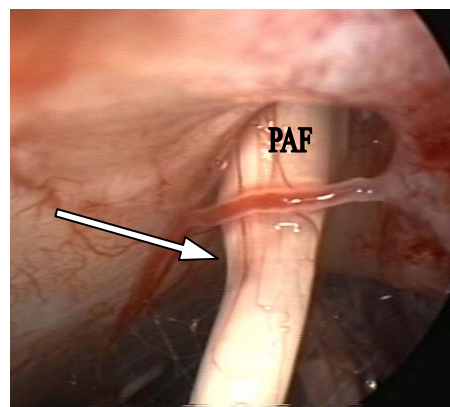


Photo Nr.3. A. Angle ponto-cérébelleux gauche. Artère subarcuata déformant le nerf auditif.



B. La zone démyélinisée visible du nerf auditif après décompression du nerf par mobilisation latérale de l'artère

Résultats

En *post-opératoire immédiat*, les acouphènes ont disparu dans 8 cas sur le 15 et ont diminué dans 2 cas sur 15, ce qui représente 66,6 % de bons résultats. *A distance*, dans trois cas sur 15 (20 %) les acouphènes étaient toujours absents, et restaient diminués dans 5 cas sur 15 (33,3 %), représentant sur le long terme 53,3 % de résultats satisfaisants (Tableau I).

Aucune aggravation de l'acouphène n'a été notée. Aucune corrélation n'a été retrouvée entre l'ancienneté de l'acouphène et le résultat chirurgical.

Les *P.E.A* se sont normalisés chez tous les patients ayant eu un bon résultat clinique (diminution ou disparition de l'acouphène) (Tableau I).

L'*audiogramme* est normal dans 4 cas (26,7%), une atteinte auditif est révélée dans 11 cas (73,3%) : uniquement sur les aigues dans 5 cas et sur toutes les fréquences 6 autres cas.

En post-opératoire, aucun patient n'a présenté d'amélioration, ni d'aggravation brutale de son audition. Cependant, lorsque l'on analyse la médiane des moyennes d'audition tonale (Pure tone audiometry- P.T.A., c'est-à-dire la moyenne des niveaux d'audition à 0,5, 1,2 et 4 kHz) en pré- opératoire et en post-opératoire, on note une aggravation du seuil auditif de faible valeur (Tableau II). Nous n'avons pas retrouvé de relation entre l'audition pré- opératoire et les résultats sur l'acouphène.

L'*examen video-nystagmographique* (V.N.G.), en pré- opératoire était normal, sauf dans 2 cas lesquels présentaient une discrète hypovalence vestibulaire du côté de l'acouphène. En post -opératoire, aucun patient n'a signalé de troubles de l'équilibre. L'évolution des deux patients précédents a montré, pour le premier, la persistance de son hyporeflexie et de son acouphène, et pour le second, la normalisation de son épreuve vestibulaire associée à la disparition de son acouphène.

La *corrélation radio chirurgicale* est confirmée dans tous les cas sauf lorsqu'une branche collatérale de l'aica était retrouvée au niveau du conflit (Tableau I, cas N9). Ni l'artère subarcuata et ni la veine cérébelleuse moyenne aberrante n'ont été identifiables, comme vaisseaux responsables, avec certitude, par l'IRM. (Tableau I, cas N12, 14, 15)

Tableau I. Aspects peropératoires et Résultats. (AICA : artère cérébelleuse antéro- inférieure ; PICA : artère cérébelleuse postéro- inférieure ; CAI : conduit Auditif Interne)

			Vaisseaux Responsables		Acouphènes Résultats à distance	P.E.A Résultats à distance
			IRM	Chirurgie		
1	F	63 ans	Artère Vertébrale	Artère Vertébrale	Amélioration	Normalisés
2	F	43 ans	PICA	PICA	Amélioration	Normalisés
3	M	50 ans	AICA (à l'intérieur du conduit)	AICA (à l'intérieur du conduit)	Amélioration	Normalisés
4	F	70 ans	AICA	AICA	Inchangé	Altères
5	F	50 ans	AICA (à l'intérieur du conduit)	AICA (à l'intérieur du conduit)	Inchangé	Altères
6	M	57 ans	PICA	PICA	Inchangé	Altères
7	M	71 ans	Artère Vertébrale	Artère Vertébrale	Disparition Complète	Normalisés
8	M	56 ans	AICA	AICA	Amélioration	Normalisés
9	M	49 ans	AICA	AICA + Branche Collatérale	Inchangé	Altères
10	M	65 ans	PICA + Artère Vertébrale	PICA + Artère Vertébrale	Disparition Complète	Normalisés
11	F	67 ans	AICA (à l'intérieur du conduit) + Artère Vertébrale	AICA (à l'intérieur du conduit) + Artère Vertébrale	Inchangé	Altères
12	F	56 ans	PICA	PICA+ Veine Cérébelleuse Moyenne	Inchangé	Altères
13	F	37 ans	AICA	AICA	Inchangé	Altères
14	M	60 ans	Artère Vertébrale	Artère Vertébrale+ Artère Subarcuata	Disparition Complète	Normalisés
15	M	69	PICA	PICA+ Artère Subarcuata	Amélioration	Normalisés

Tableau II. Médiane des moyennes d'audition tonales préopératoire, post-opératoire immédiat et à distance. Test de Wilcoxon: $p < 0.001$.

Audiométrie Tonale (seuil moyenne sur 500, 1000, 2000, 4000 Hz)	Préopératoire	Post-opératoire	A distance
Médiane (15 cas)	35.2 dB	36.5 dB	39 dB

Les vaisseaux responsables. (Tableau I)

En ce qui concerne les vaisseaux responsables, l'aica (artère cérébelleuse antéro-inférieure) et ses branches collatérales (cinq cas et trois cas respectivement) sont les plus souvent impliquées dans le conflit ; puis l'artère vertébrale dans 2 cas, l'artère vertébrale et l'aica dans 1 cas, l'artère vertébrale et la pica (artère cérébelleuse postéro-inférieure) dans 1 cas, enfin la pica dans 2 cas et, la pica associée à une veine cérébelleuse moyenne dans 1 cas.

La chirurgie n'a pas nécessité le recours aux soins intensifs, et la durée d'hospitalisation a été d'une semaine.

Complications.

Nous avons eu à déplorer dans cette première série de 15 patients, un cas de trouble de la déglutition spontanément régressif, lié à une dissection des nerfs mixtes et un cas de fuite de liquide céphalo- rachidien (LCR) en post-opératoire

Discussions

Nos critères de sélection ont été volontairement limitatifs pour aboutir à 15 patients bénéficiant d'une chirurgie de décompression du VIII pour acouphène, alors que dans la même période 371 de décompressions du V et du VII ont été effectués. Les résultats que nous avons obtenus restent modestes et similaires à ceux de la littérature, avec des taux de succès allant de 40 à 60 % (4, 5, 6). Sauf Okamura et al. (10) qui mentionnent des résultats étonnamment optimistes avec 94 % de bons résultats. Toutefois, leur mode de sélection de patients était différent avec un acouphène intermittent associé à des vertiges ou à une perte de l'audition, plutôt qu'un acouphène permanent, invalidant. Ryu et al. (11) ont 65,5 % de résultats satisfaisants survenus lorsque l'audition pré- opératoire était conservée. Dans notre étude, nous n'avons pas retrouvé de lien entre l'état de l'audition pré-opératoire et le résultat sur l'acouphène.

Quelles hypothèses pouvons nous avancer pour expliquer ces résultats nettement moins bons que ceux obtenus après décompression du V et du VII ?

- 1 .La sélection des patients.

Les étiologies des acouphènes sont nombreuses et les critères cliniques ou para-cliniques permettant d'évoquer un acouphène par conflit neuro-vasculaire sur le nerf cochléaire ne sont pas clairement définis. Notre étude montre que lorsqu'il existe un bon résultat clinique avec diminution ou disparition de l'acouphène, les P.E.A. post-opératoires sont eux aussi normalisés. L'altération des P.E.A. semble donc un critère essentiel afin de pouvoir poser le diagnostic et proposer la chirurgie. L'imagerie est bien sûr indispensable pour le diagnostic étiologique et la localisation précise du conflit neuro-vasculaire tout en tenant compte, qu'il existe une forte incidence de boucle vasculaire au contact du paquet acoustico-facial chez des patients asymptomatiques (12). L'I.R.M. reste l'examen clé du bilan afin

d'éliminer d'autres pathologies (neurinome par exemple) qui pourraient également générer un acouphène (13)

- 2. La difficulté de la chirurgie de décompression neuro-vasculaire du VIII.

D'une part, la compression vasculaire peut se situer sur tout le trajet cisternal du nerf cochléaire, en raison de la localisation variable de la zone transitionnelle gaine gliale central/ gaine de Schwann périphérique (zone d'Obersteiner-Redlich) au niveau du nerf auditif, alors qu'elle est située à la REZ (Root Exit Zone) sur le nerf facial (14).

D'autre part, les conflits vasculaires dus à l'aica sont plus difficiles à lever, notamment lorsque la boucle artérielle est à l'intérieur du conduit auditif interne, ou lorsque le trajet de l'aica est entre le VII et le VIII (photo 1) dans ces deux circonstances, nous n'avons pas obtenu de bons résultats. Le nerf cochléaire est un nerf sensoriel particulièrement fragile. Toute manipulation de celui-ci représente un risque potentiel pour l'audition, le monitoring du nerf cochléaire ne permettant pas de le prévenir. En revanche, les progrès de l'imagerie et des reconstructions tridimensionnelles devraient offrir une plus fine évaluation préopératoire et donc une meilleure sélection des patients justiciables d'un acte chirurgical.

L'endoscopie de l'angle ponto- cérébelleux, en permettant une vision magnifiée et sans zone d'ombre, est un excellent moyen complémentaire de repérage du ou des vaisseaux responsables, de leur trajet, des artères labyrinthiques, et cela sans rétraction instrumentale des structures cérébelleuses. Cette vision endoscopique reste supérieure, dans la majorité des cas, à celle obtenue avec le microscope opératoire (15)

Moller (16), par l'enregistrement des potentiels d'action composés (Compound Action Potentials : C.A.P) directement sur le nerf cochléaire, a montré que les CAP, chez des patients présentant un conflit neuro-vasculaire et des acouphènes, n'étaient pas différents des potentiels d'action recueillis chez des patients n'ayant pas d'acouphènes. Cela serait en faveur de l'hypothèse que les acouphènes ne sont pas générés dans le nerf auditif, ni au niveau du noyau cochléaire, mais dans des structures plus rostrales du système nerveux auditif. S'il semble indiscutable que des acouphènes puissent être provoqués par une compression entre un vaisseau sanguin et le nerf auditif, l'activité neurale anormale qui peut en résulter, est probablement amplifiée au niveau de structures plus rostrales, qui deviennent alors hyperactives (voie auditive ascendante).

Conclusion

Le conflit neuro-vasculaire du nerf cochléaire est une réalité clinique au même titre que la névralgie faciale et le spasme de l'hémiface. Cependant sa définition par des éléments cliniques où para cliniques permettant un diagnostic de certitude reste à définir. De plus l'hyperactivité centrale qui en résulte est difficilement évaluable, ne nous permettant pas de présager de l'efficacité d'une éventuelle chirurgie de décompression.

L'amélioration des taux de succès de la chirurgie de décompression vasculaire passe par une meilleure sélection des patients qui sera apportée par l'amélioration des méthodes d'exploration du nerf auditif pré et per-opératoires (explorations nerveuses fonctionnelles et imagerie) et des structures auditives centrales (I.R.M. fonctionnelle) (17, 18)

Bibliographie

1. DANDY W.: Concerning the cause of trigeminal neuralgia. Am J Surg, 24:447-455, 1934
2. GARDNER W.J.: Concerning the mechanism for trigeminal neuralgia and hemifacial spasm. J. Neurosurg, 1962,19 : 947-958

3. JANNETTA P.J.: Microsurgical exploration and decompression of the facial nerve in hemifacial spasm. *Curr. Top. Surg. Res.*, 1970, 2 :217-220
4. EL-GAREM H.F., BADR-EL-DINE M., TALAAT A.M., MAGNAN J. Endoscopy as a tool in minimally invasive trigeminal neuralgia surgery. *Otol Neurotol* 2002; 132-5
5. BADR-EL-DINE M., EL-GAREM H.F., TALAAT A.M., MAGNAN J.: Endoscopically assisted minimally invasive microvascular decompression of hemifacial spasm. *Otol Neurotol* 2002 ; 23 :122-8
6. ADAMS C.B.: Microvascular compression: an alternative view and hypothesis. *J. Neurosurgery* 1989 ; 57 :1-12
7. MOLLER M.B., MOLLER A.R., JANNETTA P.J. and all: Vascular decompression surgery for severe tinnitus: Selection criteria and results. *Laryngoscope* 1993 ; 130 :421-427
8. BROOKES G.B.: Vascular-decompression surgery for severe tinnitus. *Am J Otol* 1996;17:569-576
9. VASAMA J.P.I., MOLLER M.B., MOLLER A.R.: Microvascular decompression of the cochlear nerve in patients with severe tinnitus. Preoperative findings and operative outcome in 22 patients. *Neurol Res* 1998; 20 :242-248
10. OKAMURA T., KUROKAWA Y., IKEDA T. and all : Microvascular decompression for cochlear symptoms. *J Neurosurgery* 2000; 93:421-426
11. RYU H., YAMAMOTO S., SUGIYAMA K.: Neurovascular compression syndrome of the eighth cranial nerve. What are the most reliable diagnostic signs? *Acta Neurochir (Wien)* 1998; 140(12):1279-89
12. MAKINS A.E., NICOLOPOULUS T.P., LUDMAN C. and all: Is there a correlation between vascular loops and unilateral auditory symptoms? *Laryngoscope* 1998; 108:1739-42
13. WEISMAN J.L., HIRSCH B.E.: Imaging of tinnitus: a review. *Radiology* 2000; 216:342-349
14. LANG J.: Facial and vestibulocochlear nerve. Topographic anatomy and variations. In: the cranial nerves 1981 SAMII M. and JANNETTA P.J. (Eds.) Springer- Verlag, Heidelberg, pp 363-377.
15. WASKYM P.A., KING W.A., MEYER G.A. and all: Endoscopy in neuro-otologic surgery. *Otolaringol Clin North Am* 2002 ; 35 :297-323
16. MOLLER A.R., MOLLER M.B., JANNETTA P.J. and all: Compound action potentials recorded from the exposed eighth nerve in patients with intractable tinnitus. *Laryngoscope* 1992 ; 102 : 187-197
17. LEGATT A.D.: Mechanisms of intraoperative brainstem auditory evoked potential changes. *J Clin Neurophysiol* 2002 ; 19 : 396-408
18. MELCHER J.R., SIGALOVSKY I.S., GUINAN J.J. and all: Lateralized tinnitus studied with functional magnetic resonance imaging: Abnormal inferior colliculus activation. *J. Neurophysiol.* 2000; 83; 1058-1072

Rezumat

Introducere. Realitatea unui conflict neuro-vascular in regiunea ungiului ponto-cerebelos s-a impus in ultima perioada datorita decompresiunii chirurgicale ale nervilor cranieni responsabili de spasmul hemifacial sau de neuralgia faciala. Nervul auditiv deasemenea nu evita aceasta patologie. In acelas timp, sindromul de compresie al nervului cochlear ramane pina in prezent controversat.

Material si metoda. Criteriile de selectie ale celor 15 pacienti au fost: acuphene unilaterale, invalidante asociate de potentiale evocate auditive (P.E.A.) de tip

retro-cochlear si prezenta unei bucle vasculare, visualisata la rezonanta magnetica (I.R.M.)

Resultate. O compresiune vasculara a fost depistata in timpul interventiei la toti pacientii. Sau obtinut : 53,3% de ameliorare ale acuphenelor cu 20% de disparitie completa. Resultatele pre- si post-operatorii ale audiometriei, Video-Nystagmographiei (V.N.G.) si ale P.E.A. sunt luate in desbateri. Complicatiile sunt reduse la un pacient cu dereglarea deglutitiei spontan regresiva.

Concluzii. In cazul acouphenelor invalidante (resistente la tratamentul medicamentos) care altereaza activitatea socio-profesionala a pacientilor, un conflict neuro-vascular poate fi regasit. Tratamentul prin decompresiune si izolare al nervului poate fi rezolutiv.

Cuvinte cheie : Acuphene invalidante, calea retrosigmoidala, endoscopie de unghi ponto- cerebelos, nervul cochleo-vestibular, decompresiune neuro-vasculara.

GRUPUL FOCUS CA METODĂ DE CERCETARE CALITATIVĂ. UTILITATEA METODEI ÎN EXPLORAREA ATITUDINILOR MEDICILOR FAȚĂ DE COMUNICAREA DIAGNOSTICULUI ȘI PROGNOSTICULUI ÎN ONCOLOGIE, HEMATO-ONCOLOGIE ȘI ÎNGRIJIRI PALIATIVE

DANIELA MOȘOIU¹, L PETROV²

¹Centrul de Studii pentru Medicină Paliativă Brașov, Hospice Casa Speranței

² Catedra de Hematologie, U.M.F. "Iuliu Hațieganu" Cluj

Rezumat

Grupul focus este o metodă de cercetare calitativă utilă în explorarea experiențelor și atitudinilor față de o temă predefinită: comunicarea diagnosticului și prognosticului de cancer sau hemopatie maligna. Metodologie: 3 grupuri focus au fost conduse parte a lucrării de doctorat. Participanții au fost selectați din rândul medicilor aflați în a doua săptămână de instruire în cadrul competenței de îngrijiri paliative. Pentru toate cele 3 grupuri s-a folosit același ghid de intervieware și moderator. Datele au fost înregistrate audio și video și ulterior s-a făcut transcriere verbatim. Datele au fost codificate și s-a făcut analiza tematică și analiza interacțiunilor membrilor grupului. Validarea rezultatelor s-a făcut prin trimiterea rezultatelor analizei participanților. Rezultate: Au participat un număr de 31 de medici(12)(9)(10). Durata grupurilor a variat între 2 și 3 ore. Au fost identificate 6 domenii comunicarea diagnosticului, educația, prognosticul, moartea, echipa, luarea deciziilor terapeutice, fiecare cu un număr variabil de teme și subteme. Pentru comunicarea diagnosticului temele au fost: familia are prioritate în aflarea diagnosticului și în decizia asupra utilizării informației, există tensiuni între conceptul teoretic (dreptul pacientului la informație, responsabilitatea medicului față de pacient) și atitudinea practică; responsabilitatea comunicării diagnosticului către pacient este frecvent delegată de către specialiști spre medicul de familie sau familie; comunicarea diagnosticul se face după stabilirea unei relații, treptat; modelul de comunicare a diagnosticului are consecințe asupra relației medic pacient; procesul de comunicare a diagnosticului are o intensă încărcătură emoțională.

Cuvinte cheie: grup focus, comunicarea diagnosticului, prognosticului, cancer, îngrijiri paliative.

Introducere

Grupul focus este o metodă de cercetare calitativă utilă pentru a captura experiențele și atitudinile, o formă de interviu în grup, astfel conceput încât să adune percepții multiple asupra unei teme de interes, predefinite. (Jackson 1998)

Dacă metodele de cercetare cantitative sunt utilizate pentru a genera informație într-un mod sistematizat, obiectiv și măsurabil, informație care poate fi analizată statistic și care permite eventual generalizarea¹, cercetarea calitativă implică colectarea, analiza și interpretarea datelor care nu sunt numerice, legate de mediul social, concepte

și comportamente ale oamenilor. Scopul cercetării calitative este diferit, acela de a oferi o privire în profunzimea fenomenului studiat, o înțelegere mai completă, de ansamblu a fenomenului, prin explorarea bogăției, profunzimii și complexității inerente oricărui fenomen care implică participarea “subiectul uman”².

Există o recunoaștere tot mai largă a valorii cercetării calitative și a devenit evident că înțelegerea stării de sănătate, a bolii și a comportamentului asociat acesteia cât și a intervențiilor specialiștilor este incompletă atât timp cât nu se captează realitatea subiectivă așa cum este ea percepută de către individ, experiența personală, percepțiile, concepțiile, și semnificația dată acestora.

Principalele tehnici de colectare a datelor în cercetarea calitativă sunt metodele observaționale, interviurile și diversele surse documentare sau narative la care mai recent s-a adăugat grupul focus.³

Motivul utilizării grupul focus ca parte a proiectului de cercetare (doctorat) îl reprezintă utilitatea acestei metode în a explora percepțiile, concepțiile și atitudinile medicilor oncologi, hematologi și de îngrijire paliativă privind dezvoltarea diagnosticului și prognosticului la pacienții cu cancer și hemopatii maligne. Datele obținute au fost analizate de sine stătător dar și ca punct de referință pentru chestionarul ce a fost trimis medicilor oncologi și hematologi.

Numărul de grupuri focus necesar pentru a explora o anumită temă este determinat de cantitatea de date noi aduse de fiecare grup focus, ele ar trebui continuate până când apare o saturație a datelor (nu mai apar teme noi la analiză). Acest lucru nu este întotdeauna posibil deoarece fiecare grup generează o cantitate mare de date și procesul de transcriere și analiză este laborios (o ora de interviu necesită 4 ore pentru transcriere și alte 20 de ore pentru analiză⁴) și de aceea numărul lor se limitează frecvent la 3-5 grupuri focus/temă.

Metodologie

Selectarea participanților pentru grupul focus a fost făcută utilizând o metodă ne-probabilistică de selecție cu alegerea unui grup informat și cu experiență în ceea ce privește tema pusă în dezbatere. Această procedură este cea care este cel mai frecvent folosită⁵ pentru grupul focus și considerată ca fiind cea mai potrivită deoarece nu contează alegerea unui eșantion reprezentativ pentru populația studiată ci a unor participanți care să aibă experiență și cunoștințe despre tema pusă în dezbatere.⁶

Participanții au fost aleși din cadrul medicilor care urmează cursurile de competență în îngrijire paliativă, aflați la al doilea modul de teorie. Faptul că grupul era anterior constituit are efect benefic asupra dinamicii grupului și asupra generării de date relevante^{7,8}.

Studiile au demonstrat că omogenitatea grupului este importantă pentru a facilita împărtășirea experiențelor similare⁹, cu cât grupul este mai omogen în ceea ce privește statusul social, educațional, cunoștințele și experiența, cu atât mai încrezători vor fi membrii grupului în a-și expune părerile¹⁰. În cazul de față omogenitatea a fost asigurată de faptul că toți participanții au fost medici care aveau în îngrijire pacienți cu cancer sau alte boli cu prognostic rezervat și care toți erau interesați în acumularea unor cunoștințe de îngrijiri paliative pentru a ameliora îngrijirea oferită acestei categorii de pacienți.

Cursanții au primit un material informativ și un formular de consimțământ pentru participarea la studiu și pentru culegerea datelor urmând ca cei interesați să participe, să returneze formularul semnat și datat.

Din 55 (20,15, 18) participanți la curs 31 (20,9,10) și-au dat consimțământul. Compoziția grupurilor și experiența în specialitate sunt prezentate în tabelul 1.

Tab.1

Grup	Femei	Barbați	Oncologi/ hematologi	MF	Experiența <5 ani	Experiența 5-10	Experiența >10 ani
1	7	5	10	2	0	9	3
2	7	2	6	3	1	7	1
3	9	1	6	4	1	7	2

Moderatorul

Rolul mediatorului este important și influențează semnificativ datele culese. El trebuie să deschidă și ulterior să faciliteze discuția în grup și să urmărească ca intervențiile participanților să rămână focalizate asupra temei puse în discuție. Pe cât posibil moderatorul trebuie să stimuleze dialogul între membrii grupului și nu între el și grup¹¹.

El trebuie să fie conștient de rolul său și de prejudecățile și valorile pe care el le aduce cu sine și de modul cum acestea pot distorsiona datele din momentul culegerii, analizei până în momentul interpretării rezultatelor.

Abilitatea de utilizare a întrebărilor deschise, urmărirea și interpretarea reacțiilor non-verbale, utilizarea ascultării active, urmărirea dinamicii de grup în procesul de educație, sunt recunoscute în literatură ca fiind puncte forte pentru moderatorii în procesul de culegere a datelor¹².

În ceea ce privește intervenția moderatorului Hague¹³ sugerează că aceasta trebuie să reprezinte între 5-10% din transcriere. În cazul de față toate intervențiile moderatorului împreună reprezintă în medie 6 %.

Ghid de intervievare

Grupul focus se desfășoară după un ghid care conține întrebările ce vor fi adresate grupului și eventual instrucțiuni clare pentru moderator. El este foarte important atunci când moderatorul nu a fost implicat în designul studiului sau când vor fi mai multe grupuri focus care se desfășoară pe parcursul studiului pentru a putea corobora datele obținute de la toate grupurile focus¹⁴.

Durata grupurilor focus a fost de 3 ore și 15 min grupul 1, 2 ore și 12 minute grupul 2 respectiv 2 ore și 15 minute grupul 3

Înregistrarea datelor și pregătirea pentru analiză

Pentru a permite o analiză adecvată se recomandă înregistrarea pe caseta audio, care are și avantajul că permite ca atenția moderatorului să fie liberă pentru a urmări și ghida grupul¹⁵.

Grupurile focus au fost înregistrate pe minidisc, filmate video și de asemenea asistentul a luat notițe privind expresiile nonverbale și dinamica grupului. Aceasta integrare a datelor înregistrate prin diferite modalități este deosebit de importantă pentru a reflecta cu cât mai multă acuratețe multiplele dimensiuni ale grupului focus: conținutul (cuvinte, pauze, ezitări, accente), procesul, mediul, dinamica grupului, etc. Transcrierile verbatim au fost făcute imediat după grupul focus.

Rezultate

Grupul focus nu este doar o metodă convenabilă prin care se colectează simultan informații de la mai mulți participanți ci este o metodă în care interacțiunea dintre membrii grupului este utilizată pentru a reliefa comportamente, experiențe, pentru a clarifica puncte de vedere și opinii¹⁶ și ca atare atunci când analizăm datele obținute de la un grup focus atât conținutul cât și interacțiunea între participanți trebuie să fie studiate.

Conținutul

Analiza de conținut este o tehnică utilizată pentru cuantificarea datelor calitative, urmărindu-se și numărându-se frecvența cu care apar diferitele teme, cuvinte etc, și pornește de la premisa că toți participanții/grupurile răspund la aceleași întrebări.

Am optat pentru o analiză tematică pornind de la metodologia utilizată de autorii unui studiu tot în domeniul comunicării publicat în 2001 “Communicating With Dying Patients within the Spectrum of Medical Care from Terminal Diagnosis to Death”¹⁷.

Charmaz înțelege prin codificare, procesul prin care datele sunt sortate și puse în categorii¹⁸. În general sistemul de codificare este elaborat de cel puțin doi cercetători în mod independent și apoi se confruntă rezultatele, aceasta fiind un mecanism prin care se asigură înlăturarea subiectivismului. Un alt avantaj al codificării de către mai mulți cercetători este acela că permite perfecționarea sistemului de codificare prin capacitatea fiecăruia de a decela cât mai mult alternativă de interpretare. Codurile au fost trecute apoi pe hârtie separată și unite în teme și acestea în domenii. Forma finală (codificarea în domenii/teme/subteme) este prezentată în tabel 2.

Comunicarea diagnosticului		Educația		Prognosticul	
TEMA	SUBTEME	TEMA	SUBTEME	TEMA	
Familia are prioritate în aflarea diagnosticului și utilizarea informației	Familia află prima diagnosticul	Pregătirea teoretică și practică a medicilor privind comunicarea veștilor proaste este deficitară	Facultatea nu te pregătește în domeniul comunicării	Prognosticul nu poate fi stabilit cu certitudine	
	Pacientul află cel mai frecvent diagnosticul indirect		Nu există protocoale în acest domeniu	Comunicarea prognosticului este dificilă	E mai ușor să eviți discuția
	Familia atrage medicul în conspirația tăcerii		Lipsește modele în domeniul comunicării veștilor proaste		Nu se dau răspunsuri la întrebări directe legate de prognostic
Tensiuni între conceptul teoretic și atitudinea practică	Teoretic este dreptul pacientului să afle adevărul		Comunicarea este o abilitate care se poate învăța		Prognosticul trebuie spus astfel ca să nu ia speranța
	Practic medicul comunică familiei diagnosticul	Înțelegerea realității de către pacient depinde nu doar de gradul de instruire ci și de experiența de viață			
Comunicarea diagnosticului spre pacient este frecvent delegată	Delegarea spre medicul de familie îngreunează sarcina acestuia	Educația religioasă și credința sunt un sprijin important atât pentru medic cât și			

		pentru pacientul confruntat cu o veste proasta			
	Pacientul își pierde încrederea în sistemul medical dacă află diagnostice contradictorii				
	Familia nu are cunoștințe necesare comunicării diagnosticului				
Comunicarea diag. se face treptat	Comunicarea necesită crearea unei relații de încredere				
	Ascultarea activă este parte importante a comunicării				
Modelul de comunicare are repercurșiuni	Pacienții reproșează că nu li se comunică adevărul				
	Pacientul informat este mai cooperant				
	Pacienții interpretează eronat informațiile aflate indirect				
Procesul de comunicare a diagnosticului are o intensă încărcătură emoțională	Medicii se tem de exteriorizarea sentimentelor				
	Medicii se tem să nu pară incompetenți				
	E nevoie de curaj pentru a comunica un diagnostic de cancer unui pacient				
	Nu se folosesc				

	cuvintele leucemia, cancer deoarece declanșează reacții emoționale intense				
--	---	--	--	--	--

Interacțiunea între membrii grupului

Stevens într-un articol care prezenta utilitatea grupului focus ca metodă de studiu a problemelor de sănătate în comunitate a propus un set de întrebări ca bază de pornire pentru analiza interacției în grup¹⁹ din care am selectat și am răspuns la următoarele:

A fost un membru dominant în grup?

Da în grupul 2 a fost un membru dominant care a căpătat în ochii celorlalți statutul de expert, fiind întrebat, rugat să-și susțină sau clarifice punctele de vedere dar care s-a dovedit a fi o persoană matură și care a reflectat înainte la tema pusă în discuție, iar intervențiile deși au fost cele mai lungi nu au fost percepute ca o dominare agresivă.

S-au creat alianțe în grup?

În grupul 3 s-a stabilit alianța între trei membri ai grupului care în cea mai mare parte a discuției au împărtășit aceleași opinii, s-au aprobat verbal și non-verbal și s-au completat reciproc.

Au existat contradicții și cum au fost ele rezolvate?

În toate grupurile contradicțiile au apărut atunci când s-au discutat subiecte ca împărțirea diagnosticului, consimțământul pacientului pentru începerea tratamentului cu morfină, refuzul pacientului de a face un tratament oncologic. Ele au fost rezolvate fie prin discutarea și clarificarea temei, fie prin abandonarea temei, fie prin detensionare atmosferei prin utilizarea umorului. Glumele și umorul negru mai ales a fost utilizat de câteva ori pe parcursul grupului focus atunci când au fost abordate teme dificile precum prognosticul și moartea "Asta sună așa ca în cartea lui Cioran care zicea că „bolnavul trăiește cu un picior în groapă, în caz că moare să cadă direct în ea, să nu mai chinuie familia.”

Ce subiecte au produs consens?

Toti participanții au fost de acord cel puțin la nivel teoretic că diagnosticul trebuie comunicat pacienților deși un participant a recunoscut că îi este teama să facă acest lucru iar altul s-a îndoit de capacitatea proprie de a comunica un astfel de diagnostic unui pacient tânăr. Alt consens atins a fost cel legat de faptul că nu se poate stabili și comunica un prognostic corect și majoritatea colegilor au recunoscut că nu pot să discute prognosticul cu pacienții lor.

Cât de mult au deviat participanții de la subiectul supus dezbaterii?

Participanții au fost foarte interesați de subiectul supus dezbaterii, discuțiile au fost la obiect. Au fost necesare doar câteva intervenții ale moderatorului pentru a readuce grupul la tema pusă spre dezbateri.

Moartea	SUBTEME	Echipa		Luarea deciziilor		Particularități în România
		TEMA	SUBTEME	TEMA	SUBTEME	TEME
TEMA	Medicii se tem să abordeze această temă	Munca în echipă permite îngrijire adecvată	Colegii neimplicați afectiv sunt mai obiectivi	Beneficiența surclasează autonomia în luarea deciziei	Pacienții nu sunt implicați în luarea deciziilor terapeutice	Accesul pac. la informație e limitat
Pacientul are nevoie ca medicul	Pacienții devin izolați		Asistenta este mai apropiată		Consimțământul e o formalitate	Finanțarea și accesul la trat sunt

să discute deschis despre moarte			de bolnav			inconstante
	Ingrijind oameni care mor devii mai înțelept		Preotul este responsabil cu pregătirea pt moarte a pac.		Refuzul trat de către pacient este văzut ca un esec al med.	Bolnavul este povara finaciară pt familie
	Oamenii simpli sunt mai pregătiți pentru moarte	Echipa are rol terapeutic			Minciuna prin omisiune e acceptabilă etic	Sistemul de sănătate este disfuncțional
Frica de moarte este un sentiment firesc	În fața morții suntem lași			Familia influențează decizia terapeutică	Familia face presiuni pentru tratamente agresive	Medicul de familie se află pe treapta de jos a ierarhiei medicale
	Viața are valoare până la sfârșit					Cancerul nu este o boala rusinoasă
Demnitatea pacientului trebuie păstrată până la final	Medicii trebuie să aibă omenie, compasiune					Trat cu morfină este asociat cu moartea

Validitatea datelor

Pentru a oferi validitate datelor rezultate în cercetarea calitativă se utilizează diverse metode dintre care “triangularea” și validarea rezultatelor de către participanți sunt probabil metodele cele mai populare.

Validarea rezultatelor de către participanți poate fi utilă în a nuanța rezultatele cercetării dar este un proces care necesită timp și uneori apare dificultatea de a menține echilibrul între perspectiva de ansamblu pe care o dorește cercetătorul și punctul de vedere personal, concepțiile participantului²⁰. În cazul studiului meu neavând o altă modalitate de a verifica rezultatele analizei am decis să trimit participanților analiza și să aflu care este opinia lor, cu câtă acuratețe analiza reflectă ceea ce s-a discutat și întâmplat în timpul grupului focus.

Discuții și concluzii

Grupul focus este o metodă de cercetare calitativă utilă în explorarea atitudinilor, concepțiilor și practicilor medicilor privind comunicarea cu pacientul cu cancer și hemopatii maligne și procesul de luare a deciziilor. Ca și cercetător novice abilitatea în moderarea grupului cred că a fost bună. Transcrierea verbatim este un proces laborios dar captivant, cel mai greu este să transcrii emoțiile și să captezi în scris tonul și pauzele semnificative. Analiza datelor a fost partea cea mai solicitantă. Limitarea acestui studiu a constituit-o codificarea datelor de către un singur cercetător. Analiza conținutului a reliefat șapte domenii care au fost aduse în discuție: comunicarea diagnosticului, educația, prognosticul, moartea, echipa, luarea deciziilor și particularități românești.

Sumarizând se pare că deși la nivel de concept teoretic pacientul are prioritate să afle diagnosticul, în practică acesta este comunicat familiei datorită lipsei unei pregătiri și experienței adecvate, încărcăturii emoționale deosebite asociate, comodității, lipsei modelelor. Acest lucru se reflectă ulterior și în procesul de luare a deciziei terapeutice unde principiul beneficienței este dominant, autonomia pacientului devenind secundară. Familia încearcă să facă presiuni asupra deciziei terapeutice la sfârșitul vieții. Echipa are potențialul de a oferi o îngrijire holistică pentru pacienții cu boli incurabile în stadiu avansat. Prognosticul și moartea au fost subiecte greu de abordat, s-a utilizat des umorul ca modalitate de evadare și detensionare. Disfuncționalitățile din sistemul medical românesc, tiparele existente lipsa finanțării și accesul inconstant la tratamentele adecvate au impact asupra procesului de comunicare și de luare a deciziilor.

Ca orice studiu calitativ și rezultatele studiului de față deschid o fereastră care să lumineze bogăția fenomenului studiat fără a-și propune să facă generalizări. Pornind de la informațiile generate prin aceste grupuri focus s-a elaborat un chestionar care va permite colectarea unor date cu potențial de generalizare.

Bibliografie

1. BEGLEY C.M. (1996) Using triangulation in nursing research. *Journal of Advanced Nursing*, 24, 122-128.
2. BRYMAN A. (1984) The debate about quantitative and qualitative research: a question of method or epistemology. *The Journal of Sociology*, 35, 75-92.
3. MARSHALL C. & ROSSMAN G.B.(1995) *Designing Qualitative Research* 2nd ed. Sage, Thousand Oaks, California.
4. MURPHY E. The potential of qualitative research in primary care. In Jones R, Kinmonth A-L (eds). *Critical Reading for Primary Care*. Oxford: Oxford University Press, 1992: 19-41.
5. STEWART DW, SHADAMSANI DW. *Focus Groups: Theory and Practice*. Newbury Park: Sage, 1990
6. TWOHIG PL, Putman W. Group interviews in primary care research: advancing the state of art or ritualized research? *Family practice* 2002 ;19: 278-284
7. FERN EF. The use of Focus group for Idea Generation. *J Market Research* 1982; 19: 1-13
8. MORGAN DL *Successful Focus Groups: Advancing the State of Art*. Newbury Park: Sage 1993
9. KITZINGER J. Qualitative Research: Introducing Focus Groups *BMJ* 311: 299
10. same as 1
11. CAREY M.A. The group effect in focus groups: planning, implementing, and interpreting focus group research. *Critical Issues in Qualitative Research Methods* (Morse J.M. ed.), Sage 1994 Thousand Oaks, California, pp. 225-241.
12. MORRISON-BEEDY D, COTE-ARSENAULT D, FISCHENBECK FEINSTEIN N. Maximizing results with focus groups: Moderator and Analysis Issues *Applied Nursing Research*, 2001: 14 (1) 48-53
13. HAGUE P. *Interviewing*. Kogan Page, 1993 London.
14. LICOLN & GUBA 1995 in
15. SIM, Julius *Collecting and analysing qualitative data: issues raised by the focus group* *Journal of Advanced Nursing* Volume 28(2) August 1998 pp 345-352
16. KITZINGER J. The methodology of focus groups: the importance of interactions between research participants. *Sociology of Health and Illness* 1994; 16; 103-21.
17. MARJORIE D. WENRICH, MPH; J. RANDALL CURTIS, MD, MPH; SARAH E. SHANNONS, RN, PhD; JAN D. CARLINE, PhD; DONNA M. AMBROZY, PhD; PAUL G. RAMSEY, MD *Communicating With Dying Patients Within the*

- Spectrum of Medical Care From Terminal Diagnosis to Death Arch Intern Med. 2001;161:868-874
18. CHARMAZ K. The grounded theory method: an explication and interpretation. Waveland press 1983 p109-26
 19. STEVENS P.E. (1996) Focus groups: collecting aggregate-level data to understand community health phenomena. Public Health Nursing 13, 170-176.
 20. MAYS N, POPE C. Assessing quality in qualitative research. BMJ 2000;320:50-52

The focus group as a qualitative research method. The appropriateness of using the method in exploring attitudes of the physician in communicating diagnoses and prognoses in oncology, hemato-oncology and palliative care

DANIELA MOȘOIU, L PETROV

Summary

The focus group is a qualitative research method that can be successfully used in exploring experiences and attitudes concerning a defined topic, in our case the communication of diagnoses and prognoses in cancer and hematological malignancies. *Methodology:* 3 focus groups were run as part of the PhD research work. Participants were represented by doctors attending the second module of palliative care training of their diploma course. The same moderator ran the groups and the same interviewing guide was used. Data were audio/video recorded and afterwards transcribed verbatim. After coding, the content and the group interactions were analyzed. The results were validated through participants' review. *Results:* a number of 31 doctors attended all three groups (12, 9, 10). The duration of the focus groups varied from 2 to 3 hours. There have been identified 6 domains: diagnoses disclosure, education, prognosis, death, team, decision making, each having a number of themes and sub-themes. For diagnose disclosure, the identified themes were: family has priority in receiving the diagnoses and decides further how the information will be used. There are tensions between the theoretical concept (the right of the patient to be informed, doctors' responsibility) and the attitude transposed into practice. The responsibility of diagnose disclosure is frequently delegated to the family doctor or to family members. The communication of the diagnoses is done after the doctor establishes a relation with the patient. Gradually, the model of diagnose disclosure has an impact on the further doctor-patient relation due to the fact that communicating a cancer diagnose is a process implying an intense emotional component.

Key Words; focus group, diagnose disclosure, prognosis communication, cancer, palliative care

APORTUL BIOPSIEI HISTOLOGICE ECOGHIDATE ÎN DIAGNOSTICUL LEZIUNILOR MAMARE MALIGNNE

ANCA CIUREA¹, SORANA BOLBOACA², LILIANA ROGOJAN³

¹Catedra de Radiologie, UMF „Iuliu Hatieganu” Cluj-Napoca

²Catedra de Informatică Medicală, UMF „Iuliu Hatieganu” Cluj-Napoca

³Departamentul de Morfopatologie, Spitalul Clinic Județean de Urgență Cluj-Napoca

Rezumat

Diagnosticul radio-imagistic al leziunilor mamare pune frecvent probleme de diagnostic diferențial. Dovedirea preterapeutică a malignității leziunilor este extrem de importantă, acest lucru făcându-se prin biopsie percutană (aspirativă cu ac fin sau histologică). În lucrarea de față, prin studiul retrospectiv al cazurilor examinate într-un interval de un an, am încercat să stabilim valoarea biopsiei histologice ecoghidate și modul în care aceasta se corelează cu tipul de leziune biopsiată, numărul fragmentelor extrase și grosimea acului utilizat. A fost de asemenea evidențiat avantajul pe care biopsia histologică îl prezintă comparativ cu biopsia aspirativă cu ac fin efectuată sub ghidaj clinic sau ecografic.

Cuvinte cheie : cancer mamar, biopsie percutană, ghidaj ecografic.

Introducere

Cancerul mamar reprezintă o entitate patologică complexă, al cărei diagnostic și tratament necesită colaborarea strânsă în cadrul unei echipe multidisciplinare, unde diagnosticul leziunilor mamare se bazează pe examenul clinic, radio-imagistic și examen citologic sau biptic [1].

Deși biopsia incizională sau excizională rămâne standardul de aur în diagnosticul leziunilor mamare incerte, ea poate fi înlocuită în majoritatea cazurilor de biopsia aspirativă cu ac fin sau biopsia percutană.

Există numeroase date în literatură care subliniază avantajele biopsiei percutane comparativ cu biopsia deschisă (incizională) în cazul leziunilor mamare [2]. Biopsia percutană permite extragerea mai multor fragmente tisulare cu examen histopatologic consecutiv, metoda fiind mai ieftină și mai rapid de efectuat. În plus, modificările cicatriciale secundare sunt minime pe clișeele mamografice ulterioare. Complicațiile de genul infecțiilor, a hematoamelor sau a pneumotoracelui sunt extrem de rare (1 la 1000 de proceduri) [3,4,5].

Scopul studiului de față a fost de a stabili rolul biopsiei histologice percutane ecoghidate în diagnosticul leziunilor mamare maligne, specificitatea acesteia și avantajul pe care îl oferă comparativ cu biopsia aspirativă cu ac fin.

Material și metodă

Pacienți. Studiul este retrospectiv și include un număr de 1463 de paciente de sex feminin care s-a prezentat pentru investigație paraclinică (mamografie și/sau ecografie) la Laboratorul de Radiologie și Imagistică Medicală al Spitalului Clinic

Județean de Urgență Cluj în perioada ianuarie 2005 – decembrie 2005. 61 de paciente cu vârsta minimă de 22 de ani și maximă de 81 de ani (medie de 53,23) au îndeplinit criteriile de includere în studiul de față, criterii enumerate mai jos:

- persoană de sex feminin cu leziune nepalpabilă, depistată mamografic și/sau ecografic, cu puncție citologică ecoghidată cu rezultat pozitiv
- persoană cu leziune nepalpabilă, depistată mamografic și/sau ecografic, încadrată în clasa BIRADS IV sau V (Breast Imaging Reporting and Data System) [6], cu puncție citologică ecoghidată cu rezultat neconcludent
- leziune mamară palpabilă, clinic și radio-imagistic malignă, cu puncție clinică cu rezultat neconcludent
- leziune mamară palpabilă, clinic malignă, mamografic și/sau ecografic încadrată în clasa BIRADS IV sau V însă pentru investigarea căreia clinicianul a optat pentru o biopsie histologică ecoghidată

Au fost excluse din studiu pacientele care au refuzat să urmeze procedura sau pacientele care la momentul examinării urmau un tratament anticoagulant. De asemenea, au fost excluse din studiu pacientele care nu au avut confirmarea histopatologică postoperatorie a leziunilor biopsiate.

Pacientele cu rezultat benign au fost urmărite o perioadă de un an de zile (prin examen clinic, mamografic și/sau ecografic), cele urmărite o perioadă mai scurtă de timp fiind de asemenea neincluse în studiu. Această perioadă de urmărire a pacienților, de un an, este o altă limită a studiului nostru având în vedere că recomandările din literatura de specialitate recomandă urmărirea pe o perioadă de minim 2 ani. Din păcate, în cazul pacienților noastre acest lucru este dificil de realizat ținând cont de diverșii factori socio-economici.

Metoda. Înainte de începerea procedurii propriu-zise s-a efectuat dezinfectia prealabilă a tegumentului și a traductorului cu betadină sau cu soluție alcoolică. Soluția alcoolică a fost utilizată și ca mediu de transmitere a ultrasunetelor în locul gelului steril. Am evitat contaminarea acului de biopsie prin plasarea punctului de inserție și menținerea acului de biopsie în permanență la distanță de traductor.

S-a utilizat pistol de biopsie automat Bard Magnum și ace de biopsie „tru-cut”, cu grosime de 14 Gauge și cu lungime de 16 cm. În cazul în care acele de biopsie mai sus menționate nu au fost disponibile s-au utilizat pistoale semiautomate Gallini de 10 cm lungime, 14 G (lungimea avansului 20 mm) sau pistoale automate de biopsie de unică utilizare BioPrince™ (18 cm, 18 G, 22 mm).

După dezinfectia tegumentului s-a practicat anestezia locală prin infiltrarea tegumentului și a planurilor superficiale cu soluție de lidocaină 1%, 7-10 ml. După instalarea anesteziei s-a efectuat o microincizie la nivelul tegumentului pentru a facilita introducerea acului de biopsie cu minimalizarea discomfortului pacienților.

Acul de biopsie a fost inserat întotdeauna longitudinal, cu vizualizarea lui ecografică pe toată lungimea (vezi figura 3 și 4).

Fragmentele tisulare s-au extras alegând în toate cazurile avansul de 22 mm a acului.

Numărul de fragmente extrase a fost variabil de la caz la caz, în funcție de calitatea fragmentelor tisulare și de gradul hemoragiei de la locul biopsiei.

În cazul în care biopsia ecoghidată s-a efectuat dintr-un grup de microcalcificeri s-au prelevat minim 4 și maxim 6 fragmente tisulare care au fost decărcate pe o placă Petri și umezite cu 1-2 ml soluție salină. Înainte de întreruperea procedurii fragmentele biptice au fost verificate mamografic, pentru documentarea prezenței microcalcificerilor în fragmentele extrase.

Mamografia cilindrilor tisulari s-a efectuat pe film mamografic, cu constante alese manual (24 KV, 14 mAs).

În cazul în care mamografic nu s-au pus în evidență microcalcificeri în cilindrii extrași, s-au prelevat fragmente suplimentare.

La sfârșitul procedurii s-a aplicat bandaj compresiv 5-10 minute și locul microinciziei a fost pansat cu bandetele sterile autoadezive („steri-strip”).

Cilindrii tisulari au fost recoltați în soluție de formol 10%.

Analiza histologică. Piesele au fost analizate în departamentul de morfopatologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență de către un morfopatolog cu experiență în examinarea biopsiilor mamare. Leziunile au fost clasificate conform standardelor în cancer invaziv, leziuni cu risc crescut și leziuni benigne.

Analiza statistică. Parametrii statistici asociați testului diagnostic au fost calculați utilizând programul software CATRom [7]. S-au calculat intervalele de confidență asociate frecvențelor diversilor parametrii [8]. Analiza statistică include valorile medii, deviația standard și semnificația statistică considerată la un $p < 0,05$.

Rezultate

Între pacientele lotului studiat de noi, nu s-a înregistrat nici un caz de infecție sau pneumotorace și o singură pacientă a prezentat hemoragie masivă după extragerea primului fragment tisular, obligându-ne să întrerupem procedura. Și în acest caz, rezultatul morfopatologic din fragmentul extras a fost concludent, real pozitiv (carcinom ductal invaziv cu componentă intraductală extinsă).

În figura 1 redăm distribuția pe clase de vârstă a pacientelor cu leziuni mamare supuse biopsiei, unde se remarcă incidența crescută între 40-60 de ani.

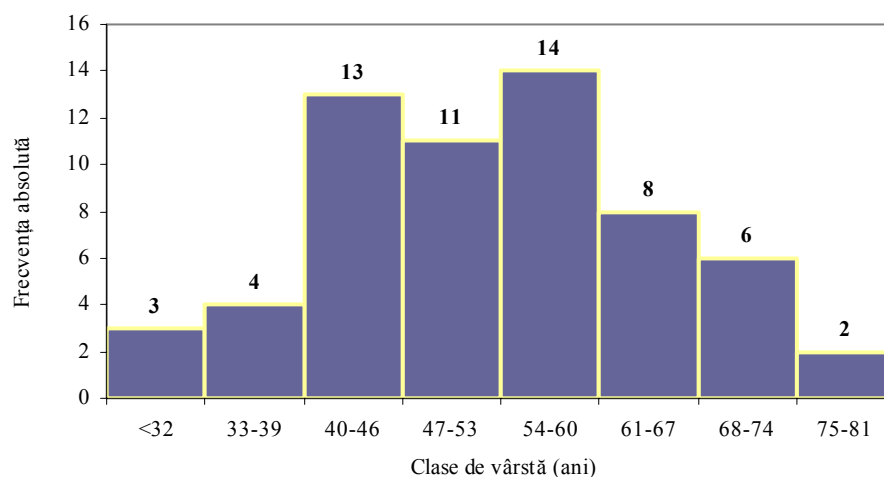


Fig. 1. Distribuția pe clase de vârstă a eșantionului studiat

În lotul studiat de noi, 67% dintre paciente au avut leziuni încadrate în clasa BI-RADS 5 (1 caz de microcalcifieri, restul densități nodulare) și 31% încadrate în clasa BI-RADS 4. 2% dintre paciente au avut leziuni BI-RADS 3, pentru diagnosticul de certitudine a acestora preferându-se biopsia percutana datorită imposibilității urmăririi lor la interval scurt – respectiv 6 luni – (planificarea unei sarcini, anxietate excesivă, părăsirea domiciliului). Din totalul pacientelor incluse în studiu, 4 au prezentat doar microcalcifieri pe imaginea mamografică, aceste microcalcifieri regăsindu-se la examinarea ecografică și prin urmare biopsia percutană făcându-se sub ecoghidaj și nu stereotactic. Într-un singur caz microcalcifierile au fost încadrate în clasa BI-RADS 5, restul fiind încadrate în clasa BI-RADS 4 (b și c).

Restul leziunilor au fost reprezentate de densități nodulare, distorsiune arhitecturală (1 caz) și densitate asimetrică (1 caz).

În cazul microcalcifierilor s-au extras 4, 5 sau 6 fragmente tisulare (care au fost ulterior radiografiate pentru documentarea prezentei microcalcifierilor în materialul extras) iar în cazul celorlalte leziuni s-au extras între 1 și 6 fragmente, în funcție de calitatea acestora.

Ținând seama de clasificarea BI-RADS, eșantionul studiat a înregistrat următoarea distribuție pe categorii de leziuni (vezi figura 2):

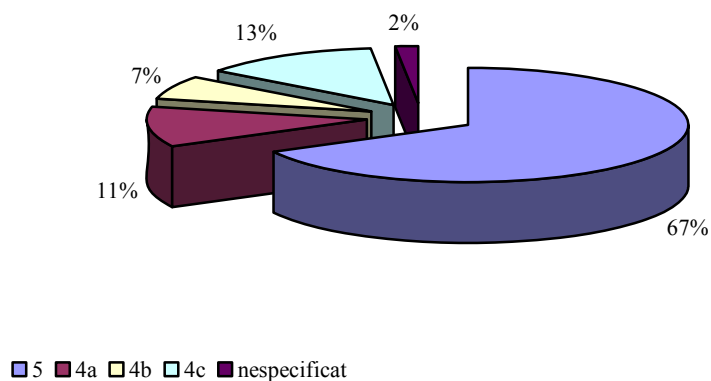


Fig. 2. Distribuția clasificării BIRADS

Parametrii statistici descriptivi ai variabilei vârstă stratificați în funcție de clasificarea BI-RADS sunt prezentați în tabelul 1.

Tabelul 1. Vârsta: parametrii statistici stratificat în funcție de variabila BIRADS

BIRADS	n	Media	Minim	Maxim	StDev
4a	7	52.57	22	81	18.68
4b	4	42.50	28	55	13.08
4c	8	54.12	40	68	10.19
5	41	54.547	27	77	11.44

n = volum eșantion; StDev = deviația standard



Fig 3: Leziune BI-RADS 5. Biopsia percutană cu ac semiautomat: tumoră filodă borderline. Rezultat morfopatologic definitiv: tumoră filodă malignă.



Fig 4: Leziune BI-RADS 5. Biopsie percutană cu ac semiautomat: carcinom ductal invaziv, diagnostic confirmat și de rezultatul morfopatologic postoperator.

Din totalul pacientelor incluse în studiu, 25 au avut o puncție citologică efectuată de clinician anterior biopsiei percutane (22 repetate sub ghidaj eco) și 47 o puncție citologică efectuată sub ghidaj ecografic (dintre acestea făcând parte și puncțiile repetate sub ecoghidaj). Toate puncțiile clinice au fost neconcludente iar dintre cele ecoghidate 23 au fost doar suspecte sau neconcludente. Biopsia percutană din aceste leziuni a fost concludentă în 22 de cazuri, un caz fiind diagnosticat ca leziune de graniță după biopsia percutană (tumoră filodă borderline), postoperator dovedindu-se a fi o leziune malignă (tumoră filodă malignă).

Distribuția rezultatelor obținute la puncția clinică exprimate ca frecvențe absolute, relative și interval de confidență de 95% asociat frecvenței relative sunt redată în tabelul 2.

Tabelul 2. Rezultate ale puncției clinice

	Frecvență absolută	Frecvență relativă	95% CI frecvență relativă
Fără citologie	36	59.02	[45.92 – 72.10]
Neconcludent	22	36.07	[24.61 – 49.15]
Suspect	3	4.92	[1.66 – 13.08]
Total	61	100	

Distribuția rezultatelor obținute la puncția citologică exprimate ca frecvențe absolute, relative și interval de confidență de 95% asociat frecvenței relative sunt redată în tabelul 3.

Tabelul 3. Rezultate ale puncției citologice ecoghidate

	Frecvență absolută	Frecvență relativă	95% CI
Benign	5	8.20	[3.30 – 18.01]
Malign	19	31.15	[19.69 – 44.23]
Suspect	13	21.31	[11.50 – 34.39]
Neconcludent	10	16.39	[8.22 – 27.84]
Fără citologie	14	22.95	[13.14 – 36.04]
Total	61	100	

Pentru a verifica ipoteza conform căreia există corelații semnificative statistic între rezultatele puncției citologice efectuată sub ghidaj clinic, puncției citologice ecoghidate, numărul fragmentelor extrase, grosimea acului și rezultatele examenului morfofpatologic postioptic și respectiv postoperator, s-a calculat coeficientul de corelație al rangurilor Spearman. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 4.

Tabelul 4. Coeficientul de corelație Spearman: rezultate

	BIRADS	PcClinică	PEco	NrFrag	GAc	RezBio
BIRADS	1					
PcClinică	0.0222	1				
PEco	0.0004	-0.0102	1			
NrFrag	0.0628	0.1179	0.1922	1		
GAc	-0.1535	0.1531	-0.0735	-0.1997	1	
RezBio	0.4585*	-0.1144	0.3635*	0.1628	-0.0053	1
RezMPPO	0.3645*	-0.0644	0.3304*	0.0682	-0.0509	0.7341*

PcClinică = puncție clinică; PEco = puncție eco-ghidată; NrFrag = număr fragmente;
GAc = grosime ac puncție eco-ghidată; RezBio = rezultat biopsie eco-ghidată;
RezMPPO = rezultat morfofpatologic postoperator; * p < 0.05

Două cazuri din șaizeci și unu au fost clasificate ca și patologie de graniță la puncția biopsie ecoghidată. Rezultatul morfolologic postoperator a diagnosticat un singur caz cu patologie de graniță. Cazurile diagnosticate prin biopsie ecoghidate și/sau examen morfofpatologic post-operator la graniță nu au fost luate în considerare în calcularea parametrilor statistici ai biopsiei histologice ecoghidate ca test diagnostic în patologia tumorală mamară.

Pe baza tabelului de confidență prezentat în tabelul 5 au fost calculați următorii parametri:

Tabelul 5. Puncția histologică ecoghidată ca test diagnostic în patologia malignă mamară

	PatMalign⁺	PatMalign⁻	Total
PcBiopEco⁺	50	0	50
PcBiopEco⁻	2	6	8
Total	52	6	58

1. **Sensibilitate = 0.9615**, 95%CI [0.8748 - 0.9897]
2. **Specificitate = 1.0000**, 95%CI [0.6070 - 1.0000]
3. **Rata falșilor pozitivi = 0.0000**, 95%CI [0.0000 - 0.3930]
4. **Rata falșilor negativi = 0.0385**, 95%CI [0.0103 - 0.1252]
5. **Prevalența = 0.8966**, 95%CI [0.7962 - 0.9538]
6. **Acuratețea testului = 0.9655**, 95%CI [0.8868 - 0.9907]
7. **Rația de probabilitate = 0.0385**, 95%CI [0.0107 - 0.1570] -> testul negativ exclude boala
8. **Riscul relativ = 4.0000**, 95%CI [1.2227 - 12.0109]

Hi pătrat: $\chi^2 = 34.1312$ (p = 0.0000)

Coeficientul de corelație dihotomială $\Phi = 0.7671$

Discuții

Biopsia percutană este indicată în cazul leziunilor din clasele BI-RADS 4 (suspecte) și 5 (puternic sugestive de malignitate). În cazul în care într-o leziune BI-RADS 4 biopsia percutană este cu rezultat benign concordant cu aspectul radio-imagistic, pacientele sunt scutite de o intervenție chirurgicală cu scop diagnostic.

În cazul leziunilor nodulare BI-RADS 5, utilitatea biopsiei percutane depinde de stadiul clinic al leziunilor, fiind indicată în cazul în care este necesară instituirea chemoterapiei neoadjuvante cu intervenția chirurgicală într-un timp secund. În cazul intervenției primare, respectiv sector cu nodul santinelă, biopsia percutană nu este indicată în leziunile nodulare BI-RADS 5 [9]. În toate celelalte cazuri de leziuni BI-RADS 5 (respectiv microcalcifieri) biopsia percutană preoperatorie furnizează informații referitoare la caracterul leziunii (prezența unei componente invazive sau nu) cu planificarea corespunzătoare a tipului de intervenție (sector în caz de carcinom ductal in situ, sector cu nodul santinelă în caz de carcinom invaziv) [10,11,12].

Deși datele din literatura sugerează necesitatea prelevării a minimum 6 fragmente biotice în cazul microcalcifierilor [13] și a minim 3 sub ghidaj ecografic 3D [14], în cazul studiului de față rezultatul definitiv morfopatologic al cilindrilor tisulari nu a depins de numărul fragmentelor extrase. Inclusiv în cazurile în care s-a prelevat un singur fragment biptic, rezultatele au fost concludente.

De asemenea, nu a existat o corelație între grosimea (14 G vs 18 G) [15] sau tipul acului utilizat (automat vs semiautomat).

Nu a existat în studiul nostru nici un rezultat fals pozitiv și au fost doar două cazuri de rezultate fals negative (0.03%), respectiv un caz de carcinom lobular invaziv și unul de adenoză sclerozantă plus focare de carcinom ductal in situ.

Trei cazuri nu au fost luate în considerare în calcularea parametrilor statistici. Acestea au fost cazurile diagnosticate ca leziuni de graniță. Două dintre acestea au fost diagnosticate cu patologie la graniță la examenul morfopatologic consecutiv biopsiei percutane (respectiv tumoră filodă borderline și hiperplazie epitelială ductală atipică) dovedindu-se, postoperator, a fi leziuni maligne (tumoră filodă malignă respectiv carcinom lobular invaziv). Un caz a fost diagnosticat secundar biopsiei percutane ca fiind malign (tumoră filodă malignă), postoperator diagnosticul fiind de leziune la graniță (respectiv tumoră filodă borderline). Toate aceste leziuni (tumoră filodă, carcinomul lobular și hiperplazia epitelială ductală atipică) fac parte, împreună cu alte leziuni (cicatricea radiației, carcinomul lobular in situ etc) din categoria leziunilor care, odată diagnosticat în fragmentele tisulare obținute prin biopsie percutană trebuie obligatoriu excizate datorită riscului mare de subevaluare morfopatologică.

Datele obținute în studiul nostru referitor la valoarea biopsiei percutane ecoghidate sunt comparabile cu cele din literatură, respectiv sensibilitate de 96,15%, specificitate de 100%, cu o acuratețe a testului de 96,55% și o rație de probabilitate de 3,85%. Valorile sunt mai mari în cazul manoperei ecoghidate decât în cazul ghidajului stereotaxic [16], acest fapt explicându-se în principal prin faptul că sub ecoghidaj, manopera este efectuată în timp real, cu posibilitatea re poziționării acului în timpul manevrei de extragere a fragmentelor.

Biopsia percutană are o sensibilitate și o specificitate mai mare comparativ cu biopsia aspirativă cu ac fin, cu mai puține rezultate fals negative sau fals pozitive. Din acest motiv considerăm că în cazul leziunilor BI-RADS 4 sau 5 în care puncția citologică ecoghidată este neconcludentă se impune nu repetarea examenului citologic, ci efectuarea unei biopsii percutane.

De menționat că limita principală a studiului de față o constituie numărul limitat de pacienți. Numărul limitat nu se datorează numărului redus de pacienți care ar fi avut indicație clinică de a urma procedura mai sus menționată ci datorită faptului că un număr important de pacienți, cu leziuni cel mai probabil benigne, au ales ca alternativă diagnostică intervenția chirurgicală cu examen histopatologic consecutiv.

Concluzii

1. Biopsia histologică percutană are o valoare deosebită în diagnosticul leziunilor mamare, atât în strategiile de screening cât și în cele de diagnostic.

2. În cazul leziunilor maligne în care intervenția chirurgicală este primul pas terapeutic puncția citologică pozitivă permite planificarea corespunzătoare a tipului de intervenție.
3. În cazul în care există discordanță între examenul citologic și examenul clinic și/sau radio-imagistic (mamografie și/sau ecografie), se va recomanda efectuarea unei biopsii histologice percutane și nu repetarea unui examen citologic.
4. În cazul leziunilor maligne în care este necesară instituirea chimioterapiei neoadjuvante se va indica biopsia percutană.
5. Rezultatele biopsiei percutane nu sunt influențate de grosimea acului sau de numărul fragmentelor extrase.
6. Biopsia percutană are valoare deosebită și în cazul leziunilor benigne, „triplul test” negativ (respectiv examen clinic negativ, mamografie și/sau ecografie negativă și biopsie negativă) evitând intervențiile chirurgicale inutile.

Bibliografie

1. RUTGERS E.J., TUUT M.K.: CBO guideline "Breast cancer: screening and diagnosis", *Ned Tijdschr Geneesk*, 2001, 3, 115-9.
2. LIBERMAN L., Percutaneous image-guided core breast biopsy, *Radiol Clin North Am*, 2002, 3, 483-500.
3. PERRY N.M., Quality assurance in the diagnosis of breast disease, EUSOMA Working Party, *Eur J Radiol*, 2000, 34, 208-19.
4. HELBICH T.H., PFARL G., LOMOSSCHITZ F., STADLER A., RUDAS M., WOLF G., Role of core needle breast biopsy in probably benign lesions, *Radiology*, 2000, 217, 527.
5. LIBERMAN L., Clinical management issues in percutaneous core breast biopsy, *Radio Clin North Am*, 2000, 38, 791-807.
6. American College of Radiology BI-RADS MRI, Breast Imaging Reporting and Data System BI-RADS Atlas 4th ed. 2003, Reston, VA: American College of Radiology.
7. BOLBOACĂ S., JÄNTSCHI L., ACHIMAȘ CADARIU A., Creating Diagnostic Critical Appraised Topics. CATRom Original Software for Romanian Physicians, *Applied Medical Informatics*, 2004, 14, 27-34.
8. Binomial Confidence Intervals; ©2006, VLFS; [cited 2007 January]. Available online: http://vl.academicdirect.org/applied_statistics/binomial_distribution/
9. HOORNTJE L.E., PEETERS P.H., MALI W.P., BOREL RINKES I.H., Is stereotactic large-core needle biopsy beneficial prior to surgical treatment in BI-RADS 5 lesions?, *Breast Cancer Res Treat.*, 2004, 2, 165-70.
10. DZIERZANOWSKI M., MELVILLE K.A., BARNES P.J., MACINTOSH R.F., CAINES J.S., PORTER G.A., Ductal carcinoma in situ in core biopsies containing invasive breast cancer: correlation with extensive intraductal component and lumpectomy margins, *J Surg Onco*, 2005, 2, 71-6.
11. YEN T.W., HUNT K.K., ROSS M.I., MIRZA N.Q., BABIERA G.V., MERIC-BERNSTAM F., SINGLETARY S.E., SYMMANS W.F., GIORDANO S.H., FEIG B.W., AMES F.C., KUERER H.M., Predictors of invasive breast cancer in patients with an initial diagnosis of ductal carcinoma in situ: a guide to selective use of sentinel lymph node biopsy in management of ductal carcinoma in situ, *J Am Coll Surg*, 2005, 4, 516-26.
12. DE ROOS M.A., PIJNAPPEL R.M., GROOTE A.D., DE VRIES J., POST W.J., BAAS P.C., Ductal carcinoma in situ presenting as microcalcifications: the effect of stereotactic large-core needle biopsy on surgical therapy, *Breast*, 2004, 6, 461-7.

13. COOMBS N.J., LADDIE J.R., ROYLE G.T., RUBIN C.M., BRILEY M.S., Improving the sensitivity of stereotactic core biopsy to diagnose ductal carcinoma in situ of the breast: a mathematical model, *Br J Radiol*, 2001, 878, 123-6.
14. SAUER G., DEISSLER H., STRUNZ K., HELMS G., REMMEL E., KORETZ K., TERINDE R., KREIENBERG R., Ultrasound-guided large-core needle biopsies of breast lesions: analysis of 962 cases to determine the number of samples for reliable tumour classification, *Br J Cancer*, 2005, 2, 231-5.
15. CHO N., MOON W.K., CHA J.H., KIM S.M., KIM S.J., LEE S.H., CHUNG H.K., CHO K.S., PARK A., NOH D.Y., Sonographically guided core biopsy of the breast: comparison of 14-gauge automated gun and 11-gauge directional vacuum-assisted biopsy methods, *Korean J Radiol*, 2005, 2, 102-9.
16. PIJNAPPEL R.M., VAN DEN DONK M., HOLLAND R., MALI W.P., PETERSE J.L., HENDRIKS J.H., PEETERS P.H., Diagnostic accuracy for different strategies of image-guided breast intervention in cases of nonpalpable breast lesions, *Br J Cancer*, 2004, 3, 595-600.

LEGUMELE ȘI FRUCTELE –FACTORI DE PROTECȚIE ÎN CANCEROGENEZA MAMARĂ

NĂSUI BOGDANA, IONUȚ CARMEN,CURȘEU DANIELA

Catedra de Sănătatea Mediului, UMF Cluj- NAPOCA

Rezumat

Cancerul reprezintă a doua cauză de deces după bolile cardiovasculare. Între 30 și 40% dintre cancerele cu diferite localizări pot fi influențate de dietă. Constituenții alimentației sunt relaționați cancerului în mai multe moduri: pot cauza cancer, pot fi promotori ai cancerului sau pot proteja împotriva cancerului. Legumele și fructele sunt furnizoare de constituenți alimentari bioactivi, foliați și antioxidanți care acționează protector în toate etapele carcinogenezei mamare.

Studiul de față a estimat consumul de legume și fructe la un lot compus din 223 pacienți cu cancer mamar și 211 martori. Rezultatele studiului arată o relație de asociere semnificativă statistic între aportul alimentar de legume și fructe și cancerul de sân. Rezultatele sunt în concordanță cu datele din literatură și pot fi folosite în implementarea politicilor de profilaxie ale cancerului la nivel național.

Cuvinte cheie: cancer de sân, ingestia de legume și fructe, riscul la cancer.

Introducere

Se estimează că aproape 40% dintre cancerele care apar la femei sunt relaționate alimentației. Factorii de risc ai cancerului de sân au fost intens studiați datorită incidenței crescute a acestei patologii. În general, *factorii reproductivi* (vârsta precoce a menarhei, menopauza târzie, numărul de nașteri, lactația, lungimea ciclului menstrual) sunt considerați determinanți majori ai riscului cancerigen (1,2).

Alături de factorii hormonodependenți, *istoricul familial* de cancere a fost de asemenea considerat un predictor important al riscului de cancer mamar pentru femeile care prezintă mutații ale genelor *BRCA* și *ATM*. Pentru majoritatea femeilor diagnosticate cu cancer de sân etiologia rămâne încă necunoscută (1).

Determinanții alimentari care cresc riscul la cancer de sân au efect maxim în primii douăzeci de ani ai vieții. Creșterea rapidă în cursul copilăriei, excesul caloric, obezitatea postmenopauzală și consumul de alcool măresc riscul cancerigen. La polul opus menținerea unei activități fizice regulate poate reduce riscul cancerigen (3).

Legumele și fructele par să fie protectoare față de cancerul de sân. Nu se știe cu certitudine dacă acest lucru este datorat proprietăților antioxidante ale vitaminelor A, E, C conținute de acestea sau dacă ingestia crescută este mai degrabă markerul unui stil de viață sănătos. Conceptul „stil de viață sănătos”, în cadrul dietei, poate fi marcat de tendința unui consum crescut de legume și fructe, consecutiv unui aport alimentar scăzut de grăsimi, carne și produse de carne (4,5).

Scopul studiului de față a fost de a evalua relația de asociere dintre consumul de legume și fructe și riscul de apariție a cancerului de sân la femeile din zona noastră geografică.

Material și metodă

Pentru atingerea obiectivului propus s-a folosit un studiu epidemiologic caz – martor. Cazurile au fost reprezentate de paciente diagnosticate cu cancer mamar și internate în Institutul "Ion Chiricuță" Cluj Napoca, iar martorii de femei aparent sănătoase, selecționate din zonele de proveniență ale cazurilor sau paciente cu altă patologie decât cea studiată.

Estimarea consumului de alimente s-a făcut prin utilizarea unui chestionar de frecvență alimentară, elaborat de Institutul National al Cancerului (National Cancer Institute) al SUA în colaborare cu alte universități. Chestionarul a fost adaptat obiceiurilor culturale românești astfel încât să se păstreze validitatea și reproductibilitatea acestuia. A fost aplicat unui număr de 223 cazuri și 211 martori, utilizând interviul (6, 7).

Chestionarul de frecvență alimentară a fost precedat de o parte introductivă cu întrebări focalizate pe date generale de identificare și date ce investighează alți factori de risc ai cancerului mamar (hormonodependenți, stil de viață). S-au investigat cele mai consumate legume și fructe din aria noastră geografică, separat pe cele două sezoane cu disponibilități diferite de aprovizionare (sezonul cald și sezonul rece), denumite vara și iarna. Întrebările au fost astfel formulate încât au apreciat atât frecvența consumului cât și cantitatea ingerată zilnic, pe baza estimărilor fiecărui subiect interviat.

Prelucrarea statistica a informațiilor culese s-a făcut în programele Microsoft Excel și Epiinfo considerându-se semnificative statistic rezultatele pentru care valoarea lui $p < 0.05$.

Rezultate

Aportul alimentar de legume a fost semnificativ mai scăzut la pacientele cu cancer mamar comparativ cu lotul martor (fig.1.), atât pe perioada verii cât și pe perioada iernii ($p < 0.001$). De asemenea la bolnavele cu cancer consumul de legume a fost sub recomandările Ministerului Sănătății, pentru ambele perioade, în timp ce la martori necesarul a fost satisfăcut pe perioada verii, depășind norma recomandată.

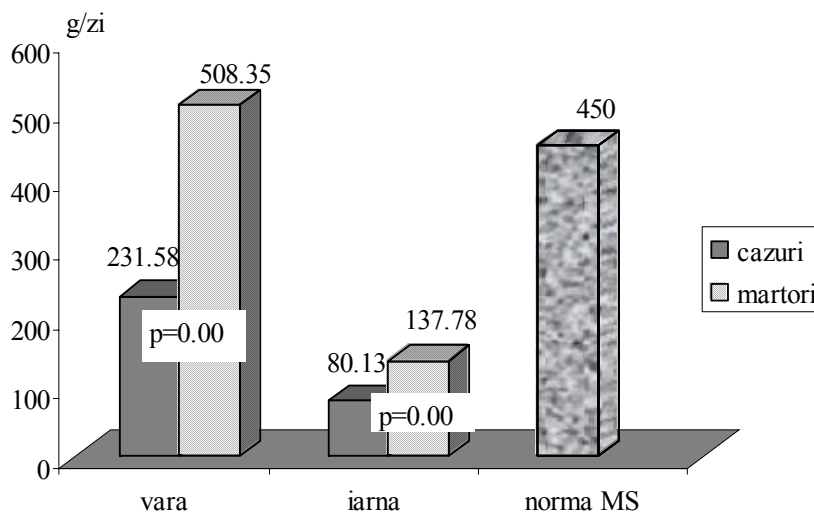


Fig. 1. Consumul mediu de legume ale celor două loturi

Ingestia alimentară de fructe a fost semnificativ mai mare la pacientele cu cancer mamar față de lotul martor pe perioada verii ($p = 0.001$), depășind chiar

recomandările existente, în timp ce în timpul iernii consumul a fost scăzut pentru ambele loturi, fără diferențe semnificative între acestea (fig.2.)

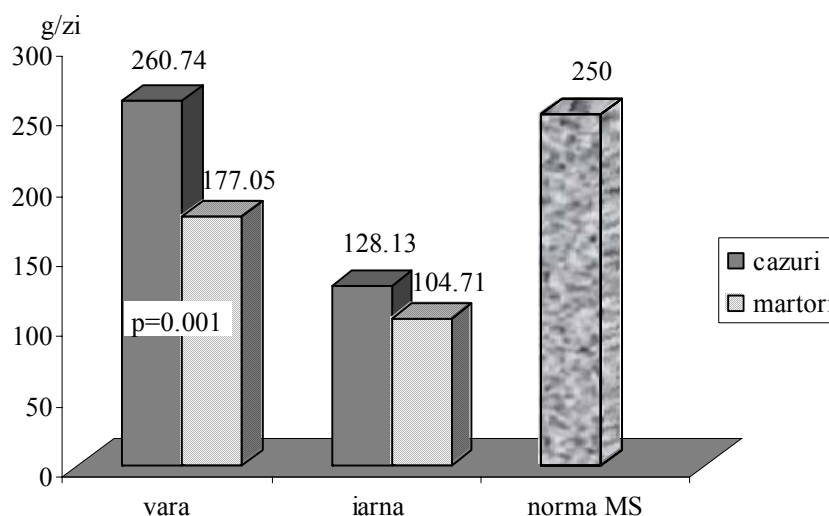
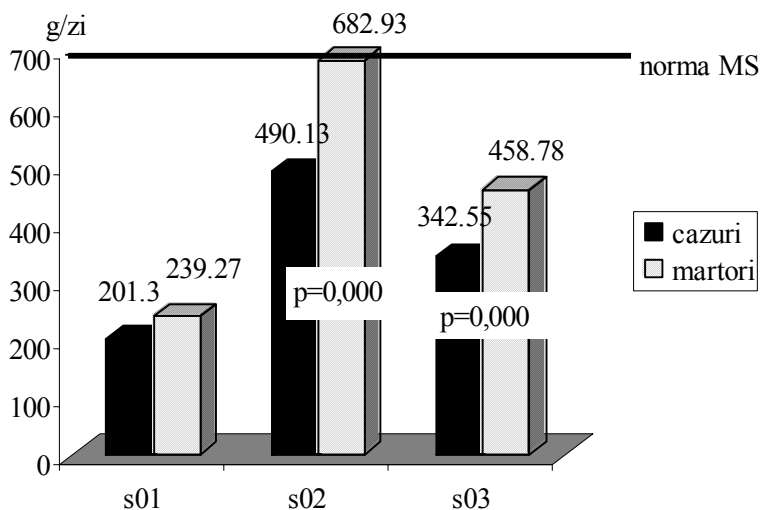


Fig. 2. Consumul mediu de fructe ale celor două loturi

Apreciind pentru întregul an aportul grupei de alimente legume verzi și fructe se poate observa că nivelul consumului mediu la paciențele cu cancer mamar este semnificativ mai mic față de lotul martor. Pentru ambele loturi aportul s-a dovedit a fi inferior normei recomandate din cauza consumului scăzut din cursul iernii, când disponibilitățile de aprovizionare a populației din această grupă sunt deficitare (fig. 3.).



Legenda: s01- consumul de legume și fructe iarna; s02-consumul de legume și fructe vara; s03- consumul mediu de legume și fructe pentru întregul an.

Fig.3. Aportul alimentar mediu al grupei de alimente legume și fructe

Riscul de apariție al cancerului mamar a fost evaluat pentru fiecare din cele patru nivele de consum alimentar stabilite prin împărțirea lotului studiat pe cvartilele cu ajutorul calculului statistic. Pentru nivelele stabilite s-a calculat valoarea lui odds ratio

și s-a observat efectul protector ($OR < 1$; $p < 0,01$) al legumelor și fructelor la nivele ale ingestiei de peste 363 g/zi, corespunzătoare cvartilei a treia și a patra. Pe de altă parte nivelele scăzute ale aportului alimentar de sub 218 g/zi se corelează cu riscul crescut de apariție al cancerului de sân ($OR = 3,86$; $p < 0,001$) (tabelul nr.1).

Tabelul nr.1 Odds ratio pe cvartile de consum de legume și fructe

Nivelele ingestiei de legume și fructe	OR	CI95%	p
Q1 : 8-218 g/zi	3,86	2,76-9,07	<0,001
Q 2 : 218-363 g/zi	0,29	0,11-0,36	0,280
Q 3 : 363-546 g/zi	0,46	0,28-0,74	<0,001
Q4 : 546-2250 g/zi	0,55	0,35-0,88	0,01

Legenda : Q1 – nivelul consumului corespunzător primei cvartile; Q2 – nivelul consumului corespunzător cvartilei a doua; Q3 – nivelul consumului corespunzător cvartilei a treia; Q4 – nivelul consumului corespunzător cvartilei a patra.

Discuții

Cancerul reprezintă a doua cauză de deces atât în România cât și în întreaga lume (8). Se consideră că între 30% și 40% dintre cazurile de cancer pot fi prevenite prin adoptarea unor diete corespunzătoare (3). În cadrul politicii de profilaxie a cancerului un rol central îl ocupă adoptarea unei alimentații bogate în legume și fructe (8). Acțiunea anticancerigenă a legumelor și fructelor se datorează probabil conținutului bogat în substanțe aparținând unor clase chimice variate denumiți compuși bioactivi, inclusiv a conținutului ridicat în carotenoizi și vitamina C. Legumele și fructele sunt surse valoroase și de fibre alimentare, proteine, foliați, calciu și fier care exercită efecte benefice și în cadrul profilaxiei altor patologii. În contrast cu legumele și fructele aportul excesiv de produse de origine animală, bogate în grăsimi (carne și produse de carne, lapte și produse lactate) constituie un posibil factor de risc al cancerului de sân. Ca urmare a urbanizării și a industrializării dietele tradiționale bogate în proteine de origine vegetală consecința consumului crescut de derivate de cereale, legumele și fructele au fost înlocuite cu o alimentație tipică țărilor vestice economic dezvoltate, axate pe folosirea produselor alimentare dense caloric, de origine animală și a produselor bogate în grăsimi.

Rezultatele studiului de față arată că populația din zona noastră geografică prezintă un consum deficitar de legume și fructe în sezonul rece, care nu-i asigură efectul protector al constituenților conținuți de această grupă de alimente. Totuși, aportul mediu zilnic estimat pentru întregul an se situează la nivelul recomandărilor europene (EURODIET), asemănătoare celor americane, care prevăd un consum de cel puțin 400g/zi de fructe și vegetale. Recomandările din țara noastră depășesc cu mult acest nivel (700 g/zi) (9, 10). Având în vedere faptul că studiul de față, la fel ca și alte studii din literatură, susține că efectul protector față de cancerul de sân este asigurat la un nivel mediu al consumului de 400 g/zi, putem afirma că recomandările existente în țara noastră necesită să fie reevaluate.

Politicile de profilaxie a cancerului sunt rezultatul unor colaborări între diferite instituții și agenții naționale și internaționale care au ca scop comun implementarea unui stil de viață sănătos și a recomandărilor alimentare necesare în acest sens. Institutul Național al Cancerului din SUA (National Cancer Institute) recomandă ingestia zilnică a 5 sau mai multe porții (o porție = 80 g) de legume și fructe (în special legume verzi și galbene și fructe citrice) din care cel puțin 3 porții să fie de legume (1). Rezultatele obținute prin acest studiu dovedesc că paciențele cu cancer de sân preferă fructele în detrimentul legumelor, ceea ce ne determină să credem că acei compuși bioactivi cu rol protector anticancerigen se găsesc preponderent în legume.

Deoarece în cursul proceselor de preparare culinară se pot distruge sau se pot pierde diferiți constituenți sensibili la acțiunea căldurii (vitamina C), este important ca legumele și fructele să se consume pe cât posibil în stare crudă (11).

Studiul de față fiind retrospectiv, tip anchetă alimentară, nu a putut evalua alți posibili factori de risc cancerigeni conținuți de grupa legumelor și a fructelor (pesticide, fertilizanți).

Este unanim recunoscut faptul că costurile tratării cancerului sunt mult mai mari decât cele ale profilaxiei. Implementarea unor programe de profilaxie eficiente presupune obligatoriu implicarea populației pe baza informațiilor oferite de servicii de sănătate publică. Un rol important în atingerea acestor obiective îl are mass media care se bucură de o largă audiență și la grupuri la care serviciile de sănătate nu pot ajunge.

Concluzii

1. Aportul alimentar al subiecților investigați nu acoperă nevoile zilnice de fructe și legume recomandate de normele Ministerului Sănătății.
2. Pacientele cu cancer de sân sunt lipsite de factorii de protecție conținuți în grupa legumelor verzi și a fructelor datorită consumului scăzut de legume.
3. Cota riscului de apariție a cancerului de sân evidențiază faptul că această grupă de alimente constituie un factor de protecție ($OR < 1$) când se asigură un consum mai mare de 363 g /zi, în timp ce ingestia foarte scăzută, de sub 218 g/zi, reprezintă un factor de risc ($OR > 1$).

Bibliografie

1. ***WORLD CANCER RESEARCH FUND, AMERICAN INSTITUTE OF CANCER RESEARCH: *Food, Nutrition and Prevention of Cancer: a global perspective*. Washington DC: 1997, 252-287.
2. F. SIZER, E. WHITNEY- *Nutrition. Concepts and Controversies*. Ninth Edition, Thomson Wadsworth, 2003, 137-177.
3. BARBARA C. PENCE, DALE M. DUNN- *Nutrition and women's cancers*, CRC Press, 2000, 1-57.
4. HAUF V., CONDER U. : Nutrition and primary prevention of breast cancer risk. *Eur.J. Obstet. Gynecol.Reprod.Biol*, 2005, 123 (2): 139-49
5. LAGIONE P., OLSEN J., TRICHOPOULOS D. : Consumption of vegetables and fruits and risk of breast cancer. *Jama*, 2005, 293(18) :2209.
6. KENNETH J. ROTHMAN, SANDER GREENLAND- *Modern Epidemiology*, Second Edition, Lippincott Raven Publishers, 1998
7. LANDRIVON G., DELAHAYE F.: *Cercetarea clinică. De la idee la publicare*, Ed. Edit Dan 2001, 49-61.
8. WILLIAMS M.T., HORD NG. : The role of dietary factors in cancer prevention: beyond fruits and vegetables. *Nutr. Clin. Pract.* 2005; 20 (4) : 451 – 9.
9. IONUȚ C., POPA M., LAZA V., ȘIRBU D., CURȘEU D., IONUȚ R.: *Compendiu de Igienă*, Ed. Medicală Universitară, Cluj Napoca, 2004, 415-431.
10. IONUȚ C.- Orientări europene privind calitatea și supravegherea mediului, *Revista de Igienă și Sănătate Publică*, 2005, vol. 55 Nr.1, Ed. Cartea Universitară, p.50-63.
11. ***Nutrition and Cancer-Cerin Symposium, Cerin Paris 1995, p.101-195 .

Vegetables and fruits –protective factors against mammary cancerogenesis

NĂSUI BOGDANA, IONUȚ CARMEN, CURȘEU DANIELA

Summary

Cancer ranks second only to heart disease as a leading cause of death. Some 20 to 50 percent of total cancers are influenced by diet. Such constituents of the diet relate to cancer in several ways: food and their components may cause cancer, may promote cancer or may protect against cancer. Fruits and vegetables provide bioactive compounds, folate and antioxidants that are protective in all the stages of cancer process. The study estimates fruits and vegetables intake of 223 cases and 211 controls. The results of the study shows an association between the intake of vegetables and fruits and the decrease risk of cancer. This results are useful to the development of the national policy for prevention the breast cancer.

Key words: breast cancer, vegetables and fruits intake, cancer risk.

SCREENINGUL SINDROMULUI METABOLIC LA PERSOANELE CU DIABET ZAHARAT TIP 2 NOU DEPISTAT

CAMELIA GEORGETA RĂCĂREANU, GABRIELA ROMAN,

Centrul de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice, Cluj-Napoca

Rezumat

Sindromul metabolic fost promovat ca metodă practică de identificare a persoanelor cu risc crescut de a dezvolta diabet zaharat tip 2 și patologie cardiovasculară. Studiile clinice au pus în evidență faptul că, atât la depistarea diabetului zaharat tip 2 cât și în evoluția sa, prevalența sindromului metabolic și a patologiei cardiovasculare aterosclerotice este crescută motiv pentru care diabetul zaharat a fost considerat "echivalent de risc coronarian".

În acest scop am studiat prevalența sindromului metabolic la persoanele cu diabet zaharat tip 2 nou depistat și evaluarea riscului cardiovascular asociat acestei afecțiuni. Prevalența crescută a obezității abdominale (72.3 %) la persoanele cu diabet zaharat tip 2 se corelează cu prevalența crescută a sindromului metabolic. Femeile cu obezitate abdominală au prezentat valori semnificativ mai mari ale trigliceridelor comparativ cu femeile ce nu prezentau acest factor de risc ($p=0.02$). Și la bărbați s-a observat o tendință de creștere a valorilor trigliceridelor serice cu creșterea circumferinței abdominale, dar fără a se atinge semnificația statistică. La 88,6 % dintre femei și 78,6 % dintre bărbați a fost diagnosticat sindromul metabolic.

Cuvinte cheie: sindrom metabolic, risc cardiovascular, dislipidemie, obezitate abdominală

Introducere

Sindromul metabolic face parte, alături de diabetul zaharat, dislipidemii, obezitate, din grupul bolilor metabolice nutriționale. Ele se definesc prin determinismul predominant metabolic și nutrițional, frecvența epidemică și evoluție cronică însoțită de complicații severe care scad calitatea vieții și cresc mortalitatea la nivel populațional⁽¹⁾

Sindromul metabolic fost promovat ca metodă practică de identificare a persoanelor cu risc crescut de a dezvolta diabet zaharat tip 2 și patologie cardiovasculară. Asocierea de condiții clinice și biologice, descrisă inițial de Reaven⁽²⁾ în 1988, consistă în obezitate abdominală, insulinorezistență, alterarea toleranței la glucoză, nivel crescut al trigliceridelor serice, nivel scăzut de HDL-colesterol și creșterea tensiunii arteriale. Acest sindrom are o importanță considerabilă pentru înțelegerea fiziopatologiei diabetului zaharat, care apare ulterior, atunci când insulinorezistența caracteristică sindromului metabolic se asociază cu deficit insulinosecretor.⁽³⁾

În stadiul de "prediabet" (echivalent cu "potențial diabet"), în care sunt incluse cele două tipuri de anomalie a metabolismului glucidic, respectiv glicemia bazală modificată (IFG) și scăderea toleranței la glucoză (IGT), aterogeneza este deja prezentă,

fapt ce explică prevalența crescută a patologiei cardiovasculare la persoanele cu diabet zaharat tip 2 nou depistat și riscul cardiovascular crescut al acestora.⁽⁴⁾

Studiile clinice au pus în evidență faptul că, atât la depistarea diabetului zaharat tip 2 cât și în evoluția sa, prevalența sindromului metabolic și a patologiei cardiovasculare aterosclerotice este crescută motiv pentru care diabetul zaharat a fost considerat "echivalent de risc coronarian" (ATP III).⁽⁵⁾

Diagnosticarea diabetului zaharat tip 2 impune depistarea și evaluarea factorilor de risc cardiovascular urmate de stabilirea și adaptarea managementului clinic.

Sindromul metabolic este definit conform criteriilor IDF 2005 (International Diabetes Federation) prin prezența obligatorie a obezității abdominale, (apreciată prin măsurarea circumferinței abdominale) la populația caucaziană: diametrul taliei ≥ 94 cm la bărbați și ≥ 80 cm la femei, la care se adaugă cel puțin două din următoarele elemente:

- TG ≥ 150 mg/dl (1.7 mmol/l) sau tratament specific pentru acest tip de dislipidemie
- HDL-C < 40 mg/dl la bărbați și < 50 mg/dl la femei sau tratament specific pentru acest tip de dislipidemie
- TA $\geq 130/85$ mmHg sau tratament pentru HTA diagnosticată anterior
- Glicemia a jeun (FPG) ≥ 100 mg/dl (5.6 mmol/l) sau diabet zaharat tip 2 diagnosticat anterior.⁽⁶⁾

Obiectivele studiului

Studiul a avut ca obiective evaluarea prevalenței sindromului metabolic la persoanele cu diabet zaharat tip 2 nou depistat și evaluarea riscului cardiovascular asociat acestei afecțiuni.

Material și metodă

Am luat în studiu 1633 de persoane cu diabet zaharat tip 2 nou depistat, aflate în evidența Centrului Clinic de Diabet, Nutriție, Boli Metabolice Cluj Napoca. Acest lot a fost evaluat prin analiza fișelor medicale de evidență și monitorizare și s-au înregistrat date privind istoria personală și familială a subiectului, referitoare la patologia cardiovasculară și metabolică, datele antropometrice, respectiv greutate, înălțime și circumferința abdominală, calculându-se indicii de masă corporală conform criteriilor stabilite de către Organizația Mondială a Sănătății pentru clasificarea obezității, profilul lipidic (colesterol seric total, HDL-colesterol, trigliceride serice), glicemia a jeun și tensiunea arterială sistolică și diastolică. Analizele de laborator s-au efectuat în condiții a jeun, metodele utilizate fiind cele enzimactice.

Diagnosticul de diabet zaharat s-a stabilit pe baza criteriilor din 1999 ale Organizației Mondiale a Sănătății, prin confirmarea a două glicemii a jeun cu valori mai mari de 125 mg/dl sau a unei glicemii cu valoarea peste 200 mg/dl, la două ore după administrarea de 75 mg de glucoză, prin efectuarea testului de toleranță la glucoză.⁽⁷⁾

Interpretarea indicelui de masă corporală s-a făcut conform criteriilor stabilite de Organizația Mondială a Sănătății pentru clasificarea obezității: greutate normală la un indice de masă corporală între 18,5 – 24,9 kg/m², supragreutate la un indice de masă corporală cuprins între 25,0 – 29,9 kg/m² și obezitate la valori ale indicelui de masă corporală ≥ 30 kg/m².⁽⁸⁾

Diagnosticul de sindrom metabolic a fost pus conform criteriilor IDF 2005 (International Diabetes Federation)⁽⁶⁾

Ulterior, folosind Diagrama EURO 98 pentru prevenția primară a cardiopatiei ischemice, s-a calculat riscul cardiovascular. Diagrama permite estimarea riscului de

boală coronariană pentru persoanele care nu au dezvoltat încă boala cardiovasculară aterosclerotică simptomatică și ia în considerare ca factori de risc: vârsta, sexul, colesterolul seric total, tensiunea arterială sistolică și diastolică și statusul de fumător/nefumător ^(9,10)

Interpretarea valorilor lipidice și a tensiunii arteriale s-a făcut conform Asociației Americane de Diabet. S-au considerat astfel ca factori de risc cardiovascular trigliceridele serice cu valori ≥ 150 mg/dl, HDL-colesterol < 40 mg/dl la bărbați și < 50 mg/dl la femei, colesterolul total > 180 mg/dl, tensiunea arterială sistolică > 130 mmHg și diastolică > 80 mmHg. ⁽¹¹⁾

Rezultate

În Figura 1 este prezentată structura lotului pe grupe de vârstă, sex statusul de fumător / nefumător, exprimată procentual. Distribuția lotului pe sexe este următoarea: 57.03 % femei și 42.97 % bărbați; 84.76 % provin din mediul urban și 15.24 % din cel rural. Statusul de fumător are următoarea distribuție în cadrul lotului: 24.3 % fumători și 75.7 % nefumători.

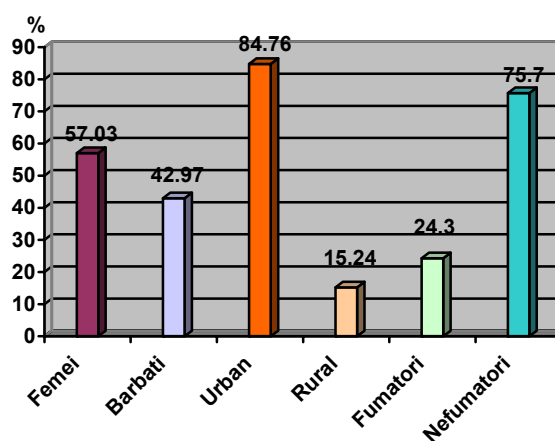
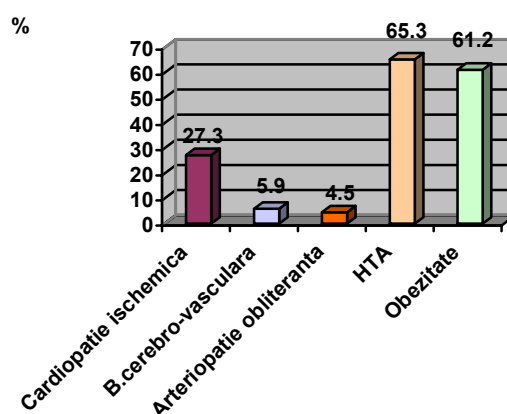


Fig. 1. Distribuția subiecților în funcție de sex, domiciliu și statusul de fumător/ nefumător.



(Datele din figură reprezintă %)

Fig. 2. Istoria personală patologică a persoanelor cu diabet zaharat tip 2 nou depistat din lotul studiat.

Sindromul metabolic este un indicator clinic independent al complicațiilor micro- și macrovasculare la persoanele cu diabet zaharat tip 2. Investigarea istoriei personale patologice relevă prezența cardiopatiei ischemice la 27.3 % dintre subiecți, bolii cerebrovasculare la 5.9% din total, a arteriopatiei cronice obliterante la 4.5 %, a hipertensiunii arteriale la 65,3 % și a obezității la 61,2 % dintre persoane. (Figura 2).

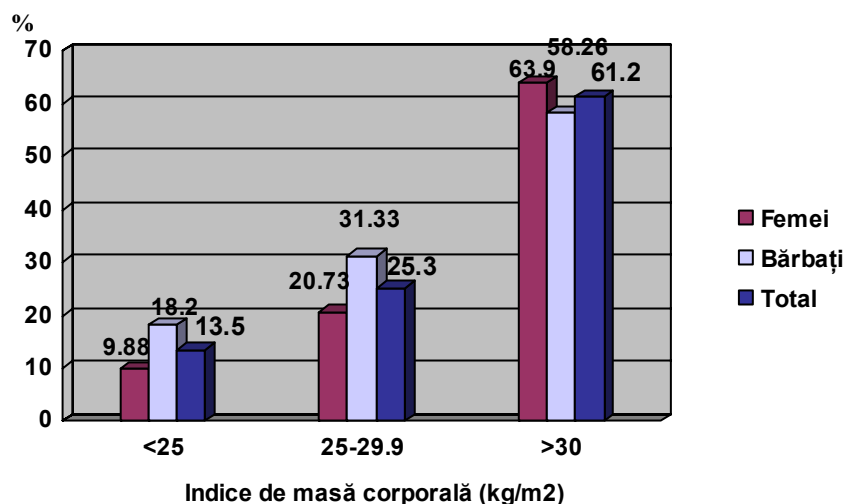


Fig. 3. Distribuția procentuală a subiecților în funcție de indicele de masă corporală, pe sexe.

În Figura 3. este redată distribuția procentuală a subiecților în funcție de indicele de masă corporală, pe sexe. Obezitatea a fost prezentă 63,9 % din femei și la 58,26 % din bărbați. Supragreutatea (IMC 25-29,9 Kg/m²) a fost întâlnită la 20,73 % dintre subiecții de sex feminin și la 31,33 % din subiecții de sex masculin. În lotul studiat, 13,5 % din subiecți sunt normoponderali. Prevalența supragreutății (IMC= 25-29,9 Kg/m²) a fost mai mare la bărbați (31,33%) comparativ cu femeile incluse în studiu (20,73%). Creșterea dramatică a incidenței diabetului zaharat tip 2 este asociată cu creșterea prevalenței obezității, aproximativ 90% dintre persoanele cu diabet, fiind obeze sau supraponderale.⁽¹²⁾

Analizând lotul studiat din punct de vedere al circumferinței abdominale, se constată că 72.3 % dintre subiecți se încadrează în categoria de talie mare. Valorile de la care s-a considerat obezitatea abdominală au fost diametrul taliei ≥ 94 cm la barbati si ≥ 80 cm la femei. În Figura 4. este redată distribuția procentuală a subiecților în funcție de circumferința abdominală, pe sexe. La 85,6 % dintre femei și 79,2 % dintre bărbați a fost prezentă obezitatea abdominală. Obezitatea abdominală, măsurată prin circumferința abdominală, reprezintă un predictor mai bun al tulburărilor cardiovasculare decât greutatea sau indicele de masă corporală.

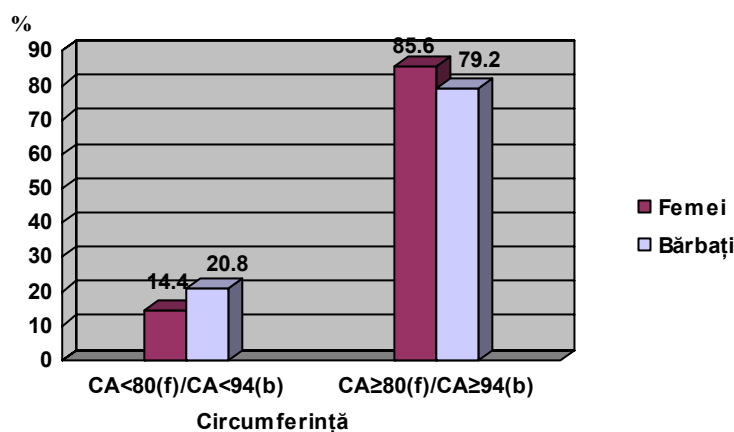


Fig. 4. Distribuția procentuală a subiecților în funcție de circumferința abdominală, pe sexe.

Tabelul 1. Circumferința abdominală în funcție de indicele de masă corporală (IMC) și sex.

IMC (Kg/m ²)	<25		25-29,9		>30	
Sex	Femei	Bărbați	Femei	Bărbați	Femei	Bărbați
Talie (cm)	86,3±12,5	94,3 ±18,5	96,3 ±7,9	101,6 ±10,8	109,1 ±11,2	112,4 ±8,5

(Datele din tabel reprezintă media ± DS)

Analizându-se întregul grup, aplicând metoda regresiei liniare, se constată că circumferința abdominală - indice de masă corporală sunt corelate semnificativ statistic ($p < 0,001$), Coeficientul Pearson este 0,063 și demonstrează corelația pozitivă între cele două variabile.

Tabelul 2. Prevalența hipertensiunii arteriale în funcție de circumferința abdominală.

Circumferință abdominală (cm)	< 80cm (femei)/ < 94cm (bărbați)	≥ 80cm (femei)/ ≥94 cm(bărbați)
Hipertensiune arterială (%)	54,2	69,6

Prevalența hipertensiunii arteriale în funcție de circumferința abdominală este redată în Tabelul 2. Corelația dintre cele două variabile este semnificativă statistic: $p < 0,001$ pentru tensiunea arterială sistolică respectiv $p < 0,0043$ pentru tensiunea arterială diastolică.

Tabelul 3. Parametrii lipidici în funcție de talie și sex.

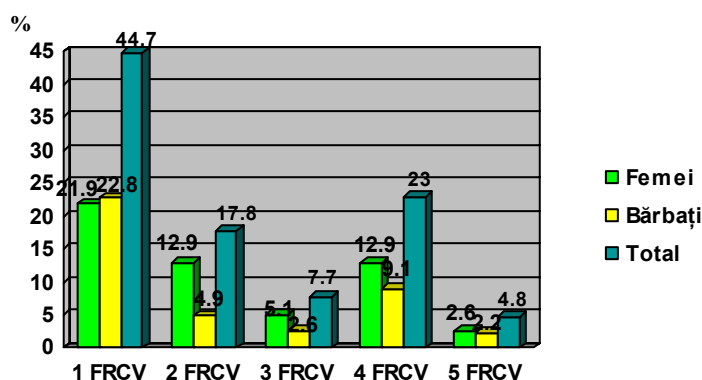
Parametrii	Femei		Bărbați	
Talie (cm)	< 80cm	≥ 80cm	< 94cm	≥94 cm
Colesterol seric total (mg/dl)	228,2±52,1	237,4±55,3	214,3±53,6	221,3±54,3
Trigliceride serice (mg/dl)	199,3±95,2	271,2±112,5	231,2±108,9	249,3±114,6
HDL-colesterol(mg/dl)	43,8±12,5	40,1±11,47	38,4±11,7	37,2±10,6

(Datele din tabel reprezintă media ± DS)

În Tabelul 3 sunt prezentați parametrii lipidici în funcție de circumferința abdominală. Nu s-au înregistrat diferențe semnificative ale valorilor colesterolului total la subiecții cu obezitate abdominală comparativ cu cei fără obezitate abdominală, indiferent de sex. ($p=NS$). Femeile cu obezitate abdominală au prezentat valori semnificativ mai mari ale trigliceridelor comparativ cu femeile ce nu prezentau acest factor de risc ($p=0.02$). Și la bărbați s-a observat o tendință de creștere a valorilor trigliceridelor serice cu creșterea circumferinței abdominale, dar fără a se atinge semnificația statistică. S-a observat o tendință de scădere a valorilor HDL-colesterolului seric cu creșterea circumferinței abdominale, scădere semnificativ statistică doar la sublotul de femei ($p=0.03$). Valorile medii au fost mai mici decât valorile optime pentru subiecții cu diabet zaharat, atât la bărbați cât și la femei, indiferent de prezența sau absența obezității abdominale.

Riscul cardiovascular s-a calculat utilizându-se Diagrama de calcul a Riscului Coronarian (Diagrama Euro 98), care ia în considerare ca factori de risc: colesterolul seric total ($>200\text{mg/dl}$), trigliceridele serice ($\geq 150\text{ mg/dl}$), Hdl-colesterolul ($\leq 45\text{mg/dl}$ la bărbați și $\leq 55\text{mg/dl}$ la femei), tensiunea arterială sistolică mai mare de 130 mmHg și diastolică mai mare de 80 mmHg și fumatul.

Distribuția persoanelor în funcție de numărul factorilor de risc asociați este prezentată în Figura 5.



(FRCV- factori de risc cardiovascular, datele din figură reprezintă %)

Fig. 5. Distribuția procentuală a subiecților în funcție de numărul factorilor de risc cardiovascular, pe sexe.

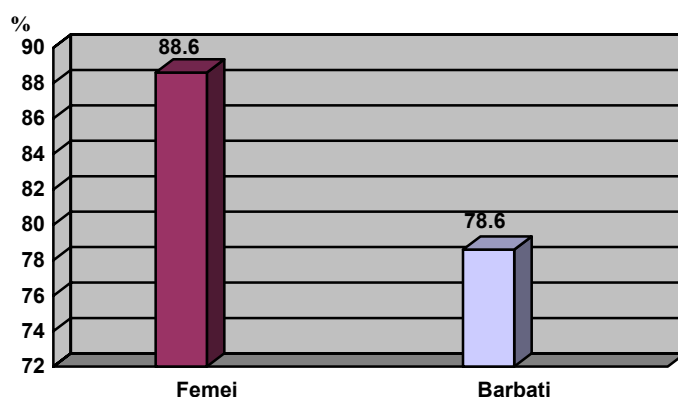


Fig. 6. Prevalența sindromului metabolic pe sexe, utilizând criteriile de diagnostic propuse de IDF 2005.

În Figura 6. este prezentată grafic prevalența sindromului metabolic pe sexe. La 88,6 % dintre femei și 78,6 % dintre bărbați a fost diagnosticat sindromul metabolic. Obezitatea abdominală este elementul primordial și esențial de diagnostic al sindromului metabolic. Prevalența crescută a obezității abdominale la persoanele cu diabet zaharat tip 2 se corelează astfel cu prevalența crescută a sindromului metabolic, 84.72% din persoanele incluse în studiu prezentând această afecțiune.

Interpretarea rezultatelor. Discuții

Investigarea clinică și antropometrică a persoanelor cu diabet zaharat tip 2 nou depistat, relevă faptul că obezitatea a fost prezentă 63,9 % din femei și la 58,26 % din bărbați; supragreutatea (IMC 25-29,9 Kg/m²) a fost întâlnită la 20,73 % dintre subiecții de sex feminin și la 31,33 % din subiecții de sex masculin. În lotul studiat, 13.5 % din subiecți sunt normoponderali.

Analizând lotul studiat din punct de vedere al circumferinței abdominale, se constată că 72.3 % dintre subiecți se încadrează în categoria de talie mare. Prevalența crescută a obezității abdominale la persoanele cu diabet zaharat tip 2 se corelează astfel cu prevalența crescută a sindromului metabolic, 84.72% din persoanele incluse în studiu prezentând această afecțiune.

La diagnosticarea diabetului zaharat tip 2 există deja o patologie aterosclerotică cardiovasculară. Investigarea istoriei personale relevă prezența cardiopatiei ischemice la 27.3 % dintre subiecți, bolii cerebrovasculare la 5.9 % din total, a arteriopatiei cronice obliterante la 4.5 %, a hipertensiunii arteriale la 65,3 % și a obezității la 61,2 % dintre persoane. De asemenea sunt prezenți factorii de risc cardiovascular, care în lotul studiat au o distribuție relativ uniformă. Factorii de risc majori, depistați la diagnosticarea diabetului zaharat tip 2 în lotul studiat sunt: hipertrigliceridemia, hipo-HDL-colesterolemia, hipercolesterolemia, hipertensiunea arterială și fumatul.

Nu s-au înregistrat diferențe semnificative ale valorilor colesterolului total la subiecții cu obezitate abdominală comparativ cu cei fără obezitate abdominală, indiferent de sex. ($p=NS$). Femeile cu obezitate abdominală au prezentat valori semnificativ mai mari ale trigliceridelor comparativ cu femeile ce nu prezentau acest factor de risc ($p=0.02$). Și la bărbați s-a observat o tendință de creștere a valorilor trigliceridelor serice cu creșterea circumferinței abdominale, dar fără a se atinge semnificația statistică. S-a observat o tendință de scădere a valorilor HDL-colesterolului seric cu creșterea circumferinței abdominale, scădere semnificativ statistică doar la sublotul de femei ($p=0.03$). Valorile medii au fost mai mici decât valorile optime pentru subiecții cu diabet zaharat, atât la bărbați cât și la femei, indiferent de prezența sau absența obezității abdominale.

La 88,6 % dintre femei și 78,6 % dintre bărbați a fost diagnosticat sindromul metabolic. Prevalența crescută a obezității abdominale la persoanele cu diabet zaharat tip 2 se corelează astfel cu prevalența crescută a sindromului metabolic, 84.72% din persoanele incluse în studiu prezentând această afecțiune.

Concluzii

1. Sindromul metabolic a fost prezent la majoritatea persoanelor din lotul studiat, 84,72 % prezentând această afecțiune. Obezitatea abdominală s-a dovedit a fi un factor de risc predispozant pentru sindromul metabolic.
2. Prezența sindromului metabolic presupune un risc crescut pentru apariția unui spectru larg de afecțiuni cardiovasculare aterosclerotice. Fiecare element constitutiv major (hipertensiunea arterială, dislipidemia, obezitatea, valorile glicemice crescute) trebuie abordat conform cu recomandările conținute în ghidurile existente.

3. Optimizarea stilului de viață prin reducerea greutateii corporale, dietă corespunzătoare precum și măsuri terapeutice energice pentru dislipidemie, hiperglicemie, valori tensionale crescute.
4. Abordarea largă, care să includă intervenția complexă, agresivă asupra factorilor de risc cardiometabolic și de scădere a riscului cardiovascular global, trebuie să reprezinte baza prevenției cardiovasculare,

Bibliografie

1. FORD ES, GILES WH, DIETZ WH. Prevalence of metabolic syndrome among US adults: findings from the third national and nutrition examination survey. *JAMA* 2002; 287: 356-9.
2. REAVEN GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-607.
3. HANSON RL, IMPERATORE G, BENNETT PH, KNOWLER W. Components of the "metabolic syndrome" and incidence of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51:3120-27.
4. HÂNCU N., CERGHIZAN A., Global approach to cardiovascular risk in type 2 diabetic persons. În Hâncu N. (editor) *Cardiovascular risk in Type 2 Diabetes Mellitus*. Editura Springer-Verlag Berlin, 2003,
5. Executive Summary of The Thirth Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) *JAMA* 2001; 285: 2486-2497.
6. The IDF consensus worldwide definition of metabolic syndrome; 2005. available at: [http://www.Idf.org/webdata/docs/IDF Metasynndrome definition. pdf](http://www.Idf.org/webdata/docs/IDF%20Metasynndrome%20definition.pdf)
7. World Health Organization. Departament of Non communicable Disease Surveillance Geneve. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of WHO consultation 1999.
8. WHO EXPERT COMMITTEE. Obesity- preventing and managing the global epidemic; WHO, Geneva, 1998;
9. HÂNCU N., CERGHIZAN A., Global approach to cardiovascular risk in type 2 diabetic persons. În Hâncu N. (editor) *Cardiovascular risk in Type 2 Diabetes Mellitus*. Editura Springer-Verlag Berlin, 2003, pag 240-277.
10. WOOD D., De BACKER G., FAERGEMAN O., GRAHAM I., MANCIA G., PYORALA K.. Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Recommendation of The Second Joint Task Force of European and other Societies on Coronary Prevention. *European Heart Journal* 1998, 19: 434 - 503. *European J of Cardiol* 2003; 24: 987-1003;
11. American Diabetes Association. Position statement ; Sandards of medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2002, 25 Suppl. 1 S 33- S 49.
12. World Health Organization. Diabetes: the cost of diabetes. Factsheet No 236. Revised September 2002. www.who.int/mediacentre. Accesat 05.10.2006

Screening for metabolic syndrome in persons with newly diagnoses type 2 diabetes

CAMELIA GEORGETA RĂCĂREANU, GABRIELA ROMAN,

Clinical Center for Diabetes, Nutrition and Metabolic Diseases, Cluj-Napoca

Summary

The metabolic syndrome belongs, along with the diabetes, dyslipidemia, obesity, to the nutritional metabolic diseases. The metabolic syndrome it's a great health problem worldwide, being one of the major causes of cardiovascular disease, responsible for a growing number of premature deaths throughout the world

The study enrolled 1633 participants with newly diagnoses type 2 diabetes, both from urban and rural settings. The parameters recorded were the following: identification information, personal and familial medical history – focused on cardiovascular and metabolic pathology, lifestyle information and anthropometrical data: height, weight, abdominal circumference, and body mass index, calculated using the World Health Organization criteria for the classification of obesity, the blood pressure was measured, fasting glycemia, total cholesterol, HDL-cholesterol and serum triglycerides.

The diagnostic criteria for diabetes mellitus, according to World Health Organization. Body mass index (BMI) was calculated using the World Health Organization criteria for the classification of obesity. The metabolic syndrome as defined by IDF (International Diabetes Federation) 2005 criteria. Further, the cardiovascular risk was calculated, using the Euro 98 diagram for the primary prevention of the coronary heart disease.

Metabolic syndrome is an independent clinical indicator of micro- or macrovascular complications in diabetes. Personal medical history shows the presence of cardiovascular disease in 27.3 % of the subjects, stroke for 5,9 %, obliterant peripheral arteriopathy 27.3%, hypertension 65.3 %, and obesity 61.2 %. The prevalence of obesity ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$) was higher in women (63,9%) comparing with men (58,26 %); 13,5 % was normoponderal. The risk of CVD associated with the metabolic syndrome was statistical significance after adjusting for conventional cardiovascular risk factors. Using the new IDF criteria, the prevalence of the metabolic syndrome in the general population is 84.72 % and is more frequent in women (88.6 %) than in men (78.6 %).

In conclusion, The metabolic syndrome is an independent clinical indicator of micro- or macrovascular complications. The metabolic syndrome has a remarkable impact at an individual and population level, by its increasing frequency and the cardiovascular risk that it determines. The high prevalence in the population with newly diagnoses type 2 diabetes, the high cardiovascular risk associated to the metabolic syndrome, and make of this condition an important problem for the medical practice, and draws attention to the need for intervention on the risk factors. The clinical management needs more aggressive cardiovascular risk-factor control, particularly of obesity, glycaemia, HDL-cholesterol, and hypertension.

Key words: metabolic syndrome, cardiovascular risk, central obesity, dyslipidemia, hypertension.

ASOCIEREA TULBURĂRILOR DIGESTIVE FUNCȚIONALE

ELENI STERGIOPOULOU¹, D. DUMITRAȘCU²

¹Spitalul Clinic Universitar Atena

²Clinica Medicală III, UMF Cluj-Napoca

Rezumat

Lucrarea și-a propus să evalueze frecvența și tipurile de asocieri ale tulburărilor digestive funcționale printr-o analiză clinică standardizată (50 item-uri). Pe un lot de 220 bolnavi din evidența a patru servicii de gastroenterologie din Atena s-au constatat asocieri simptomatice plurisegmentare în 85%. Cele mai frecvente au fost asocierile: pirozis cu sindromul durerii epigastrice ("ulcer-like dyspepsia"), sindromul intestinului iritabil cu sindromul distressului postprandial ("dysmotility-like dyspepsia") și disfuncție veziculară cu sindromul distressului postprandial. S-au înregistrat, de asemenea, și interferențe între variatele tulburări funcționale intestinale. Controlul la un an a evidențiat numeroase modificări simptomatice, cu alternarea sindromului dominant și uneori a polarității proximal-distal. Constatările pledează pentru unitatea nosografică a tulburărilor funcționale digestive, generate de factori etiologici comuni și având aceeași bază patogenetică și fiziopatologică. Impun totodată analiza clinică activă exhaustivă a bolnavilor în vederea aplicării unei terapii individualizate.

Cuvinte cheie: tulburări funcționale digestive, asocieri, dispepsii, intestin iritabil

Introducere

Tulburările funcționale digestive (TFD) au reținut de mult atenția clinicienilor datorită frecvenței lor ridicate și a dificultăților de diagnostic și terapie. Eforturile cercetătorilor s-au concentrat în mare măsură asupra individualizării unor entități clinico-funcționale, ca premisă a stabilirii conduitei terapeutice. S-a ajuns însă cu timpul la o pleoră de clasificări și la o confuzie nosografică pe care nu le-a putut eradica decât strategia consensului, bazată pe metoda Delphy, adoptată de Societatea Mondială de Gastroenterologie. Așa a apărut "standardul Roma", inițiat în 1988 de Aldo Torsolli și aflat în prezent la ediția III, prin grija lui D.A.Drossman (1).

Criteriile diagnostice au fost revizuite succesiv, încât în prezent nu se mai acceptă doar strategia excluderii bolilor organice - prin investigații adesea laborioase și costisitoare - ci se cere un diagnostic clinic pozitiv cu valoare predictivă ridicată, bazat pe analiza complexă a manifestărilor și a factorilor de risc, dar și pe răspunsul pe termen scurt la terapia funcțională introdusă (2, 3, 4).

Experiența clinică a arătat, în paralel, posibilitatea asocierilor dintre TFD localizate la diversele segmente ale aparatului digestiv și în primul rând ale tractului eso-gastro-intestinal. Fenomenul a fost descris în termeni variați: "asociere" (5), "suprapunere" (6,7,8,9), "comorbiditate" (10). Rezultatele publicate în această problemă sunt până acum discordante, încât se impune extinderea investigațiilor.

Lucrarea și-a propus, în acest sens, să analizeze sistematic tabloul clinic și evoluția pe termen lung a bolnavilor cu TFD în vederea evaluării exacte a asocierilor intersegmentare (frecvență și tipuri) și a dinamicii lor în timp.

Material și metodă

Cercetarea s-a făcut pe un lot de 220 bolnavi cu TFD examinați în mai multe servicii de gastroenterologie din Atena și aflați în evidența acestora. S-a utilizat un chestionar standard cu 50 item-uri privind simptomele, condiționarea lor (factori declanșanți, factori remisivi) și dinamica evolutivă. Același formular a fost completat și la controlul de la 12 luni. S-au pierdut 17 subiecți la care reexaminarea nu a fost posibilă, astfel că ei nu au fost incluși în lotul prelucrat în final. S-au repetat explorările anatomice când au apărut aspecte clinice noi (eco, endo, radio).

Incadrările diagnostice s-au făcut după criteriile simptomatice Roma II, acceptate pe un plan larg la data începerii studiului. Au fost reținute și sindroamele episodice care nu întruneau criteriul cronologic recomandat: “suferință de minimum 12 săptămâni, nu neapărat consecutive și istoric de cel puțin 12 luni”. La fiecare bolnav s-a făcut distincția între sindromul dominant clinic și sindromul asociat, cel din plan secundar. Pentru claritate, la redactare am folosit în paralel terminologia convențională și pe cea recent propusă prin standardul Roma III (2006), încă puțin cunoscută în practică.

Repartiția pe sexe a fost următoarea: femei 178, bărbați 42. Limitele de vârstă au fost de 18-72 ani.

Semnificația statistică a fost calculată după testul “chi pătrat” pentru procente.

Rezultate

1. Frecvența globală a asocierilor plurisegmentare ale TFD a fost de 85% (187 bolnavi din 220). Restul de 15% (33 bolnavi) au prezentat manifestări clinice circumscrie la un singur segment digestiv.

2. Proporția bolnavilor cu TFD izolate și dominante (în cazul asocierilor) este următoarea:

- dispepsii funcționale 39,09% (86 cazuri)
- sindromul intestinului iritabil 24,55% (54 cazuri)
- disfuncții veziculare 10% (22 cazuri)
- balonări difuze abdominale 8,18% (18 cazuri)
- constipație funcțională 6,82% (15 cazuri)
- dureri abdominale difuze 5,91% (13 cazuri),
- pirozis și disfagie 5,45% (12 cazuri)

Se remarcă numărul ridicat al bolnavilor cu dispepsii funcționale (DF) și sindrom de intestin iritabil (SII).

3. Simptomele esofagiene (pirozis de regulă, rareori disfagie și dureri retrosternale) au fost prezente în ansamblul DF la 19/86 bolnavi: 22%. Raportarea la cele două subgrupe principale recunoscute relevă diferențe înalt semnificative (testul chi pătrat): incidența sindromului esofagian este de 87,50% (14/16 cazuri) la bolnavii cu sindromul durerii epigastrice (“ulcer-like dyspepsia” în denumirea veche) și de numai 7,14% (5/70 cazuri) la bolnavii cu sindromul distressului postprandial (“dysmotility-like dyspepsia” în denumirea veche).

4. Relații DF-SII. Manifestări ale SII au fost prezente în 75,58% din cazurile de DF, luate global (65/86 bolnavi). Există diferențe semnificative după subgrupul de dispepsie: frecvență 81% în sindromul distressului postprandial și 67% în sindromul durerii epigastrice (p mai mic de 0,5, test chi pătrat).

Relaționarea inversă arată că manifestările dispeptice s-au asociat celor de SII în 79,63% (43/54 bolnavi). În aproape toate cazurile (40) ele au aparținut sindromului distressului postprandial.

5. Asocierea DF cu dureri biliare ecografic-negative a fost observată în 8,14% (7/86 obs.). Pe subgrupele de DF diferențele sunt semnificative: 8,5% pentru DF de tip motor (distress postprandial) (6/10 obs.) și numai 1,6% în DF de tip ulceros (1/16 obs.) (p mai mic de 0,005, test chi pătrat).

Invers, în tulburările funcționale veziculare au existat manifestări dispeptice de tipul distressului postprandial în 100% din cazuri.

6. Asocierea SII cu dureri veziculare caracteristice a fost găsită în 11% (6/54 obs.). La biliarii funcționali simptomele intestinale sunt observate în 32%, cu distribuție apropiată între SII, constipație și balonare abdominală difuză.

Evoluția pe termen lung (control la 12 luni) apare astfel din confruntarea chestionarului inițial cu cel final:

1. Sindromul esofagian funcțional persistă la 2/12 obs., se remite sub tratament la 7, evoluează spre DF de tip ulceros endoscopic-negativă (sindromul durerii epigastrice) la 3.

2. Sindromul durerii epigastrice persistă la 2/16 bolnavi, se remite la 12 sub tratament și este substituită de pirozis izolat la 2 bolnavi.

3. DF de tip dismotilitate (sindromul distressului postprandial) persistă la 11/70 bolnavi, se remite la 50 sub tratament și este înlocuită de manifestări intestinale (SII mai frecvent) la alți 9 bolnavi (13%).

4. Tulburările funcționale biliare (dureri veziculare eco-negative) persistă la 5/22 obs., se remit sub tratament la 12, sunt urmate de distress postprandial la 4 și de simptome intestinale la un bolnav.

5. SII persistă la 16/54 bolnavi, se remite la 19 și se transformă în sindromul durerii abdominale difuze la 7 bolnavi, în balonare difuză la 5, constipație funcțională nedureroasă la 3 și DF de tipul distressului postprandial la 4 bolnavi (8%).

6. Constipația funcțională persistă la 3/15 obs., se remite la 7, evoluează spre SII la 2 (variante cu constipație) și spre DF de tipul distressului postprandial la 3 (20).

7. Sindromul balonării abdominale difuze persistă la 7/18 obs., se remite la 8 și evoluează spre SII la 3.

8. Sindromul durerii abdominale difuze cronice persistă la 4/13 bolnavi, se remite la 5 și evoluează spre SII la 4.

Discuții

Rezultatele expuse confirmă posibilitatea asocierii în proporție ridicată a diferitelor tipuri de TFD, individualizate după localizarea lor ca entități clinico-funcționale. Întrucât intensitatea și durata simptomelor nu sunt uniforme, cele dominante pot masca și lăsa nerecunoscute pe cele discrete sau tranzitorii. Este de aceea nevoie de o explorare anamnestică metodică, exhaustivă, adresată tuturor sectoarelor digestive.

Problema a fost reliefată abia recent în literatură și reclamă noi studii, în perspectiva unei concepții integratoare. Istoria ne oferă unele premise în această direcție: "the abdominal women", "dispepsii interdigestive" (Hațieganu, 1954), ulterior făcând până astăzi carieră termenul "irritable gut syndrome". Acest concept din urmă este, desigur, mai cuprinzător pentru TF ale tractului digestiv ("gut") decât cel mai larg folosit, "irritable bowel syndrome", care acoperă exclusiv suferința intestinală, și decât cel localicist "irritable colon", de altfel inexact. Sfera TFD cuprinde, în sistematica ei, sindroamele esofagiene, gastroduodenale, intestinale, anorectale și biliare, definite pe

bază clinică și atribuite unor tulburări de motilitate, sensibilitate și reglare ale segmentului respectiv.

Posibilitatea asocierilor intersegmentare a fost semnalată, dar nu se cunosc nici dimensiunile sale reale și nici conținutul. Frecvența apare extrem de diferită pe statisticile publicate din cauza criteriilor diagnostice neuniforme folosite și a rigorii inegale a analizei anamnestice, orientată obișnuit de plângerile deseori intens emoționale ale bolnavului. Cifrele de ansamblu variază astfel: 43% (11), 78% (12), 87% (8), mai frecvent raportată fiind asocierea DF-SII. Rezultatele obținute de noi se înscriu în zona superioară a intervalului: 85%. De menționat că aici sunt cuprinse și manifestările clinice tranzitorii care nu satisfac criteriul de durată al consensului Roma, dar reflectă tulburări funcționale reale de care trebuie să se țină seamă.

Abordând în ordine topografică asocierile TFD, trebuie amintită relația funcțională strânsă esogastrică. Se știe că pirozismul (și regurgitarea acidă, mult mai rară) sunt markerii refluxului gastroesofagian (RGE). În prezența lor s-a identificat mai de mult o varietate de dispepsie numită "reflux like" (Collin-Jones et al., 1988) care nu a fost ulterior acceptată prin consensul Roma. RGE este privit azi ca boală distinctă (BRGE), cu fiziopatologie specifică, refluxul acid demonstrat prin pH-metrie și inconstant, cu substrat lezional esofagitic. Se admite însă pirozis și în absența acestor criterii, numit "pirozis funcțional" (13), deși există și posibilitatea rezultatului fals-negativ la pH-metrie. Hipersensibilitatea mucoasei ar răspunde de o parte din aceste cazuri. Asocierea pirozis-dispepsie rămâne o realitate importantă pentru alegerea medicației (14). Durerea epigastrică a fost găsită la 30% din bolnavii cu reflux (15). Bolnavii cu DF acuză arsuri retrosternale în 22% (5) sau în 33% (16), 42% (17), după studiu, fără a fi menționată diferența cu subgrupul de dispepsie. Pe lângă reflux, altă explicație ar putea fi hipersensibilitate la cantități de reflux imperceptibile de martorii sănătoși, găsită la un sfert din bolnavi (18). Prin același mecanism s-a explicat și durerea pectorală esofagiană observată frecvent în SII în altă cercetare (19). Pe un lot cu dureri abdominale funcționale, inclusiv SII, pirozismul s-a asociat în 45,8% (20). Alt studiu îl semnalează la 40% din bolnavii cu SII (21).

Rezultatele noastre confirmă importanța asocierii, cu precizarea că ea atinge un nivel foarte ridicat în DF de tip "ulcer-like" (sindromul durerii epigastrice): 87,5% față de numai 7,14% în varianta de tip dismotilitate (distress postprandial). Constatarea susține participarea patogenetică a factorului acid. Cercetări viitoare vor clarifica statutul nosografic real a ceea ce s-a numit cu temei "boală acidopeptică" din care ar putea face parte BRGE și acest tip de DF, alături de boala ulceroasă. Pentru o concepție integrativă pledează și riscul ridicat al DF de tip ulceros de a evolua spre ulcer gastroduodenal.

Asocierea DF-SII a atras în mare grad atenția și evaluarea ei statistică este ridicată: 57% din bolnavii cu SII au simptome dispeptice (21) și 30% din dispeptici au simptome intestinale majore (22). Pe baza unei suprapuneri de 87% s-a apreciat chiar drept artificială separația clasică dintre aceste două localizări ale TFD (8). S-a spus, în acest spirit, că DF este o variantă proximală de SII (23).

Și aici datele obținute de noi reliefează dimensiunea problemei, cu precizarea că relația este mai strânsă pentru varianta de tip motor a DF, înscrisă mai exact în fiziopatologia TFD în general: 81% din bolnavii cu distress postprandial au simptome abdominale joase, 79% din bolnavii cu SII au manifestări dispeptice de tip distress, în grad variabil.

Există prea puține date asupra asocierii dintre TF gastrointestinale și cele biliare. Cercetarea noastră demonstrează și această posibilitate, în principal pentru forma motorie a DF. Situația este similară pentru asocierea SII-TF biliare, probată prin cercetarea de față la femei, lor aparținându-le cazuistica de colecistopatii funcționale.

Evoluția pe termen lung aduce la rândul său unele argumente, care reflectă instabilitatea și caracterul fluctuant al TFD (24), condiționate în mare măsură de factorii

de risc intercurenți. S-a descris chiar posibilitatea “schimbării profilului clinic” al bolnavilor, care din colopați devin dispeptici și invers (8). Variabilitatea în timp explică și variațiile mari ale fenomenului de “overlap” (25). Studiul nostru semnalează mutații din cele mai diverse la un an de la luarea în evidență a bolnavilor, cu modificări simptomatice intrasegmentare și chiar cu deplasări ale simptomelor de la segmentul proximal la cel distal și invers..

Explicația tuturor acestor observații clinice rezidă în caracterul comun al factorilor de risc pentru toate TFD, al mecanismelor de control (anormaliile axului “brain-gut”) și ale tulburărilor funcționale de bază (hipersensibilitate, dismotilitate).

În clinică, identificarea asocierilor este importantă pentru individualizarea terapiei.

Bibliografie

1. DROSSMAN D. A.: The functional gastrointestinal disorders and the Roma III process, *Gastroenterology*, 2006,130, 1377-1390
2. DROSSMAN D. A., THOMPSON W. G., TALLEY N. J., et al.: Identification of sub-groups of functional gastrointestinal disorders: working team report, *Gastroenterol Internat*, 1990, 3, 159-170
3. WHITEHEAD W. E., LI Z., DROSSMAN D. A.: Factor analysis of gastrointestinal symptoms supports Roma criteria for functional gastrointestinal disorders, *Gastroenterology*, 1994, 106, A589
4. DAPOIGNY M., Des VARANNES S. B.: Syndrome de l - intestin irritable: un poids lourd de la gastroenterologie, *Hepato-Gastroenterol*, 2006, 13, 175-177
5. TALLEY N. J., PIPER D. W.: The association between non-ulcer dyspepsia and other gastrointestinal disorders, *Scand J Gastroenterol*, 1985, 20, 896-900
6. DROSSMAN D. A., LI Z., ANDRUZZI E. et al.: USA householder survey of functional gastrointestinal disorders prevalence, *Dig Dis Sci*, 1993, 38, 569-580
7. HOLTMAN N. J., GOEBELL H., TALLEY N. J.: Dyspepsia in consultants and non-consulters, *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 1994, 6, 917-924
8. AGREUS L., SVARDSUDD K., NYREN O., TIBBLIN G.: *Gastroenterology*, 1995, 109, 671-680
9. TALLEY N. J., STANGHELLINI V., HEADING R. C., KOCH K. L., MALAGELADA J.-R., TYTGAT G. N. J.: Functional gastroduodenal disorders, In: DOUGLAS D. A.(senior ed.), *The functional gastrointestinal disorders*, sec.ed., Degnon Assoc. McLean, VA, USA
10. WHITEHEAD W. E., PALSSON O. S., VONKORFF M., LEVY R. L.: Excess comorbidity in irritable bowel syndrome is related to hypervigilence, *Gastroenterology*, 2003, 124, suppl. 1, A394 (abstr.)
11. TALLEY N. J., ZINSMEISTER A. R., SCHLEEK C. D., MELTON L. L.: Dyspepsia and dyspepsia subgroups: a population based study, *Gastroenterology*, 1992, 102, 1259-1268
12. BENNETT E. J., PIESSE C., PALMER T. et al.: Functional gastrointestinal disorders, *Gut*, 1998, 42, 414-420
13. CLOUSE R. E., RICHTER J. E., HEADING R. C., JANSSENS J., WILSON J. A.: Functional esophageal disorders. In: DOUGLAS D. A. (senior ed.), *The functional gastrointestinal disorders*, sec.ed., Degnon Assoc. McLean, VA, USA
14. NYREN O., GUSTAVSSON S., ADAMI H.O., LOOG L.: Methodological aspects of clinical trials in non-ulcer dyspepsia, *Scand J Gastroenterol*, 1985, 20, suppl.109, 159-162
15. WIENBECK M., BERGES W.: Esophageal disorders and pathophysiology of dyspepsia, *Scand J of Gastroenterol*, 1985, 20, suppl.109, 133-143

16. FRANK L., KLERNMAN L., GANOCZY D. et al.: Upper gastrointestinal symptoms, *Dig Dis Sci*, 2000, 45, 809-815
17. JONES R., LYDEART S.: Prevalence of symptoms of dyspepsia in the community, *Brit Med J*, 1989, 298, 30-32
18. SMALL P. K., LOUDON M.A., WALDRON B.: The importance of reflux symptoms in functional dyspepsia, *Gut*, 1995, 36, 189-192
19. RICHTER J. E., BANISH C. E., CASTELL D. O.: Abnormal sensory perception in patients with esophageal chest pain, *Gastroenterology*, 1986, 91, 845-852
20. KOLOSIN N., TALLEY N. J., BOYCE P. M.: Epidemiology and health care seeking in the functional gastrointestinal disorders, *Amer J Gastroenterol*, 2002, 97, 290-299
21. TALLEY N.J., BOYCE P., JONES M.: Identification of distinct upper and lower gastrointestinal symptoms in dyspepsia, *Europ J Gastroenterol Hepatol*, 1999, 11, 517-522
22. TALLEY N. J., WEAVER A. L., TESMER D. L.: Dyspepsia subgroups in patients referred upper endoscopy, *Gastroenterology*, 1993, 105, 1378-1386
23. DUMITRAȘCU D. L., PASCU O.: *Dyspepsia funcțională*, Dacia, Cluj, 1999
24. KAY L., JORGENSEN T., JENSEN K. H.: The epidemiology of the irritable bowel syndrome, *J Internat Med*, 1994, 236, 23-30
25. TALLEY N. J., STANGHELLINI V., HEADING R. C.: Functional gastrointestinal disorders, *Gut*, 1999, 45, suppl.2, 37-42

The overlap of functional digestive disorders

ELENI STERGIOPOULOU, DUMITRU DUMITRAȘCU

Summary

We aimed to evaluate the prevalence and the types of associations of functional digestive disorders by a standardized clinical analysis (50 items). On a sample of 220 patients chosen from the files of four gastroenterological units in Athens, Greece, we detected multiple symptom associations in 85% cases. The most common were the following associations: heartburn-epigastric pain syndrome ("ulcer like dyspepsia"), irritable bowel syndrome-posprandial distress syndrome, gallbladder dysfunction-posprandial distress syndrome. These interferences between different functional gastrointestinal disorders may variate in time. After a one-year follow-up, several symptomatic changes with the alternation of the main complaints have been detected, sometimes with a change in the topographical presentation. These findings suggest a nosographic unity of the functional gastrointestinal disorders, generated by common factors and having the same pathogenic background. Therefore a complete clinical evaluation of the functional patients is required in order to enable the best individualized management.

Key words: functional gastrointestinal disorders, overlap, dyspepsia, irritable bowel syndrome

NEUTROPENII ASOCIATE CU ANEMII APLASTICE DOBÂNDITE - ASPECTE CLINICO-EVOLUTIVE

DANIELA VODĂ¹, GH. POPA², N. MIU²

¹Facultatea de Medicina Braşov, Spitalul Clinic de Copii Braşov

²UMF Iuliu Haţieganu Cluj-Napoca, Clinica Pediatrie II

Rezumat

Anemia aplastică dobândită este o boală rară, caracterizată prin pancitopenie periferică şi hipoplazie medulară. Obiectivul principal al studiului a fost urmărirea aspectelor clinicoevolutive ale anemiei aplastice dobândite.

Am efectuat un studiu de tip retrospectiv (descriptiv) pe 15 copii cu anemie aplastică dobândită internaţi în Clinica Pediatrie II Cluj Napoca, în perioada ianuarie 1994 – iunie 2006, urmărindu-se în dinamică date de anamneză, examen clinic, valorile medii ale numărului absolut de neutrofile (ANC), trombocite, reticulocite, precum şi protocoalele de tratament aplicate şi evoluţia cazurilor.

Am depistat 4 cazuri de anemie aplastică foarte severă, 8 cazuri de anemie aplastică severă şi 3 cazuri de anemie aplastică moderată, cu o vârstă medie a pacienţilor de 8,6 ani şi o valoare medie a $ANC = 398 / mm^3$. Intervalul de la diagnostic la tratamentul imunosupresor a fost în medie de 141 zile. S-au utilizat 7 tipuri de combinaţii de tratament, cea mai utilizată schemă fiind globulină antitimocitară (ATG) + metilprednisolon + G-CSF ± androgeni, ciclosporină, în 8 / 15 cazuri, fiind urmată de răspuns complet în 6 / 8 cazuri. Recăderea a fost observată în procent de 26,6 %. Infecţiile severe documentate au fost întâlnite în 5 / 15 cazuri (33,3 %). Rata de mortalitate globală a fost de 40 %, iar rata supravieţuirii globale de 60 %.

Majoritatea cazurilor au fost de anemie aplastică severă şi moderată cu un interval de timp prelungit de la diagnostic la terapia imunosupresoare.

Cuvinte cheie: anemie aplastică, copii, terapie imunosupresivă , factori de stimulare ai coloniilor granulocitare.

Introducere

Anemia aplastică este o boală rară caracterizată prin pancitopenie periferică şi hipoplazie medulară (1).Observaţiile clinice şi experimentale au arătat faptul că mecanismul fiziopatogenetic în anemia aplastică idiopatică este imun, cu activarea celulelor T citotoxice la nivel medular şi distrucţia celulelor stem hematopoietice (2).

Anemia aplastică poate fi efectiv tratată prin transplant medular sau terapie imunosupresoare. Terapia imunosupresoare combinată, cu globulina antitimocitară (ATG) şi ciclosporina este superioară terapiei cu ATG singură sau în combinaţie cu androgeni la adult

(3). Există studii la adulţi si copii care au arătat că adăugarea de factor de stimulare a coloniilor granulocitare (G-CSF) la terapia imunosupresoare îmbunătăţeşte răspunsul la tratament (4).

Obiectivul principal al studiului a fost urmărirea aspectelor clinico-evolutive ale anemiei aplastice dobândite.

Pacienți. Metodă.

Studiul efectuat a fost de tip retrospectiv (descriptiv) și s-a desfășurat pe un număr de 15 copii cu anemie aplastică dobândită internați în Clinica Pediatrie II Cluj Napoca în perioada ianuarie 1994 – iunie 2006. Diagnosticul de anemie aplastică s-a realizat pe baza următoarelor criterii: anemia aplastică severă: număr absolut de neutrofile (ANC) $< 500/\text{mm}^3$, trombocite $< 20.000/\text{mm}^3$, număr absolut de reticulocite $< 20.000/\text{mm}^3$, măduvă hipocelulară; anemia aplastică foarte severă: ANC $< 200/\text{mm}^3$ asociat cu criteriile de la forma severă; anemia aplastică moderată: îndeplinirea a cel puțin două din următoarele criterii: ANC $< 1000 / \text{mm}^3$, trombocite $< 50.000/\text{mm}^3$, reticulocite $< 60.000/\text{mm}^3$, asociat cu măduvă hipocelulară (5).

Au fost excluși din studiu pacienții cu anemie aplastică congenitală și cei cu sindrom mielodisplazic.

Pentru fiecare pacient s-au obținut informații din foile de observație inițiale și ulterioare, efectuate cu ocazia controalelor în clinică, urmărind date de anamneza, examen clinic, teste de laborator (ANC, trombocite, reticulocite), protocoalele de tratament aplicate și evoluția cazului.

Au fost utilizate mai multe protocoale de tratament în diverse combinații: globulină antitimocitară (ATG), corticoterapie, ciclosporina, androgeni, G-CSF.

Dozele utilizate au fost: ATG, 15 mg/kg/zi, 5 zile, în perfuzie cu ser fiziologic cu durată de 8 ore; metilprednisolon iv., 1g/m² /zi, 5 zile, apoi 500 mg/m²/zi, 5 zile, apoi prednison 60 mg/m² /zi, oral, 7 zile; 30 mg/m² /zi, 7 zile; 15 mg/m²/zi, 7 zile; ciclosporina 6 mg/kg/zi, minim 4 luni; G-CSF 5μg/kg/zi, 5 – 10 zile; androgeni – danazol 100 – 200 mg/zi.

Pentru pacienții cu anemie aplastică severă răspunsul complet după tratament a fost definit ca ANC $> 1500 / \text{mm}^3$, trombocite $> 100000 / \text{mm}^3$, hemoglobina $> 11 \text{ g } \%$ și fără necesar transfuzional. Răspunsul parțial după tratament, pentru pacienții cu anemie aplastică severă a fost definit ca ANC $> 500 / \text{mm}^3$, trombocite $> 20000 / \text{mm}^3$, hemoglobina $> 8 \text{ g } \%$ asociat cu independența de transfuzii.

Recăderea a fost definită prin scăderea numărului absolut de neutrofile, trombocite și scăderea valorii hemoglobinei cu mai puțin de 50% din media de pe perioada remisiei și întrunirea tuturor criteriilor pentru anemia aplastică sau prin nevoia de suport transfuzional (3). Timpul recăderii s-a calculat din prima zi de când s-au întrunit criteriile de răspuns complet sau parțial și până în ziua recăderii.

Prelucrarea statistică s-a efectuat în programul GraphPad InStat 3, utilizând teste parametrice de tip procent, medie aritmetică, deviație standard (SD), testul student și Fischer.

Rezultate

I. Caracteristici pacienți pretratament

În perioada 1994 – 2006 au fost diagnosticați 15 copii cu anemie aplastică dobândită.

Tabel I: Caracteristici pacienți la internare

	TOȚI PACIENȚII	AA FOARTE SEVERĂ	AA SEVERĂ	AA MODERATĂ
Număr	15	4	8	3
Vârsta medie – ani ± SD	8,6 ± 4,6	8 ± 5,2	7,8 ± 4,9	11,3 ± 3,5
Sex M / F	6 / 9	2 / 2	2 / 6	2 / 1
Etiologie				
- idiopatică	11	3	6	2
- hepatită	2	-	1	1

- rubeolă	2	1	1	-
Interval de la dgn. la tratament imunosupresor / zile $\pm$ SD	141	26 $\pm$ 25,4	20 $\pm$ 6,9	618 $\pm$ 541,2
ANC / mm ³ $\pm$ SD	398 $\pm$ 265,4	130 $\pm$ 47,6	397,5 $\pm$ 79,5	726 $\pm$ 338,2
Trombocite / mm ³ $\pm$ SD	19.733 $\pm$ 13279,7	12.250 $\pm$ 2872,2	16.750 $\pm$ 6227,8	37.666 $\pm$ 21361
Reticulocite / mm ³ $\pm$ SD	16.252 $\pm$ 10193,5	8077 $\pm$ 1722,7	14.585 $\pm$ 6868,6	31.600 $\pm$ 7725,2

II. Tratament

Tabel II: Combinații de tratament pentru diferitele tipuri de anemie aplastică

Tip combinație	Număr total cazuri	AA foarte severă	AA severă	AA moderată
Androgeni +prednison	2	nu	nu	2
Ciclosporină+prednison	1	1	nu	nu
ATG + MP (metilprednisolon)	2	1	1	nu
ATG+MP + Androgeni	2	nu	2	nu
ATG + MP + G-CSF	2	1	1	nu
ATG + MP + G-CSF + Androgeni	3	nu	2	1
ATG + MP + G-CSF +ciclosporină	3	1	2	nu

III. Recăderea

Tabelul III: Descrierea cazurilor de anemie aplastică cu recădere

Nr. caz	Tipul AA	Timpul recăderii (luni)	Tratament		Evoluție			
			Initial	Recădere	Răspuns parțial	Răspuns complet	Fără răspuns	Deces
1.	severă	3 de la RP	ATG + MP	ATG + MP+ G- CSF	nu	nu	da	da
2.	severă	36 de la RC	ATG + MP+ G- CSF	ATG + MP+ciclo- sporina	nu	da	nu	nu
3.	mode- rată	36 de la RP	prednison + androgeni	ATG + MP+ G- CSF (2 cure)	nu	nu	da	da
4.	mode- rata	10 de la RC	prednison + androgeni	prednison + ciclosporina	nu	da	nu	nu

RP = răspuns parțial

RC = răspuns complet

IV. Complicații

Tabelul IV: Complicații

Tip complicație	AA foarte severă	AA severă	AA moderată	Total cazuri
Infecții severe :				
- bacteriemie/septicemie	1	2	nu	3
- bronhopneumonie/pneumonie	1	nu	1	2
Infecții moderate :				
- otita	nu	1	nu	1
- ITU	nu	nu	1	1
Febra origine necunoscută FON	1	1	nu	2
Hepatita acută virală B	nu	1	nu	1
Hemoragia cerebrală	1	1	nu	2
Hemoglobinurie paroxistică	nu	1	nu	1

În 5/ 15 cazuri (33,3 %) cazuri am întâlnit infecții severe documentate soldate cu 3 decese : 1 caz septicemie cu *Acinetobacter* urmat de deces (anemie aplastică foarte severă); 1 caz bronhopneumonie urmat de deces (anemie aplastică moderată cu recădere); 1 caz pneumonie urmat de deces (anemie aplastică foarte severă fără răspuns la tratament); 1 caz septicemie stafilococică cu evoluție bună (anemie aplastică severă); 1 caz bacteriemie cu stafilococ epidermidis cu evoluție bună (anemie aplastică severă).

V. Decese

Tabelul V: Decese

Nr. caz	Vârsta (ani)	Sex	Tipul AA	Data deces față de dgn. inițial (zile)	Tip de răspuns inițial/recădere	Cauze deces	
						Infecții	Hemoragie cerebrală
1.	3,5	F	foarte severă	60	fără răspuns	da	nu
2	4	M	foarte severă	7	fără răspuns	da	nu
3.	14	M	foarte severă	16	fără răspuns	nu	da
4.	3	F	severă	210	recădere	nu	da
5.	7	F	severă	180	fără răspuns	da	nu
6.	11	M	moderată	1642	recădere	da	nu

VI Supraviețuirea

Supraviețuirea a fost întâlnită în 9 / 15 cazuri (60%), din care 8 cazuri cu supraviețuire la 5 ani de la diagnostic, iar 1 caz cu supraviețuire la 1 an de la diagnostic, la momentul încheierii studiului (iunie 2006).

În funcție de tipul anemiei aplastice supraviețuirea a fost în 1 din 4 cazuri de anemie aplastică foarte severă (25%), în 6 din 8 cazuri de anemie aplastică severă (75%) și în 2 din 3 cazuri de anemie aplastică moderată (66,6%).

Supraviețuirea a fost de 25% versus 72,7% pentru pacienții cu ANC < 200/mm³ versus cei cu ANC > 200/mm³ (p = 0,27, fără semnificație statistică).

În funcție de sex supraviețuirea a fost de 6 din 9 cazuri sex feminin (66,6%) și 3 din 9 cazuri sex masculin (33,3%), cu o valoare p = 0,37, fără semnificație statistică.

Supraviețuirea în funcție de tipul de răspuns inițial a fost de :1 din 3 cazuri cu răspuns parțial (33,3%); 8 din 8 cazuri cu răspuns complet (100%); în cazurile fără răspuns la tratamentul inițial nu am întâlnit supraviețuitori.

Discuții

Lucrarea de față și-a propus printr-un studiu de tip retrospectiv, efectuat pe o perioadă de 12 ani, urmărirea aspectelor clinicoevolutive pentru 15 copii diagnosticați cu anemie aplastică dobândită. Numărul insuficient de cazuri din studiul nostru nu a permis corelarea exactă a datelor obținute cu cele din literatură.

Cele mai multe cazuri, 11 / 15 (73,33 %), au fost de anemie aplastică severă și moderată; doar 4 / 15 cazuri au fost de anemie aplastică foarte severă ceea ce este discordant cu datele din literatură care au arătat că la copii, anemia aplastică foarte severă este predominantă (> 60 %) (6). Vârsta medie a pacienților cu anemie aplastică din studiul nostru a fost de 8,6 ani (0,9 – 15 ani), ceea ce se corelează cu vârsta medie publicată în alte studii care a fost de 8,9 ani (0,91 – 16,45 ani) (6). Etiologia anemiei aplastice nu a putut fi identificată în majoritatea cazurilor, 11 / 15 cazuri (73,3 %), fiind etichetată ca anemie aplastică idiopatică. Intervalul de la diagnostic la tratamentul imunosupresor a fost în medie de 141 zile (4 luni) pentru toți pacienții cuprinși în studiu, cu o variație foarte mare cuprinsă între 2 zile și 3 ani. Acest interval foarte prelungit este discordant cu intervalul de 1 lună decelat în alte studii (6). În 2 din 3 cazuri de anemie aplastică moderată, terapia imunosupresoare s-a introdus cu ocazia recăderii, la 3 ani, respectiv 2 ani de la diagnosticul inițial, prelungind foarte mult intervalul de la diagnostic la tratamentul imunosupresor pentru totalitatea cazurilor.

Într-un studiu efectuat de japonezi, intervalul de la diagnostic la terapia imunosupresoare pentru anemia aplastică foarte severă a fost de 12 zile, comparativ cu studiul nostru unde acest interval a fost în medie de 26 zile (7). Acest interval prelungit se poate explica prin procurarea dificilă de globulină antitimocitară (ATG).

Schemele de tratament în anemia aplastică dobândită sunt multiple și diferă în funcție de tipul de severitate al anemiei (1). În anemia aplastică moderată se utilizează o terapie minimă cu androgeni și corticoterapie. În anemia aplastică severă și foarte severă se utilizează terapie imunosupresoare combinată; există studii la adulți și copii care arată că terapia imunosupresoare combinată (ATG + ciclosporina) este superioară terapiei cu ATG singură sau în combinație cu androgeni (3, 5). În ceea ce privește utilizarea G-CSF în anemia aplastică severă la copil, datele din literatură au evidențiat faptul că adăugarea de G-CSF la terapia imunosupresoare nu aduce beneficii în îmbunătățirea răspunsului hematologic, incidența infecțiilor documentate și rata supraviețuirii globale (7). Cea mai utilizată combinație de tratament în studiul nostru a fost ATG + metilprednisolon + G-CSF ± androgeni sau ciclosporină în 8/15 cazuri, din care 7/15 cazuri de anemie aplastică severă și foarte severă și doar 1 caz de anemie aplastică moderată cu ANC < 500/mm³, fiind urmată în majoritatea cazurilor de răspuns complet (6 din 8 cazuri), 1 caz de răspuns parțial, 1 caz fără răspuns și un deces.

Există păreri contradictorii, pro și contra, în ceea ce privește adăugarea androgenilor la ATG, ciclosporină și G-CSF în anemia aplastică severă și foarte severă (6, 7). Un studiu german contraindică utilizarea androgenilor asociat terapiei imunosupresoare în anemia aplastică severă și foarte severă, datorită efectelor secundare multiple. În studiul nostru am utilizat androgeni în 7/15 cazuri din care 4 cazuri de anemie aplastică severă și 3 cazuri de anemie aplastică moderată.

Combinăția ATG + metilprednisolon + G-CSF + ciclosporina, ca tratament inițial, a fost utilizată în 3/15 cazuri, fiind urmată de 2 cazuri cu răspuns complet și 1 caz fără răspuns și deces. Ciclosporina a fost utilizată în tratamentul inițial al anemiei aplastice severe într-un caz, fără răspuns și urmat de deces. Există studii care arată că tratamentul anemiei aplastice severe cu ciclosporină este mai puțin eficient decât tratamentul cu globulină antitimocitară (ATG) sau ATG + ciclosporina (1,8). În studiul nostru, ciclosporina a fost utilizată în combinație cu prednison ± ATG, ca tratament ulterior, în 2 din cele 4 cazuri de recădere, cu evoluție favorabilă și răspuns complet în ambele cazuri.

Recăderea a fost observată în 4 / 15 cazuri (26,6 %): 2 cazuri de anemie aplastică severă și 2 cazuri de anemie aplastică moderată. Datele din literatură arată că în anemia aplastică, recăderea apare la 30 – 40 % din pacienții care răspund la tratamentul inițial (8). În studiul nostru, evoluția pacienților cu recădere a fost diferită în funcție de calitatea răspunsului inițial, ceea ce se corelează cu datele existente în literatură (3). Infecțiile severe documentate (bacteriemie / septicemie, pneumonie / bronhopneumonie) au fost întâlnite în 5 din 15 cazuri (33,3 %), urmate de 3 decese.

Rata de mortalitate precoce (< 100 zile) a fost ridicată la cazurile de anemie aplastică foarte severă (3 din 4 cazuri, 75%), în comparație cu rezultatele publicate în alt studiu unde aceasta rată de mortalitate a fost mult mai mică (13%) (7). Într-un alt studiu brazilian, efectuat pe 25 de copii cu anemie aplastică severă tratați cu globulină antitimocitară, rata mortalității a fost de 47%, comparativă cu studiul nostru (9). Cauzele de deces au fost infecțiile severe (4 cazuri) și hemoragia cerebrală (2 cazuri).

Rata supraviețuirii a fost mai mică (25%) la pacienții cu ANC < 200/mm³ față de cea a pacienților cu ANC > 200/mm³ (72,7%), dar fără diferență statistic semnificativă (p = 0,27). Un studiu german în care s-a aplicat terapie imunosupresoare combinată cu ATG, metilprednisolon, ciclosporina, asociat cu G-CSF, la copii cu anemie aplastică severă și foarte severă, a arătat surprinzător faptul că rata supraviețuirii la 5 ani a fost mai mare pentru grupul cu anemie aplastică foarte severă (93%) față de grupul cu anemie aplastică severă (81%) (6).

Concluzii

1. Au predominat cazurile de anemie aplastică severă și moderată, cu o vârstă medie a pacienților de 8,6 ani; în majoritatea cazurilor etiologia nu a putut fi identificată; Intervalul de la diagnostic la tratamentul imunosupresor a fost prelungit (141 zile).

2. Am utilizat scheme multiple de tratament în diverse combinații: terapie imunosupresoare combinată (globulina antitimocitară, ciclosporină, corticoterapie) asociată sau nu cu factori de stimulare a coloniilor granulocitare sau androgeni;

3. Am obținut răspunsul complet și parțial după tratamentul inițial în majoritatea cazurilor (11/15 cazuri); recăderea a apărut în proporție de 26,6%, într-un interval mediu 21 luni, cu o evoluție a pacienților diferită în funcție de calitatea răspunsului inițial.

4. Cele mai frecvente complicații au fost cele infecțioase (60 %); cauzele de deces au fost infecțiile severe și hemoragia cerebrală; supraviețuirea globală a fost de 60 %, semnificativ mai mare la pacienții cu număr absolut de neutrofile > 200/ mm³.

Bibliografie

1. GUINAN E. C.: Aplastic anemia: management of pediatric patients, American Society of Hematology, *Hematology*, 2005, 104-109
2. ROSENFELD S., FOLLMANN D., NUNEZ O. et al.: Antithymocyte globulin and cyclosporine for severe aplastic anemia, association between hematologic response and long-term outcome, *JAMA*, 2003, 289-9, 1130-1135

3. FRICKHOFEN N., HEIMPEL H., KALTWASSER J. P. et al: Antithymocyte globulin with or without cyclosporine A: 11-year follow-up of a randomized trial comparing treatments of aplastic anemia, *Blood*, 2003, 101-4, 1236-1242
4. BACIGALUPO A., BRUNO B., SARRACCO P. et al.: Antilymphocyte globulin, cyclosporine, prednisolone, and granulocyte colony-stimulating factor for severe aplastic anemia: an update of GITMO/EBMT study on 100 patients, *Blood*, 2000, 95-6, 1931-1934
5. DAVIES J. K., GUINAN E.C., : An overview of management of severe idiopathic aplastic anemia in children, *US Special Populations Pediatrics Review*, 2006, 53-56
6. FUHRER M., RAMPF U., BAUMANN I. et. al.: Immunosuppressive therapy for aplastic anemia in children: a more severe disease predict better survival, *Blood*, 2005, 106-6, 2102-2104
7. KOJIMA S., SHIGEYOSHI H., KOSAKA Y. et. al.: Immunosuppressive therapy using antithymocyte globulin, cyclosporine, and danazol with or without human granulocyte colony-stimulating factor in children with acquired aplastic anemia, *Blood*, 2000, 96-6, 2049-2054
8. YOUNG N. S., CALADO R.T., SCHEINBERG P.: Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia, *Blood*, 2006, 108-9, 2509-2519
9. MEDEIROS C.R., RIBEIRO R.C., BITTENCOURT M. A. et al: Long-term outcome of 25 children and adolescents with severe aplastic anemia treated with antithymocyte globulin, *Braz J Med Biol Res*, 2000, 33-5, 553-558

Neutropenia with acquired aplastic anemia – clinical aspects and evolution

VODĂ DANIELA, POPA GHEORGHE, MIU NICOLAE

Summary

Acquired aplastic anemia is rare disease characterised by pancytopenia and hypoplastic bone marrow. This paper proposed to investigate the clinical aspects and evolution of acquired aplastic anemia.

We report a descriptive study which included 15 children new diagnosed with acquired aplastic anemia in II Pediatric Clinic Cluj Napoca, between January 1994 – June 2006. Patients' evaluation included the medical history, clinical exam, the means of absolute neutrophils count, platelets and reticulocytes at admission, treatments' protocols applied and evolution.

We detected 4 cases with very severe aplastic anemia, 8 cases with severe aplastic anemia and 3 cases with moderate aplastic anemia. The interval between diagnosis to immunosuppressive therapy was 141 days. We used 7 types of treatment combinations. The usefulness scheme (8 / 15 cases) was antithymocyte globulin with methylprednisolone with G-CSF with or without danazol and cyclosporine. The relapse was observed in 26,6 %; the severe infections were observed in 33,3%. The mortality rate was 40 % and the overall survival rate was 60 %.

The majority of cases was severe and moderate aplastic anemia with a prolonged interval between diagnosis and immunosuppressive therapy.

Key words: aplastic anemia, children, immunosuppressive therapy, granulocyte colony stimulating factor.

NERVII FRENICI ȘI DIAFRAGMA (Partea II-a). PACING-UL DIAFRAGMATIC

FR GRIGORESCU SIDO¹, ANCA ZIMMERMANN²

¹Catedra de Anatomie și Embriologie, UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj

²Dept. de Endocrinologie și Diabetologie, Clinica Medicală I,
Universitatea "Johannes Gutenberg" Mainz, Germania.

Rezumat

Nervul frenic (NF) și diafragma (D) constituie o unitate morfofuncțională cu importante implicații normale și patologice respiratorii, digestive și circulatorii. Între anii 1950-1990, interesul investigațiilor anatomicilor și chirurgilor, privind nervul frenic și diafragma, s-a orientat spre găsirea unor frenotomii "ideale", cât mai conservatoare cu putință. După 1990, căutarea punctului motor nervos frenic și pacing-ul diafragmatic cu electrozi plasați pe NF și laparoscopic în planul D, a reprezentat un subiect studiat cu scopul ușurării suferinței unor pacienți cu insuficiențe respiratorii cronice (hipoventilație centrală, tetraplegici, etc.) dependenți de ventilație mecanică asistată. Studiul de față abordează, pe un număr de 58 preparate anatomice, problema ramurilor terminale ale celor doi nervi frenici, având ca obiective: stabilirea la om, a punctului nervos frenic anatomic și motor, bilateral, utile tehnicii pacing-ului diafragmatic.

Cuvinte cheie: nervii frenici, diafragma, pacing-ul diafragmatic.

Prescurtări: D (diafragma), NF (nervul frenic), VCI (vena cavă inferioară), CF (centrul frenic).

Date din literatura de specialitate

NF este singurul nerv motor al D, cu care realizează o unitate anatomofiziologică, D fiind cel mai important mușchi inspirator, dar și cu implicații digestive și circulatorii. Anul 1919 reprezintă momentul debutului chirurgiei toracice datorită faptului că Schwartz A și Quenu J fac prima toraco-freno-laparotomie, iar în 1920 apare teza de doctorat a lui J Quenu despre herniile diafragmatice (1). Între 1950-1990, una din preocupările anatomicilor și chirurgilor, care au studiat diafragma, a fost găsirea unor *frenotomii ideale* (2) bazată pe cunoașterea cât mai exactă a anatomiei ramurilor intradiafragmatice ale celor doi NF. Stimularea electrică, magnetică, cu radiofrecvență a nervului frenic sau direct a diafragmei, cu scopul eliberării de ventilația mecanică a unor pacienți dependenți de această terapie (tetraplegici, insuficiențe respiratorii de diferite cauze), a început cu lucrările lui Sarnoff, 1948 (3,4,5), Glenn și col. 1964, 1978, 1985, etc. (4,5,6) și a ajuns de foarte mare interes după 1990, datorită lucrărilor lui DiMarco și col. (7,8,9) și Onders și col. (10,11,12).

Nervul frenic drept abordează fața toracică a D în unghiul dintre foliola dreaptă și cea anterioară a centrului frenic, lateral de orificiul venei cave inferioare, iar *nervul frenic stâng* în partea costală anterioară, la aproximativ 2,5 cm. anterior de foliola stângă a centrului frenic (CF) și la aproximativ 1 cm. la stânga vârfului inimii (1,13). Înainte cu 0,5-1,5 cm. de a pătrunde în D, cei doi frenici se împart în ramurile lor terminale, ridicând pleura mediastinală și formând un hemicon seros cu baza la D, mai marcat în dreapta decât în stânga. În jurul acestor locuri există lobuli grăsoși, elemente

importante pentru identificarea intraoperatorie (calea toracică) a punctului de abordare a D de către nervii frenici (13). Înainte de a pătrunde în masa D ramurile terminale (posterioară, laterală și anterioară) ale celor doi NF se comportă diferit: în *dreapta*, ramura posterioară, după un scurt traiect pe fața superioară a D, perforează CF și se distribuie părții sale musculare; ramurile anterioară și laterală ating mușchiul mai la distanță (13); în *stânga*, toate ramurile nervului pătrund printr-o fantă interfasciculară (hilul diafragmatic), situată la nivelul porțiunii musculare costale anterioare (13).

În principiu ramurile terminale ale NF sunt: anterioară, laterală și posterioară (2) orientate în direcție radiară de la punctul de abordare a feței superioare a diafragmei (*punctul nervos frenic anatomic*).

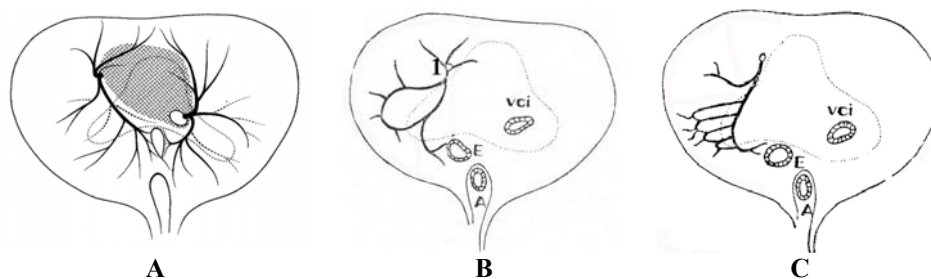


Fig. 1. A. Distribuția NF (după Thevenet și Prioton, 1958). **B și C.** NF stâng după Perera H și Edwards FR, (1957), (14). 1. Locul de abordare a diafragmei de către NF stâng (*punctul frenic anatomic*)

Punctul motor nervos frenic și pacing-ul diafragmei

O utilitate majoră a cunoașterii ramurilor intradiafragmatice a NF este *pacing-ul D*, cu scopul înlocuirii ventilației mecanice asistate la pacienții dependenți respirator de aceste tehnici (insuficiențe respiratorii cronice de diferite cauze).

Dacă *pacing-ul D* prin stimularea (electrică, magnetică, cu radiofrecvență) trunchiului NF (extradiafragmatic) este o metodă mai veche (3,4,5,6,15,16,17,18,etc), cea a stimulării ramurilor frenice intradiafragmatice, prin implantarea de electrozi pe fața abdominală a diafragmei, având același scop, este o metodă mai nouă (8,11,19), experimentată inițial pe câini (20,21etc) și practică laparoscopic la om, după anul 2000 (7,8,9,10,11,12) cu rezultate bune și de durată.

DiMarco și col., Onders și col., definesc *punctul motor nervos frenic* ca fiind acea arie de D din jurul punctului de abordare anatomică a diafragmei de către NF (*punctul nervos frenic anatomic*), care reacționează la stimulii electrici de tatonare a identificării acestuia, stimulări al căror rezultat se poate aprecia EMG, urmărind vizual contracțiile D sau prin înregistrarea modificărilor presiunii intraabdominale.

Pacing-ul D propus de acești autori este ușor de realizat (laparoscopic), netraumatizant, economic și cu rezultate bune și de durată, având doar un mic inconvenient, care constă în faptul că *punctul motor nervos frenic* se identifică prin *tatonare*, chiar dacă s-au încercat cartografieri ale acestuia (10,11,12).

Onders și col., au stabilit că aria punctului motor nervos frenic este de 7,32 cm² pentru hemidiafragma stângă, 5,87 cm.² pentru hemicupola dreaptă, D având în aceste zone 3mm. grosime în stânga și 2,9 mm. în dreapta.

Ipoteza de lucru

Având în vedere faptul că identificarea *punctului motor nervos frenic* poate fi încă îmbunătățită, o reevaluare topografică a *punctului nervos frenic anatomic*, la om, ar fi de folos.

Scopul lucrării

Aducerea de completări asupra anatomiei celor doi NF, pe un număr mai mare de preparate recoltate de la feți și adulți.

Materialul și metoda de lucru

Studiul a început în anul 1969 și a continuat, cu întreruperi, până în anul 2006.

Materialul este reprezentat de:

- 58 de D întregi (25 feți și 33 adulți);

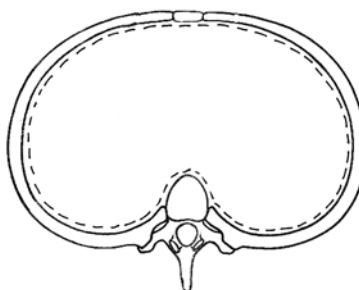


Fig. 2. Recoltarea D.

Metoda de lucru

Recoltarea D întregi reiese din **fig. 2**:

Din cele 33 de D provenite de la adulți, 5 au fost investigate în situ.

O parte din preparate au fost *conservate* în sol. de formol, iar altă parte au fost conservate în sol. de acid azotic 5‰, care păstrează consistența pieselor proaspete și permite bune planuri de clivaj.

Prelucrarea s-a făcut prin disecție clasică, s-au făcut fotografiile, scheme și descrierea preparatelor. La un preparat de adult prelucrat în situ, s-au înregistrat unele *date morfometrice* ale toracelui, D și NF.

Rezultate

Observațiile asupra materialului luat în studiu au interesat caracteristicile anatomice ale segmentului terminal al NF și unele repere morfometrice pe un preparat cu D în situ;

Nervul frenic drept. Abordează D pe flancul drept al VCI și înainte de suprafața toracică a D cu

0,5-1 cm. se împarte în ramurile sale terminale (primare sau/și secundare), formând o ridicătură conică sau/și piramidală acoperită de pleura mediastinală și înconjurată de lobuli grăsoși. Între VCI și NF rămâne un spațiu mai îngust sau mai larg (0,2-0,5 cm.) ocupat de partea respectivă a foliolei drepte a CF, de structură fibroconjunctivă. *Punctul nervos frenic anatomic* se poate localiza în plină foliolă dreaptă a CF, mai medial sau mai lateral, depinzând și de varianta morfologică pe care o prezintă CF (22,23).

NF dă 2-6 ramuri terminale; când sunt două ramuri, acestea apar sub forma unui trunchi anterior și unul posterior (foarte rar); dacă sunt mai mult de două ramuri, modul de împărțire în trei ramuri (anterioară, laterală și posterioară) nu este întâlnit prea frecvent; împărțirea în mai multe ramuri este tiparul cel mai frecvent întâlnit.

Direcțiile fundamentale ale ramurilor terminale (primare sau/și secundare) urmează un *tipar radiar* pentru a inerva PAD, laterală și posterioară a D. Ramurile secundare desprinse direct din trunchiul NF se pot orienta și pot fi numite: anteromedială, anterioară, anterolaterală, laterală, posterioară și posteromedială. Cea

mai constantă și mai groasă ramură terminală primară este trunchiul posterior orientat spre stâlpul respectiv al D și partea costală posterioară (inserată pe arcadele psoasului și patratului lombelor).

Nervul frenic stâng abordează D la periferia sa (în planul orizontal ce trece prin bolta hemicupolei stângi), la locul de contact cu pericardul fibros, la aproximativ 1cm. la stânga vârfului inimii și 1cm. posterior de acesta, în zona anterioară a părții costale laterale, în partea musculară a acesteia.

Punctul de abordare (*punctul nervos frenic anatomic*) a hemicupolei stângi de către NF stâng se găsește mai anterior cu 3-4 cm față de omologul său din dreapta, mai apropiat de periferia D față cel din dreapta (în planul orizontal dus prin bolta hemicupolei stângi) și pe un plan inferior (1-2 cm.) față de dreapta (Fig. 4,5).

NF stâng dă ramurile sale terminale la 0,5-1 cm. superior de planul D, formând o ridicătură piramidală acoperită de pleura mediastinală și înconjurată de lobuli grăsoși (ca în dreapta).

NF stâng emite 2-8 ramuri terminale care se vor distribui hemicupolei stângi după un tipar radiar. Direcțiile fundamentale rămân ca și în dreapta (anterioară, laterală și posterioară), trunchiul posterior fiind și aici cel mai constant și cel mai gros (vezi partea I-a).

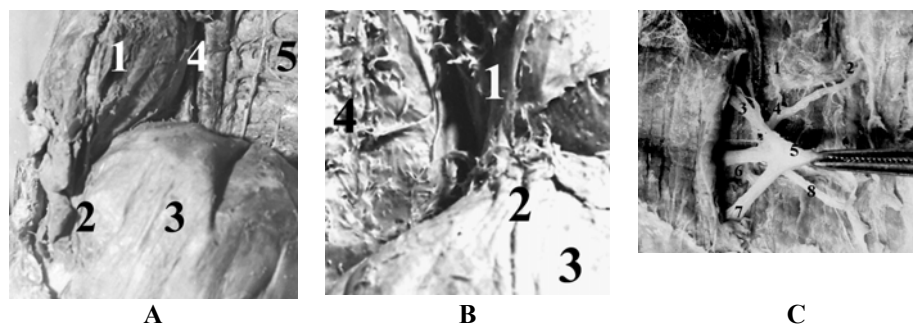


Fig. 3. A. NF stâng. 1. NF. 2. Locul de abordare a D de către NF stâng și câțiva lobuli grăsoși care înconjoară conul de implantare. 3. Hemicupola stângă. 4. Aorta descendentă. 5. Lanțul simpatic toracic. **B.** NF drept în partea sa terminală. 1. NF drept. 2. Locul de implantare în D și lobuli grăsoși înconjurători. 3. Hemicupola dreaptă. 4. Lanțul simpatic toracic. **C.** *Punctul frenic anatomic stâng* (din normă toracică). Ramuri: 1. anterioară. 2. anteromedială. 3. anterolaterală. 4. trunchi anterior. 5. piramida formată de ramurile terminale ale NF, înainte de a pătrunde în D. 6. laterală. 7. trunchi posterior. 8. posteromedială. Se remarcă traseul scurt al ramurilor pe fața toracică.

Date morfometrice toracodiafragmatice

Este imposibil de a stabili corelații toracodiafragmatice exacte, general valabile, având în vedere forma de ansamblu a D, vârsta, talia, morfotipul, starea de nutriție și momentul funcțional considerat, toate foarte variabile după individ. Totuși, se pot aprecia, în plan frontal și orizontal (plan ce trece prin bolta unei hemicupole) unele repere orientative, care au fost identificate pe un singur preparat in situ, care a aparținut unei persoane de sex masculin, 72 de ani, talia 1,76 m, normoponderal, fără deformații osoase. Imaginile inserate (Fig. 4,5) ilustrează cu aproximație datele morfometrice înregistrate, ele având valoare orientativă și pentru alte cazuri. Schema din fig.7B circumscrie punctat ariile D, comparative cu cele din literatură (fig. 6,A,B-Onders și col.), pentru *punctul motor nervos frenic*, ce înconjoară *punctul nervos frenic anatomic*. Aceste arii văzute din spre fața toracică a D indică punctat separația dintre ramurile frenice cu traiect pe fața toracică a D (zona din interiorul ariei), față de ramurile care, după ce au perforat D, urmează fața sa abdominală (zona situată în jurul ariei marcate). Zona din jurul ariei marcate ar putea constitui repere pentru plasarea electrozilor pe fața

abdominală a D, ramurile nervoase fiind mai apropiate de abordarea lor laparoscopică (sugestia autorilor).



Fig. 4. D in situ, vedere din spre torace. 1. Locul de abordare a D de către NF stâng (aprox. 1 cm. lateral și 1 cm. posterior de vârful inimii, respectiv aprox. 9 cm. de planul median). 2. Vârful inimii. 3. Sternul. 4. Cartilaj costal. 5. VCI. 6. *Punctul frenic anatomic drept*. 7. CF. În cifre sunt redată dimensiunile pe un preparat provenit de la o persoană de 72 de ani, sex masculin, talia 1,76 m., normoponderal, fără deformații osoase.

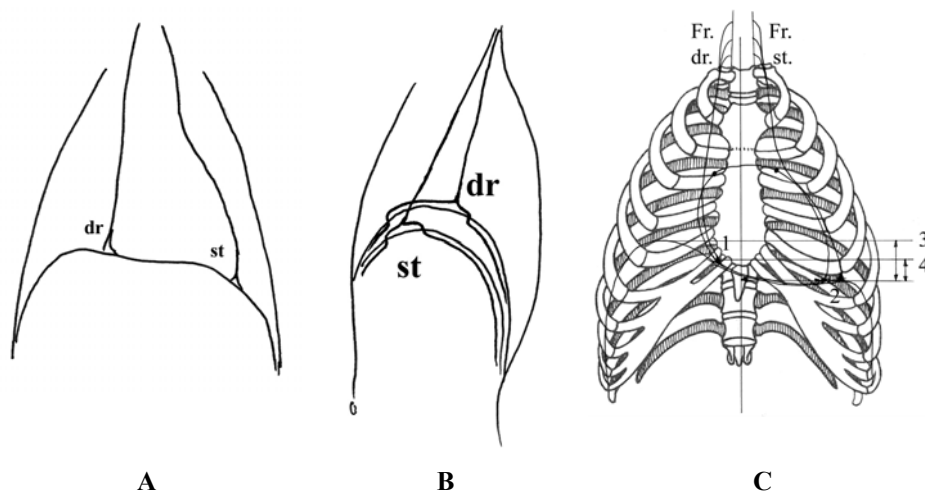


Fig. 5. A. Traiectul celor doi NF și *punctele frenice anatomice* (incidență frontală). **B.**

Din normă laterală (două secțiuni parasagitale, cupola dreaptă mai înaltă decât cea stângă) se observă punctul frenic anatomic drept și traseul ramurilor anterioare mai lungi pe fața toracică a D, față de poziția din partea stângă. **C.** Peretele toracic anterior pe care se proiectează NF, conturul inimii și al hemicupolelor D. 1. Locul de pătrundere a NF drept în D (extremitatea medială a spațiului intercostal V, la marginea laterală a sternului). 2. Vârful inimii medial și locul de abordare a D de către NF stâng, lateral, la aprox. 1 cm. lateral de vârful inimii. 3. Hemicupola dreaptă se proiectează în spațiul intercostal IV, iar cea stângă, în spațiul intercostal V, între bolțile lor existând o diferență de înălțime de aprox. 2-3 cm. 4. Între punctele frenice de abordare a D există o diferență pe înălțime de aprox. 1-2 cm.

Discuții

NF și D sunt structuri anatomice foarte importante din punct de vedere respirator, digestiv (ex: competența esofagului inferior) și circulator (aspirația toracică, pentru circulația venoasă și limfatică).

Studiul segmentului terminal al NF a vizat:

- cartografierea bilaterală, mai exactă, la om, a *punctelor nervoase frenice anatomice și motoare*.

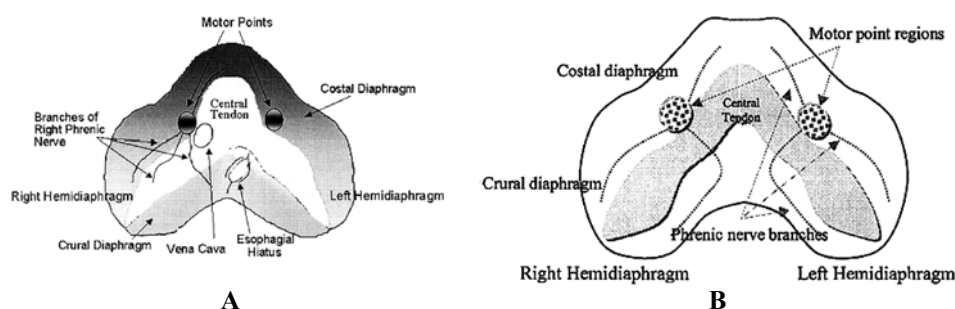


Fig. 6. A. și B. Punctele motoare ale nervilor frenici (vedere abdominală-după DiMarco și col., 2002, 2005; Onders și col., 2004). Se pot remarca câteva particularități care nu concordă cu morfologia de la om. Aceste discordanțe sunt: conturul toracelui, forma centrului frenic și plasarea simetrică a punctelor motoare ale NF.

Pentru edificare sunt expuse în imaginile următoare aspecte comparative între D prelevate de la șobolan și om.

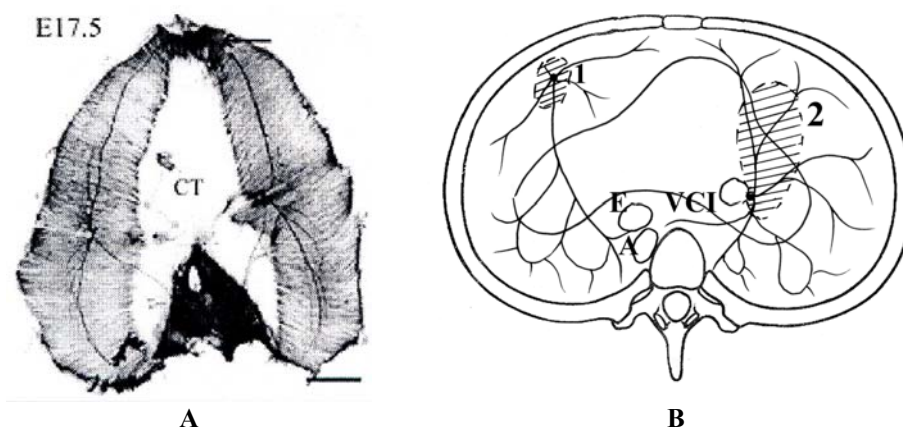


Fig. 7. A. Fotografiere prin transiluminare a unei D de șobolan în care se văd punctele de implantare a celor doi nervi frenici (simetrici stânga- dreapta), conturul centrului frenic și a toracelui (după Greer JJ și col., 1999) (24). **B.** Aceleași particularități anatomice la om. Punctele de abordare a D de către NF sau *punctele frenice anatomice* (vedere din spre torace) se localizează în interiorul ariilor hașurate. Ariile hașurate reprezintă și teritoriul ramurilor NF cu traiect pe fața superioară a D. Ramurile NF străbat D, având un curs mult mai lung pe fața abdominală a acestuia, subfascial și extraoperatorial; ele nu pot fi văzute și identificate intraoperator, decât prin disecție. 1 și 2 reprezintă arii parcurse pe fața toracică a D de către ramurile NF. Între schemele DiMarco și Onders (6, A și B) și cea a autorilor (7 B) nu există corespondență între *conturul toracelui, forma CF și localizarea punctelor de abordare a D de către NF* (schemele 6A și B nu corespunde anatomiei D la om).

Punctul motor nervos frenic

Cartografierea *punctului motor nervos frenic* a preocupat cercetătorii, în special după anii '90, cu toate că există studii anterioare privind stimularea nervilor frenici (electrică, magnetică, cu radiofrecvență) cu scopul de a transforma pacienți dependenți respirator de aparatura destinată ventilației mecanice asistate, în pacienți independenți respirator, pe o perioadă cât mai îndelungată posibil. Preocupări în acest sens au avut: Schmit și col., 1988, (25) Tibballs, 1991, DiMarco și col., 2002, 2005, Onders și col., 2004, 2005, Le Pimpec-Barthes și col., 2004 (26), Bach JR și col. (1991) care au inițiat și executat plasarea laparoscopică de electrozi în punctul motor nervos frenic, în planul D, pentru stimularea contracțiilor sale prin excitare electrică, obținând rezultate considerate foarte bune. Identificarea punctului motor nervos frenic se face prin *tatonare* (EMG, măsurarea modificărilor de presiune intraabdominală, aprecierea vizuală a contracțiilor diafragmei) fapt pentru care, unele date antropometrice anterior prezentate și localizarea și conturarea ariilor din jurul *punctelor nervoase frenice anatomice*, ce delimitează traiectul ramurilor frenice de pe fața toracică, de părțile cu traiect pe fața abdominală a D, ar putea fi orientative și de o oarecare utilitate practică.

Concluzii

1. Cauzele care stau la baza dificultății găsirii *punctului nervos frenic anatomic și motor* sunt reprezentate de: particularitățile anatomice ale NF; ramurile intradiafragmatice ale celor doi frenici au un traiect subfascial și extraseros (pleural, respectiv peritoneal) pe majoritatea întinderii lor, astfel încât intraoperator identificarea ramurilor frenice este posibilă doar prin disecție.
2. Singura parte reperabilă a segmentului terminal al NF este *punctul nervos frenic anatomic*, înconjurat de lobuli grăsoși, abordabil doar din spre fața toracică a D.
3. Identificarea *punctului motor nervos frenic* necesar pacing-ului D (cu electrozi implantați laparoscopic în planul D) se face încă prin *tatonare*.
4. Pentru identificarea *punctului motor nervos frenic* ar putea fi utile cunoașterea la om: a *punctului nervos frenic anatomic*; ale unor date morfometrice expuse anterior, precum și ale ariilor obținute prin unirea punctelor de trecere ale ramurilor intradiafragmatice ale NF, de pe fața toracică pe fața abdominală a D, arii dispuse în jurul *punctelor nervoase frenice anatomice*.

Bibliografie

1. PERROTIN J, MOREAUX J: Chirurgie du diaphragme, Masson & Cie.Ed. Paris, 1965, 11-12, 57-63.
2. THEVENET A, PRIOTON JB : L' inervation du diaphragme. Deduction chirurgicales de la topographie des branches des nerfs phrenique, Poumon Cœur, 1958 Apr; 14 (4): 329-340.
3. TIBBALLS J: Diaphragmatic pacing: an alternativ to long-term mechanical ventilation, Anaest Intensive Care, 1991 Nov; 19 (4): 597-601.
4. GLENN WWL, HOGAN JF, LOKE JS, CIESIELSKI TE, PHELPS ML, ROWEDER R: Ventilatory support by pacing of the conditioned diaphragm in quadriplegia, N Engl J Med, 1984 May; 310 (18): 1150-1155.
5. GLENN WWL, PHELPS ML: Diaphragm pacing by electrical stimulation of the phrenic nerve, Neurosurgery, 1985 Dec, 17 (6): 974-984.
6. GLENN WWL, HAGEMAN JH, MAURO A, FLANIGAN LS, HARVARD M: Electrical stimulation of excitable tissue by radio-transmission, Ann Surg, 1964 Sept.; 160 (3): 338-350.

7. DIMARCO AF, ONDERS RP, KOWALSKI KE, MILLER ME, FERREK S, MORTIMER JT.: Phrenic nerve pacing in a tetraplegic patient via intramuscular diaphragm electrodes, *Am J Respir Critic Care Med*, 2002; 166: 1604-1606.
8. DIMARCO AF: Restoration of respiratory muscle function following spinal cord injury. Review of electrical and magnetic stimulation techniques, *Respir Physiol Neurobiol*, 2005 Jul; 147 (2-3): 273-287.
9. DIMARCO AF, ONDERS RP, IGNAGNI A, KOWALSKI KE, MORTIMER JT: Phrenic nerve pacing via intramuscular diaphragm electrodes in tetraplegic subjects, *Chest*, 2005; 127 (2): 671-678.
10. ONDERS RP, AIYAR H, MORTIMER JT: Characterization of the human diaphragm muscle with respect to the phrenic nerve motor points for diaphragmatic pacing, *Ann Surg*, 2004; 70 (3): 241-247.
11. ONDERS RP, DIMARCO AF, IGNAGNI AR, MORTIMER JT: The learning curve for investigational surgery: lessons learned from laparoscopic diaphragm pacing for chronic ventilator dependence, *Surg Endosc*, 2005 May; 19 (5): 633-637.
12. ONDERS RP, DIMARCO AF, IGNANI AR, AIYAR H, MORTIMER JT: Mapping the phrenic nerve motor point: the key to a successful laparoscopic diaphragm pacing system in the first human series. *Surgery*, 2004; 136 (4): 819-826.
13. OANCEA T: Aspecte ale chirurgiei de graniță toracoabdominală, Ed Militară, București, 1983:19-31.
14. PERERA H, EDWARDS FR: Intradiaphragmatic course of the left phrenic nerve in relation to diaphragmatic incisions. *Lancet*. 1957 Jul; 273 (6985): 75-77.
15. FODSTAD H, BLOM S, LINDERHOLM H: Artificial respiration by phrenic nerve stimulation (diaphragm pacing) in patients with cervical cord and brain stem lesions, *Scand J Rehabil Med*, 1983; 15 (4): 173-181.
16. DENG K, BART G, GIRSCH W, MAYR W, GUGGENBICHLER JP: Respiratory aid using a diaphragmatic pacemaker in high paraplegia, *Pediatr Padol*, 1990; 25 (1): 11-17.
17. BACH JR, O'CONNOR K: Electrophrenic ventilation: a different perspective, *J Am Paraplegia Soc*, 1991; 14 (1): 9-17.
18. KRIEGER LM, KRIEGER AJ: The intercostal to phrenic nerve transfer: an effective means of reanimating the diaphragm in patients with high cervical spine injury, *Plast Reconstr Surg*, 2000 Apr; 105 (4): 1255-1261.
19. PETERSON DK, NOCHOMOWITZ ML, STELLATO TA, MORTIMER JT: Long-term intramuscular electrical activation of the phrenic nerve: safety and reliability, *IEEE Trans Biomed Eng*, 1994 Dec; 41 (12): 1127-1135.
20. NOCHOMOVITZ ML, DIMARCO AF, MORTIMER JT, CHERNIAK NS: Diaphragm activation with intramuscular stimulation in dogs, *Am Rev Respir Dis* 1983 Mar; 127 (3): 325-329.
21. BROUILLETTE RT, MARZOCCHI M: Diaphragm pacing: clinical and experimental results, *Biol Neonate*, 1994; 65 (3-4): 265-271.
22. GRIGORESCU SIDO FR, ALBU I: Distribuția intradiafragmatică a nervilor frenici, *Simpozionul I de Anatomie, Sovata Băi*, 28-29 Apr, 1978.
23. GRIGORESCU SIDO FR: Anatomia clinică a diafragmei, Ed. Dacia Cluj, 1990: 193-202.
24. GREER JJ, DOUGLAS WA, MARTIN-CARABALLO M, LEMKE RP: An overview of phrenic nerve and diaphragm muscle development in the perinatal rat, *J Appl Physiol*, 1999; 86 (3): 779-786.
25. SCHMIT BD, STELLATO TA, MILLER ME, MORTIMER JT: Laparoscopic placement of electrodes for diaphragm pacing using stimulation to locate the phrenic nerve motor points, *IEEE Trans Rehabil Eng*, 1988 Dec; 6 (4): 382-390.
26. LE PIMPEC- BARTHES F, ARAB M, DEBIECHE M.: Surgery for diaphragmatic palsy, *Rev Pneumol Clin*, 2004; 60 (2): 115-123.

Phrenic nerves and diaphragm (Second part). Diaphragm pacing.

FR.GRIGORESCU SIDO, ANCA ZIMMERMANN

Summary

The phrenic nerve (FN) and the diaphragm (D) are a morphofunctional unit with an important role in the physiology and pathology of respiration, digestion and circulation. The anatomy of intradiaphragmatic branches of the phrenic nerve was intensively researched by anatomists and surgeons between 1950-1990, with the aim to perform the most sparing *phrenotomy* possible. After 1990, the research was mainly focused on the identification of the *phrenic nerve motor points* to allow *diaphragmatic pacing* with laparoscopically placed electrodes in the diaphragm in patients with chronic respiratory distress (e.g. central hypoventilation, tetraplegia, etc.), who were on mechanical ventilation. The present study analyses, on 58 anatomical preparations, the *phrenic nerve anatomical points* with the intention to identify on human being the bilateral *phrenic nerve motor points* to facilitate better diaphragmatic pacing procedures.

Key words: phrenic nerves, diaphragm, diaphragm pacing.

Abbreviations: D (diaphragm), FN (phrenic nerve).

ANTIALLERGIC ACTIVITY OF SUBSTITUTED BENZAMIDES: CHARACTERIZATION, ESTIMATION AND PREDICTION

L. JÄNTSCHI¹, SORANA-DANIELA BOLBOACĂ²

¹Technical University of Cluj-Napoca, Romania

²"Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania,

Summary

Antiallergic activity of twenty-three substituted N 4-methoxyphenyl benzamides was model by the use of an original methodology. After sketching out the compounds structure and creating the file with the observed activities, strictly based on compounds structure, the molecular descriptors family was generated and descriptors entered into a multiple linear regression analysis. The multi-varied model with four descriptors proved to render higher ability in estimation (squared correlation coefficient, $r^2 = 0.9986$) as well as in prediction (cross-validation leave-one-out score, $r^2_{cv-loo} = 0.9956$) of antiallergic activity of compounds, obtained significantly greater correlation coefficient compared with the previously reported model ($p < 0.01$). Characterization of antiallergic activity of substituted N 4-methoxyphenyl benzamides by integration of complex structure information provides a stable and efficient multi-varied model with four descriptors. According with the multi-varied model with four descriptors the antiallergic activity of substituted N 4-methoxyphenyl benzamides is like to be of geometry nature, depending by the number of directly bonded hydrogen's, and the atomic relative mass, being in relation with the partial charge of compounds

Keywords: Molecular Descriptors Family on Structure-Activity Relationships (MDF-SAR), Substituted N 4-methoxyphenyl benzamides, Antiallergic activity, Multiple linear regression (MLR)

Background

Benzamide derivatives, known for their anti-inflammatory and immunomodulatory [1,2], anti-tumoral [3], antipsychotic [4], and antiallergic [5] activities, are drugs widely used in medicine [6].

Twenty-three derivatives of N 4-methoxyphenyl benzamide were previously synthesized and their antiallergic activity was tested using dinitrochlorobenzene by inducing delayed allergy of rat skin in vivo [5]. The inhibitory tumor swell rate (IR) was model by the use of molecular connectivity indices, and the following equation was obtained:

$$\log IR = 3.002 + 0.8909^4 x_p - 1.3465^5 x_p - 13.8234^6 x_{cg} \quad (1)$$

where $\log IR$ is inhibitory rate expressed in logarithm scale, and $^4 x_p$, $^5 x_p$, $^6 x_{cg}$ are molecular connectivity indices.

The statistical characteristics of previously reported model [5] are:

$$r = 0.8865, F = 23, s = 0.572, n = 23 \quad (2)$$

where r = correlation coefficient, F = parameter of Fisher-test, s = standard deviation, and n = sample size.

Yu-xin Zhou et al. [5] also applied a CoMFA analysis and the following results were obtained:

$$r = 0.990, r_{cv}^2 = 0.830 \quad (3)$$

where r_{cv}^2 = cross-validated correlation coefficient.

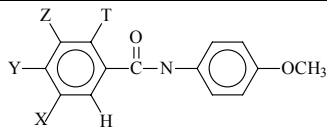
The relationship between antiallergic activities of some substituted N 4-methoxyphenyl benzamides and the information obtained from their structure was studied by the use of an original MDF-SAR methodology. The aim of the research was to analyze the performances of the MDF-SAR methodology in estimation and prediction of antiallergic activities of twenty-three substituted N 4-methoxyphenyl benzamides.

Materials and Methods

N 4-methoxyphenyl benzamides Pharmacology

A number of twenty-three substituted N 4-methoxyphenyl benzamides were included into the study. The generic structure of the substituted N 4-methoxyphenyl benzamides, corresponding substituent(s) of compounds, and inhibitory activity expressed on logarithmical scale are in table 1. In the default cases, $X = Y = Z = T = H$. The inhibitory rate, was calculated by Yu-xin Zhou & all [5] based on the following formula: $(V_1 - V_2)/V$ where V_1 is the swell value of tumor of the reference set of rats (treated with hydrocortisone 20 mg) and V_2 the swell value of tumor of the test set of rats (treated with hydrocortisone 100 mg).

Table 1. Characteristics of studied substituted N 4-methoxyphenyl benzamides and their inhibitory activity

		
Abb.	Substituent	logIR
com_01	$Y = Z = OH$	0.13
com_02	$X = T = OH$	0.07
com_03	$T = F$	-0.06
com_04	$Y = Cl$	-0.12
com_05	$Y = NO_2$	0.05
com_06	$Y = CH_2CH_3$	0.03
com_07	$Y = t-Bu$	0.07
com_08	$Y = t-Pro$	0.00
com_09	$T = OCH_2COOH$	-0.09
com_10	$Y = Z = CH_2-mophlinyl; X = OH$	-4.00
com_11	$Y = OH; Z = CH_2-mophlinyl$	-4.00
com_12	$X = Z = NH_2$	0.03
com_13	$Y = OCH_3$	0.05
com_14	$T = OCH_3$	0.03
com_15	$X = Y = Z = OCH_3$	-0.06
com_16	$T = OCH_2Ph$	-0.80
com_17	$T = OCH_2CHCH_2$	-0.04
com_18	$Z = OC_4H_9$	-0.39
com_19	$Y = OC_8H_{17}$	0.11
com_20	$Y = OCH_2CHCH_2$	-0.34
com_21	$T = SH$	-0.18
com_22	$Z = SH$	-0.25
com_23	$Y = SH$	0.07

MDF-SAR methodology

The MDF-SAR methodology applied on substituted N 4-methoxyphenyl benzamides consisted of the following steps [7]:

1: Sketch out 3D structure of each substituted N 4-methoxyphenyl benzamides compounds by the use of HyperChem software [8];

2: Create of the file with measured Antiallergic Activity (logIR) of substituted N 4-methoxyphenyl benzamides compounds;

3: Generate the molecular descriptors family (MDF) members for substituted N 4-methoxyphenyl benzamides compounds [9,10]. All twenty-three compounds were used in generation of the molecular descriptors family. The algorithm of generation the molecular descriptors family was strictly based on compounds structure. The process of molecular descriptors family generation was followed by a filtration in which there were deleted from databases identical descriptors by imposing a significance selector equal with 10^{-9} (the redundant information was clear away). The name of each molecular descriptor refers its calculation mode and includes: compound geometry or topology (the 7th letter), atomic property (cardinality, number of directly bonded hydrogen's, atomic relative mass, atomic electronegativity, group electronegativity, partial charge - the 6th letter), the atomic interaction descriptor (the 5th letter), the overlapping interaction model (the 4th letter), the fragmentation criterion (the 3rd letter), the molecular selector (the 2nd letter), and the linearization function applied in molecular descriptor generation (the 1st letter).

4: Find and identify the MDF-SAR models.

5: Validation of the obtained MDF-SAR models were performed through computing the cross-validation leave-one-out correlation score (r^2_{cv}) [11]. The cross-validation leave-one-out correlation score was compute by exclusion one time and applying to all sample one compound from dataset, rebuilding the MDF-SAR model and estimation of excluded compound activity based on MDF-SAR model.

6: Analyze the selected MDF-SAR models through: squared correlation coefficients, statistical parameters of estimation and prediction analysis, model stability analysis (the differences between squared correlation coefficient and cross-validation leave-one-out score - the lowest value correspond to the most stable model), and correlated correlation analysis [12] by comparing the results of the MDF-SAR models with previously reported models.

Results

The best performing multi-varied MDF-SAR models (one with two-descriptors and one with four descriptors) are:

- MDF-SAR model with two-descriptors: $\hat{Y}_{2d} = -8.8 \cdot 10^{-3} - 5.1 \cdot 10^{-5} \cdot isDRtHg + 0.13 \cdot iHMMtHg$ (4)

- MDF-SAR model with four-descriptors: $\hat{Y}_{4d} = -0.15 + 9 \cdot 10^{-4} \cdot imMRkMg - 0.32 \cdot imMDVQg - 5.2 \cdot 10^{-5} \cdot isDRtHg + 0.14 \cdot iHMMtHg$ (5)

where $\hat{Y}_{2d}$ respectively $\hat{Y}_{4d}$ are estimated log IR by the MDF-SAR model with two, respectively with four molecular descriptors, and *isDRtHg*, *iHMMtHg*, *imMRkMg*, *imMDVQg* are molecular descriptors. Statistical characteristics of the MDF-SAR models are presented in table 2 and 3.

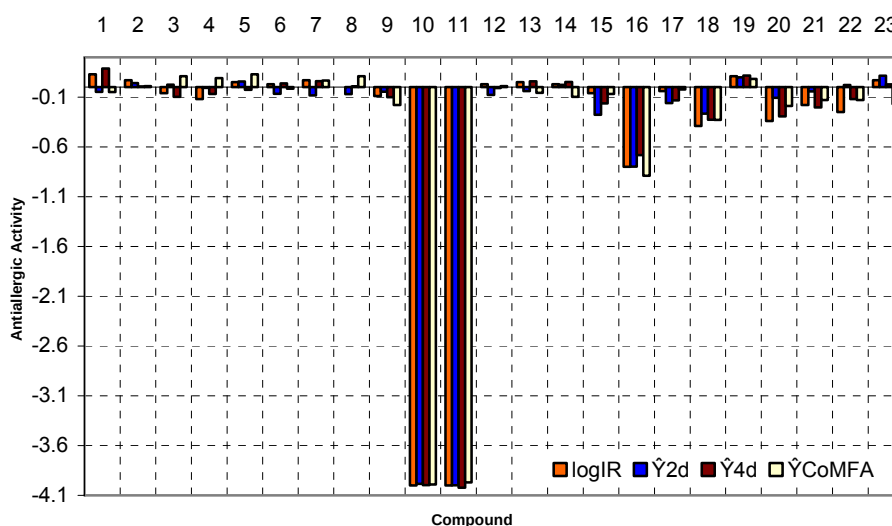
Table 2. Statistical characteristics of MDF-SAR models for antiallergic activity of substituted N 4-methoxyphenyl benzamides

Characteristic (notation)	Value	
Number of variable (v)	2	4
Correlation coefficient (r)	0.9942	0.9986
Squared correlation coefficient (r^2)	0.9884	0.9973
Adjusted squared correlation coefficient (r^2_{adj})	0.9872	0.9967
Standard error of estimated (s_{est})	0.1300	0.0664
Fisher parameter (F_{est})	848*	1638*
Cross-validation leave-one-out (loo) score (r^2_{cv-loo})	0.9864	0.9956
Fisher parameter for loo analysis (F_{pred})	725*	1007*
Standard error for leave-one-out analysis (s_{loo})	0.1405	0.0847
Model stability ($r^2 - r^2_{cv(loo)}$)	0.0019	0.0016

* $p < 0.001$ **Table 3.** Regression analysis of the MDF-SAR models

	StdError	t Stat	95%CI_{coefficient}
MDF-SAR model with four descriptors			
Intercept	0.037	-3.985*	[-0.224, -0.0693]
imMRkMg	0.000	6.917*	[0.0006, 0.0012]
imMDVQg	0.042	-7.628*	[-0.411, -0.2337]
isDRtHg	$7 \cdot 10^{-7}$	-77.12*	$[-5.4 \cdot 10^{-5}, -5 \cdot 10^{-5}]$
iHMMtHg	0.002	64.03*	[0.1345, 0.1437]
MDF-SAR model with two descriptors			
Intercept	0.031	-0.288*	[-0.073, 0.0552]
isDRtHg	$1 \cdot 10^{-6}$	-40.719*	$[-5.4 \cdot 10^{-5}, -5 \cdot 10^{-5}]$
iHMMtHg	0.003	36.678*	[0.1226, 0.1374]

The experimental values (logIR) and values predicted by MDF-SAR models with two ($\hat{Y}_{2d}$), respectively with four-descriptors ($\hat{Y}_{4d}$) and previously reported model ($\hat{Y}_{CoMFA}$) are in figure 1.

**Figure 1.** Measured antiallergic activity (logIR) and estimated by MDF-SAR, respectively CoMFA models

The absolute differences between estimated by models ($\hat{Y}_{2d}$, $\hat{Y}_{4d}$, and $\hat{Y}_{CoMFA}$) and measured (logIR) antiallergic activities of substituted N 4-methoxyphenyl benzamides were used in order to obtain the best estimation (figure 2).

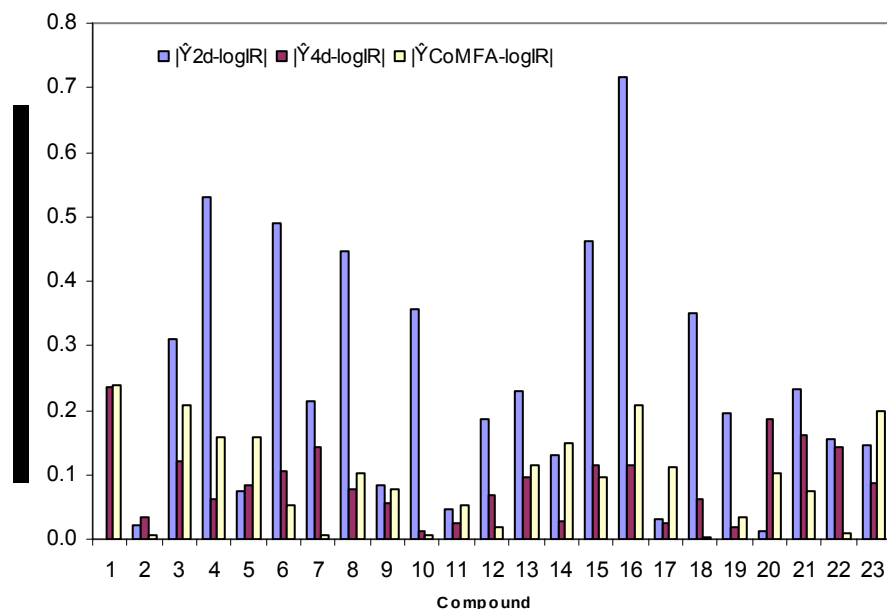


Figure 2. Measured (logIR) and estimated activities of compounds using MDF-SAR models and previously reported CoMFA model

In eleven out of twenty-three cases, the best estimation is obtained by multi-varied MDF-SAR model with four descriptors (see figure 3).

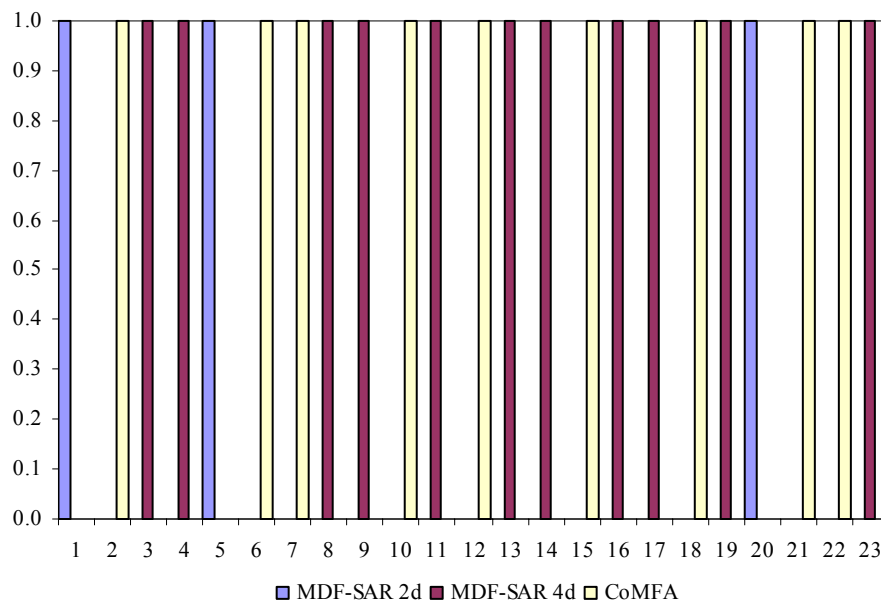


Figure 3. Best estimation antiallergic activity by MDF-SAR and CoMFA models

The comparison of MDF-SAR models with previously reported CoMFA model was performed by applying a correlated correlation analysis and the results are presented in table 4.

Table 4. The results of comparison between MDF-SAR model with four descriptors and previously reported CoMFA model

Characteristic	Value	
Number of descriptors used in MDF SAR model	2	4
$r(\log IR, \hat{Y}_{MDF-SAR})$	0.9941	0.9986
$r(\log IR, \hat{Y}_{CoMFA})$	0.9952	0.9952
$r(\hat{Y}_{MDF-SAR}, \hat{Y}_{CoMFA})$	0.9945	0.9943
Steiger's Z parameter	-0.5113	2.7974*

* $p < 0.05$

Discussions

Antiallergic activity of twenty-three substituted N 4-methoxyphenyl benzamides was characterized by the use of an original methodology, based on complex structure information of the compounds in order to explain associated biological activity.

Two multi-varied MDF-SAR models, one with two descriptors and other with four descriptors, proved to obtained performances in antiallergic activity estimation and prediction. The MDF-SAR models are statistically significant at a significance level less than 0.001 (see table 2).

The MDF-SAR model with two descriptors uses two molecular descriptors which take into consideration the geometry (**g**) and the number of directly bonded hydrogen's (**H**) of compounds (see Eq. 4). Almost ninety-nine percent of variation in antiallergic activity of substituted N 4-methoxyphenyl benzamides can be explainable by its linear relation with *isDRtHg* and *iHMMtHg* descriptors. The correlation coefficient obtained by the MDF-SAR model with two descriptors is not statistical significant different by the previously reported CoMFA model (see table 4) at a significance level of 5%. The performance of the MDF-SAR model with two descriptors is sustained by the correlation coefficient and the squared of the correlation coefficient ($r = 0.9942$, $r^2 = 0.9942$, table 2); the stability of the model is proved by the very lower value of the differences between squared correlation coefficient and cross-validation leave-on-out squared correlation coefficient. The cross-validation leave-one-out score ($r^2_{cv-loo} = 0.0019$) sustain the stability of the MDF-SAR model with two descriptors and its prediction abilities.

Looking at the MDF-SAR model with two descriptors it can be say that the antiallergic activity of studied compounds is of molecular geometry and is strongly depend on the number of directly bonded hydrogen's.

Analyzing the cross-validation leave-one-out scores, it can be said that multi-varied MDF-SAR model with four descriptors is the best performing MDF-SAR model. Almost one hundred percent of variation in antiallergic activity of substituted N 4-methoxyphenyl benzamides can be explainable by its linear relation with four molecular descriptors. Both descriptors used in MDF-SAR model with two descriptors can be found again on model with four descriptors; the other two descriptors consider the geometry of the molecule (**g**), atomic relative mass (**M**) and the partial charge (**Q**) as atomic property with role in antiallergic activities.

Looking at the multi-varied MDF-SAR model with four descriptors it can be observed that the antiallergic activities of studied compounds is positive correlated with *imMRkMg* and *iHMMtHg* descriptors and negative correlated with *imMDVQg* and *isDRtHg* descriptors. The values of squared correlation coefficient ($r^2 = 0.9973$) demonstrate the goodness of fit of the multi-varied MDF-SAR model with four

descriptors (see tables 2 and 3, figures 2 and 3). The power of the MDF-SAR model with four descriptors in prediction of antiallergic activity of substituted N 4-methoxyphenyl benzamides compounds is demonstrated by the cross-validation leave-one-out correlation score ($r^2_{cv(100)} = 0.9956$). The stability of the MDF-SAR model with four descriptors is given by the difference between the squared correlation coefficient and the cross-validation leave-one-out correlation score ($r^2 - r^2_{cv(100)} = 0.0016$). Analyzing multi-varied MDF-SAR model with four descriptors it can be said that antiallergic activities of substituted N 4-methoxyphenyl benzamides strongly depend on the geometry of the compounds and is in relation with number of directly bonded hydrogen's, atomic relative mass and partial charge of compounds.

Correlated correlations analysis results (see table 4) demonstrate that the multi-varied MDF-SAR model with four descriptors obtained a significantly greater correlation coefficient compared with the previously reported CoMFA.

Starting with knowledge learned from the studied set of substituted N 4-methoxyphenyl benzamides, antiallergic activity of new compound from the same class can be predicted by the use of an original software [13]. After the user draws the chemical structure of the new compound and saves it as *.hin file, the software is able to predict the antiallergic activity of new substituted N 4-methoxyphenyl benzamides compound in real time, without any experiments.

Conclusions

Modeling the antiallergic activity of substituted N 4-methoxyphenyl benzamides by integration of complex structural information provides a stable and performing MDF-SAR model with four variables, allowing to make remarks about relation between structure of compounds and their activities.

The antiallergic activity of substituted N 4-methoxyphenyl benzamides is likely to be of geometry nature, depending by the number of directly bonded hydrogen's, and the atomic relative mass, being in relation with the partial charge of compounds.

Acknowledgement

Research was in partly supported by UEFISCSU Romania through project ET36/2005.

References

1. Hatzelmann A, Schudt C. Anti-inflammatory and immunomodulatory potential of the novel PDE4 inhibitor roflumilast in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;297(1):267-79.
2. Carbonnelle D, Ebstein F, Rabu C, Petit JY, Gregoire M, Lang F. A new carboxamide compound exerts immunosuppressive activity by inhibiting dendritic cell maturation. *Eur J Immunol* 2005;35(2):546-56.
3. Suzuki K, Nagasawa H, Uto Y, Sugimoto Y, Noguchi K, Wakida M & all. Naphthalimidobenzamide DB-51630: A novel DNA binding agent inducing p300 gene expression and exerting a potent anti-cancer activity. *Bioorg Med Chem* 2005;13(12):4014-21.
4. Simonini MV, Camargo LM, Dong E, Maloku E, Veldic M, Costa E, Guidotti A. The benzamide MS-275 is a potent, long-lasting brain region-selective inhibitor of histone deacetylases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 31;103(5):1587-92.
5. Yu-xin Zhou, Lu Xu, Ya-ping Wu, Bai-li Liu. A QSAR study of the antiallergic activities of substituted benzamides and their structures. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 1999;45:95-100.
6. Malík I, Sedlářová E, Andriamainty F, Csöllei J. Relationship between structure and biological activity of benzamide derivatives. *Farmaceutický Obzor* 2006; 75(1):3-9.

7. Jäntschi L., Molecular Descriptors Family on Structure Activity Relationships 1. The review of Methodology, Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies 2005;6:76-98.
8. ***, HyperChem , Molecular Modelling System [Internet page]; ©2003, Hypercube, Inc. [cited 2005 May]. Available from: URL: <http://hyper.com/products/>
9. Diudea M, Gutman I, Jäntschi L. Molecular Topology, Nova Science, Huntington, New York 2001.
10. Jäntschi L, Katona G, Diudea M. Modeling Molecular Properties by Cluj Indices, *Commun Math Comput Chem* 2000;41:151-88.
11. ***, Leave-one-out Analysis. ©2005, Virtual Library of Free Software [cited 2005 Nov]. Available from: URL: http://vl.academicdirect.org/molecular_topology/mdf_findings/loo/
12. Steiger JH. Tests for comparing elements of a correlation matrix. *Psychol Bull* 1980;87: 245-51.
13. ***, MDF SAR Predictor, © 2005, Virtual Library of Free Software. [cited 2006 February]. Available from: URL: http://vl.academicdirect.org/molecular_topology/mdf_findings/sar

Activitatea anti-alergică a derivaților de benzamide: caracterizare, estimare și predicție

L. JÄNTSCHI, SORANA-DANIELA BOLBOACĂ

Rezumat

Activitatea antialergică a unui eșantion de douăzeci și trei de derivați N 4-methoxyphenyl benzamide a fost caracterizată, estimată și prezisă prin folosirea unei metode originale. Familia descriptorilor moleculari care a stat la baza obținerii modelelor a fost generată strict pe baza structurii compușilor, după crearea structurii tri-dimensionale a acestora și a fișierului cu activitatea anti-alergică măsurată. Modelul multi-variat cu patru descriptori s-a dovedit a abilități atât în estimarea ($r^2 = 0.9986$) cât și în prezicerea ($r^2_{cv-100} = 0.9956$) activității anti-alergice a compușilor studiați, obținând un coeficient de corelație semnificativ mai mare în comparație cu modelul raportat în literatura de specialitate ($p < 0.01$). Caracterizarea activității anti-alergice a derivaților N 4-methoxyphenyl benzamide prin integrarea informațiilor structurale complexe, oferă un model cu patru variabile stabil și eficient. Activitatea anti-alergică a derivaților N 4-methoxyphenyl benzamide este de natură geometrică, depinde de numărul legăturilor directe de hidrogen și masa atomică relativă, fiind în relație cu sarcina parțială.

Cuvinte cheie: Familia de descriptori moleculari, Relații structură-activitate (MDF-SAR), derivați N 4-methoxyphenyl benzamide, Activitate anti-alergică, Regresie liniară multiplă

ACUTE MEGAKARYOCYTIC LEUKEMIA AND MYELOFIBROSIS. CONSIDERATIONS BASED ON A CASE REPORT

ALIZ HORÁK¹, R. BUIGA², OLGA ȘORIȚĂU², ȘTEFANIA NEAMȚU²,
M. CUCUIANU¹

¹Synevo Laboratories

²Oncological Institute „I. Chiricuță” Cluj-Napoca

Summary

The case of a girl aged 2.4 years with pulmonary stenosis and atrial septal defect who developed an acute megakaryocytic leukemia associated with myelofibrosis, ocular complications related to thrombo- haemorrhagic phenomena. and lethal outcome is presented. The pathogenesis of myelofibrosis and the role played by cellular factor XIII subunit A are discussed.

Key words: megakaryoblastic leukemia, myelofibrosis, thrombohemorrhagic phenomena

Patients with pancytopenia, low percentage of blast cells and intense myelofibrosis were reported in 1963 by Lewis and Szur, this pathologic condition being designated as malignant myelofibrosis (1). Later on, a megakaryocytic phenotype was detected in the bone marrow cells of many such patients, and it was considered that myelofibrosis would occur secondarily to an acute megakaryocytic (or megakaryoblastic) leukemia (2). As myelofibrosis was found to occur in other cases of acute leukemia, especially myelomonocytic or myelomonoblastic forms, it was stated that probably megakaryocytic leukemia does not exist, this name being only used to describe the participation of megakaryocytes in a leukemic process (3). It was only 1985 that acute megakaryocytic leukemia was admitted as a nosologic entity, being included in the FAB classification as AML M7 (4).

This malignant condition is rather seldom diagnosed, as the megakaryoblasts and promegakaryocytes can hardly be identified by light microscopy and polychrome staining, being easily confused with ALL. Suspicion can be engendered by peroxidase negative blasts with budding cytoplasm, especially if marrow is aspirated with difficulty because of intense myelofibrosis (4).

Our laboratory has recently detected such a case with ocular complications in the context of thrombo-haemorrhagic phenomena and lethal outcome.

The girl OE aged 2.4 years had been sent by Pediatric Clinic N° I with the diagnosis of acute leukemia at onset. She was admitted at the Department of Pediatric Oncology on March 28, 2006. The child also displayed a congenital heart disease, namely pulmonary stenosis and atrioseptal defect. She was underweight and presented a dysmorphic dentition. On admission she was in poor condition with fever 38.8°C, pallor, weakness, bruising and pharyngoamygdalian congestion. A distended abdomen displaying collateral circulation, hepatosplenomegally (confirmed by ultrasound) as well as a generalized lymphadenopathy were detected. Precordial systolic murmur grade III.

Full blood count (Sysmax XT 1800 analyser) revealed: leucocytes $12.41 \times 10^9/l$ Hemoglobin 6.6 g/dl (post substitution). Differential white cell count (light microscopy, Giemsa staining): myeloblasts 3%; promyelocytes 4%; myelocytes 5%; unsegmented neutrophils 8%, segmented neutrophils 40%; lymphocytes 17%, monocytes 2%, nucleated red cells 6%, undifferentiated microblasts 16%.

Bone marrow aspirate hemodiluted, with sparse myeloid precursors; severely impaired erythropoiesis; some blasts were myeloblasts but many precursors were suggestive for the megakaryocytic line, displaying large compact nucleus and basophilic cytoplasm with budding irregularly stellated protrusions and shedded blebs (Fig. 1). More than 50% of the blast cells were myeloperoxidase negative. The suspicion of ALL was removed and the diagnosis was directed towards a megakaryoblastic leukemia (LAM 7). Actually CD 41 investigated in the laboratory for cell cultures was found to be positive.

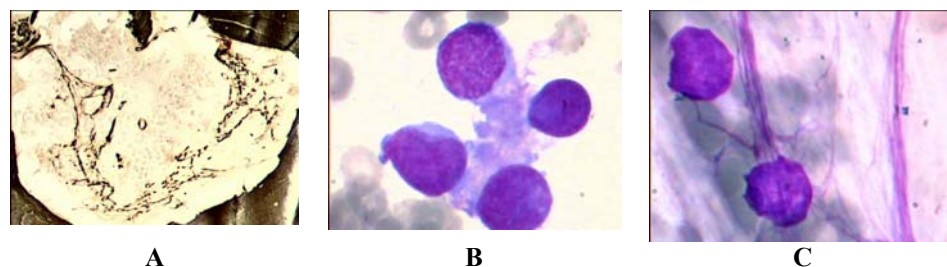


Fig. 1: **A.** Bone marrow aspirate. May-Grünwald-Giemsa staining. Blast cells with peculiar cytoplasm, displaying budding and shedded blebs; large nuclei with coarse chromatine texture. **B.** Bone marrow aspirate. May-Grünwald-Giemsa staining. Fibrotic marrow with sparse micromegakaryocytes. **C.** Bone trephine. Reticulin staining by argentic impregnation according to Gömöry. A moderate fibrotic process occurring mainly paralamellar.

Bone marrow trephine emphasized myelofibrosis with islands of residual hematopoiesis and prominent blasts (95% of the nucleated cells) displaying the morphologic aspect described for the bone marrow aspirate. Blasts were immunohistochemically negative for LCA, CD20, CD79, CD3, CD10, CD5, TdT and CD34. As previously mentioned, most blasts were positive for CD41 and negative for myeloperoxidase.

Unfortunately investigations for more specific LAM 7 markers such as the von Willebrand factor antigen (vWF: Ag) glycoproteins Ib and IIb/IIIa and also the factor XIII subunit A could not be performed.

In spite of this deficiency, the diagnosis of megakaryoblastic leukemia was maintained. Cytogenetic aspects pertaining to the Down syndrome could also not be investigated.

Chemotherapy for acute leukemia was initiated according to the LAM-BFM93 ADE protocol (Cytosar, Daunorubicin, Etoposid) associated with antibiotics and transfusions.

Clinical evolution was unfavorable, with ocular complications resulting in blindness, which according to ophthalmoscopic investigation appeared to be caused by thrombohemorrhagic phenomena. The prothrombin time was within normal limits and the plasma fibrinogen level was increased (512 mg/dl), but D-dimers were obviously increased to 2000 µg/ml (normal values below 250 µg/ml).

Anticoagulant therapy with heparin was attempted with transient improvement, unfortunately followed by the rapidly deteriorating clinical condition, as sepsis with positive hemoculture (micrococci) developed. The white blood cells increased to 45.97

$\times 10^9/l$, and the microscopic investigation emphasized the increase of megakaryoblasts and micromegakaryocytes in the peripheral blood.

At the family's request the patient was discharged and died at home, so that necroptic investigations could not be performed.

Evidence was recently provided about pathogenic factors and mechanisms relating megakaryoblastic leukemia to myelofibrosis. Actually the expression of the platelet derived growth factor (PDGF) and of the transforming growth factor beta 1 (TGF β 1), which are both known to be involved in organ fibrosis, was found to be increased in blast cells of patients with transient myeloproliferative disorder and acute megakaryoblastic leukemia (5,6). Noteworthy such growth factors may also be inappropriately released from monocytes (7).

Another presumptive mechanism involved in organ fibrosis could be represented by an increased expression and activity of the intracellular factor XIII subunit A, a transglutaminase mediating crosslinking of fibrin polymers and of extracellular matrix proteins. Evidence was provided that F XIII subunit A is a reliable marker for acute myelomonocytic and megakaryoblastic leukemia (8), two pathologic conditions involved in the development of myelofibrosis (1,2,4). It is also known that by acting on extracellular matrix proteins such as fibronectin, vitronectin and collagen, FXIII subunit A contributes to wound healing and tissue repair (9). Interestingly, immunohistochemical investigations emphasized FXIIIa positivity in pulmonary fibrotic tissues, suggesting that this transglutaminase might have an important role in the development of organ fibrosis (10). It is worth mentioning that the activation mechanisms of FXIIIa subunit differ from those involved in the activation of circulating plasma factor XIII, in which the enzymatically active subunit A is assembled and stabilized by the liver secreted subunit B. Therefore plasma factor XIII A₂B₂ zymogen becomes activated only by a thrombin-mediated limited proteolysis, this activation being accelerated by the presence of polymerized uncrosslinked fibrin and of calcium ions, while activation of cellular FXIII subunit A may undergo a slow spontaneous activation, which does not require fibrin polymers for its acceleration and occurs at lower concentration of Ca²⁺ (11). In other words, the activation of FXIIIa subunit is regulated to a much lesser extent than plasma FXIII A₂B₂ zymogen (11, 12).

When not removed by fibrinolysis, persistent fibrin depositions are penetrated by fibroblasts and submitted to fibrous transformation. By catalysing the incorporation of α_2 antiplasmin into the fibrin network, fibrin stabilizing factor XIII would limit fibrinolysis, thereby facilitating the persistence of fibrin depositions (13).

The interrelations between factor XIII, reduced fibrinolysis and fibrosis are further promoted by the intervention of a fibroblast activation protein acting as an antiplasmin cleaving enzyme (APCE). It was demonstrated that by enzymatic cleaving of Methionin α_2 antiplasmin (Met- α_2 AP), the resulting asparagine α_2 antiplasmin (Asn α_2 AP) becomes crosslink to fibrin about 13 times faster than Met- α_2 AP. Subsequently, the clot lysis rates are delayed and the progression of fibrosis is promoted (14).

The above mentioned comments demonstrate that a thorough study of acute myelofibrosis may contribute to the elucidation of the pathogenic mechanisms involved in the fibrosis of other organs.

References

1. LEWIS SM, SZUR L: Malignant myelofibrosis. *BrMed J* 1963; 2: 472-476.
2. ALLEGRA SR, BRODERICK PA: Acute aleukemic megakaryocytic leukemia. *Am J Clin Pathol* 1971; 55: 197-204.
3. LINMAN JW: *Hematology. Physiologic, Pathophysiologic and clinical principles*. McMillan Co Inc New York 1975, p 627.

4. GREER IP, KINNEY MC: Acute nonlymphocytic leukemia; in LEE RG, BITHEL FE, FOERSTER J, ATHENS JW, LUKENS JN. *Wintrobe's Clinical Hematology*. Ninth Edition. Lea and Febiger. London 1993, pp 1920-1945.
5. HATTORI H, MATSUZAKI A, SUMINOE A, IHARA K, NAKAYAMA H, HARA T. High expression of platelet derived growth factor and transforming growth factor beta-1 in blast cells from patients with myeloproliferative disorder and organ fibrosis *Br J Hematol*, 2001; 115 (2): 472-475
6. SHEIKA A. Fatal familial infantile myelofibrosis. *J. Pediatr Hematol Oncol*, 2004; 26 (3): 164-168.
7. REILLY JT Cytogenetic and molecular genetic aspects of idiopathic myelofibrosis. *Acta Haematol* 2002; 108 (3): 113-119.
8. KAPPELMAYER J, SIMON A, KATANA F, SZANTO A, NAGY L, KISS C, MUSZBEK L. Coagulation factor XIIIa. A flow cytometric intracellular marker in the classification of acute myeloid leukemia. *Thromb Haemostas* 2005; 94 (2): 454-459.
9. BECK E, DUCKERT F, ERNEST M. The influence of fibrin stabilizing factor on the growth of fibroblasts in vitro and wound healing. *Thromb Diathes Haemorrh*, 1961; 6: 485-491.
10. TOIDA M, OKUMURA T, TAKAMI T. Cells containing factor XIII a and pulmonary fibrosis induced by bleomycin. *J Clin Pathol* 1991; 44 (3): 255-256.
11. MUSZBEK L, YEE VC, HEVESSY Z. Blood coagulation factor XIII: structure and function. *Thromb Res* 1999; 94: 271-305.
12. POLGAR J, HIDASI V, MUSZBEK L. Nonproteolytic activation of cellular protransglutaminase (placenta macrophage factor XIII). *Biochem J*, 1990; 267: 557-560.
13. SAKATA Y, AOKI N. Crosslinking of α_2 antiplasmin to fibrin by fibrin stabilizing factor. *J Clin Invest* 1980; 65: 290-297.
14. LEE KN, JACKSON KW, CHRISTIANSEN VJ, LEE CS, CHUN JG, MC KEE PA. Antiplasmin cleaving enzyme is a soluble form of fibroblast activation protein. *Blood* 2006; 107: 1397-1404.

Leucemie acută megakariocitară și mielofibroză.

Considerații bazate pe un studio de caz

ALIZ HORÁK, R. BUIGA, OLGA ȘORIȚĂU, ȘTEFANIA NEAMȚU, M. CUCUIANU

Rezumat

Se prezintă cazul unei fete de 2,4 ani cu stenoză pulmonară și defect de sept atrial care a dezvoltat o leucemie acută megakariocitară evoluând cu mielofibroză, complicații oculare de natură trombohemoragică și evoluție letală.

Se discută patogeniza mielofibrozei și a rolului jucat de subunitatea A a factorului XIII al coagulării.

POLYSEROSITIS AND MULTISYSTEMIC DYSFUNCTION IN A CASE OF UNCLASSIFICABLE CONNECTIVE TISSUE DISEASE. UNDIFFERENTIATED VERSUS OVERLAPPING (MIXED) SYNDROME ? (A CASE REPORT AND REVIEW OF THE LITERATURE)

**D. RĂDULESCU¹, F. CIOVICESCU¹, S. PRIPON³, C. DUNCEA¹,
ELENA BUZDUGAN¹, ANCA CRISTEA²**

¹Clinica Medicală V, UMF “Iuliu Hatieganu”, Cluj-Napoca.

²Clinica Medicală I, Laboratorul de Imunologie, Cluj-Napoca.

³student anul V , UMF “Iuliu Hatieganu”, Cluj-Napoca.

Summary

The existence of patients with signs, symptoms and certain laboratory test results suggestive of a systemic autoimmune disease but not fulfilling the classification criteria for well-defined connective-tissue diseases (CTDs) is a more and more common experience in clinical practice. The first description of these clinical entities dates back to 1980, when LeRoy proposed the term “Undifferentiated Connective Tissue Syndromes” (UCTS) to define the early stages of connective-tissue diseases that are undefined, unclassifiable or perhaps incomplete, as opposed to mixed or overlapping syndromes in which patients exhibit enough features of more than one connective tissue disease to meet the diagnosis for several at the same time.

In this article we present the case of a 53 year old female admitted to Medical V Hospital with a diagnosis of undifferentiated connective tissue disease, documented on clinical and laboratory data.

Key words: *undifferentiated connective tissue disease, connective tissue disease*

Introduction

The existence of patients with signs, symptoms and certain lab test results suggestive of a systemic autoimmune disease but not fulfilling the classification criteria for well-defined connective-tissue diseases (CTDs) is a more and more common experience in clinical practice. The first description on these clinical entities dates back to 1980, when LeRoy proposed the term “Undifferentiated Connective Tissue Syndromes” (UCTS) to define the early stages of connective-tissue diseases that are undefined, unclassifiable or perhaps incomplete, as opposed to mixed or overlapping syndromes in which patients exhibit enough features of more than one connective tissue disease to meet the diagnosis for several at the same time. Thus, they “overlap” two or more diseases. That’s because many CTDs share common signs and symptoms which frequently makes the diagnosis difficult. The definition of UCTS and overlap syndromes is still under debate.

Case report

We report the case of a 53 year old female admitted to the Hospital Medical V for drowsiness, fatigue, malaise, dizziness, diaphoresis, progressive shortness of breath with effort but also at rest, reduced exercise capacity, anorexia, abdominal pains, nausea, severe weight loss (approximately 50 kg in 2 months), low-grade fever, transient bilateral knee pains and swelling, progressive stiffening of both hands with functional impairment and diffuse bilateral lumbar pain. The physical examination revealed an impaired general condition, altered nutritional status, characteristic facial expression (suggestive for systemic sclerosis), erythematous lesions on the skin (covered by squamae), discoid rash located on the palms and digits of both hands (probably livedo reticularis of vasculitic nature) associated with areas of necrotic lesions, epidermal atrophy, induration, loss of mobility and retraction with immobilization of the fingers in a semiflexed position. Other findings included: interosseous atrophy, mild cubital deviation and bilateral Raynaud phenomena of the extremities. Raised red scaling plaques with central atrophy on the extremities, some of them having resolved causing hyper-pigmentation, atrophy and scarring, friable nails, brittle hair and patchy alopecia were also noticed. Examining the oral cavity we found multiple painful ulcerations on the soft palate. Polyadenopathy, with firm, mobile, untender cervical, axillary and inguinal lymph nodes was identified. The assessment of the cardiovascular system revealed an increased area of cardiac dullness, tachycardia (HR= 120/min), hypertension (150/100 mm Hg), faint rhythmic heart sounds and pericardial friction rub. On examining the abdomen we found a significant enlarged liver (5 cm below the right costal margin), mild epigastric tenderness.

The laboratory results indicated anaemia (Hb = 11,3g/dl, Ht = 34%, H = 3,82mil/mm³), inflammatory syndrome (ESR = 80/110 mm, CRP = 3,7 UI/ml), hepatic dysfunction (ASAT = 198 U/l, ALAT = 78 U/l, FA = 372 U/l, GGT = 181 U/l, Bilirubin - normal range), renal dysfunction (24-hour urine protein = 0,85g/24 h, blood urea and creatinine - normal range) and also raised the suspicion of rhabdomyolysis (Total CPK = 428 U/l). The microbiological exams revealed urinary tract infection (Enterobacter > 100.000 UFC/ml), oral candidosis and negative blood culture.

The chest X-ray revealed a globally enlarged cardiac silhouette with a pleural collection in the left costophrenic sinus. The admission electrocardiogram showed a low QRS voltage. The echocardiography described medium/large pericardial effusion (exudative pericarditis) with tendency for diastolic collapse of the right ventricle and right atrium. The abdominal ultrasound showed liver enlargement, with diffuse increased hepatic ecogenicity and ascites in moderate quantity. The Barium X-ray exam documented gastric dysmotility and hypotonia with mildly diminished peristaltic movements and stasis. The X-ray examination of the hands and knees revealed lesions of osteoarthritis in the distal interphalangeal joints and knees.

The immunological profile revealed the presence of ANA (antinuclear antibodies 1/1280 --> speckled pattern) and also of Anti-Sm (Smith antigen) and Anti-nRNP (nuclear ribonucleoproteins). The anti DNA antibodies (double stranded DNA), the ANCA (anti-neutrophil cytoplasm antibodies), the SMA (smooth muscle antibody), the AMA (antimitochondrial antibody) were all negative. The Ig G anti-cardiolipin was 4 U, RF (Rheumatoid Factor) = 32 UI/ml, CIC (circulatory immune complexes) = 460 x 10⁻³, ASLO (anti-streptolysin O) - negative, Cryoglobulin - positive, VDRL - negative, C3 = 21 mg%, C4 = 7 mg%, CRP (C-reactive protein) = 3,7 mg/dl, Ig G = 1922 U/ml, Ig M = 200 U/ml, Ig A = 122 U/ml.

Both the skin biopsy (from the finger lesions) and the deltoid muscle biopsy did not reveal typical aspects of vasculitis or characteristic lesions of myositis, in spite of the suggestive clinical appearance, but they were carried out after 2 weeks of corticotherapy. The axillary lymph node biopsy was not relevant.

The data obtained did not permit us to include this case in a typical, well-

established connective-tissue disease. The differential diagnosis included: systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, rheumatoid arthritis, dermatomyositis and mixed connective tissue disease. In order to better differentiate, it would have been useful to measure separately, the titer of the anti-RNP and anti-Sm antibodies.

The treatment we initiated consisted of: corticotherapy (Metilprednisolon 32 mg/day), hepatotrophic therapy, antibiotic treatment (for the urinary tract infection), local oral antimycotic and antihypertensive treatment (ACE inhibitor + beta blocker + diuretic). After approximately 1 month of corticosteroid treatment the evolution was excellent: remission of subjective clinical complaints, improved general status, apyrexia, the disappearance of oral ulcerations and skin lesions, the regression of hepatomegaly, the remission of ascites and pleurisy but the persistence of the pericardial effusion. The humoral parameters improved (ASAT = 121 U/l, ALAT = 68 U/l, CPK = 220 U/l, 24-hour urine proteins = 0,36 g/24 h, ANA = positive - 1/640).

The overall prognosis for UCTDs is better than that of other connective tissue diseases. UCTD may remit permanently, progress to an established connective tissue disease, or remain a stable chronic phase. In our case, the long term prognosis of the patient is reserved due to the multi-organic dysfunction.

Discussion

The term "connective tissue disease" (CTD) includes a heterogeneous group of conditions characterized by a wide variety of signs and symptoms. It refers to a group of autoimmune disorders that are classified among the systemic rheumatic diseases and include systemic lupus erythematosus (SLE), systemic sclerosis (SSc), polymyositis-dermatomyositis (PM-DM), primary Sjögren's syndrome (pSS), primary antiphospholipid syndrome (APS), mixed connective tissue disease (MCTD), and rheumatoid arthritis (RA). CTD share a number of epidemiological and immunological features that suggest a common pathogenetic pathway [1]. Experimental data indicates that genetic susceptibility to develop an autoimmune disease is multigenic and that some genetic defects can predispose patients to more than one autoimmune disease [1]. The sharing of immunogenetic markers may lead to the development of common clinical features. Among these, the most frequent are Raynaud's phenomenon and arthralgia or arthritis, often associated with the presence of antinuclear antibodies and rheumatoid factor. Taken together these features constitute a clinical syndrome that can often represent the onset of a CTD. Nevertheless, it is known that patients presenting with this syndrome cannot be diagnosed as having a definite CTD. The classification of pauci-symptomatic conditions of this kind is still a matter of debate among rheumatologists. To be diagnosed with one of the CTD, a patient must develop some disease-specific manifestations, or alternatively a combination of nonspecific, but characteristic findings. Since the majority of CTD-specific features are neither frequent nor pathognomonic for a single disease, the most common way to identify CTD is to look at a cluster of clinical and laboratory findings. This is also the major reason why classification criteria have been developed for CTD [2]. They are referred to as classification rather than diagnostic criteria [2, 3]. Classification and diagnostic criteria certainly share a similar aim: to separate subjects with a definite CTD from those without such CTD, including both patients with difficult to distinguish conditions and healthy individuals [2]. The difference between them is that diagnostic criteria should theoretically have 100% sensitivity and specificity while classification criteria may have less. In conclusion, diagnostic criteria can be applied to every individual case, whereas classification criteria cannot [2]. Classification criteria are selected by means of statistical methods to cluster the combination of features to improve sensitivity and specificity. It is worth noting that the higher the sensitivity and specificity of a classification criteria set, the smaller the difference will be between diagnostic and classification criteria. There also exists, however, a group of systemic autoimmune

disorders with signs and symptoms not sufficiently evolved to fulfill any of the accepted classification criteria for the defined connective tissue diseases. These conditions have been defined as unclassifiable connective tissue syndromes. Other terms used were latent lupus [4], incomplete lupus, and undifferentiated connective tissue diseases [5, 6, 7, 8].

A fundamental question raised was, whether a proportion of patients with an undifferentiated profile may see their condition remain undifferentiated or even experience a remission of all pathologic features, rather than evolving to a definite connective tissue disease (CTD). A small percentage of patients presenting with an undifferentiated profile will develop during the first year of follow up a full blown CTD. In their case, some clinical features of onset are related with the outcome. For example, the patients with arthritis and arthralgias often develop a SLE. Raynaud's syndrome is often related to systemic sclerosis. The patients with rash or face edema more likely turned out to be PM/DM patients [9,10]. Many studies conducted on undifferentiated diseases have shown that an average of 75% will maintain an undifferentiated clinical course and they will not develop a defined CTD. These patients may be defined as having a stable undifferentiated connective tissue disease (UCTD) [11]. It seems that these conditions exhibit typical clinical and serological manifestations and a good prognosis. It has been also shown that, about eighty percent of these patients have a single autoantibody specificity, more frequently anti-Ro and anti-RNP antibodies. UCTD could therefore offer an ideal clinical model for the study of single autoantibody specificities, the effects of various factors (such as pregnancy) on the disease course, and the general pathogenesis of autoimmune conditions. But before that, more must be discovered about their nature and characteristics, and studies will be necessary to improve the sensitivity and specificity of the existing preliminary classification criteria [12].

In an attempt to distinguish true undifferentiated disease from an early stage of a definite CTD researchers have suggested a preliminary classification criteria set [5], according to which a patient may be defined as having a UCTD when he shows signs and symptoms suggestive of a CTD without fulfilling the criteria of any defined CTD; the patient has to be ANA positive, with a disease duration of at least 3 years.

Another interesting possibility is that of a connective tissue disease which fulfills more than one classification criteria for the defined connective tissue diseases. Therefore, an autoimmune rheumatic disease can appear in conjunction with features of one or more other connective tissue diseases [13]. This is called an "overlap syndrome" or mixed syndrome. The etiologies of all autoimmune connective tissue diseases are unknown and the diagnosis depends on patterns of symptoms and signs. The problem is heightened by the tendency for one disease type to merge with another, resulting in a continuous spectrum of clinical features among the rheumatic diseases, with the traditionally accepted entities such as systemic lupus erythematosus (SLE) or systemic sclerosis occupying only part of the continuum with the overlap syndromes lying between. To identify an overlap syndrome it is necessary to identify a constellation of distinctive features which constitute a true syndrome. Mixed connective tissue disease (MCTD) is the prototype of an overlap syndrome. The relevance of defining MCTD as a separate disease entity has been challenged. Follow-up studies show that many patients originally diagnosed with MCTD develop a definite CTD, particularly scleroderma or systemic lupus erythematosus, within a few years. In patients with MCTD, primary pulmonary hypertension is an important cause of death. This condition seems to be associated with anticardiolipin antibodies. A number of case reports suggest that immunosuppressive treatment is of benefit in this almost always fatal condition. The most important aspect of MCTD as a separate entity is its association with antibodies to U1-RNP. Recent studies have suggested that the production of anti-U1-RNP is an antigen-driven process, but the nature of the trigger for its production has not been yet elucidated. Retroviral proteins do not appear to be involved. Antibodies to the

protein part of the U1-RNP complex and antibodies to the RNA component have been described. Levels of anti-RNA antibodies seem to parallel disease activity in MCTD patients. Most anti-U1-ribonucleoprotein-positive patients with undifferentiated connective tissue disease at presentation appear to develop mixed connective tissue disease over the course of disease [10]. The very important element is the moment in time when the patient is evaluated. Therefore, the same patient can be first labeled as having a UCTD and then a MCTD or overlap syndrome.

A more exact and correct classification could improve the clinical and therapeutic approach to these patients and lead to a better definition of their prognosis. Further multi-center analysis is necessary to better define both clinical and serological exclusion criteria.

References

1. DAVIDSON A, DIAMOND B. Autoimmune diseases. *N Engl J Med* 2001; 345: 340-50.
2. FRIES JF, HOCHBERG MC, MEDSGER TA, HUNDER GG, BOMBARDIER C, and the American College of Rheumatology Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. Criteria for rheumatic disease. Different types and different functions. *Arthritis Rheum* 1994;4:454-62.
3. SMITH EL, SHMERLING RH. The American College of Rheumatology criteria for the classification of systemic lupus erythematosus: strengths, weaknesses, and opportunity for improvement. *Lupus* 1999;8:586-95.
4. GANCZARCZYK L, UROWITZ MB, GLADMAN DD. Latent lupus. *J Rheumatol* 1989;16:475-8.
5. MOSCA M, NERI R, BOMBARDIERI S. Undifferentiated connective tissue diseases (UCTD): a review of the literature and a proposal for preliminary classification criteria. *Clin Exp Rheumatol* 1999;17:615-20.
6. MOSCA M, TAVONI A, NERI R, BENCIVELLI W, BOMBARDIERI S. Undifferentiated connective tissue diseases: the clinical and serological profiles in 91 patients followed for at least 1 year. *Lupus* 1998;7:95-100.
7. CAVAZZANA I, FRANCESCHINI F, BELFIORE N, et al. Undifferentiated connective tissue disease with antibodies to Ro/SSA: clinical features and follow-up of 148 patients. *Clin Exp Rheumatol* 2001;19:403-9.
8. VENABLES PJ. Undifferentiated connective tissue diseases: mixed or muddled? *Lupus* 1998;7:73-4.
9. ZHANG XW, LIU X, LI ZG. Clinical features of undifferentiated connective tissue diseases: analysis of 145 patients. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2006; 86:2458-61.
10. KALLENBERG CG. Overlapping syndromes, undifferentiated connective tissue disease, and other fibrosing conditions. *Curr Opin Rheumatol* 1992;4:837-42.
11. MOSCA M, TANI C, NERI C, BALDINI C, BOMBARDIERI S. Undifferentiated connective tissue diseases (UCTD). *Autoimmun Rev* 2006;6:1-4
12. MOSCA M, BALDINI C, BOMBARDIERI S. Undifferentiated connective tissue diseases in 2004. *Clin Exp Rheumatol* 2004;17(5): 22.
13. FIORI G, PIGNONE A, CERINIC MM. Overlap syndromes. *Reumatism* 2002;49:12- 15.

Poliserozită și afectare multisistemică într-un caz de boală nediferențiată de țesut conjunctiv. Boală nediferențiată de țesut conjunctiv sau boală mixtă de țesut conjunctiv ?

**D. RĂDULESCU, F. CIOVICESCU, S. PRIPON, C. DUNCEA,
ELENA BUZDUGAN, ANCA CRISTEA**

Rezumat

Existența unor pacienți cu simptomatologie clinică și tablou de laborator sugestive pentru o boală sistemică autoimună, dar care nu îndeplinesc criteriile de clasificare sugestive pentru o colagenoză bine diferențiată este tot mai frecvent semnalată în practica clinică curentă. Prima descriere a acestor afecțiuni datează din 1980 când LeRoy a introdus termenul de boală nediferențiată de țesut conjunctiv pentru a le defini. Aceste afecțiuni diferă de boala mixtă de țesut conjunctiv, boală în care pacienții prezintă caracteristici ale mai multor colagenoze.

Prezentăm cazul unei paciente internată în Clinica Medicală V cu tabloul clinic și bioumoral al unei boli nediferențiate de țesut conjunctiv și discutăm aspecte diagnostice și evolutive în acest tip de afecțiuni.

Cuvinte cheie: boală nediferențiată de țesut conjunctiv, boală de țesut conjunctiv

ASPECTE MORFOPATOLOGICE ALE LEZIUNILOR INFLAMATORII ALE PARODONTIULUI MARGINAL LA UN LOT DE SUBIECȚI CU INSUFICIENȚĂ RENALĂ CRONICĂ

SORANA BACIU¹, T. ZAHARIE², ALEXANDRA ROMAN³,
CAMELIA ALB¹, SORINA SAVA⁴, M. MANOLE¹,
ONDINE LUCACIU⁵, VOICHIȚA SĂBĂDUȘ¹

¹Catedra de Propedeutică Stomatologică UMF Cluj-Napoca

²Catedra de Morfopatologie UMF Cluj-Napoca

³Catedra de Odontologie –Parodontologie UMF Cluj-Napoca

⁴Catedra de Materiale Dentare UMF Cluj-Napoca

⁵Catedra de Chirurgie Orală, Reconstructivă și Implantologie UMF Cluj-Napoca

Rezumat

Modificările histopatologice parodontale sunt importante la bolnavii uremici și prezintă anumite aspecte specifice care nu se întâlnesc la persoanele indemne din punct de vedere nefrologic cu leziuni parodontale de aceeași gravitate (3, 9). Aceste modificări sunt datorate atât alterărilor metabolice din cursul uremiei cât și celor imune locale și sistemice din insuficiență renală cronică (IRC). Gravitatea tabloului morfopatologic este dependentă și de instaurarea sau nu a tratamentului parodontal până în momentul recoltării de țesut parodontal (2, 7). Implicațiile acestor alterări în decizia terapeutică sunt încă neclare (10), dar o dezvoltare a acestui studiu ar putea oferi unele răspunsuri.

Cuvinte cheie: Insuficiență renală cronică, modificări histopatologice, parodontiul marginal

Ipoteză de lucru. Obiective

În scopul înțelegerii și aprofundării diverselor simptome care apar în afecțiunile inflamatorii parodontale, este necesară cunoașterea detaliată a structurii parodontiului normal (9,12) și a modificărilor morfologice și funcționale care apar în decursul bolii parodontale. Aceste alterări întâlnite la nivel parodontal iau adesea un aspect aparte la subiecții cu diverse boli sistemice (8). În acest sens, se impune un examen histopatologic ca metodă complementară a examinării clinice și radiografice, în special la categoriile de pacienți cu tulburări imunologice. În majoritatea cazurilor, modificările histopatologice vin să confirme diagnosticul stabilit deja clinic (6) și să explice simptomatologia și semnele obiective specifice afecțiunilor parodontale inflamatorii de gravitate variată.

Material și metodă

Am luat în studiu un număr de 30 de subiecți cu IRC în stadiu terminal cu hemodializă cronică. De asemenea am avut în observație un număr de 30 de subiecți indemni din punct de vedere nefrologic, care au constituit lotul martor. Ambelor loturi li

s-a realizat o examinare parodontală complexă (4) utilizând indicii parodontali (indicele de sângerare gingivală-Gis, profunzimea pungilor-GDm, recesiuni-Re, furcații, mobilitate) pe baza cărora s-a stabilit diagnosticul parodontal. Am urmărit selectarea subiecților în așa fel încât în ambele loturi să fie prezenți subiecți atât cu gingivită cât și parodontită marginală. Celor 60 de subiecți li s-a prelevat o piesă de la nivelul parodontiului marginal care a fost trimisă la examinare la catedra de Morfopatologie UMF Cluj. Dificultățile întâmpinate au constat în: selectarea subiecților în funcție de diagnosticul clinic astfel încât să se obțină loturi comparabile din punct de vedere a repartiției pe sex și vârstă; de asemenea a fost dificilă convingerea pacienților, mai ales a celor hemodializați, de importanța examenului morfopatologic pentru stabilirea unui diagnostic corect anatomo-patologic care să poată fi corelat cu cel clinic în vederea obținerii în final a unui diagnostic parodontal complet; au existat probleme de recoltare sub antibioprolaxie în cazul subiecților cu insuficiență renală cronică; probleme de recoltare cu economie de țesuturi, care a impus în marea majoritate a cazurilor cu hemodializă sutura care s-a realizat și ca măsură profilactică pentru protecția plăgii; marcarea zonelor internă și externă a porțiunii recoltate în vederea unei includeri corecte în parafină care să ofere imagini relevante; dimensiunile mici ale probelor au ridicat unele probleme de orientare a piesei la includere, deoarece retractorul piesei după fixare în formol poate ajunge până la 80%. Acest fapt a dus în unele cazuri la dificultăți de interpretare și corelare a diagnosticului clinic cu cel morfopatologic (1).

Din punct de vedere tehnic prelevarea s-a făcut în scaunul stomatologic, la lumină naturală, după o anestezie plexală (Septanest-Septodont Franța și Septanest 4% SVC fără vaso-constrictor) soluția anestezică fiind selectată după o anamneză amănunțită. Incizia s-a realizat paralel cu direcția sulcusului gingival la nivel vestibular, sub formă de felie de pepene la o distanță de aproximativ 3 mm de marginea gingivală liberă, secționând atât versantul extern cât și intern al gingiei marginale. Lungimea piesei a variat în funcție de dimensiunea dintelui de la nivelul căruia s-a realizat recoltarea, valoarea minimă fiind de 6 mm.

Fixarea s-a făcut imediat după recoltare prin introducerea în recipiente cu formol 9 % tamponat, pe care s-a notat apartenența la lotul cu insuficiență renală cronică (IRC) sau martor (M), diagnosticul parodontal clinic, vârsta, sexul și numărul probei. Probele au fost menținute 24 ore în formol. În vederea includerii în parafină, probele au fost secționate perpendicular pe axul lor lung și așezate perpendicular, astfel încât secțiunea a cuprins: versantul extern al sulcusului crevicular, fața externă, vestibulară a gingiei și țesuturile cuprinse între cele două limite menționate mai sus.

A urmat includerea în parafină și apoi secționarea cu microtomul firma Struers/Anglia, la o dimensiune de 5μ. Secțiunea a fost întinsă pe o lama albuminată. Uscarea am realizat-o în termostat la 37 °C timp de 24 ore.

După deparafinare am efectuat colorarea cu hematoxilina-eozină (H-E) și roșu sirius (R-S).

Citirea și interpretarea lamelor realizat-o în colaborare cu Catedra de Morfopatologie UMF Cluj, iar înregistrarea imaginilor cu ajutorul microscopului Olympus BX 50 (mărire 4x, 10x, 20x, 40x), conectat la PC K₆ dotat cu programul MicroImage de achiziție de imagini și prelucrare morfomerică.

Rezultate

Vom prezenta imagistic înaintea discutării rezultatelor cinci cazuri reprezentative din lotul cu IRC și trei cazuri reprezentative din lotul martor.

Cazul 1-parodontită marginală cronică superficială la un subiect de 41 ani din lotul cu IRC. Clinic pacientul a prezentat recesiuni gingivale și punji false. La examenul morfopatologic s-au vizualizat (fig 1, 2):

- eroziuni ale epiteliului pavimentos cu o dispoziție pseudopapilară;

- prezența unui infiltrat inflamator moderat la limita cu țesuturile subepiteliale, cu limfocite, câteva plasmocite și rare PMN;
 - aglomerări hemactice (hemoragice) pe suprafața epitelului, datorate probabil manoperei de prelevare a țesutului parodontal;
 - corion intens fibrohialinizat, fapt care poate fi corelat cu retracțiile gingivale prezente
- Diagnosticul morfopatologic a fost: parodontită marginală cronică în fază acută erozivă.

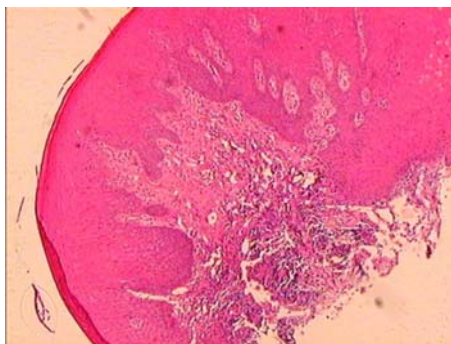


Fig.1 Caz 1 Colorare cu hematoxină-eozină 4x

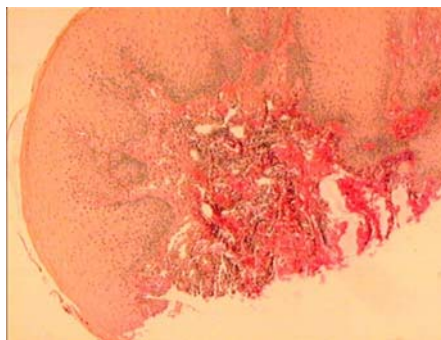


Fig.2. Caz 1 Colorare cu roșu-sirius 4x

Cazul 2: parodontită cronică profundă, la un subiect de 55 ani din lotul IRC cu o profunzime medie a pungilor de 3 mm și prezența recesiunilor gingivale.

Examenul morfopatologic a relevat (fig 3,4):

- prezența unui epitelii ușor îngroșat cu rare koilocite și diskeratoză;
- hiperplazia stratului bazal
- la nivelul versantului extern al șanțului gingival este vizibilă reducerea treptată a grosimii epitelului, cu apariția keratinizării; citoplasmele celulelor sunt pline cu vacuole clare care se întâlnesc focal și la nivelul nucleilor;
- corionul este intens infiltrat cu plasmocite și hematii;
- venele și capilarele din corion sunt destinse și pline de hematii;
- marginea liberă prezintă ulceratii;
- colorația roșu-sirius evidențiază fibroză intensă – hialinoză difuză în corion.

Diagnosticul morfopatologic a fost: parodontită marginală cronică.

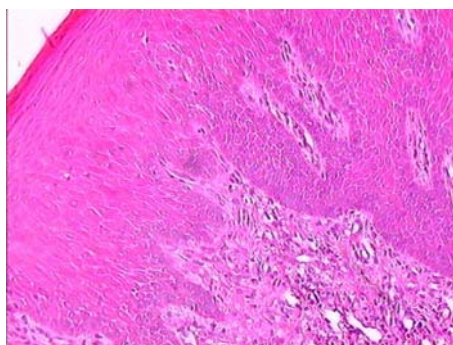


Fig.3. Caz 2 Colorare hematoxină-eozină 10x.

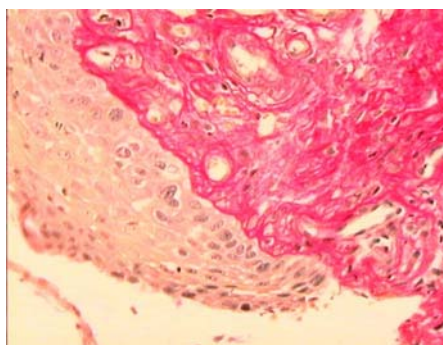


Fig. 4. Caz 2 Colorare roșu-sirius 20x.

Cazul 3: parodontită marginală cronică superficială, la un subiect de 38 ani cu IRC, care prezenta punji false și recesiuni gingivale de 2-3mm.

Examenul morfopatologic a relevat (fig 5,6, 7,8) :

- prezența unui epitelii gros, cu discretă parakeratinizare;
- hiperplazie bazală marcată;
- marginea liberă prezintă o ușoară acantoză, ulcerații și infiltrări cu PMN
- corionul ușor infiltrat cu PMN și câteva limfocite;
- grad marcat de fibroză.

Diagnosticul morfopatologic parodontită cronică în puseu acut.

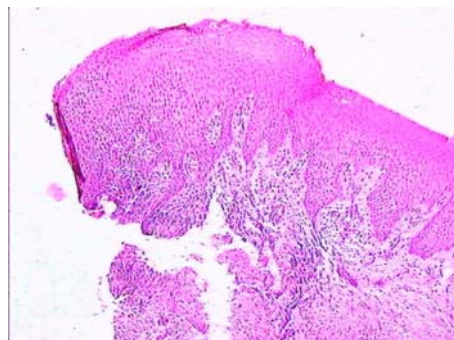


Fig. 5 Caz 3. Colorare hematoxilina-eozină
4x

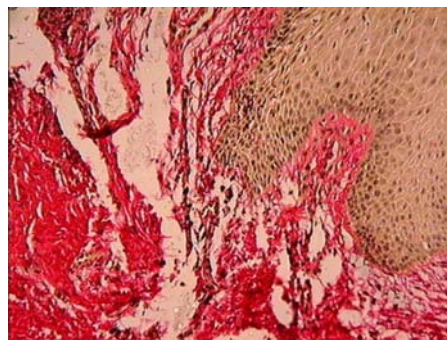


Fig. 6. Caz 3 Colorare Roșu sirius 10x

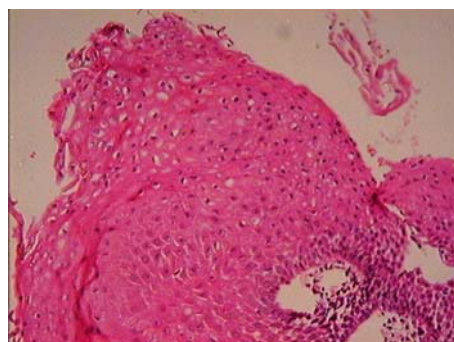


Fig. 7. Caz 3 Colorare hematoxilina-eozina
20x

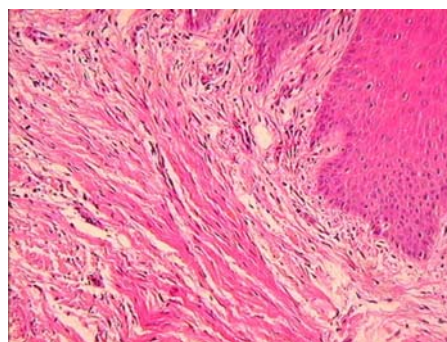


Fig.8. Caz 3 Colorație roșu-sirius 20x.
Fibroză.

Cazul 4: gingivită cronică, la un subiect de 41 ani, cu IRC.

Examenul morfopatologic a relevat (fig 9,10):

- epitelii ulcerat în cea mai mare parte;
- se păstrează fragmente epiteliale și doar profund există celule bazale și parabazale, cu proiecții papilare spre stromă;
- aceste proiecții papilare înconjoară insule de stromă infiltrate moderat cu plasmocite;
- vasele din corion sunt dilatate iar stroma edemațiată.

Diagnosticul morfopatologic a fost: gingivită cronică

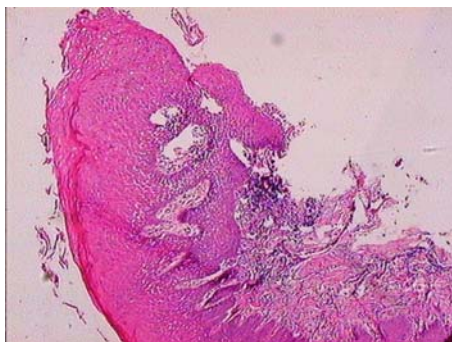


Fig. 9. Caz 4 Colorare hematoxilină-eozină 10x

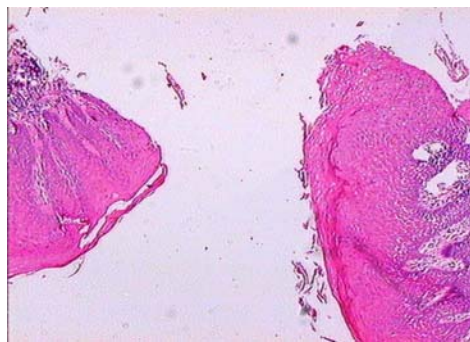


Fig. 10. Caz 4 Colorare hematoxilină-eozină 4x. Keratinizare și eroziune.

Cazul 5: parodontită marginală cronică profundă, la un subiect de 62 ani cu IRC, cu profunzimea medie a pungilor de 3-4 mm și prezența recesiunilor gingivale.

Examenul morfopatologic a relevat (fig 11,12):

- parakeratoză și acantoză focală la nivelul epitelului;
- marginea superioară este ulcerată și prezintă depozite hematice;
- partea internă prezintă ulceratii și arii necrotice, numeroase hematii iar la nivelul ariilor epiteliale restante – activitate regenerativă crescută;
- în corionul intens fibrozat apar infiltrate inflamatorii focale reduse cu limfocite și PMN;

Diagnosticul morfopatologic: parodontită marginală cronică.

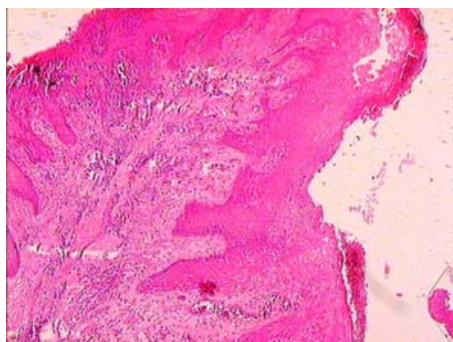


Fig. 11. Caz 5 Colorare Hematoxilină - eozină 4x.



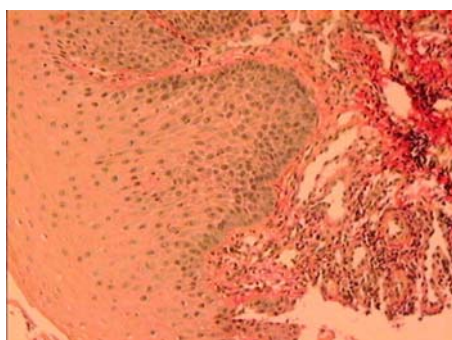
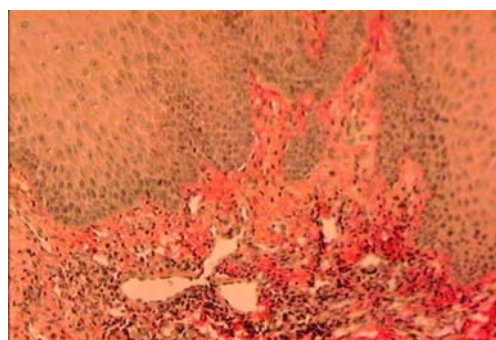
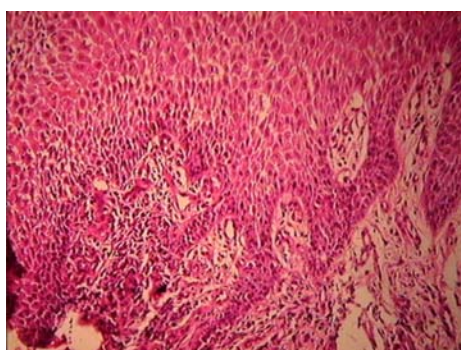
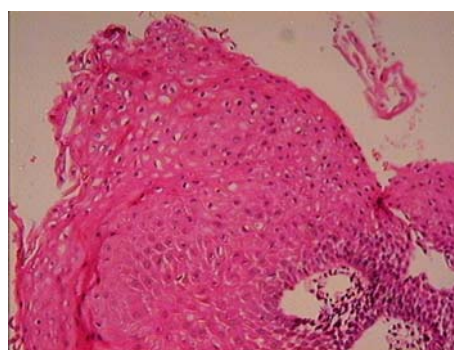
Fig. 12. Caz 5 Roșu-sirius 20x Detaliu. Ulcerația epitelului; exudat cu PMN și detritusuri celulare.

Aprecierea globală a cazuisticii din lotul cu IRC arată (tabel 1) că din cele 30 de cazuri luate în studiu, 10 au fost relevante, prezentând grade variate de inflamație (catalogate de la 1 la 3 cruci), număr variabil de PMN, limfocite, plasmocite și hematii, grade diferite de fibroză hiper-dis-sau parakeratoză, precum și prezența sau absența celulelor din stratul bazal.

Tabel I Variația în intensitate a parametrilor morfopatologici urmăriți la cele mai relevante cazuri din lotul cu IRC.

Nr. crt	Dg. Parodontal	Grad inflamație	PMN	Limfocite	Plasmocite	Grd. fibroză	Hiper/dis/para Keratoză	Hialinizare	Hematii	Strat celule bazale
1.	II	++	+	++	++	+++	/+/	+++	+	
2.	II	++			+++	+++	+/	±	+++	++
3.	II	+	+	+		++	/+	±		+++
4.	II	++			++	+	+/			+
5.	III	++	++	++		±	/+	±	+++	
6.	III	+	+	++	+	+/+++	/+		+	
7.	III	+	+	+	+	++		++	++	
8.	II		+			+				
9.	III	+				+	±	++		
10.	II	+++	+	+++	+++		/+			

În lotul martor au fost prezente aproape fără excepție fenomenele de hialinizare și fibroză la nivelul corionului (cazul M1 parodontită marginală cronică - fig. 13, 14 și cazul M2- parodontită cronică în puseu acut fig. 15, 16), infiltrate inflamatorii în corion mai ales plasmocite dar și PMN și limfocite (cazul M3- parodontită marginală cronică, fig 17, 18)

**Fig. 13.** Caz M1 Colorație roșu - sirius 10x.**Fig.14.** Caz M1 Colorație roșu - sirius 10x. Hiperplazia stratului bazal**Fig. 15.** Caz M2 Colorație Roșu - sirius 10x.**Fig. 16.** Caz M2 Colorație H-E

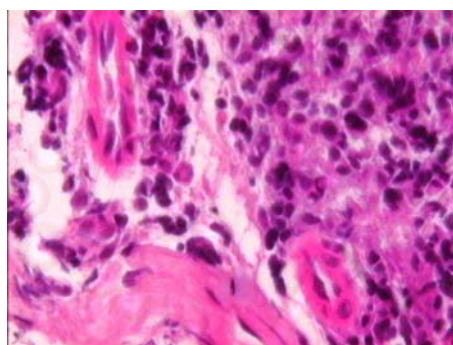


Fig. 17. Caz M3 Colorație hematoxină-eozină 40x.

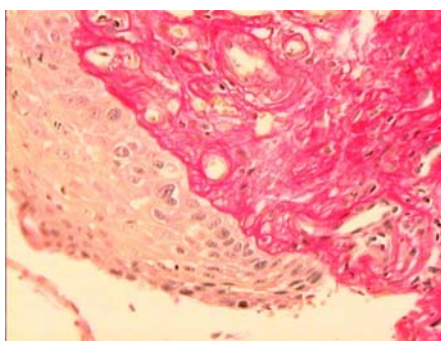


Fig. 18. Colorație roșu sirius 20x Corion infiltrat cu plasmocite

În cazul lotului martor toți parametri înregistrați au avut intensități mai reduse comparativ cu cazuri de același diagnostic parodontal de la lotul cu IRC.

Cele trei cazuri martor prezentate iconografic releva prezenta PMN și limfocitelor dar în număr mai scăzut comparativ cu lotul cu IRC (una-două cruci în toate cazurile), a unui grad limitat de fibroză și hialinizare (o cruce), precum și a fenomenelor de hiper/dis și parakeratoză în mod inconstant (tabel II)

Tabel II Variația în intensitate a parametrilor morfopatologici urmăriți la cele mai relevante cazuri din lotul martor

Nr. crt	Dg. Parod	Grad inflamație	PMN	Limfocite	Plasmocite	Grd fibroză	Hiper/dis/para Keratoză	Hialinizare	Hematii	Strat celule bazale
M1.	III	+	+	+	+	+	/+	+	+	+
M2.	III	+	+	+	+	+		+	+	
M3.	III	++	+	+	++	+	+			+

Aprecierea globală a cazuisticii arată că în lotul cu IRC s-au întâlnit la număr mai mare de cazuri comparativ cu lotul martor, atât semne de inflamație, cât și fenomene de fibroză, dis- para- sau hiperkeratoza, precum și fenomenele de hialinizare însă acestea nu au fost prezente la toți subiecții cu IRC luați în studiu. În principal modificările întâlnite pentru o categorie de diagnostic au fost mai grave în cadrul lotului cu IRC, fapt evidențiat și de tabelul III.

Tabel III Comparația aspectelor morfopatologice lot IRC- lot martor

Lot	Nr subiecți/procent	Inflamație	Dis/para/hiper-Keratoza	Hialinizare
IRC	30 (100%)	23 (76%)	22 (73,3%)	20 (66,6%)
Martor	30 (100%)	18 (60%)	14 (46,9%)	19 (63,3%)

Discuții

În majoritatea cazurilor, între diagnosticul clinic și cel morfopatologic a existat o corelare (recesiunile gingivale, profunzimea pungilor și gradul de fibroză-hialinizare (11)). Au existat și situații în care această corelare nu s-a găsit, corelările fiind dependente și de eșantionul recoltat. Astfel, în anumite cazuri în care diagnosticul clinic indica prezența unor fenomene de fibroză și hialinizare, acestea nu au fost depistate, fiind probabil situate mai profund, sub nivelul la care s-a realizat recoltarea. Modul de recoltare și punerea în lucru a eșantioanelor s-a realizat după o tehnică proprie, care poate fi îmbunătățită prin imaginarea unor secțiuni verticale, care să permită

cuprinderea în profunzime a întregului țesut gingival, înlăturând astfel posibilitățile de prelevare a unor zone nerelevante din punct de vedere al tabloului morfopatologic.

Concluzii

- La nivel epitelial tendință spre hiperplazie, displazie și parakeratoză. Acest lucru s-ar putea datora alterărilor sistemice care apar în IRC.
- Infiltratul inflamator interstițial este predominant limfoplasmocitar și este abundent atât la nivelul structurilor superficiale cât și profunde. Față de lotul martor, leziunile inflamatorii sunt mai accentuate.
- În unele cazuri apare tendință accentuată de fibroză și hialinizare. În inițierea și evoluția procesului de fibroză par să joace un rol important mastocitele care au fost descrise la nivel epitelial în cazul bolnavilor cu IRC.
- Procesele degenerative sunt mai accentuate și extinse pe arii mai mari în cazul subiecților cu IRC.
- S-au descris ulcerații importante ale marginii gingivale alături de depozite de material necrotic eozinofil la nivelul peretelui moale al șanțului gingival. Acestea au fost prezente într-un număr mai mare de cazuri la lotul cu IRC față de lotul martor.

Bibliografie

1. ANGELOPOULOS A.P.- A Method For Quantitative Estimation Of Tissue Components And Number Of Mast Cells In The Gingiva; *J. Periodontal Res*, Suppl. 1972, 9: 1-26.
2. AXELSSON P.- Diagnosis and Risk Prediction of Periodontal Diseases-, *Quintessence Books*, 2002, 240.
3. BARER G.M., PANKOVA S.N., VOLOZHIN A.I.- Characteristics of the Course of Periodontitis in Kidney Pathology; *Stomatologiia*, 1989, Sept-Oct., 68, 5: 34-37.
4. CARRANZA F.A., NEWMAN M.G.- *Clinical Periodontology*, W.B.Saunders Company, 8th ed., 1996, 112-118.
5. LAY VAN LOON, KRIEG S.R., DAVIDSON C.L., BOS J.D.- Quantification and Distribution of Lymphocyte Subsets and Langerhans Cells in Normal Human Oral Mucosa and Skin; *J. Oral Pathol. Med.*, 1989, 18: 197-201
6. LINDHE J.- *Textbook of Clinical Periodontology*, 2nd Ed., Munksgaard, Copenhagen, 1990, 23, 67-78, 127, 208..
7. LINDHE J., HAFAJEE A.D., SOCKRANSKI S.S.- Progression of Periodontal Disease in Adult Subjects in the Absence of Periodontal Therapy; *J. Clin. Periodontol.*, 1983, 10, 433-442.
8. MAIER CRISTINA: Particularitățile bolii parodontale la bolnavii hemodializați, *Teza Doctorat Cluj-Napoca* 1997, 14, 58.
9. MONEA A., MONEA MONICA- *Parodontologie*; Editura Ardealul 1999, 10-15, 75-79, 82, 100, 111.
10. SEYMOUR R.A, HEASMAN P.A. Drugs and the Periodontium; *J. Clin Periodontol.* 1988, Jan.;15, 1:1-16.
11. THILBO B.E., CATON J.G., POLSON A.M., EEPELANS M.A.-Cell Populations Associated with Interdental Gingival Bleeding; *J.Periodontol.*, 1986, 13, 324-29.
12. WAITE I.M., STRAHAN J.S.-Color Atlas of Periodontology; *Wolfe Med.Publ.*, LTD, 1990, 35, 51.

Morphopatological aspects of the periodontium in patients with chronic renal failure

**SORANA BACIU, T. ZAHARIE, ALEXANDRA ROMAN,
CAMELIA ALB, SORINA SAVA, M. MANOLE,
ONDINE LUCACIU, VOICHIȚA SĂBĂDUȘ**

Summary

The histological aspects of the periodontium in patients with chronic renal failure are different from those encountered in healthy patients. The particular aspects are produced by metabolic and immunological changes caused by the increased uremic level. The influence of these specific histological aspects on the periodontal treatment are not yet clarified, but the present study could offer some answers.

Key words: chronic renal failure, histological aspects, periodontium

AMELIORAREA ESTETICII ZONEI ANTERIOARE PRIN TERAPIE COMPLEXĂ PROTETICO-CHIRURGICALĂ

DANIELA CONDOR¹, SMARANDA BUDURU²

¹Catedra de Parodontologie

²Catedra de Protetică Dentară

Facultatea de Medicină Dentară, UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca

Rezumat

Cazul arată modalitățile de îmbunătățire a esteticii zonei frontale maxilare la o pacientă tânără prezentând o discrepantă evidentă între coletele incisivilor centrali protezați provizoriu. Pentru alinierea coletelor conform criteriilor estetice dentare am decis combinarea a două tehnici chirurgicale. Pentru coroana dentară excesiv alungită posttraumatic (2.1) s-a decis aplicarea unei grefe libere conjunctive recoltată palatinal. Pentru restul dinților frontali, deoarece spațiul biologic ne permitea, am decis realizarea unei gingivectomii obținând astfel proporția dentară impusă de cerințele estetice. După perioada de vindecare parodontală, protezarea finală a incisivilor centrali s-a realizat prin coroane integral ceramice Empress 1.

Cuvinte cheie: *grefă conjunctivă liberă, gingivectomie, linia coletului, proporția dentară.*

Introducere

Estetica zonei anterioare maxilare este dată de dominanța incisivilor centrali iar lucrările protetice din zonă trebuie să respecte principiile estetice dentare: simetrie, paralelismul marginii incizale cu linia buzei inferioare, proporțiile intrinseci ale coroanei dentare, proporțiile dintre dinții frontali (numărul de aur), alinierea marginilor gingivale la regula tangentei, paralelismul coletelor incisivilor centrali cu marginea incizala și linia bipupilară.(1) În cazul nostru niciuna din condiții nu era respectată de lucrarea provizorie. A fost necesară o lucrare protetică estetică și biocompatibilă(2,3), asociată cu chirurgia parodontală preprotetică pentru ameliorarea simetriei și conturului gingival(4).

Prezentarea cazului

Pacienta C.A. în vârstă de 20 de ani s-a prezentat pentru restaurarea zonei frontale maxilare. La examinare am constatat prezența la nivelul 1.1 și 2.1 a două coroane acrilice, cu o discrepantă a lungimilor coronare de 4mm, datorată unei retracții gingivale la nivelul lui 2.1, prezența unui surâs gingival și o margine incizală plată(fig. 1 și 2).

**Fig. 1** Situația inițială**Fig. 2** Lucrare provizorie inițială

Din anamneza a rezultat că această situație a survenit posttraumatic cu luxația și replantarea lui 2.1. în urma cu 5 ani. La parodontometrie s-a constatat o adâncime la sondare în zona vestibulară de 3,5 mm, la nivelul grupului frontal superior.

Tratamentul a constat în gingivectomie de la 1.3 la 2.3, exceptând zona aferentă lui 2.1 (4), și grefă liberă de țesut conjunctiv la nivelul lui 2.1 vestibular(5), prepararea corectă cu prag a stâlpilor (3), ajustarea lucrării provizorii la noua situație, respectarea timpului de vindecare de 8 săptămâni, realizarea lucrării definitive integral ceramice (2). Faza chirurgicală a început cu marcarea liniei de gingivectomie la 2 mm de colet (fig. 3), urmată de gingivectomie cu bizou intern (fig. 4).

**Fig. 3** Marcarea zonei de gingivectomie**Fig. 4** Gingivectomia cu bizou intern

Grefonul conjunctiv recoltat din hemipalatul stâng a fost plasat în zona lui 2.1 vestibular, sub un lambou mucos deplasat coronar cu 3 mm și suturat interdental(D-tek®, silk, 4/0).(fig.5,6). S-a retușat lucrarea acrilică la noul nivel gingival (fig. 7). După 10 zile s-au suprimat firele de sutură.(6)

**Fig. 5.** Deplasarea lamboului mucos**Fig. 6.** Sutura greței și a lamboului



Fig. 7. Lucrare provizorie retușată

După încă 9 săptămâni s-au preparat bonturile cu prag shoulder de 1,2 mm circumferențial, s-a amprentat și s-au realizat lucrările definitive din ceramică presată Empress 1 (fig. 8).



Fig. 8. Prepararea bonturilor cu prag shoulder

Rezultate

Prin gingivectomie s-a obținut alungire coronară de 1,5 mm la tot grupul frontal superior cu excepția 2.1 corectându-se surâsul gingival. Spațiul biologic a permis evitarea osteoplastiei. La 2.1 s-a obținut o acoperire coronară de 2,5mm(80%), datorită grefei conjunctive. Parodonțiul marginal vestibular prezenta un sulcus de 1,5mm fără semne de inflamație. S-a corectat evident asimetria gingivală inițială precum și proporțiile dentare. Aceste rezultate au permis realizarea unor coroane definitive care să refacă estetica impusă zonei ca paralelism, simetrie și proporții (fig. 9, 10, 11).



Fig.9



Fig.10



Fig.11

Tehnicile folosite au permis o ameliorare evidentă a zonei. Singura problemă apărută a fost la nivelul marginii gingivale disto-vestibulare a lui 2.1, unde grosimea țesutului gingival nu era suficientă pentru un contur armonios. Dorind să evităm discrepanța dintre convexitatea cervicală a coroanei și zona gingivală s-a aplicat un artificiu protetic corector cu ceramică roz în respectiva zonă (fig.12, 13, 14).



Fig. 12, 13. Artificiul protetic-ceramică roz pentru creerea iluziei de simetrie



Fig.14. Noua simetrie și rezolvarea surâsului gingival

Concluzii

Tratamentul chirurgical muco-gingival corector este indicat în toate cazurile care nu respectă principiile estetice, chiar dacă acesta prelungește durata și costul tratamentului.(6)

Gingivectomia (4) și grefele conjunctive libere(5) sunt metode eficiente de modificare a poziției marginii gingivale libere pentru respectarea principiilor esteticii dentare.

Estetica a fost rezolvată prin aplicarea sistemului integral ceramic Empress 1, care asigură reușita fizionomică (2), iar profilaxia parodontală a fost asigurată de preparațiile cu limita exactă care protejează lățimea biologică și de tehnologia ceramicii presate care asigură precizia adaptării.(3)

Bibliografie

1. CHICHE G., PINAULT A. – *Esthetics of Anterior Fixed Prosthodontics*, Quintessence Publishing, 1994, 35-42.
2. DE ROUFFIGNAC M., DE COOMAN J. – Aesthetic all-porcelain anterior restorations, *Pract Period Aesth Dent* 1992, 4, 9-12.
3. FELTON DA., KANOY BE, BAYNE FC, WIRTHMAN GP – Effect of in vivo crown margin discrepancies on periodontal health, *J Prosth Dent* 1991, 65, 357-359.

4. TOWNSEND C. - Prerestorative periodontal plastic surgery. Creating the gingival framework for the ideal smile, *Dent Today* 2004 Feb; 23 (2): 130-3.
5. ORSINI M, ORSINI G, BENLLOCH D, ARANDA JJ, LAZARO P, SANZ M - Esthetic and dimensional evaluation of free connective tissue grafts in prosthetically treated patients: a 1-year clinical study., *J Periodontol.* 2004 Mar; 75 (3): 470-7.
6. PASQUINELLI LK. - Periodontal plastic surgery as an adjunctive therapeutic modality for esthetic restorative dentistry, *J Calif Dent Assoc.* 2005 Mar; 33 (3): 217-21.

Achieving anterior dental esthetics by complex surgical-prosthetic therapy

DANIELA CONDOR, SMARANDA BUDURU

Summary

Our case presents an improvement of the maxillary anterior region in a young patient with an evident discrepancy between the gingival margins of the central incisors. In order to align the marginal gingiva according to esthetical criteria, we decided to combine two surgical techniques. For the posttraumatic elongated crown (21) we decided to apply a free gingival flap from the palate. For the remaining anterior teeth, because of the permissive biological width, we decided to perform a gingivectomy in order to obtain the optimal dental proportion. After the optimal periodontal healing, the final crowns applied were all ceramic Empress 1.

Key words: free connective tissue graft, gingivectomy, gingival margin line, dental proportion.

PARTICULARITĂȚI ÎN CONCEPEREA PROTEZELOR SCHELETATE DESTINATE TRATAMENTULUI EDENTAȚIEI TOTALE

LIANA MARIA LASCU¹, ALINA ZAHARIA²,
OANA CRISTINA TĂȘCĂU³, H. A. ALMĂȘAN⁴

¹Catedra de Protetică Dentară, Universitatea „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca

²Catedra de Protetică Dentară, Universitatea „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca

³Ortodonție și Ortopedie Dento-Facială, Universitatea „Iuliu Hațieganu”,
Cluj-Napoca

⁴Catedra de Chirurgie Cranio-Maxilo-Facială, Universitatea „Iuliu Hațieganu”,
Cluj-Napoca

Rezumat

Principalii beneficiari ai tratamentelor protetice adjuncite de tipul protezelor totale sunt pacienții de vârstă a treia, care adesea prezintă deficite de coordonare neuro-musculară, cu repercusiuni asupra stabilității protezei, precum și asupra igienizării și manipulării acesteia.

Proteizarea edentației totale prin proteze scheletate conferă o rezistență sporită restaurărilor protetice, reducând la minimum pericolul fracturării acestora și înlăturând handicapul resimțit de persoanele cu disabilități locomotorii.

O altă indicație majoră a protezelor totale scheletate ar fi utilizarea lor de către pacienți cu anumite afecțiuni (epileptici), care în perioade de criză, ar putea provoca fragmentarea bazei acrilice a unei proteze clasice, precum și înghițirea sau aspirarea fragmentelor rezultate.

Prin volumul redus al bazei protezei se poate obține și o fonetică îmbunătățită, aspect demn de amintit în special în cazul pacienților cu profesii dependente de această funcție a aparatului dento-maxilar.

Cuvinte cheie: *proteză totală scheletată, rețea de întărire, proteze totale „cu bază stabilă”.*

Introducere

Edentația totală constituie în general apanajul vârstei a treia, fiind însoțită frecvent de o ofertă osoasă defavorabilă și un substrat mucos adesea fragil și deficitar.

Când statusul prezent al elementelor câmpului protetic înlătură orice posibilitate de protezare supraimplantară, se iau în considerare soluțiile de tratament care exploatează la maximum „factorii pozitivi” oferți de câmpul protetic.

Pe lângă obișnuitele probleme legate de menținerea și stabilitatea protezei totale, o grea sarcină revine practicianului în privința asigurării unei rezistențe adecvate a lucrării protetice, care să permită o manipulare zilnică, fără stressul deteriorării sale.

În general, la vârstnici, coordonarea neuro-musculară este deficitară, putând genera dificultăți sau nesiguranță în inserția și dezinserția protezei, adesea răspunzătoare de accidente care se soldează cu deteriorarea lucrării protetice.

Manoperele de igienizare fiind cel mai adesea nesigure, pot să întrețină anumite afecțiuni ale mucoasei bucale de tipul candidozelor, care pot crea chiar o intoleranță față de materialele utilizate în construcția protetică.

Ipoteză de lucru

Utilizarea protezelor scheletate în tratamentul edentației totale răspunde întru totul obiectivelor stabilite, de creștere a rezistenței lucrării protetice, astfel încât să se minimalizeze riscul de deteriorare a acesteia, în cadrul procedurilor de manipulare zilnică.

Pe lângă sporirea rezistenței protezei, conferită de componenta metalică, adesea se obține și o fonetică îmbunătățită, datorită grosimii foarte reduse a bazei palatinale a protezei (chiar 0,3-0,4 mm grosime), care asigură un confort ridicat. Chiar și în situația unei igienizări mai sumare, baza metalică a protezei corect lustruită, riscă o impregnare mai redusă cu factori microbieni sau micotici din mediul bucal, influențând starea de sănătate a fibromucoasei subiacente.

Metoda de lucru

Protezele scheletate realizate în edentațiile totale pot fi foarte variate, componenta metalică prezentându-se sub forma unei „rețele de întărire” (Fig. 1), cuprinse în grosimea acrilatului, sau fiind realizată sub formă de placă palatinală întinsă sau totală, în contact intim cu fibromucoasa palatinală (Fig. 2) [1].



Fig. 1. Componenta metalică a protezei scheletate maxilare sub forma unei „rețele de întărire”.



Fig. 2. Proteză totală maxilară cu baza metalică.

Acest ultim tip de proteze, cunoscute și sub numele de **proteze totale „cu bază stabilă”**, se realizează pe baza unor amprente de precizie ale câmpului protetic, realizate cu paste ZOE (oxid de zinc-eugenol), după pregătirea prealabilă a fibromucoasei câmpului protetic, constând în relaxarea sa deplină, prin nepurtarea nici unei proteze, timp de 48-72 de ore [2].

Proteza totală maxilară scheletată poate fi concepută cu un contact intim limitat al metalului cu fibromucoasa palatinală, situat centrat (Fig. 3), partea corespunzând crestei edentate fiind căptușibilă, prin prezența componentei acrilice pe fața mucozală [1,3].

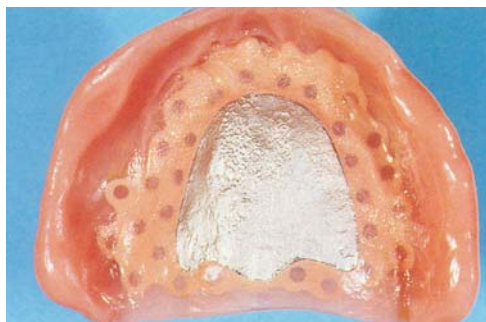


Fig. 3. Contact intim al metalului cu fibromucoasa palatinală doar pe o zonă centrală limitată.

Zona de contact intim a componentei metalice cu fibromucoasa câmpului protetic nu va fi lustruită excesiv, ci doar supusă unui gravaj electrolitic, pentru a favoriza obținerea unei adeziuni cât mai bune a protezei.

Când numai zona centrală a palatului va avea contact intim cu baza metalică, folierea modelului cu ceară de distanțare se va realiza doar pe suprafața câmpului protetic care va veni în contact cu componenta acrilică a bazei (Fig. 4).

Pe modelul duplicat se marchează cu ceară de lipit zona centrală, care delimitează extinderea componentei acrilice pe fața mucozală a scheletului metalic (Fig. 5), prefigurând „treapta internă”.

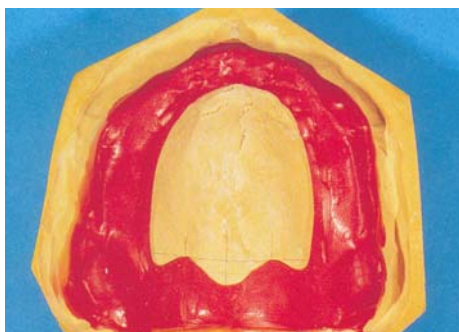


Fig. 4. Folierea cu ceară se realizează în zonele câmpului protetic care vor veni în contact cu componenta acrilică a bazei protezei.



Fig. 5. Marcarea pe modelul duplicat a limitei componentei acrilice de la nivelul feței mucozale a scheletului metalic (treapta internă) cu ceară de lipit

Urmează realizarea machetei în ceară a viitorului schelet metalic (Fig. 6).

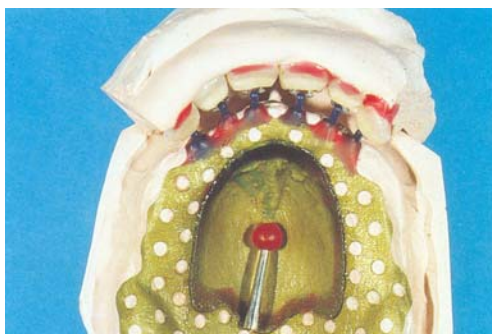


Fig. 6. Macheta în ceară a componentei metalice a protezei.

Rezultate și discuții

Scheletul metalic al protezelor scheletate totale va fi lustruit pe fața externă până la un luciu maxim (Fig. 7), pentru a favoriza alunecarea alimentelor lipicioase și igienizarea protezei.

Pentru o bună adeziune, lustruirea feței mucozale a scheletului metalic se va face doar prin gravare electrolică (Fig. 8).



Fig. 7. Fața externă a scheletului metalic lustruită până la un luciu maxim.



Fig. 8. Fața mucozală a scheletului metalic, lustruită electrolic.

Când se dorește o subțiere în totalitate a componentei metalice, scheletul poate fi supus unui gravaj electrolic repetat, protejarea feței mucozale a acestuia realizându-se cu ajutorul unei benzi adezive, aplicate la acest nivel, menite să împiedice o lustruire excesivă a scheletului pe suprafața de contact cu fibromucoasa palatină. Protezele cu componenta metalică sub formă de **rețea de întărire** oferă avantajul unei ușoare căptușiri în caz de necesitate, dar procedeele de silanizare existente în prezent, permit și optimizarea bazelor metalice ale protezelor scheletate totale.

În cazul utilizării componentei metalice în rețea, este de preferat ca aceasta să fie realizată individualizat, pe modelul de lucru, adaptarea fiind mult superioară rețelilor de întărire prefabricate.

Protezele totale mandibulare pot fi concepute cu bază metalică (Fig. 9), în scopul sporirii rezistenței precum și pentru o mai bună adaptare la câmpul protetic.

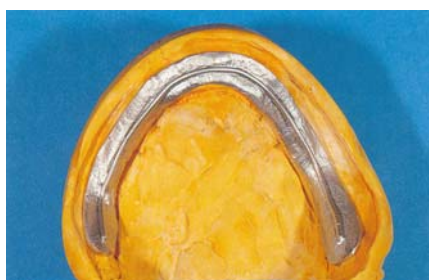


Fig. 9. Baza metalică a protezei totale mandibulare.

Concluzii

Prin rezistența sporită pe care o conferă construcției protetice, proteza scheletată totală reprezintă o soluție optimă de tratament, în cazul pacienților cu disabilități locomotorii, anulând stressul acestora legat de manipularea și igienizarea zilnică a acesteia. Prin lipsa de coordonare neuro-musculară, se diminuează și contribuția **tonicității musculare** la menținerea și stabilizarea protezei totale, fiind absolut obligatorie exploatarea maxim posibilă a aportului celorlalți factori de stabilitate: adeziune, lustruire adecvată pentru scăderea acțiunii de desprindere exercitată de alimentele lipicioase.

Volumul redus, reproducerea perfectă a detaliilor formațiunilor anatomice traversate de baza protezei, precum și lustruirea până la un luciu maxim, asigură confort tactil pacienților, precum și o fonetică îmbunătățită.

Pacienții cu afecțiuni generale care contraindică în general protezele adjuncte (epilepsie), în situațiile în care nu mai pot beneficia de soluții conjuncte de tratament protetic, găsesc în proteza totală scheletată o soluție acceptabilă, care reduce la maximum posibil riscul de fracturare a protezei și de aspirare a fragmentelor rezultate.

Procedeele de silanizare de care dispunem la ora actuală anulează dezavantajul major al protezelor cu bază metalică, devenind astfel posibile optimizările prin căptușire.

Referințe

1. DITTMAR K.: *Systematik der Modellgusstechnik*, Compend. Zahntech, tw media 2000.
2. IONESCU A.: *Tratamentul edentației parțiale cu proteze mobile. Clinica și tehnica de laborator*. Edit. Național, 1999.
3. SPIEKERMANN H., GRÜNDLER H.: *Die Modellguss-Prothese*. Quint. Bibliothek, 1977.

Peculiarities in conceiving removable prosthodontics in treating the total edentulous patient

LIANA MARIA LASCU, ALINA ZAHARIA,
OANA CRISTINA TĂȘCĂU, H. A. ALMĂȘAN

Summary

The main patients treated by removable total prosthodontics are the third aged ones, which mostly present neuro-muscular coordination deficiencies. These deficiencies exert repercussions on the prostheses stability, hygiene and its manipulation.

Using removable total prosthodontics confers high resistance, decreasing the fracture distress and eliminating the existing handicap of the patients with locomotory disabilities.

Another major indication of total removable prosthodontics is for the patients with some peculiar affection (for example: patients with epileptic disease), which in the crises period could fracture the acrylic basis of a classic prosthesis and swallow the resulting fragments.

Due to its reduced volume of the prostheses basis, it is possible to obtain a better phonation, which is very important for patients with professions depending on this function of the dental-maxillary apparatus.

Key words: total removable prosthodontics, reinforced netting, complete denture “with stable basis”.

CITOKINE PROINFLAMATORII ÎN BOALA PARODONTALĂ

C.D. OLTEANU¹, ALEXANDRA CRĂCIUN², R. CÂMPEANU³

¹Catedra de Ortodonție și Ortopedie Dento-Facială, U.M.F. „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca

²Catedra de Biochimie Medicală, U.M.F. „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca

³Catedra de Chirurgie Orală și Maxilo-Facială, U.M.F. „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca

Rezumat

Cavitatea orală este o componentă importantă a organismului. Integritatea funcțională a cavității orale condiționează totalitatea proceselor metabolice din organism; la rândul său, organismul influențează cavitatea orală, afecțiunile acesteia fiind puternic marcate de bolile sistemice.

Așadar, biochimia și imunochimia cavității orale deschid calea înțelegerii proceselor normale și patologice desfășurate la acest nivel, permit corelarea lor cu alte afecțiuni, iar în final aduc o contribuție importantă la redarea sănătății.

Este cunoscut că reacția inflamatorie este o reacție de apărare complexă dezvoltată de organism în condițiile unei agresiuni localizate sau generalizate; include atât fenomene alterative, cât și procese reacționale proliferative și reparatorii.

În cadrul reacției inflamatorii, studiile anterioare au demonstrat prezența citokinelor cu efecte proinflamatorii (IL-1, IL-6, TNF α , IL-8), dar și antiinflamatorii (IL-4, IL-10).

Scopul cercetării noastre a fost de a determina nivelele serice ale citokinelor proinflamatorii IL-1 β , IL-6 și TNF α la subiecții sănătoși și pacienții diagnosticați cu boală parodontală, fără alte afecțiuni inflamatorii cronice asociate. Scopul final a fost de a evalua în ce măsură o inflamație locală, la nivelul cavității bucale, poate să influențeze nivelele sistemice ale citokinelor.

Cuvinte cheie: boală parodontală, citokine proinflamatorii, citokine antiinflamatorii, IL-1, IL-6, TNF α .

Introducere

Dintele este menținut în alveolă de ligamentele alveolo-dentare alcătuite dintr-un ansamblu de fibre de natură colagenă denumite fibre alveolo-dentare; se inseră cu un capăt în osul alveolar, iar cu celălalt în cement. În boala parodontală are loc o perturbare a acestui ansamblu funcțional, prin liza fibrelor conjunctive și pierderea de țesut alveolar. În această situație produsele bacteriene și țesutul gazdă conlucrează pentru degradarea parodontiului (1). În evoluția afecțiunii parodontale se descriu următoarele etape:

- *inițial* enzimele bacteriene atacă epiteliul șanțului gingival;
- *ulterior* apar modificări tisulare caracteristice inflamației: creșterea permeabilității vasculare și migrarea leucocitelor la locul afectat;

- în continuare produsele toxice ale plăcii bacteriene declanșează eliberarea enzimelor lizozomale, ceea ce are ca rezultat degradarea colagenului, a glicozaminoglicanilor și resorbția osului alveolar (1), (2);
- rezultatul acestor procese duce la migrarea epiteliului șanțului gingival spre apical, formând un buzunar în care microflora bacteriană continuă să se dezvolte și să-și exercite acțiunea sa nocivă.

Pornind de la aceste premise, ne-am propus să evidențiem în ce măsură răspunsul organismului la „agresiunea” bacteriană locală și implicit inflamația sunt reflectate în concentrațiile citokinelor serice, deci la nivel sistemic. În acest sens am urmărit nivelele serice ale citokinelor proinflamatorii IL-1 β , IL-6 și TNF α la subiecții sănătoși și pacienții diagnosticați cu boală parodontală, fără alte afecțiuni inflamatorii cronice asociate.

Material și metode

Subiecți:

În studiu au participat 25 persoane, cu vârste cuprinse între 25-50 ani, clinic sănătoși sau diagnosticați cu boală parodontală. Au fost împărțiți în trei grupuri:

- grupul I a cuprins 7 pacienți diagnosticați cu *parodontita adultului (PA)*;
- grupul II a fost format din 8 pacienți diagnosticați cu *parodontită rapid progresivă (PRP)*;
- grupul III, reprezentând *grupul martor*, a cuprins 10 persoane clinic sănătoase.

S-a recoltat 5 ml sânge venos a jeun. După coagulare sângele a fost centrifugat la 3000 rpm timp de 10 min, iar serul a fost congelat la -80° C până la efectuarea determinărilor biochimice.

Metode:

Din ser s-au determinat concentrația principalelor citokine proinflamatorii (IL-1 β , IL-6, TNF α), prin tehnica microarray, utilizându-se un kit comercial FAST Quant System, Microspot Assays for Cytokine Quantification (Schleicher&Schuell Bioscience, Inc., SUA). Această tehnica utilizează una dintre cele mai noi tehnologii ELISA de imunochimie. Determinarea cantitativă a citokinelor se bazează pe formarea complexelor antigen-anticorp după aplicarea serului pe suport de nitroceluloză. Măsurarea indirectă a complexelor imune rezultate se face după legarea lor de un compus fluorescent (streptavidină marcată cu un compus cromogen) răspunzător de emisiile scintilațiilor în UV. Pentru interpretare se utilizează un scanner și software speciale (Array Vision™ FAST).

Statistică:

Pachetul de software SPSS/PC+ versiunea 13.0 (SPSS, Chicago, IL) a fost utilizat pentru analizele statistice. Datele au fost analizate folosind testul Wilcoxon. Toate datele au fost exprimate ca medie $\pm$ STDEV (deviația standard). Nivelul de 0,05 a fost ales pentru semnificație statistică.

Rezultate și discuții

1 Interleukina-1 β (IL-1 β)

S-a determinat nivelul seric al interleukinei-1 β (pg/ml) la pacienții cu parodontita adultului (PA) și parodontita rapid progresivă (PRP), comparativ cu lotul martor. Rezultatele au evidențiat o creștere a nivelului acestei citokine în ser în ambele forme de parodontopatii comparativ cu lotul martor. Cea mai accentuată creștere a fost în PRP, concentrații crescute de peste trei ori față de valorile lotului de control. Aceste diferențe sunt semnificativ diferite atât față de lotul de control cât și între cele două grupuri de parodontopatii ($p < 0.001$).

Tabelul 1 Concentrațiile interleukinei-1 β (pg/ml)

	IL-1 β (pg/ml)		
	MARTORI (n=10)	PARODONTITA ADULTULUI (n=7)	PARODONTITA RAPID PROGRESIVA (n=8)
MEDIA	2,1	4,9	7,8
SDEV	$\pm 1,8$	$\pm 3,1$	$\pm 2,9$
%	100	233,3	371

2 Interleukina 6 (IL-6)

La cele trei grupuri s-a determinat nivelul seric al IL-6. Rezultatele obținute au demonstrat creșterea nivelului seric al IL-6 la pacienții cu ambele forme de parodontopatii comparativ cu lotul martor, confirmând participarea acestei citokine la procesul distructiv asociat bolii parodontale. După cum se poate observa și din tabelul 2, diferențele sunt semnificative statistic atât față de lotul martor, cât și între cele două grupuri cu afecțiune parodontală ($p < 0.001$).

Tabelul 2 Concentrațiile interleukinei-6 (pg/ml)

	IL-6 (pg/ml)		
	MARTORI (n=10)	PARODONTITA ADULTULUI (n=7)	PARODONTITA RAPID PROGRESIVA (n=8)
MEDIA	5,25	26,4	31,9
SDEV	4,9	15,2	19,3
%	100	502,8	607,6

3 Corelația dintre IL-1 β și IL-6

Ne-am propus o corelație între nivelele celor două interleukine deoarece efectele lor sunt synergice. Rezultatele obținute demonstrează o corelație pozitivă, foarte bună ($r=0,77$, $p<0.04$), atât în lotul de control cât și în grupurile I și II de pacienți. În figura 1 este prezentată corelația dintre IL-1 β și IL-6 la pacienții din grupul III (PRP).

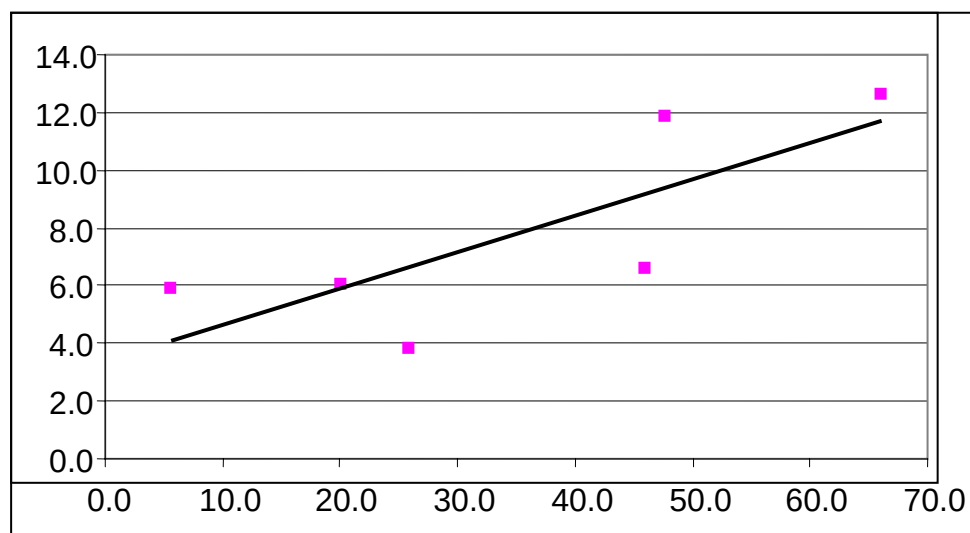


Figura 1: Corelația dintre nivelul seric al IL-1 β (axa y) și IL-6 (axa x), la pacienții cu boală parodontală, grupul I (PA). Concentrațiile sunt exprimate în ng/ml.

4 Factorul de necroză tumorală (TNF α)

Determinarea nivelului seric al TNF α , o citokină cu puternică acțiune proinflamatorie, a demonstrat creșteri importante la pacienții cu boală parodontală, comparativ cu lotul martor. Această citokină este cunoscută a avea implicații în metabolismul osos, având rol în stimularea resorbției osoase (3-7). În tabelul 3 se poate observa creșterea semnificativă a TNF α în ser la pacienții cu afecțiune parodontală. Această creștere este mult mai amplă față de valorile normale, de 6-9 ori, în comparație cu creșterile IL-1 β și IL-6.

Tabelul 3 Concentrațiile TNF- α (pg/ml) determinate la grupul de control și la pacienții cu boală parodontală (PA, PRP). Diferențele sunt semnificative statistic față de lotul de control ($p < 0.001$).

Concentrația serică a TNF- α (pg/ml)			
	MARTORI (n=10)	PARODONTITA ADULTULUI (n=7)	PARODONTITA RAPID PROGRESIVA (n=8)
MEDIA	9,25	62,4	90,6
SDEV	7,4	24,9	20,1
%	100	674,6	976,3

5 Corelația dintre TNF α și IL-6

Asocierea celor două citokine s-a făcut datorită efectelor locale și sistemice comune(8). Ambele au avut valori ridicate în cele două tipuri de boli parodontale, făcând un paralelism cu gravitatea bolii. Se constată o corelație pozitivă bună între cei doi markeri în toate grupurile studiate. De asemenea se constată o corelație pozitivă și între TNF α – IL-1 β ($r=0,62$; $p < 0.02$). Acest fapt este în concordanță cu alte studii, dar care au fost efectuate din lichid crevicular (9).

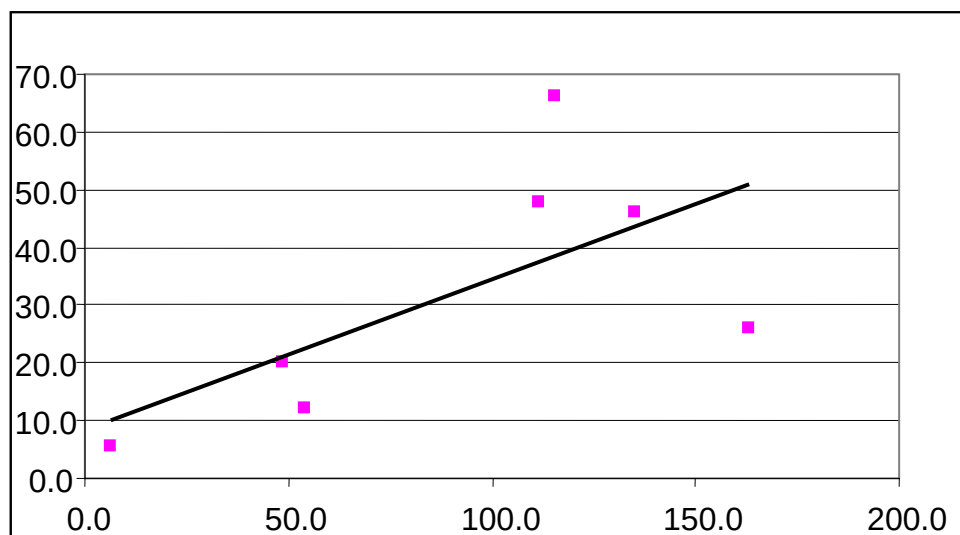


Figura 2: Corelația dintre nivelul seric al TNF α (axa x) și IL-6 (axa y) la pacienții din grupul I, cu parodontita adultului ($r=0,66$; $p < 0.04$). Concentrațiile sunt exprimate în ng/ml.

Concluzii

1. Cercetările noastre au demonstrat că activitatea citokinelor proinflamatorii prezente în serul persoanelor parodontopate este diferită în diversele forme de parodontopatii, ceea ce face ca dozarea lor să permită un diagnostic diferențial al acestor boli.
2. Interleukina-1 β din ser a suferit o creștere marcantă în parodontita adultului (de 2 ori) și mult mai accentuată în parodontita rapid progresivă (de 4 ori) față de lotul martor, ceea ce reprezintă o dovadă clară a instalării bolii parodontale.
3. Nivelul crescut al interleukinei-6 în serul persoanelor cu parodontită cronică a adultului (de 5 ori) și în parodontita rapid progresivă (de 6 ori) față de lotul martor demonstrează implicarea acestora în procesul distructiv tisular și osos.
4. Dovada instalării bolii parodontale a fost adusă și prin determinarea concentrației factorului de necroză tumorală (TNF α) din ser, care a arătat o creștere în ambele forme de parodontopatii, respectiv de 6 ori în parodontita cronică a adultului și de 9 ori în parodontita rapid progresivă. Aceasta este în concordanță cu alte studii, însă efectuate din lichidul crevicular (9).
5. În fine, determinarea activității unor citokine proinflamatorii (în special interleukina-1 β , interleukina-6 și TNF α) din serul pacienților ar putea constitui un diagnostic precoce al declanșării procesului distructiv contribuind astfel la profilaxia parodontopatiilor.
6. Este de reținut faptul că boala parodontală poate produce modificări semnificative ale concentrațiilor citokinelor pro-inflamatorii sistemice, putând pune în discuție utilitatea citokinelor în evaluări diverse din patologie, în condițiile în care această afecțiune este foarte frecventă în populația adultă și în vârstă.

Bibliografie

1. PAGER C., SCHROEDER H.E.: *Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work*. Lab. Invest., 34:235, 2000
2. OLTEANU I., OLTEANU C. *Biochimia cavității orale*, Ed. Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, 2004, 149-187
3. SANDROIM L.: *Cytokines in chronic inflammatory periodontal disease*. J. Clin. Periodontol., vol.13, pag.19, 2001
4. JAMES K.: *Cytokines proinflammatory and its possible importance in immune systems*. Trends in Biochemical Sciences, 5, 43-47, 2001
5. ROBERTSON P.B., LANTZ M., MARUCHA P.T. *Interleukins activity associated with Bacteroides species and Actinobacillus Actinomycetemcomitans* J. of Per. Res., 17, 275-283, 2000
6. GRAVES D.T.: *The Contribution of Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor to Periodontal Tissue Destruction*. J. Of Periodontology, 74, 391-401, 2003.
7. ALGAN S.M., PURDON M., HOROWITZ S.M. *Role of tumor necrosis factor alpha in particulate-induced bone resorption*. Journal of Orthopaedic Research, 14, 30-35, 1996.
8. LAMSTER I. B., NOVAK M.J. *Host mediators in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease*. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine, Vol 3, 31-60, 1992.
9. ATAOGU H., ALPTEKIN N.O., HALILOGLU S., GURSEL M., ATAOGU T., SERPEK B., DURMUS E. *Interleukin-1 β , tumor necrosis factor- α levels and neutrophil elastase activity in peri-implant crevicular fluid*. Clinical Oral Implants Research, 13, 470-474, 2002.

Mențiune

Acest studiu a fost finanțat prin grantul CNCIS nr.1416/ 2006.

Proinflammatory cytokines in periodontal disease

C.D. OLTEANU, ALEXANDRA CRĂCIUN, R. CÂMPEANU

Summary

Bacterial plaque and local inflammation are essential in the evolution of the parodontal disease. Studies of this disease have indicated increased proinflammatory cytokines in the crevicular liquid. In our research we intended to quantify some inflammatory cytokines - IL-1 β , IL-6 și TNF α in serum, in order to evaluate to which extent a local inflammation (in the oral cavity - such as parodontal disease) may influence the cytokines levels in serum, at systemic level. Healthy subjects with no other known chronic inflammations and patients with diagnosed parodontal diseases in different evolutive stages, were selected. Our results showed significantly increased levels of cytokines, two to ten folds normal values, especially in TNF α , known as well to be involved in stimulation of bone resorption.

Key words: periodontal disease, proinflammatory cytokines, anti-inflammatory cytokines, interleukin-1, interleukin-6, tumoral necrosis factor α .

CONTRIBUȚII LA AMPRENTELE FONETICE ÎN REALIZAREA PROTEZELOR TOTALE PE CÂMPURI PROTETICE NEFAVORABILE

VOICHITA SĂBĂDUȘ¹, BORZEA D.¹, DIANA DUDEA¹, MARIANA
CONSTANTINIUC², SORANA BACIU¹, SORINA SAVA³

¹Catedra de Propedeutică stomatologică

²Catedra de Protetică dentară

³Catedra de Materiale dentare

Rezumat

Succesul terapeutic în protezarea totală este condiționat de relația protezei cu formațiunile musculo-ligamentare periprotetice aflate în permanentă activitate.

Lucrarea dezvoltă o metodă de amprentare care se adresează cu precădere cazurilor clinice complexe, în prezența unor câmpuri protetice nefavorabile, cu atrofie avansată sau creastă negativă.

Conform acestei metode, implicarea fonației în etapa de amprentare funcțională și transferul modelajului marginal obținut la protezele finite, contribuie la anularea sau ameliorarea deficiențelor restaurărilor protetice mobile totale, realizate prin metodele clasice cunoscute.

Cuvinte cheie: edentație totală, câmp protetic nefavorabil, amprente fonetice.

Introducere

Realizarea unei proteze totale necesită o succesiune riguroasă de acte operatorii, în rândul cărora etapele de amprentare ocupă un rol prioritar.

Reproducere negativă a câmpului protetic, amprenta, trebuie să reunească toate elementele care contribuie la sprijinul, menținerea și stabilizarea protezei.

În literatura de specialitate apar continuu studii asupra importanței factorilor anatomo-fiziologici în conceperea judicioasă a tratamentului edentației totale, în paralel cu preocuparea pentru adaptarea acestui tratament la specificul individual al fiecărui caz.

Realizarea unei proteze optim funcționale pe câmpuri protetice nefavorabile, cu atrofie avansată sau creastă negativă, înconjurată de formațiuni musculo-ligamentare în permanentă activitate, rămâne o piatră de încercare pentru toți practicienii.

În astfel de situații, pe măsură ce aportul factorilor fizici (adeziunea, succiunea) și anatomici (retentivitățile anatomice) scade, **menținerea și stabilitatea protezelor totale este influențată decisiv de activitatea musculaturii periprotetice și relația ei (armonioasă sau conflictuală) cu proteza.**

Ipoteza de lucru

Ideea de la care am plecat în realizarea acestui studiu, se bazează pe realitatea că, dintre funcțiile esențiale ale A.D.M. **fonația este apreciată ca funcția cea mai**

complexă și aptă să antreneze musculatura periprotetică într-o activitate fiziologică specifică fiecărui individ.

În urma experimentării diferitelor tehnici de amprentare funcțională, în principal metode fonetice descrise în literatura de specialitate (1, 2, 3) am elaborat o metodă fonetică de amprentare adaptată câmpurilor protetice nefavorabile.

Material și metodă

Studiul a inclus un număr de 24 de pacienți (39-81 ani), **bărbați (8 – 33%) și femei (16– 66%)** care au prezentat:

- edentații totale uni- sau bimaxilare neprotezate, sau protezate necorespunzător (cu o vechime a protezării de la 2 săpt. – 10 ani);
- edentații subtotale, la care suferințele dento-parodontale au impus extracția ultimilor dinți restanți;

Metoda s-a axat pe următoarele direcții:

- *amprentarea funcțională a zonei de sprijin sub presiune digitală moderată;*
- *modelarea marginilor și versantelor amprente prin teste fonetice, care să asigure libertate de acțiune formațiunilor mobile musculo-ligamentare cu inserție perpendiculară pe limitele câmpului protetic;*
- *reproducerea modelajului obținut la protezele finite, în scopul exploatării acțiunii stabilizatoare a musculaturii periprotetice.*



Fig. 1 P.A. standard Klan

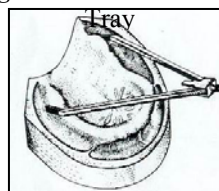


Fig. 2 Alegerea lingurii mx

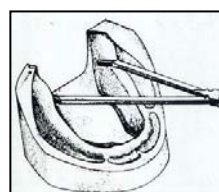


Fig. 3 Alegerea lingurii md



Fig. 4 Amprente preliminare

Atingerea obiectivelor propuse a impus exigență și rigurozitate în realizarea etapelor de amprentare preliminară și funcțională.

I. Amprenta preliminară s-a realizat cu:

- **portamprente standard - Klan Tray – (5.) (Fig. 1).**
 - **alegerea lingurii se face cu ajutorul unui compas care măsoară:**
 - **la maxilar** - distanța dintre polii externi ai tuberozităților maxilare (Fig. 2);
 - **la mandibulă** - distanța dintre versantele linguale ale tuberculilor piriformi (Fig. 3).
- **materialul de amprentă** – hidrocoloizi ireversibili, în principal de tip alginat, (Elastic Cromo – Spofa Dental);
- **modelarea marginală a amprente maxilare și mandibulare s-a realizat** prin mișcările clasice executate de medic și pacient.

În laborator s-a procedat la:

- **turnarea amprente** (Fig. 4) (15 min. - 120 h);
- **pregătirea modelului de studiu** prin folierea cu ceară a zonelor sensibile (*distanțarea zonală*);
- **realizarea de port-amprente individuale cu grosime marginală dirijată.**

II. Amprenta funcțională

Prezintă unele particularități față de metodele fonetice descrise în literatura de specialitate. Am optat pentru o **amprentă muco-dinamică, anatomo-funcțională, cu gura deschisă sub presiune digitală moderată**, utilizând în acest scop:

- **portamprente individuale (P.A.I.) cu grosime marginală dirijată (Fig. 5)**, riguros verificate și adaptate clinic sub aspectul lungimii și grosimii marginilor ca și a închiderii marginale interne prin teste dinamice și fonetice;

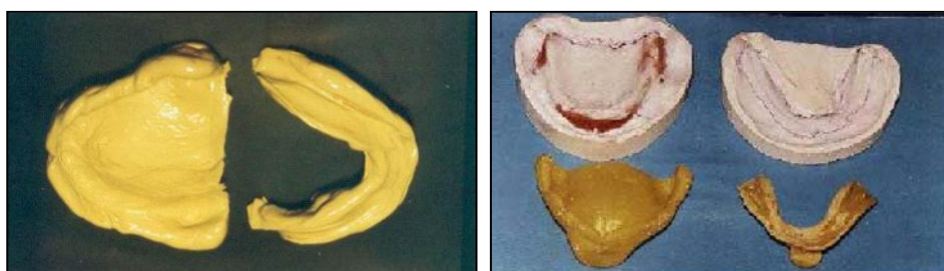


Fig. 5 P.A.I. cu grosime marginală dirijată: înainte și după prelucrare

- **material de amprentă:**
 - **siliconi de condensare de consistențe diferite:**
 - Stomaflex pastă - Stomaflex cremă, (Spofa);
 - Silasoft N - Silasoft S (Detrax);
 - **siliconi de condensare de aceeași consistență (în 2 secvențe):**
 - Siloflex light (Spofa);
 - Softflex (Koehler).

Amprenta fonetică mandibulară:

S-a realizat cu portamprenta individuala după o prealabilă perfectare a închiderii marginale interne în zona linguală centrală cu Stents (Fig. 6). Pentru modelarea marginală am asociat în următoarea ordine: *deglutiții repetate (3-5)*, *teste dinamice*, *teste fonetice*:

- **deglutițiile repetate, modelează:**
 - **versantul lingual al tuberculului piriform și**

- **zona linguală centrală** (spațiul dintre versantul lingual al crestei alveolare și plica glandei sublinguale) *sub aspectul lungimii și grosimii marginilor amprente*.
- **teste dinamice** - modelează versantul lingual al amprente prin:
 - **umezirea buzei inferioare** - zona linguală molară ;
 - **balansarea limbii în obraz** - zona linguală premolară;
 - **protracția moderată a limbii** – zona linguală centrală.
- **teste fonetice** - sunt preluate din tehnica piezografică Klein (4.):
 - pentru zonele buccinato-comisurale - **SIS, SO**;
 - pentru zona frontală: - **SE, SE** – versantul lingual;
 - **ME, PE, BE** – versantul vestibular.

Fiecare din aceste foneme au un rol ținut în antrenarea musculaturii periprotetice.

- **S** - activează buccinatorul;
- **E, I** - realizează contracția buccinatorului și tracțiune posterioară a modiolusului;
- **O** - contractă orbicularii;
- **propulsează buzele și trage anterior modiolusul și cu el buccinatorul;**
- **ME, PE, BE** - solicită contracția energetică a orbicularului;

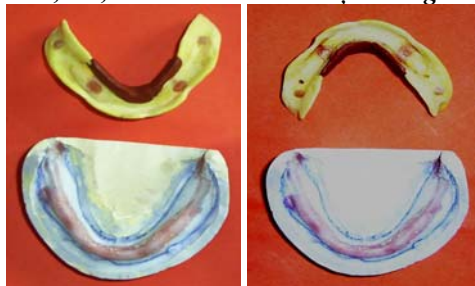


Fig. 6 Portamprente individuale mandibulare după adaptare.

Se remarcă:

- **realizarea închiderii marginale în zona linguală centrală** cu Stents.
- **butonii de distanțare**;
- **orificiile** care asigură decompresia zonelor sensibile.

Amprenta fonetică maxilară

S-a realizat cu P.A.I., adaptate clinic prin teste dinamice și fonetice, precizând că în modelarea marginilor și versantelor amprente am utilizat numai teste fonetice (**Fig. 7**).

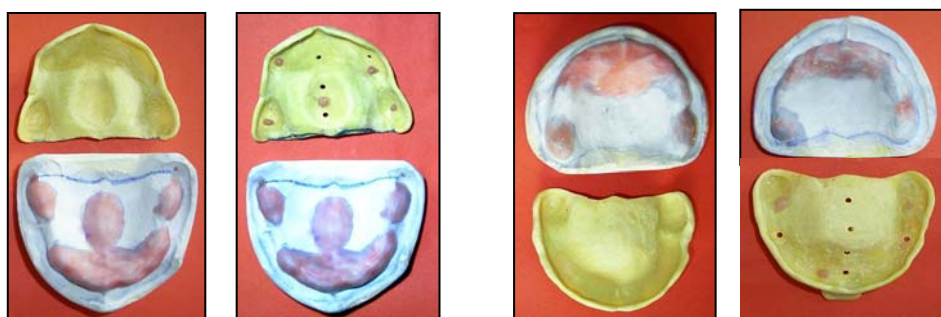


Fig. 7 Portamprente individuale maxilare înainte și după adaptare

➤ **Modelarea versantului vestibular**

Teste fonetice - emisia vocalelor A, E, I, O, U;

- vocalele nazalizate An, En, In, On, Un.

• **Vocalele pur orale solicită :**

- **A**, pune în acțiune maseterul și buccinatorul – zona vestibulară distală și laterală (molară);
- **E, I**, contractă mușchii modiulusului (tracțiune posterioară) – zona vestibulară laterală (premolară);
- **O, U**, solicită mușchii modiulusului (tracțiune anterioară) și contracția energetică a orbicularului – zona vestibulară labială;

• **Vocalele nazalizate: An, En, In, On, Un, presupun coparticiparea simultană a următoarelor elemente:**

- vâul palatin coboară și se apropie de limbă;
- rinofaringele se deschide pentru a permite trecerea unei părți din coloana de aer expulzată din plămâni;
- deschiderea orificiului bucal scade progresiv în valoare, de la emisia fonemei An la emisia fonemei Un, prin participarea activă a mușchilor orbiculari ai buzelor.

➤ **Modelarea închiderii posterioare (zona Ah).**

Se obține prin pronunțarea fermă a vocalelor pur orale A, O:

A - pentru segmentele laterale ale zonei Ah;

O - pentru segmentul central al zonei Ah.

Secvențe ale modelării fonetice ale amprente maxilare (Fig. 8, 9, 10, 11 a, 11 b, 12)



Fig. 9 Modelarea marginală fonetică a amprente maxilare-E-I, En-In.



Fig. 8 Modelarea marginală fonetică a amprente maxilare -A

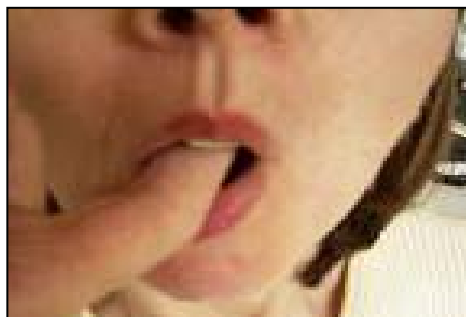


Fig. 10 Modelarea marginală fonetică a amprente maxilare- O-U, On-Un.

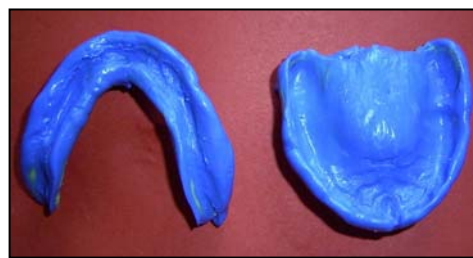
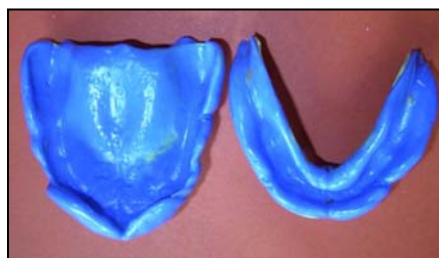


Fig. 11 a Amprente funcționale cu silicon de condensare de consistență fluidă în două secvențe: Siloflex Plus light (Spofa).



Fig. 11 b Amprente funcționale cu silicon de condensare de consistență fluidă în două secvențe: Siloflex Plus light (Spofa) .



Fig. 12 Amprente funcționale cu siliconi de condensare de consistențe diferite: Silasoft N - Silasoft S (Detrax)

Rezultate

Utilizarea metodei de amprentare fonetică a câmpurilor protetice nefavorabile și transferul înregistrărilor marginale obținute la protezele finite, a favorizat o adaptare tisulară neuro-musculară, fonetică și estetică rapidă a pacientului la restaurările protetice mobile totale.

Discuții

Ideea de a utiliza fonația în modelarea marginală a amprentelor funcționale nu este nouă.

Din analiza tehnicilor de amprentare fonetică, se remarcă însă diferențe între tehnicile fonetice descrise în literatura de specialitate (1., 2., 3.) și metoda fonetică elaborată în acest studiu, referitor la următoarele elemente:

- folosirea unei portamprente individuale (P.A.I.);
- adaptarea P.A.I.;
- mișcările de modelare marginală;
- presiunea exercitată în timpul amprentării;
- utilizarea unuia sau mai multor materiale.

Datele asupra punctelor consemnate sunt înscrise în tabelul următor:

Studiu comparativ asupra tehnicilor de amprentare fonetică

Nr. crt	Autorul	Lejoyeux	Devin	Metoda experimentată în acest studiu
1.	Principiul	Amprentă mucodinamică – <i>metodele cu gura închisă, cu gura deschisă și teste fonetice</i>	Amprentă mucodinamică	<i>Amprentă mucodinamică cu gura deschisă</i>

2.	Portamprenta individuală (P.A.I.)		- realizată din R.A. pe model de studiu foliat cu ceară calibrată 0,8-1 mm; - prevăzută cu borduri de ocluzie – Stents; - adaptată la 1,5 mm de linia de reflexie a mucoasei; - înregistrarea D.V.O. și R.C cu P.A.I.	- realizată din R.A. ; - prevăzute cu borduri de ocluzie din Stents; - închiderea marginală – Kerr; - adaptate la 2 mm de linia de reflexie a mucoasei; - înregistrarea D.V.O. și R.C cu P.A.I.	-P.A.I. din R.A. cu grosime marginală dirijată; -realizate pe model de studiu foliat selectiv; -adaptare – prin teste fonetice și dinamice; -închiderea marginală cu Stents; -decomprimarea zonelor sensibile prin: - butoni de distanțare; - perforații selective.
3.	Materialul de amprentă		- zona de sprijin – pastă Z.O.E. - periferia amprentei – material bucoplastic Adheseal;	Materiale bucoplastice: Adheseal verde – zonele jugale și regiunea sublinguală; Adheseal roșu – în rest;	- siliconi de condensare de 2 consistențe; - siliconi de consistență fluidă în 2 secvențe;
4.	Modelarea marginală	pasiv	masaj – buze, obraji	–	–
		activ	teste dinamice preluate din tehnica Herbst	–	–
		mișcări auto - matizate	teste fonetice: citirea unui text, conversație	-deglutiții; -teste fonetice: - vocale, consoane; - conversație;	Mx: - vocale: A,E,I,O,U în alternanță cu foneme nazale: An, En, In, On, Un; Md: - deglutiții repetate (3-5); - teste fonetice: vocale / foneme Sis, Se, So; Se, Se – Me,Pe,Be;
5.	Presiunea		digitală; ocluzală;	ocluzală – prin intermediul bordurilor de ocluzie a P.A.I.	digitală moderată până la faza de priză a materialului de amprentă

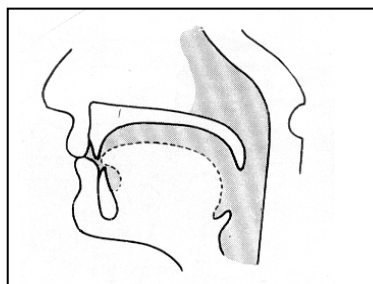


Fig. 15 Poziția vârului palatin în repaus (1)

Analiza ortodiagramelor vocalelor și consoanelor ne-a condus la constatarea că, **dacă se încredințează modelarea marginii posterioare a amprenteii maxilare fonemelor nazale An, On, se va înregistra poziția coborâtă, de repaus a vârului palatin.** (Fig. 15)

Pentru a se asigura permanentizarea închiderii marginale a protezei în zona Ah, în toate pozițiile vârului palatin (dinamice și de repaus) **trebuie surprinsă și înregistrată poziția cea mai ridicată a vârului palatin**, care se obține prin pronunțarea fermă a vocalelor **A, O.** (Fig. 16).

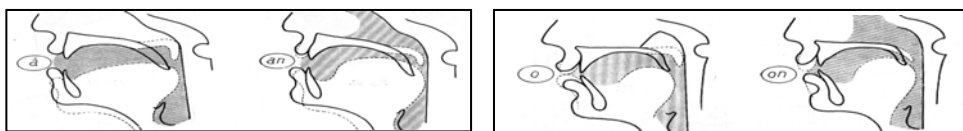


Fig. 16 Poziția organelor articuloare ale A.D.M. comparativ la emisia vocalelor A, O și la emisia vocalelor nazale An, On. (14)

Fiziologic, în timpul emisiei de vocale pur orale, A, O:

- vârul palatului se ridică, ia contact cu peretele posterior al faringelui și închide rinofaringele;
- limba coboară pe planșeul bucal, faringele se deschide larg;
- comunicarea cavității bucale cu faringele este largă.

Suplimentar recomandăm **gravarea modelului preliminar în zona Ah**, și realizarea unei **P.A.I. cu o nervură de acrilat** corespunzătoare șanțului de gravare, care va fi reprodușă la proteza finită. Prin aceasta **se evită:**

- refluarea materialului de amprentă în faringe;
- riscul de a pierde etanșeizarea în zona Ah (chiar dacă în perioada de adaptarea va trebui să diminuăm din grosimea acestei închideri posterioare din cauza unei eventuale leziuni).

Pentru a justifica metoda utilizată, trebuie să se răspundă la următoarele întrebări:

De ce amprenta cu gura deschisă?

- metodele de amprentare cu gura deschisă sunt acceptate de majoritatea practicienilor, întrucât **modelarea marginală se realizează prin antrenarea formațiunilor mobile periprotetice** (frenuri, bride, inserții musculare și ligamentare);
- utilizarea unor **portamprente individuale cu grosime marginală dirijată**, facilitează **conformarea funcțională a marginilor amprenteii** și exploatarea musculaturii periprotetice în scop stabilizator.

Prin comparație:

- **amprentele cu gura închisă**, (realizate cu portamprente individuale prevăzute cu borduri de ocluzie – **1, 2, 3**), **au indicații limitate**, doar la **pacienții activi**, cu potențial de colaborare, acestea prezentând unele neajunsuri cum ar fi :
 - **stabilitatea portamprentelor nu poate fi controlată de medic** când pacientul este cu gura închisă;
 - **modelarea marginală a amprentelor se face prin mișcări limitate** ale buzelor, obrazilor și limbii, rezultând **marginii supraextinse**, care vor determina invariabil leziuni de decubit și desprinderea protezei de pe câmpul protetic;
 - **fidelitatea amprentei poate fi compromisă**, prin deplasarea portamprentei de pe câmp, în timpul etapei de priză a materialului de amprentă.

De ce presiune digitală?

Dozarea în limite fiziologice a presiunii digitale exercitate asupra câmpului protetic în timpul amprentării presupune:

- **exigență și atenție din partea practicianului;**
- **utilizarea unor portamprente individuale** confecționate pe **modele de studiu special pregătite** prin foliere selectivă, butoni de distanțare și orificii, care permit refluarea surplusului de material și decompresia zonelor sensibile.

Prin comparație:

- **dozarea presiunilor** asupra câmpului protetic **prin intermediul bordurilor de ocluzie atașate portamprentelor individuale (1, 2, 3)**, este **dificil de obținut și de verificat**, întrucât nu întotdeauna pacientul conștientizează intensitatea presiunii exercitate;
- **amprentele luate sub presiune ocluzală** sunt contraindicate:
 - în cazul câmpurilor protetice nefavorabile cu creste atrofiate și fibromucoasă puțin aderentă de substratul osos;
 - la **pacienții cu potențial de colaborare redus** (anxioși, nervoși), care pot să imprime bordurilor de ocluzie **presiuni excesive** sau o **centrare eronată a portamprentelor**;
 - la **vechii purtători de proteze**, incorect concepute și neechilibrate ocluzal.

De ce modelarea marginală prin teste fonetice?

- la edentatul total, musculatura ca și componentă dinamică a A.D.M. influențează decisiv terapia prin protezare totală, **rolul ei crescând în măsura în care factorii fizici și anatomici scad în valoare;**
- **modelarea amprentei prin teste fonetice, elimină intervenția activă a mâinilor operatorului și efectele secundare ale acesteia;**
- **utilizarea fonației permite pacientului să-și adapteze limitele viitoare proteze, prin antrenarea musculaturii periprotetice într-o activitate fiziologică proprie, evitându-se orice compresiune și supraextindere a marginilor, cu efecte destabilizatoare; suplimentar, spre deosebire de testele dinamice obișnuite, testele fonetice modelează întreaga circumferință a câmpului protetic, fără discontinuitate;**

- **modelarea marginală a amprentei finale prin teste fonetice, asigură libertate de contracție grupelor musculare cu inserție perpendiculară la nivelul marginilor protezei;**

Concluzii

Metoda utilizată se adresează cu precădere cazurilor clinice de edentație totală în prezența unor câmpuri protetice nefavorabile protezării, cu grade avansate de rezorbție și atrofie a creștelor reziduale.

Folosirea unui protocol ortofonic judicios ales, permite pacientului să-și adapteze limitele viitoarei proteze prin antrenarea musculaturii periprotetice într-o activitate fiziologică proprie.

Transferul modelajului obținut prin amprentarea fonetică la protezele finite este un garant al asigurării menținerii și stabilizării protezei cu implicații în reabilitarea funcțională, estetică și fonetică a pacientului protezat.

Bibliografie

- 1 LEJOYEUX, J., *Proteza totală* - Ed. Med. București 1968
- 2 LEJOYEUX J., LEJOYEUX R.: *Mise en condition tisulaire dans le traitement d'une edentation totale mandibulaire*. Act.Odonto-Stomat. 1992; 177: 69-8
- 3 DEVIN R., *Les caracteres des empreintes phonetiques*. Act. Odonto-Stomat, 1963 ;62 : 211- 225
- 4 KLEIN, P., *Preempreintes dans l'edentation totale*, *Revue D'Odonto-Stomatologie*. 1977 No.1592;
- 5 SCHREINEMAKERS. J., *Die Logik in der Totalprothetik*, Quintessence , Berlin, 1979.
- 6 AICHE, H., *L'empreinte preliminaire fonctionnelle a la mandibule*. Les Questions D'Odonto-Stomatologie 1985, No.37, p.50
- 7 BASKER, R.M., DAVENPORT,J.C., *Prosthetic treatment of edentulous patient* . Fourth Edition Blackwell Munksgaard 2002
- 8 BRATU, D., IEREMIA, L.,URAM-ȚUCULESCU, S., *Bazele clinice și tehnice ale protezării edentației totale*.2003, Ed. Imprimeriei de Vest, Oradea
- 9 DUDEA,D.; *Morfologia funcțională a A.D.M., Note de curs pentru studenții anului I ai facultății de Medicină Dentară*. Editura Medicală, Universitatea "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca 2005
- 10 ENE, L.; *Amprenta în edentația totală*. Ed.Med., București, 1970
- 11 HUE O., BERTERETCHE M.V.: *Les extradados phonetiques en prothese adjointes totale. Roles et realisation cliniques*.Act. Odonto-Stomat, 1992; 177: 179 – 201
- 12 HUTU,E., MIHAELA PAUNA, BOTNAR,V., CONSTANTINESCU,M.V., *Edentația totală-aspecte clinice și de tratament*. Ediția a III-a. Ed Didiactică și Pedagogică R.A. , București 1998
- 13 JOSEPH E. MAKZOME DDS^a: *Morphologic comparison of two neutral zone impression techniques: A pilot study*. School of Dentistry, St-Joseph University, Beirut, Lebanon. Available online 8 December 2004
- 14 OKESON, P.J: *Management of temporomandibular Disorders and Occlusion, third edition*.
- 15 PRELIPCEANU FELICIA, MARIA NEGUCIOIU, DAJBUKAT,F., *Concepții și metode biofuncționale în protezarea edentației totale*, Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1986.

- 16 SANGIUOLO, R., *Propositions pratique d'empreintes pour mandibules edentees totales*. Questions Odonto-Stomato.,1977; 8:21-27.
- 17 SĂBĂDUȘ, I., *Proteza totală-știință, artă și tehnică*. Ed.Dacia Cluj-Napoca 1995
- 18 TAIEB F., CARPENTIER P. : *L'environnement anatomique de protheses completes . Incidence sur la conception des appareils*. Act.Odonto-Stomat 1992 ;177 : 41- 54
- 19 TONDOWSKI, E., *L'empreinte phonetique en protheses totale. Strategie phonetique*. 2004; avril, vol. 4 , nr.2 pag 104-116.

Contributions to phonetic impressions, as a stage in realizing total dentures on inauspicious dental fields

**VOICHITA SĂBĂDUȘ, BORZEA D. , DIANA DUDEA,
MARIANA CONSTANTINIUC, SORANA BACIU, SORINA SAVA**

Summary

Success in treatment of totally edentulous patients is conditioned by the report of the denture with the surrounding muscular and ligamentary systems.

The paper depicts a method of impression, addressed especially to complex clinical cases with inauspicious mandibular dental fields (advanced atrophy of the alveolar ridge or even negative ridge).

Using phonetics in the stage of functional imprint and the transfer of the obtained pattern to the final dentures is contributing to the cancellation or improvements in the effects of the deficiencies of total dentures realized with help of classical methods.

Key words: inauspicious dental fields, totally edentulous patients, phonetic imprints

STUDII ASUPRA STRUCTURII MOLECULARE A UNOR NOI TEREFTALDIAMIDE CU REST DE AMINE SECUNDARE ACICLICE SAU CICLICE PRIN SPECTROMETRIE DE MASĂ

VERONICA AVRIGEANU¹, SILVIA IMRE, ELEONORA MIRCIA

¹Universitatea de Medicină și Farmacie Tg. Mureș, Facultatea de Farmacie

Rezumat

Prin condensarea tereftaloildiclorurii cu amine secundare aciclice (dietilamina, diizopropilamina, diizobutalamina, N – benzilamina, N – fenilmetilamina, difenilamina) și ciclice (pirolidina, piperidina, 4 – metil – piperidina, hexametenimina, morfolina) s-au sintetizat noi tereftaldiamide cu potențială acțiune analgezică. Structura compușilor sintetizați a fost studiată și confirmată prin analiza spectrelor de masă (SM). În toate SM ale tereftaldiamidelor sintetizate se constată prezența ionului molecular, având o abundență relativă mare, iar în SM ale unor compuși acesta este chiar ionul de bază. Identificarea cationului cu $m/z = 77$ sugerează ruperea celor două legături σ dintre nucleul benzenic central și grupele carbonil vecine. Prezența unor ioni de fragmentare cu m/z 56, 42 sau 28, care caracterizează un lanț alifatic de 4, 3 sau 2 atomi de carbon, ne indică ruperea legăturilor σ din nucleele heterociclice sau din resturile hidrocarbonate ale tereftaldiamidelor cu rest de dietilamină, diizopropilamină și diizobutilamină. Analiza picurilor din SM ale compușilor sintetizați ne-a permis recunoașterea ionului molecular și determinarea cu exactitate a greutății moleculare a acestora. Studiul căilor de fragmentare ale ionului molecular ne-a furnizat informații precise asupra structurii moleculare și tăriei legăturilor chimice ale tereftaldiamidelor precum și asupra stabilității și mecanismului de descompunere a ionului molecular. Spectrele de masă ale tereftaldiamidelor au confirmat formulele de structură deduse din ecuațiile reacțiilor chimice de sinteză.

Cuvinte cheie: tereftaldiamide, spectrometrie de masă

Introducere

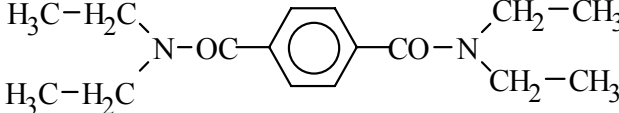
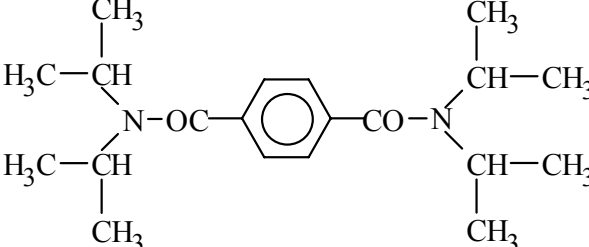
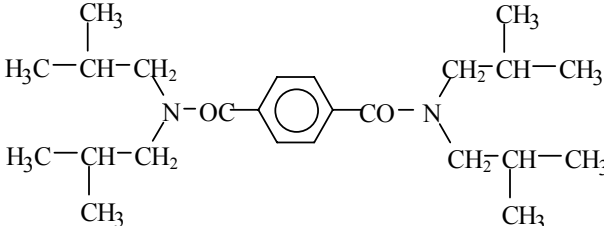
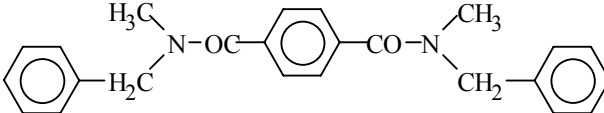
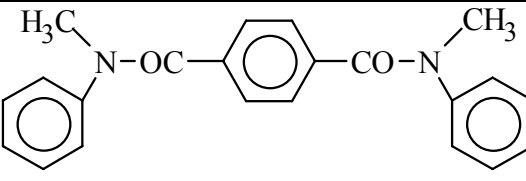
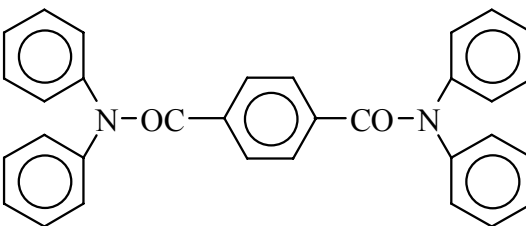
Un obiectiv al programelor de cercetare științifică de mare actualitate îl reprezintă obținerea unor noi compuși cu acțiune analgezică mai selectivă și care să nu prezinte efecte secundare nedorite, caracteristice opioidelor, precum obișnuința și dependența.

Sinteza și studiul proprietăților unor astfel de compuși cu acțiune analgezică, corelarea acțiunii analgezice cu structura moleculară într-o clasă de analogi structurali ai tremorinei, a fost inițiată și dezvoltată, pe parcursul multor ani, de diferiți cercetători sub conducerea D-lui Prof. Dr. Mircea Iovu, Facultatea de Farmacie, UMF “Carol Davila” București [1-3].

Pornind de la premisele oferite de rezultatele acestor cercetări anterioare, ne-am propus sinteza unor tereftaldiamide și testarea lor farmacologică în vederea evidențierii acțiunii analgezice.

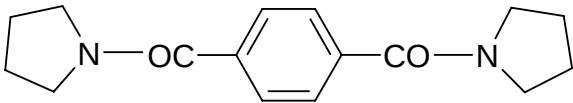
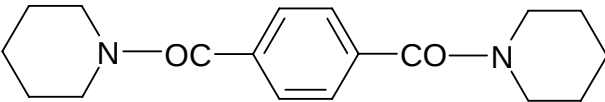
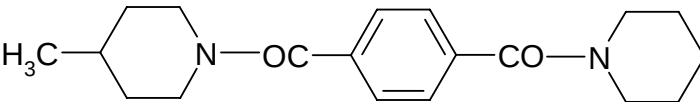
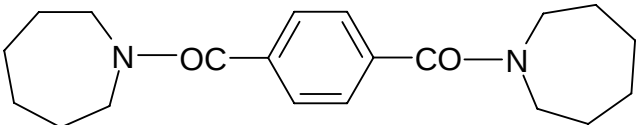
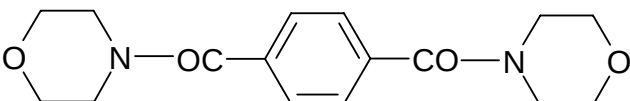
Rezultatele cercetărilor experimentale privind sinteza mai multor serii de tereftaldiamide, caracterizarea lor analitică și spectrală, precum și testarea farmacologică a noilor compuși au fost prezentate în lucrări anterioare [4-10].

Tabelul I Structura, formulele și masele moleculare ale tereftalamidelor disubstituite la azot cu rest de amină secundară aciclică

Compus	Formula de structură și denumirea	Formula și masa moleculară calculată
1.	 N, N, N', N'-Tetraetiltereftaldiamida	$C_{16}H_{24}N_2O_2$ 276,38
2.	 N, N, N', N'-Tetraizopropiltereftaldiamida	$C_{20}H_{32}N_2O_2$ 332,48
3.	 N, N, N', N'-Tetraizobutiltereftaldiamida	$C_{24}H_{40}N_2O_2$ 388,59
4.	 N, N'-Dibenzil-N, N'-dimetiltereftaldiamida	$C_{24}H_{24}N_2O_2$ 372,47
5.	 N, N'-Difenil-N, N'-dimetiltereftaldiamida	$C_{22}H_{20}N_2O_2$ 344,41
6.		$C_{32}H_{24}N_2O_2$ 468,55

Compus	Formula de structură și denumirea	Formula și masa moleculară calculată
	N, N, N', N'-Tetrafeniltereftaldiamida	

Tabelul II Structura, formulele și masele molare ale tereftaldiamidelor cu rest de amină secundară ciclică

Nr. crt.	Formula de structură	Formula moleculară și masa molară
1	 Dipirolidinotereftaldiamida	$C_{16}H_{20}N_2$ O_2 272,18
2	 Dipiperidinotereftaldiamida	$C_{18}H_{24}N_2$ O_2 300,40
3	 Di(4-metilpiperidino)tereftaldiamida	$C_{20}H_{28}N_2$ O_2 328,45
4	 Dihexametileniminotereftaldiamida	$C_{20}H_{28}N_2$ O_2 328,45
5	 Dimorfolinotereftaldiamida	$C_{16}H_{20}N_2$ O_4 304,35

Pentru confirmarea structurilor moleculare ale tereftaldiamidelor sintetizate s-au utilizat metode spectrale consacrate de analiză: IR, UV, H^1 -RMN, SM.

Lucrarea de față prezintă analiza spectrelor de masă ale unor tereftaldiamide cu rest de amine secundare aciclice sau ciclice, analiză care ne-a permis recunoașterea ionului molecular, determinarea maselor moleculare corecte, confirmarea formulelor moleculare.

Ionul molecular M^+ format inițial suferă o serie de fragmentări succesive, fragmentări care depind de structura chimică a compușilor. Studiul căilor de fragmentare ale acestui ion ne-a furnizat dovezi pentru unități structurale existente în moleculele amidelor cercetate, ne-a adus informații asupra tăriei legăturilor chimice și structurii acestora [11-14].

Materiale și metode

Terfetaldiamidele studiate au fost sintetizate prin condensarea tereftaloildiclorurii cu șase amine secundare aciclice (dietilamina, diizopropilamina, diizobutilamina, N-benzilamina, N-fenilamina, difenilamina) și cinci amine secundare ciclice (pirolidina, piperidina, 4-metilpiperidina, hexametenimină, morfolina), iar purificarea amidelor s-a realizat prin recristalizare din amestec benzen-etanol (Tabelele I și II).

Inregistrarea spectrelor de masă (SM) ale tereftaldiamidelor sintetizate s-a efectuat cu un spectrometru de masă de tip MAT-311 cu dublă focalizare, cu geometrie Nier-Johnson inversată, în condițiile: energia electronilor 70 eV, emisia electronică 100 μ A, temperatura sursei de ioni 150 °C. Sursa de ioni și sistemul analizator funcționează în condiții de vid de 10^{-6} torr.

Rezultate și discuții

Analiza spectrelor de masă ale compușilor sintetizați ne-a permis recunoașterea picului molecular și a picurilor de fragmentare, corespunzătoare ionilor rezultați în urma fragmentării ionului molecular, în funcție de structura chimică a tereftaldiamidelor (Tabelele III și IV).

Tabelul III Abundența relativă a ionului molecular și a unor ioni de rupere simplă din spectrele de masă ale tereftaldiamidelor cu rest de amină secundară aciclică

Compus	Tereftaldiamide (TD)	Abundența relativă a ionilor produși (%)						
		$M]^+$	$M+1]^+$	$M-1]^+$	$C_6H_5]^+$	$C_6H_4]^+$	$C_6H_5CO]^+$	$C_6H_4CO]^+$
1	N,N,N',N'-tetraetilTD	44,44	44,83	-	20,83	51,38	41,66	56,94
2	N,N,N',N'-tetraizopropilTD	41,66	11,11	-	54,16	55,55	94,44	84,72
3	N,N,N',N'-tetraizobutilTD	68,49	6,85	-	19,18	28,76	41,09	46,57
4	N,N'-dimetil-N,N'-dibenzilTD	100	-	43,83	32,87	45,20	60,27	50,68
5	N,N'-dimetil-N,N'-difenilTD	95,89	16,43	-	42,46	46,57	30,13	52,05
6	N,N,N',N'-tetrafenilTD	100	6,03	-	27,39	49,31	58,90	75,34

Tabelul IV Abundența relativă a ionului molecular și a unor ioni de rupere simplă din spectrele de masă ale tereftaldiamidelor cu rest de amină secundară ciclică

Compus	Tereftaldiamide (TD)	Abundența relativă a ionilor produși (%)						
		$M]^+$	$M+1]^+$	$M-1]^+$	$C_6H_5]^+$	$C_6H_4]^+$	$C_6H_5CO]^+$	$C_6H_4CO]^+$
1	DipirolidinoTD	52,05	9,58	24,65	15,06	28,76	20,54	53,42
2	DipiperidinoTD	100	4,1	76,71	49,31	68,49	73,97	78,08
3	Di-(4-metil-piperidino)TD	90,41	36,98	100	9,58	16,43	38,35	28,76
4	Di-hexameteniminoTD	71,23	16,43	100	19,17	24,65	57,53	65,75
5	DimorfolinoTD	100	4,1	-	24,65	35,61	31,5	39,72

Informațiile obținute în urma analizei SM ne-au oferit posibilitatea determinării masei moleculare exacte și a formulei moleculare deduse din ecuațiile chimice de sinteză, aprecierii stabilității și modului de descompunere a ionului molecular, aprecierii tăriei legăturilor chimice și confirmării structurii chimice ale tereftaldiamidelor studiate [11-14].

În toate spectrele de masă se constată prezența ionului molecular M^+ , având o abundență relativă mare, iar în SM ale N,N' -dibenzil- N,N' -dimetiltereftaldiamidei, N,N,N',N' -tetrafeniltereftaldiamidei, dipiperidinotereftaldiamidei și dimorfolinotereftaldiamidei este chiar ionul de bază (Figurile 1, 2, 3, 4).

Cationul $M+1]^+$, datorat prezenței în moleculele amidelor a ^{13}C sau ^{15}N , apare în SM cu o abundență relativă scăzută față de ionul de bază.

Prezența cationului $M-1]^+$, rezultat prin pierderea unui atom de hidrogen din ionul molecular, se constată, cu excepția dimorfolinotereftaldiamidei, în toate SM ale amidelor cu rest de amine secundare ciclice, fiind ionul de bază în SM ale di-(4-metilpiperidino)tereftaldiamidei și dihexameteniminotereftaldiamidei. Acest cation este prezent numai în cazul N,N' -dibenzil- N,N' -dimetiltereftaldiamidei, cu o abundență relativă de 43,83% față de ionul de bază (ionul molecular cu $m/z=372$), lipsind din SM ale celorlalte amide cu rest de amine secundare aciclice.

Ionii moleculari pot suferi sub impactul electronic ruperea uneia sau a mai multor legături chimice, în funcție de tăria lor, proces care are drept urmare formarea unor ioni de masă mai mică, ioni de fragmentare.

Formarea ionilor aciliu, cu un randament destul de mare, este una din căile de fragmentare caracteristice amidelor mono- și disubstituite la azot. Astfel se constată, în toate SM cercetate, prezența cationului cu $m/z=105$ ($C_6H_5CO^+$) sau a celui cu $m/z=104$, ioni cu abundență relativă destul de mare în majoritatea tereftaldiamidelor (94,44% în SM al N,N,N',N' -tetraizopropiltereftaldiamidei sau 73,97% în cel al dipiperidinotereftaldiamidei). Cationul aciliu prezent în SM ne indică ruperea legăturilor σ dintre nucleul benzenic central și o grupă carbonil, pe de o parte, și ruperea legăturilor σ dintre cealaltă grupă carbonil și azotul amidic, pe de altă parte.

În toate SM ale tereftaldiamidelor se poate observa și prezența unui ion rezultat în urma ruperii celor două legături σ dintre atomii de carbon ai nucleului benzenic central și grupele carbonil vecine, fapt care duce la formarea cationului $C_6H_5]^+$ cu $m/z=77$ sau a celui cu $m/z=76$ rezultat prin pierderea unui atom de hidrogen din precedentul. O abundență relativă mare a cationului cu $m/z=76$ se constată în SM al N,N,N',N' -tetraizopropiltereftaldiamidei (55,55%) sau în cel al dipiperidinotereftaldiamidei (68,49%).

Cationul cu $m/z=76$ ($C_6H_4^+$) ar putea rezulta și prin ruperea celor două legături σ de o parte și de alta a nucleului benzenic central. Această afirmație se bazează pe observația că acești ioni apar în SM ale tereftaldiamidelor cu rest de amine secundare alifactice (dietilamină, diizopropilamină, diizobutilamină) și în cele cu rest de amine secundare ciclice.

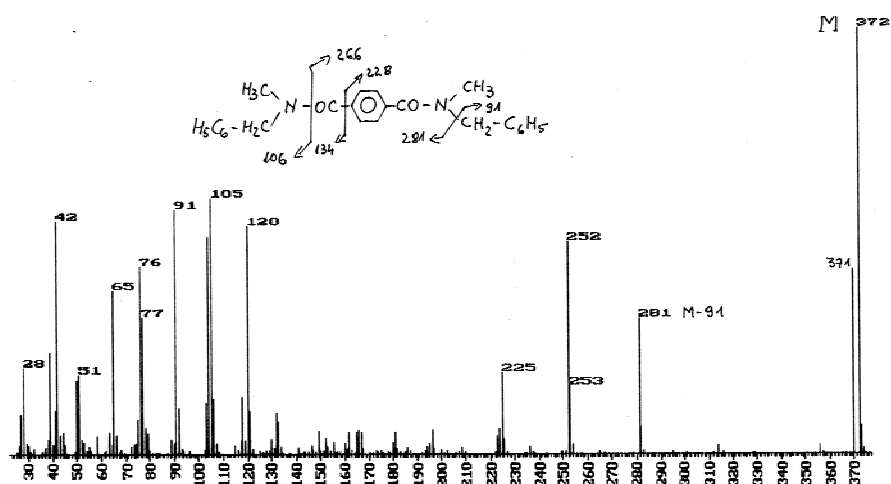
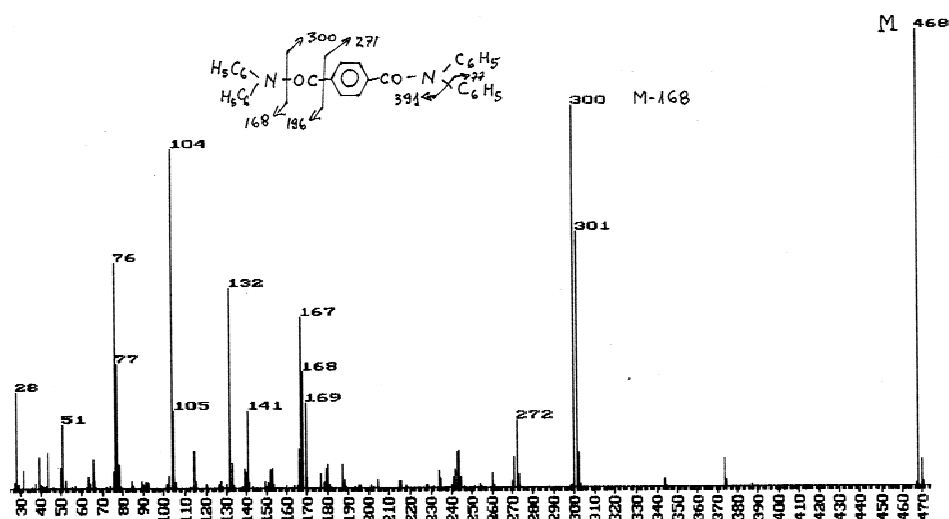
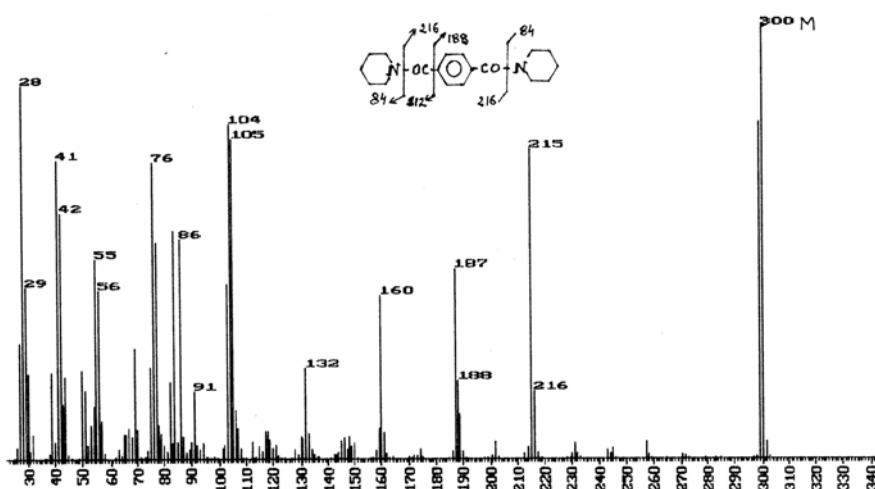
Fig.1. Spectrul de masă al *N,N'*-dibenzil-*N,N'*-dimetiltereftaldiamideiFig.2. Spectrul de masă al *N,N,N',N'*-tetrafeniltereftaldiamidei

Fig.3. Spectrul de masă al dipiperidinotereftaldiamidei

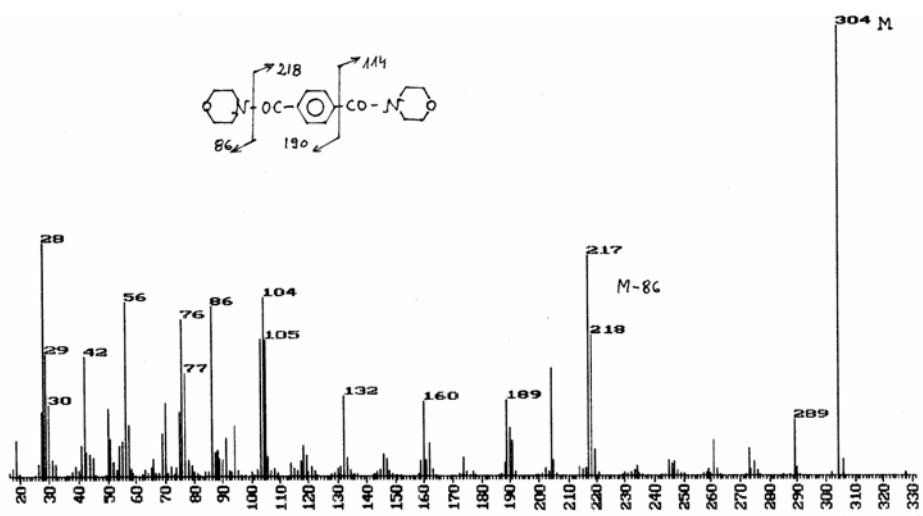


Fig.4. Spectrul de masă al dimorfolinotereftaldiamidei

În SM ale N,N'-dibenzil-N,N'-dimetiltereftaldiamidei și N,N'-difenil-N,N'-dimetiltereftaldiamidei, se observă prezența picului M-120 ($m/z=252$) și respectiv M-106 ($m/z=238$) cu abundență relativă destul de mare (49,31% și 100%). Acești ioni provin în urma scindării legăturii σ dintre azotul amidic și o grupă carbonil. Din același motiv, în SM ale tereftaldiamidelor cu rest de dietilamină, diizopropilamină și diizobutilamină apar picurile corespunzătoare ionilor M-72, M-100 și M-128 (abundență relativă 31,94%, 100% și, respectiv, 100%).

Ruperea acestor legături σ dintre azotul amidic și o grupă carbonil are loc și în cazul tereftaldiamidelor cu rest de amine secundare ciclice și conduce la apariția picurilor M-70 (16,44%), M-84 (16,44%), M-98 (78,08%) și M-86 (32,88%) în cazul tereftaldiamidelor cu rest de pirolidină, piperidină, 4-metilpiperidină, hexametenimină și, respectiv, morfolină.

În spectrele de masă ale tereftaldiamidelor cu rest de dietilamină, diizopropilamină și diizobutilamină se evidențiază prezența ionilor M-29 (25%), M-43 (45,20%) și, respectiv, M-57 (12,32%) care dovedesc ruperea legăturilor σ dintre azotul amidic și radicalii alchil din resturile aminelor alifactice respective. Tot la aceste amide se observă în spectre și picurile cu $m/z=56$, $m/z=42$ sau $m/z=28$, care caracterizează prezența unui lanț alifatic de 4, 3 sau 2 atomi de carbon, ioni proveniți în urma ruperii legăturilor σ dintre atomii de carbon ai resturilor hidrocarbonate ale acestor amide. Acești ultimi cationi se regăsesc în toate SM ale tereftaldiamidelor cu resturi de amine secundare ciclice fapt care ne sugerează ruperea legăturilor σ din nucleele heterociclice și eliminarea unor astfel de fragmente. Cationul cu $m/z=28$ are abundențe relative destul de mari în SM ale dipiperidinotereftaldiamidei (61,64%) și dimorfolinotereftaldiamidei (86,30%).

Este posibil ca ionii de fragmentare să sufere la rândul lor fragmentări succesive ducând astfel la fragmente mai mici. Unul dintre cele mai simple moduri de scindare a unui ion de fragmentare constă în eliminarea unei molecule neutre prin ruperea unei singure legături. Aceste fragmentări sunt favorizate, pe de o parte, de stabilitatea moleculelor neutre eliminate și, pe de altă parte, de stabilitatea ionilor formați. Eliminarea oxidului de carbon constituie o fragmentare des întâlnită în cazul compușilor care conțin o grupare carbonil în moleculă. Totodată, rearanjarea ionilor de fragmentare este însoțită și de formarea unor molecule ca, de exemplu, CO, H₂O, CH₂=CH₂, NH₃, HCN, etc. Aceste molecule ar putea explica de exemplu, prezența

picului cu $m/z=18$ în spectrele de masă ale N,N,N',N'-tetraizobutiltereftaldiamidei (13,69%) și di-(4-metilpiperidino)tereftaldiamidei (19,17%) și, de asemenea, prezența picului cu $m/z=28$ (CO^+) în SM ale tereftaldiamidelor cu rest de N-benzilmetilamină (21,92%), N-fenilmetilamină (26,03%), difenilamină (23,29%) și în toate SM ale celor cu rest de amine secundare ciclice (60,27% în dipirolidinotereftaldiamidă sau cu 87,67% abundență relativă în dipiperidinotereftaldiamidă).

Prezența picului cu $m/z=28$ în SM al N,N,N',N'-tetrafeniltereftaldiamidei, care are în structura sa numai resturi benzenice, ne-a permis concluzia că acest ion s-ar datora nu numai ruperii legăturilor σ din lanțurile hidrocarbonate, dar și ruperii legăturilor σ de o parte și de alta a grupelor carbonil din moleculele amidelor cu formarea astfel a moleculei de monoxid de carbon.

Concluzii

- Prin studiul spectrelor de masă ale unor noi tereftaldiamide disubstituite la azot, cu rest de amine secundare aciclice și ciclice, s-au evidențiat în toate cazurile prezența ionilor moleculari M^+ , în conformitate cu formulele moleculare ale tereftaldiamidelor, deduse din reacțiile chimice de sinteză ale acestora.
- Prezența în spectrele de masă a unor ioni de fragmentare, ca urmare a ruperii unor legături chimice, ca de exemplu a ionilor rezultați în urma scindării legăturilor σ de o parte și de alta a nucleului benzenic central, de o parte și de alta a grupelor carbonil, cu eliminarea moleculelor de monoxid de carbon dintre azotul amidic și grupa carbonil, sau a legăturilor σ dintre atomii de carbon din nucleele heterociclice sau lanțurile hidrocarbonate din resturile de amine alifactice, cu eliminarea de fragmente care caracterizează prezența unor lanțuri alifactice de 4, 3 sau 2 atomi de carbon, alături de recunoașterea ionului molecular, au adus dovezi asupra formulei de structură a tereftaldiamidelor cercetate, precum și a modului de fragmentare a ionului molecular.

Bibliografie

1. BALOCH A.W: *Noi compuși cu acțiune analgezică*, Teză de doctorat, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București, 1977.
2. KANDOLO B.: *α -(N-amino), α' -(N-lactamo) xileni*, Teză de doctorat, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București, 1983.
3. AVRIGEANU V.: *Tereftaldiamide*, Teză de doctorat, Universitatea București, 1998.
4. AVRIGEANU V., IOVU M., CUCUIET S., MONEA M.: *Sinteza și studiul acțiunii analgezice a unor noi tereftaldiamide*, Farmacia, 2002, L(2), 21-28.
5. AVRIGEANU V.: *Sinteze în clasa tereftaldiamidelor. I. Sinteza unor tereftaldiamide disubstituite la azot*, Farmacia, 2002, L(2), 29-33.
6. AVRIGEANU V.: *Sinteze în clasa tereftaldiamidelor. II. Sinteza unor tereftaldiamide cu rest de amină secundară ciclică*, Farmacia, 2004, LII(3), 23-27.
7. AVRIGEANU V., IOVU M.: *Cercetări spectrale în clasa tereftaldiamidelor. I. Studiul spectral RMN al unor tereftaldiamide disubstituite la azot*, Clujul Medical, 2002, LXXV(2), 275-279.
8. AVRIGEANU V.: *Cercetări spectrale în clasa tereftaldiamidelor. III. Studiul spectral în IR și UV al unor tereftaldiamide disubstituite la azot*, Clujul Medical, 2002, LXXV(4), 695-699.
9. AVRIGEANU V., MUNTEAN D., IMRE S.: *Cercetări spectrale în clasa tereftaldiamidelor. IV. Studiul spectral în IR și UV al unor tereftaldiamide cu rest de amină secundară ciclică*, Clujul Medical, 2004, LXXVII(1), 152-156.

10. AVRIGEANU V.: *Cercetări spectrale în clasa tereftaldiamidelor.V. Studiul spectral RMN al unor tereftaldiamide cu rest de amină secundară ciclică*, Clujul Medical, 2005, LXXVIII(1), 170-174.
11. AVRIGEANU V., CULEA M.: *Cercetări spectrale în clasa tereftaldiamidelor. II. Studiul spectrelor de masă ale unor tereftaldiamide disubstituie la azot*, Clujul Medical, 2002, LXXV(3), 517-521.
12. BOJITA M., ROMAN L., SANDULESCU R., OPREAN R.: *Analiza și controlul medicamentelor. Vol. 2. Metode instrumentale în analiza și controlul medicamentelor*, Editura Intelcredo Deva, 2003, 445-488.
13. OPREAN I.: *Spectrometria de masă a compușilor organici*, Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1974, 45-220.
14. BANCUI M.D., SARAMEI I.: *Hidrocarburi. Partea II. Metode spectrometrice utilizate în caracterizarea compușilor organici*, Editura Tehnoplast Company, București, 1997, 503-513.

Mass spectrometry study of some terephthaldiamides with acyclic and cyclic aminic rests

VERONICA AVRIGEANU, SILVIA IMRE, ELEONORA MIRCIA,

Summary

By condensation of terephthaloyldichloride with secondary acyclic (diethylamine, diisopropylamine, diisobutylamine, N-benzylmethylamine, N-phenylmethylamine, diphenylamine) and cyclic (pyrrolidine, piperidine, 4-methylpiperidine, hexamethylenimine, morpholine) amines, new terephthaldiamides with potential analgetical action were obtained. The structures of the compounds were studied and confirmed by mass spectrometry. The molecular ion with high relative abundance was present in spectra and, in some cases, was the basic ion. A fragment with m/z 77 suggested the cleavage of σ bond between the benzene ring and the carbonyl groups. The presence of the fragmentation ions with m/z 56, 42 and 28 is related to heterocyclic or diethylamine, diisopropylamine and diisobutylamine rests. The molecular structure, the strength of the chemical bounds, and the fragmentation pathways of the obtained terephthaldiamides were finally assessed.

Keywords: terephthaldiamides, mass spectrometry

DETERMINATION OF CAFFEINE FROM INSTANT COFFEE AND CAPPUCCINO BY LIQUID CHROMATOGRAPHY – MASS SPECTROMETRY

LORENA FILIP¹, L. VLASE², IOANA MÎNDRUȚĂU³, DOINA MIERE¹, DANIELA HANGANU⁴

Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy “Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca

¹Department of Environmental Chemistry

²Department of Pharmaceutical Technology and Biopharmaceutics

³Department of Physical Chemistry.

⁴Department of Phytotherapy

Summary

This paper describes the application of a high performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS) method for rapid analysis of caffeine from different brands of instant coffee and cappuccino. Caffeine is an alkaloid naturally found in coffee beans, green tea and cola nuts. Some soft drinks contain it, including instant coffee and cappuccino. The developed method utilises a Zorbax SB-C18, 100 mm x 3.0 mm i.d., 3.5 μ m column, with a mobile phase containing methanol : 0.2% formic acid in water. Detection and quantification of caffeine was carried out by monitoring the protonated molecular abundance (m/z 194.9). The quantification was made using the external standard method. The calibration curves were in range of 0.26-26 μ g/ml for caffeine with a determination coefficient greater than 0.995 for all compounds.

Keywords: caffeine, LC/MS, instant coffee, cappuccino.

Introduction

Coffee is one of the most widely consumed beverages in the world. It is prepared from the roasted seeds, commonly referred to as beans, of the coffee plant. Coffee is considered as the most popular processed beverage, with over one third of the world's population consuming it in some form. Instant coffee and cappuccino are among the most frequently-drunk coffee beverages. Instant coffee is a beverage derived from brewed coffee beans, which are transformed through various manufacturing processes into the form of powder or granules. The advantages of instant coffee are speed of preparation, reduced weight and volume, and long shelf life. Cappuccino is a large Italian beverage prepared with espresso, hot milk and milk foam¹.

Caffeine (1,3,7-trimethylxanthine) (Figure 1) is a naturally occurring substance and the world's primary source of caffeine is the coffee bean (the seed of the coffee plant), from which coffee is brewed. Caffeine represents a pharmacologically active substance and can be, depending on the dose, a central nervous system stimulant, a weak bronchodilator, a diuretic and a cardiac muscle stimulant².

Methods for determination of xanthines usually involve the use of HPLC methods³. This paper describes the results of caffeine quantification using a simple LC/ESI-MS technique.

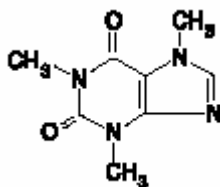


Fig. 1. Chemical structure of caffeine

Materials and method

Chemicals

Caffeine was purchased from Sigma-Aldrich Germany. Methanol and formic acid 98% were from Merck KGaA (Darmstadt, Germany).

Apparatus and chromatographic conditions

The concentration of caffeine was determined using a LC/MS analytical method. An Agilent 1100 Series (Agilent, USA) chromatographic system was used coupled with an 1100 LC/MSD Ion Trap detector (Agilent, SUA). The analytical column was a Zorbax SB-C18, 100 mm x 3.0 mm i.d., 3.5 μ m, (Agilent, USA) with an on-line filter (0.2 μ m). The mobile phase was a mixture 24:76 (v/v) of methanol: 0.2% formic acid in water. The flow rate was 0.6 ml/min and the injection volume of 5 μ l. The mass analyser was operated with an ESI source, in positive ion mode. For caffeine, the quantification was made by measuring the protonated molecular ion $[M+H]^+$ at m/z 194.9.

Standard solutions

Stock solution of caffeine (1-2 mg/ml) was obtained by dissolving corresponding compounds in methanol. Standard solutions (7 concentrations) were obtained by diluting appropriate volumes of stock solution with bidistilled water.

Sample preparation

A set of 7 samples of commercially available instant coffee and 11 samples of different brands of cappuccino were selected for the study. Because of detection specificity due to MS detector, the sample preparation was reduced to a simple extraction of caffeine with boiled water and dilution of this solution. About 150 mg of instant coffee and 300 mg of cappuccino were extracted for 10 min with 15 ml boiled water. The volume was adjusted to 25 ml and then 0.1 ml from this solution were diluted to 5 ml. 5 μ l from final solution was injected into LC/MS system.

Results and discussions

Caffeine was identified in all samples by comparing its retention time with that of caffeine in standard solutions. Under the above mentioned operating conditions the retention time for caffeine was 2.75 min, as shown in a chromatogram of an instant coffee sample (Figure 2).

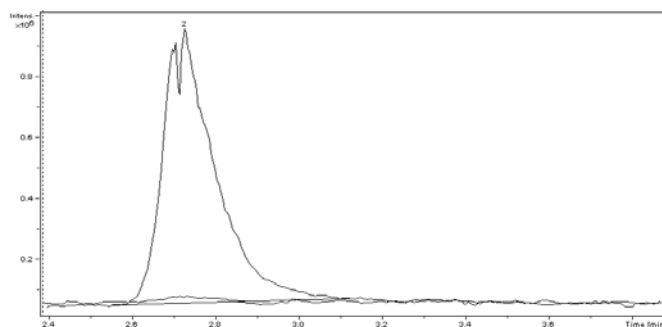


Fig. 2. Chromatogram of an instant coffee sample

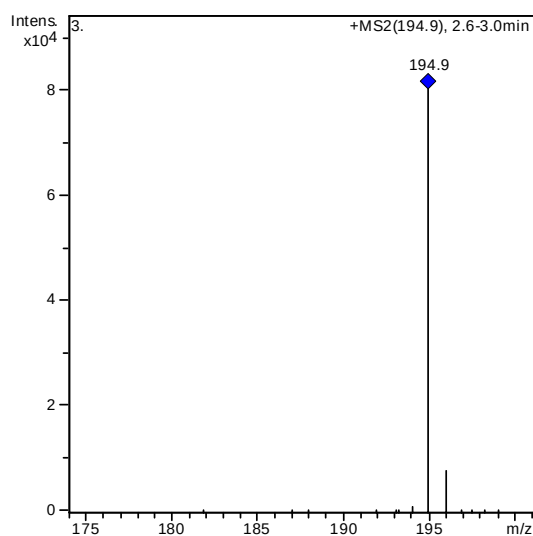


Fig. 3. Electrospray positive ion MS spectra for caffeine.

The caffeine content in all samples was determined on the basis of the calibration curve obtained by applying the proposed method. The standard curve was prepared over 7 different concentrations in the range 0.26-26 µg/ml for caffeine. Peak areas were plotted against the corresponding concentrations using a quadratic model with a 1/Y weighting scheme in order to generate the calibration curve (determination coefficients are greater than 0.995).

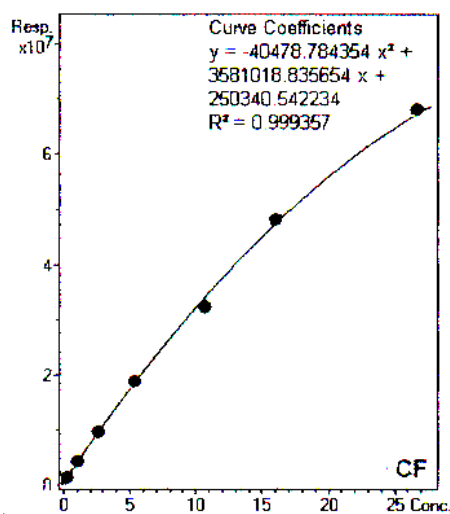


Fig. 4. The calibration curve for caffeine.

The developed HPLC/MS method was then used for quantification of caffeine in 7 instant coffee samples and 11 cappuccino samples that are frequently consumed by Romanian people. The results in Table I show that the concentration of caffeine in the instant coffee samples is between 3.277 and 4.753 g%, while in the cappuccino samples the content in caffeine is much smaller, between 0.013 and 0.605 g%. These results are in accordance with the dose of caffeine estimated for each beverage based on the usual volume dispensed, which is of 65-100 mg caffeine per serving of instant coffee and of 0,002-0,080 g caffeine per serving of cappuccino⁴.

Table I. Caffeine concentration in instant coffee and cappuccino samples

	Product name	Producer	Caffeine g%
	Instant coffee		
1	Amigo-soluvel	Amigo- Brazil	3.376
2	Elita instant coffee red	Elite Industries Israel	4.753
3	Elita instant coffee green	Elite Industries Israel	4.276
4	Mocca-gold sol.-Alka	Alka-Romania	3.731
5	Nescafe Brasero	Nestle France	4.620
6	Nescafe Classic	Nestle Brazil	3.634
7	Davidoff-instant coffee	Tchibo GmbH Germany	3.277
8	Jacobs 3 in 1	Supreme Imex- Bucuresti	0.470
9	La Festa 3 in 1	Maspex Polonia	0.356
10	La Festa 3 in 1 Latte	Maspex Polonia	0.078
11	La Festa 3 in 1 Mocca	Maspex Polonia	0.372
	Cappuccino		
1	Jacobs cappuccino classic	Supreme Imex- Bucuresti	0.364
2	Elite cappuccino classic	Elite Romania-Bucuresti	0.490
3	Elite cappuccino vanilla	Elite Romania-Bucuresti	0.605
4	Elite cappuccino peanuts	Elite Romania-Bucuresti	0.406
5	La Festa cappuccino.orig.clasic	Maspex Polonia	0.016
6	La Festa cappuccino Jamaica rum	Maspex Polonia	0.017
7	La Festa cappuccino Royal nutto	Maspex Polonia	0.013

Conclusions

A rapid and simple LC/MS method was elaborated, that proved to be suitable for quantification of caffeine in different brands of instant coffee and cappuccino. The developed method can be successfully used for fast and accurate determinations of caffeine in coffee, especially because of the performance of detection technique, which provides a very short time of analyze.

References

1. GALASKO GTF, FURMAN KI, ALBERTS E: The caffeine content of non-alcoholic beverages, *Food Chem.Toxicol.*, 1989: (27), 49 – 51.
2. POPA D.S. : *Curs de toxicologie pentru studenții colegiului de tehnicieni de farmacie* ,Ed. Medicala Universitara "Iuliu Hatieganu", Cluj-Napoca, 2004, 118-120.
3. NAKASHIMA K, INOUE K, MAYAHARA K et al.:Use of 3-(1,8-naphthalimido)propyl-modified silyl silica gel as a stationary phase for the high-performance liquid chromatographic separation of purine derivatives, *J.Chromatogr.A*, 1996: 107 - 113.
4. GOLDBERGER BA, LESSIG MC, MCCUSKER RR, CONE EJ, GOLD MS: Evaluation of Current Caffeine Content of Coffee Beverages: Recommendations for Clinicians Regarding Caffeine Exposure, *Biol. Psychiatry* 53, 2003: 570.

Determinarea cafeiniei din cafea cafea solubila si capuccino prin metoda LC/MS

LORENA FILIP, L. VLASE, IOANA MÎNDRUȚĂU, DOINA MIERE, DANIELA HANGANU

Rezumat

A fost elaborata o metodă cromatografică de lichide de înaltă performanță cuplată cu spectrometria de masa (LC/MS) pentru determinarea cafeinei din diferite tipuri de cafea solubilă și capuccino. Cafeina este un alcaloid natural care se găsește în boabele de cafea, ceaiul verde și nucile de cola. Printre băuturile ce conțin cafeina se numără și sortimentele de cafea solubilă și capuccino. S-a utilizat o coloană Zorbax SB-C18, 100 mm x 3.0 mm i.d., 3.5 μm și o fază mobilă conținând metanol/ soluție 0.2% acid formic în apă. Detecția și cuantificarea cafeinei s-a realizat prin monitorizarea ionilor moleculelor protonate (m/z 194.9). Cuantificarea s-a făcut utilizând metoda standardului extern. Curba de calibrare s-a realizat în intervalul 0.26-26 μg/ml pentru cafeina, cu un coeficient de corelare mai mare decât 0.995.

Cuvinte cheie: Cafeina, LC/MS, cafea instant, capuccino

STUDIU PRIVIND ACHIZIȚIA MEDICAMENTELOR ÎN SPITALELE PUBLICE

C. MORGovan¹, C. POLINICENCU¹, STELIANA GHIBU¹,
DIANA TĂNASE²

¹U.M.F. "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca – Facultatea de Farmacie

²U.M.F. "Gr. T. Popa" Iași – Facultatea de Farmacie

Rezumat

Achiziția publică a medicamentelor prin sistemul de licitații electronice s-a introdus în România în anul 2002, iar prin sistemul de licitații naționale în anul 2003. În lucrarea de față, s-a analizat perioada 2003-2005, în care au fost organizate licitațiile naționale pentru achiziția medicamentelor incluse în subprogramele naționale de sănătate, pentru achiziția medicamentelor necesare spitalelor publice în anul 2004, și licitațiile electronice locale. Au fost identificate principalele avantaje și dezavantaje ale acestor tipuri de licitații.

Cuvinte cheie: achiziție de medicamente, spital, e-licitație

Introducere

Spitalele publice, conform legislației în vigoare [1, 2], pot fi și institute și centre medicale, sanatorii, preventorii, centre de sănătate și unități de asistență medico-sociale. Acestea pot să-și achiziționeze medicamentele și materialele sanitare doar prin **licitație publică**.

Licitările publice pot fi organizate la nivel național sau local [3-6]. Pot participa la licitații distribuitori autorizați de medicamente și materiale sanitare, care îndeplinesc cerințele solicitate de autoritățile contractante (eligibilitate, solvabilitate, experiență similară, capacitate tehnică și financiară etc.).

Licitările naționale au fost organizate de către Ministerul Sănătății (MS) și Casa Națională a Asigurărilor de Sănătate (CNAS) pentru achiziționarea de:

- medicamente și materiale sanitare necesare tratamentului bolilor cronice incluse în subprogramele naționale de sănătate: diabet, TBC, nefrologie-dializă, HIV/SIDA, psihiatrie, oncologie etc.;
- medicamente necesare spitalelor publice în perioada 01.07.2004 – 31.07.2005, pentru care nu s-au mai organizat licitații locale.

Licitările locale în perioada 2003 – 2005, au fost organizate de către Direcțiile de Sănătate Publică (DSP) sau spitalele publice interesate pentru achiziționarea de medicamente, materiale sanitare, aparatură și reactivi de laborator, lapte praf pentru copii etc.

Procedurile prin care se fac achizițiile publice reglementate prin lege sunt următoarele[3-6]:

- a. licitație deschisă, inclusiv prin sistemul electronic de achiziții publice;
- b. licitație restrânsă – presupune selectarea într-o primă etapă a unui număr de 5-20 ofertanți;
- c. negociere, care poate fi:

- negociere competitivă (cu mai mulți furnizori);
 - negociere cu o singură sursă – modalitate rapidă de achiziție ce se aplică doar în situația în care pentru medicamentul solicitat există o singură Autorizație de Punere pe Piață și un distribuitor unic;
- d. cerere de ofertă – metodă rapidă și flexibilă ce necesită compararea a minimum 5 oferte.

Principiile care stau la baza tuturor achizițiilor publice, conform legislației în vigoare sunt: *libera concurență, eficientizarea utilizării fondurilor publice și folosirea sistemului concurențial pentru atribuirea contractelor, transparența, tratamentul egal și confidențialitatea*. [1, 4]

În cadrul licitațiilor se respectă următoarele reguli:

Atribuirea produselor se poate face pe baza următoarelor criterii: oferta cea mai avantajoasă din punct de vedere tehnic-economic sau în mod exclusiv pe baza criteriului economic, când adjudecarea se face în favoarea produselor cu prețul cel mai mic.

Contractele de achiziții se încheie în minim 2 exemplare (cel puțin câte unul pentru fiecare parte). În întocmirea contractelor trebuie urmărite cu atenție următoarele aspecte:

- produsele (DCI, denumire comercială, concentrație, unitate terapeutică, formă farmaceutică, formă de prezentare), prețurile și cantitățile contractate;
- durata de valabilitate a contractului;
- condițiile de transport și modalitățile de furnizare;
- modalitățile de plată (termen de plată, penalizări percepute).

Lucrarea își propune să analizeze modul în care s-au făcut achizițiile publice de medicamente în unitățile bugetare cu paturi, în perioada 2003-2005.

Materiale și metode

Materialele studiate au fost actele normative privind achizițiile publice din perioada 2003-2005 [1-9], rezultatele achizițiilor electronice de medicamente din perioada 2003-2005 [10], ale achizițiilor medicamentelor incluse în subprogramele naționale de sănătate [11-16], și ale achiziției medicamentelor necesare în unitățile sanitare cu paturi din anul 2004 [11,12,16-18], dar și rapoartele CNAS. [13, 14]

A fost analizat și sistemul electronic de achiziții publice „e-market”, ca metodă modernă de achiziție. Acesta este un model de comerț prin care un produs poate fi oferit unui consumator de către mai mulți furnizori, câștigător fiind cel care are prețul cel mai mic. Este un sistem electronic deschis pe site-ul www.e-licitatie.ro. [7-10]

Ca metode de studiu s-au utilizat metoda comparativă și analiza logico-rațională. [19]

Rezultate

1. Licitațiile naționale pentru subprogramele naționale de sănătate

Achiziția centralizată a medicamentelor destinate tratamentului bolilor cronice incluse în subprogramele naționale de sănătate a început în anul 2003, pentru: TBC, nefrologie-dializă. În cursul anului 2004, au fost organizate noi licitații pentru: diabet, TBC, nefrologie-dializă, HIV/SIDA, psihiatrie. Licitațiile din 2004 au fost organizate de către MS și CNAS, prin procedură de achiziție publică deschisă în sistemul electronic. [10] Aceste subprograme s-au derulat și în anul 2005, în baza rezultatelor licitațiilor din 2004.

Fondurile alocate pentru subprogramele de sănătate [11-13, 20] în perioada 2003-2005 au fost:

- 6.559,3 miliarde ROL în 2003
- 7.471,2 miliarde ROL în 2004

- 8.001,6 miliarde ROL în 2005.

În tabelul nr. I sunt prezentate fondurile alocate pentru principalele subprograme naționale de sănătate.

Tabelul nr. I. Principalele subprograme naționale de sănătate în anii 2004 și 2005, fondurile alocate, numărul de produse adjudecate și distribuitorii implicați [10,12-16]

<i>Subprogram</i>	<i>Fonduri alocate în 2004 (milioane ROL)</i>	<i>Fonduri alocate în 2005 (milioane ROL)</i>	<i>Nr. produse</i>	<i>Nr. distribuitori</i>
HIV/SIDA	982	1.038,5	68	8
TBC	87,9	125,0	23	6
Psihiatrie	92,6		15	6
Diabet	1.779,7	1.800,0	63	8
Oncologie	2.000	2.100,0	92	4
Nefrologie Dializă	1.665,1	1.794,3	132	9
TOTAL	6.607,3	6.857,8	393	41

Numărul produselor adjudecate la licitațiile din 2004 pentru fiecare distribuitor sunt prezentate în tabelul nr. II.

Tabelul nr. II. Distribuitorii câștigători pentru subprogramele de sănătate din 2004 și numărul produselor câștigate [10, 12-15]

<i>Nr. crt.</i>	<i>Furnizor</i>	<i>Subprogram național</i>						<i>Total produse</i>
		<i>HIV/SIDA</i>	<i>TBC</i>	<i>Oncologie</i>	<i>Diabet</i>	<i>Psihiatrie</i>	<i>Nefrologie</i>	
1.	Phoenixmed	0	0	0	0	0	1	1
2.	B Braun	0	0	0	0	0	2	2
3.	Farmexim	3	0	0	0	0	0	3
4.	Fildas	0	0	0	2	1	0	3
5.	Montero	0	0	0	0	4	0	4
6.	Sibofarm	4	0	0	0	0	0	4
7.	Europharm	3	2	0	1	0	2	8
8.	Alsifcom	0	0	0	0	0	14	14
9.	Farmexpert	9	2	1	1	1	0	14
10.	Mediplus	0	4	0	4	6	0	14
11.	A&A Medical	5	10	0	10	0	2	27
12.	Fresenius	0	0	0	0	0	39	39
13.	Relad	31	1	5	3	2	0	42
14.	Sof Medica*	0	0	0	0	0	42	42
15.	Dita	10	4	24	5	1	0	44
16.	Polisano	3	0	0	37	0	16	56
17.	Sindan	0	0	62	0	0	14	76
Total produse		68	23	92	63	15	132	393

* doar produse parafarmaceutice

2. Licitarea națională pentru achiziția medicamentelor necesare spitalelor publice

Din bugetul alocat Ministerului Sănătății, pentru achiziția medicamentelor necesare spitalelor publice au fost repartizate următoarele fonduri:

- 5.671 miliarde ROL în 2003
- 6.379,8 miliarde ROL în 2004
- 6.902,9 miliarde ROL în 2005. [11, 20]

Acest sistem, introdus începând cu iulie 2004, a permis procurarea centralizată a tuturor medicamentelor utilizate în spitale. Contractele cu furnizorii au fost încheiate inițial până la data de 30.04.2005, ulterior termenul fiind prelungit până la 31.07.2005. După această dată, licitația nu s-a mai organizat la nivel național, fiecare spital alegându-și propriul mod de achiziție a medicamentelor, prin respectarea legislației în vigoare.[17]

Licitarea a fost organizată pentru un număr de 573 medicamente. Au fost adjudecate în două etape, doar 444 dintre ele [17, 18]. Necesarul de produse pentru licitația națională a fost obținut prin centralizarea consumurilor medii lunare ale tuturor unităților sanitare. Valoarea medicamentelor pentru perioada inițială de contractare (10 luni) a fost de peste 2.800 miliarde ROL. [17, 18]

Distribuitorii câștigători și numărul produselor adjudecate fiecăruia dintre aceștia sunt prezentate în fig. 1.

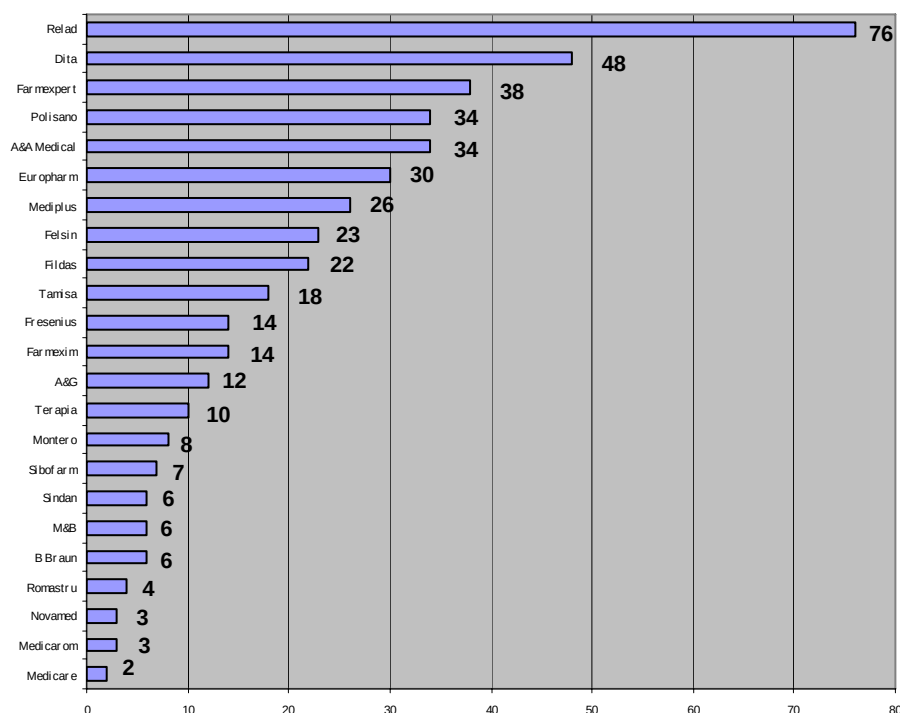


Fig. 1. Distribuitorii de medicamente câștigători la licitația națională din 2004 și numărul medicamentelor adjudecate [17, 18]

3. Licitările electronice locale pentru achiziția medicamentelor și materialelor sanitare pentru DSP și unitățile sanitare

Principalele date referitoare la licitațiile electronice locale organizate pentru achiziția medicamentelor, reactivilor, aparatelor, produselor medicale și a laptelui praf de către unitățile sanitare, în 2003-2004, sunt prezentate în tabelul nr. III.

Tabelul nr. III. Date pentru licitațiile electronice de medicamente și materiale sanitare în perioada 2003-2005 [10]

<i>Caracteristică</i>	<i>2003</i>	<i>2004</i>	<i>2005</i>
Nr. categorii produse	19	19	26
Nr. licitații organizate	134.760	98.114	131.216
Nr. unități sanitare organizatoare	~ 405	~ 430	~ 460
Nr. participanți câștigători (distribuitori)	> 200	> 200	> 200
% minim al economiilor realizate	3,45%	4,98%	4,73%
% maxim al economiilor realizate	48,98%	35,8%	39,4%
% mediu al economiilor realizate	21,56%	18,17%	16,41%

În anii 2003-2005 au fost organizate în sistemul „e-market” un număr semnificativ de licitații, la care au participat peste 200 distribuitori. [10]

Dintre companiile farmaceutice cu cele mai multe licitații electronice locale adjudecate în perioada 01.01-31.12.2005 sunt Poliano (6.422), Dita (5.616), A&A Medical (4.781), Interfarm (4.679), Farmaceutica Remedia (4.500), Relad (4.340), Europharm (4.332), Felsin (4.229), companii care se numără printre principalii distribuitori de pe piața spitalelor. [10]

Discuții

Achiziția medicamentelor prin aceste licitații presupune existența unor unități autorizate de MS: producător, importator (facultativ), furnizor, farmacie de spital și a unei documentații standard pentru elaborarea și prezentarea ofertei. [3-6, 21]. Organizarea licitațiilor și decidera câștigătorilor, supervizarea comenzilor, stabilirea bugetelor, emiterea autorizațiilor este făcută de către MS, CNAS, DSP.

Prin licitațiile naționale organizate în anii 2003-2005, s-au stabilit:

- produsele adjudecate (pentru fiecare concentrație a unui DCI s-a stabilit câștigătoare o singură denumire comercială);
- depozitele câștigătoare (fiecare produs a fost adjudecat unui singur distribuitor);
- prețul de achiziție/UT (singurele modificări de preț acceptate s-au efectuat în cazul reducerii prețului medicamentelor). [17, 18, 22]

Avantajele sistemului de licitație electronică:

- inexistența constrângerilor geografice;
- comoditatea și flexibilitatea;
- existența unui număr mare de beneficiari și/sau furnizori (concurență și competiție);
- realizarea unor economii considerabile pentru organizatori.

Dezavantajele sistemului de licitație electronică:

- necesitatea utilizării unei aparaturi performante și a unei conexiuni bune la Internet;
- existența riscului erorilor tehnice (blocarea accesului la Internet);
- existența riscului de eroare umană:
 - produse introduse incorect – categorie greșită, denumire greșită voluntar/involuntar, sugerarea denumirii comerciale sau chiar a producătorului (în afara legalității);
 - caracteristicile neesențiale (precum: formă de prezentare – mărimea sau felul ambalajului; termen de valabilitate etc.) pot avantaja un anumit produs;
 - prețuri de pornire introduse greșit – dacă sunt foarte mari pot determina prețuri de adjudecare ridicate și costuri prea mari pentru spital, iar cele prea mici pot cauza neînscirerea niciunui ofertant și imposibilitatea achiziționării produsului dorit;

- adjudecarea unor produse care nu sunt la nivelul pretențiilor autorității contractante;
- apariția golurilor în aprovizionare datorită:
 - duratei lungi a procesului: 10 zile până la închiderea licitației, alte 15 zile până la finalizarea tranzacției; livrarea medicamentelor sau materialelor sanitare se poate realiza abia după semnarea de către ambele părți a contractului (adică în minim 25 zile);
 - posibilității unor distribuitori neautorizați de către producători de a câștiga licitații pentru anumite produse pe care le obțin prin *compensare sau cumpărare* de la alți distribuitori, neavând posibilitatea furnizării unor cantități mari.

Avantajele licitațiilor naționale sunt:

- pentru achizitor:
 - obținerea unui preț de achiziție mic, prin eliminarea adaosurilor comerciale ale farmaciilor și acordarea unor discounturi considerabile de către distribuitori;
 - centralizare și control mai bun al bugetului;
- pentru furnizor: reducerea termenului de recuperare a banilor și reducerea riscului blocajelor financiare;
- reducerea riscului de „eroare umană” sau „eroare tehnică” care pot apărea în cazul licitațiilor electronice și mai ales în cazul celor clasice, prin favorizarea unui produs sau a unui distribuitor.

Dezavantajele licitațiilor naționale sunt:

- procedură complicată;
- reducerea numărului de „jucători”, în acest sector al pieței farmaceutice;
- reducerea numărului de produse cu același DCI, la unul singur;
- perceperea de penalizări pentru întârzieri în livrarea medicamentelor;
- pacienții cu boli cronice incluse în subprogramele naționale sunt nevoiți să își procure medicamentele dintr-un număr limitat de farmacii;
- apariția golurilor în aprovizionarea farmaciilor și imposibilitatea eliberării medicamentelor către pacienți în orice moment.

Cele mai costisitoare subprograme naționale de sănătate (tabelul nr. I) sunt: oncologie, diabet și nefrologie-dializă. Cu excepția subprogramului TBC, nu au fost creșteri semnificative ale fondurilor alocate în 2005, comparativ cu 2004.

La nivel național, se constată că din multitudinea de distribuitori (tabelul nr. II), doar 17 furnizează medicamente și produse medicale pentru subprogramele naționale prin sistemul de licitație națională. Se observă că 83% din medicamente au fost achiziționate de la 7 furnizori (Sindan, Poliso, Dita, Sof Medica, Relad, Fresenius, A&A Medical) fiecare având adjudecate peste 20 de produse.

Din fig. 1 se constată că doar 23 de distribuitori naționali au furnizat medicamente spitalelor prin sistemul de licitație națională din anul 2004. Cele mai multe medicamente (~65%) sunt distribuite de 7 companii: Relad (76), Dita (48), Farmexpert (38), A&A Medical (34), Poliso (34), Europharm (30), Mediplus (26). Aceasta indică o profilare a unor companii farmaceutice pe sectorul spitalelor.

Distribuitorii care au avut produse adjudecate la ambele tipuri de licitații naționale au fost: Poliso, A&A Medical, Relad, Dita, Sindan, Fresenius etc.

Prin licitația națională din anul 2004 spitalele au achiziționat câte un singur medicament pentru fiecare DCI, fapt care a determinat ca un număr însemnat de produse să nu se mai prescrie și ca urmare să nu se mai comercializeze.

În anul 2004, numărul licitațiilor electronice locale a fost mai mic decât în anul 2003, deoarece majoritatea medicamentelor necesare spitalelor au fost achiziționate prin licitație națională.

În urma acestor achiziții, s-au realizat economii substanțiale (~ 20%) la bugetele unităților sanitare (tabelul nr. III).

Concluzii

În România există mai multe proceduri de achiziție a medicamentelor: **licitații naționale** pentru achiziția medicamentelor în spitale și pentru subprogramele naționale de sănătate și **licitații locale** în special prin sistemul electronic de achiziție (www.e-market.ro).

În cadrul subprogramelor de sănătate au fost organizate licitații în anul 2003 pentru TBC, nefrologie-dializă, iar în anul 2004 pentru TBC, nefrologie-dializă, oncologie, diabet, HIV-SIDA, psihiatrie. În urma licitației din 2004 au fost selectați pentru aceste subprograme naționale 17 distribuitori și 393 produse.

Licitatia națională pentru achiziția medicamentelor necesare spitalelor a fost introdusă în anul 2004. Achiziția celor 444 medicamente adjudecate în urma acestei licitații s-a făcut de la 23 distribuitori, iar valoarea acestor medicamente a fost de peste 2.800 miliarde ROL.

Unele din aceste modalități de achiziție permit participarea oricărui furnizor (licitații electronice, licitații deschise), iar altele permit participarea doar a distribuitorilor care îndeplinesc anumite condiții economico-financiare (licitații naționale) sau tehnice (negociere cu o singură sursă).

Principalele **avantaje** care pot caracteriza modalitățile de achiziție a medicamentelor sunt: realizarea unor economii considerabile, obținerea unor prețuri reduse, impunerea anumitor standarde de calitate, atât pentru medicamentele solicitate, cât și pentru furnizori, ceea ce determină creșterea calității întregului proces de distribuție. Ca **dezavantaje** pot fi enumerate următoarele: îngreunarea procesului de distribuție și aprovizionare prin sistemul de licitații naționale; imposibilitatea pacienților cu afecțiuni cronice de a-și achiziționa medicamentele la momentul dorit; lipsa în transparenței totale în cazul comparărilor de ofertă; adjudecarea prin licitații electronice a unor produse de calitate inferioară.

Bibliografie

1. *** *Legea nr. 95/14.04.2006 privind reforma în domeniul sănătății*, Monitorul Oficial al României, partea I, nr. 372 din 28.04.2006
2. *** *Rectificarea nr. 95/14.04.2006 la Legea 95/2006*, Monitorul Oficial al României, partea I, nr. 391 din 05.05.2006
3. *** *Ordinul Ministrului Sănătății nr. 538/20.05.2005 pentru aprobarea Regulamentului achizițiilor publice organizate în sistemul sanitar*, Monitorul Oficial al României, partea I, nr. 475 din 06 iunie 2005
4. *** *Ordonanța de Urgență a Guvernului nr. 60/25.04.2001 privind achizițiile publice*, Monitorul Oficial al României, partea I, nr. 241 din 11 mai 2001
5. *** *Hotărârea Guvernului nr. 461/09.05.2001 pentru aprobarea normelor de aplicare a Ordonanței de Urgență a Guvernului nr. 60/2001 privind achizițiile publice*, Monitorul Oficial al României, partea I, nr. 268 din 24 mai 2001
6. *** *Legea 212/17.05.2002 pentru aprobarea Ordonanței de Urgență a Guvernului nr. 60/2001 privind achizițiile publice*, Monitorul Oficial al României, partea I, nr. 331 din 17 mai 2002
7. *** *Ordonanța Guvernului nr. 20/24.01.2002 privind achizițiile publice prin licitații electronice*, Monitorul Oficial al României, partea I, nr. 86 din 01 februarie 2002
8. *** *Hotărârea Guvernului României nr. 612/23.06.2005 pentru modificarea și completarea Hotărârii Guvernului nr. 182/2002 privind lista autorităților contractante care au obligația de a aplica prevederile Ordonanței Guvernului nr. 20/2002 privind achizițiile publice prin licitații electronice și produsele care*

- urmează să fie achiziționate prin procedura de licitație electronică, Monitorul Oficial al României, partea I, nr. 583 din 06 iulie 2005
9. *** *Legea nr. 246/10 iunie 2003 privind aprobarea Ordonanței Guvernului nr.23/2003 pentru modificarea și completarea Ordonanței Guvernului nr.20/2002 privind achizițiile publice prin licitații electronice*, Monitorul Oficial al României, partea I, nr.429 din 18 iunie 2003
 10. *** *Sistem electronic de achiziții publice*, <https://e-market.e-licitatie.ro>
 11. *** *Situația privind fondul de asigurări sociale de sănătate pe anii 1999-2005*, www.cnas.ro
 12. *** *Bugetul simplificat al Fondului național unic de asigurări sociale de sănătate pe anul 2005*, www.cnas.ro
 13. *** *Raport privind activitatea Casei Naționale de Asigurări de Sănătate – 2004*, vol. I, www.cnas.ro
 14. *** *Programele Naționale de Sănătate*, www.cnas.ro
 15. *** *Situații privind licitațiile pe programele naționale din 2004*, Arhiva A&A Medical SRL Cluj-Napoca
 16. *** *Ordinul Ministrului Sănătății nr. 55/42/03 februarie 2005 pentru aprobarea derulării programelor și subprogramelor de sănătate finanțate din bugetul Fondului Național Unic al Asigurărilor Sociale de Sănătate în anul 2005*, Monitorul Oficial al României, partea I, nr. 128 din 10 februarie 2005
 17. *** *Situații privind licitația de medicamente pentru spitale din 2004*, Arhiva A&A Medical SRL Cluj-Napoca
 18. *** *Cantitățile de medicamente actualizate în urma redistribuirii între județe la data de 2.XII.2004*, www.ms.ro
 19. CRIȘAN OFELIA: *Profesiunea de farmacist – Probleme de legislație*, Ed. Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, 2001, 31-57
 20. LUPULEASA D.: *The status of innovator and generic drugs in The European Union and Romania*, TMJ 2005, vol. 55, Supp. 5, 12-15
 21. *** *Ordinul Ministrului Finanțelor Publice nr. 1012/06.06.2001 privind aprobarea structurii, conținutului și modului de utilizare a Documentației standard pentru elaborarea și prezentarea ofertei pentru achiziția publică de produse*, Monitorul Oficial al României, partea I, nr. 336 din 25 iunie 2001
 22. MORGOVAN C., POLINICENCU C.: *Marketingul medicamentelor antidiabetice orale în România*, în vol. sub red. Zaharia V. *Rolul farmacistului în asistența bolnavului diabetic*, Ed. Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, 2005, 100-126

Public acquisitions modalities used in drug procurement in budgetary hospitals

C. MORGOVAN, C. POLINICENCU, STELIANA GHIBU,
DIANA TÂNASE

Summary

In Romania, public drug acquisitions through the electronic auction system and the national auction system were implemented in 2002 and 2003, respectively. This research analyses the 2003-2005 period, during which **national auctions** regarding drug acquisitions for both the national health subordinate programs and for hospitals (2004) as well as the **electronic local auction** were organised. The main advantages and disadvantages of these auction types were identified.

Key words: drug acquisition, hospital, e-auction.

CERCETĂRI PRELIMINARE ASUPRA COMPUȘILOR POLIFENOLICI DIN *VIOLA TRICOLOR* L. (VIOLACEAE)

ANCA TOIU, ILIOARA ONIGA, M. TĂMAȘ

Universitatea de Medicină și Farmacie “Iuliu Hațieganu”,
Facultatea de Farmacie, Cluj-Napoca

Rezumat

Am inițiat un studiu fitochimic asupra compușilor polifenolici (flavonoide, compuși fenilpropanici, taninuri, antociani, proantociani) din părțile aeriene ale speciei *Viola tricolor* L. recoltată din zone și în perioade diferite. Analiza calitativă și cantitativă a compușilor polifenolici a fost realizată prin metode cromatografice și spectrofotometrice. S-au identificat rutozida și acidul cafeic, iar după hidroliză, dintre agliconii flavonoidici, cvercetolul și kamferolul. În toate cele 5 loturi analizate a fost determinat conținutul în flavonoide (0,508-1,992%), compuși fenilpropanici (0,098-0,687%), taninuri (0,798-2,821%), antociani ($12,353-28,643 \cdot 10^{-3}\%$) și proantociani (0,071-0,135%).

Cuvinte cheie: *Viola tricolor* L., compuși polifenolici, flavonoide, taninuri

Introducere

Viola tricolor L., denumită popular “trei frați pătați” datorită florilor colorate în trei culori (albastru, galben și alb), este o specie ierboasă, larg răspândită în flora spontană a României [1, 2, 3]. În medicina tradițională se utilizează pentru proprietățile antiinflamatoare, expectorante, diuretice, depurative, în tratamentul unor afecțiuni ale pielii (eczeme, dermatoze alergice, psoriazis), în bronșite, cistite, reumatism. Principiile active care determină aceste acțiuni sunt: saponozidele triterpenice, flavonoidele (fiind identificate rutozida, violantina, scoparina, saponarina, orientina), polizaharidele, derivații de acid salicilic, carotenoidele [4, 5, 6, 7, 8]. În speciile genului *Viola* au fost identificate recent și ciclotidele, proteine ciclice cu acțiuni farmacologice de mare interes pentru terapie, efectele uterotonic, citotoxic, inhibitor al HIV sau antimicrobian fiind demonstrate pentru acești compuși izolați [9, 10]. Deoarece potențialul terapeutic al speciilor de *Viola* este important, iar datele referitoare la compoziția chimică sunt sumare, am inițiat un studiu fitochimic asupra compușilor polifenolici (flavonoide, compuși fenilpropanici, taninuri, antociani, proantociani) din părțile aeriene ale celei mai răspândite specii a genului *Viola* din țara noastră, *V. tricolor* L.

Cercetările noastre au urmărit analiza calitativă și cantitativă compușilor polifenolici prin metode cromatografice și spectrofotometrice.

Material și metode

Materialul vegetal utilizat a fost constituit din părțile aeriene ale speciei *Viola tricolor* L. (*Violae tricoloris herba*) recoltate din flora spontană, din zone și în perioade diferite. Cele 5 loturi analizate au fost notate astfel: Vt1 (recoltat în mai 2004

din Valea Ierii, Cluj), Vt2 (lot comercial, recoltat în 2004), Vt3 (recoltat în mai 1996 din Cluj), Vt4 (recoltat în mai 2005 din Cluj-Napoca), Vt5 (recoltat în mai 2005 din Braşov). După uscare naturală, părțile aeriene au fost pulverizate.

Determinările spectrofotometrice s-au efectuat utilizând un spectrofotometru UV-VIS JASCO V-530.

Analiza cantitativă a flavonoidelor a fost realizată după tehnica prevăzută în Farmacopeea Română ediția a X-a la monografia *Cynarae folium* [11], iar exprimarea rezultatelor s-a făcut în rutozidă (g rutozidă / 100g produs vegetal).

Analiza cantitativă a compușilor fenilpropanici derivați de acid cafeic a fost realizată după tehnica prevăzută în Farmacopeea Română ediția a IX-a la monografia *Cynarae folium* [12], iar exprimarea rezultatelor s-a făcut în acid cafeic (g acid cafeic / 100g produs vegetal).

Analiza cantitativă a taninurilor a fost realizată după tehnica prevăzută în Farmacopeea Română ediția a X-a [11], iar exprimarea rezultatelor s-a făcut în pirogalol (g pirogalol / 100g produs vegetal).

Analiza cantitativă a antocianilor a fost realizată după tehnica descrisă de Markakis [13]. Conținutul în antociani se calculează după formula:

$$mg \text{ antociani} / 100 \text{ g produs vegetal} = A \times d \times 100 / (98,2 \times m)$$

în care: A=absorbanța soluției la 535 nm, d=factor de diluție (= 25), m=masa produsului vegetal (g), 98,2=valoarea absorbanței în solventul utilizat, măsurată la 535 nm, în cuvă de 1 cm, pentru o soluție de cianidină 1%.

Analiza cantitativă a proantocianilor a fost efectuată utilizând tehnica descrisă de Lebreton [14], iar conținutul în proantociani a fost calculat după formula:

$$LA \% = (6 \times A / e) \times (M \times V / p)$$

unde: 6=coeficient de corecție a randamentului de transformare a leucoantocianilor în antocianidine, A=absorbanța probei la 550 nm, e=absorbția moleculară a compusului considerat, M=masa moleculară a compusului considerat, V=volumul balonului cotat (ml), p=masa probei analizate (g).

În practică exprimarea se face în leuco-cianidină (M=306 și e=34700), iar formula devine: $LA \% = 0,0529 \times A \times V / p$

Analiza calitativă preliminară s-a realizat prin cromatografie pe strat subțire (CSS) și prin reacții de identificare.

CSS pentru glicozidele flavonoidice s-a efectuat în următoarele condiții experimentale [15, 16]: - faza staționară: silicagel G Merck

- faza mobilă: acetat de etil:acid formic:acid acetic:apă (100:11:11:26) – sistemul 1 și acetat de etil:acid formic:apă (85:10:15) – sistemul 2
- soluții etalon: rutozida, hiperozida, vitexina
- soluții analizate: soluții extractive metanolice 5% din cele 5 loturi menționate mai sus, preparate prin refluxare pe baia de apă la 60°C, timp de 30 minute
- revelare: pulverizare cu reactiv NEU-PEG (examinare în UV, 365 nm)

CSS pentru agliconii flavonoidici s-a efectuat după o hidroliză acidă a soluțiilor extractive metanolice din cele 5 loturi de produs vegetal (p.v.), în următoarele condiții experimentale [15, 17, 18]: - faza staționară: silicagel G Merck

- faza mobilă: toluen:acid acetic:apă (60:22:1,2) – sistemul 1, toluen:dioxan:acid acetic (90:25:4)–sistemul 2 și toluen:acetat de etil: acid formic (5:3:1) –sistemul 3
- soluții etalon: cvercitol, kamferol
- revelare: pulverizare cu reactiv NEU-PEG (examinare în UV, 365 nm)

CSS pentru compușii fenilpropanici derivați de acid cafeic s-a realizat în următoarele condiții experimentale [15, 18]: - faza staționară: silicagel G Merck

- faza mobilă: acetat de etil:acid formic:acid acetic:apă (100 :11 :11 :26)
- soluții etalon: acid cafeic, acid clorogenic
- soluții analizate: soluțiile extractive prezentate la CSS pentru glicozide flavonoidice

- revelare: pulverizare cu reactiv NEU-PEG (examinare în UV, 365 nm)

Analiza calitativă a taninurilor a fost realizată prin reacții de identificare generale și de diferențiere [18].

Rezultate și discuții

Rezultatele determinărilor cantitative spectrofotometrice ale compușilor polifenolici din cele 5 loturi de *Violae tricoloris herba* sunt prezentate în tabelul 1.

Tabel 1: Rezultatele determinărilor cantitative ale compușilor polifenolici

Lot	Flavonoide (g rutozidă /100g p.v.)	Compuși fenilpropanici (g ac. cafeic /100g p.v.)	Taninuri (g pirogallol /100g p.v.)	Antociani (mg cianidină /100 g p.v.)	Proantociani (g leuco- cianidină /100g p.v.)
Vt1	1,992	0,597	1,910	28,643	0,127
Vt2	1,794	0,548	1,021	15,479	0,124
Vt3	0,508	0,098	0,798	12,53	0,071
Vt4	1,985	0,687	2,540	17,059	0,135
Vt5	1,812	0,599	2,821	26,002	0,101

Flavonoidele și taninurile sunt compuși polifenolici cei mai bine reprezentați din punct de vedere cantitativ în toate loturile de *V. tricoloris herba* analizate. Derivații de acid cafeic, antocianii și proantocianii se găsesc în cantități mici. Concentrația cea mai mare de flavonoide este prezentă în lotul Vt1, iar de taninuri în Vt5. Concentrațiile cele mai mici de principii active s-au găsit în lotul Vt3, observându-se scăderea conținutului acestor compuși în timp. Cea mai mare cantitate de antociani se găsește în lotul Vt1, iar de proantociani în Vt4.

Analiza preliminară prin CSS a flavonoidelor și compușilor fenilpropanici a arătat mici diferențe între loturile studiate, acestea fiind mai ales de ordin cantitativ. În cazul glicozidelor flavonoidice, s-a observat o separare mai bună în cazul folosirii sistemului 1 de solvenți. Pe baza valorii R_f și a fluorescenței, prin comparare cu substanțele etalon, au fost identificate în toate probele analizate: rutozida ($R_f=0,34$, fluorescență galbenă-portocalie) și acidul cafeic ($R_f=0,95$, fluorescență albastră). S-au mai evidențiat spoturi cu fluorescență galben-verzuie la $R_f=0,17$, $R_f=0,25$ (compus majoritar care ar putea fi violantina, identificată anterior în *V. tricolor* [7, 8, 15]) și $R_f=0,44$ și spoturi cu fluorescență albastră la $R_f=0,59$ și $R_f=0,71$.

Analiza prin CSS a agliconilor flavonoidici a arătat mici diferențe de natură cantitativă între probele analizate. O mai bună separare s-a observat prin utilizarea sistemului 1 de solvenți. S-au identificat cvercetolul ($R_f=0,21$) și kamferolul ($R_f=0,39$) și s-au mai evidențiat spoturi la $R_f=0,47$ cu fluorescență galbenă-portocalie și la $R_f=0,87$ cu fluorescență albastră.

Rezultatele reacțiilor de identificare pentru taninuri sunt prezentate în tabelul 2.

Tabel 2: Rezultatele reacțiilor de identificare pentru taninuri

I. REACȚII GENERALE	1. Reacția cu sol. de gelatină 1% 2. Reacția cu acetat de plumb 25% 3. Reacția cu clorură ferică 5%	Precipitat alb fin Precipitat galben-brun Precipitat verde-brun
II. REACȚII SPECIALE A) Taninuri galice	1. Reacția cu ac. acetic 1% și acetat de plumb 10% 2. Reacția cu sulfura de amoniu	Precipitat fin alb-gălbui Precipitat alb-gălbui
B) Taninuri catehinice	Reacția cu apă de brom 2%	Precipitat roșcat
III. REACȚII DE DIFERENȚIERE	Reacția cu formaldehidă 40% și HCl concentrat	Precipitat roșu-brun

Reacțiile de identificare pentru taninuri din produsul vegetal au arătat faptul că acestea sunt mixte: hidrolizabile și condensate, în cazul tuturor loturilor. În ceea ce privește compoziția taninurilor, nu au fost diferențe semnificative între probele analizate, rezultatele reacțiilor de identificare fiind asemănătoare.

Concluzii

Cercetările efectuate au vizat analiza calitativă și cantitativă a compușilor polifenolici (flavonoide, compuși fenilpropanici, taninuri, antociani, proantociani) din părțile aeriene ale speciei *Viola tricolor* L.

Analiza cantitativă a evidențiat un conținut crescut de flavonoide și de taninuri.

Flavonoidele sunt în majoritate glicozide ale kamferolului și cvercitolului, acești agliconi fiind identificați numai după hidroliză. În toate probele au fost identificate rutozida și acidul cafeic. Taninurile sunt mixte, hidrolizabile și condensate.

Cercetările efectuate completează datele de compoziție chimică ale speciei *Viola tricolor* și permit o mai bună caracterizare a produsului vegetal în vederea valorificării terapeutice.

Bibliografie

1. TĂMAȘ M.: *Botanică farmaceutică, vol. III Sistematica-Cormobionta*, Ed. Medicală Universitară "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca; 1999, 137-8.
2. TĂMAȘ M., ONIGA I., BENEDEC D., FLORIAN S.: *Ghid pentru recunoașterea și recoltarea plantelor medicinale. Vol. I. Flora Spontană*. Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 2005, 190-1.
3. xxx - *Flora R. P. Române, vol. III*. Ed. Acad., București, 1955, 553-625.
4. CHEVALLIER A.: *The Encyclopedia of Medicinal Plants*, Ed. D. K. Publishing-Inc, New York, 1996, 280.
5. WICHTL M.: *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*, Ed. Medpharm, Stuttgart, 1994, 527-9.
6. SCHILCHER H.: *Phytotherapy in Paediatrics. Handbook for Physicians and Pharmacists*, Medpharm Scientific Publ., Stuttgart, 1997.
7. HARBORNE J. B., MABRY T. J., MABRY H.: *The Flavonoids*, Chapman and Hall, London, 1975.
8. MABRY T. J., MARKHAM K. R., THOMAS M. B.: *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1970.

9. SVANGARD E., GORANSSON U., HOCAOGLU Z., GULLBO J., LARSSON R., CLAESON P., et al.: Cytotoxic cyclotides from *Viola tricolor*, *J Nat Prod*, 2004, 67(2): 144-7.
10. GÖRANSSON U., LUIJENDIJK T., JOHANSSON S., BOHLIN L., CLAESON P.: Seven novel macrocyclic polypeptides from *Viola arvensis*, *J. Nat. Prod*, 1999, 62: 283-6.
11. xxx – *Farmacopeea Română*, Ed. a X-a, Ed. Medicală, București, 1993.
12. xxx – *Farmacopeea Română*, Ed. a IX-a, Ed. Medicală, București, 1976.
13. MARKAKIS P.: *Antocyanins as Food Colors*, Academic Press, New York, London, Paris, 1982, 193.
14. LEBRETON P., JAY M., VOIRIN B. : Sur l'analyse qualitative et quantitative des flavonoides, *Chim. Anal. Fr.*, 1967, 49, 375-83.
15. WAGNER H., BLADT S.: *Plant Drug Analysis*, Springer Verlag, Berlin, 1996.
16. TĂMAȘ M., DRĂGULESCU C., ONIGA I., GLIGA F.: Comparative phytochemical research on some species of *Hypericum* and populations of *H. perforatum* (Hypericaceae) in Romania, *Acta oecologica*, 2001, 8, (1-2), 25-33.
17. TĂMAȘ M., CRIȘAN G., DULFU C., PURTAN M.: Studiul comparativ al flavonoidelor din frunzele și mugurii speciilor indigene de plop, *Farmacia*, 2002, 50 (3), 78-83.
18. ONIGA I., BENEDEC D., HANGANU D.: *Analiza produselor naturale medicinale*. Ed. Medicală Universitară "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca, 2004.

Preliminary research of polyphenolic compounds from *Viola Tricolor* L. (Violaceae)

ANCA TOIU, ILIOARA ONIGA, M. TĂMAȘ

Summary

We have initiated a phytochemical study of the polyphenolic compounds (flavonoids, polyphenol carboxylic acids, tannins, anthocyanins, proanthocyanins) contained in the aerial parts of *Viola tricolor* L., harvested from different regions and time periods. The qualitative analysis and the quantitative determinations were made using chromatographic and spectrophotometric methods. We have identified rutoside and caffeic acid, and after hydrolysis, quercetol and kaempferol as flavonoid aglycones. In all five analysed samples, we have determined the content in flavonoids (0,508-1,992%), polyphenol carboxylic acids (0,098-0,687%), tannins (0,798-2,821%), anthocyanins (12,353-28,643 *10⁻³ %) and proanthocyanins (0,071-0,135%).

Key words: *Viola tricolor* L., polyphenolic compounds, flavonoids, tannins

In memoriam

PROFESORUL LEON DANIELLO (1898 – 1970). EVOCARE POSTUMĂ LA 35 DE ANI

În galeria ilustrațiilor înaintași ai Școlii Medicale Clujene, numele și opera vastă a profesorului Leon Daniello, membru corespondent al Academiei Române, elev și colaborator al fondatorului acestei Școli, Iuliu Hațieganu, capătă o strălucire tot mai vie în ciuda trecerii timpului. Viața sa de muncă neobișnuită, ghidată de înalte principii, atentă observație și profundă meditație a fost neabătut angajată în nobile țeluri și necesități stringente, care i-au antrenat responsabilitățile de mare medic, savant, cercetător și titular al primei catedre de pneumoftiziologie din țară (1942), încredințată celui ce și-a impus competența și spiritul de inovație după o temeinică pregătire de nivel continental, începută încă din fragedă tinerețe.

Recunoscut ca un adevărat maestru în domeniul său de specialitate, el și-a consacrat eforturile vreme de cinci decenii unor creații a căror valoare și dimensiuni constituie și azi prilej de admirație nu numai pentru tot mai rarii săi contemporani, dar și pentru tânăra generație falangă de specialiști, cărora le-a lăsat moștenire un bogat izvor de inspirație și de optimism.

Între acestea se numără concepția de organizare a luptei antituberculoase, cu tactica și stratagemele specifice, studiul global al silicozei, al prevalenței, prevenirii și combaterii acestei suferințe, neabordată înaintea lui în țara noastră, depistarea cancerului aparatului respirator, fiind totodată printre cei dintâi care a semnalat pericolul fumatului, solidarizându-se cu cercetătorii britanici în această direcție, preocupându-se din plin de ocrotirea sănătății publice și în mod deosebit a slujbașilor și studenților din acest Centru universitar (primul dispensar antituberculos pentru studenții din țară, și printre primele de acest gen din Europa – 1926). O deosebită și continuă atenție a acordat-o marele maestru formării de succesori la catedra din propria sa clinică și din toate celelalte centre de specialitate din țară, a căror conducere a fost asigurată de elevii săi devotați, exemple care au avut meritul de a dezvolta concepția în care au fost formați, aplicând-o cu aceeași perseverență în practică.

Pe vremea când tuberculoza ucidea fără milă bolnavii afectați (85%), el a introdus cu eforturi personale colapsoterapia gazoasă (vindecări în 60% din cazuri). Apoi, cu sprijinul profesorului Al. Pop a introdus metodele chirurgicale, inclusiv exereza pulmonară (L. Hica), întrecute ulterior de chimioterapia etiotropă (C. Anastasatu) cu vindecări de 95-100% sub tratament corect. A abordat și dus până la capăt numeroase studii în colaborare cu Salvador Cupcea și Leon Prodan în bazinul minier băimărean și în alte zone subterane și industrii cu astfel de risc (Premiul de Stat – 1952). A studiat de asemenea preparatul fintozid împreună cu St. Secăreanu (Premiul I al Ministerului Învățământului – 1963) și multiple alte teme în care și-a antrenat toți colaboratorii, însumând peste 300 de publicații originale, apărute în țară și peste hotare, care i-au oferit o bine meritată primire sub cupola Academiei Române.

Văpaia făcliei aprinse de el, printr-o experiență de o viață și transmisă posterității luminează și acum miile de pagini de o inestimabilă valoare. Parcurgerea acestora de către tinerii angajați cu convingere în specialitate le va conferi mândria de a trece prin fața bronzului din parcul clinicii, ce întruchipează radioasa figură a profesorului Leon Daniello, cu sentimentul înălțător al unei adevărate apartenențe la școala de elită a marelui maestru.

Conf. dr. George Petrescu

CERCETAREA ȘTIINȚIFICĂ, POLITICA ȘI ECONOMIA

Din biografia unor cercetători iluștri se poate constata că principala calitate a acestor oameni a constat din capacitatea de a se concentra cu maximă intensitate și cu o neobișnuită perseverență pentru lămurirea unei probleme, uneori lipsită de consecințe practice imediate și evidente, dar căreia i-au acordat prioritate chiar în defavoarea intereselor personale sau ale familiei.

Pornind de la această constatare ne putem întreba:

- a) Sunt oare amintitele calități de cercetător mai importante pentru societate decât activitățile economice producând și organizând producerea bunurilor materiale, respectiv bogăția comunității sau decât o activitate politică capabilă să mobilizeze populația pentru realizarea unor obiective de interes comun?
- b) Poate fi îndeplinită o activitate de cercetare susținută de către cei cu activitate economică profitabilă, preocupați de câștig sau de către oameni politici preocupați de obținerea și păstrarea puterii?

Răspunsul la prima întrebare depinde în mare măsură de starea economică a comunității, iar într-o comunitate sărăcită prin guvernări anterioare păguboase se va aplica dictonul latin: „primum vivere deinde philosophari”. Ca urmare, calitățile celor în măsură să asigure o stabilitate politică și o economie prosperă vor fi apreciate în mod prioritar. Este evident că o comunitate amenințată de vecini hrăpăreți va aprecia în mod deosebit calitățile de conducător militar.

Istoria ne-a demonstrat că astfel de calități au fost recunoscute și răsplătite de societate, care a acordat cu larghețe titluri nobiliare și moșii unor politicieni iscusiți și unor generali victorioși, iar oamenii de afaceri cu succes economic, de care a beneficiat și țara, au obținut (cumpărat) și ei titluri nobiliare (mai ales în cazul unei populații cu vederi pragmatice, ca de exemplu Anglia).

Prin contrast, activitatea de cercetare s-a desfășurat destul de anonim prin mănăstiri și prin cele câteva universități europene ale Evului mediu, unde profesorii erau interesați mai ales de științele umaniste. Ca urmare, activitatea științifică a interesat doar un număr restrâns de persoane, având preocupări similare și capabile să se înțeleagă între ele prin cunoașterea limbii latine.

Cercetătorii au ieșit din anonimat doar atunci când biserica a intervenit cu exces de energie pentru a combate și pedepsi pe cei care, obsedați de adevăr, au încercat să explice în mod diferit față de autoritatea religioasă felul în care au luat naștere „cerul și pământul, văzutele și nevăzutele”. De la arderea pe rug a lui Giordano Bruno și intimidarea lui Galileo Galilei pe teme de astronomie și cosmogonie și până la tolerarea tacită a concepției evoluționiste a lui Darwin, relațiile dintre știință și Biserică au parcurs o cale lungă, presărată de compromisuri înțelepte și ajungând la înțelegere sau măcar la tolerare reciprocă.

Intervenția autorităților laice de stat în sprijinirea științei sau în orice caz a învățaturii a avut mult timp un caracter sporadic. Istoria pomeneste la loc de cinstă interesul arătat pentru promovarea învățaturii de către Carol cel Mare, regele francilor și mai apoi împărat al Occidentului. De fapt Charlemagne a avut încă din secolul al VIII-lea viziunea importanței învățământului. A chemat ca sfătuitor pe savantul umanist anglo-saxon Alcuin și împreună s-au străduit să înființeze școli în palatul său și în mănăstiri, insistând ca un număr cât mai mare din supușii săi să învețe scrisul și cititul.

Remarcabilă a fost și atitudinea față de știință și cultură a unor „despoți luminați” ca Frederic al II-lea (cel Mare) regele Prusiei și ca Ecaterina a II-a (cea Mare) împărăteasa Rusiei, care prin secolul al XVIII-lea au sprijinit activitatea unor academii și au găzduit în palatele lor minți luminate cum au fost Voltaire venit la Berlin și respectiv Diderot ajuns la Sankt Petersburg.

Ulterior, alți regi din Europa și-au dat silința să rămână în istorie ca protectori ai științei și culturii, onorând cu premii pe cei care s-au distins în cercetare. Ca exemplu ilustrativ, regii Suediei sunt cei care înmânează premiile Nobel, datorite de fundația care poartă numele chimistului care, inventând dinamita, a strâns o avere considerabilă și a înființat respectiva fundație.

Între cele două războaie mondiale a luat ființă și în România fundația regală pentru sprijinirea artelor și literaturii, iar linguiștii de meserie i-au conferit regelui Carol al II-lea titlul de regele culturii românești. Cert este că prin 1936, pe când eram elev la școala primară, am aflat că regele Carol al II-lea era nu doar marele străjer dar și regele culturii românești.

Americanii n-au avut regi care să patroneze fundații culturale. Au avut însă întreprinzători foarte iscușiți, care, după ce au ajuns foarte bogați, au devenit și foarte generoși. Fiind prin excelență oameni practici, ei și-au orientat fundațiile și institutele spre scopuri bine precizate, multe din ele din domeniul biomedical, cum au fost combaterea epidemiilor, studierea cancerului, a leucemiilor sau a bolilor cardiovasculare.

Se pare că acești susținători ai cercetării științifice erau dotați și cu bun simț, deoarece, fiind conștienți de diferențele între calitățile lor și cele necesare cercetării, s-au ferit să intervină inoportun în dirijarea activității științifice. Pentru conducerea fundațiilor s-a recurs la competența unor oameni de știință prestigioși, care, formând comitete, să poată asigura o selecție adecvată a personalului și a dotării materiale. S-au creat condiții ca cercetătorii să-și poată urmări nestingheriți ideile, iar dacă, de exemplu, un cercetător aparținând unei fundații axate pe studierea cancerului descoperise întâmplător un fenomen interesant din domeniul hemostazei, el era nu doar lăsat dar și încurajat să-și continue cercetarea.

În țările cu orânduire democratică și cu economie prosperă, autoritățile au colaborat cu inițiativele private. Așa de exemplu statul canadian se angaja să dubleze sumele strânse de populație prin colectă publică pentru ducerea la bun sfârșit a unui proiect de interes public (așa a fost cazul cu o fundație pentru studierea artritei reumatoide).

Generozitatea și spiritul civic au fost recunoscute de societate, atribuind fundațiilor nou create numele celor care au avut inițiativa de a le înființa și puterea economică de a le susține activitatea. Este bine cunoscut că fundația Rockefeller, care a jucat un rol important în susținerea activităților de cercetare în domeniul medicinei poartă numele petrolistului care și-a lăsat o bună parte din avere în scopul înființării și susținerii acestei fundații.

Alți binefăcători ai cercetării științifice din domeniul biomedical sunt mai puțin cunoscuți, iar personal am fost pus în cârmă situații jenante, datorită ignoranței mele în acest domeniu.

Îmi aduc aminte că la vederea unei impozante statui din curtea Universității Duke din Durham, Carolina de Nord, am întrebat în ce domeniu s-a evidențiat cel care a meritat așa o statuie. Zâmbind, colegii americani, m-au lămurit că Mr. Duke a lucrat în domeniul cultivării tutunului și a fabricării țigaretelor, dar că strângând o avere considerabilă, a înființat și a susținut această prestigioasă universitate particulară.

Tot în naivitatea mea de cetățean al unei țări comuniste, am întrebat în 1979 ce specialitate a avut John Fogarty, după numele căruia a fost botezat „Institutul Internațional pentru studiul avansat în științele sănătății”, cel care sprijinise vizita în SUA a unei delegații de cercetători din România. Am aflat că fusese zidar, dar că

ajungând senator, a militat pentru înființarea unui centru menit să faciliteze cooperarea internațională în domeniul biomedical.

Oamenii de știință trebuie să rămână recunoscători celor cu succes în activitatea economică precum și politicienilor clarvăzători, nu doar fiindcă aceștia asigură stabilitatea politică și acumularea de capital necesar cercetării, dar și pentru respectul și decența pe care aceste personalități au arătat-o muncii cercetătorilor, neîncercând să forțeze obținerea rezultatelor dorite de sponsori și respectiv să-i abată de la aflarea adevărului.

Cu totul diferit s-au desfășurat relațiile dintre autorități și cercetători în țările cu regimuri totalitare. Sunt notorii eforturile lui Hitler și ale acoliților săi Goebbels și Rosenberg menite spre a impune o doctrină rasistă, demonstrând superioritatea arienilor și în special a germanilor care în principiu le-ar fi conferit dreptul să stăpânească și până la urmă să anihileze „rasele inferioare”. Consecințele aplicării în practică a acestei teorii, respectiv lagărele de exterminare, declanșarea războiului și dezastrul Germaniei au fost mult mediatizate. Mai puțin cunoscute sunt presiunile exercitate de nazism asupra oamenilor de știință care nu s-au conformat principiilor susținute de autorități. Cert este că o serie de savanți și-au părăsit patria, ajungând să lucreze pentru alianța țărilor democratice care va învinge și va ocupa Germania.

În țările ajunse sub dominația Moscovei s-au exercitat de asemenea presiuni asupra intelectualității, impunându-se exagerările nerviste, miciurismul naiv și elucubrațiile savantei Olga Borisovna Lepeșinskaia care găsisese „la comandă” o trecere de la materie la viață. Totodată se combăteau cu energie cibernetica și concepția Mendelo-Morgano-Weissmanistă ca fiind emanații ale „pseudoștiinței imperialiste”. Este mai mult ca sigur că acerba critică adresată de staliști geneticienilor sovietici nu s-a limitat la „demascări agresive” în presă, ci s-a „concretizat” prin represii de ordin administrativ. O primă și evidentă consecință a siluirii științei a fost o clară rămânere în urmă a sovieticilor în domeniul informaticii și a geneticii.

Amestecul agresiv al politicii în știință a contribuit și la nefasta perturbare a criteriilor de selecție a cercetătorilor. De fapt, cei dispuși să accepte fără obiecții „directivele” date de forurile politice au fost în primul rând dotați cu o mare poftă de parvenire, în timp ce competența și etica lor profesională era discutabilă. Ajunși în poziții de conducere a unor institute de cercetare, astfel de impostori și-au apărat cu ferocitate poziția, denigrând potențialii competitori și adeseori reclamându-i forurilor politice. Totodată selectarea colaboratorilor s-a făcut în funcție de protecția politică și de servilism față de șeful instituției. O consecință a „politicii de cadre” din spatele „cortinei de fier” a fost plecarea, mai bine zis fuga în străinătate a multor tineri de perspectivă.

Datorită condițiilor istorice destul de neprielnice pentru românii aflați între trei imperii rapace, în populația noastră s-a dezvoltat în mod adaptativ o pronunțată tendință spre oportunism, iar politica și clientelismul politic au căpătat o excesivă importanță. Supusă timp de secole unor administrații corupte și abuzive, populația din „Principatele Române” a devenit foarte sceptică față de justiție și a ajuns la convingerea că pentru obținerea unui avantaj mai mult sau mai puțin meritat este absolut necesar să se asocieze unui grup de interese care, ajuns la putere, să le atribuie recompense.

Așa se face că o bună parte a populației acestei țări consideră că ar fi absolut normal ca un partid ajuns la putere să acorde titluri academice unor intelectuali din clientela sa politică, care s-au distins mai ales prin susținerea partidului. Este de asemenea ilustrativ și trist că pentru partide de fotbal importante din campionatul intern se recurge destul de des la arbitri străini, admițându-se în mod tacit că în toată țara nu s-ar găsi un incoruptibil în această branșă.

Cu o astfel de mentalitate este greu să te integrezi în Europa, iar autoritățile noastre se pot aștepta la surprize neplăcute din partea Vest-Europenilor, care pun mare preț pe evaluarea obiectivă, chiar severă a cercetătorilor. Pentru evitarea unor situații penibile, ar fi de așteptat un reviriment în sens etic al relațiilor dintre politică și

cercetarea științifică, iar de curând s-a primit un semnal pozitiv în acest sens. De fapt, conducerea Academiei de Științe Medicale a cerut filialei Cluj și probabil și altor filiale din țară să propună criterii obiective sau chiar un punctaj pentru departajarea prea numeroșilor solicitanți ai calității (remunerate) de membru al acestui for. Viitorul ne va arăta în ce măsură aceste criterii vor fi acceptate și mai ales aplicate, precum și ce efect vor avea asupra promovării unei competiții corecte în spirit fair-play, cu posibile implicații benefice asupra calității cercetării biomedicale din țara noastră.

Prof. Dr. Docent *Mircea Cucuianu*
Profesor Consultant-Biochimie Clinică
Membru titular al Academiei de Științe Medicale