

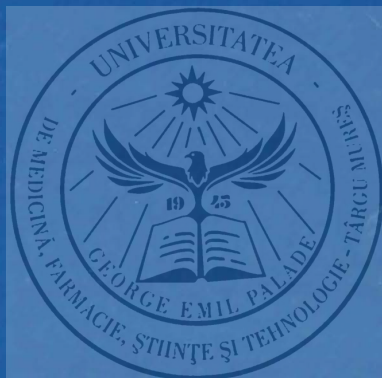
Revista de Medicină și Farmacie

Vol. 48

2002

2

Universitatea de Medicină și Farmacie din Târgu-Mureș



Orvosi és Gyógyszerészeti Szemle

Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem



Publicație a
Universității de Medicină și Farmacie
din Târgu Mureș
University Press

ISSN 1221-2229

Adresa

Gheorghe Marinescu nr. 38, 4300 Târgu Mureș

Tel. (+40)-265-215551

Fax (+40)-265-210407

CONSILIUL ȘTIINȚIFIC

Prof. dr. Marius Sabău
Rector

Prof. dr. Örs Nagy
Prof. dr. Constantin Copotiu
Prorectori

Conf. dr. Virgil Gliga
Conf. dr. Sorin Popșor
Conf. dr. Maria Dogaru
Decani

Prof. dr. Béla Tókéș
Prof. dr. Galafton Oltean
Conf. dr. Dezső Kovács
Secretari științifici

Prof. dr. Ioan Nicolaescu
Cancelar

COLEGIUL DE REDACȚIE

Prof. dr. Marius Sabău
Redactor șef
Carmen Căldăraru
Secretar de redacție
Emilian Carașca
Dan Dobreanu
Grigore Dogaru
Imre Egyed
Sigrid Esianu
Monica Monea Pop
Loránd Szász
Tibor Szilágyi
Alexandru Șchiopu
Camil E. Vari
Redactori

Tehnoredactare Deák Vasile

Coperta MasterDruck Târgu Mureș

REFERATE GENERALE

Hormonii tiroidieni și citokinele cu rol în apărarea nespecifică a organismului
Annamăria László, I. Kun, Al. Șchiopu, Camelia Gliga,
Ionela Pașcanu, Corina Radu 76

Adaptarea activității electrice a inimii la încărcarea mecanică.
Rolul feedback-ului mecanoelectric
M. Sabău 83

Proteinele de șoc termic (proteinele de stres) - Un nou concept în etiopatogenie și tratament
Monica Szabo 87

CE TREBUIE SĂ ȘTIM DESPRE...

Legătura dintre infecțiile microbiene și psoriazis
Teodora Cighir, O. Buțiu 93

Actualități în angina pectorală instabilă
L. Cozlea, Cristina Tătar, Rodica Rediș, D. Cozlea 97

Neoplazia cervicală - origini și perspective ale cercetării infecției genitale cu Virusul Papilloma Uman (HPV)
Simona Marcu 101

Tratamentul simptomatic în faza terminală a bolilor cronice.
Atitudini în asistența medicală primară de sănătate
Diana Pop Petre, Terezia Crăciun Mureșan, I. Țilea, A. Alecu,
D. Bratu 107

Evaluarea echo-Doppler a insuficienței aortice
Cristina Tătar, L. Cozlea, Rodica Rediș 110

Sugestii etiologice generate de examenul microscopic în limfomul Hodgkin
M. Turcu, G. Simu, C. Creangă, Adriana Habor, Anca Sin 114

ARTICOLE ORIGINALE

Aspecte endoscopice gastrice și duodenale la pacienți cu afecțiuni pancreatice Simona-Maria Bățașă	117
Rezerva vagală cardiacă nu este predictibilă prin analiza de scurtă durată a variabilității ritmului cardiac E. Carașca, A. Frigy, A. Incze	122
Chemometria aplicată în domeniul cercetărilor farmaceutice. Studiul validării metodei de determinare spectrofotometrică în UV al clorhidratului de piridoxină (vitamina B ₆) Silvia Dușa, B. Tókéș, Brîndușa Mitroi, Alina Vintilă	125
A vizben oldódó vitaminok és a dezoxikólsav közötti kölcsönhatás vizsgálata Gyöngyi Dudutz, Mária Kincses Ajtay	131
Model experimental "in vivo" privind evaluarea gradului de calcificare cinetică a pericardului ovin stabilizat cu glutaraldehidă D. Iorga, Anca Sin, Agneta Simionescu, H. Suciuc, C. Chivu, Odetă Zeceș, C. Eșanu, F. Stancu	135
Tuberculoza extrapulmonară la copiii între 0-14 ani din județul Mureș, între anii 1994-1999 Gabriela Jimborean ¹ , Marinela Gabor	139
Studiu asupra efectului hemoreologic acut al fosinoprilului și valsartanului în arteriopatiile diabetice asociate cu hipertensiune arterială Piroska Kelemen, Emese Bálint, Katalin Makó	143
Rezultatele tratamentului laparoscopic în sterilitatea prin anovulație în sindromul de ovare polichistice L. Pușcașiu	149

PREZENTĂRI DE CAZ

Nefropatie membranoasă asociată infecției cu virusul hepatitei B G. Dogaru, Carmen Căldăraru, C.E. Vari	155
Manifestări neurooftalmologice în pneumosinusul dilatant sfenoidal Alice Juncu, Gh. Mühlfay	160

IN MEMORIAM

50 de ani de la trecerea în neființă a Profesorului *Dr. FESZT GYÓRGY senior*,
primul Decan și Rector al Institutului de Medicină și Farmacie din Târgu-Mureș

Hormonii tiroidieni și citokinele cu rol în apărarea nespecifică a organismului

Annamária László¹, I. Kun², Al. Șchiopu¹, Camelia Gliga²,
Ionela Pașcanu³, Corina Radu²

Referatul relatează rolul citokinelor în apărarea nespecifică a organismului, prezentând relațiile dintre hormonii tiroidieni și citokine, adică sinteza citokinelor la nivelul tiroidei, nivelul seric al citokinelor la bolnavi cu distireoză, rolul citokinelor în patogenizarea distireozelor și oftalmopatiilor tiroidiene. Pe baza datelor obținute se poate enunța că relația dintre hormonii tiroidieni (HT) și citokine este multiplă și complexă. Cuvinte cheie: hormonii tiroidieni, apărarea nespecifică, citokinele, oftalmopatia endocrină.

The report presents data concerning cytokines heaving a part in the non-specific defence of the body, the relationship between thyroid hormones and cytokines, i. e. the synthesis of cytokines at the level of the thyroid, the serum level of the cytokines of disthyroidism cases, the role of cytokines in the pathogenesis of disthyroidism and eye diseases due to thyroid dysfunctions. According to the above data we can say that the relationship between thyroid hormones (TH) and cytokines is multiple and complex.

Key words: thyroid hormones, non-specific defence, cytokines, endocrine eye diseases.

Hormonii tiroidieni sunt hormoni multifuncționali care, pe lângă o serie de funcții multiple^{1,2}, intervin și în apărarea nespecifică a organismului.^{3,4} Prezintă interes studiul mai atent al relației dintre HT și unul din efectorii umorali ai apărării nespecifice – citokinele.

CITOKINELE

Mult timp s-a crezut că celulele organismelor pluricelulare funcționează doar sub control nervos central și/sau endocrin.

În ultimii ani s-a constatat că această teorie este falsă pentru că toate celulele transmit și recepționează semnale de stimulare sau de inhibiție realizând astfel un dialog bidirecțional, de la celulă la celulă, ori de la celulă la matricea extracelulară și invers, ceea ce determină comportamentul lor.⁵

Toate celulele posedă la suprafață un ansamblu de molecule destinate comunicării intercelulare. Aceste molecule au o dublă funcțiune: acționează ca o antenă

care captează mesaje; funcționează ca un traductor care transmite celulei semnale din exterior, preluate mai întâi de enzimele membranare, iar apoi de citoschelet și/sau nucleu. Aceste semnale induc sau inhibă exprimarea diferitelor gene.⁶

Citokinele sunt glicoproteine cu masă moleculară mică, între 15 și 25 KD, de natură polipeptidică, produse tranzitor de aproape toate celulele eucariote, cu rol în comunicare intercelulară. Ele armonizează interrelațiile celulare. Prin intermediul receptorilor specifici citokinele acționează la concentrații foarte joase (10^{12} – 10^{15} g/ml) asupra celulelor care le-au produs (mecanism autoerin), asupra celor din vecinătate (mecanism paracrin) sau asupra celulelor care se află la distanță (mecanism endocrin).^{8,13,14,19,43}

FAMILIA CITOKINELOR

Citokinele constituie un ansamblu foarte heterogen de molecule (aproximativ 100 de tipuri), în care se includ următoarele proteine:

- Interleukinele (IL-1 până la IL-18);
- Factorul de necroză a tumorilor (TNF-alfa, -beta);
- Interferonii (IFN-alfa, -beta, -gamma);
- Factorii hemopoietici sau factorii de stimulare a coloniilor (CSF);

¹ Disciplina de Fiziopatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș;

² Clinica de Endocrinologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș;

³ Disciplina de Genetică, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș;

Adresa pentru corespondență: Annamária László, Disciplina de Fiziopatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie, Str. Gheorghe Marincescu Nr 38, 4300 Târgu-Mureș;

- eritropoietina;
- factorul de stimulare a coloniilor granulocitare (G-CSF);
- factorul de stimulare a coloniilor macrofagice (M-CSF);
- factorul de stimulare a coloniilor mixte (GM-CSF);
- factorul inhibitor al leucemiei (LIF).
- Factorii de transformare a creșterii-Transforming Growth Factor: TGF- α , TGF- β , inhibin, activin.
- Alți factori de creștere:
 - celule epidermice (EGF);
 - celule endoteliale (ECGF);
 - fibroblaști (FGF);
 - keratinocite (KGF);
 - derivați din trombocite (PDGF);
 - nervi (NGF);
 - hepatocite (HGF);
 - insulin-like (IGF-I, -II).
- Chemokinele (citokine chemotactice):
 - proteine care activează neutrofilele NAP-II;
 - factorul plachetar-4 (PF-4);
 - proteina chemotactică monocitară (monocyt chemotactic protein MCP-1, -2, -3).
- Factori neclasiificați:
 - factorul de inhibiție a migrării macrofagelor (MIF);
 - performin, granzim, NKCF (NK cytotoxic factor).^{8, 13, 14, 16, 17, 21, 41}

PROPRIETĂȚILE GENERALE ALE CITOKINELOR

Cu toate că sunt molecule extrem de heterogene, citokinele prezintă și o serie de proprietăți generale, comune:

- Sunt produse de celulele activate la un semnal stimulator.
- Se sintetizează cu viteză mare și se eliberează prin exocitoză.
- Sunt recepționate prin intermediul receptorilor prezenți pe celule țintă.

Tempul de acțiune autocrin, paracrin și endocrin depinde de cantitatea de citokină eliberată.

-Pot fi produse de diferite tipuri de celule: macrofage, monocite, limfocite T și B, celule NK, endoteliale, stromale, hepatice, tumorale, tirocitate, astrocite, neuroni, celule musculare, fibroblaști, etc.

-Acționează în concentrații foarte mici, iar secreția lor este de scurtă durată. Nu sunt stocate ca molecule preformate și după încetarea stimulului activator sinteza lor se sistează.

-Au acțiune pleiotropă, activități biologice multiple, datorită interpretării diferite a semnalului de către celulele de tipuri diferite.

-Frecvent au efecte diferite asupra aceluiași tip de celule.

-Citokinele influențează sinteza și eliberarea altor citokine realizând o reacție în cascadă.

-Acțiunea lor este adesea redundantă, cu alte cuvinte, același efect poate fi produs de citokine diferite asupra aceluiași tip de celule.

-Majoritatea citokinelor influențează alte citokine.

-Au un aspect larg de acțiune, cu efecte de sinergism, antagonism și de neutralizare. Aceste proprietăți multiple îngreunează studiul lor.

-Citokinele se pot evidenția și determina din ser, plasmă, urină, lichid cefalorahidian, lichid amniotic, prin metode imunologice: tehnica de RIA și ELISA.^{8, 14, 16, 17, 44}

ROLUL CITOKINELOR

Citokinele sunt în esență mediatori fiziologici care îndeplinesc multiple roluri în organism. Ele au o gamă variată de acțiuni asupra numeroaselor tipuri de celule țintă. Au rol în: procese imune; apărarea nespecifică (imunitate naturală ca: inflamația, reacția fagocitară, reacția febrilă, apărare antitumorală); apărarea antiinfecțioasă bacteriană și virală; reglarea creșterii și diferențierii celulelor; vindecarea plăgilor; suprimarea proceselor tumorale; activarea coagulării; angiogeneza; sinteza moleculelor de adeziune; sinteza proteinelor de fază acută; reacția de fază acută; chemotaxie; activarea celulelor NK; hematopoieză.^{8, 13, 14, 16, 19, 23, 39}

MECANISMUL DE ACȚIUNE AL CITOKINELOR

Mecanismul de acțiune al citokinelor nu este complet cunoscut. Observațiile făcute până acum dovedesc că ele se leagă strâns de receptorii de pe celula țintă, după care, prin semnale primite de receptori membranari, intră în activitate un sistem mesager intracelular care implică:

- Proteinele G care pot să aibă un efect stimulator sau inhibitor în citosol;
 - Fosfolipazele C₂-D, -A₂ și proteinkinazele - C₃ și -A₃;
 - Canalele ionice;
 - Sistemul de Na⁺-K⁺-ATP-ază;
 - Eliberarea calciului intracelular.
- Trebuie amintit că mecanismul de acțiune a multor citokine este diferit și încă nu este complet elucidat.¹⁹

CITOKINELE CU ROL ÎN APĂRAREA NESPECIFICĂ

Citokinele sunt considerate ca unul dintre efectorii umorali ai apărării nespecifice intervenind în diferite verigi ale apărării nespecifice (naturale) ale organismului.

- IL-1 are rol central în inflamație, activează monocitele și macrofagele și eliberarea din ele a IL-6, IL-8 respectiv TNF care activează neutrofilele; este pirogen endogen: activează reacția de fază acută, formarea moleculelor de adeziune, respectiv a proteinelor de fază acută; angiogeneza activează osteoclastele, deci absorbția țesutului osos; activează mastocitele și eliberarea din acestea a PG; are rol de potențare a reparării tisulare în reacția inflamatorie prin stimularea fibroblastelor celulelor sinoviale, epiteliale și endoteliale.

- IL-5 stimulează proliferarea eozinofililor.

- IL-6 acțiunile ei sunt identice cu cele ale IL-1: pirogen endogen, stimulează sinteza moleculelor de adeziune, proteinelor de fază acută, reacția de fază acută.

- IL-8 are efect chemotactic asupra neutrofilelor,

creşte nivelul calciului intracelular, stimulează explozia oxidativă a fagocitelor, faza de digestie a reacţiei fagocitare, creşte permeabilitatea capilarelor şi angiogeneza, induce în neutrofilele degranularea şi eliberarea de lactoferitină.

-IL-9 stimulează producţia de monocite, macrofage şi neutrofile.

-IL-11 se aseamănă în multe privinţe cu IL-6, cofactor de creştere a macrofagelor.

-IL-12 este caracterizată ca factor stimulator al celulelor NK, creşte activitatea citotoxică a macrofagelor, stimulează producerea IFN-gama.

-IL-13 suprimă producerea citokinelor proinflamatorii de către macrofage; are acţiune antiinflamatorie, împreună cu IL-4 şi IL-10.

-IL-15 este un factor de supravieţuire a celulelor NK in vivo.

-IL-17 induce expresia G-CSF, IL-6, IL-8, moleculele de adeziune intracelulare (ICAM) pe fibroblaste.

-IL-18 creşte sinteza şi activitatea IFN-gama şi scade producerea IL-10.

TNF-alfa (caşectina) are multe efecte identice cu ale IL-1: stimulează acumularea neutrofilelor la locul inflamaţiei, apariţia moleculelor de adeziune pe suprafaţa celulelor endoteliale, angiogeneza, permeabilitatea vasculară, este pirogen endogen, stimulează sinteza proteinelor de fază acută la nivelul hepatocitelor, stimulează sinteza $PGF_{2\alpha}$, precum şi reacţia de fază acută.

TNF-beta (limfotoxina), activează monocitele şi macrofagele, induce chemotaxia lor. Uşurează sinteza IL-1, IL-6 intervenind astfel în apariţia fenomenelor locale ale inflamaţiei; concomitent inhibă efectorii celulari ai inflamaţiei. Creşte capacitatea citocidă a mononuclearelor în cursul inflamaţiei.

Ambele forme (TNF-alfa şi -beta) intervin în distrugerea ţesuturilor tumorale, produc infarcte şi necroză hemoragică. Mai nou se susţine că ele acţionează prin inducerea la nivelul celulelor canceroase a morţii programate, adică a apoptozei.¹⁰

-M-CSF stimulează sinteza IFN, TNF, IL-1, PGE_2 , activitatea killer al granulocitelor, stimulează expresia moleculelor de adeziune pe suprafaţa celulelor şi citotoxicitatea anticorpi dependentă (ADCC). Produce diviziunea şi diferenţierea neutrofilelor.

-GM-CSF stimulează adeziunea, marginarea, fagocitoza şi ADCC, inhibă migrarea neutrofilelor.

-G-CSF stimulează în granulocite procesul killing dependent de O_2 şi ADCC, sinteza PGE_2 , fagocitoza şi migrarea neutrofilelor şi monocitelor.

-IFN-alfa are efect pirogen endogen, stimulează expresia MHC, şi activitatea NKC; are activitate antitumorală.

-IFN-beta are efect pirogen endogen, activitate antitumorală.

-IFN-gama stimulează citotoxicitatea monocitelor, macrofagelor şi celulelor NK. Creşte expresia

antigenelor HLA II, sinteza proteinelor complementului şi a moleculelor de adeziune şi exprimarea lor la suprafaţa celulelor; inhibă PDGF. Are efect antitumoral

-LIF stimulează trombopoieza, reacţia de fază acută, induce cahezie.

-TGF-beta determină angiogeneza, stimulează repararea tisulară. Are un puternic efect chemotactic şi proliferativ asupra fibroblaştilor şi stimulează producţia de collagen, fibronectină şi colagenza acestora. Are un rol important în formarea matricii extracelulare în sensul stimulării sintezei de proteine extracelulare (fibronectina, collagen, condroitinsulfat, glicozaminoglicat), dar şi în organizarea disponerii celulelor şi a contactelor intercelulare, având deci rol în ultima fază a inflamaţiei, faza de reparare.

-Chemokinele sunt citokine chemotactice ca de exemplu NAP-IL, PF-4, MCP-1, -2, -3. Ele intervin în atragerea fagocitelor la locul inflamaţiei.

-MIF scade migrarea macrofagelor.^{2,10,11,14,15,16,31,44,48} Unele dintre aceste citokine au şi importanţă clinică.

Sunt incluse în patogenia diferitelor boli ca: şoc septic, ateroscleroză, artrită reumatoidă, mielom, glomerulonefrită mezangial productivă, scleroză multiplă, în boala cronică granulomatoasă,^{13,28} dar şi în tratamentul multor boli, câteodată incurabile: boala tumorală, neutropenie, trombopenie instalate în urma chemoterapiei la canceroşi, scleroză multiplă, miastenia gravis, sarcom Kaposi apărută în SIDA, melanom, hepatită cronică B şi C, boli dermatologice^{12,31}, boli autoimune (artrită, sclerodermie), în plăgi cronice observate în geriatrie şi în diabetologie.²⁸

RELAȚIILE DINTRE HORMONII TIROIDIENI ŞI CITOKINE

Relațiile între HT şi citokine sunt multiple. Există date experimentale pe animale şi studii clinice care, pe de o parte evidențiază sinteza citokinelor în tiroidă la nivelul tirocitelor, celulelor interstițiale sau infiltrante, respectiv în supernatantul culturilor de celule tiroidiene, care mențin procesele autoimune, intervenind în patogeniza distireozelor, iar pe de altă parte, modifică concentrația HT în sângele circulant cu consecințele respective. Totodată există și o relație inversă, adică efectul citokinelor de origine netiroidiană asupra glandei tiroide.

SINTEZA CITOKINELOR LA NIVELUL TIROIDEI

La nivelul tiroidei, tirocitele, celulele interstițiale şi infiltrante sunt capabile de a sintetiza citokine. IL-1 şi IL-6 au fost puse în evidență prin metoda imunocitochimică în celulele epiteliale ale foliculilor tiroidieni la pacienții cu boli autoimune (boala Graves şi tiroidita Hashimoto) şi în neoplasme benigne.²⁰ IL-6 se formează şi în tirocite normale¹⁹ dar în cantitate mică.²¹ Tot prin metoda imunohistochimică s-a demonstrat că IL-1 beta este prezentă în cantitate mare

la bolnavi cu boala Hashimoto. La fel, s-a pus în evidență că IFN-gama secretată de limfocite T infiltrante ajută secreția citokinei IL-1 beta.³⁷

Tot printr-o metodă histochimică s-au evidențiat TNF-alfa în tirocite, cel mai frecvent în gușa nodulară netoxică, și mai puțin frecvent în adenom tiroidian, cancer papilar, cancer folicular, boala Hashimoto și Graves. TNF-alfa produs de celulele interstițiale s-a găsit numai la 2/3 din pacienții amintiți.^{21,54}

În tiroidita Hashimoto și boala Basedow majoritatea celulelor tiroidiene produc IFN-gama pe când secreția TNF-alfa a fost observată numai în tiroidita Hashimoto.²⁷

În tiroidite autoimune, IL-6 a fost detectată în supernatantul culturilor de celule tiroidiene umane în condiții bazale și a crescut semnificativ sub acțiunea IFN-gama, TNF, TSH, în funcție de doză. Nivelul circulant al IL-6 nu a fost însă crescut în boala Graves.⁴⁹ La fel s-a constatat creșterea semnificativă a IFN-gama în supernatantul culturilor de celule de la bolnavii cu tiroidită Hashimoto și boala Graves, față de control. Producția de IFN-alfa a fost semnificativ crescută numai la bolnavi cu tiroidită Hashimoto.¹²

În culturi de celule tiroidiene provenite de la bolnavi cu gușa multinodulară, boala Graves și Hashimoto, stimulate cu TSH, IL-1, IFN-gama și nestimulate, expresia citokinelor este heterogenă. Celulele tiroidiene pot exprima IL-12, IL-13 după stimulare, pe când IL-15 a fost exprimată în toate celulele studiate.¹ IL-12 este caracterizat ca factorul stimulator al celulelor NK.¹⁴ IL-6 și TGF-beta care se sintetizează la nivelul celulelor foliculului tiroidian reglează exprimarea și pentru alte citokine ca MCP-1, M-CSF, MG-CSF, de asemenea la nivelul tirocitelor.³⁰

Datorită faptului că diagnosticarea precoce a tiroiditei limfocitare la om este greoaie, autorii au studiat această posibilitate la șobolani. S-a comparat expresia precoce a genei citokinelor IL-2, -4, -6, -10, -12, IFN-gama și TNF-alfa în prezența și absența tiroiditei limfocitare. Numărul șobolanilor cu expresie detectabilă a genei pentru TNF-alfa, IFN-gama, IL-2, IL-12 a fost semnificativ mai mare la șobolanii cu tiroidită limfocitară. Faptul că nu s-a observat expresia precoce a genelor acestor citokine la animalele fără tiroidită autoimună, poate sugera că aceasta ar fi un indicator precoce în dezvoltarea tiroiditei limfocitare. Autorii subliniază însă că mai sunt necesare cercetări în acest sens.³

Glanda tiroidă este și sursa citokinei LIF (leukemia inhibitory factor), care este o citokină pleiotropă neuroimună, îndeplinind un rol fiziologic în funcția hipotalamo-hipofizo-tiroidiană. TSH și IL-6 cresc expresia LIF în glanda tiroidă, pe când glucocorticoizii o scad.³⁴

Prezența acestor citokine în tiroidă poate mări răspunsul inflamator autoimun în cursul acestor boli intratiroidiene și eventual, poate fi corelată cu stadiul procesului inflamator și semnalizarea recidivelor. De

asemenea, este posibil să intervină în modularea sintezei hormonilor tiroidieni.

NIVELUL SERIC AL CITOKINELOR LA BOLNAVI CU DISTIREOZĂ

Mulți cercetători au raportat variația nivelului seric al diferitelor citokine concomitent cu disfuncția tiroidiană.

IL-6, care este o citokină cu acțiune autocrină și paracrină, este produsă în diferite tipuri de celule și chiar și în tirocite.

Creșterea IL-6 seric s-a găsit la pacienții cu procese tiroidiene destructive ca tiroidita subacută, câteva forme de tireotoxicoză, indusă de amidaronă sau injecție percutanată de etanol în nodulul tiroidian „cald”, ca rezultat al eliberării citokinei din tirocitele distruse.²

Nivelul seric al IL-6 s-a determinat la pacienții cu boala Graves cu și fără oftalmopatie. Nivelul seric al IL-6 a fost mai mare la pacienții cu oftalmopatie ($440 \pm 32,4$ pg/ml) decât la cei fără oftalmopatie ($81,6 \pm 25,2$ pg/ml), respectiv la pacienții cu boală de durată lungă și timp mai lung decât un an. Creșterea este în strânsă corelație cu semnele inflamatorii oculare.³⁴

La bolnavi cu boala Graves și în adenomul toxic multinodular IL-1 a avut valori mai mari înainte de tratament ($23-26,5$ pg/ml). După instalarea eutiroidiei valoarea a scăzut semnificativ și aproape a atins nivelul normal ($3-10$ pg/ml).⁴

La bolnavi cu boala Graves și tiroidită Hashimoto s-a urmărit nivelul seric al IL-12. Nivelul seric IL-12 a crescut semnificativ în boala Graves în stări cu hipertiroidie și a scăzut sub influența tratamentului cu metimazol sau cu propiltiouracil, concomitent cu scăderea nivelului FT₄ și FT₃ și imunoglobulinei inhibitoare legată de tiroidă (TBII - thyroid binding inhibiting globulin). Când T₄ a fost administrat oral la oameni sănătoși, IL-12 a crescut numai puțin. Rezultatele sugerează că IL-12 poate fi crescută prin stimularea cu HT și că HT înșiși pot fi un factor stimulator „self” al bolii Graves, prin stimularea sintezei IL-12.⁴⁵

Procedeele chirurgicale pot cauza creșterea IL-6, cu scăderea în ser a FT₄. Astfel, IL-6 singur, in vitro, nu alterează producția HT incluzând și geneza T₃ din T₄.³⁵

La pacienții cu hipotiroidie primară s-a observat nivel normal al IL-1 beta și creșterea concentrației IL-2 față de control.²⁴

Nivelul mediu al TNF-alfa s-a găsit crescut la pacienții cu boala Graves (20 pg/ml) și nu s-a normalizat după tratament antitiroidian (20 pg/ml), comparativ cu valoarea lotului normal (5 pg/ml). TNF-alfa dar nu și IL-6 poate să fie mare în serul bolnavilor Graves când devin eutiroidieni. Autorii consideră că nivelul ridicat de TNF-alfa și / ori IL-6 poate să fie un indiciu al recidivei bolii.⁴

La pacienții cu boala Graves concentrația de IFN-gama crește semnificativ față de control, spre deosebire de bolnavii Hashimoto la care nu s-a modificat semnificativ. Valoarea IFN-gama nu s-a corelat cu nivelul seric al anticorpilor antitiroidieni; totuși,

autorul este de părere că nivelul IFN-gama reflectă activitatea celulelor CD₄ intratiroidiene.²⁹

După cum s-a văzut, citokinele cu rol în apărarea nespecifică (IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-6, IL-12, TNF-alfa, IFN-gama) cresc în sângele circulant și nivelul lor ar putea reprezenta o măsură a intensității inflamației autoimune, eventual apariția recidivelor dar nu și nivelul HT.

ROLUL CITOKINELOR ÎN PATOGENEZA DISTIREOZELOR ȘI ÎN SINTEZA HORMONILOR TIROIDIENI

Multe citokine reglează funcția tiroidei astfel că acestea pot fi implicate în patogeniza distireozelor și în reglarea sintezei HT. LIF este o citokină neuroimună pleiotropă despre care s-a dovedit că participă în reglarea fiziologică a funcției hipotalamo-hipofizotiroidiene. Autorii cred că LIF este implicat în patogeniza tireopatiilor, în dezvoltarea sindromului bolii eutiroidiene, fiind probabil markerul hipotiroidiei.³⁰ Efect similar au constatat Drugărin și colab.¹⁴ În cazul IL-1 care inhibă și secreția HT. IL-1 beta are un rol crucial în patogeniza bolilor autoimune tiroidiene distructive (tiroidita Hashimoto) prin două mecanisme: inducerea formării autoantigenelor prin acțiunea sa de cofactor sau provocarea alterării tisulare prin apoptoză.³⁷

Pentru IL-1 alfa s-a demonstrat rol patogenetic în dezvoltarea bolilor tiroidiene autoimune, cu ajutorul culturilor de celule tiroidiene și monocitare în două camere separate. S-a dovedit că integritatea celulelor epiteliale este alterată de către monocite fără să fie contact între cele două tipuri de celule. Această alterare este mediată de IL-1 alfa, citokina proinflamatorie eliberată din monocite.⁶

IL-6 și TGF-beta, care sunt prezente în foliculii tiroidieni, inițiază și/ori modulează răspunsul inflamator local prin stimularea apariției și activarea citokinelor MCP-1, GM-CSF sau M-CSF.³⁰

În ce privește rolul IL-12 în patogeniza bolii Graves și tiroiditei Hashimoto, s-a demonstrat că HT înșiși pot fi un factor stimulator „self” al bolii Graves prin activarea sintezei IL-2.⁴⁹ În cercetări experimentale pe șoareci imunizați cu tiroglobulina de șoarece (MTG), IL-12, administrată pe tot parcursul experienței, s-a demonstrat un efect imunosupresiv.³²

Weetman³⁹ a subliniat faptul că multe citokine ca IL-1, IL-6, IL-13, IL-15, TNF-alfa și IFN-gama au rol în patogeniza bolii Graves.

O serie de afecțiuni netiroidiene ca: traume mari, arsuri grave, stări septică, deficiența imună, sunt asociate cu scăderea nivelului seric al T₃ și T₄, fără creșterea TSH. Starea aceasta este cunoscută ca sindromul bolii eutiroidiene (euthyroid sick syndrom). Patogeneza acestui sindrom este controversată. Cu toate că se studiază de 20 de ani recent s-a clarificat că deficitul de seleniu nu este singura cauză. S-a demonstrat pe 20 de bolnavi politraumatizați că suprimarea TSH poate fi provocată de acțiunea diferitelor citokine ca: IL-6 și TNF-alfa.⁴²

S-a observat și s-a raportat că hipotiroida însoțește cancerul recidivant și se discută o eventuală relație între funcția tiroidiană și prognoza pacienților cu tumori maligne.

Studiile clinice demonstrează că în cursul tratamentului combinat cu IL-2 și IFN-gama al carcinomului metastatic⁴¹, a cancerului renal avansat¹⁸ și melanomului metastatic⁴², se dezvoltă cu frecvență remarcabilă o disfuncție tiroidiană reversibilă (hipo- și hipertiroidie).

În urma tratamentului cu TNF-alfa al limfomului cutanat cu celule T s-a dezvoltat o hipotiroidie severă, care se explică prin creșterea proceselor autoimune în glanda tiroidă și prin acțiune directă a citokinei asupra sintezei și secreției hormonilor tiroidieni.³³ Un fenomen similar s-a observat în urma tratamentului cu IFN-alfa a pacienților cu cancer și hepatită virală, respectiv cu tumori carcinoide maligne.⁴⁰

S-a efectuat un studiu vast privind relația între funcția tiroidiană și prognoza pacientelor cu cancer mamar recidivant, concomitent urmărind și nivelul seric al IL-6 și IL-8. S-a observat o corelație negativă semnificativă între nivelul ridicat al IL-6 și IL-8 și hormonii tiroidieni, deci s-a dezvoltat o stare de hipotiroidie sub influența citokinelor. Bolnavele cu cancer mamar recidivant în această situație au decedat mai repede. Se conchide că nivelele crescute de IL-6 și IL-8 tulbură sistemul natural de apărare al organismului gazdă. După autorii acestui studiu citokinele pot deveni indicatori ai răspunsului terapeutic și al prognosticului pacientelor cu cancer mamar recidivant.³⁰ Totodată, din experiențele efectuate reiese faptul că HT constituie un factor „self” protector față de procesul tumoral din organism.

Acest fapt este subliniat și prin alte cercetări experimentale. S-a urmărit efectul hipo- și hipertiroidiei experimentale asupra evoluției carcinomului pulmonar Lewis la șoareci. Creșterea progresivă a tumorii a fost asociată cu scăderea semnificativă a nivelului seric al T₃ și T₄. În aceste condiții experimentale, tratamentul cu T₃ inhibă dezvoltarea tumorii.²² Tellini și colab.⁴⁶ studiind 220 bolnavi vârstnici internați pentru afecțiuni tumorale a dovedit că la 58% dintre bolnavi s-a dezvoltat sindromul bolii eutiroidiene. Incidența bolii este cea mai mare (86%) la pacienții canceroși cu pierdere în greutatea corporală și la persoanele cu status clinic precar.

Cercetările pe animale de experiență subliniază de asemenea aceste roluri ale citokinelor.

La șobolani s-a demonstrat că IL-1 alfa crește proliferarea timocitelor dar nivelul hormonilor circulanți nu a fost modificat.³⁹ La șoareci cu imunodeficiență și cu xenotransplant de țesut tiroidian uman cu boala Graves, administrarea de IFN-gama reduce producția de anticorpi anti-tiroidieni de către plasmocitele intratiroidiene, având efect imunosupresiv.³¹

Un semn clinic cardinal al hipertireozelor este oftalmopatia endocrină (OE). Sporirea conținutului

orbital are ca urmare exoftalmia, deoarece orbita este o cavitate inextensibilă deschisă numai anterior. La nivelul mușchilor extraoculari apar o serie de procese patologice ca: infiltrat limfocitar, creșterea spațiilor intracelulare urmată de creșterea volumului mușchiului, diminuarea striaiților musculare și atrofia fibrelor musculare. Mușchii extrinseci ai globului ocular își măresc volumul de 8-10 ori, ceea ce duce pe de o parte la protruziunea ochiului (exoftalmie), iar pe de altă parte la comprimarea nervului optic și atrofia acestuia urmată de diminuarea sau pierderea vederii. Exoftalmia, împreună cu retracția pleoapei superioare, vor duce la lagofthalmie urmată de ulcerarea corneene. În plus, conținutul orbital sporește datorită creșterii țesutului adipos și modificării țesutului conjunctiv (infiltrat limfocitar, proliferarea celulară, creșterea sintezei de collagen și de mucopolizaharide, edem). Patogeneza OE este controversată. Pe lângă alte cauze se poate presupune și intervenția unor factori locali.¹⁷

Recent s-a studiat posibila intervenția a citokinelor cu rol în apărarea nespecifică ca factori locali în geneza OE.

IL-1 stimulează procesele inflamatorii în țesutul orbital în oftalmopatia din boala Graves prin modificările de la nivelul țesutului conjunctiv, creșterea sintezei de collagen și de mucopolizaharide.¹⁶ IL-1 beta stimulează sinteza mRNA în fibroblaștii umani din țesutul conjunctiv orbital și în mușchii extraoculari în tireopatia asociată cu oftalmopatie.¹⁸ Despre IL-6 s-a demonstrat că poate să fie un factor important în evenimentele inflamatorii ale oftalmopatiei din boala Graves.¹⁹ Un efect similar îl au și alte citokine ca IL-1, TNF-alfa și IFN-gama în patogeneza oftalmopatiei.¹⁹

În fine, în baza datelor prezentate în cadrul temei abordate se poate concluziona că citokinele cu rol în apărarea nespecifică se sintetizează și la nivelul tiroidei, intervenind în geneza reacțiilor inflamatorii autoimune. Nivelul lor crește în sângele circulant, acesta putând fi un indicator al gradului inflamației autoimune, eventual al recidivelor dar nu și al nivelului HT. Totodată, citokinele sunt implicate în geneza distireozelor cu modificări hormonale caracteristice (hiper-hipotiroidie) și intervin în patogeneza OE. Relația dintre HT și citokine este deci complexă, necesitând încă un efort considerabil pentru elucidarea sa.

BIBLIOGRAFIE

1. AJJAN RA et al - *Detection of IL-12, IL-13, IL-15 messenger ribonucleic acid in the thyroid of patients with autoimmune thyroid disease*, J Clin Endocrinol Metab, 1997, 82: 666-669
2. BARTALENA L et al - *Relationship of the increased serum interleukin-6 concentration to change of thyroid function on nonthyroidal illness*, Endocrinol Invest, 1994, 17:269-274
3. BLUHER M, KROHN K, WALLOSCHOPSKI H et al - *Cytokine gene expression in autoimmune thyroiditis in Bio Breeding Worcester rats*, Thyroid, 1999, 9:1049-1055
4. CELIK I et al - *Serum levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alfa in hyperthyroid patients before and after propylthiouracil treatment*, Eur J Endocrinol (Norway), 1995,132:668-672
5. CHEDIN P et al - *Disthyroidism in patients treated with interferon-alfa*, Press Med, 1994,23:1659-1663
6. CRETZER C, THOMSEN P, JANSSON S et al - *Co culture of human monocytes in biocameral chamber: monocyte derived IL-1 alfa impairs the thyroid epithelial barrier*, Cytokine, 2000, 12:32-40
7. CRISTEA ANCA, MUREȘAN ADRIANA - *Interleukina 8, citokina proinflamatorie*, Clujul Medical, 1996, 69:182-190
8. CRISTEA V, CRIȘAN MONICA - *Dialog dintre celule citokinele*, Clujul Medical, 1999, 72:131-148
9. CRUCE M, MIXICH FR, STANCIU B - *Biosinteza, activarea și rolul factorului de creștere*, Craiova Medicală, 1999, 1:245-248
10. DEJICA D - *Tratat de imunologie clinică*, vol I, Ed Dacia Cluj Napoca, 1997, 182
11. DEJICA D *Tratat de imunologie clinică*, Ed Dacia Cluj-Napoca, 1998, 392-398
12. DEL PRETA GF et al - *High potential to tumor necrosis factor-alfa (TNF alpha) production of thyroid infiltrating T lymphocytes in Hashimoto's thyroiditis: a peculiar feature of destructive thyroid autoimmunity*, Autoimmunity, 1989, 4:267-276
13. DELVES PJ, ROITT IM - *The immune system* (Second of two parts), New Engl J Med, 2000, 343:108-117
14. DRUGARIN DOINA, NOVIANU LAVINIA *Citokine*, în Gluhovschi Gh: Actualități în imunologie clinică, Ed Helicon Timisoara, 1994, 33-98
15. FOGARASI M, KUBALA ÉVA, BÍRÓ JUDIT et al *Interleukin-6: Ertünk vagy ellenünk? Ujabb eredmények az IL-6 klinikai vonatkozásairól*, Orv Htt, 1994, 135:2075-2082
16. GECE A - *A gyulladásköréleltana*, în Szollár L: Köréleltan, Ed Semmelweis Budapest, 1996, 106-131
17. JACOBS EL et al *Thyroid function abnormalities associated with the chronic outpatient administration of recombinant interleukin 2 and recombinant interferon alfa*, J Immunother, 1991, 10:448-455
18. KABACK L A, SMITH TJ - *Expression of hyaluronan synthetase messenger ribonucleic acids, and their induction by interleukin-1 beta in human orbital fibroblast: potential insight into the molecular pathogenesis of thyroid associated ophthalmopathy*, J Clin Endocrinol, Metab, 1999, 84:4079-4084
19. KAKUR GY - *Cytokinek és a vese*, Magyar Belorv Arch, 1996,49:139-143
20. KAYSER L et al - *Immunocytochemical localization of interleukin 1 alfa and interleukin 6 in thyroid tissues from patients with neoplastic or autoimmune thyroid disorders*, Autoimmunity, 1995, 20:75-82
21. KAYSER L et al - *Immunocytochemical localization of tumor necrosis factor-alfa in thyroid tissue from patients with neoplastic or autoimmune thyroid disorders*, Autoimmunity, 1996, 23:91-97
22. KINOSHITA S et al - *Effects of experimental hyper- and hypothyroidism on natural defense activities against Lewis lung carcinoma and its spontaneous pulmonary metastases in C57BL/6 mice*, Tokushima J Exp Med, 1991,38 2:25-35
23. KITAGAWA Y et al - *Islets cells but not thyrocytes are susceptible to lysis by NK cells*, J Autoimmun, 1991, 4:703-716
24. KOMOROWSKI J et al - *Increased interleukin 2 level in patients with primary hypothyroidism*, Clin Immunol Immunopathol, 1992,63:200-202
25. KRUIT WH et al - *Clinical experience with the combined use of recombinant interleukin-2 (IL-2) and interferon-alfa-2a (IFN-alpha) in metastatic melanoma*, Br J Haematol, 1991,79 suppl 1:84-86
26. LASZLÓ ANNAMÁRIA, KUN I, SZHICSI A et al - *Implicațiile hormonilor tiroidieni în apărarea nespecifică a organismului*, Revista de Medicină și Farmacie, Tg Mureș, 1999, 45/1 4:83-89
27. MARIOTTI S et al *The autoimmune infiltrate of Basedow's disease: analysis of clonal level and comparison with Hashimoto thyroiditis*, Exp Clin Endocrinol, 1991,97:139-146
28. MARTIN ADRIANA, PASCU I - *Citokinele în scleroza multiplă*, Revista de Medicină și Farmacie, Tg Mureș, 1999, 45:90-97

29. MATSUBAYASHI S et al – *Serum interferon-gamma levels in autoimmune thyroid disease*, Clin Invest Med, 1990, 13:271-274
30. MATSUMARA M et al – *Interleukin-6 and transforming growth factor-beta regulate the expression of monocyte chemoattractant protein-1 and colony stimulating factors in human thyroid follicular cells*, Life Sci, 1999, 65:129-135
31. MIHAIL A, CĂMAN GABRIELA – *Interferonul în terapia dermatologică*, Medicina modernă, 1997,4:99-102
32. MILCĂ ŞT M – *Tratat de endocrinologie clinică*, vol I, Ed Acad Române Bucureşti, 1992, 233-297
33. MIYAKOSHI H et al – *Exacerbation of hypothyroidism following tumor necrosis factor-alfa*, Intern Med, 1992, 31:200-203
34. MOLNAR ILDIKÓ, BALÁZS Cs – *High Circulating IL-6 Level in Graves Ophthalmopathy*, Autoimmunity, 1997, 25:91-96
35. MURAI H et al – *Elevated serum interleukin-6 and decreased thyroid hormone levels in postoperative patients and effects of IL-6 on thyroid cell function in vitro*, Thyroid, 1996, 6:601-606
36. MÜHLBERG T et al – *Detection an modulation of interleukin-1 receptor antagonist messenger ribonucleic acid and immunoreactivity in Graves' orbital fibroblast*, Invest Ophthalmol Vis Sci, 1997, 38:1018-1028
37. PAOLIERI F, SALMASO C, BATTIFORA M et al – *Possible pathogenetic relevance of interleukin beta in „destructive” organospecific autoimmune disease (Hashimoto's thyroiditis)*, Ann NY Acad Sci, 1999, 876:221-228
38. REN SG, SELIKTAR J, LI X et al – *In vivo and in vitro regulation of thyroid leukemia inhibitory factor (LIF): marker of hypothyroidism*, J Clin Endocrinol Metab, 1999, 84:2883-2887
39. ROEB E et al – *A citokinek biológiája és terápiás jelentősége*, Dtsch Med Wschr, 1996, 121:803, in Orv Htl, 1997,138:3
40. RONUBLUM LE et al – *Autoimmune phenomena in patients with malignant carcinoid tumors during interferon-alfa treatment*, Acta Oncol, 1991, 30:537-540
41. SAUTER NP et al – *Transient thyrotoxicosis an persistent hypothyroidism due to acute autoimmune thyroiditis after interleukin 2 and interpheron-alfa therapy for metastatic carcinoma: a case report*, Am J Med, 1992,92:441-444
42. SCHILLING IU, ZIMMERMANN T, ALBRECHT S et al – *Low-T₃-syndrome in multiple trauma patients phenomenon or important pathogenetic factor*, Med Klin, 1999, 94 suppl 3:66-69
43. STOENESCU M – *Interleukina 5 (IL-5) și receptorul ei (IL-5R)*, Medicina modernă, 1997,4:381-385.
44. SZÉKANEZ Z, SZEGEDI GY – *Cytokinek rheumatoid artritisben: új terápiás lehetőségek*, Orv Htl, 1998, 139:819-823
45. TAMARU M, MATSUURA B, OUIJI M – *Increased levels of serum interleukin-12 in Graves disease*, Eur J Endocrinol, 1999, 141:111-116
46. TELLINI U, PELLIZZARI L, PRAVADELLI B – *Thyroid function in elderly with neoplasma*, Minerva Med, 1999, 90:111-121
47. TOTOLIANU I GH, VASILESCU GH – *Bolile tiroidei la adult și copil*, Casa de Editură „Lumina Transilvaniei” Târgu Mureş, 1993 vol I, 15-33
48. VITALIS ZSUZSA, ALTORJAY I, UDVARDY M – *A legfontosabb ismert citokinek szerepe és jelentősége gyulladásoos bélbetegségekben*, Orv Htl, 1998, 139:1289-1294
49. WEETMAN AP – *Medical Progress: Graves' Disease*, Neur Engl J Med, 2000, 343:1236-1248
50. YOKOE T et al – *Changes of cytokines and thyroid function in patients with recurrent breast cancer*, Anticancer Res, 1997,17: 695-699
51. YOSHIKAWA N et al – *Simultaneous xenotransplantation of human Graves' tissue and autologous bone marrow cells in severe combined immunodeficient mice: successful reconstitution of human Graves' hyperthyroidism*, Eur J Endocrinol, 1997, 136:213-222
52. ZACCONE P, HUTCHINGS P, NICOLETTI F et al – *The involvement of IL-12 in murine experimentally induced autoimmune thyroid disease*, Eur J Immunol, 1999, 29:1933-1942
53. ZELING RQ et al – *Detection of interleukin-6 and interleukin 1 production in human thyroid epithelial cells by non-radioactive in situ hybridization and immunohistochemical methods*, Clin Exp Immunol, 1991,83:314-319
54. ZEHING RQ et al – *Detection of in vivo production of tumor necrosis factor-alfa by human thyroid epithelial cells*, Immunology. 1992,75:456-462
55. ZERÉK-MELEN G et al – *Influence of interleukin-1 an antihuman interleukin 1 receptor antibody on the growth and function of the thyroid gland in rats*, Eur J Endocrinol, 1994,131:531-534

Adaptarea activității electrice a inimii la încărcarea mecanică. Rolul feedback-ului mecanoelectric

M. Sabău

Mecanica contracției poate influența proprietățile electrice ale miocardului modulând durata potențialului de acțiune, producând depolarizare tranzitorie cu declanșarea unor potențiale precoce. Mecanismul transducției mecanice este reprezentat de canalele ionice mecanosensibile care realizează un feedback mecanoelectric. Fenomenele pot avea importanță la pacienții cu ventriculi global dilatați, cicatrici regionale asociate cu dischinezii la care pot apărea aritmii ventriculare cu risc crescut pentru moartea subită. Cuvinte cheie: feedback mecanoelectric, canale mecanosensibile, distensie, miocard

Cardiac contraction may influence the electrical properties of the myocardium modulating the duration of the action potential or inducing transient depolarization and early potentials. The mechanical transduction is achieved by mechanosensitive ionic channels via the so-called mecano-electric feedback. The phenomena are important in patients with global dilated ventricles or regional myocardial scars associated with dyskinesia that present a high risk to ventricular arrhythmias and sudden death.
Key words: mecano-electric feedback, mechanosensitive channels, myocardial stretch

Fenomenele secvențiale ale cuplului electrocontractil sunt cunoscute, dar începând de la sfârșitul anilor '70 și începutul anilor '80 a început să se vorbească de posibilitatea inversării direcției acestor fenomene în cadrul unui așa-numit feedback mecanoelectric²² prin care mecanica contracției poate influența proprietățile electrice ale miocardului, modulând durata potențialului de acțiune, producând depolarizarea tranzitorie cu declanșarea unor potențiale precoce.¹²

Primele observații legate de modificările activității inimii ca urmare a distensiei cavitațiilor sale au fost făcute de Heidenhein (1872) și apoi de Biderman (1895), dar inexistența la acea vreme a unei metodologii adecvate de studiu nu a permis extinderea acestor cercetări.

Abia începând din 1950, înregistrările cu microelectrozi sau cele cu electrozi aspirativi și de contact au permis acest lucru.

S-a putut demonstra că distensia miocardului produce depolarizare, scurtarea potențialelor de acțiune și modificări ale excitabilității și conductibilității miocardice.^{1,15,22, 24}

Aceste modificări au fost legate de acțiunea directă a distensiei asupra membranei celulare cu posibila influențare a schimburilor ionice, ca și prin modificări ultrastructurale și biochimice intracelulare a căror natură nu a putut fi precizată, bănuindu-se și o eliberare locală de catecolamine.

Modificările potențialelor de acțiune au fost atribuite unei creșteri a influxului de Ca^{2+} sau unei reduceri a efluxului său, cunoscute fiind observațiile lui Brown și Yatani³ care au arătat că o creștere a concentrației intracelulare a Ca^{2+} produce scurtarea potențialelor de acțiune și depolarizare.

Mecanismul primar al transducției mecanice nu a fost cunoscut până la evidențierea existenței canalelor ionice mecanosensibile de către Guharay și Sachs⁴ la mușchiul scheletic al embrionului de găină și apoi la nivelul miocardului.

Canalele membranare sunt considerate în general printre cele mai importante căi prin care informațiile

Disciplina de Fiziologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

Adresa pentru corespondență: Prof. dr. M. Sabău, Disciplina de Fiziologie, Universitatea de Medicină și Farmacie, Str. Gh. Marinescu nr. 38, 4300 Târgu-Mureș

din mediu ajung în interiorul celulelor.³¹ Modificarea proprietăților unor canale ionice prin întindere s-a dovedit a avea consecințe variate asupra activității celulare.^{17,30} Există canale activate sau inactivate prin întindere⁴, ele putând reprezenta un adevărat sistem de control celular.⁶

Densitatea acestor canale ar fi de $1/\mu\text{m}^2$.²⁶ Activarea lor se face în salve, în funcție de gradul întinderii, curenții activați în acest fel putând atinge -40 mV. Modificarea abruptă a întinderii crește brusc activitatea canalelor după care se stabilește un echilibru.³⁵

Canalele sunt cation selective dar discriminează slab între Na^+ și K^+ ,⁹ ordinea selectivității fiind $\text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Ca}^{2+}$.³⁵ ATP crește permeabilitatea acestor canale, AMP și ADP având efecte mai reduse.²⁹

La miocitele din culturi de celule obținute de la embrioni de găină, folosind metoda patch clamp voltage, Ruknudin²⁹ descrie 5 tipuri de canale ionice mecanosensibile:

-2 canale K^+ selective

-3 canale care permit trecerea cationilor alcalini și a Ca^{2+} .

Toate aceste canale pot fi blocate de gadoliniu, iar unul poate fi blocat de tetrodotoxină sau diltiazem. Gadoliniu deși nu este un blocant specific al canalelor activate prin întindere este cel mai potent blocant al acestora.⁴ Lantanidele au în general o puternică acțiune de blocare a canalelor de Ca^{2+} și a schimburilor $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ reducând depolarizarea indusă prin distensie.¹¹ Lipsa unui blocant specific îngreunează studiul activității acestor canale, deși se cunosc acțiunile unor toxine obținute din veninurile de șarpe, scorpion sau păianjen.

La nivelul celulelor sinoatriale și atriale a fost descrisă și existența unor canale anionice pentru Cl⁻ sensibile la distensie care se deosebesc de canalele activate de catecolamine. Ele nu sunt influențate de protein kinaza dependentă de cAMP, de β -agoniști, Ca^{2+} sau forskolin (stimulant direct al activității adenilciclazei).

Curentul de Cl⁻ poate modifica potențialul de acțiune influențând componenta tranzitorie spre exterior a curenților cu rol depolarizant.

Dependența de voltaj a canalelor mecanosensibile este minimă, nefiind posibilă deschiderea lor numai prin modificările de voltaj în absența distensiei.²⁹

Data fiind concentrația mare a Na^+ extracelular, influxul acestuia este preponderent prin canalele mecanosensibile, deși permeabilitatea lor pentru K^+ este mai mare.¹⁶

Canalele de Na^+ sensibile la distensie nu sunt identice cu canalele rapide ce pot fi blocate cu tetrodotoxină. Conductanța lor variază cu pătratul tensiunii membranei celulare și este puțin dependentă de voltaj.

Efectele indirecte ale influxului de Na^+ dependent de întindere ar putea include creșterea pHi intracelular mediată prin schimbul $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ și creșterea Ca^{2+} intracelular prin schimbul $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$.

Activarea canalelor sensibile la distensie influențează nivelul Ca^{2+} intracelular²³ și poate induce un influx de Ca^{2+} care contribuie la depolarizarea celulelor miocardice nu numai prin schimbul $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ ci și în mod direct.^{32,34}

Studiile cu aequorin ca indicator al activității Ca^{2+} intracelular au arătat că variațiile alungirii mușchiului cardiac se pot asocia cu modificări ale mișcărilor Ca^{2+} și implicit ale potențialului de acțiune. Încărcarea cu Ca^{2+} poate fi blocată prin înlăturarea acestuia din mediul extracelular sau adăugarea de gadoliniu.

Canalele cationice activate prin întindere induc influxuri spre interior ale Na^+ și Ca^{2+} care depolarizează membrana și cresc concentrația intracelulară a acestor ioni. Depolarizarea poate la rândul său să activeze canalele de Na^+ , K^+ sau Cl⁻ dependente de voltaj, depolarizând în continuare celula.

Creșterea Ca^{2+} indusă mecanic poate declanșa eliberarea de Ca^{2+} indusă de Ca^{2+} ceea ce crește și mai mult concentrația intracelulară a acestuia și poate activa canalele de K^+ dependente de Ca^{2+} .

Citoscheletul poate interveni ca modulator al mișcărilor calcice activate prin distensie, ceea ce contribuie la supraîncărcarea cu Ca^{2+} a celulelor miocardice.¹⁴ Activitatea canalelor mecanosensibile ar putea fi legată de starea citoscheletului prin intervenția unor componente din familia spectrină-fodrină, a complexelor de adeziune ca și a unor enzime (glicolitice, protein kinaze, fosfolipaze) de la acest nivel.^{23,35}

Fibroblaștii cardiaci s-au dovedit la rândul lor a fi mecanosensibili, ei putând interacționa cu miocitele adiacente, mai ales în cazurile de insuficiență cardiacă sau la cei care au suferit un infarct miocardic.²⁰

Modificările activității canalelor sensibile la distensie se produc mai ales la variații bruște ale lungimii mușchiului miocardic, natura relației contracție-excitație depinzând și de timing-ul distensiei. Astfel, distensia precoce din cursul platoului potențialului de acțiune scurtează durata acestuia în timp ce distensia tardivă îl alungește.²⁷ Acest lucru poate explica unele rezultate obținute în studiile mai vechi care nu ținneau cont de momentul aplicării distensiei și în care se consemnau modificări variabile ale duratei și formei potențialelor de acțiune în funcție de modelul experimental sau specia animală.

Pe măsură ce distensia crește, tot mai multe canale devin activate în cursul diastolei, curenții spre interior îi depășesc pe cei spre exterior și se produce o depolarizare care dacă atinge pragul poate declanșa o bătaie ectopică.

În condiții experimentale distensia miocardului se dovedește a avea variate efecte.

Chiar dacă distensia este subliminală se poate produce un curent depolarizant spre interior care deși nu atinge imediat pragul, poate declanșa un pacemaker latent. În cursul umplerii ventriculare, distensia este mai mare în zonele subendocardice față de cele subepicardice, dar majoritatea studiilor sunt realizate cu electrozi epicardici ceea ce face dificil de apreciat ce se întâmplă la nivel endocardic în momentul respectiv.³³

Dacă volumul ventricular rămâne crescut în timpul ejecției poate apărea fenomenul de depolarizare precoce care se reduce odată cu scăderea rezistenței la ejecție. Acest lucru sprijină ideea că intensitatea ejecției intervine în feedback-ul mecanoelectric.

Modelele experimentale, chiar cele mai sofisticate în care distensia este precis controlată, realizate pe preparate izolate (mușchi papilar, inima în întregime) nu pot reda condițiile mult mai complexe ale inimii in situ și cu atât mai puțin cele clinice.

În condiții normale la om variațiile distensiei miocardului sunt probabil puțin importante și nu există până acum studii cantitative care să aprecieze exact gradul distensiei capabil să declanșeze tulburări notabile.

În condiții clinice astfel de situații pot avea importanță deoarece pacienții cu ventriculi global dilatați sau cei cu cicatrici regionale asociate cu diskinezii prezintă adeseori aritmii ventriculare cu risc crescut pentru moartea subită.^{2,7,10,14,21,23} Distensia cronică, mai puțin studiată, apare tot în astfel de cazuri clinice însoțindu-se de alterări importante ale citoscheletului care intervin și în reglarea fluxului ionic transmembranar.^{2,14}

În ultimul timp se menționează însă tot mai frecvent apariția unor disritmii severe apărute chiar la tineri atleți sănătoși care au suferit lovitură relativ minoră în zona precordială.²¹ Aceste tulburări sunt explicate prin intervenția feedback-ului mecanoelectric.

Activarea canalelor ionice mecanosensibile ar putea contribui și la precondiționarea ischemică a inimii. Experiențele efectuate de Ovize²⁶ au arătat că distensia poate reduce mărimea infarctelor produse prin ischemie, protecție ce poate fi împiedicată cu ajutorul gadoliniului. Fenomenul s-ar datora limitării edemului miocitelor produs în cursul ischemiei prin pierderea de Ca^{2+} și apă. În felul acesta se previne sau se întârzie moartea celulară. Ar fi posibilă și o interacțiune a canalelor mecanosensibile cu receptorii adenozinici și/sau canalele de K^+ dependente de ATP.

Distensia poate induce apoptoza mediată de angiotensină ceea ce contribuie la heterogenitatea electrică și la apariția fibrozei miocardice.²

Interrelația mecanoelectrică realizată prin intermediul canalelor mecanosensibile constituie doar unul dintre aspectele deosebit de complexe ale adaptării inimii în cursul suprasolicitațiilor. Rolul lor s-a dovedit important și în influențarea ratei sintezei proteice cu consecințe asupra apariției hipertrofiei ventriculare sau a eliberării de peptide.^{13,19}

BIBLIOGRAFIE

1. ARSENESCU GH, SABAU M, COMAN W ET AL - *Cercetari experimentale si clinice in legatura cu actiunea distensiei cardiace asupra crono,dromo si batmotropismului si asupra fenomenelor electrice cardiace*, Revista de Medicina și Farmacie Târgu Mureș, XIII, 3 4:256-260
2. BABUTI D, LAB M - *Mechanoelectric contributions to sudden cardiac death*, Cardiovasc Res, 2001,50:270-279
3. BROWN A, YATANI A - *Ca and Na channels in the heart*, in "The Heart and Cardiovascular System" Ed Fozzard H, Raven Press, New York, 1986, extras
4. CALDWELL R, CLEMO H, BAAUMGARTEN C - *Using gadolinium to identify stretch-activated channels: technical considerations*, Am J Physiol, 1998, 275:C 619-C621
5. CORABOEUF E - *Abnormalities of ion movements in cardiac hypertrophy and failure*, Therapie, 1992, 47:957-970
6. CRAELIUS W, CHEN V, ELSHERIF N - *Stretch activated ion channels in ventricular myocytes*, Biosci Rep, 1988, 8:407-414
7. FRANZ M, CIMA R, WANG D ET AL - *Electrophysiological effects of myocardial stretch and mechanical determinants of stretch activated arrhythmias*, Circulation, 1992, 86:968-978
8. GUHARAY Y, SACHS F - *Stretch activated single ion channel currents in tissue cultured embryonic chick skeletal muscle*, J Physiol (Lond) 1984,352:685-701
9. HAGIWARA N, MASUDA H, SHODA M, IRISAWA H - *Stretch activated anion currents of rabbit cardiac myocytes*, J Physiol (Lond) 1992,456:285-302
10. HANSEN D, CRAIG S, HONDEGHEM L - *Stretch induced arrhythmias in the isolated canine ventricle*, Circulation, 1990, 81:1094-1105
11. HANSEN D, BORGANELLI STACY, TAYLOR K - *Dose-dependent inhibition of stretch induced arrhythmias by gadolinium in isolated canine ventricles*, Circulation Res, 1991,69:820-831
12. HANSEN D - *Mechanoelectrical feedback effects of altering preload, afterload and ventricular shortening*, Am J Physiol, 1993, 264: H423 H432
13. HARSDORE R, LANG R, FULLERTON M, WOODRUCK E - *Myocardial stretch stimulates phosphatidylinositol turnover*, Circulation Res, 1989, 65:494-501
14. HEIN S, KOSTIN S, HELING A ET AL - *The role of the cytoskeleton in heart failure*, Cardiovasc Res, 2000,45:273-278
15. HOFFMAN B, CRANFIELD P - *Electrophysiology of the Heart*, McGraw Hill, New York, 1960
16. HU H, SACHS F - *Characterizing whole cell mechanosensitive currents in chick heart*, in APS Conference: Mechanotransduction and Regulation of Growth and Differentiation, Sarasota, Florida, 1994, A107
17. HU H, SACHS F - *Stretch activated ion channels in the heart*, J Mol Cell Cardiol, 1997, 29:1511-1523
18. IMANISHI S, ARITA M - *Electrophysiological changes in the failing myocardium*, Nippon Rinsho, 1993, 51:1203-1209
19. KENT R, THOBER K, COOPER G - *Load responsiveness of protein synthesis in adult mammalian myocardium: role of cardiac deformation linked to Na^+ influx*, Circulation Res, 1989,64:74-85
20. KOHI P, NESBIT D - *Mechanosensitive connective tissue: potential influence of heart rhythm*, Cardiovasc Res, 1996, 32:62-68
21. KOHI P, NESBITT A, COOPER P, LEI M - *Sudden death by commotio cordis: role of mecanolectric feedback*, Cardiovasc Res, 2001, 50:280-289
22. LAB M - *Mechanically dependent changes in action potentials recorded from the intact frog ventricle*, Circulation Res, 1978, 42:529-528
23. LEGUENNEC J, WHITE E, BANNIER F ET AL - *Stretch induced increase of resting intracellular Ca concentration in single guinea-pig ventricular myocytes*, Exp Physiol, 1991, 76:975-978
24. LU H, LANG G, BROOKS CH - *Factors controlling activity of pacemaker cells in the mammalian sinoatrial node*, in "Electrophysiology and Ultrastructure of the Heart", Eds Sano T, Mizuhira V, Matsuda K, Bunkodo Co, Tokyo, 1967, 117
25. MORRIS C, SIGURDSON W - *Stretch inactivated ion channels coexist with stretch activated ion channels*, Science, 1989, 243:807-809
26. OVIZE M, KLONER R, PRZYKLENK K - *Stretch preconditions canine myocardium*, Am J Physiol, 1994, 266:H137-H146
27. REITER M, SYNHORST D, MANN D - *Electrophysiological effects of acute ventricular dilatation in the isolated rabbit heart*, Circulation Res, 1988,62:554-562

28. ROSEN S, LAHORRA M, COHEN M, BUTTRICK P - *Ventricular fibrillation threshold is influenced by left ventricular stretch and mass in the absence of ischaemia*, Cardiovasc Res, 1991,25:458-462
29. RUKNUDIN A, SACHS F, BUSTAMANTE C - *Stretch activated ion channels in tissue-cultured chick heart*, Am J Physiol 1993, 264:H960-H972
30. SACHS F - *Mechanically sensitive ion channels: biological models for nanoscale stress sensors*, in "Nondestructive Characterization of Materials", Ed Green R, Plenum Press, New York, 1994,621-628
31. SASAKI N, MITSUYE T, NOMA A - *Effects of mechanical stretch on membrane currents of single ventricular myocytes of guinea-pig heart*, Jpn J Physiol, 1992, 42:957-970
32. SIGURDSON W, RUKNUDIN A, SACHS F - *Calcium imaging of mechanically induced fluxes in tissue-cultured chick heart: role of stretch-activated ion channels*, Am J Physiol, 1992, 262:H1110-H1115
33. STACY G, JOBE R, TAYLOR, HANSEN D - *Stretch induced depolarizations as a trigger of arrhythmias in isolated canine left ventricles*, Am J Physiol, 1992, 263:H613-H621
34. WHITE E, LEGUENNEC J, NIGRETTO J ET AL - *The effects of increasing cell length on auxotonic contraction, membrane effects potential and intracellular Ca transients in single guinea pig ventricular myocytes*, Exp Physiol, 1993, 78:65-78
35. YANG X, SACHS F - *Mechanically sensitive, nonselective cation channels*, in "Nonselective Cation Channels: Pharmacology, Physiology and Biophysics, eds Slemen D and Heschler J, Birkhauser Verlag, Basel 1993, 79-92



Proteinele de șoc termic (proteinele de stres) - un nou concept în etiopatogenie și tratament

Monica Szabo

Proteinele de șoc termic, sau proteinele de stres sunt un grup de proteine înalt conservate filogenetic, a căror semnificație a fost descoperită în ultimele două decenii, și continuă să fie descoperite, și cercetate implicația acestora în fiziologia și fiziopatologia celulară, respectiv, și posibilele aplicații terapeutice. Acest referat încearcă să treacă în revistă principalele caracteristici și funcții a proteinelor de șoc termic, cu referiri la posibilitatea, deja parțial documentată, a folosirii lor în tratamentul cancerului, a unor boli autoimune, și infecții cronice. Cuvinte cheie: proteine de șoc termic (Hsp), chaperoni, autoimunitate

Heat shock proteins, or stress proteins are some phylogenetically high conserved proteins, their significance was revealed only in the past two decades, and there is still growing evidence, about their special role and implication in the physiology, and pathophysiology of the cells, and there are ongoing experiments about its therapeutic benefit. This review tries to summarize the essential characteristics and functions of the heat shock proteins, mentioning the possibilities of using them in the treatment of cancer, certain autoimmune diseases, and chronic infections.

Keywords: Heat shock proteins (Hsp), chaperons, autoimmunity

Stresul fiziologic, de la ischemie la mutații genetice, produce stări patologice în care numărul comun este suferința proteică și distrugerea structurii spațiale a acestuia. Răspunsurile celulare de autoprotecție, pentru restabilirea homeostaziei sunt multiple; unul din acestea este expresia și creșterea sintezei proteinelor de șoc termic, care ajută la remodelarea proteinelor de structurate, acestea fiind puternic citoprotectoare.

Sunt peste 30 de ani de când Ritossa și colaboratorii²⁷ au descris fenomenul prin care incubarea glandei salivare a larvei de *Drosophila melanogaster*, la temperaturi mari, determină dezvoltarea unor noi loci de transcriere. Totuși numai peste 12 ani au fost identificate acele proteine care se sintetizează în urma

expunerii la căldură. Aceste proteine au fost denumite proteine de șoc termic (heat shock protein-Hsp). Răspunsul la șoc termic este definit ca o modificare temporară în metabolismul celular, care apare ca răspuns la expunere subletală la căldură. Aceste modificări sunt rapide, tranzitorii și din ele rezultă familia proteinelor menționate. Temperatura necesară inducerii unui răspuns de șoc termic este de 5-10 grade deasupra condițiilor normale de creștere a organismului. Fenomenul clasic de termotoleranță câștigată a dus la identificarea claselor majore de proteine de șoc termic la *Escherichia coli*. Celulele supuse unui preșoc neletal de 42 de grade C ulterior supraviețuiesc șocului, de altfel letal, de 46 grade. Celulele preșocate modifică spectrul normal de proteine și încep să sintetizeze câteva proteine în concentrație mare.¹²

În următorii ani s-a demonstrat că aceste proteine sunt prezente în toate speciile procariote și eucariote și sunt extrem de bine conservate în cursul filogenezei (de ex. secvențele de aminoacizi ale HSP 70 la om și la *E. coli* sunt identice în proporție de 50%). Totuși înaintea descrierii exacte a proteinelor de șoc termic la *Escherichia coli*, Georgopoulos și colaboratorii au descris prezența unor proteine care ajută proteinele din celulă în obținerea, respectiv menținerea structurii spațiale corecte, ulterior izolându-se mai multe proteine cu aceleași funcții. Acele grupe de proteine care ajută la structurarea proteică au fost denumite chaperoni. Proteinele de șoc termic fac parte din această familie. Sinteza lor crește imediat după ce organismul este expus unui stress extern, incluzând activitatea fizică. Mai nou se consideră o terminologie mai adecvată denumirea de familia proteinelor de stress, expresia lor fiind declanșabilă de diferite situații de stress, nu numai temperatura crescută, deși multe din aceste proteine au funcții și în afara stărilor de stress. Producția de proteine de șoc termic este un răspuns generalizat al organismului la stressul metabolic și de mediu.²¹

CARACTERISTICI

Proteinele de șoc termic sau proteinele de stress sunt un grup de aproximativ 25 de proteine, cu o înaltă omologie structurală între diferitele specii, de la procariote la om. Aparțin unei familii multigenice de proteine cu greutatea moleculară între 10 și 150 kDa și se găsesc în toate compartimentele celulare majore.

Sunt denumite după mărimea lor (de ex Hsp 27, Hsp70, etc. Genele lor sunt simbolizate cu litere mici (hsp 27, hsp 70). Diferența dintre membrii familiei Hsp, expresate constitutiv sau induse, este arbitrară, aceasta variind de la țesut la țesut, de la celulă la celulă.

Se poate afirma, după cercetările cunoscute în prezent, că toate speciile au proteine de șoc termic, dar acestea variază în modalitatea de expresie, expresia de hsp fiind corelată cu rezistența față de stress. Caracteristicile legate de specii ale sintezei Hsp se corelează cu nivelul stressului la care sunt supuse în mod normal diferitele specii.

Hipertermia, ischemia, stressul oxidativ, sinteza de citokine, deprivarea de glucoză, alterarea nivelului seric al calciului și pH-ului, a AMP ciclic, Na inositol trifosfatul, protein kinaza C, protein fosfataze, metale grele, analogi de aminoacizi, exercițiul fizic², inflamația sunt inductori potenți ai expresiei de hsp în diferite tipuri de celule, procariote și eucariote. Totuși proteinele de stress nu sunt sintetizate doar în celulele stresate. Multe din proteinele de șoc termic sunt sintetizate în permanență pentru diferite funcții de susținere.

Există proteine intracelulare fără domeniu transmembrantar. Intracelular ele au o localizare aparte în funcție de natura lor. Astfel Hsp 25, Hsp 70 și Hsp 90 se află în citosol, Hsp 60 și unele subseturi de Hsp 70 în mitocondrii, iar în reticulul endoplasmatic găsim alți chaperoni. Proteinele de șoc termic se clasifică în 5 grupe în funcție de greutatea familială: 70kDa 90kDa, 50-60kDa, 20-30kDa, și 100-110kDa (Tabelul I).

Practic toate proteinele de șoc termic asociază ATP și o activitate moderată de ATPază, la capătul aminoterminal. Secvența de ATPază este foarte bine conservată filogenetic. Sinteza crescută de HSPs este mediată la mai multe nivele, ca de ex. sinteza de mRNA, procesarea posttranscripțională a mRNA, translația. Este de nevoie de expresia de Hsp și la temperatură normală, condiții de bază, dar nivelul de expresie este redus, și subgrupul de Hsp expresat este diferit.²

Tabelul I. Caracteristicile principalelor proteine de șoc termic

Familii	Câteva membri	Țesut	Cochaperoni	Funcție celulară	Semnificație
Hsp110	Hsp 110	nucleolă, citoplasmă citoplasmă	Hsc70, Hsp40	termotoleranță	toleranță ischemică
	Hsp105			stress osmotic	stân hiperosmolare, deshidratare
Hsp90	Hsp90alpha (Hsp86)	citoplasmă	Hsp70, Hsp56, p23	legat de receptorii steroidici	ateroscleroză
	Hsp90beta (hsp84)	citoplasmă	imunofilin, ciclofilin		imunosupresie, transplant
Hsp70	Hsp70constitativ	citoplasmă, peroxisomi	Hsp40	restructurare proteică	legare CFTR, tbc, lepră
	Hsp70inductibil	citoplasmă, nucleu	RAD46, Hsp 40	restructurare proteică	citoprotecție
	mHsp75	mitocondria		translocare, restructurare	citocrom c, apoptoză
Hsp60	Hsp60	mitocondrii		translocare	ateroscleroză, diabet
	Hsp58	mitocondrii		asamblează polipeptide	boli autoimune
Hsp mici	Hsp22			epurarea deșeurilor intracelulare	

FUNCȚII

Multe din ele pot funcționa ca chaperoni. Chaperonii sunt molecule care facilitează structurarea, asamblarea proteică, ca o fază finală a sintezei lor. Proteinele de șoc termic au două funcții de chaperon: a) structurarea spațială, stabilizarea polipeptidelor, proteinelor nou sintetizate, b) remodelarea, reactivarea proteinelor denaturate, destructurate. Hsp 70 și Hsc 70 sunt bine cunoscute din acest punct de vedere dar, s-a demonstrat și rolul catalitic major al Hsp 40 în ciclul de structurare. Ar avea astfel următoarele roluri: a) legarea temporară a polipeptidelor recent sintetizate, până ce sinteza este completă, b) menținerea lanțului de polipeptide într-o conformație adecvată pentru translocare, c) prevenirea agregării intra sau intermoleculare, menținerea complexelor de aporeceptori steroidici în stare de liganzi competenți (Hsp90), d) asistarea la degradarea metaboliților toxici e) dezasamblarea activă a veziculelor, f) facilitarea transportului transmembranar al proteinelor. Aceste funcții proteinele de stress le exercită fie singure, dar mai ales împreună cu una sau mai multe proteine, numite co-chaperoni.¹⁰

Pe lângă rolul lor bine documentat în supraviețuirea celulară (necroză și apoptoză)⁹, există numeroase dovezi privind rolul chaperonilor în adaptarea fiziologică din hipertrofia cardiacă, din precondiționarea ischemică, alterarea peretelui vascular, stressul oxidativ, procesul de îmbătrânire. La șobolanii vânațoși s-a putut demonstra existența autoanticorpilor anti hsp naturali de tip IgD sau Ig M ceea ce dovedește un răspuns imun natural, reglat, față de Hsp.

HSP110

Este una din proteinele primare de șoc termic, sintetizată mai ales la nivelul ficatului și a creierului (este proteina cea mai abundentă din creier).¹¹

HSP90

Hsp90, o proteină de șoc termic de 90kDa, este cea mai abundentă dintre proteinele de șoc termic, foarte abundentă în citosol, la care a fost studiată mai ales interacțiunea cu receptorii steroidici neformați, respectiv cu kinazele nou sintetizate. Acționează împreună cu alte proteine de șoc termic. Ea a fost identificată ca un chaperon ATP independent, cu multiple funcții regulatorii, care participă mai ales la stabilizarea polipeptidelor complexe în faza tardivă de structurare. În 1986 a fost raportată existența unei proteine legate de complexul receptorilor de steroizi, fără ca această proteină să intre în structura directă a acestuia. Acesta a fost Hsp90, care, mai nou, se știe că împreună cu încă 7 proteine participă la activarea și reglarea receptorilor. Se pare că funcția acestor proteine nu este numai de a media inactivarea receptorului, ci mai verosimil de a-l menține într-o stare activabilă.

Membrii acestei familii, Hsp90a și Hsp90b, au o legătură funcțională cu receptorii de hormoni steroizi. Hsp 90 cu partenerii chaperoni, Hsp70, Hsp 56 leagă direct, stabilizează și menține complexul de

aporeceptori într-o conformație inactivă. Legarea ligandului (ex. estrogen) la complexul de aporeceptori induce hidroliza ATP prin Hsp90, care se disociază de receptor, acesta devenind activ și care se poate acum lega de proteina stimulatorie. Nivelele crescute de sinteză a Hsp90 destabilizează complexul de receptor estrogenic-răspuns estrogenic, scăzând expresia genei țintă, indicând un feed back reglator. Funcția acestui chaperon este mediată prin căi de transducere de semnal, implicând variate proteinkinaze, atât de tipul tirozinei, cât și serintreoninei, calmodulinei, actinei, tubulinei, etc.⁶ Hsp90 din *Saccharomyces cerevisiae* este esențială pentru supraviețuirea în orice condiție a acestui organism, relevând rolul lui important la eucariotele inferioare.

Hsp70

Hsp 70 sunt grupul cel mai studiat de Hsp.¹² În citosol Hsp 70 se leagă de polipeptide recent sintetizate înaintea eliberării lor din ribosomi. Toți membrii familiei Hsp70, clasă de chaperoni, au două domenii distincte: un domeniu foarte constant N terminal, cu domeniu ATPazic, și un domeniu C terminal foarte variabil, care leagă peptide hidrofobe scurte. Funcția de chaperon necesită domeniul N terminal. Prin acesta se realizează de exemplu funcția cardioprotectivă.¹⁴ Chaperonul constituitiv Hsc70 are o homologie de secvență de 80% cu Hsp70. Efectul cardioprotectiv al acestuia se manifestă chiar și la creșteri foarte mici a expresiei lor. Mai nou se sugerează existența și a altor funcții a acestui chaperon.

Hsp60

Și aceste proteine sunt chaperoni care influențează mai multe trepte ale sintezei, transportului și degradării proteice, pe de altă parte leagă, cu o afinitate înaltă, lipoproteinele cu densitate mare.⁴ Se află localizate mai ales în mitocondrii, expresia la nivelul suprafeței celulare a fost întâlnită în condiții de inflamație cronică, sau vindecare de leziune. În condiții de stress se observă modificarea localizării intracelulare, cât și creșterea numărului lor și parțial expresia lor pe suprafața celulară. Hsp60 microbial este o țintă majoră a apărării imunitare în infecții. Hsp60 are proprietăți imunostimulatoare, fiind un semnal de alarmă pentru sistemul imun⁹, când este expresat din celule autologe stimulate: este ținta cheie a macrofagelor, limfocitelor T și a unor seturi de autoanticorpi în diferite inflamații cronice respectiv în ateroscleroză, fiind deci capabilă să inducă un proces autoimun, prin stimularea receptorilor CD14 la nivelul monocitelor, macrofagelor, cum este cazul probabil în boala Crohn, insulita, artrita reumatoidă, etc.¹³ Culturile de macrofage umane răspund la adăugarea de Hsp60 prin sinteză de TNF (tumor necrosis factor)-alfa și radicali de oxigen, în funcție de doză, asemănător stimulării cu lipopolisaharide. Pe de altă parte s-a demonstrat și creșterea sintezei, la stimulul Hsp60, de IFN (interferon) gamma, a interleukinelor IL 12, IL 15, IL-6, moleculelor de adeziune: E-selectină, ICAM-1, VCAM-1, citokine proinflamatorii care stimulează linia Th1.²⁰ Gena

proteinei hsp60 este slab indusă față de genele hsp90, hsp70, prezintă doar o creștere de numai de 2-3 ori, în timp ce creșterea la hsp70,90 este de 5-16 ori după expunerea la șoc termic.

Hsp mici

Proteinele cu masă moleculară mică au rol în epurarea deșeurilor intracelulare.

Hsp și boală

Infecția virală induce expresia de proteine de stress. Virusurile se folosesc de aceste proteine pentru a facilita preluarea mașinării de replicare a ADN celular, și le mai folosesc pentru asamblarea particulelor virale. În eucariote proteinele de șoc termic se leagă de antigene cheie, care controlează progresia ciclului celular și pot cauza transformări maligne³²

Stressul oxidativ induce sinteza Hsp. În limfocitele izolate de la indivizii care au beneficiat de tratament cu antioxidanți, s-a putut demonstra o activare net crescută a hsp105, 90, 70, 40, și o sinteză scăzută a hemoxigenazei HO-1 (Hsp32). Deci statusul antioxidant modulează sinteza de proteine de stress după expunere la căldură.²⁵

Proteinele de stress sunt antigene **imunodominante**. Fiind abundent expresate și cu distribuție largă, inundă sistemul imun cu epitopi. Deși sunt proteine înalt conservate, există secvențe divergente suficiente pentru sistemul imun de a le scăpa de sub toleranță. În anumite cazuri răspunsul antiHsp este protectiv. De menționat că toate bacteriile sunt codate pentru Hsp, iar virusurile încorporează proteinele de șoc termic ale gazdei în învelișul lor. Confruntarea frecventă a sistemului imun cu regiuni conservate ale proteinelor de stress, care sunt comune la diferiți patogeni microbieni poate potența imunitatea antimicrobiană. În anumite condiții de stres, Hsp este exprimat la suprafața celulară în cantitate mai mare, respectiv bacteriile, virusurile pot avea în învelișul lor proteine de stress, care sunt similare cu cele din organismul gazdă și care, venind în contact cu sistemul imun pe termen lung, pot converti reacția imună. Se consideră că aceste mecanisme ar da naștere la boli autoimune, prin reacție încrucișată sau alte mecanisme (ex Hsp60). La pacienții cu ateroscleroză s-au identificat autoanticorpi Hsp. Hsp este implicat și în asamblarea moleculelor care joacă un rol important imunologic. Rolul etiopatogenetic al Hsp a fost documentat în anumite boli autoimune³³ cum ar fi boala Crohn²⁸ și rectocolita ulcerohemoragică, diabetul zaharat tip 1, artrita reumatoidă. În aceste boli s-a încercat modularea mecanismelor legate de secreția de Hsp și autoanticorpi Hsp, cu rezultate promițătoare. Hsp reprezintă semnale interne pentru activarea celulelor dendritice, componente cheie ale răspunsului imun adaptativ și înnăscut. Hsp pusă în libertate prin moartea celulară necrotică (nu și cea apoptotică) stimulează macrofagele pentru a secreta citokine, respectiv induce expresia de antigen și costimulatori pe celula dendritică. HSP gp 96 și HSP 70 stimulează diferite molecule²⁷. Prezența HSP în mediul

extracelular și activarea consecutivă a celulelor antigen prezentatoare constituie un mecanism excelent de răspuns la moartea celulară². Hsp70 pregătește peptide antigenice pentru a le prezenta sistemului imun. Poate prezenta peptidele nou sintetizate reticulul endoplasmatic, și prin acestea vine în contact cu proteinele de MHC clasa I, care prezintă peptidele limfocitului T-CD8 citotoxic. Peptidele generate în lizozomi vor fi înglobate în proteinele MHC clasa II și prezentate celulelor T-CD4 helper.

Stressul emoțional și mecanic induce expresia de Hsp, cum a fost dovedit experimental pe șobolani la care exprimarea de Hsp 70 a crescut la nivelul endotelului vascular în urma stressului psihic.

Neuronii sunt deosebit de vulnerabili la stress fiindcă nu au mecanisme adaptative de scurtă durată. În contrast, țesutul glial este capabil de un puternic răspuns la stress.

Din Hsp se pot prepara **vaccinuri** antitumorale. Purificând Hsp din tumora pacientului se obține un Hsp care aduce cu sine fragmente mici din alte proteine expresate de celula respectivă, care ar putea fi o amprentă moleculară a celei respective canceroase. Prin administrarea acestui complex Hsp-peptid, ca vaccin, sistemul imun al individului respectiv poate fi stimulat să atace celulele purtătoare ale acelei proteine. Multiple experimente sunt în faza a III-a de cercetare privind folosirea Hsp ca medicament în tratamentul anticanceros (de ex HSPE7 care este un antigen viral combinat cu Hsp 65 de origine Mycobacteriană ar fi benefic în cancerul anal). Se pare că acțiunea lui, cel puțin ca tratament adjuvant, este de necontestat; atât tumora inițială, cât și metastazele scad în mărime. Se pare de altfel că celula canceroasă expresează Hsp la nivelul membranei celulare. Având în vedere că aceste proteine stimulează limfocitele T citotoxice, vaccinurile Hsp pot fi eventual folosite în anumite infecții cronice, cum ar fi tuberculoza.

S-a propus că atenuarea răspunsului la stres ar avea ca și cauză posibilă **senescența** sistemului imun. Scăderea dependentă de vârsta celulară a capacității de legare a promotorului hsp 70 de către factorul transactivator HSF1, ar fi o explicație în acest sens.²⁴

Hsp are rol în **precondiționare**. Efectul precondiționat al unui factor de stress arată reactivitate încrucișată, un stimul (ex căldură) conferind protecție celulară și față de alte stressuri celulare timp de ore, eventual zile. Expresia rapidă a genelor de proteine de stress se realizează prin mecanisme transcripționale și translație preferențială. Sinteza crescută de Hsp persistă doar în perioada inițială de stress. Chiar dacă organismul continuă să fie expus temperaturilor mari, expresia de HSP va scădea și va reveni la normal. Răspunsul la stress nu este același cu răspunsul adaptativ la modificările graduale ale mediului ambiant. Sinteza crescută de Hsp70 protejează împotriva insuficienței cardiace, se suportă mai bine ischemia.¹⁶ O precondiționare printr-un scurt episod ischemic indus (5 minute ocluzie, 5 minute reperfuzie) induce secreție

crescută de HSP în țesutul cardiac. Pe inimă de iepure a fost studiat intervalul la care apare creșterea secreției după preconditionare, observându-se o creștere după 3 până la 72 de ore, care a dispărut la 168 de ore. Expresia crescută de HSP a fost observată atât pe miocardul condiționat cât și pe cel necondiționat, mai ales la nivelul miocitelor, într-un mod inhomogen, dar nu și la nivelul endoteliului.¹ Cardiomiocitele izolate ale șobolanului adult, expuse la șoc termic (la 42 de grade C pentru 15 min) și apoi incubate la 37 de grade pentru 24 de ore (procesul de producție de hsp), au suferit o creștere a producției de hsp70 cu 80 până la 260%, creșterea maximă fiind la 9 ore. Dacă aceste celule au fost expuse la hipoxie timp de 120 min și reoxigenare de 15 min s-a observat o creștere a supraviețuirii acestor celule de 1,5-2,5 ori față de celulele netratate cu șoc termic inițial, citoprotecția maximă fiind observată la 12 ore de procesul de producere de Hsp. S-a dovedit de asemenea că tratamentul cu șoc termic a atenuat creșterea activității poli-ADP-riboze sintetazei (PARS) induse de hipoxie-reoxigenare cu 50%. PARS este o enzimă a nucleului care consumă fosfații macroergici în exces în starea de reoxigenare). Deci s-ar putea ca efectul citoprotector al hsp70 în hipoxie-reoxigenare să fie exercitat prin atenuarea activității PARS, asupra căruia are un efect similar cu antagonistul acestuia 3 aminobenzamida.²⁹

Proteinele de stress sunt implicate în patogeniza aterosclerozei. Rolul clamidiilor în patogeniza aterosclerozei a fost sugerat de mai mulți ani.¹⁷ Totuși mecanismul de acțiune a acestor microorganisme în formarea plăcii ateromatose nu este încă pe deplin înțeles. Chlamydiile produc cantități mari de HSP60 în timpul infecțiilor cronice, persistente. Chlamydiae pneumoniae se localizează predominant în macrofage.³⁰ Mai multe studii au demonstrat că Hsp60 endogen, uman, ar putea avea rol în aterogeneză. S-a demonstrat ipoteza că placa de aterom ar conține Hsp 60 clamidial, colocalizat cu Hsp 60 uman și acesta ar stimula funcția macrofagă considerată relevantă pentru ateroscleroză, cu inducerea sintezei de citokine proinflamatorii, ca TNF alfa și metaloproteinase care degradează matricea.^{1,19} Wick, Xu și asociații demonstrează că mecanismele autoimune, mai ales cele legate de HSP joacă un rol în aterogeneză.³¹ Titrul de anticorpi IgG Hsp60 a fost mai mare la pacienții cu boală coronară demonstrată decât la cei necoronarieni, și acesta s-a corelat mai ales cu severitatea bolii.²⁶ Prevalența anti Hsp 60 a fost 76-80-85% la cei cu atingere coronariană de 1-2-3 artere, respectiv 64% la cei fără ischemie coronariană. "Deși neconcludente, aceste observații sunt compatibile cu conceptul că autoimunitatea joacă un rol în patogeniza aterogenezei, și Hsp este unul dintre autoantigenii determinanți".²²

În concluzie, se pare că această familie de proteine stă la baza unor mecanisme etiopatogenice, declanșatoare de diferite boli. Pe de o parte fiind proteine protectoare, scăderea concentrației lor duce la senescență, distrucție celulară mai rapidă, respectiv

adaptabilitate mai lentă, iar pe de altă parte pot declanșa procese autoimune prin faptul că sunt filogenetic conservate. În același timp pot fi folosite în terapia diferitelor boli, din mai multe puncte de vedere, și multe studii de faza a treia în acest sens dovedesc potențialul terapeutic legat de această familie de proteine.

BIBLIOGRAFIE

1. AFFK A, GEORGE J, GILBURD B et al *Immunization of low-density lipoprotein receptor deficient (LDL-RD) mice with heat shock protein 65 (HSP 65) promotes early atherosclerosis*, J Autoimmun, 2000, 14:115-121
2. BASU S, BINDER RJ, SUTO R et al *Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, which deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NF-kappaB pathway*, Int Immunol, 2000, 12:1539-1546
3. BENJAMIN IJ, McMILLAN DR *Stress (Heat Shock) proteins, molecular chaperons in cardiovascular biology and disease*, Circ Res, 1998, 83:117-132
4. BOCHAROV AV, VISHNYAKOVA TG, BARANOVA IN *Heat shock protein 60 is a high-affinity high density lipoprotein binding protein*, Biochem Biophys Res Commun, 2000, 277:228-235
5. CHEN W, SYLDATH U, BELLMANN K et al *Human 60-kDa Heat-shock protein: a danger signal to the innate immune system*, The Journal of Immunology, 1999, 162:3212-3219
6. CLACKSON T, WELLS JA *A hot spot of binding energy in a hormone receptor interface*, Science, 1995, 267:383-386
7. FEDER ME, HOFMANN GE *Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology*, Annu Rev Physiol, 1999, 61:243-282
8. FEHRENBACH E, NIESS AM *Role of heat shock proteins in the exercise response*, Exerc Immunol Rev, 1999, 5:57-77
9. GARCIA BERMEJO L, VIIABON N, PEREZ C et al *Modulation of heat shock protein 70 (HSP70) gene expression by sodium butyrate in U-937 promonocytic cells: relationship with differentiation and apoptosis*, Exp Cell Res, 1997, 236:268-274
10. HARTL FU, MARTIN J *Molecular chaperones in cellular protein folding*, Current Opinion in Structural Biology, 1995, 5:92-102
11. HENTCS T, NAGY E, CSERMELY P et al *Mammalian Hsp70 and Hsp110 proteins bind to RNA motifs involved in mRNA stability*, J Biol Chem, 1999, 274:17318-17324
12. HIGHTOWER LE *Heat shock, stress proteins, chaperons, and proteotoxicity*, Cell, 1986, 46:959-961
13. HORWATH L, CZIRJAK I, FEKETE B et al *Levels of antibodies against C1q and 60 kDa family of heat shock proteins in the sera of patients with various autoimmune diseases*, Immunol Lett, 2001, 75:103-109
14. KAWANA KI, MIYAMOTO Y, TANONAKA K et al *Cytoprotective mechanism of heat shock protein 70 against hypoxia/reoxygenation injury*, J Mol Cell Cardiol, 2000, 32:2229-2237
15. KIANG JG, TSOKOS GC *Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology*, Pharmacol Ther, 1998, 80:183-201
16. KILGORE JL, MUSCH TI, ROSS CR *Regional distribution of Hsp70 proteins after myocardial infarction*, Basic Res Cardiol, 1996, 91:283-288
17. KOL A, BOURCIEF T, LICHTMANN AH *Chlamydial and human heat shock protein 60s activate human vascular endothelium, smooth muscle cells, and macrophages*, J Clin Invest, 1999, 103:571-577
18. KOL A, LICHTMANN AH, FINBERG RW et al *Cutting Edge: Heat Shock Protein (HSP) 60 activates the innate immune response: CD14 is an essential receptor for Hsp 60 activation of mononuclear cells*, The Journal of Immunology, 2000, 164:13-17

19. KOL A, SUKHOVA GK, LICHTMANN AH - *Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor alpha and matrix metalloproteinase expression*, *Circulation*, 1998, 98: 300-307
20. LEHNER T, BERGMEIER LA, WANG Y et al - *Heat shock proteins generate beta-chemokines which function as innate adjuvants enhancing adaptive immunity*, *Eur J Immunol*, 2000, 30:594-603
21. LINDQUIST S, CRAIG EA - *The heat shock proteins*, *Annu Rev Genet*, 1988, 22:631-677
22. MAYR M, METZLER B, KIECHL S et al - *Endothelial Cytotoxicity Mediated by Serum Antibodies to Heat Shock Proteins of Escherichia coli and Chlamydia pneumoniae: Immune Reactions to Heat Shock Proteins as a Possible Link Between Infection and Atherosclerosis*, *Circulation*, 1999, 99:1560-1566
23. MENORET A, CHANDAWARKAR RY, SRIVASTAVA PK - *Natural autoantibodies against heat-shock proteins hsp70 and gp96: implications for immunotherapy using heat-shock proteins*, *Immunology*, 2000, 101:364-370
24. MOSSER D, CARON A, BOURGET L et al - *Role of the human heat shock protein hsp 70 in protection against stress induced apoptosis*, *Mol Cell Biol*, 1997, 17:5317-5327
25. PENG J, JONES GL, WATSON K - *Stress proteins as biomarkers of oxidative stress: effects of antioxidant supplements*, *Free Radic Biol Med*, 2000, 28:1598-1606
26. PROHASZKA Z., DUBA J, HORVATH L et al - *Comparative study on antibodies to human and bacterial 60kDa heat shock proteins in a large cohort of patients with coronary heart disease and healthy subjects*, *European Journal of Clinical Investigation*, 2001, 31:1-9
27. RITOSSA F - *Discovery of the heat shock responses*, *Cell Stress Chaperones*, 1996, 1:97-98
28. STEINHOFF U, BRINKMANN V, KLEMM U et al - *Autoimmune intestinal pathology induced by hsp 60 specific CD8 T cells*, *Immunity*, 1999, 11:349-368
29. TANAKA M, FUJIWARA H, YAMASAKI K et al - *Expression of heat shock protein after ischemic preconditioning in rabbit hearts*, *Japan Circulation Journal*, 1998, 62:512-6
30. WICK G, XU Q - *Infections, immunity, and atherosclerosis: associations of antibodies to Chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, and cytomegalovirus with immune reactions to heat-shock protein 60 and carotid or femoral atherosclerosis*, *Circulation*, 2000, 102:833-839
31. WICK G, XU Q - *Atherosclerosis—an autoimmune disease*, *Exp Gerontol*, 1999, 34:559-566
32. ZUGEL U, KAUFMANN SH - *Role of heat shock proteins in protection from and pathogenesis of infectious disease*, *Clin Microbil Rev*, 1999, 12:19-39



Legătura dintre infecțiile microbiene și psoriazis

Teodora Cighir¹, O. Buțiu²

Legătura dintre infecțiile microbiene și psoriazis a fost sugerată de observația că psoriazisul gutat apare la 1-3 săptămâni după o amigdalită acută cu streptococ beta hemolitic grup A, acest tip de infecții având rol și în reactivarea plăcilor cronice de psoriazis. O dovadă este prezența frecventă a streptococului beta hemolitic grup A în exsudatul faringian al acestor bolnavi, a unor valori crescute ale titrului ASLO în serul bolnavilor cu psoriazis gutat acut, precum și constatarea efectului benefic al amigdalectomiei. Recent se consideră că psoriazisul este o afecțiune autoimună, producându-se o reacție încrucișată între antigenele streptococice și antigenele pielii. Alte argumente susțin ipoteza că psoriazisul este o boală a proliferării anormale a keratinocitelor indusă de limfocitele T. Superantigenele, streptococice sau stafilococice, traversează controlul normal al activării limfocitelor T activându-le și determinând eliberarea de citokine, mediatori ai inflamației, declanșând sau agravând psoriazisul. Infecțiile microbiene, în special cele ale tractului respirator superior, dar și alte tipuri de infecții, pot constitui factori declanșatori sau agravanți ai psoriazisului, având rol în mecanismul etiopatogenetic al bolii, influența acestora exercitându-se în special prin intermediul mecanismelor imune alterate din psoriazis.

Cuvinte cheie psoriazis, infecții, boală autoimună

The connection between microbial infections and psoriasis was suggested by the observation that guttate psoriasis appear at 1-3 weeks after a acute tonsillitis with Streptococcus b haemolyticus group A, this type of infections having also a role in the reactivations of chronic plaques of psoriasis. One evidence is the frequent presence of Streptococcus b haemolyticus group A in the pharyngian exsudate of this patients, the higher values of ASLO titre in the serum of patients with acute guttate psoriasis, as well as the finding of the beneficial effect of tonsilectomy. Recently it is thought that psoriasis is a autoimmune disease, in wich is produced a cross-reactions between the streptococcal antigens and the skin antigens, wich lead to formation of autoantibody against skin. Other arguments support the hypothesis that psoriasis is a disease of abnormal proliferation of keratinocytes induced by T lymphocytes. Streptococcal or staphylococcal superantigenes passing through normal control of T lymphocyte, activate them and determine the release of citokines, mediators of inflammations, unleashing or aggravating psoriasis. Microbial infections, especially upper respiratory infections, can be releasing or aggravating factors for psoriasis, playing a role in the etiopathogenetic mechanism of the disease, their influence exercising especially between deteriorating immune mechanisms from psoriasis

Key words psoriasis, infections, autoimmune disease

Legătura dintre infecțiile microbiene și psoriazis a fost sugerată pentru prima dată de observația că forma clinică de psoriazis gutat apare la 1-3 săptămâni după o infecție acută severă a căilor respiratorii superioare, în general o amigdalită acută. Streptococul beta hemolitic grup A este implicat în producerea acestei amigdalite și este considerat ca fiind factorul declanșator al acestei forme clinice de psoriazis.¹⁷

Erupțiile psoriazice din psoriazisul gutat au mărimea unei picături de apă, având diametrul de 2-5 mm, fiind papule eritematoase acoperite de o scuamă fină. Ele apar exploziv la copii și la tineri la 1-3 săptămâni după o infecție streptococică, se localizează pe abdomen, trunchi, rădăcina membrilor, dar pot fi și generalizate. Aspectul exantematic al psoriazisului sugerează un factor sistemic în inițierea bolii.

Legătura psoriazisului gutat acut cu amigdalele streptococice este amplu documentată, dar s-ar părea că infecțiile tractului respirator superior cu grupul A de streptococi beta hemolitici au rol și în reactivarea plăcilor cronice de psoriazis.²⁶

Semnificația infecțiilor în patogeneza psoriazisului a preocupat mulți autori. Norholm și Pederson, citați de Zachariae²⁹, au constatat că infecțiile constituie factori declanșatori ai psoriazisului la 44% dintre un lot mixt de bolnavi psoriazici. Analizele de laborator și aspectul clinic indică faptul că aceste infecții sunt mai degrabă infecții de focar decât infecții acute, ele fiind mai frecvente la tineri. Tabloul clinic pe care îl îmbracă boala este în general acela de psoriazis gutat.

Holzmann și colaboratorii săi, citați de Zachariae²⁹, au realizat în 1974 un studiu referitor la acest subiect. Ei au prezentat diferite infecții care au legătură cu psoriazisul. Conform datelor lor psoriazisul gutat are legătură cu: infecții virale, amigdalite, faringite, bronșite. De asemenea, ei au constatat că psoriazisul vulgar este precedat de afecțiuni febrile, psoriazisul pustulos este

¹Spitalul Clinic Municipal, Laboratorul Central de Analize Medicale, Tîrgu-Mureș
²Disciplina Dermatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu-Mureș
Adresa pentru corespondență: Teodora Cighir, Spitalul Clinic Municipal, Laboratorul Central de Analize Medicale, str. Gh. Măneșcu 50, 4300 Tîrgu-Mureș

legat de amigdalite iar cel eritrodermic de cistopielite. Un alt fapt remarcant este acela că infecții însoțite de revaccinări sau administrare de Penicilină sunt factori declanșatori pentru psoriazis. Din acest studiu se poate trage concluzia că sediul infecțiilor este în general tractul respirator superior.

Un alt studiu referitor la legătura dintre psoriazisul gutat și infecțiile streptococice faringiene a constatat faptul că 26% dintre bolnavii cu psoriazis gutat acut au în exsudatul faringian streptococ β hemolitic grup A, comparativ cu martorii la care doar 6% îl au. Titrul crescut al anticorpilor împotriva antigenelor streptococice a fost prezent la 58% din cei din grup.⁹

Infecțiile streptococice ca factori declanșatori ai psoriazisului gutat sunt foarte frecvente, după Williams și colaboratorii săi, citați de Zachariae²⁹, ponderea lor fiind de 84%. O dovadă a legăturii cu infecția streptococică amigdaliană este prezența unor valori crescute ale titrului ASLO în serul bolnavilor cu psoriazis gutat acut. Astfel, Whyte și Baughman, citați de Domonkos⁶, au găsit valori crescute ale titrului ASLO la 85% dintre bolnavii investigați și la toți bolnavii din lot infecții acute severe ale tractului respirator superior au precedat debutul bolii cu 1-2 săptămâni. De asemenea, Norrind, citat de Zachariae²⁹, a constatat că 56% dintre bolnavii cu psoriazis gutat au un titru ASLO mai mare de 200 de unități, acest fapt indicând importanța infecțiilor streptococice.

Un alt argument în favoarea rolului pe care îl au infecțiile recurente amigdalene în etiopatogenia psoriazisului este și constatarea efectului benefic al amigdalectomiei. Astfel Nyfors și Lemholt, citați de Zachariae²⁹, au constatat că după amigdalectomie apare o ameliorare a psoriazisului la 2/3 din bolnavi. De asemenea, terapia de lungă durată cu antibiotice aplicată bolnavilor de psoriazis previne teoretic acutizările recurente după infecții.

Efectul benefic al amigdalectomiei este relatat și de alți autori care au remarcat faptul că după amigdalectomie și îndepărtarea amigdalei infectate apare remiterea psoriazisului în multe cazuri, rămânând astfel multă vreme. Această constatare recomandă la bolnavii de psoriazis tratamentul precoce al infecțiilor streptococice și îndepărtarea amigdalelor care constituie o sursă de episoade recurente de infecții streptococice.¹

Ipotezele recente referitoare la etiopatogenia psoriazisului susțin faptul că psoriazisul este o afecțiune autoimună. O serie de autori au încercat să explice mecanismul de apariție al psoriazisului gutat prin mecanism imunologic, în care rolul declanșator îl are infecția streptococică. Astfel a apărut ipoteza că în psoriazis s-ar produce o reacție încrucișată între antigenele streptococice și antigenele pielii, fapt ce ar duce la formarea de autoanticorpi împotriva pielii, declanșând un lanț de reacții imunologice ce ar avea ca efect final apariția psoriazisului.

Perez-Lorenzo și colaboratorii săi au studiat această ipoteză și au constatat faptul că aceste antigene sunt

localizate la nivelul keratinocitelor psoriazice imature și că împotriva lor se formează anticorpi, care acționează ca autoanticorpi împotriva pielii cu leziuni psoriazice. Acești anticorpi însă nu recunosc epitopi ai pielii nelezate, sănătoase a bolnavilor cu psoriazis sau a persoanelor sănătoase. De asemenea, serul antistreptococic recunoaște antigenele epidermice din keratinocitele psoriazice, dar nu pe cele ale pielii sănătoase a bolnavilor cu psoriazis sau ale persoanelor sănătoase. La nivelul leziunilor psoriazice nu au fost găsite depozite de imunoglobuline G. Concluzia lor a fost că autoanticorpii contribuie la procesul autoimun din psoriazis.¹⁶

Tot în favoarea ipotezei că psoriazisul gutat este o boală autoimună în care are rol infecția streptococică și crossreacția dintre piele și antigenele streptococice, este un alt studiu al autorilor Villeda-Gabriel și colaboratorii săi. Ei au determinat prezența în serul bolnavilor cu psoriazis gutat a anticorpilor împotriva proteinei M-5 a streptococului piogen și au constatat prezența anticorpilor de tip IgG. Acești anticorpi au recunoscut trei proteine diferite ale streptococului piogen, comparativ cu serul bolnavilor cu alte forme clinice de psoriazis sau al persoanelor sănătoase. La acești bolnavi există autoanticorpi împotriva propriei pielii cu leziuni psoriazice, aceleași antigene cutanate fiind recunoscute de anticorpi antistreptococici de iepure. Aceste date confirmă participarea sistemului imun și a infecțiilor streptococice în etiopatogenia psoriazisului gutat.²⁵

Există o serie de dovezi care susțin ipoteza că psoriazisul este o boală a proliferării anormale a keratinocitelor indusă de limfocitele T. În primul rând s-a demonstrat faptul că o serie de medicamente cu efect benefic asupra psoriazisului suprimă atât limfocitele T cât și celulele prezentatoare de antigen sau ambele. În al doilea rând, medicamente imunosupresive ca Ciclosporina și FK506, a căror acțiune primară este inhibarea selectivă a producerii citokinelor de către limfocitele T CD4+ au efect curativ foarte eficace asupra leziunilor psoriazice. În al treilea rând anticorpi monoclonali anti CD4 sunt agenți antipsoriazici foarte potenți. În final a fost demonstrat faptul că clone celulare T din leziunile psoriazice cutanate pot provoca proliferarea keratinocitelor in vitro.⁹

În ciuda acestor dovezi care sugerează un rol crucial al limfocitelor T în patogenia psoriazisului, antigenele care sunt recunoscute de limfocitele T infiltrate, sau molecula care stimulează proliferarea limfocitelor T au rămas încă neclare.

Posibile antigene care sunt recunoscute de limfocitele T în leziunile psoriazice au fost sugerate tot de observațiile clinice ale asocierii psoriazisului cu infecțiile cu streptococ β hemolitic grup A. Unii autori au evidențiat prezența unui răspuns alterat al celulelor mononucleare din sângele periferic al bolnavilor cu psoriazis la antigenele streptococice "in vitro". S-a observat chiar prezența limfocitelor T specifice împotriva antigenelor streptococice în leziunile de psoriazis gutat.²

Mai multe superantigene pot stimula limfocitele T cu exprimarea genei restrictive V β în prezența antigenului major de histocompatibilitate de clasa a II-a.^{14,27,28} Faptul că în leziunea psoriazică gena V β este exprimată sugerează faptul că limfocitele T infiltrate în leziune pot fi stimulate de superantigene. Există mai multe tipuri de superantigene produse de grupul A de streptococi β hemolitici: exotoxinele streptococului piogen tipul A, B și C, fragmentul pepsinic 22-K Da al proteinei M tipul 5, proteina asociată membranei citoplasmatic și tipul ei secretor. Proteina asociată membranei citoplasmatic stimulează receptorul V β 8, în timp ce tipul ei secretor stimulează V β 4, V β 7 și V β 8.^{4,9}

Studiindu-se comparativ răspunsul proliferativ al limfocitelor sangvine periferice la superantigenele streptococice (proteina asociată membranei citoplasmatic și forma ei secretorie) față de cele stafilococice (enterotoxina stafilococică A sau E) sau fitohemaglutinină mitogenă, s-a constatat că există o anergie limfocitară la superantigenele streptococice care este datorată unor inhibitorii serici specifici ce se găsesc în serul bolnavilor cu psoriazis și care inhibă specific răspunsul limfocitelor T la superantigene la bolnavii cu psoriazis.⁹

Rezultate asemănătoare au fost obținute și de alți autori, aceștia constatând și faptul că după ameliorarea bolii și regresia leziunilor cutanate limfocitele T răspund normal la antigenele streptococice. Aceste date dovedesc faptul că superantigenele eliberate din infecțiile de focar cu streptococ piogen induc o activare tranzitorie a limfocitelor T având ca rezultat apariția erupției cutanate specifice psoriazisului, secundar apărând o anergie temporară a limfocitelor T la aceste toxine.⁴

Linfocitele T reactive față de antigenul streptococului β hemolitic grup A au fost evidențiate și la nivelul leziunilor psoriazice ale plăcilor de psoriazis cronic, nu doar la nivelul celor recente din psoriazisul gutat.^{4,5} De asemenea, s-a constatat că limfocitele T CD4+ de la nivelul plăcilor psoriazice cronice, stimulate in vitro de către superantigene streptococice, produc gamma interferon.⁹ Aceste fapte demonstrează că rolul infecțiilor streptococice nu se rezumă doar la declanșarea psoriazisului gutat, ci ele contribuie și la agravarea leziunilor psoriazice cronice.

Superantigenele, streptococice sau stafilococice, traversează controlul normal al activării limfocitelor T și activează aceste limfocite determinând eliberarea de citokine, mediatori ai inflamației, declanșând sau agravând psoriazisul.²⁴

S-a observat că superantigenele stafilococice (enterotoxinele stafilococice A, B și C1) activează puternic monocitele și limfocitele T la bolnavii cu psoriazis vulgar, putând juca un rol în declanșarea sau agravarea psoriazisului mediată de citokine.²⁷

Alți autori au studiat dacă bolnavii cu plăci psoriazice cronice posedă stafilococ auriu producător de superantigene pe tegumentele cu leziuni psoriazice, pe cele sănătoase sau la nivelul faringelui. S-au urmărit

tulpinile de stafilococ auriu producătoare de: toxină exfoliativă, enterotoxină B sau toxina 1 a sindromului șocului toxic. Concluzia studiului a fost că superantigenele stafilococului auriu pot, la unii bolnavi, să constituie factori de exacerbare sau de declanșare a bolii.¹⁹ Acest fapt a fost evidențiat și de alți autori.¹⁰

Pornindu-se de la observația clinică că amigdalitele cronice și cariile dentare ocazional pot avea rol în inducerea sau exacerbarea psoriazisului pustulos palmo-plantar și a artritei psoriazice s-a investigat rolul receptorului V al lanțului β al limfocitelor T. Astfel s-a constatat că interleukinele 8 sunt crescute în ser și eliberate abundant de limfocitele amigdalene, putând juca un rol în acumularea de granulocite neutrofile la nivelul leziunilor palmo-plantare. De asemenea, folosirea restrictivă a receptorului V β al limfocitelor T are un rol în inducerea psoriazisului pustulos palmo-plantar.²⁸

O serie de autori, observând legătura dintre infecțiile amigdalene recurente și psoriazisul pustulos palmo-plantar au determinat anticorpii serici împotriva streptococilor a hemolitici. Ei au constatat faptul că există un răspuns imun accentuat, manifestat printr-o producție crescută de anticorpi împotriva acestor streptococi și că proteina 25-27 kDa poate fi ținta acestei anomalități imunologice.¹²

De asemenea, la acești bolnavi a fost evidențiată o producție crescută de interleukină 6, gama interferon și factor de necroză tumorală α de către celulele mononucleare amigdalene stimulate cu streptococi a hemolitici. Inducerea producerii de citokine de către streptococii a hemolitici a fost constatată la nivelul celulelor mononucleare, a limfocitelor T, dar nu și în limfocitele B din amigdale, aceste citokine putând juca un rol cheie în patogeniza psoriazisului palmo-plantar.¹³

O altă observație interesantă este că injectarea pielii sănătoase a bolnavilor psoriazici cu limfocite T CD4 induce apariția la acel nivel de leziuni psoriazice. Explicația acestui fenomen ar fi activarea locală de limfocite T.¹⁵

S-a constatat că în keratinocitele psoriazice sunt exprimate genele și proteina beta defensina 2 umană (HBD₂). Aceasta este produsă de celulele epiteliale și are activitate antimicrobiană puternică împotriva bacteriilor gram negative și a Candida, dar nu și împotriva stafilococului auriu. Este posibil ca aceasta să fie o explicație a faptului că infecțiile cu bacterii gram negative sunt rare în psoriazis.²⁰

De asemenea s-au făcut o serie de studii referitoare la legătura psoriazisului cu infecțiile fungice sau cu dermatofiti, având în vedere faptul că și Candida poate produce superantigene. Concluzia a fost că influența infecțiilor fungice nu este așa de mare.^{8,11} Alți autori au găsit o asociere frecventă între psoriazisul palmo-plantar și Candida albicans oro-faringiană.²²

Totuși infecțiile micotice cutanate pot constitui factori trigger pentru psoriazis. Astfel sunt infecțiile micotice ale plurilor, cu Candida albicans sau cu

dermatofiti, care pot constitui factori trigger pentru psoriazisul inversat și infecția cu *Candida albicans*, factor trigger pentru psoriazisul „scutecelor” sau al glandului.^{21,29} De asemenea, Rosenberg și colaboratorii săi au observat legătura dintre psoriazisul pielii păoase a capului, al pliului retroauricular și al ariilor seboreice ale feței apărut la adolescenți, cu *Malassezia ovalis*, aceste forme clinice evoluând bine în urma tratamentului cu Ketoconazole.¹⁸

În concluzie, infecțiile microbiene, în special cele ale tractului respirator superior, dar și alte tipuri de infecții, pot constitui factori declanșatori sau agravanți ai psoriazisului, având o importanță deosebită în mecanismul etiopatogenetic al bolii, influența acestora exercitându-se în special prin intermediul mecanismelor imune alterate din psoriazis.

BIBLIOGRAFIE

- AKAGI Y, KIMURA T, KUKI K et al - Role of adhesion molecules in tonsillar focal infection, Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaibo, 1998, 101:1038-1046.
- BAKER BS, BROWN D, PORTER W et al - T lymphocytes reactive for group A streptococcal antigens in chronic plaque psoriatic lesions, Arch Dermatol Res, 1999, 291:564-566.
- BAKER BS, GARIOCH JJ, HARDMAN C - Induction of cutaneous lymphocyte-associated antigen expression by group A streptococcal antigens in psoriasis, Arch Dermatol Res, 1997, 289:671-676.
- BOEHNCKE WH, ZOLLNER TM - Die Rolle bakterieller Superantigene in der Pathophysiologie der Haut, Der Hautarzt, 1999, 50:91-97.
- BROWN DW, BAKER BS, OVIGNE JM - Skin CD4+ T cells produce interferon gamma in vitro in response to streptococcal antigens in chronic plaque psoriasis, J Invest Dermatol, 2000, 114:576-580.
- DUMONCOS AN, ARNOLD HL JR, ODOM RB - Psoriasis, in Andrews Disease of skin, Clin Dermatol, 1982, 223:243.
- ENGLAND RJ, STRACHAN DR, KNIGHT LC - Streptococcal tonsillitis and its association with psoriasis: a review, Clin Otolaryngol, 1997, 22:532-535.
- HENSELER T, TAUSCH J - Mycoses bei Patienten mit psoriasis oder atopischer dermatitis, Mycoses, 1997, 40:22-28.
- HORIUCHI N, AIBA S, OZAWA H et al - Peripheral blood lymphocytes from patients are hyporesponsive to streptococcal superantigens, Br J Dermatol, 1998, 138:229-235.
- KLEIN PA, GREENE WH, FUHRER J et al - Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in outpatients with psoriasis, atopic dermatitis, or HIV infection, Arch Dermatol, 1997, 133:1463-1465.
- MIURA H, SANO S, HIGASHIYAMA M et al - *Candida* is not involved in the development of of periungual psoriatic lesion, J Dermatol Sci, 1998, 18:64-65.
- MURAKATA H, HARABUCHI Y - Analysis of serum antibodies to alpha streptococci in patients with tonsil related pustulosis palmaris et plantaris, Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaibo, 1999, 102:226-235.
- MURAKATA H, HARABUCHI Y, KATAURA A - Increased interleukin-6, interferon gamma and tumour necrosis factor-alpha production by tonsillar mononuclear cells stimulated with alpha-streptococci in patients with pustulosis palmaris et plantaris, Acta Otolaryngol, 1999, 119:384-391.
- NEMȚIȘOR E - Superantigene și implicații posibile ale acestora în psoriazis și în alte afecțiuni, Rev Med Chir Soc Med Nat Iași, 1996, 100:52-55.
- NICKOLOFF BJ, WRONE-SMITH T - Injection of pre-psoriatic skin with CD4+ T cells induces psoriasis, Am J Pathol, 1999, 155:145-158.
- PÉREZ-LORENZO R, ZAMBRANO-ZARAGOZA JF - Autoantibodies to autoantigen skin in guttate and plaque forms of psoriasis and cross-reaction of skin antigens with streptococcal antigens, Int J Dermatol, 1998, 37:524-531.
- RASMUSSEN JE - The relationship between infection with group A beta hemolytic streptococci and the development of psoriasis, Pediatr Infect Dis J, 2000, 19:153-154.
- ROSENBERG E, SKINNER R, NOAH PATRICIA - Antimicrobial treatment of psoriasis, in: Roenigk H, Maibach H (eds): Psoriasis, Marcel Dekker Inc, New York, 1990, 815-821.
- SAYAMA K, MIDORIKAWA Y, SUGAI M - Superantigen production by *Staphylococcus aureus* in psoriasis, Dermatology, 1998, 196:194-198.
- SCHRODER JM, HARDER J - Human beta-defensin-2, Int J Bioch Cell Biol, 1999, 31:645-651.
- SEEBACHER C - *Candida* in der Dermatologie, Mycoses, 1999, 42:63-67.
- SKINNER RB JR, ROSENBERG EW, NOAH PW - Psoriasis of the palms and soles is fervently associated with oropharyngeal *Candida albicans*, Acta Derm Venereol, 1994, Suppl:14-17.
- SKOV L, BAADSGAARD O - Bacterial superantigens and inflammatory skin diseases, Clin Exper Dermatol, 2000, 25:57-61.
- TOKURA Y, SEO N, OHSHIMA A et al - Hyporesponsiveness of peripheral blood lymphocytes to streptococcal superantigens in patients with guttate psoriasis: evidence for systemic stimulation of T cells with superantigens released from focally infecting *Streptococcus pyogenes*, Arch Dermatol Res, 1999, 291:382-389.
- VILLADA G, COGOLLOS SANTAMARIA, PÉREZ L et al - Recognition of *Streptococcus pyogenes* and skin autoantigens in guttate psoriasis, Arch Med Res, 1998, 29:143-148.
- WARDROP P, WELLER R, MARAIS J et al - Tonsillitis and chronic psoriasis, Clin Otolaryngol, 1998, 23:67-68.
- YAMAMOTO T, KATAYAMA I - Clinical analysis of staphylococcal superantigen hyper-reactive patients with psoriasis vulgaris, Eur J Dermatol, 1998, 8:325-329.
- YAMAMOTO T, KATAYAMA I, NISHIOKA K - Restricted usage of the T-cell receptor V beta repertoire in tonsillitis in association with palmoplantar pustulosis, Acta Derm Venereol, 1998, 78:161-163.
- ZACHARIAE H - Epidemiology and genetics, in: Kerkhof PC (eds): Textbook of psoriasis, Blackwell Science Inc, Oxford, 1999, 3-11.

Actualități în angina pectorală instabilă

L. Cozlea, Cristina Tătar, Rodica Rediș, D. Cozlea

Ultimele lucrări publicate în domeniul angorului instabil au permis demonstrarea interesului abordării invazive centrată pe coronarografie și angioplastie percutanată precoce, precizarea eficacității și condițiilor de utilizare ale diferitelor substanțe antitrombotice (heparine cu greutate moleculară mică, inhibitorii receptorilor glicoproteinei IIb/IIIa, inhibitorii direcți ai trombinei)

Studiile FRISCII, TIM11B, FRAXIS sunt studii noi în acest domeniu, însă informații valoroase obținem și din studii mai vechi (CAPTURE și PRISM).

Cuvinte cheie: angina pectorală instabilă, heparine cu greutate moleculară mică, inhibitorii receptorilor glicoproteinei IIb/IIIa

The last studies evaluating unstable angina demonstrated the real interest for coronary angiography and percutaneous transluminal coronary angioplasty and the efficacy of antithrombotic drugs: low weight molecular heparin, glycoprotein IIb/IIIa antagonists, thrombin inhibitors.

FRISC II, TIM11B, FRAXIS are several new studies but we have important information from older studies like: CAPTURE, PRISM.

Keywords: unstable angina, low weight molecular heparin, glycoprotein IIb/IIIa antagonists

Studiul FRISC II (Fragmin during instability in coronary artery disease) este primul studiu prospectiv randomizat care demonstrează clar interesul atitudinii invazive bazată pe coronarografie și revascularizare precoce, comparativ cu atitudinea noninvazivă.^{12,21}

În grupul pacienților abordați invaziv, după 6 luni s-a observat o reducere semnificativă a mărimii infarctului miocardic comparativ cu grupul pacienților tratați noninvaziv. În schimb, reducerea mortalității nu a atins pragul semnificației statistice. Angina și respitalizarea au fost reduse la jumătate în grupul invaziv. Beneficiul cel mai important al atitudinii invazive a fost observat la pacienții mai gravi. Astfel, acest studiu validează interesul pentru strategia invazivă în angina pectorală instabilă, în contextul progreselor recente ale angioplastiei percutanate precoce și în particular, grație utilizării stenturilor și inhibitorilor de receptori IIb/IIIa.

Utilizarea heparinelor cu greutate moleculară mică în angina pectorală instabilă

Durata optimă a tratamentului

Studiul ESSENCE (Efficacy and Safety of Subcutaneous Enoxaparin on Non-Q-wave Coronary Events) publicat în 1997, a demonstrat superioritatea enoxaparinei asupra heparinei nefracționată vis-a-vis de criteriul combinat care asociază decesul-infarctul miocardic - recidivele anginoase. Beneficiul enoxaparinei a apărut la 48 h și a persistat o lună, chiar când durata tratamentului a fost scurtă, de la 48 ore la 8 zile (în medie 3, 5 zile).^{14,16}

A rămas însă nerezolvată o problemă importantă: care este durata optimală a tratamentului? Studiile FRISC II și TIM 11B (Trombolysis in Myocardial Infarction) au încercat să răspundă la această întrebare, comparând rezultatele administrării scurte cu cea prelungită a heparinelor cu greutate moleculară mică.¹⁷

Studiul FRISC II⁹ s-a efectuat pe 2267 pacienți. După faza inițială de tratament cu dalteparină timp de 5 zile, pacienții au primit timp de 3 luni, în mod aleator, și dublu orb, fie dalteparină, fie placebo în 2 injecții subcutanate pe zi. Criteriul principal de urmărire a fost apariția decesului sau a infarctului miocardic. După 3 luni, nu au fost observate diferențe semnificative între cele 2 grupuri. Analiza "a posteori" a arătat totuși o

diferență semnificativă la o lună de tratament în favoarea dalteparinei. Luând în considerare criteriul combinat: deces-infarct-revascularizație se constată beneficii după o perioadă de 3 luni în grupul cu dalteparină, dar beneficiile inițiale nu se regăsesc după 6 luni. Din contră, s-a observat o creștere a accidentelor hemoragice în grupul cu dalteparină.^{1,24}

Studiul TIMI 11B a inclus 3910 pacienți, randomizați pentru a primi fie heparine nefracționate timp de 3 zile, apoi injecții subcutanate placebo, fie enoxaparină inițial în bolus, apoi subcutanat timp de 43 zile. Luând în considerare criteriul care asociază: decesul-infarctul miocardic-revascularizația de urgență, grupul cu enoxaparină a fost privilegiat, cu o superioritate asupra grupului cu heparine nefracționate începând de la 48 ore și menținându-se stabil până în ziua 43. S-a constatat că în grupul cu enoxaparină a existat un procentaj mare al accidentelor hemoragice în timpul tratamentului cronic după externare. Interpretarea cea mai plauzibilă a acestui studiu este că administrarea prelungită de enoxaparină nu aduce beneficii suplimentare celor obținute după primele zile de tratament. Ea determină și un risc hemoragic sporit.

Studiul FRAXIS a avut ca obiectiv compararea eficacității tratamentului cu heparine nefracționate timp de 6 zile cu cea a tratamentului cu nadroparină pe o perioadă de 6-14 zile. 3468 pacienți au fost randomizați în 3 grupuri:

- heparine nefracționate timp de 6 zile
- nadroparină timp de 6 zile
- nadroparină timp de 14 zile

Eficacitatea a fost analizată în a 14-a zi de tratament, luând în considerare un triplu criteriu: deces de cauză cardiovasculară - infarctul miocardic și angor recidivant sau refractar. Nici o diferență de eficacitate sau toleranță nu a fost observată între primele 2 grupuri. De asemenea, nu s-a constatat nici un beneficiu suplimentar în grupul nadroparinei timp de 14 zile. În schimb în acest grup a apărut un procent mai mare a accidentelor hemoragice.^{19,29}

Studiile FRISC II, TIMI 11B și FRAXIS nu aduc argumente solide în favoarea tratamentului prelungit cu heparine cu greutate moleculară mică. După o săptămână de tratament raportul beneficiu-risc scade din cauza accidentelor hemoragice.

Ce heparine cu greutate moleculară mică utilizăm preferențial?

Este posibil ca heterogenitatea funcțională și moleculară a heparinei cu greutate moleculară mică să antreneze diferențe de eficacitate biologică și clinică. Printre substanțele folosite azi în tratamentul anginei pectorale instabile, singură enoxaparină și-a demonstrat superioritatea față de heparinele nefracționate. Această superioritate a fost confirmată de rezultatele metaanalizei studiilor TIMI 11B și ESSENCE de la 2 până la 43 zile pentru triplul criteriu: deces-infarct miocardic-revascularizație de urgență. În schimb, dacă se ia în considerare ca și criteriu mortalitatea, diferența observată în favoarea enoxaparinei nu atinge semnificația statistică. Cea mai mare eficacitate clinică

a enoxaparinei poate fi explicată prin efectele sale biologice, în particular prin interacțiunea sa cu plachetele și factorul Willebrandt. Este posibil de asemenea, ca profilul de risc al populației studiate în ESSENCE și TIMI 11B, mult mai sever decât în FRIC (Fragmin in Unstable Coronary artery disease) și FRAXIS să explice în parte această superioritate. Oricum ar fi, enoxaparină s-ar putea să devină tratamentul de referință antitrombină în angina pectorală instabilă.^{26,27}

Inhibitorii receptorilor glicoproteinei IIb/IIIa

Pe cale intravenoasă: extensia indicațiilor, selecția beneficiarilor

Studiile CAPTURE (Chimeric Antiplatelet Therapy in patients with Unstable angina Refractory to standard medical treatment), PRISM (Platelet Receptor Inhibition for ischemic Syndrom Management) și PURSUIT (Platelet IIb/IIIa in Unstable Angina: Receptor Suppression Using Integrilin Therapy) au condus la afirmarea unui nou grup de medicamente antitrombotice -inhibitorii receptorilor glicoproteinei IIb/IIIa: abciximab (Reopro), eptifibatide (Integrilin), tirofiban (Agrastat), utilizați în tratamentul anginei pectorale instabile refractare programați pentru angioplastie percutanată precoce.

Extensia indicațiilor utilizării inhibitorilor GP-IIb/IIIa are drept consecință obligatorie din motive evidente și în mod special de preț, necesitatea selecției pacienților susceptibili de a beneficia de acest tratament. La pacienții a căror proces trombotic rămâne activ, se mobilizează microembolii distale ale trombilor plachetari din leziunea incriminată, ceea ce determină o creștere a concentrației troponinei I sau T. Astfel, a fost validată ipoteza stratificării riscului pacienților bazată pe nivelurile serice de troponină pe baza datelor provenind din studiile CAPTURE și PRISM.^{19,20,22}

În studiul CAPTURE riscul de deces sau infarct miocardic la 6 luni, observat la grupul pacienților cu nivel ridicat de troponină T la internare, a fost redus cu 70% de abciximab în raport cu placebo, în timp ce în grupul pacienților fără nivel crescut de troponină T nu a fost observată nici o diferență. Pentru a evita apariția unuia din evenimente, a fost necesar să fie tratați 24 pacienți din populația generală de studiu, în timp ce doar 7 pacienți au fost tratați din cei cu troponina T inițial crescută.

Studiul PRISM. Nivelurile serice ale troponinei I și T au permis identificarea fiabilă a subgrupurilor cu risc crescut beneficiind de tratament cu tirofiban, oricare ar fi strategia terapeutică adoptată: invazivă sau noninvazivă. Aceste date concordante trebuie să aibă consecințe directe și importante pentru practica curentă.

De reținut:

Studiile FRISC II, TIMI 11B și FRAXIS nu aduc argumente solide în favoarea tratamentului prelungit cu heparine cu greutate moleculară mică.

Indicațiile anti-GP IIb/IIIa activi pe cale parenterală se extind, de unde necesitatea stratificării riscului pacienților în vederea selecției potențialilor beneficiari.

Anti-GP IIb/IIIa pe cale orală au rezultate slabe, dar cercetările continuă.

Speranțele puse în hirudină sunt spulberate de rezultatele studiului OASIS-2.^{10,11}

Pe de altă parte, se pare că diabeticii constituie un subgrup de pacienți foarte susceptibil de a beneficia de tratament cu anti-GP IIb/IIIa pe cale parenterală.^{12,23,25}

Pe cale orală – un debut compromis

Concluziile primelor 3 studii destinate pentru a evalua beneficiul asocierii aspirinei cu un anti-GP IIb/IIIa activi pe cale orală la pacienții cu angină pectorală instabilă, înainte sau nu de angioplastia percutanată precoce au fost dezamăgitoare. Substanțele testate au fost xemilofiban (studiul EXCITE), orbofiban (studiul OPUS-TIMI 16) și sibrafiban (studiul SYMPHONY). Metaanaliza acestor 3 studii a arătat o creștere a riscului de deces la pacienții tratați față de grupul placebo, în cursul primelor 6 luni. Au fost propuse explicații de natură farmacologică (dozaj inadecvat, inhibiția insuficientă a agregării plachetare și activarea paradoxală a receptorilor) pentru aceste rezultate.

Aceste substanțe sunt în curs de evaluare și cu toate că dezvoltarea anti GP-IIb/IIIa pe cale orală pare compromisă, studiul lor nu este încheiat.^{9,9}

Hirudina - o nereușită confirmată

Hirudinele recombinante sunt cei mai specifici și puternici inhibitori ai trombinei. Ele au suscitat mari speranțe pentru tratamentul anginei pectorale instabile. Scopul studiului OASIS-2 (Organisation to Assess Strategies for Ischemic Syndromes) a fost de a demonstra superioritatea epirudinei asupra heparinei în legătură cu un criteriu care asociază :deces cardiovascular -infarct miocardic la 7 zile. Au fost incluși în acest studiu 10141 pacienți. Obiectivul urmărit nu a fost atins, riscul relativ fiind 0,84 în grupul epirudinei în raport cu grupul heparinei (p = 0,08). Adăugând un al treilea criteriu, angorul refractar, s-a permis obținerea unei diferențe semnificative.^{2,26}

Pe de altă parte, analiza combinată a studiilor OASIS Iși 2, la fel de discutabile pe plan metodologic, a permis și ea atingerea unei reduceri semnificative a criteriului primar în grupul epirudinei, dar cu prețul complicațiilor hemoragice. Aceste rezultate sunt în mare parte dezamăgitoare și raportul beneficiu- risc al hirudinei este incontestabil mai slab decât al HGMM.

În stadiul actual hirudina nu-și găsește loc în tratamentul anginei pectorale instabile.

CONCLUZII

Ultimei 2 ani au adus noutăți terapeutice importante în tratamentul anginei pectorale instabile atât din punct de vedere al angioplastiei percutanate precoce cât și al tratamentului antitrombotic. Printre domeniile de investigație viitoare, asocierile terapeutice vor ocupa un loc prioritar.

Combinările diferitelor tratamente antitrombotice, respectiv a heparinei cu greutate moleculară mică și

anti-GP-IIb/IIIa (în particular enoxaparina și abciximab) și încă a diferitelor antiagregante plachetare va fi necesar să fie evaluate în același fel ca modalitățile optimale ale utilizării heparinelor cu greutate moleculară mică și angioplastiei percutanate precoce.³

Alte clase terapeutice se vor adăuga la cele prezentate odată cu posibila introducere a prostaciclinelor orale.^{4,7,15,21,28}

Să sperăm că în paralel cu creșterea mijloacelor terapeutice disponibile, strategiile rămân suficient de clare și precise pentru ca practicienii să le poată aplica simplu și în mod curent.

BIBLIOGRAFIE

1. AMERICAN HEART ASSOCIATION - *Heart and stroke facts: Statistical update*. Dallas, American Heart Association, 1998.
2. BRAUMWALD E, ANTMAN EM ET ALL *ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: executive summary and recommendations. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (committee on the management of patients with unstable angina)*, Circulation, 2000, 5:1193-1209.
3. BRAUMWALD E, CALIFF RM ET ALL - *Re-defining medical treatment in the management of unstable angina*, Am J Med, 2000, 108:41-53.
4. BRUNNER HR, WAEBER B - *Dose-response and beta-blockers*, Eur Heart J, 1994, 15:123-128.
5. CASTELLI W - *Cardiovascular disease in elderly*. Am J Obstet Gynecol, 1998, 158:1553-1560.
6. CERQUEIRA M - *Diagnostic testing strategies for coronary artery disease: Special issues related to gender*, Am J Cardiol, 1995, 75:52-60.
7. CLEARFIELD M, DOWNS J ET ALL - *Primary prevention of acute coronary events with Lovastatin in men and women with average cholesterol levels*. N Engl J Med, 1998, 279:1615-1622.
8. CORREIA LC, BRITO JC ET ALL - *Safety and efficacy of angioplasty with intracoronary stenting in patients with unstable coronary syndromes. Comparison with stable coronary syndromes*. Arq Bras Cardiol, 2000, 74:503-512.
9. CRABBE D, HANSEN D ET ALL - *Lower diagnostic accuracy of Thallium - 201 SPECT myocardial perfusion imaging*. J Am Coll Cardiol, 1996, 28:1214-1219.
10. DOUGLAS PS, GINSBURG GS - *The evaluation of chest pain*. N Engl J Med, 1996, 334:1311-1315.
11. FOX KA, GOODMAN S ET ALL - *Inter-regional differences and outcome in unstable angina. Analysis of the International ESSENCE Trial*, Eur Heart J, 2000, 21:1433-1439.
12. GARRISON RJ, HIGGINS MW ET ALL - *Obesity and unstable angina*. Cur Opin Lipidol, 1996, 7:199-202.
13. GINSBURG GS - *The evaluation of unstable angina*. N Engl J Med, 1996, 334:1311-1315.
14. GOODMAN SG, BARR A ET ALL - *Low molecular weight heparin decreases rebound ischemia in unstable angina or non Q wave myocardial infarction: the Canadian ESSENCE ST segment monitoring substudy*, J Am Coll Cardiol, 2000, 36:1507-1513.
15. GOODMAN SG, COHEN M ET ALL - *Randomized trial of low molecular weight heparin (enoxaparin) versus unfractionated heparin for unstable coronary artery disease: one-year results of the ESSENCE Study. Efficacy and Safety of Subcutaneous Enoxaparin in Non Q Wave Coronary Events*, J Am Coll Cardiol, 2000, 36:693-698.
16. GRUBB NR, FOX KA - *Management of unstable angina*. Hosp Med, 2000, 61:489-494.
17. HIAI R, LEROY G ET ALL - *Essais cliniques en thérapeutique cardiovasculaire*. Edition Frison Roche, 2001, 1:129-145.

18. HENNEKENS CH – *Risk factors of coronary heart disease*, *Cardiol Clin*, 1998, 16:1- 8.
19. KENNEL WB, WILSON PW – *Risc factors that attenuate the female coronary disease advantage*, *Arch Intern Med*, 1995, 144:57- 61.
20. LANELSON D – *Coronary heart disease*, *Adv Nurse Pract*, 2000, 11:43- 48.
21. LANG RM, ELKAY AMU – *Comparative effects of losartan and enalapril on exercise capacity and clinical status in patients with unstable angine*, *J Am Coll Cardiol*, 1999, 30:90- 99.
22. LAROSA JC, LEE ET ALL – *Triglycerides and coronary risk in the elderly*, *Arch Intern Med*, 1997, 157:961- 968.
23. LINDAHL B, TISS H ET ALL – *Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease, FRISC Study Group, Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease*, *N Engl J Med*, 2000, 19:1139-1147.
24. MANSON J – *Risk modification in the diabetic patients*, *Oxford University Press Inc*, 1996, 241- 273.
25. ROSENFELD J – *Heart disease in elderly: Gender- specific statistics and prevention strategies for a population at risk*, *Postgrad Med*, 2000, 1:12.
26. SACKS FM, LEWIS SJ ET ALL – *Effect of Pravastatin on cardiovascular events*, *J Am Coll Cardiol*, 1998, 32:140- 146.
27. SHAPIRO S, SLONE D ET ALL – *Oral contraceptive use in relation to myocardial infarction*, *Lancet*, 1979, 1:743- 747.
28. SCHISTERMANN EF, DORN JM ET ALL – *Body mass index and mortality in a general population sample: The Buffalo Health Study*, *Am J Epidemiol*, 1997, 146:919- 931
29. THOMAS JL, BRAUS PA ET ALL – *Coronary artery disease: A historical perspective*, *Arch Intern Med*, 1998, 158:333- 337.



Neoplazia cervicală - origini și perspective ale cercetării infecției genitale cu Virusul Papilloma Uman (HPV)

Simona Marcu

Demonstrarea implicării infecției virale în etiologia cancerului la om s-a dovedit a fi dificilă. În ceea ce privește cancerul de col uterin, suspiciunea legată de prezența unei componente infecțioase în cadrul etiologiei sale a apărut în 1842, dar de abia în 1973 apare ipoteza conform căreia cancerul cervical ar putea fi cauzat de papillomavirushi PV. Studiile epidemiologice recente bazate pe reacția de amplificare în lanț au stabilit clar că infecția cu PV uman contribuie direct la apariția neoplaziei cervicale, în strânsă asocieră cu o serie de cofactori. În prezent, incidența globală a cancerului datorat PV este în jur de 15% la femei. PV sunt un grup heterogen de viruși, cu înaltă specificitate de gazdă. Prezintă tropism față de mucoase și piele și pot determina infecții latente, asimptomatice, infecții subclinice sau manifeste. Potentialul lor cancerogen este diferit, varietățile tipuri de PV uman având o patogenie specifică. Astfel dezvoltarea carcinoamelor cervicale, în majoritatea cazurilor este asociată cu tipurile PV umane cu risc crescut, oncogene. Problema celor 5-10% "virus free" cancer lipsite de virus" rămâne deschisă unor investigații viitoare.

Cuvinte cheie: carcinom, infecție, etiologie

A causal involvement of infections in human cancers proved to be difficult. Regarding the cancer of uterine cervix, the suspicion of an infectious etiology appeared in 1842, but only in 1973 a hypothesis revealed that it could be caused by human papillomavirus HPV. Recently, epidemiological studies based on polymerase chain reaction clearly established that the HPV induced infection contributes directly to cervical neoplasia, strongly associated with some other cofactors. Nowadays, the global incidence of cancer due to PV is of about 15% in women. PV are a very heterogenous group of viruses and highly host specific. Mainly they infect mucous membrane and skin surfaces and lead to unapparent, latent infections, subclinical or clinically apparent lesions. Their cancerogen potential is different, various types of HPV having specific pathogeny. Thus, cervical carcinoma development is associated with high-risk, oncogene, types of HPV. The problem of the 5-10% "virus free" cervical cancer remains open for further investigations.

Keywords: carcinoma, infection, etiology

În a doua parte a secolului trecut și la începutul acestui secol, cercetarea în domeniul etiologiei bolilor infecțioase a dat dovadă de o înflorire deosebită, prin descoperirea bacteriei ca și agent cauzal a numeroase boli infecțioase. Ca urmare s-a pus problema unei etiologii infecțioase și în cazul altor boli, cum ar fi cancerul, reumatismul și bolile autoimune, încă slab definite la acea dată.

Demonstrarea implicării infecției în cancerul uman s-a dovedit a fi extrem de dificilă din mai multe motive: infecțiile, suspectate a fi implicate în cancerogeneza umană, sunt larg răspândite (virusul Epstein-Barr, papillomavirushi, virușii hepatitici), dar numai un procent mic din cei infectați dezvoltă forma respectivă

de cancer; perioadele de timp dintre infecția primară și dezvoltarea cancerului sunt deseori de ordinul a mai multor decade; tumorile care apar sunt frecvent monoclonale și deci nu pot fi rezultatul unei infecții sistemice; cancerigenii chimici și fizici au fost de multe ori suspecți ca fiind legați cauzal de același tip de tumori.

Astfel, infecția ar putea fi necesară, dar nu suficientă pentru inducerea cancerului. La aceasta se adaugă faptul că virușii pot contribui la cancerogeneza prin diferite moduri de interacțiune: directă și continuă cu celulele gazdă infectate, respectiv indirectă.

Criteriile care permit stabilirea rolului cauzal al acestor infecții ar fi: dovezi epidemiologice (evaluarea riscului, coincidența prevalenței geografice, sero-epidemiologie, prezența relațiilor) ale infecțiilor respective ca factori de risc în dezvoltarea unor tumori specifice; prezența regulată și persistența ADN-ului

viral în celule tumorale maligne; stimularea proliferării prin transfecția genomului respectiv sau părți ale acestuia pe culturi tisulare corespondente; demonstrarea că inducerea proliferării și fenotipul malign al celulelor specifice tumorale depind de efectele sau funcțiile exercitate de către ADN-ul persistent al agentului infecțios.^{2,13,15,20,21}

ASPECTE ȘI MECANISME GENERALE – PAPILOMAVIRUSII CA ȘI CAUZĂ DE CANCER

Studii epidemiologice și seroepidemiologice anterioare au găsit o serie de virusi ca fiind implicați în dezvoltarea unui cancer, astfel: virusul hepatitic în cancerul hepatic, virusul Epstein-Barr în limfomul cu celule B, infecțiile cu *Helicobacter pylori* în cancerul gastric.

În ceea ce privește cancerul cervical, suspiciunea prezenței unei componente infecțioase în cadrul etiologiei sale a apărut în 1842, în cadrul publicației lui Rigoni-Stern.²¹

Carcinomul de col uterin, al doilea cancer ca și frecvență la femeile din lumea întreagă, este o boală progresivă. Începe cu o leziune intraepitelială cervicală, neinvazivă denumită NIC care, de-a lungul timpului, se poate transforma treptat în carcinom invaziv. În etiologia carcinomului cervical au fost incriminate pe rând bacterii, protozoare, infecții cu herpesvirus, toate transmise pe cale sexuală.^{3,19}

Ipoteza conform căreia cancerul cervical ar putea fi cauzat de Papillomavirusi (PV) a fost lansată la Key Biscayne, în cadrul unei întâlniri a Asociației Americane pentru Cercetarea Cancerului din ianuarie 1973. În 1976, Meisels și Fortin au identificat la nivelul colului atipia colocitotică, ca și manifestare a modificărilor citopatice induse de PV și au încercat apoi să separe această condiție de adevărata displazie. Identificarea particulelor de PV în aceste celule, cu ajutorul microscopului electronic, a subliniat aceste observații.^{15,19,21}

Pionieratul în domeniu îl dețin studiile pe plante ale lui Iwanowski (1894) în Rusia și Beijerinck (1898) în Amsterdam, ceea ce a determinat ca, odată cu apariția virusologiei, să se efectueze studii similare pe leziuni benigne de tip veruci și papiloame, și apoi maligne, la animale și la om, în încercarea de a demonstra etiologia lor infecțioasă. În 1907, Ciuffo demonstrează transmisibilitatea virală liberă la nivel celular în verucile umane. Lewandowsky și Lutz descriu în 1922 o boală ereditară rară, epidermodysplasia verruciformis, caracterizată prin prezența de veruci plane confluențe, la nivelul cărora se pot dezvolta carcinoame epidermoide, mai ales în regiunile expuse la soare. Datorită contribuției lui Jablonska (1972) acest sindrom a fost recunoscut ca model de carcinom indus de virusii din grupul Papova, furnizând de asemenea un prim indiciu asupra efectului cooperant între infecția HPV și un factor de mediu (expunerea solară) în carcinogeneza umană.²¹

Astfel, la începutul acestui secol devine evidentă etiologia virală a verucilor, deși structura agentului

implicat va rămâne neelucidată pentru încă alți 40 de ani. În acest sens s-au efectuat studii pe iepuri și bovine. Studiul PV la bovine (BPV) a jucat inițial un rol important în elucidarea biologiei moleculare a grupului de PV. Shope în 1933, în baza observațiilor făcute la iepuri de vânătorii din Kansas și Iowa asupra unor leziuni tumorale, inițial benigne, demonstrează etiologia lor infecțioasă, cu virusul papilloma al iepurelui, cottontail rabbit papillomavirus (CRPV). Ito și Evans prin inocularea de ADN viral la iepuri domestici, induc apariția de carcinoame, arătând astfel pentru prima dată că genomul de PV poate acționa ca și carcinogen solitar.^{19,21}

Structura și compoziția virusului a devenit clară după ce Strauss (1949) a demonstrat prezența particulelor virale la nivelul verucilor umane prin ME și după ce Crawford și Crawford (1963) au elucidat proprietățile fizice ale ADN-ului viral.

Din cauza naturii uniforme a particulei virusului papilloma, observată la microscopul electronic, a imposibilității cultivării în vitro și a efectuării de teste serologice pentru virusul papilloma uman (HPV - Human Papilloma Virus), s-a crezut inițial că diferitele tipuri histologice ale leziunilor induse de virus (veruci, condilom acuminat) ar reprezenta variante locale ale infecției cu același virus. Zur Hausen este cel care a observat că ARN complementar radioactiv, obținut din ADN-ul viral al unei veruci plantare, a hibridizat inefficient sau deloc cu ADN-ul altor veruci, respectiv veruci genitale, ajungând la concluzia, că structura genomică virală trebuie să fie diferită și că reprezintă tipuri noi de HPV.

Izolarea de HPV genital direct din biopsii de cancer cervical a dus la rapida expansiune a cercetării în domeniu. Într-o perioadă relativ scurtă a devenit clar că genele specifice (E6, E7) ale tipurilor virale găsite în cancerul cervical sunt transcrise în mod regulat în celulele canceroase și că majoritatea liniilor celulare tumorale au adaptat ADN-ul viral într-o formă integrată.^{2,19,21}

Familia papilloma virusurilor reprezintă un grup remarcabil de heterogen de virusi. PV sunt virusi ADN mici, care infectează în special țesuturile epiteliale ale unei categorii largi de specii animale (de la păsări la ființe umane).^{3,7,20}

În ultimii 15 ani grupul de PV umani a devenit grupul cel mai complex de patogeni infecțioși umani, în prezent incidența globală a cancerului datorată PV fiind la femei de 15% , pe când la bărbați de abia depășește 5%.¹⁸

ORGANIZAREA GENOMULUI VIRAL

Papillomavirusii sunt particule neîncapsulate, relativ rezistente la căldură și solvenți organici. Capsida, formată din 72 capsomere pentamerice, este icosaedrică și are un diametru de aproximativ 55nm. Genomul particulei virale corespunde unei molecule de ADN spiralat, dublu-catenar, formată din 7500-8000 perechi de baze - pb. În general doar o catenă poate fi transcrisă în mod activ, de aceea transcripția apare doar

într-o singură direcție. ADN-ul viral este asociat cu proteine de tip histone. În mod obișnuit HPV se integrează în ADN-ul celulei gazdă în cursul carcinogenezei cervicale.^{5,19,20}

Informația genetică se găsește numai pe unul din cele două lanțuri de ADN și constă din cel puțin 8 trame de lectură (ORF-open reading frames). Genomul viral poate fi împărțit în trei regiuni: (1) regiunea necodantă, regiunea lungă de control (LCR) sau regiunea reglatoare, ce reprezintă 7-10% din lungimea genomului; (2) regiunea precoce (E - early), constituie cam 50% din lungimea genomului și codifică proteinele implicate în transformarea celulară (E6, E7, E5) sau în replicarea și transcripția genomului viral (E1, E2); (3) respectiv regiunea tardivă (L - late) care codifică proteinele structurale ale capsidei și anume proteina majoră L1 și proteina L2, minoră, componentă structurală adițională a capsidei virale.⁵ Proteina L1 reprezintă cam 90% din conținutul proteic al particulei virale, are o greutate moleculară de 54 - 58 kDa și este înalt conservată printre diferitele tipuri de PV. Proteina L2 este mai puțin conservată și are greutatea moleculară de 68-76 kDa.^{5,17,20}

Prin expresia acestor proteine în vectori recombinanți pot fi obținute particule de tip viral, virus-like, ce conțin componentele structurale a variate tipuri de HPV, proteina L1 fiind suficientă pentru formarea acestor particule. Reglarea expresiei genelor virale este complexă și controlată de factori de transcripție celulari și virali.²⁰

GENOTIPURI

Pe baza structurii capsidei și a genomului lor, Papillomavirusii constituie, împreună cu Polyomavirusii, familia Papovaviridae.⁵

Heterogenitatea genetică a grupului de HPV a devenit tot mai evidentă din 1967, fiind demonstrată în 1976 odată cu progresul tehnicilor de clivare a endonucleazei. Semnificația biologică a imensei heterogenității a acestui grup de virusi nu este în prezent încă înțeleasă.^{6,19,21}

În ceea ce privește nomenclatura HPV, inițial tipurile noi de virusi erau desemnate, dacă structura lor era diferită cu mai mult de 50% față de cea a prototipurilor cunoscute (Conferința din Mobile, Alabama, 1978). Ulterior, pentru tipizarea HPV s-a luat în considerare diferența de peste 10% din secvențele nucleotidice a E6, E7 și L1 ORF. La Conferința anuală asupra virusului papilloma din Quebec, 1995, definirea noilor tipuri de virus s-a făcut pe baza diferențelor ce depășesc 10% față de prototipul stabilit, însă numai la nivelul L1 ORF, regiunea cea mai conservată a genomului.^{20,21}

În baza unei definiții recente, genotipurile ar trebui să prezinte noi puțin de 90% de nucleotide identice din ORF ce codifică proteina capsidică majoră L1. HPV izolate a căror secvență ADN este identică în proporție de 90-98% cu a prototipului, corespund subtipurilor, în timp ce HPV, cu mai mult de 98% secvențe ADN identice sunt considerate variante. Genotipurile sunt

desemnate printr-un număr, iar subtipurile printr-o literă, urmând ordinea cronologică a caracterizării lor.⁵

În prezent 82 genotipuri diferite au fost complet clonate și secvențializate. În plus, analiza PCR cu primeri de consens amplificat și secvențierea consecutivă a părții amplificate a regiunii L1 sugerează existența a cel puțin 70 alte genotipuri, la 30 tipuri noi fiind obținute secvențele parțiale.^{12,19,20,21}

Pe baza compoziției acizilor nucleici - analiza secvențelor oncogenei E6 sau a genei capsidice L1 - pot fi definite cinci supergrupuri filogenetice și respectiv grupuri care reflectă patogenia și tropismul tisular. HPV sunt distribuite în supergrupurile A, B și E. Supergrupa A, una din cele mai mari, conține genotipurile HPV cu tropism față de mucoase - (HPV 6,11,16,18,31,33), precum și unele tipuri cutanate, care infectează ocazional mucoasele (HPV 2,3,7,10,28,57). Mai mult de 40 din tipurile de HPV identificate aparțin acestui grup. Supergrupa B conține 20 genotipuri de HPV specific asociate cu EV, HPV5 fiind tipul caracteristic, ca și alte câteva tipuri de HPV (HPV 4,48,60,65), găsite mai ales subcutanat. Supergrupa E este heterogenă și cuprinde doar 3 tipuri HPV cutanate (HPV1, 41, 63), virusi îndepărtați înrudiți. Se mai descriu supergrupa C (de fibropapillomavirusi ungulați) și D, de tip bovin.^{13,20}

În cazul HPV genitale, variabilitatea în cadrul tipurilor nu depășește 2% în regiunea de codare și 5% în LCR. Gruparea filogenetică a variantelor HPV16 a permis identificarea de linii africane, europene, asiatice și americano-asiatice. Heterogenitatea mai mare a HPV16 africane duce la ipoteza că acest virus ar fi apărut în Africa acum 200.000 de ani și că ar fi evoluat împreună cu rasa umană.^{22,23,26}

În ciuda multiplicității uimitoare tipurile, subtipurile și variantele de HPV sunt entități stabile, fără nici o dovadă de recombinări inter- sau intratipice. S-a arătat că PV a evoluat nu numai prin acumulare de mutații punctiforme, dar și prin inserția sau deleția de material genetic.

Papillomavirusii prezintă o specificitate înaltă de gazdă. Până acum nici un genotip uman de PV nu a fost detectat la animale, și invers oamenii nu au fost susceptibili la PV animal.⁵

HPV sunt strict epiteliotropi, producând infecții persistente la nivelul epitelului scuamos al pielii și mucoaselor. Virusii infectează celulele bazale ale epitelului stratificat pavimentos, și apoi induc proliferarea celulelor infectate. Din celulele bazale, capabile de diviziune, se dezvoltă toate celulele straturilor superioare, care în cursul diferențierii își pierd capacitatea de diviziune celulară și eventual se decuamează. Virusii se vor replica numai în cheratinocitele complet diferențiate ale leziunilor benigne sau premaligne pe care le induc, replicarea ADN-ului viral, expresie a genelor tardive și a ansamblului de virioni fiind strâns legată de starea de diferențiere a celulelor gazdă. O țintă majoră pentru HPV genital oncogen este zona de transformare, la nivelul joncțiunii scuamocilindrice a colului uterin,

unde își au originea majoritatea leziunilor precanceroase și a cancerelor cervicale. Celulele epiteliale simple sau celulele de rezervă ale epitelului glandular cervical sunt susceptibile la infecții HPV neproductive, care pot duce la dezvoltarea de adenocarcinom in situ sau invaziv.^{5,11}

La oameni, infecția cu HPV determină diferite proliferări cutanate, cutaneo-mucoase și mucoase: veruci, chisturi epiteliale, condiloame, neoplazii intraepiteliale, papiloame, keratoacantoame și alte tipuri de hipercheratoze.

Dezvoltarea de modificări premaligne în mod regulat, dar nu exclusiv, depinde de tipul de virus infectant. Legătura dintre tipurile specifice de HPV și anumite cancere umane subliniază importanța identificării tipurilor de HPV. Prevalența crescută a infecției HPV genitale transmise sexual și rolul central jucat de tipuri specifice de HPV în dezvoltarea carcinomului cervical, al doilea cancer ca și frecvență la femeile din lumea întreagă, explică marelui interes pentru acești viruși. ADN HPV specific a fost identificat în mai mult de 96% din leziunile cervicale preneoplazice și în 92% din biopsiile de cancer cervical, respectiv în mai mult de 50% cancere vulvare, vaginale, peniene, anale și perianale.^{5,11,19,20}

În afară de cancerul genital și de piele, HPV intervin și în alte cancere umane: esofagian, orofaringian și al căilor respiratorii, neoplasme ale organelor interne și chiar neoplazii sistemice, epitelul mucoasei esofagiene, laringiene, traheobronșice, nazale, conjunctival și urinare fiind localizări neobișnuite ale infecției cu tipuri cunoscute de HPV. 20% din cancerele orale, ale limbii și în măsură mai mică laringele, conțin în special tipuri de HPV anogenitale. Recent s-a arătat că aproape 15% din cancerele esofagiene ar conține tipuri noi de HPV.^{19,21}

În concluzie, problema rolului cauzal al unui agent infecțios specific pare să fie clarificată azi, cel puțin în marea majoritate a cancerelor cervicale, studiile epidemiologice recente bazate pe reacția de amplificare în lanț (PCR-polymerase chain reaction) stabilind clar infecția cu HPV ca și cauză a neoplaziei cervicale.

ROLUL HPV CA ȘI CARCINOGEN SOLITAR

Strâns asociați cu infecția HPV sunt o serie de factori de risc cheie pentru neoplazia cervicală sau cofactori, posibil să moduleze expresia proprietăților biologice ale HPV genitale: comportamentul sexual (parteneri sexuali multipli, vârsta precoce a debutului sexual), hormonii (sarcina, contracepția), suprainfecțiile (herpesvirus) dieta și fumatul, de lungă durată.^{5,20}

Persistența și apariția de leziuni induse de HPV este evident influențată și de factori genetici. Înmulțirea cunoștințelor privind mutațiile la nivel de gene specifice celulare, ce controlează funcția oncoproteinei HPV sau expresia oncogenei virale, va duce, pe viitor, la identificarea unui număr mai mare de gene individuale, a căror modificare va predispuce la apariția cancerului. În cazul carcinomelor scuamocelulare ale colului, un

risc crescut a fost observat la femeile cu HLA DQw3. În cancerul cervical s-au mai observat modificări structurale nerandomizate, ca și aberații cromozomiale numerice, pierderea heterozigozității (LOH) mai frecvent la nivelul brațelor cromozomilor 6p21-23, 3p13-25 și 18q12-21, prezența de gene specifice modificate ce implică gena jun-B, oncogena ETS2 și gena DCC. Modificările progresive ale numărului de copii ADN, la nivelul cromozomilor 3p, 3q, 11q, 6q și 10q, asociate cu stadii incipiente de cancer cervical invaziv cu sau fără metastaze, sunt considerate ca factori cu potențial de prognostic și cu valoare terapeutică.^{18,20}

Factorii imuni joacă de asemenea un rol important în controlul infecțiilor HPV, fapt sugerat de incidența crescută a verucilor genitale și cutanate, respectiv a neoplaziei intraepiteliale anogenitale la pacienți cu deficiențe imune mediate celular, genetice (sindromul Wiskott-Aldrich), iatrogene (transplanturi, grefe) sau dobândite (SIDA).⁵

Istoria naturală a infecției cu HPV nu este încă complet înțeleasă. Se pare că majoritatea acestor infecții nu duc la leziuni vizibile, ele putând fi abortive sau eliminate de către sistemul imun într-o perioadă scurtă de timp. Afectarea severă a funcțiilor de apărare imune determină o rată crescută a infecțiilor HPV, clinic aparente.^{20,21}

HPV sunt viruși foarte stabili care sunt eliberați din cheratinocitele superficiale descuamate ale epitelului stratificat pavimentos. Transmiterea infecției este facilitată de prezența unor leziuni, chiar minore, la nivelul suprafețelor epiteliale. În cazul infecțiilor cutanate transmiterea se poate face direct, prin contact cu un țesut infectat, prin hetero- sau autoinoculare, sau indirect, prin contact cu obiecte sau suprafețe contaminate (piscine, plimbat desculț sau rănire accidentală cu materiale contaminate). Infecțiile HPV anogenitale sunt transmise în principal prin contact sexual, așa cum au arătat studiile epidemiologice și de urmărire a partenerilor, dar și indirect prin secreții, instrumente medicale și sonde. Transmiterea infecției se poate face și de la mamă la făt, în cursul trecerii prin pasajul de naștere, aceasta stând la originea papilomatozei laringiene la copii.^{5,20}

Spectrul infecțiilor HPV include infecții latente asimptomatice, infecții subclinice și manifestări clinice variate. Genotipurile HPV diferă în ceea ce privește țesutul țintă și potențialul oncogen, având o patogenie specifică.^{2,5,20}

Anumite tipuri HPV, cum ar fi tipurile HPV 6 și 11 și ocazional HPV 42, 43, 44, 54, 55 și 74, induc proliferări benigne, auto-limitate, ale pielii sau ale mucoaselor: veruci anogenitale, papiloame, condiloame acuminate, care de obicei regresează spontan sau după tratament. Aceste tipuri de HPV sunt printre cele asociate cu neoplazia intraepitelială cervicală (NIC) de grad scăzut și sunt considerați viruși cu risc scăzut.

Alte tipuri de HPV sunt asociate cu dezvoltarea de carcinome invazive și sunt considerați viruși cu risc crescut. Azi rolul central al tipurilor specifice de HPV

în carcinogeneza anogenitală, în special în carcinomul de col uterin este bine stabilit. Mai mult de 35 de tipuri HPV au fost găsite ca fiind asociate cu cel puțin 90% cazuri de NIC, precursori ai cancerului invaziv. NIC de grad scăzut poate regresa spontan, să rămână nemodificat sau să progreseze spre NIC de grad înalt. NIC de grad înalt poate evolua spre cancer invaziv după ani sau decade.^{5,6,16}

Distribuția genotipurilor HPV diferă printre NIC de grad scăzut și grad ridicat sugerând că leziunile asociate cu anumite tipuri de HPV au o șansă mai mare de a persista și de a progresa. Tipurile găsite în NIC de grad ridicat (HPV 16, 18, 31, 33, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 66, 68) sunt prezente și în cancerul invaziv. Tipurile HPV genitale oncogene, mai ales HPV16 au fost evidențiate în neoplazia intraepitelială și carcinomul epidermoid invaziv al vulvei, penisului și regiunii anale.

Definirea unor tipuri specifice de HPV ca viruși cu risc înalt, s-a bazat pe de o parte pe prezența lor frecventă în cancerul cervical și anogenital și pe de altă parte pe faptul că acești viruși immortalizează chernocitele umane. Virușii cu risc scăzut nu au acest efect. În diferențierea tipurilor un rol l-au avut și anti-oncogenele p53 și pRB, ce leagă oncogenele HPV cu risc crescut. Inducerea de aberații cromozomiale ca și consecință a depășirii mecanismelor de control a ciclului celular de către oncoproteinele virale cu risc înalt ar reprezenta deosebirea funcțională cea mai importantă între aceste grupuri de viruși. În ceea ce privește trecerea de la infecția cu HPV la neoplazia intraepitelială cervicală, NIC, și progresia de la NIC la cancer s-au efectuat o serie de studii în masă. O analiză atentă a evidențiat un risc relativ de grad înalt, de 11, în dezvoltarea neoplaziilor, NIC, la femeile HPV pozitive. Infecțiile cu HPV16 și HPV18 preced NIC de grad înalt și prezic un risc crescut de dezvoltare a acestor leziuni.

Astfel, se arată că virușii cu risc crescut sunt capabili să contribuie direct la progresia celulelor latent infectate, că tipuri specifice de HPV pot fi carcinogeni cervicali și că în absența altor factori de risc semnificativi identificabili, tipurile HPV cu risc crescut pot acționa ca și carcinogeni solitari.^{5,19,20,21}

Problema care se pune în prezent este realizarea de vaccinuri active împotriva HPV, o protecție eficientă, cu viruși specifici de tip, obținându-se până acum doar pe animale. Marea diversitate a tipurilor de HPV poate întârzi conceperea lor, mai ales a vaccinurilor destinate tratamentului carcinomului HPV indus și a displaziei cervicale severe, dar cercetările în domeniu ne dau speranțe că vaccinurile împotriva infecțiilor HPV induse constituie un țel nu prea îndepărtat.¹⁰

Studii recente prin utilizarea testelor de Southern Blot Hybridization și PCR indică faptul că infecțiile cu HPV genital sunt foarte obișnuite la femeile tinere active sexual și că majoritatea acestor infecții sunt asimptomatice și tranzitorii. ADN HPV au fost detectate pe frotiurile cervicale a aproape o treime din

adolescente și tinere în jur de 20 de ani, respectiv la rate de 10 ori mai mici la femei peste 50 de ani. Semne de infecție manifestă se corespond în majoritate atipiei colocitotice și NIC de grad mic s-au observat pe frotiuri cervicovaginale la rate de 10 ori mai mici, cu aceeași dependență de vârstă. Numai o mică parte din femeile expuse la HPV genital vor prezenta infecție persistentă și numai unele din acestea vor dezvolta NIC de grad crescut, precursorul imediat al carcinomului invaziv.⁵

Deși rolul etiologic al tipurilor specifice de HPV este dovedit într-o proporție crescută a cancerelor cervicale, aproximativ 10% din NIC și carcinoamele cervicale invazive și cam jumătate din carcinoamele organelor genitale externe nu conțin secvențe de ADN HPV detectabil. Carcinoamele cervicale HPV negative se asociază cu un risc crescut de recădere.^{5,20}

În prezent, problema, dacă restul de aproximativ 5-10% din cancerele cervicale „lipsite de virus” într-adevăr nu găzduiesc ADN viral și sunt cauzate de alți factori sau dacă conțin tipuri noi, încă neidentificate, de HPV rămâne deschisă. Semnificația cancerelor HPV negative ar putea fi: (1) că nu toate genotipurile HPV pot fi detectate cu probele sau primerii disponibili, (2) că ADN HPV se poate pierde în cursul progresiei tumorale și (3) că unele carcinoame cervicale pot să nu fie etiologic legate de infecția cu HPV.²⁰

În concluzie, se poate sublinia că infecțiile cu anumite tipuri ai acestui grup de viruși reprezintă unul din cei mai importanți factori de risc în dezvoltarea cancerului uman. În perspectiva controlării a cel puțin unora din aceste infecții prin vaccinare, identificarea unei etiologii HPV într-o proporție crescută de cancer umane, în speță ale colului uterin, deschide calea unor noi strategii în prevenirea cancerului.

BIBLIOGRAFIE

1. ALLEN DG, WHITE DJ, HUTCHINS AM - *Progressive genetic aberrations detected by comparative genomic hybridization in squamous cell cervical cancer*, Br J Cancer, 2000, 83:1659-1663
2. ARENDS MJ, BUCKLEY CH, WELLS M - *Aetiology, pathogenesis and pathology of cervical cancer*, Romanian J Pathol, 1998, 3:63-70
3. CHAN S Y, DELIUS H, HALPERN AL et al *Analysis of genomic sequence of 93 papillomavirus types: uniting, typing, phylogeny, and taxonomy*, J Virol, 1995, 69:3074-3083
4. CHARDONNET Y, BÉJUI-THIVOLET F, VIAC J *Épithéliums malpighiens et infections a papillomavirus*, Arch Anat Cytol Path, 1992, 40:202-211
5. FAVRE M, RAMOZ N, ORTH G *Human Papillomaviruses: General Features*, Clinics in Dermatology, 1997, 15:181-198
6. GISSMANN L, ZUR HAUSEN H *Partial characterization of virus DNA from human genital warts (condylomata acuminata)*, J Cancer 1980, 25:605-609
7. HOWLEY PM *Papillomaviridae: the viruses and their replication*, in Fields BN, Knipe DM, Howley PM (eds): Virology, Lippincot Raven, Philadelphia, 1996, 2:2045-2076
8. LIN WM, MICHALOPULOS EA, DEHRANDER N et al *Allelic loss and microsatellite alterations of chromosome 3p14.2 are more frequent in recurrent cervical dysplasias*, Clin Cancer Res, 2000, 6:1410-1414

9. MYERS G, BAKER C, WHEELER C et al - *Human papillomaviruses 1996. A compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences*, Los Alamos, New Mexico, Los Alamos National Laboratory, 1996:55-80
10. ROWEN D, LACEY C - *Toward a human papillomavirus vaccine*, *Dermatol Clin*, 1998, 16:835-838
11. ROSL F, SCHWARZ ELISABETH - *Regulation of E6 and E7 Oncogene Transcription in Human Cancer: The role of E6 and E7 Oncoproteins*, Landes Bioscience, 1997, 1-24
12. SHAMANIN V, GLOVER M, RAUSCH C et al - *Specific types of human papillomavirus found in benign proliferations and carcinomas of the skin in immunosuppressed patients*, *Cancer Res*, 1994, 54:4610-4613
13. SINEAD B JONES - *Cancer in the developing world: a call to action*, *BMJ*, 1999, 319:505-508
14. STEWART ACM, ERIKSSON AM, MANOS MM et al - *Intratype variation in 12 human papillomavirus types: A worldwide perspective*, *J Virol*, 1996, 70:3127-3136
15. WALBOMERS JMM, JACOBS MV, MANOS MM et al - *Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide*, *J Pathol* 1999, 64:87-92
16. YAMADA T, WHEELER CM, HALPERN AL et al - *Human papillomavirus type 16 variant lineages in United States populations characterized by nucleotide sequence analysis of the E6, E2 and E1 coding segments*, *J Virol*, 1995, 69:7743-7753
17. ZHOU J, FRAZER IH - *Papovaviridae: capsid structure and capsid protein function*, *Papillomavirus Rep*, 1995, 6:59-64
18. ZUR HAUSEN H - *Yobei Ito Memorial Lecture: Papillomaviruses in human cancers*, *Leukemia*, 1999, 13:1-5
19. ZUR HAUSEN H - *Human Papillomaviruses and Cancer: A retrospective*, in: Tommasino M (eds): *Papillomaviruses in Human Cancer: The role of E6 and E7 Oncoproteins*, Landes Bioscience, 1997:1-24
20. ZUR HAUSEN H - *Papillomavirus infections - a major cause of human cancers*, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1996, 1288:55-78
21. ZUR HAUSEN H - *Roots and perspectives of contemporary papillomavirus research*, *J Cancer Res Clin Oncol*, 1996, 122:3-13



Tratamentul simptomatic în faza terminală a bolilor cronice. Atitudini în asistența medicală primară de sănătate

Diana Pop Petre, Terezia Crăciun Mureșan, I. Țilea, A. Alecu, D. Bratu

Referatul are scopul de a prezenta modul de abordare și tratamentul simptomatic al pacienților cu boli incurabile în faze avansate, pentru care obiectivul principal nu mai este vindecarea, ci obținerea unei cât mai bune calități a vieții. Atitudinea terapeutică față de acești pacienți a evoluat după ce Comitetul de Experți OMS a ajuns la un consens internațional asupra tratamentului durerii canceroase și a îngrijirilor paliative, recunoscându-se necesitatea unor precizări suplimentare asupra tratamentului tuturor simptomelor în faza terminală a bolilor cronice. În acest sens este necesară evaluarea pacientului, cunoașterea în primul rând a simptomatologiei fazei terminale, dar în același timp organizarea și comunicarea, munca în echipă și respectarea anumitor principii în aplicarea tratamentului. În țara noastră, datorită lipsei unor instituții de tratament paliativ, acesta se face mai ales de către medicii de familie, cu deosebire la domiciliul pacienților. Astfel, instruirea teoretică și practică a medicilor de familie a devenit o necesitate. Cuvinte cheie: medicina paliativă, medicul de familie.

The aim of the work is to show the approach and the symptomatic treatment of the patients with incurable diseases in advanced stages, for which the main aim is not to cure, but to obtain a better life quality. The therapeutic attitude to these patients evolved after the WHO Expert Committee made an international consensus on the treatment of cancer pain and palliative care, recognizing the necessity of further indications on the treatment of all the symptoms in the terminal phase of chronic diseases. Thus, it is necessary to evaluate the patient, to know the terminal symptoms, but in the same time organizing and communication, team work and respecting certain treatment principles. In our country, because of the lack of palliative treatment institutions, especially the family doctors make this, mostly in the patient's home. Thus, the theoretical and practical instruction of the family doctors became a necessity.

Key words: palliative medicine, family doctor

Acordarea asistenței medicale pacienților suferinzi de o boală cronică în fază terminală depinde în ultima instanță de natura și gravitatea acesteia. Pentru medicul de familie este importantă realizarea semnificației stării de bolnav cronic în fază terminală (atât pentru cel în cauză, cât și pentru familia sa) și a consecințelor fizice, psihice și sociale ale acestei situații. Una din consecințele importante ale acestei condiții este dependența de alții, măsura acestei dependențe variind în limite foarte largi. Ca urmare, asistența medicală ce trebuie asigurată de către medicul de familie acestor pacienți, este multiplă și complicată. Ea depinde în mare măsură de felul în care se manifestă boala, de natura acesteia, de reacțiile familiei cu privire la pacient și de relațiile dintre membrii familiei și relațiile acestora cu medicul de familie.²

Tratamentul și îngrijirea pacienților în faza terminală a bolilor cronice pentru asigurarea unei anumite calități vieții și un sfârșit demn, constituie în

prezent o preocupare permanentă și pentru medicina de familie. Un moment important în cadrul acestei preocupări îl reprezintă anul 1884, când OMS a elaborat primul consens internațional asupra administrării medicamentelor destinate durerii canceroase.^{16,17} Conceptul scării analgezice, cu trei niveluri, a permis o aplicare comodă și științifică a tratamentului durerii în faza terminală a tuturor bolilor cronice, indiferent de etiologia lor.¹³ În prezent, peste 60 de țări din întreaga lume au elaborat programe naționale ale tratamentului durerii canceroase, au stabilit ghiduri ce pun pe baze științifice atât acest tratament cât și îngrijirile paliative, cu recomandări clare pentru organismele guvernamentale și organizațiile nonguvernamentale.¹⁶

În întreaga lume mor anual zeci de milioane de oameni bolnavi de cancer sau de alte boli grave, cea mai mare parte a acestor decese având loc în țările în curs de dezvoltare.¹⁵ Absența unui tratament simptomatic eficient face ca numeroșii pacienți, aflați în faza terminală a bolilor cronice să sufere inutil. Acest tratament a evoluat mai ales după ce Comitetul de experți OMS a elaborat principiile de tratament ale

durerii canceroase, recunoscându-se necesitatea unor principii de tratament a tuturor simptomelor, altele decât durerea. OMS a definit îngrijirea paliativă, o îngrijire totală și activă, care se acordă pacienților a căror afecțiune nu mai răspunde la tratamentul curativ.

Medicina paliativă se ocupă de îngrijirea pacienților cu boală avansată, incurabilă, progresivă, la care prognosticul este rezervat și asistența medicală este focalizată pe îmbunătățirea calității vieții, atât pentru pacient cât și pentru familia sa. Moartea este privită ca un proces normal și nu se încearcă nici scurtarea și nici prelungirea vieții. Tratamentul simptomelor (durere, greață, vărsături și dispnee) alături de suportul psihologic, spiritual și un suport pentru familia pacientului sunt principalele obiective ale medicinei paliative, care se practică sub forma îngrijirii la domiciliu. Conceptul "hospice" este conceptul de îngrijire medicală, care are în vedere nu numai nevoile fizice ale pacientului suferind de o boală incurabilă, dar și cele psihologice, spirituale și sociale.

Toți cei care acordă îngrijiri medicale pot să aplice aceste măsuri nu numai pacienților bolnavi de cancer ci, în egală măsură, și celor ce suferă de orice afecțiuni cronice debilitante. Un astfel de tratament simptomatic presupune însă cunoașterea în primul rând a cauzelor simptomatologiei fazei terminale, deci un diagnostic cât mai precis. Simptomele pot fi generate chiar de boala de bază, de complicațiile apărute pe parcurs (escările de decubit datorate stării de denutriție), de efectele secundare nedorite ale medicamentelor (mai ales ale celor anticanceroase) sau de afecțiunile coexistente, fără nici o legătură cu boala principală.⁷

Tratamentul simptomatic este deseori empiric, bazat pe observație și pe experiență, pe practica clinică și pe rezultatul noilor cercetări. Cunoștințele actuale sunt suficiente pentru ameliorarea calității vieții tuturor pacienților aflați în faza terminală a bolilor cronice, problema esențială fiind cea a aplicării acestor cunoștințe în practica medicală cotidiană.^{8,12}

Principiile generale ale tratamentului simptomatic în faza terminală a bolilor cronice sunt:

1. Evaluarea pacientului
2. Organizarea activității de îngrijire:
 - munca în echipă;
 - planificarea activității de îngrijire;
 - pregătirea activității de îngrijire.
3. Comunicarea cu pacientul și familia sa:
 - informarea pacientului și a familiei;
 - educația pacientului și a familiei;
 - tratamentul psihologic.
4. Principiile tratamentului non-medicamentos și medicamentos:
 - elaborarea planului terapeutic;
 - ameliorarea simptomelor;
 - menținerea autonomiei pacientului;
 - simplitatea tratamentului medicamentos;
 - utilizarea căii orale de administrare a medicamentelor;
 - respectarea orelor fixe.

EVALUAREA PACIENTULUI¹⁶

Evaluarea profundă a pacientului este esențială pentru tratamentul simptomatic, atât pentru medic și personalul de îngrijire, cât mai ales pentru bolnav. Ea trebuie să cuprindă nu numai aspectele fizice, ci în egală măsură pe cele psihologice, sociale și spirituale ale pacientului. Prin această atitudine se poate efectua o caracterizare completă a bolii, un diagnostic complet, o apreciere a pacientului în toată globalitatea sa și în special, o apreciere a efectelor bolii asupra calității vieții celui aflat în suferință. Elementele de evaluare constau din identificarea principalelor simptome ale pacientului, ascultarea lui cu atenție, identificarea preocupărilor lui și credința că cele relatate sunt adevărate.

Anamneza trebuie să fie detaliată, precisă și cu întrebări specifice asupra principalelor simptome.⁴ Întrebările care trebuie puse în mod obligatoriu pacientului pentru evaluarea naturii și gravității unui simptom sunt:

- a. în ce măsură simptomul afectează calitatea vieții, funcțiile fizice și mobilitatea pacientului?
- b. Ce anume ameliorează simptomul (poziția, activitatea, alimentația sau un medicament particular)?
- c. Ce agravează simptomul?
- d. Dacă simptomul se accentuează într-un moment particular al zilei sau al nopții?

Informațiile suplimentare din partea familiei sau anturajului sunt adesea foarte prețioase. Rezultatul evaluării pacientului, indică una sau mai multe cauze care stau la baza simptomelor și care permit aplicarea unui tratament eficient.

ORGANIZAREA ACTIVITĂȚII DE ÎNGRIJIRE.^{8,16}

Tratamentul simptomatic al bolilor cronice în fază terminală necesită organizare și comunicare. Organizarea constă din munca în echipă, planificarea și pregătirea activității de îngrijire a pacientului. Ca și în alte domenii ale practicii medicale, îngrijirile paliative necesită coordonare și cooperare între cei ce acordă îngrijirea, pacient și familia lui. Pentru a fi eficiente, este necesar ca îngrijirile paliative să fie fundamentale și planificate. În cazul fiecărui pacient este nevoie de un plan individualizat, care trebuie să fie înțeles de toate persoanele interesate: pacient, cei ce acordă îngrijire și familie. Este importantă observarea și examinarea pacientului pentru surprinderea eventualelor tulburări într-un stadiu precoce, adesea asimptomatic. Pregătirea constă din avertizarea, atât a celor ce acordă îngrijiri, cât și a familiei asupra problemelor și complicațiilor care pot surveni și cunoașterea metodelor de a le face față.

COMUNICAREA CU PACIENTUL ȘI FAMILIA SA

Pacientul și familia, trebuie informați asupra cauzelor probabile ale simptomelor și asupra opțiunilor terapeutice disponibile. Informarea va fi făcută în mod clar, concis și în termeni ușor de înțeles. Deoarece îngrijirile medicale sunt acordate în principal în spitale, există tendința de a adopta un model spitalicesc al

acestora. Dar, îngrijirile medicale paliative, fiind acordate în special la domiciliu, este necesar ca planurile de tratament să fie adaptabile pentru domiciliu, să includă elemente de instruire cât a pacienților, cât și a familiilor acestora. În ceea ce privește aspectele psihologice, liniștea pacientului duce la agravarea simptomatologiei. Ca atare, se impune ca tratamentul să aibă în vedere în egală măsură atât aspectele suferinței fizice cât și cele ale suferinței psihice.

PRINCIPIILE TRATAMENTULUI NON-MEDICAMENTOS ȘI MEDICAMENTOS.^{24,16}

Ameliorarea simptomatologiei este obiectivul principal al tratamentului fazei terminale a bolilor cronice.

Pentru elaborarea planului terapeutic este necesară o evaluare anterioară minuțioasă a pacientului. Planul terapeutic include atât metode non-medicamentoase, cât și medicamentoase, cele două alternative fiind adesea utilizate concomitent (tratamentul multimodal). Metodele non-medicamentoase, prin care pot fi ameliorate cea mai mare parte a simptomelor, constau din explicarea simptomelor și liniștirea pacientului, evitarea factorilor care agravează simptomul și favorizarea celor ce-l ameliorează, tratamentul bolilor concomitente (insuficiență cardiacă, infecțiile pulmonare și urinare), corectarea anomaliilor biochimice (hipocalcemia și hiponatremia), identificarea și tratarea tulburărilor psiho-sociale.

Anumite simptome ca durerea, dispneea, greața, vărsăturile și anorexia pot fi ameliorate parțial sau în totalitate. Când simptomele nu pot fi ameliorate în totalitate, obiectivul tratamentului este de a ajuta pacientul să treacă de la sentimentul de neputință, la unul de stăpânire a simptomelor, în acest sens sfaturile practice și susținerea psihologică fiind cruciale.

Tratamentul medicamentos constituie baza tratamentului pentru majoritatea simptomelor pacienților în faza terminală a bolilor cronice. Patru principii stau la baza utilizării medicamentelor:

- a. simplitatea tratamentului
- b. utilizarea căii orale de administrare
- c. respectarea orelor fixe de administrare
- d. reevaluarea medicamentului utilizat înaintea prescrierii unui nou medicament

Tratamentul va fi cât mai simplu posibil, pentru a avea certitudinea complianței pacientului.

Medicamentele trebuie administrate pe cale orală ori de câte ori este posibil, la intervale regulate de timp, pentru a asigura ameliorarea permanentă a simptomelor. Orarul de administrare trebuie să țină cont de farmacologia medicamentelor și de starea funcțională a ficatului și a rinichilor pacientului. Înaintea prescrierii unui alt medicament sau în cazul agravării simptomatologiei cu medicamentul în curs, este necesară reevaluarea acestuia pentru excluderea unei interacțiuni medicamentoase, iar în cazul apariției

unor simptome noi, care pot fi generate sau exacerbate chiar de către medicamentul respectiv, se impune schimbarea sau suprimarea lui.

Menținerea autonomiei pentru o perioadă de timp cât mai lungă este un alt obiectiv important al tratamentului. Restricțiile fizice pot fi reduse prin tratament medicamentos și un tratament specific, cum este radioterapia, care poate fi extrem de utilă chiar dacă boala este incurabilă. În general, acest tratament specific trebuie administrat în asociere cu un tratament simptomatic.

În concluzie, au trebuit să treacă mulți ani până când societatea și medicii au realizat nevoile pacienților în faza terminală a tuturor bolilor cronice. Deși relativ nouă, medicina paliativă și conceptual "hospice" de îngrijire medicală sunt acum bine individualizate în toată lumea.

Dar, atât la nivel mondial, cât și în țara noastră, nevoile pacienților cu boli cronice în fază terminală nu sunt bine cunoscute și nici pe departe satisfăcute. Este necesară promovarea principiilor medicinii paliative, în mod special stabilirea unor norme orientative privind momentul trecerii de la tratamentul activ la cel paliativ, deoarece în practica medicală se întâlnesc încă multe cazuri în care se administrează un tratament agresiv până în ultimele zile de viață.

BIBLIOGRAFIE

1. BRUERA E, SUAREZ-ALMAZOR M, VELASCO A et al - *The assessment of constipation in terminal cancer patients admitted to a palliative care unit: a retrospective review.* J Pain Symptom Management, 1994, 9:515-519
2. DOYLE D, HANKS WC, MAC DONALD D - *Oxford textbook of palliative medicine*, Oxford, University Press, 1993
3. JACOX A, CARR DB, PAYNE R - *Special report: new clinical practice guidelines for the management of pain in patient with cancer*, N Engl J Med, 1994, 330:651-655
4. KAYE P - *Notes on symptom control in hospice and palliative care*, Essex, Hospice Education Institute, 1989
5. LEVY MH - *Pharmacologic treatment of cancer pain*, New Engl J Med, 1996, 335:1124-1132
6. MOȘOIU DANIELA - *Tratamentul durerii în cadrul îngrijirii de tip "Hospice"*, Durerea acută și cronică, 1997, 2:21-23
7. NICOLAU S - *Principii de tratament simptomatic în faza terminală - anorexia și cașexia*, Brit Med J (limba română), 2000, 7:455-458
8. REGNARD C et al - *Cancers avancés*, Paris, Amatte, 1994
9. SANDU L - *Cum tratăm durerea?*, Editura Teora, București, 1996
10. SANDU L - *Importanța tratamentului în sindromul durerilor. Durerea acută și cronică*, 1997, 5:7-9
11. TWYXCROSS RG - *Pain relief in advanced cancer*, Churchill Livingstone, London-Edinburgh, 1994
12. TWYXCROSS RG - *The management in advanced cancer*, Oxford, Radcliffe Medical Press, 1995
13. WHO - *Cancer pain relief*, Geneva, 1996
14. XXX - *Alivio del dolor en el cancer. Con una guía sobre la disponibilidad de opioides*. Sequanala edición, 1996
15. XXX - *Guide pour la prise en charge domicile des malades du SIDA*, Organisation Mondiale de la Santé, 1993
16. XXX - *Traitement de la douleur cancéreuse et soins palliatifs*, Rapport d'un Comité d'experts OMS, Geneva, Organization Mondiale de la Santé, 1990
17. XXX - *Traitement de la douleur*, 2-eme édition, Geneva, Organization Mondiale de la Santé, 1997

Evaluarea echo-Doppler a insuficienței aortice

Cristina Tătar, L. Cozlea, Rodica Rediș

Progresele considerabile ale ecocardiografiei atât pe cale transtoracică cât și pe cale transesofagiană și o mai bună cunoaștere a diferitelor criterii de cuantificare, permit în prezent în rutina clinică, o evaluare precisă și fiabilă a majorității insuficiențelor aortice.

Ecocardiografia Doppler este acum metoda de referință pentru stabilirea diagnosticului pozitiv și etiologic al insuficienței aortice. Ea permite cunoașterea numeroșilor parametri de cuantificare ai regurgitării aortice (diametrul jetului de insuficiență aortică, extensia jetului în ventriculul stâng, etc), parametri care permit stabilirea cu exactitate a indicațiilor operatorii la pacienții cu insuficiență aortică.

Cuvinte cheie: ecocardiografie, regurgitare aortică, etiologie

The considerable progresses of echocardiography and a better knowledge of the different quantisation criteria at low nowadays in the clinical practice a precise and feasible evaluation of the aortic regurgitation.

The Doppler echocardiography is a reference means in order to better establish the positive and ethiological diagnosis. It allows for the knowledge of the many quantisation of the aortic regurgitation the diameters of the regurgitation jet, the jet's extension. In the left ventricle, the endodiastolic velocity in the aortic cross, the left ventricle's diameters and function parameters which allow us exactly to establish the surgical criteria for patients suffering from aortic regurgitation.

Key words: echocardiography, aortic regurgitation, ethiology.

I. DIAGNOSTICUL POZITIV AL INSUFICIENȚEI AORTICE

Se efectuează cu ajutorul tehnicii Doppler. Marea sensibilitate a aparatelor Doppler color recente face acest procedeu foarte simplu. Totuși Dopplerul continuu (cu sondă Pedoff) rămâne metoda cea mai sensibilă pentru detectarea unei regurgități minime.^{2,7,34}

În stabilirea diagnosticului merită semnalate două dificultăți:

-Pacienții tahicardici, la care punerea în evidență a regurgitării poate fi delicată, din cauza scurtării diastolei.¹¹

-Pacienții cu stenoză mitrală, din cauză că deseori apare a suprapunere a fluxului de insuficiență aortică și a umplerii accelerate prin stenoză, ceea ce face ca analiza Doppler să fie uneori delicată.^{1,16,17}

Singurul diagnostic diferențial este cel al fluxului insuficienței pulmonare, care este în același timp și un flux holodiastolic. Totuși, orientarea sondei este diferită pentru cele două tipuri de regurgități iar analiza vitezelor permite, cu excepția unei hipertensiuni arteriale pulmonare foarte severe, identificarea celor două tipuri de regurgitare.^{16,21}

Detectarea unei regurgitații aortice minime la un subiect peste 60 ani nu trebuie considerată realmente

patologică dacă este legată de o simplă mărire a marginii libere a valvelor, fără stenoză. O astfel de descoperire nu justifică o abordare specială. În schimb, la un subiect tânăr, valva aortică este în mod normal etanșă.^{14,25}

II. DIAGNOSTICUL ETIOLOGIC AL INSUFICIENȚEI AORTICE

Se face cu ajutorul analizei minuțioase a sigmoidelor (aspect și cinetică), a inelului aortic și aortei ascendente. Calea transtoracică are în acest caz limite (o fereastră parasternală slabă) însă ecocardiografia transesofagiană multiplan este utilă deoarece cele două planuri folosite sunt de 45 și 120 grade.^{2,12,16,19,28}

Insuficiența aortică reumatismală

Antecedentele de reumatism articular acut orientează spre această etiologie dar nu sunt constant prezente. Analiza valvei aortice permite evocarea acestui diagnostic când se observă o fuziune a comisurilor cu o mărire și afectarea mitrală deseori asociată. Apare frecvent un element de stenoză aortică asociată care trebuie foarte bine precizat.^{2,6,12}

Endocardita infecțioasă

Endocardita infecțioasă rămâne o etiologie curentă a insuficienței aortice. Contextul clinic este frecvent evocator. Analiza valvei, când pune în evidență

vegetații, permite orientarea spre diagnosticul etiologic. Examinarea transesofagiană este indispensabilă pentru a căuta vegetații de talie foarte mică și perforarea sigmoidelor și permite o analiză foarte precisă a inelului aortic în căutarea unui abces a cărui diagnostic poate fi acum făcut precoce, grație excelenței imagini obținute.^{4,7,20}

Insuficiența aortică degenerativă (distrofică)

Se asociază în grade diferite atingerii valvulare (excese ale țesutului, prolaps), dilatației inelului aortic și dilatației aortei ascendente.

Forma completă realizează maladia anulo-aortică. Măsurarea precisă a diametrelor aortei la toate nivelurile este foarte importantă pentru a ghida intervenția chirurgicală, dacă aceasta este indicată.^{2,4,19,23,25}

Disecția de aortă

Este desigur, contextul insuficienței aortice acute care orientează deseori spre această etiologică, chiar înainte de începerea examinării.

Insuficiența aortică legată de disecțiile de tip A se asociază cu afectarea aortei ascendente în totalitate. Examinarea transesofagiană este cea care permite studiul complet al crosii aortice și precizarea exactă a mecanismului și a importanței insuficienței aortice.^{3,13,21}

Insuficiența aortică congenitală

Poate fi vorba de o valvă bicuspidă. În acest caz există frecvent o boală aortică care asociază o stenoză și o regurgitare. Analiza pe cale transtoracică este frecvent delicată din cauza dificultății de a delimita exact planul celor trei sigmoide, putând duce spre un diagnostic greșit de bicuspidie, când de fapt există trei valve.

Prezența unei comunicări interventriculare la nivelul septului membranos trebuie să ducă spre căutarea sistematică a existenței unei regurgitări aortice a cărui mecanism este deplasarea uneia dintre sigmoide din cauza defectului de sept ventricular, sugerând turbulențe (Boala lui Roger).^{3,16}

Defecte inflamatorii

Este vorba de o etiologie foarte rară a insuficienței aortice, fie în cadrul unei maladii inflamatorii sistemice (spondilatroză anchilozantă), fie în cadrul sifilisului.^{16,19,28}

Insuficiența aortică traumatică

O etiologie rară cu un context foarte special.

Cazuri particulare: insuficiența aortică pe proteze aortice

Trebuie abordate trei etape succesive:

-La început să distingem insuficiența aortică intra și para-protetică;

-Cuantificarea insuficienței aortice;

-În cele din urmă, să căutăm întotdeauna argumente pentru un defect infecțios (endocardită).^{3,23,24}

Dacă calea transtoracică permite întotdeauna detectarea regurgitărilor severe cu ajutorul Doppler continuu, ea implică numeroase limite și examinările

transesofagiene multiplan sunt cele care permit cea mai precisă descriere a acestui tip de regurgitare.^{21,29}

III. CUANTIFICAREA INSUFICIENȚEI AORTICE

Analiza jetului de insuficiență aortică în Doppler color permite distingerea insuficienței aortice minime de insuficiența aortică foarte mare. Problema cuantificării apare numai în cazul defectelor intermediare (gradul doi și trei angiografic).^{5,9,12}

Metoda examinării constă în adunarea a maximum de parametri care se apropie de cuantificare și confruntarea acestora pentru a ne face o idee de ansamblu. Este important de notat că aproape toate informațiile sunt obținute pe cale transtoracică, ecografia transesofagiană având un aport relativ limitat în ceea ce privește cuantificarea (cu excepția pacienților cu fereastră dificilă transtoracic).

În cuantificare sunt foarte folositori următorii parametri:^{7,22,27,29,33}

1. Diametrul jetului de insuficiență aortică, la origine;
2. Extensia în ventriculul stâng;
3. Viteza telediastolică în crosa aortică;
4. Diametrul și funcția ventriculului stâng;
5. Debitul subaortic;
6. Frația de regurgitare;
7. Timpul de semi-descreștere a vitezelor fluxului de insuficiență aortică.

Diametrul jetului

Analiza jetului la origine, cu ajutorul Doppler color, permite o bună cunoaștere a importanței insuficienței aortice. Teoretic, măsurarea diametrului la origine este corelată cu gradul regurgitației aortice.^{4,12,17,18,27}

Trebuie să evidențiem două limite:

-Înainte de măsurarea diametrului este bine să definim forma jetului insuficienței aortice. Dacă acesta este clar necircular, măsurarea diametrului nu prea mai are importanță.

-A doua limită: gradele doi și trei sunt dificil de delimitat numai pe baza acestui criteriu.³

Au fost expuse următoarele valori.^{10,12,17}

-diametrul sub 8mm: gradul 1.

-între 8 și 13mm: gradul 2 sau 3.

-diametrul peste 13 mm: gradul 4.

Anumiți autori au propus raportarea acestui diametru la cel al cavității de regurgitare pentru o evaluare mai precisă, dar în practică este destul de dificil.^{2,7,16,17,18}

Extensia jetului în ventriculul stâng cu ajutorul Doppler color

Permite, foarte schematic, să distingem regurgitația puțin importantă de cea foarte mare, dar are o contribuție mică atunci când cuantificarea este dificilă, adică la gradele intermediare.

De fapt, extensia jetului color este dependentă de numeroși factori necontrolabili, mai ales când jetul este excentric spre un perete ventricular.^{4,6,22}

Studiul refluxului aortic în crosa aortică

Este un element esențial pentru cuantificarea regurgitației aortice. Înregistrarea în Doppler pulsat a fluxului situat la nivelul istmului aortic este deseori posibilă în practică (pe cale suprasternală). Au fost propuși mai mulți indici, dar simpla măsurare a vitezelor telediastolice a refluxului în crosă, ne dă o informație utilă.^{10,29}

Se consideră că o viteză mai mare de 20 cm/sec este corelată cu o insuficiență aortică importantă (grad 3 sau 4). Totuși, trebuie să evidențiem anumite limite: prezența stenozei aortice sau a protezelor.^{9,11,16}

A fost propus raportul vitezelor sau al suprafețelor în sistolă și diastolă dar nu aduce destule precizări suplimentare în practică.^{6,8,12}

Studiul funcției ventriculului stâng

Este un punct capital al examinării, pentru a studia încetinirea regurgitației aortice în ventriculul stâng, deci pentru a ne ajuta în luarea unei decizii terapeutice imediate. Este și un element esențial în supravegherea valvulopatiilor regurgitante; măsurarea trebuie efectuată cu atenție.^{12,13}

Se realizează în măsurătorile clasice de grosime a pereților, diametrelor ventriculului stâng în ax lung parasternal. În cazul unei insuficiențe aortice, observăm o hipertrofie a ventriculului stâng excentrică, corespunzând supraîncărcării de volum. La un subiect asimptomatic cu insuficiență aortică importantă, un ventricul stâng foarte dilatat (diametrul telediastolic peste 80mm) sau un diametru telesistolic de peste 55mm, sunt pentru cea mai mare parte a autorilor, cifre care justifică o intervenție chirurgicală.^{13,16,23}

Al doilea parametru este evoluția în cursul supravegherii și studiile au demonstrat că apariția unor evenimente la pacienții cu o insuficiență aortică inițial asimptomatică a fost cu atât mai importantă cu cât creșterea diametrului anual a fost mai mare^{8,17} (Tabelul I).

Tabelul I. Subiecții asimptomatici: funcția ventriculului stâng în repaus (Bonow și colab, Circulation, 1991)

Evoluția în cursul supravegherii a diametrului telediastolic	Evenimente pe an
Peste 50 mm și >1 mm/an	27%
Peste 50 mm și <1mm/an	11%
40-50 mm și > 1mm/an	6%
40 - 50 mm și < 1mm/an	1%
Sub 40 mm	0

Studiul debitului sub-aortic

Studiul integralei timp- viteză și măsurarea diametrului camerei de regurgitare poate permite, cunoscând frecvența cardiacă, evaluarea debitului cardiac sub-aortic. Acest parametru deseori realizabil în practică este interesant de confruntat cu alte elemente. Un debit cardiac peste 7- 8 l/min în repaus pledează pentru o insuficiență aortică importantă.^{16,17,24}

Fracția de regurgitare

Teoretic, este parametrul cel mai precis pentru a cuantifica o regurgitare aortică.³¹ Totuși, evaluarea sa

este dificilă în practică. Trebuie comparat debitul aortic cu cel pulmonar sau mitral pentru a calcula volumul regurgitat și fracția de regurgitare.^{14,16,20}

Sunt efectuate numeroase aproximări când studiem debitul transvalvular. Când folosim măsurarea volumului ventricular stâng, ne lovim deseori de o definire imprecisă a pereților, această evaluare a volumelor rămânând adesea aleatorie.^{13,22,26}

O fracție de regurgitare sub 45% pledează pentru o insuficiență aortică moderată și una peste 45% pentru o insuficiență aortică importantă. Măsurarea acestui parametru poate fi utilă când ceilalți parametri de cuantificare sunt discordanți și e greu să ne facem o idee precisă.^{27,29,31}

Timpu de semi-descreștere a vitezelor de regurgitație aortică

Constă în măsurarea cu Doppler continuu a timpului de semi- descreștere a vitezei în cursul diastolei (PHT). Un PHT sub 300msec pledează pentru o insuficiență aortică importantă.^{12,13,17}

În practică, este un parametru foarte înșelător, cu excepția insuficienței aortice acute. În fapt, adaptarea ventriculului stâng la creșterea presiunilor normalizează foarte des acest parametru când regurgitarea aortică este foarte mare. În plus, în mod frecvent în cazul insuficienței aortice excentrice, evaluarea în Doppler continuu este foarte dificilă, ceea ce face ca măsurarea PHT să fie aleatorie.^{29,33}

CONCLUZII

Ecocardiografia Doppler este acum metoda de referință în stabilirea diagnosticului pozitiv și etiologic al insuficienței aortice și în urmărirea pacienților asimptomatici. Îmbunătățirea performanțelor și cunoașterea numeroșilor parametri de cuantificare, permit acum, o evaluare precisă a regurgitării aortice la cea mai mare parte a pacienților.

La subiecții simptomatici, ansamblul diferiților parametri, permite o precizare foarte bună a riscului operator și a altor valvulopatii asociate.

La subiecții asimptomatici ecografia este examinarea de elecție pentru supraveghere, ajutând la luarea unor decizii operatorii în momentul în care apar modificări ale mărimumi și funcției ventriculului stâng.

Pe viitor, se poate spera o mai bună cuantificare grație îmbunătățirii tehnicii imagistice care să permită accelerarea în practică a calculului regurgitării. Contribuția tehnologiilor noi, cum ar fi Dopplerul tisular, va permite un studiu mai precis al funcției ventriculului stâng în repaus, aducând noi indici și ajutând la luarea unor decizii operatorii la pacienții asimptomatici.

În cele din urmă, posibilitatea de a studia funcția ventriculului stâng în condiții de stress (fizic sau farmacologic) va permite cu siguranță un studiu mai precis al funcției ventriculului stâng la pacienții cu insuficiență aortică cronică.

BIBLIOGRAFIE

1. ABE M, OKI T, TABATA T - *Difference in the diastolic left ventricular wall motion velocities between - aortic and mitral regurgitation by pulsed tissue Doppler imaging*, J Am Soc Echocardiogr, 1999, 15-21
2. ARONOW WS - *Usefulness of M-mode, 2-dimensional, and Doppler echocardiography in the diagnosis, prognosis, and management of valvular aortic stenosis, aortic regurgitation, and mitral annular calcium in older patients*, J Am Geriatr Soc, 1995, 295-300
3. BARBOSA MM, MOTTA MS - *Quadracuspid aortic valve and aortic regurgitation diagnosed by Doppler echocardiography: report of two cases and review of the literature*, J Am Soc Echocardiogr, 1991, 69-74
4. BOUCHARD A, YONK P, SCHILLER N et al - *Value of color Doppler estimation of regurgitant volume in patients with chronic aortic insufficiency*, Am Heart J, 1989, 1099-1105
5. COHEN GI, DUFFY CI, KLEIN AL et al - *Color Doppler and two-dimensional echocardiographic determination of the mechanism of aortic regurgitation with surgical correlation*, J Am Soc Echocardiogr, 1996, 508-515
6. DALAL P, NAGY B, BERGER M - *Assessment of aortic regurgitation by color flow and continuous wave Doppler echocardiography*, Am J Cardiol, 1996, 661-663
7. DOLAN MS, CASTELLO R, ST VRAIN JA et al - *Quantitation of aortic regurgitation by Doppler echocardiography: a practical approach*, Am Heart J, 1995, 1014-1020
8. EVANGELISTA A, DEL CASTILLO HG, CALVO F et al - *Strategy for optimal aortic regurgitation quantification by Doppler echocardiography: agreement among different methods*, Am Heart J, 2000, 773-781
9. GIESLER M, BAJTAY D, LEVINE RA et al - *Aortic regurgitant flow by color Doppler measurement of the local velocity 7 mm above the leak orifice—Part 2: Comparison with cardiac catheterization*, Z Kardiol, 1999, 896-905
10. GIESLER M, PFOB A, LEVINE RA et al - *Aortic regurgitant flow by color Doppler measurement of the local velocity 7 mm above the leak orifice—Part 1: in vitro measurements*, Z Kardiol, 1999, 631-639
11. GOZZELINO G, ALETTO C, CURTI MT et al - *The effect of heart rate on the slope and pressure half-time of the Doppler regurgitant velocity curve in aortic insufficiency*, J Am Soc Echocardiogr, 1996, 516-526
12. HOLM S, ERIKSSON P, KARP K et al - *Quantitative assessment of aortic regurgitation by combined two dimensional, continuous-wave and colour flow Doppler measurements*, J Intern Med, 1992, 115-121
13. HONDA Y, YOKOTA Y - *Evaluation of left ventricular relaxation using the continuous wave Doppler velocity profile of aortic regurgitation: noninvasive measurement of left ventricular negative dP/dt and time constant*, Clin Cardiol, 1996, 709-715
14. HUANG HC, LO SH, LEE SS - *Aortic regurgitation detected with Doppler echocardiography in apparently healthy adolescents*, J Formos Med Assoc, 1999, 668-671
15. KAI H, KOYANAGI S - *Aortic valve prolapse with aortic regurgitation assessed by Doppler color-flow echocardiography*, Am Heart J, 1992, 1297-1304
16. KLEIN AL, DAVISON MB, VONK G et al - *Doppler echocardiographic assessment of aortic regurgitation: uses and limitations*, Cleve Clin J Med, 1992, 359-268
17. KUROKAWA S, TAKAHASHI M, SUGIYAMA T et al - *Noninvasive evaluation of the magnitude of aortic and mitral regurgitation by means of Doppler two-dimensional echocardiography*, Am Heart J, 1990, 638-648
18. MIZUSHIGE K, NOZAKI S, OHMORI K et al - *Evaluation of effective aortic regurgitant orifice area and its effect on aortic regurgitant volume with Doppler echocardiography*, Angiology, 2000, 241-246
19. PADIAL LR, OLIVER A, VIVALDI M et al - *Doppler echocardiographic assessment of progression of aortic regurgitation*, Am J Cardiol, 1997, 306-314
20. PYE M, RAE AP, HUTTON I et al - *Quantification of aortic regurgitation using continuous and pulsed wave Doppler echocardiography*, Int J Cardiol, 1990, 101-106
21. RAFFERTY T, DURKIN MA, SITTING D et al - *Transesophageal color flow Doppler imaging for aortic insufficiency in patients having cardiac operations*, J Thorac Cardiovasc Surg, 1992, 521-525
22. REIMOLD SC, ATKINSON CM, LUNA B - *Influence of jet impingement on color Doppler parameters of aortic regurgitation*, Echocardiography, 1993, 113-119
23. REIMOLD SC, MATER SE, AGGARWAL K et al - *Aortic flow velocity patterns in chronic aortic regurgitation: implications for Doppler echocardiography*, J Am Soc Echocardiogr, 1996, 675-683
24. REIMOLD SC - *Relation between Doppler color flow variables in patients with aortic regurgitation*, J Am Coll Cardiol, 1992, 1143-1148
25. SEDER JD, BURKE JF, PAULETTO FJ - *Prevalence of aortic regurgitation by color flow Doppler in relation to aortic root size*, J Am Soc Echocardiogr, 1990, 316-319
26. SMITH MD, KWAN OL - *Temporal variability of color Doppler jet areas in patients with mitral and aortic regurgitation*, Am Heart J, 1992, 953-960
27. TAM LY, MINICH LL, DAY RW et al - *Doppler evaluation of aortic regurgitation in children*, Am J Cardiol, 1997, 927-931
28. TEAGUE SM - *Doppler echocardiographic evaluation of aortic regurgitation*, Cardiol Clin, 1990, 249-263
29. TRIBOUILLOY C, SHEN WF, SLAMA M - *Assessment of severity of aortic regurgitation by M-mode colour Doppler flow imaging*, Eur Heart J, 1991, 352-356
30. WILKENSHOFF UM - *Validity of continuous wave Doppler and colour Doppler in the assessment of aortic regurgitation*, Eur Heart J, 1994, 1227-1234
31. WILLEMS TP, STEYERBERG EW - *Reproducibility of color Doppler flow quantification of aortic regurgitation*, J Am Soc Echocardiogr, 1997, 899-903
32. XIE GY, BERK MR - *A simplified method for determining regurgitant fraction by Doppler echocardiography in patients with aortic regurgitation*, J Am Coll Cardiol, 1994, 1041-1045
33. YEUNG AC, PLAPPERT T, ST JOHN STUTTON MG - *Calculation of aortic regurgitation orifice area by Doppler echocardiography: an application of the continuity equation*, Br Heart J, 1992, 236-240
34. ZARAUZA J, ARES M - *An integrated approach to the quantification of aortic regurgitation by Doppler echocardiography*, Am Heart J, 1998, 1030-1041

Sugestii etiologice generate de examenul microscopic în limfomul Hodgkin

M.Turcu¹, G. Simu¹, C. Creangă¹, Adriana Habor², Anca Sin¹

Etiologia și patogeniza proliferării limfomatoase în limfomul Hodgkin au generat multe ipoteze și discuții în acest sens, începând cu cea a reacției inflamatoare prelungite emisă de Rubin Popa în 1958 și până la rezultatele tehnicilor subtile de imunohistochimie recente. Boala Hodgkin își rezervă particularitatea de a nu-și fi dezvăluit pe deplin natura celulelor neoplazice, totuși demonstrarea anumitor componente codificate de genomul Virusului Epstein-Barr (VEB) arată implicarea importantă a acestuia în etiopatogeneza limfomului Hodgkin.

Cuvinte cheie: limfom Hodgkin, celule tumorale, VEB

The etiology and pathogenesis of lymphomatous proliferation in Hodgkin's disease have generated a lot of hypothesis and theories in this sense, beginning with that issued by Rubin Popa in 1958, of prolonged inflammatory reaction to those resulted from subtle immunohistochemical techniques. Hodgkin's disease has the particularity of not disclosing sufficiently the nature of neoplastic cells, however, some structures codified by Epstein-Barr Virus genome indicate the important involvement of this virus in etiology and pathogenesis of Hodgkin's disease.

Key words: Hodgkin's disease, tumoral cells, EBV

În ciuda faptului că a fost prima boală neoplazică a organelor limfatice descrisă de Thomas Hodgkin încă din 1832³ sub denumirea de tumori ale ganglionilor absorbant și ale splinei, ca și a faptului că este una din puținele boli prezentând elemente citologice "aproape" patognomonice, celulele Reed-Sternberg, limfomul Hodgkin continuă să-și păstreze enigma etiologiei și patogenizei. Utilizarea în ultimii ani, a metodelor imunologice, imunomicroscopice și de biologie moleculară, care au permis descifrarea a numeroase enigme ale patologiei, inclusiv au confirmat ipoteza emisă printre primii în lume de Rubin Popa (1958)¹² că limfoamele sunt urmarea unor reacții inflamatoare prelungite sau repetate, n-au reușit până astăzi să dea o explicație plauzibilă cauzelor și modului de producere a acestei boli.

De la început, boala Hodgkin prezintă particularitatea contrastului între aspectul microscopic al leziunilor, care în majoritatea cazurilor este al unui

proces inflamator cronic și evoluția malignă, asemănătoare celorlalte tumori canceroase, de unde și denumirea sugestivă utilizată mult timp de limfogranulomatoză malignă. Caracterul microscopic inflamator al bolii a determinat, încă de la începutul secolului trecut, cercetări în vederea descoperirii unui agent etiologic infecțios.

Caracterul inflamator granulomatos al leziunilor, prezența de celule gigante și posibilitatea imbolnăvirii de tuberculoză a cobaiilor inoculați cu extracte de țesuturi bolnave de la bolnavi de Hodgkin, l-a făcut pe Sternberg¹³ să afirme că boala este o formă particulară de tuberculoză produsă de un bacil atenuat sau de un microb foarte asemănător bacilului tuberculos. Ipoteza a fost preluată de numeroși alți cercetători, care au reușit să producă tuberculoză, în diferitele proporții, la cobai inoculați cu material provenit de la bolnavi cu Hodgkin, inclusiv cu filtrat ganglionar; ultima observație a generat ideea unui retrovirus tuberculos; după Kuczinsky și Hanch⁸ ar fi vorba de o bacterie intracelulară din genul streptotoux, germen intermediar între bacilul Koch și actinomyces. La ipoteza naturii tuberculoase a bolii Hodgkin s-au raliat și Titu Vasiliu și Goia¹⁹ pe baza unor experiențe personale în care au reușit să reproducă tuberculoză la cobai cu materialul

¹Disciplina Anatomie Patologică, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

²Disciplina Fiziologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

Adresa de corespondență: Dr. Mihai Turcu, Laboratorul de Anatomie Patologică, Spitalul Clinic Județean, str. Gh. Marinescu 52, 4300 Târgu-Mureș

prelevat de la bolnavi. Concluziile lor au fost expuse într-un amplu articol apărut în Franța, în 1927, au fost atât de convingătoare încât au fost preluate de Gustave Roussy¹⁴ în celebrul său tratat de anatomie patologică.

Progresele realizate de bacteriologie și imunologie după 1950 au infirmat însă această ipoteză. Continuarea concepției de boli imunodeficiente și a complicațiilor lor oportuniste a inclus limfoamele Hodgkin printre astfel de boli, tuberculoza apărând ca o complicație oportunistă.

Acest progres conceptual n-a rezolvat însă problema etiopatogenezei bolii. S-au emis în continuare mai multe ipoteze asupra naturii tulburărilor imunologice care duc la apariția unei boli a țesuturilor limfatice cu evoluție malignă. Sub influența ideilor lui Burnet¹, o serie de personalități ale patologiei hematologice ale aceluși timp^{2,7,17} au explicat proliferarea limfomatoasă ca fiind urmarea unor modificări structurale, deci antigenice, produse în celulele limfoide sub acțiunea diversilor factori carcinogeni; devenind diferite de restul celulelor organismului, pe care le consideră străine, aceste celule transformate declanșează o reacție imună caracterizată prin proliferare și secreție de anticorpi. S-a emis și părerea că în special limfomul Hodgkin ar fi urmarea pătrunderii în circulația sanguină, cu ocazia nașterii, a unor limfocite maternelle, care sub acțiunea unor factori, s-ar activa, expresia acestei activări fiind limfomul Hodgkin. Raționale și atrăgătoare, aceste ipoteze nu pot fi demonstrate în mod convingător.

Descoperirea unei indiscutabile legături etiologice între limfomul Burkitt și virusul Epstein-Barr (VEB)¹³, ca și între virusul limfomului cu celule T și limfomul respectiv¹⁸ a generat studii consistente asupra existenței în evidență a unui astfel de virus și în limfomul Hodgkin, mai ales că în ultimii ani metodele imunomicroscopice și de biologie moleculară au devenit deosebit de subtile.

Aceste studii au demonstrat că limfomul Hodgkin este o boală clonală și că celulele Reed-Sternberg și variantele lor reprezintă celule transformate neoplazice. Foarte probabil, acumularea de celule reactive, sugerând un proces inflamator cronic, este răspunsul la citokinele secretate de aceste celule (interleukina 4 și 5, factor de necroză tumorală alpha, factor de creștere beta). În special interleukina 5 produsă de celulele Sternberg pare să inducă acumularea eozinofilelor.¹⁶ Factorul de creștere beta, o citokină fibrogenă, nu se găsește decât în scleroza nodulară, unde este produs de eozinofile.⁶ Aceste constatări sugerează că aspectul microscopic variabil al leziunilor în limfomul Hodgkin este urmarea acțiunii citokinelor secretate atât de celulele Sternberg cât și de infiltratul celular reactiv.¹¹

În ce privește natura celulelor Sternberg, dacă în cazurile de predominanță limfocitară ele sunt totdeauna de origine B, în celelalte subtipuri natura lor nu este tot atât de clară. Astfel, în celularitatea mixtă sau scleroza nodulară ele par adesea de natură B, dar prezintă uneori și caractere fenotipice de macrofage.



Figura 1. Nodul limfatic prezentând o hiperplazie limfoidă floridă cu hipertrofia centrilor germinali, caracteristică infecțiilor cu virus. H-E, 100x



Fig 2. Prezența în centrii germinali hipertrofiați de celule mari cu nucleu polilobat și nucleoli evidenți amintind celulele Reed-Sternberg. H-E, 400x

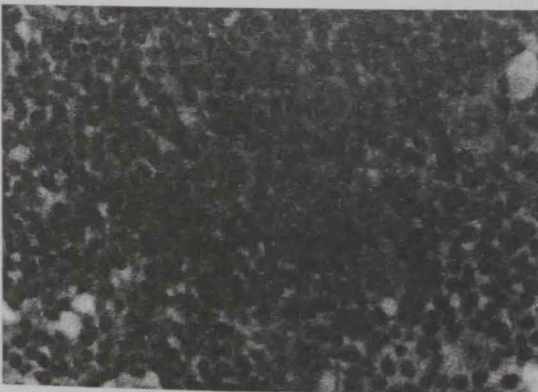


Fig 3. Prezența printre celulele mari descrise, a unei celule cu nucleu dublu, cu nucleoli în ochi de bufniță, cu aspecte de celulă Reed-Sternberg. H-E, 400x

Întrucât totuși originea B a celulelor Sternberg este predominantă și cunoscându-se predilecția virusului Epstein-Barr pentru aceste categorii de limfocite, ipoteza mai veche asupra unei intervenții a acestui virus în producerea bolii capătă o nouă greutate. Într-adevăr, se cunoaște mai de mult timp că persoane care au suferit de mononucleoză infecțioasă sau care prezintă titruri crescute de anticorpi față de virus prezintă un risc ușor crescut de a se îmbolnăvi de limfom Hodgkin.³ Această suspiciune sero-epidemică a fost întărită de studiile moleculare. Astfel, în 40% din cazurile de boală Hodgkin cu scleroză nodulară și în 60-70% din cele cu celularitate mixtă s-a putut identifica în celulele Sternberg genomul VEB și transcrieri de ARN specifice^{19,21}, dar nu și în predominență limfocitară. Aspectul ANID viral este același în toate celulele unui bolnav demonstrând că infecția s-a făcut înainte de transformarea neoplazică.^{4,20}

Pe baza tuturor acestor observații se consideră că VEB ar putea să fie una din numeroasele etape ale patogenezii bolii. Este posibil însă ca și alți agenți infecțioși, necunoscuți în prezent, să fie implicați în producerea limfomului Hodgkin, mai ales în cazurile VEB-negative.

De fapt, această relație între infecția cu VEB și apariția de celule Reed-Sternberg a fost mai de mult subliniată în practica laboratorului de anatomie patologică în unele cazuri de mononucleoză infecțioasă, la nivelul hiperplaziei limfoide floride care caracterizează această boală se pot întâlni celule mari cu nuclei polilobați și nucleoli proeminenți uneori imposibil de diferențiat de celulele Reed-Sternberg.⁹ În astfel de cazuri (Figura 1-3), mai ales în lumina noilor cercetări care demonstrează prezența infecției cu VEB în multe din cazurile cu limfom Hodgkin, se impune supravegherea riguroasă a persoanelor cu astfel de modificări.

BIBLIOGRAFIE

1. BURNET FM - *Immunological factors in the process of carcinogenesis*, Brit Med Bull, 1969, 20:154-160.
2. DAMASHEK W, SCHWARTZ BS - *Leukemia and autoimmunisation: some possible relationships*, Blood, 1962, 14:1151-1158.
3. GUTENSOHN N, COLE P - *Childhood social environment and Hodgkin's disease*, New Engl J Med, 1981, 304:135-140.
4. HERBST H - *EBV latent membrane protein expression in Hodgkin and Reed-Sternberg cells*, Proc Nat Acad Sci, 1991, 88:4766-4770.
5. HODGKIN T - *One some morbid appearances of the absorbet glands and spleen*. Trans Med Chir Soc, 1832, 17:68-114.
6. KADIN ME - *Immunohistochemical evidence of a role for transforming growth factor beta in the pathogenesis of nodular sclerosing Hodgkin's disease*, Am J Pathol, 1990, 136:1209-1214.
7. KAPLAN HS, SMITHERS DW - *Autoimmunity in man and homologous disease in mice, in relation with malignant lymphoma*, Lancet, 1959, 1:3-4.
8. KUZYNSKY W, HAIK J - *Der Actiologie der malignen Lymphogranulomatose*, Leitschrift F Klin Med, 1925, 99:102-110.
9. LUKES RJ, TINDE BH, PARKER JW - *Reed Sternberg - like cells in infectious mononucleosis*. Lancet, 1969, 2:1003-1004.
10. NIEDOBITEK G - *The role of EBV in pathogenesis of Hodgkin's disease*, Ann Oncol, 1996, 7:11-20.
11. PINTO A - *Human eosinophils express functional CD30 ligand and stimulate proliferation of Hodgkin's disease cell line*, Blood, 1996, 88:3299-3306.
12. POPA R, QUAI I, SIMU G - *Septicemii post abortum cu stafilococi antibiotici rezistenti*, Obst-Ginecol, 1958, 1:69-76.
13. PURTILLO DT - *Epstein-Barr virus associated lymphoproliferative disease*, Lab Invest, 1992, 67:5-15.
14. ROUSSY G, OBERLING C, LEROUX R - *Précis de anatomie pathologique*, Masson, Paris, 1949.
15. STERNBERG C - *Über eine Eigenartige unter dem Bilde der Pseudoleukemie verlaufende Tuberculose des lymphatischen Apparate*, I. Heilkunde, 1898, 19:21-90.
16. SZAMOZUK M, NANSSEN L - *Detection of interleukin 5 messenger RNA in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease with eosinophilia*, Blood, 1990, 75:13-20.
17. TYLER AA - *Anti-hodt immunologic response of neoplastic cells*. Ford Hospital Symposium about biological and interactions in normal and neoplastic growth, Ed Little Brown, Boston, 1962, 533-558.
18. UCHIYAMA T - *Human T cell leukemia virus type I and human disease*, Ann Rev Immunol, 1997, 9:684-690.
19. VASILIU T, GOIA I - *La granulomatose maligne*, Ann Anat Path, 1927, 4:3-62.
20. WEISS LM, CHAGN KL - *Molecular biologic studies of Hodgkin's disease*, Semin Diagn Pathol, 1992, 9:272-278.
21. WEISS LM, CHEN YY, LIU XF et al - *Epstein-Barr virus and Hodgkin's disease*, Am J Pathol, 1992, 139:1259-1265.

Aspecte endoscopice gastrice și duodenale la pacienți cu afecțiuni pancreatice

Simona-Maria Bățaga

Lucrarea urmărește aspectele endoscopice atât de la nivel gastric, cât și duodenal la pacienți cu afecțiuni pancreatice.

Ideea lucrării a pornit de la observarea unui aspect ciudat endoscopic la pacienți cu pancreatită acută, respectiv un duoden cu mucoasă albă, palidă, ischemică.

Lucrarea are la bază trei loturi de pacienți, primul fiind format din 21 de pacienți cu pancreatită acută, al doilea din 22 de pacienți cu pancreatită cronică și 7 pacienți cu cancer de cap de pancreas. La toți pacienții s-a efectuat endoscopie digestivă superioară și s-au prelevat biopsii multiple gastrice și duodenale.

Se concluzionează asupra aspectului caracteristic endoscopic al duodenului palid la pacienții cu pancreatită acută, fără a putea afirma cu certitudine că este un aspect și specific.

Cuvinte cheie endoscopie gastrică și duodenală, biopsie, afecțiuni pancreatice

The paper follows up the endoscopic appearance of the gastric and duodenal mucosae, in patients with pancreatic disorders.

The idea of paper started from the observation that in patients with acute pancreatitis the duodenum has a peculiar endoscopic appearance, it is whitish, pale, atrophic.

The paper is based upon three groups of patients. 21 patients with acute pancreatitis compose the first group, 22 patients with chronic pancreatitis the second and the third group contains patients with pancreatic neoplasm.

All the patients underwent upper digestive endoscopy and multiple gastric and duodenal biopsies were taken.

The conclusion is that the whitish appearance of the duodenum in the acute pancreatitis is characteristic to acute pancreatitis, even we can not conclude that it is also specific.

Key words gastric and duodenal endoscopy, biopsy, pancreatic affections

Lucrarea urmărește afectarea mucoasei gastrice și duodenale la pacienți cu patologie pancreatică. Obiectivul primordial al lucrării constă mai ales în determinarea aspectelor endoscopice, uneori greu de interpretat.

Explorarea tubului digestiv a fost timp de multe decenii apanajul radiologiei care furnizează informații doar indirecte și alb-negru despre leziunile existente. Vizualizarea directă, color cu punerea unui diagnostic precis a constituit un deziderat al tuturor gastroenterologilor.^{2,3}

De la prima gastroscopie (efectuată de Kussmaul în 1868, la un înglușitor de săbii), metoda s-a perfecționat odată cu apariția videoendoscopului, acesta permițând astăzi o vizualizare și explorare perfectă a mucoasei gastrice și duodenale.

MATERIAL ȘI METODĂ

S-au luat în studiu trei loturi de pacienți cu patologie pancreatică în vederea studierii aspectelor endoscopice gastrice și intestinale. La toți pacienții s-a efectuat endoscopie digestivă superioară și s-au prelevat

biopsii gastrice și duodenale. Biopsiile au fost fixate în formol și prelucrate în parafină, apoi colorate cu coloranții Giemsa și Hematoxilin-eosină.

Criteriile de clasificare ale gastritelor au fost conform clasificării Sydney.⁴ Pentru rezultatele endoscopice duodenale s-a folosit clasificarea Faivre, iar pentru cele histologice clasificarea Whitehead.

Pacienții cu patologie pancreatică au fost grupați în:

- Pacienți cu pancreatită acută (21 de cazuri);
- Pacienți cu pancreatită cronică (27 de cazuri);
- Pacienți cu cancer de cap de pancreas (1 caz).

La toate loturile de bolnavi s-a efectuat endoscopie digestivă superioară și s-au prelevat biopsii gastrice și duodenale.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

1. Pacienți cu pancreatită acută

Majoritatea pacienților cu această afecțiune au provenit din serviciile chirurgicale. Pacienții au fost trimiși la endoscopie digestivă pentru a exclude un ulcer penetrant în pancreas, factor de declanșare al pancreatitei acute. Numărul pacienților a fost destul de mic, respectiv 21, în general pacienții cu pancreatită acută necrotizantă fiind operați și evitându-se examenul endoscopic.

Pacienții au avut vârste cuprinse între 31-60 de ani, media de vârstă fiind 46,2 ani. În privința sexului, a predominat net cel masculin, respectiv 17 bărbați (80,95%) față de 4 femei (19,04%).

Simptomatologia a fost tipică pancreatitei acute: durere în bară 21 (100%) din pacienți, greșuri 18 (85,71%), vărsături 17 (80,95%), anxietate 12 (57,14%), pirozis 10 (46,61%).

Rezultate

Examenul endoscopic al duodenului a evidențiat aspectele din tabelul I.

Tabelul I. Rezultatele examenului endoscopic duodenal

Examen endoscopic duodenal	Nr. pacienți	Procente
Ulcer duodenal	1	4,76%
Eritematoasă	10	47,61%
Erozivă	2	9,52%
Hipertrofică	0	0
Nodulară	0	0
Atrofică	8	38,09%
Total	21	100%

Se remarcă o incidență mare a duodenitei atrofice (38,09%). Aspectul endoscopic a fost de duoden cu mucoasă albicioasă, de tip ischemic, cu desen vascular bine vizibil. Acest aspect s-a vizualizat la pacienții cu pancreatite grave, probabil forme cu tendință la necroză, fiind sesizat și de alți autori.⁶ De remarcat un singur caz de ulcer duodenal.

Din punct de vedere histologic duodenitele au prezentat aspecte variate, pe care le prezentăm în tabelul II.

Tabelul II. Rezultatele histologice ale examinării duodenale

Duodenita histologică	Nr. pacienți	Procente
Mucoasa normală	0	0
Gr.I	8	38,09%
Gr.II	12	57,14%
Gr.III	1	4,76%
TOTAL	21	100%
+Metaplazie gastrică	3	14,28%
+HP	0	0%

Se remarcă predominanța duodenitei de gradul II cu aplatizare marcată a vilozităților intestinale, cu marcată tendință de dezepitelizare a epitelului superficial. Metaplazia gastrică la nivel duodenal a avut o incidență redusă (14,28%) și nu s-a evidențiat la nici un pacient *Helicobacter pylori* (HP) sau *Giardia lamblia* (GL).

Stomacul examinat endoscopic a prezentat aspectele enumerate în tabelul III.

Tabelul III. Rezultatele endoscopiei gastrice la lotul de pacienți cu pancreatită acută

Examen endoscopic gastric	Nr. pacienți	Procente
Stomac normal	6	28,57%
Gastrita eritematoasă	16	76,19%
Gastrită erozivă	1	4,76%
Gastrita hipertrofică	0	0
Gastrita atrofică	0	0
Gastrita hemoragică	0	0
Gastrita de reflux	0	0
Total	21	100%

Se remarcă predominanța gastritei eritematoase (76,19%). De semnalat și relativa frecvență crescută a stomacului cu aspect endoscopic normal. Spre deosebire de aspectul atrofic, palid duodenal, stomacul nu a prezentat nici un caz de gastrită atrofică.

Rezultatele histologice obținute la biopsia gastrică sunt prezentate în tabelul IV, folosind clasificarea Sydney.

Tabelul IV. Rezultatele examenului histologic gastric la pacienții cu pancreatită acută

Variabilă gradabilă	Nr. pacienți	Procente
Stomac normal	5	23,8%
HP	11	52,38%
Inflamație	5	23,8%
Activitate	5	23,8%
Atrofie	0	0
Metaplazie intestinală	2	9,52%

Clasificarea topografică a fost următoarea: gastrita antrală 6 pacienți (28,57%), gastrită corporeală 4 (19,04%), pangastrită (14,28%), stomac normal 8 (38,09%).

HP a avut o incidență medie de 52,38%, comparativ cu populația aparent sănătoasă. De remarcat incidența relativ mare a stomacului normal histologic (23,8%).

Deci, la un lot de pacienți relativ mic (în număr de 21), cu simptomatologie tipică pancreatică (dureri în bară, greșuri vărsături) se remarcă predominanța netă a pancreatitei acute la vârste relativ tinere 57,14% între 41-50 de ani și la sexul masculin 80,95%.

-Se remarcă la examenul endoscopic duodenal aspectul de duodenită atrofică, cu duoden cu mucoasă palidă, albă (38,09%).

-Histologie apar modificări multiple, predominând duodenita de gradul II (57,14%), cu atrofie vilozitară, edem, descuamare epitelială și inflamație. Toate

biopsiile duodenale au indicat prezența duodenitei (100%).

-La nivel gastric, endoscopic atrage atenția prezența unui stomac de aspect normal (28,57%).

-Histologic acest aspect este confirmat în procent satisfăcător (23,8%). HP are o incidență relativ medie, comparabilă cu a altor loturi de studiu (52,38%).

-Atrage atenția aspectul albicios endoscopic al duodenului în contrast cu un stomac puțin afectat.

-Afectarea mucoasei duodenale în pancreatita acută (100%) este semnificativ statistic mai mare față de afectarea mucoasei gastrice (76,2%), $P < 0,05$.

2. Pacienți cu pancreatită cronică

Spre deosebire de pacienții cu pancreatită acută proveniți din mediul chirurgical, bolnavii cu pancreatită cronică au fost investigați în clinicile medicale. În general, pentru a evita erorile au fost luați în calcul pacienții cu pancreatită cronică certă, respectiv cu sindrom de malabsorbție, cu aspecte ecografice tipice sau cu complicații ale pancreatitelor acute, respectiv chiste pancreatice. Din cauza excluderii cazurilor fără diagnostic complet, lotul s-a redus la 22 de pacienți.

Vârsta pacienților a fost între 21-61 de ani, cu o medie de 43,4 ani.

Se remarcă vârsta în general tânără, majoritatea bolnavilor având între 41-50 de ani. A fost inclus și un pacient de 24 de ani, cu pancreatită chistică.

În privința sexului, a predominat net sexul masculin. 18 pacienți (81,81%) au fost de sex masculin, iar 4 (18,18%) de sex feminin.

Predominanța pancreatitei cronice se menține la sexul masculin, probabil datorită urmărilor pancreatitei acute, mai frecventă la bărbați.

Simptomatologia a fost tipică pancreatitei cronice: durere în bară 20 pacienți (90,90%), malabsorbție 14 (63,63%), grețuri 10 (45,45%), vărsături 5 (22,72%), pirozis 5 (22,72%), regurgitare 3 (13,63%).

Aspectele evidențiate la examenul endoscopic al duodenului sunt prezentate în tabelul V.

Tabelul V. Examenul endoscopic al duodenului la pacienții cu pancreatită cronică

Examen endoscopic duodenal	Nr. pacienți	Procente
Duoden normal	6	27,27%
Duodenită eritematoasă	9	40,90%
Duodenită erozivă	3	13,63%
Duodenită hipertrofică	0	0
Duodenită nodulară	0	0
Duodenită atrofică	4	18,18%
Total	22	100%

Duodenul a fost normal la 27,27% din pacienți, o rată destul de mare în contextul pancreatitei cronice. Endoscopic duodenitele au reprezentat 72,73%, mai

frecvente fiind duodenita eritematoasă (40,90%) și duodenita atrofică 18,18%. Alți autori au demonstrat faptul că duodenita atrofică este mai frecventă la pacienții cu pancreatită cronică la care secreția de enzime pancreatice este mai redusă.^{14,9}

Din punct de vedere histologic duodenitele au prezentat aspecte variate, conform datelor din tabelul VI.

Tabelul VI. Rezultatele examenului endoscopic al duodenului la pacienții cu pancreatită cronică

Duodenita histologică	Nr. pacienți	Procente
Mucoasa normală	5	22,72%
Gr.I	13	59,09%
Gr.II	4	18,18%
Gr.III	0	0
TOTAL	22	100%
+Metaplazie gastrică	3	14,28%
+HP	0	0%
+Gi	3	14,28%

Se remarcă predominanța duodenitei de gradul I, spre deosebire de pancreatita acută, unde predomina duodenita de gradul II. Se remarcă incidența mare și a duodenului normal histologic 22,7%, lipsa duodenitei de gradul III. Nu s-a evidențiat HP la nivel duodenal, dar s-a determinat la trei pacienți GL duodenală.

În alte studii, autorii găsesc o incidență a duodenitei de gradul I la pacienții cu pancreatită cronică de 41,3%, aproape de valoarea studiului de față.¹⁰

Examinat endoscopic, stomacul a prezentat aspectele descrise în tabelul VII.

Tabelul VII. Rezultatele examinării endoscopice gastrice

Stomac endoscopic	Nr. pacienți	Procente
Stomac normal	5	22,72%
Gastrita eritematoasă	16	72,72%
Gastrită erozivă	1	4,54%
Gastrita hipertrofică	0	0
Gastrita atrofică	0	0
Gastrita hemoragică	0	0
Gastrita de reflux	0	0
Total	22	100%

Se remarcă predominanța gastritei eritematoase 72,72% și relativa frecvență crescută a stomacului cu aspect endoscopic normal.

Rezultatele histologice obținute la biopsia gastrică au fost interpretate folosind clasificarea Sydney și sunt reprezentate în tabelul VIII.

Tabelul VIII. Rezultatele examinării histologice a mucoasei gastrice

Variabilă gradabilă	Nr. pacienți	Procente
Stomac normal	5	22,72%
HP	10	45,45%
Inflamație	6	27,27%
Activitate	4	18,18%
Atrofie	0	0
Metaplazie intestinală	1	4,54%

IIP a avut o incidență medie, de 45,45%, relativ crescută. Se remarcă și cinci cazuri de stomac normal din punct de vedere histologic.

În studii efectuate de alți autori^{2,3} se determină o incidență a IIP la pacienți cu pancreatită cronică de 38%, o valoare similară. Gastrita antrală s-a determinat în proporție de 40% în raport cu valoarea din studiul de față (45,45%).

Deci la lotul studiat, compus din pacienți cu pancreatită cronică cu vârste relativ tinere, predominând net sexul masculin (81,81%), simptomele au fost în marea majoritate specifice pancreatitei cronice, respectiv, durere în bară (90,90%), malabsorbție (63,63%).

-Endoscopic, duodenitele au reprezentat 72,72% din cazuri, iar duodenul a fost normal la 27,27% din pacienți. Duodenita eritematoasă (40,90%) și duodenita atrofică (18,18%) au fost mai frecvente.

-Histologic incidența duodenitei a fost de 77,28%, predominând duodenita de gradul I (59,09%).

-La nivel gastric a avut o incidență mare gastrita eritematoasă (72,72%), iar histologic gastrita determinată de HP (45,45%).

-Se remarcă un număr mare de pacienți cu duoden și stomac normal endoscopic și histologic.

-Incidența duodenitei la pacienții cu pancreatită cronică a fost de 77,27%.

3. Pacienții cu neoplasm de cap de pancreas.

Pacienții din acest lot au fost în număr redus, majoritatea fiind operați în serviciile chirurgicale. Numărul mic al bolnavilor acestui lot (7), nu a permis o evaluare statistică riguroasă.

Vârsta pacienților cu pancreatită cronică luată în studiu a fost între 41 și 70 de ani, fiind mult mai înaintată decât a lotului de pacienți cu pancreatită. 3 pacienți au fost de sex feminin, iar 4 masculin.

Simptomatologia a fost cu precădere cea a stenozei duodenale, în general pacienții fiind în fază avansată a bolii: durere în etajul abdominal superior 7(100%), scădere în greutate 5 (71,42%), grețuri 4 (57,14%), vărsături 4 (57,14%) malabsorbție 3 (42,85%), regurgitație 2 (28,57%).

Durerea a fost simptomul dominant, cu diverse iradieri. Vărsăturile și grețurile au fost prezente la majoritatea pacienților, semn de apariție a stenozei duodenale.

Examenul endoscopic al duodenului a evidențiat 2 cazuri de duoden normal, 3 de duodenită eritematoasă și 2 de duodenită erozivă. Datele nu prezintă o specificitate deosebită. Se remarcă 2 cazuri cu duoden normal.

Din punct de vedere histologic duodenitele au prezentat aspectele descrise în tabelul IX.

Tabelul IX. Rezultatele examenului histologic duodenal la pacienții cu neoplasm de cap de pancreas.

Duodenita histologică	Nr. pacienți	Procente
Mucoasa normală	1	14,28%
Gr.I	3	42,85%
Gr.II	3	42,85%
Gr.III	0	0
TOTAL	7	100%
+Metaplazie gastrică	0	0
+HP	0	0
+GI	2	28,57%

Predomină duodenitele de gradul 1 și 2. Incidența duodenitei histologice este destul de mare, posibil datorită refluxului alcalin și a modificărilor de motilitate.

Stomacul examinat endoscopic a prezentat predominanța gastritei eritematoase (71,42%), apoi a gastritei erozive (14,28%) și a gastritei de reflux (14,28%).

La examinarea histologică a mucoasei gastrice s-au obținut rezultatele prezentate în tabelul X.

Tabelul X. Rezultatele examinării histologice a mucoasei gastrice la pacienții cu neoplasm de cap de pancreas

Variabilă gradabilă	Nr. pacienți	Procente
Stomac normal	0	0
HP	1	14,28%
Inflamație	3	42,85%
Activitate	1	14,28%
Atrofie	1	0
Metaplazie intestinală	1	14,28%

De menționat și un caz de GI. gastrică, probabil datorită refluxului alcalin crescut, la un pacient cu GI duodenală.

CONCLUZII

-Dintre loturile de pacienți cu afecțiuni pancreatice se remarcă afectarea duodenului în cazurile de pancreatita acută. Mucoasa duodenală a avut frecvent un aspect palid, albicios, de tip ischemic (38.09%), în special la pacienții cu pancreatite grave, ulceronecrotice.

-La pacienții cu pancreatită cronică, duodenita apare endoscopic cu o frecvență mai mică, respectiv la 72,73% din cazuri, cu predominanța celei eritematoase (40,90%).

-La pacienții cu neoplasm de cap de pancreas incidența duodenitei este de 71,43%, dar cazuistica a fost redusă, de 7 bolnavi. Se remarcă frecvența crescută a duodenitei de grad mare, gradul II și III, deci cu alterări mari ale mucoasei duodenale.

-Se poate concluziona că duodenul este frecvent afectat în patologia pancreatică, dată fiind vecinătatea celor două organe.

-Aspectul palid, ischemic al duodenului este caracteristic pancreatitei acute. Rămâne de determinat dacă acest un aspect endoscopic este și specific, studiile din literatură fiind controversate.⁵

BIBLIOGRAFIE

1. ABBAS Z, KHAN AH, HAMID SS et al - *Duodenal erosions and ulcers in patients with pancreaticobiliary disorders*, J Gastroenterol Hepatol, 1997, 12:703-706.
2. COTTON PB, TYTGAT GNJ, WILLIAMS CB - *Annual of Gastrointestinal Endoscopy*, 8th Edition, 1995, 35-49
3. DIXON MF, GENTA RM, YARDLEY JH et al - *Histological classification of gastritis and Helicobacter pylori infection: an agreement at last?*, The International Workshop on the histopathology of gastritis Helicobacter, 1997, 2:17-24.
4. GELLER LI, PASHKO MM, RYBALKA ED - *Functional sequelae and clinica importance of atrophic duodenitis*, Ter Arch, 1996, 63:45-47.
5. MANES G, DOMINGUEZ-MUNOZ JE, HACKELSBERGER A et al - *Prevalence of Helicobacter pylori infection and gastric mucosal abnormalities in chronic pancreatitis*, Am J Gastroenterol, 1998, 93:1097-1100.
6. MARKS IN, BORNMAN PC - *Acute alcoholic pancreatitis: A South African viewpoint*, in: Bradley EL III, ed Acute pancreatitis: Diagnosis and therapy, New York, Raven Press, 1994, 271-280.
7. NIEMANN T, LARSEN S, MOURITSEN EA - *Helicobacter pylori infection in patients with chronic pancreatitis and duodenal ulcer*, Scand J Gastroenterol, 1997, 32:1201-1203.
8. PASCU O - *Îndrumător practic de endoscopie digestivă superioară*, Ed Dacia, 1982, 5-101.
9. PIUBELLO W, VANTINI I, SCIURO LA et al - *Gastric secretion, gastroduodenal histological changes, and serum gastrin in chronic alcoholic pancreatitis*, Am J Gastroenterol, 1992, 77:105-110.
10. TESSMANN D, KOSTER E, NAGEL KH et al - *Coincidence of chronic pancreatitis and duodenitis*, Deutsche Zeitschrift für Verdauungs und Stoffwechselkrankheiten, 1999, 48:244-249.



Rezerva vagală cardiacă nu este predictibilă prin analiza de scurtă durată a variabilității ritmului cardiac

E. Carașca, A. Frigy, A. Incze

Pe un lot format din indivizi sănătoși și bolnavi cu hipertensiune arterială ușoară am studiat corelația dintre parametrii analizei statistice de scurtă durată a variabilității ritmului cardiac (VRC) și parametrii cantitativi a două manevre vagale (respirație adâncă controlată, manevră Valsalva). Scopul lucrării a fost studiul predictibilității prin VRC a răspunsului la manevrele vagale (corespondentul rezervei vagale cardiace).

Parametrii vegetativi și VRC, cu o singură excepție, nu s-au dovedit corelați semnificativ, ceea ce denotă că manevrele vagale nu pot fi înlocuite de analiza de scurtă durată a VRC, iar rezerva vagală nu poate fi prezisă și evaluată prin studiul VRC.

În consecință, în evaluarea statusului vegetativ cardiac este necesară, în mod ideal, atât explorarea componentei tonice (prin analiza VRC) cât și a celei reactive (prin teste vegetative).

Cuvinte cheie: sistem nervos autonom, teste autonome cardiovasculare

In healthy individuals and patients with mild hypertension we studied the correlation between short-term statistical parameters of heart rate variability (HRV) and quantitative parameters of two well-known vagal maneuvers (deep breathing with controlled frequency and Valsalva maneuver). The aim of the study was to investigate the predictability of response to the vagal maneuvers (which represents in fact the vagal reserve) by HRV.

The autonomic and HRV parameters, with a single exception, did not correlate significantly, which indicates that the vagal maneuvers could not be replaced by short-term HRV analysis, the vagal reserve could not be predicted and evaluated using HRV analysis.

In the evaluation of cardiac autonomic status it is necessary, ideally, the exploration of both the tonic (by HRV analysis) and reactive (by autonomic tests) component.

Key words: autonomic nervous system, cardiac autonomic tests

Dovezile clinice și experimentale acumulate până în prezent demonstrează unanim că disfuncția vegetativă cardiacă, caracterizată prin hipersimpaticotonie și/sau scăderea controlului vagal, joacă un rol important în geneza și progresia unor boli cardiovasculare - cardiopatie ischemică (aterogeneză), aritmii, hipertensiune arterială, insuficiență cardiacă.^{2,4,12,23,14} De aici rezultă importanța studiului statusului vegetativ cardiac în practica clinică.

Termenul de "status vegetativ cardiac" cuprinde tonusul autonom cardiac ("poziția medie" a echilibrul simpato-vagal) respectiv variațiile spontane, tonice, (componentă tonică) și provocate (componentă reactivă) ale acestuia.

Componenta tonică poate fi explorată prin analiza variabilității ritmului cardiac (VRC) care,

prin metode matematice ce prelucrează variația intervalelor RR succesive, permite evaluarea cantitativă a dinamicii echilibrului simpato-vagal cardiac. Componenta reactivă sau rezerva simpatică/vagală reprezintă capacitatea organismului de a crește tonusul simpatic/vagal cardiac la diverșii stimuli interni și externi, și poate fi determinată în practică cu ajutorul manevrelor de provocare vegetativă (teste vegetative).^{7,6,9}

Atât manevrele vagale (de exemplu respirația adâncă cu frecvență controlată - RAFC, manevra Valsalva - MV) cât și cele simpatică necesită o colaborare bună din partea pacienților. În schimb, analiza de scurtă durată a VRC este o metodă simplă, "la patul bolnavului", la care pacientul participă pasiv, nefiind necesară o colaborare deosebită.

Pornind de la considerentele metodologice de mai sus s-a ridicat ideea înlocuirii testelor vegetative vagale (care explorează rezerva vagală) de către analiza

frecvenței cardiace.⁶ Pe lângă aspectul metodologic propriu zis (simplificarea explorării vegetative cardiace vagale), sub aspect fiziologic ne-a interesat predictibilitatea rezultatelor testelor vegetative (componente reactive) prin analiza VRC (componenta tonică).

LOT DE STUDIU ȘI METODĂ

În studiu au fost înrolați 20 de indivizi sănătoși (lot S; 9 femei, 11 bărbați, vârstă medie 25,7 ani) și 11 pacienți cu hipertensiune arterială esențială ușoară (lot H; 4 femei, 7 bărbați, vârstă medie 57,1 ani).

La fiecare subiect, aflat în condiții bazale (repaus psihic și vegetativ), în decubit dorsal, după o acomodare de 10 minute am înregistrat un traseu ECG de 5 minute pentru determinarea parametrilor statistici de scurtă durată a VRC. În continuare, subiecții au efectuat câte două manevre de RAFC (6 respirații/min, timp de 1 minut) respectiv MV (expir forțat 45 mmHg, timp de 15s). Înregistrarea traseelor ECG, determinarea parametrilor VRC, precum și obținerea tahogramelor (de frecvență cardiacă, respectiv de intervale RR) corespunzătoare RAFC și MV (Figura 1 și 2) s-a efectuat cu ajutorul unui sistem computerizat original de analiză de ritm.⁵

Parametrii VRC urmăriți au fost următorii:

- FM=frecvența medie
- SDNN-F=deviația standard exprimată în bătăi/min (transformarea ms în bătăi/min pe baza raportului: interval RR mediu-FM) - măsura variabilității totale (efecte simpatice și vagale)
- rMSSD-F=rMSSD exprimată în bătăi/min (transformarea ms în bătăi/min pe baza raportului interval RR mediu - FM) - măsura variabilității bătaie cu bătaie (efecte vagale).⁷

RAFC a fost cuantificată cu ajutorul tahogramei de frecvență cardiacă prin măsurarea amplitudinii aritmiei sinusale respiratorii (frecvență maximă - frecvență minimă) pentru fiecare ciclu respirator și calcularea mediei a celor mai mari 3 variații (AA, bătăi/min).^{8,9}

MV a fost cuantificată prin amplitudinea bradicardizării (AB, bătăi/min) în cursul fazei a 4-a ("overshoot"). Pe tahograma intervalelor RR obținută în cursul MV a fost determinată intervalul RR minim și maxim și s-a calculat diferența frecvențelor cardiace corespunzătoare acestora.^{8,10}

Din două manevre a fost luată în considerare cea cu rezultat (AA respectiv AB) mai bun.

În cele două loturi, corelația dintre parametrii VRC și parametrii vegetativi a fost studiată cu ajutorul coeficientului de corelație al lui Pearson ("r"), considerând corelația semnificativă la valoarea lui $p \leq 0,05$. Toate calculele statistice au fost efectuate cu pachetul de soft medical SigmaStat ver. 1.0, Jandel Scientific.

REZULTATE

Rezultatele corelărilor (valoarea lui "r" și "p") sunt trecute în tabelul I.

Numai parametrul SDNN-F a fost corelat semnificativ statistic, dar relativ slab, cu AA. Răspunsul la manevrele vagale nu a fost predictibil prin parametrii VRC în nici un lot.

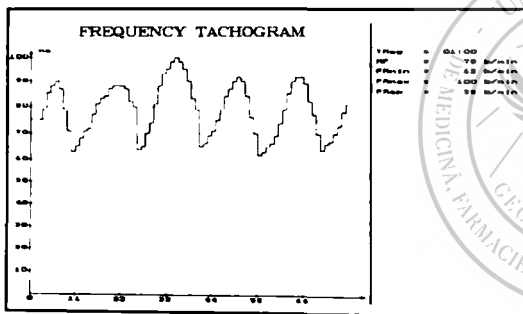


Figura 1. Variația frecvenței cardiace (tahogramă) în timpul manevrei RAFC

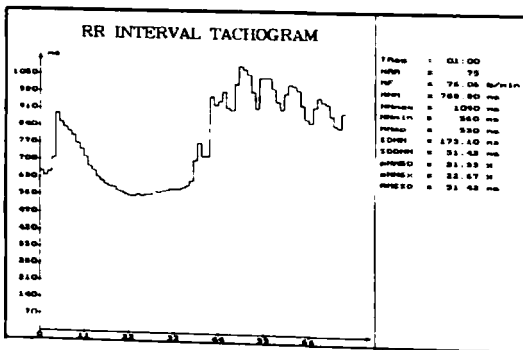


Figura 2. Tahograma intervalelor RR corespunzătoare fazelor MV

Tabel I. Valorile lui "r" și "p" obținute prin corelarea parametrilor vegetativi și ai VRC

Para- metru	Lot	FM		SDNN - F		RMSSD - F	
		r	p	r	P	R	p
AA	S	0,42	0,065	0,46	0,041	0,32	0,170
	H	0,29	0,395	0,59	0,056	0,27	0,424
AB	S	0,38	0,148	0,27	0,305	-0,15	0,576
	H	0,62	0,073	0,41	0,278	-0,08	0,816

DISCUȚII. CONCLUZII

În practica clinică atât analiza VRC cât și testele vegative sunt utilizate în următoarele scopuri^{3, 11, 10, 8, 1}:

- diagnosticul precoce al neuropatiilor autonome (studiul integrității reglării vegetative)
- în bolile cardiovasculare:
 - demonstrarea rolului jucat de sistemul nervos vegetativ în patogeneză (relație bidirecțională: boală cardiacă - disfuncție vegetativă)
 - urmărirea evoluției bolii (prin urmărirea gradului disfuncției vegetative)

-evaluarea prognosticului, în special al riscului aritmic (infarct miocardic, insuficiență cardiacă)

-alegerea și evaluarea eficacității intervențiilor terapeutice (pe baza efectelor vegetative)

Cele mai multe date, la ora actuală, s-au acumulat în predicția riscului la bolnavii după infarct miocardic acut. O serie de studii au dovedit utilitatea VRC (în special a celei de lungă durată, 24 ore) în identificarea bolnavilor cu risc crescut de moarte subită cardiacă.^{7,10} Studiul ATRAMI, recent încheiat, a redovedit utilitatea VRC, iar în același timp a demonstrat că evaluarea componentei reactive a reglării vegetative cardiace prin studiul sensibilității baroreflexe, poate fi la fel de utilă în evaluarea riscului.¹¹

Analiza de scurtă durată a VRC și manevrele vegetative cardiace pot fi utilizate de asemenea în evaluare de risc.^{6,9} Lucrarea noastră și-a propus studiul relației dintre informațiile furnizate de cele două tipuri de metode de explorare asupra reglării vegetative cardiace.

Din rezultatele studiului reiese că VRC de scurtă durată, deși reflectă în mare parte modularea vagală a frecvenței cardiace, nu este un înlocuitor valid al manevrelor vagale. Acest fapt subliniază din nou importanța diferenței dintre cele două componente ale statusului vegetativ cardiac: activitatea vegetativă tonică și cea reactivă.

Manevrele vagale nu pot fi înlocuite de analiza de scurtă durată a VRC, rezerva vagală nu poate fi prezisă și evaluată prin studiul VRC.

În evaluarea statusului vegetativ cardiac (pentru evaluare de risc sau în diagnosticul neuropatiei autonome) este necesară, în mod ideal, atât explorarea componentei tonice cât și a celei reactive a reglării vegetative.

Analiza de scurtă durată a VRC nu poate înlocui manevrele vagale, care însă cer o cooperare bună a subiectului explorat, ceea ce limitează utilizarea lor pe scară largă în practica cotidiană.

BIBLIOGRAFIE

1. COPIE X, GUIZE L, LE HEUZEY JY - *Concomitant therapy and autonomic tests*, in: Malik M (ed): Clinical guide to cardiac autonomic tests, Kluwer Academic Publ, 1998, 301-330.
2. DE FERRARI GM, VANOLI E, SCHWARTZ PJ - *Cardiac vagal activity, myocardial ischaemia, and sudden death*, in: Zipes DP, Jalife J (eds): Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside, WB Saunders Co, Philadelphia, 1995, 422-434
3. EWING DJ - *Analysis of heart rate variability and other non-invasive tests with special reference to diabetes mellitus*, in: Bannister R, Mathias CJ (eds): Autonomic failure, Oxford University Press, Oxford, 1992, 312-333.
4. FERRARI R, CECONI C, CURELLO S et al - *The neuroendocrine and sympathetic nervous system in congestive heart failure*. Eur Heart J, 1998, 19(Suppl F):45-51.
5. FRIGY A, INCZE A, BRĂNZANIUC E, COTOI S - *Computerized system for assessing heart rate variability*, Rev Roum Med Int, 1996, 34:253-262.
6. HARTIKAINEN JEK, TAHVANAINEN KUO, KUUSELA TA - *Short term measurement of heart rate variability*, in: Malik M (ed): Clinical guide to cardiac autonomic tests. Kluwer Academic Publ., 1998, 149-176
7. *Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology*, Circulation, 1996, 93:1043-1065.
8. *Heart rate variability: origins, methods and interpretive caveats*, Psychophysiology, 1997, 34:623-648.
9. HOHNLOSER SH, KLINGENHEBEN T - *Basic autonomic tests*, in: Malik M (ed): Clinical guide to cardiac autonomic tests, Kluwer Academic Publ, 1998, 51-65
10. KAUTZNER J, CAMM AJ - *Clinical relevance of heart rate variability*, Clin Cardiol, 1997, 20:162-168.
11. MALIK M - *Heart rate variability*, Curr Opin Cardiol, 1998, 13:36-44.
12. REMME WJ - *The sympathetic nervous system and ischaemic heart disease*, Eur Heart J, 1998, 19(Suppl F):62-71.
13. SCHWARTZ PJ - *The autonomic nervous system and sudden death*, Eur Heart J, 1998, 19(Suppl F):72-80.
14. SCHWARTZ PJ, PRIORI SG - *Sympathetic nervous system and cardiac arrhythmias*, in: Zipes DP, Jalife J (eds): Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside, WB Saunders Co, Philadelphia, 1990, 330-343.

Chemometria aplicată în domeniul cercetărilor farmaceutice. Studiul validării metodei de determinare spectrofotometrică în UV al clorhidratului de piridoxină (vitamina B₆)

Silvia Dușa¹, B. Tőkés², Brîndușa Mitroi¹, Alina Vintilă³

În această lucrare se prezintă o metodă spectrofotometrică în UV pentru determinarea clorhidratului de piridoxină (vitamina B₆). În vederea aplicării criteriilor de validare asupra rezultatelor analitice s-a urmărit un protocol general de abordare și s-au efectuat studii privind stabilitatea parametrilor de exactitate, fidelitate, reproductibilitate, liniaritate, specificitate, sensibilitate, domeniul de aplicabilitate. A fost determinat domeniul în care se respectă liniaritatea funcției (absorbanta, concentrația), au fost calculați parametrii liniei de regresie și coeficientul de corelație.

Cuvinte cheie: determinare spectrofotometrică, vitamina B₆, validare, parametri de validare

The paper presents an UV spectrophotometric method to assess B₆ vitamin. To apply the criteria for validation of the analytical results, we used a general protocol that consisted of studies for accuracy, precision, linearity, specificity, range, robustness.

We determined the domain in which the function was linear (absorbance, concentration), by computing the linear correlation coefficient and the linear regression parameters.

Key words: spectrophotometric determination, B₆ vitamin, validation, validation parameters

Moto: Executarea unei metode de validare completă poate fi greșită, dar consecințele neexecutării acesteia sunt pierdere de timp, bani și resurse. (J. Mark Green)

Începând cu această lucrare dorim să inițiem abordarea unui nou domeniu de cercetare, cea bazată pe chemometrie – o ramură de știință interdisciplinară din ce în ce mai încetățenită – cu intenția de a-i valorifica posibilitățile în cadrul cercetării farmaceutice.

Introdactiv vom prezenta câteva definiții generale pentru a se putea contura ariile mai reprezentative aflate în centrul preocupărilor pe plan internațional și de a schița scopurile noastre.

Ce este chemometria? Ea se poate defini în mai multe moduri și fiecare reprezintă un tip de abordare special. O definiție mai largă: chemometria este ramura de știință cu ajutorul căreia, pe baza măsurătorilor

efectuate pe un sistem chimic, se poate determina starea acestuia (compoziție, transformările de stare termodinamică), folosind metode statistice adecvate.

Mai restrâns: obiectul chemometriei este aplicarea metodelor asistate de calculator (metode informatice, de matematici aplicate, de prelucrarea semnalelor) în chimia analitică.

Anul 1972 a fost numit un "an miraculos" al chemometriei, pentru că atunci a apărut articolul lui Kowalski și Bender privind recunoașterea formelor, respectiv lucrarea lui Mossart despre optimizarea metodelor analitice cu ajutorul teoriei grafurilor.

După cum se vede, aria se concentrează în jurul aplicării metodelor statistice, matematice și logice în chimie și în particular în chimia analitică. Acest lucru se reflectă și în definițiile mai recente ale chimiei analitice. După Mellon chimia analitică se poate caracteriza cu o expresie aliterativă compusă din 6M-uri: "the means and method of making meaningful measurements on materials".

¹Disciplina de Chimie Analitică, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

²Disciplina de Chimie-Fizică, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

³Farmacist
Adresa pentru corespondență: Conf.dr. Dușa Silvia, Disciplina de Chimie Analitică și Analize Fizico-Chimice, Facultate de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie, str. Ghe. Marincescu, nr.38, 4300 Târgu-Mureș

După Pungor: "Chimia analitică este știința producerii și interpretării semnalelor".³

În realizarea obiectivelor propuse chemometria profită și de posibilitățile metodei rețelelor neuronale artificiale (Artificial Neural Networks, 1986)², o procedură de aproximare neliniară, care permite - printre altele - și modelarea relațiilor cantitative dintre compoziția și proprietățile unui produs, respectiv caracteristicile lui fizico-chimice. Ea se poate aplica și în prospectarea de medicamente.

Modelările vor fi un domeniu important în cercetările propuse. Acestea ne ajută la planificarea rațională a experiențelor fizice și chimice. Se definesc criteriile calității modelelor, modalitățile realizării unor "experiențe imaginate" pe modele ("Gedanken Experiment").

În literatură găsim numeroase exemple de aplicare a teoriei grafurilor în modelarea proprietăților termodinamice ale moleculelor, de modelare a chimiei soluțiilor, folosirea de modele și algoritmi în studiul izomorfismului, aplicațiile chemometriei în practica industrială, alegerea de modele adecvate strategiei optime în chimia analitică, a strategiei învățării chimiei analitice moderne, și multe altele.

Una din problemele centrale ale chimiei analitice moderne este cea a validării metodelor. În acest domeniu se impun câteva precizări. Validarea unei metode este procesul prin care se dovedește că o metodă analitică este acceptabilă pentru scopul propus. Pentru metodele analitice aplicate în determinările farmaceutice au fost elaborate metode generale. Un ghid complet în aplicarea acestor norme de validare a fost elaborat încă din 1985 în SUA, USP 1, ICH 2 și FDA 3 și 4^{7,8,16,21} pot fi considerate lucrări de bază, referințe legale și obligatorii pentru toate metodele de analiză aplicate în controlul medicamentelor.

Termenii și noțiunile consacrate sunt definite în literatura de specialitate.^{1,4,17}

În prezenta lucrare vom prezenta o aplicație practică a metodologiei de prelucrare statistică a parametrilor prevăzuți în normele de validare alegând datele practice obținute la determinarea spectrofotometrică în UV a clorhidratului de piridoxină.

Clorhidratul de piridoxină se poate determina cantitativ prin măsurarea maximului de absorbție de la 285 nm.⁶

MATERIAL ȘI METODĂ

S-a utilizat un spectrofotometru UV-VIS Karl Zeiss Jena cu lampă de deuteriu, cuve de cuarț de 1 cm.

Domeniul de undă utilizat între 54- 3010³ cm⁻¹.

Substanța de referință : clorhidratul de piridoxal.

Soluția de bază (A): S-au cântărit la balanța analitică probe de 0,1000 g. Proba s-a adus cantitativ într-un balon cotelat de 100 ml cu o soluție cu pH=2 preparată din KCl 0,1 M și din HCl 0,1 M conform FR X.⁶ Soluția cu pH=2 s-a preparat din 119 ml HCl 0,1 M

verificat cu hârtie indicator de pH.

Soluția B: Cu o pipetă cotelată s-au pipetat 5 ml soluție de bază (A) și s-au adus cantitativ în balon cotelat de 100 ml folosind aceeași soluție cu pH=2; 1 ml din această soluție conține 5·10⁻² mg vitamină B₆. Seria etalon în domeniul de concentrație 5·10⁻² mg/ml - 45·10⁻² mg/ml a fost pregătită în baloane cotate de 25 ml utilizând o microbiuretă. Volume între 1-9 ml soluție B au fost aduse la 25 ml cu soluție cu pH=2. Spectrele de absorbție înregistrate au prezentat un maxim de absorbție la l=285 nm, $\tilde{\nu} = 34,5 \cdot 10^3 \text{ cm}^{-1}$. Pentru fiecare probă s-au înregistrat 9 curbe de absorbție. S-au efectuat 9 probe. Fotometrarea s-a realizat față de soluția cu pH=2 ca martor. Măsurătorile s-au efectuat în aceleași condiții experimentale, cu același aparat, în zile diferite. Curbele de absorbție înregistrate sunt redată în figurile 1 și 2.

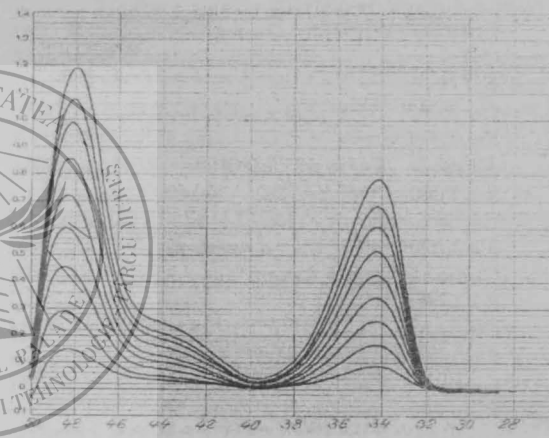


Figura 1. Curba 1 de absorbție a vitaminei B₆.

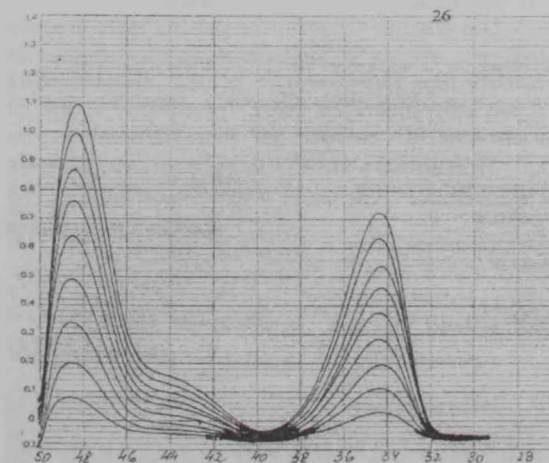


Figura 2. Curba 2 de absorbție a vitaminei B₆.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Specificitatea și identificarea calitativă s-au evaluat în comparație cu prevederile FR X, pentru substanța de referință, care prevede că spectrul clorhidratului de piridoxină (vitamina B₆) prezintă două maxime de absorbție la λ = 285 nm și la λ = 202 nm. Pe spectrul de absorbție al clorhidratului de piridoxină există un alt pic parazit pentru domeniul de undă cercetat, deci maximele înregistrate provin doar de la substanța de analizat. Nu apar nici produși de degradare sau impurități.

Studii de liniaritate:^{13, 17}

S-au efectuat studii de liniaritate pentru principiul activ, clorhidrat de piridoxină.

Pentru cele 9 cântăriri repartizate în 9 măsurători diferențiate în progresie aritmetică cu un increment de concentrație constant 0,05 mg/25 ml s-au înregistrat curbele de absorbție, s-au determinat extincțiile, s-au calculat dreptele de regresie.

Ecuatiile dreptelor de regresie calculate prin metoda celor mai mici pătrate sunt redată în ecuațiile de mai jos:

Curba A: $E = (1,703 \pm 0,026)c + (0,005 \pm 0,007)$

R = 0,999 n = 9

Curba B: $E = (1,693 \pm 0,015)c + (0,001 \pm 0,006)$

R = 1,000 n = 9

Curba C: $E = (1,713 \pm 0,021)c + (0,005 \pm 0,006)$

R = 1,000 n = 9

Curba D: $E = (1,733 \pm 0,009)c + (0,001 \pm 0,003)$

R = 1,000 n = 9

Curba E: $E = (1,740 \pm 0,016)c + (0,002 \pm 0,004)$

R = 1,000 n = 9

Curba F: $E = (1,727 \pm 0,012)c + (0,0006 \pm 0,003)$

R = 1,000 n = 9

Curba G: $E = (1,670 \pm 0,035)c + (0,0008 \pm 0,0100)$

R = 0,999 n = 9

Curba H: $E = (1,787 \pm 0,025)c + (0,012 \pm 0,007)$

R = 0,998 n = 9

Curba I: $E = (1,740 \pm 0,018)c + (0,004 \pm 0,005)$

R = 1,000 n = 9

Din ecuațiile dreptelor se vede că toate dreptele trec prin origine în limita erorilor. Coeficientul de corelație fiind foarte apropiat de 1,000, reiese că există o corelație liniară excelentă. Informațiile oferite de coeficientul de corelație nu sunt suficiente pentru aprecierea alinierii curbelor de regresie, fiind necesare teste suplimentare ce să confirme regresia liniară globală.

Testul de maximă exactitate este compararea cu zero a ordonatei la origine. Acesta se face prin calcularea inegalității:^{15, 17}

$$t_{\text{calculat}} = \frac{|a|}{S_a} < t_{\text{tabelat}} \quad (P = 95\%, n - 2)$$

Dacă ea se verifică, se poate afirma că ordonata la origine nu diferă semnificativ de zero. Pentru calcularea acestei inegalități s-a utilizat coeficientul "a" din ecuațiile dreptelor de regresie, S_a fiind abaterea standard a parametrului "a". Valorile obținute sunt trecute în

Tabelul I. Valoarea t calculată a ordonatei la origine

Nr.crt.	a · 10 ⁻³	S _a · 10 ⁻³	t _{calculat}	t _{tabelat}
1.	5	7,0	0,76	
2.	1	6,0	0,23	
3.	5	6,0	0,83	
4.	1	3,0	0,37	
5.	2	4,0	0,42	2,36
6.	0,6	3,0	0,18	
7.	0,8	10	0,08	
8.	12	7,0	1,67	
9.	40	5,0	0,78	

Valorile t_{calculat} < t_{tabelat} arată că ordonata la origine nu este semnificativ diferită de zero.

Dacă toate datele determinate fac parte din același eșantion, atunci ordonatele, pantele dreptelor nu diferă semnificativ. Pentru acestea se efectuează două teste:

a) *Compararea ordonatei la origine a două drepte de regresie.* Acestea se realizează pe baza testului t calculat astfel:^{12, 17}

$$t = \frac{|a_1 - a_2|}{\sqrt{S_{a_1}^2 + S_{a_2}^2}} < t \quad (P = 95\%, n_1 + n_2 - 4)$$

- S_{a₁}, S_{a₂} sunt dispersiile celor două ordonate la origine comparate. Valorile calculate sunt redată în tabelul II.

Tabelul II. Valorile t calculate pentru ordonatele la origine a două drepte de regresie

Nr.crt.	Dreptele comparate	t _{calculat}	t _{tabelat}
1.	1-2	0,47	
2.	2-3	0,49	
3.	3-4	0,58	
4.	4-5	0,11	2,14
5.	5-6	0,22	
6.	6-7	0,10	
7.	7-8	0,89	
8.	8-9	0,78	

b) *Compararea coeficienților de pantă.* Testul diferenței celor doi coeficienți de pantă se face pe baza raportului:^{9, 17}

$$t = \frac{|b_1 - b_2|}{\sqrt{S_{b_1}^2 + S_{b_2}^2}} < t \quad (P = 95\%, n_1 + n_2 - 4)$$

- S_{b₁}, S_{b₂} sunt dispersiile coeficienților de pantă

Ipoteza de nul se acceptă dacă t_{calculat} < t_{tabelat} pentru P=95% și 2n - 4.

Valorile calculate sunt redată în tabelul III.

Tabelul III. Valorile t calculate pentru compararea pantelor a două drepte de regresie

Nr.crt.	Dreptele comparate	t _{calculat}	t _{tabelat}
1.	1-2	0,24	
2.	2-3	0,77	
3.	3-4	0,87	
4.	4-5	0,38	
5.	5-6	0,65	
6.	6-7	1,54	2,14
7.	7-8	0,39	
8.	8-9	0,55	

Întrucât $t_{\text{calculat}} < t_{\text{tabelat}}$, între cei doi coeficienți de pantă diferența este doar întâmplătoare.

Validarea dreptei de regresie¹⁷

Pentru studiul regresiei se ține seama de ecuația dreptei:

$$E = (1,760 \pm 0,019)c - (5,6 \pm 5) \cdot 10^{-3}$$

Testul de validare a dreptei de regresie permite compararea dispersiei datorate regresiei cu dispersia datorată datelor experimentale.

Tabelul IV. Datele necesare pentru calcularea testului de liniaritate

Nr.crt.	Sursa de variație	Suma pătratelor	Grade de libertate	Varianța
1.	Totală	0,465	8	
2.	Regresiei	0,465	1	0,465
3.	Reziduală	$3,8 \cdot 10^{-4}$	7	$5,5 \cdot 10^{-5}$

$$F = \frac{\text{varianța regresiei}}{\text{varianța reziduală}} = 8509,395$$

$$F_{\text{calculat}} > F_{\text{tabelat}} \quad (P=95\%, n-1)$$

$$F_{\text{tabelat}} \quad (P=95\%, n-1) = 3,18$$

Testul este semnificativ.

Acuratețea (exactitatea)^{11, 17}

Exprimă concordanța dintre valoarea adevărată și rezultatul analitic obținut în urma măsurătorii (A , X , standardul propriu-zis). Pentru exprimarea exactității se calculează oblicitatea experimentală și oblicitatea statistică. Oblicitatea statistică la diferite concentrații se apreciază în cadrul unui interval de liniaritate:

$$\frac{|X_r|}{X_a} \cdot 100 \leq 5\%$$

unde: X_r este cantitatea de clorhidrat de piridoxină în mg/g produs care se dozează (dată de producător iar X_a este cantitatea de vitamină B₆ în mg produs analizat, $X_d = |X_r - X_a|$ este abaterea între cantitatea teoretică și cea găsită pe baza parametrilor ecuațiilor dreptelor de regresie.

Pornind de la valorile experimentale trecute în

Tabelul V. Valorile X_r , X_a calculate pentru dozarea vitaminei B₆

Nr.crt.	Cantitatea fotometrică X_r	Cantitatea găsită X_a	Corelația X_r / X_a
1.	0,05	0,0485	
2.	0,10	0,1018	
3.	0,15	0,1497	
4.	0,20	0,1976	
5.	0,25	0,2455	$X_r = (1,013 \pm 0,009) X_a -$
6.	0,30	0,2994	$-(0,003 \pm 0,003)$
7.	0,35	0,3472	
8.	0,40	0,4070	R=0,999
9.	0,45	0,4550	
	$\bar{X}_a = 0,2500$	$\bar{X}_r = 0,25002$	

Comparând ordonata la origine cu 0, $t_0 = 1,00 < 2,12$, diferența nu este semnificativă. Compararea pantei dreptei cu 1,00 rezultă din următoarea relație:

$$t = \frac{|b-1|}{S_b} = 1,44 < 2,12 \text{ (valoarea tabelată),}$$

deci panta nu este semnificativ diferită de 1,00.

Calcularea testului regresiei liniare F este semnificativ, deci există regresie liniară:

$$F_{\text{calculat}} = 12125,98$$

$$F_{\text{tabelat}} = 7,46$$

Oblicitatea statistică globală se poate calcula după expresia:

$$\left[\frac{|X_d|}{L} \cdot 100 \right] - \left[\frac{\text{rsd} \cdot t}{\sqrt{n}} \right] \leq 1\%$$

unde:

L – valoare teoretică

rsd – deviația (standard) relativă a valorilor găsite

t – variabila Student la P=95% și n-1 grade de libertate

n – numărul determinărilor

Aplicând această formulă determinărilor efectuate se obține următoarea valoare a oblicității:

$$\left[\frac{0,00176}{0,1000} \cdot 100 \right] - \left[\frac{100 \cdot 0,00158 \cdot 2,3}{\sqrt{9}} \right] \cong 1,06\%$$

După unii autori oblicitatea statistică maximă poate avea valori până la 1,0-1,5. În concluzie reprezentarea lui X_r în funcție de X_a dă o dreaptă prezentată în figura 3, oblicitatea este liniară, metoda este ideală, afirmație subliniată și de calcularea oblicității experimentale (R=0,999, ordonata la origine și panta dreptei nu diferă semnificativ de zero, respectiv de 1).

Fidelitatea (precizia)^{17, 18, 19, 20}

Determinările experimentale aplicate pentru un produs în general nu duc la rezultate identice, acestea fiind afectate de erori întâmplătoare. Pentru aprecierea rezultatelor unei analize este necesar să se țină seama de variația unor factori ce pot influența rezultatul final.

Fidelitatea este cercetată sub două aspecte:

caracterizează împrăștierea, gradul de dispersie într-o serie de măsurători este coeficientul de variație -CV. Acesta arată ce fracțiune din media aritmetică reprezintă abaterea standard. Pentru calcularea acestor parametri se impune transformarea datelor brute, originale în procente de regăsire.

Calcularea coeficientului de regăsire^{5, 10, 17}

Transformarea datelor brute în cantități regăsite se face astfel:

$$Y_{reg} = \frac{X_i \cdot 100}{\chi_i}$$

unde:

Y_{reg} este coeficientul de regăsire

χ_i este cantitatea de probă fotometrată

X_i este cantitatea calculată din ecuația dreptei de regresie după formula:

$$X_i = \frac{E - (a \pm S_a)}{b \pm S_b}$$

Valorile coeficienților de regăsire pentru cele 9 curbe de etalonare sunt trecute în tabelul VI.

Tabelul VI. Valorile coeficienților de regăsire

Nr. crt.	Grupuri								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	101,60	101,11	102,7	100,32	101,50	100,75	97,00	99,82	101,1
2	101,2	102,81	98,65	98,73	102,48	98,44	101,88	98,51	100,17
3	99,71	100,60	99,24	100,02	98,98	99,20	99,80	100,09	98,12
4	98,27	99,11	97,78	98,09	97,22	97,56	98,80	97,45	96,52
5	97,40	98,19	98,07	99,50	100,76	101,21	98,20	100,34	100,25
6	100,70	99,54	100,21	100,23	99,29	99,78	99,80	102,27	98,87
7	99,70	98,82	99,24	100,75	101,53	98,76	99,20	97,25	101,16
8	100,50	101,24	101,43	98,25	101,77	99,44	101,79	99,09	100,52
9	100,11	102,21	100,53	100,16	99,48	100,36	101,13	98,07	100,39
m	99,91	100,40	99,76	99,89	100,33	99,50	99,73	99,10	99,68
S _a	1,35	1,58	1,61	1,58	1,69	1,63	1,65	1,58	1,52

Calcularea coeficienților de variație¹⁷

Repetabilitatea: se calculează după formula:

$$CV_R = 100 \cdot \frac{S_R}{\bar{m}}$$

Reproductibilitate: se calculează după formula:

$$CV_R = 100 \cdot \frac{S_R}{\bar{m}}$$

în care \bar{m} este media valorilor medii ale coeficientului de regăsire, iar S_R și S_R se calculează astfel:

$$S_R^2 = \frac{\sum S_X^2}{n-1}$$

este dispersia în interiorul grupului de măsurători $S_R^2 = S_R^2 + S_g^2$

S_g^2 este dispersia între mediile \bar{m} ale grupurilor de măsurători.

Calculând valorile coeficienților de repetabilitate și reproductibilitate se obțin valorile:

$$CV_r = 1,59\%$$

$$CV_R = 1,71\%$$

Valorile obținute sunt mai mici decât 5% cât este prevăzut de deviația standard relativă limită.

Calcularea limitei de detecție (concentrației limită)^{14, 17, 22}

Limita de detecție este concentrația cea mai mică despre care se poate afirma cu o anumită siguranță că

diferă de proba oarbă. Calcularea acestei valori se face după formula:

$$X_i = \frac{2t(S_a + S_b \cdot \bar{X})}{b + 2tS_b}$$

unde \bar{X} este media valorilor de concentrație X_i fotometrate.

În calculul acestei valori s-a plecat de la ecuațiile dreptelor de regresie trecute în tabelul VII.

Tabelul VII. Datele principale ale dreptelor de regresie

Nr.crt.	S _a	S _b	b	X _i
1.	0,007	0,026	1,703	0,03
2.	0,006	0,015	1,693	0,02
3.	0,006	0,021	1,713	0,03
4.	0,003	0,009	1,733	0,01
5.	0,004	0,016	1,740	0,02
6.	0,003	0,012	1,727	0,01
7.	0,010	0,035	1,670	0,04
8.	0,007	0,025	1,787	0,03
9.	0,005	0,018	1,740	0,02

$\bar{X} = 0,25$
 $t = 2,30$
 $P = 95\%$

Limita de detecție calculată conform datelor experimentale este:

$$X_i = \bar{X} \pm S_X \cdot t = 0,023 \pm 0,01 \cdot 2,30$$

CONCLUZII

Lucrarea prezintă rezultatele determinării spectrofotometrice în UV a vitaminei B₆. Rezultatele experimentale au fost supuse interpretărilor impuse de normele generale în vigoare privind validarea unei metode analitice.

S-au constatat următoarele:

1. Maximul curbei de absorbție pentru clorhidrat de piridoxină apare la $\lambda = 285$ nm conform datelor din literatura de specialitate;

2. La calcularea dreptelor de regresie prin metoda celor mai mici pătrate, utilizând programul de calcul SSPS s-au găsit coeficienți de corelație de 0,999, 0,998 și 1,000 ceea ce confirmă liniaritatea corelației $E=f(c)$;

3. Testul de comparare a ordonatei la origine cu zero, a ordonatei la origine a două drepte de regresie arbitrar alese arată că nu există diferențe semnificative;

4. Compararea coeficienților de pantă a două drepte de regresie arată că diferența dintre cele două pante este doar întâmplătoare, nu există erori sistematice;

5. Verificarea ipotezei privind liniaritatea regresiei, calcularea coeficientului F (testul ANOVA) dă o valoare semnificativă susținând și ea existența unei regresii liniare;

6. Exactitatea apreciată prin oblicitate indică existența unei oblicități cvasiideale; arăt oblicitatea experimentală cât și oblicitatea statistică susțin această afirmație (verificarea exactității metodei în intervalul de liniaritate admis);

7. Precizia determinării apreciată prin coeficientul de variație a repetabilității și a reproductibilității este semnificativă cei doi coeficienți având valori $< 5\%$, limită prevăzută de deviația standard relativă;

8. Domeniul de liniaritate (extincție-concentrație) determinat este între $5 \cdot 10^{-2}$ mg/ml și $45 \cdot 10^{-2}$ mg/ml clorhidrat de piridoxină;

9. Limita de detecție calculată din parametrii dreptelor de regresie este de 0,023 mg/ml.

BIBLIOGRAFIE

1. BOPP RJ, WOZNIAK TJ, ANLIKER SL et al - *Development and validation of liquid chromatographic assays for the regulatory control of pharmaceuticals*, in *Pharmaceutical and Biomedical Applications of Liquid Chromatography*, Riley CM, Lough WJ and Wainer IW, Editors, Elsevier (Pergamon), 1994, Chapter 10, 315-344
2. BOROSY AP - *Mesterséges ideghálzatok alkalmazása az adatelemzésben*, Magy Kém L, 1998, 53(8-9):397-403

3. BRAUN T, GLANCZEL L, MACZELKAH H et al - *Az analitikai kémia az Analytical Abstracts adatbázis tükrében: az analitikai szakirodalom folyóiratai, a szakirodalom koncentrációs és szóródása*, Magy Kém F, 1993, 99(7-8):301-315
4. Center for drug evaluation and research: *Reviewer guidance, validation of chromatographic methods*, FDA, 1994
5. *Development and Validation of Analytical Methods, Progress in Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 3, Edited by CM Riley and TW Rosanske, Pergamon/Elsevier, Tarrytown, NY, USA, 1996.
6. Farmacopeea Română ediția X-A: Editura Medicală, București, 1993, 813-814
7. FDA's policy statement for the development of new stereoisomeric Drugs, *Chirality*, 1992, Vol. 4, 338-340.
8. Food and drug administration: *Guideline for submitting samples and analytical data for methods validation*, February 1987, US Government Printing Office: 1990-281-794:20818.
9. FURMAN WB, LAYLOFF TP, TETZLAFF RF - *Validation of computerized liquid chromatographic systems*, J AOAC Int, 1994, 77:1314-1318.
10. GREEN MJ - *A practical guide to analytical method validation*, Anal Chem News and Features, 1996, 305-309
11. International Conference on Harmonization, *Draft guideline on validation of analytical procedures: definitions and terminology*, Federal Register, 1995, 60:11260.
12. KARNES HT, SHU G, SHAH VP - *Validation of bioanalytical methods*, *Pharmaceutical Research*, 1991, 8:421-426.
13. LAYLOFF T, MOTISE P - *Selection and validation of legal reference methods of analysis for pharmaceutical products in the US Pharmaceutical Technology*, 1992, 122-132
14. MAXWELL W, SWEENEY J - *Applying the validation timeline to HPLC system validation*, LC/GC, 1994, 12:678-82.
15. PAUL WL - *USP perspectives on analytical methods validation*, *Pharmaceutical Technology*, 1991, 130-1417.
16. Proceedings from the Third International Conference on Harmonization, Yokohama, Japan, 1995.
17. ROMAN L, BOJITA M, SANDULESCU R - *Validarea metodelor de analiză și control*, Editura Medicală, Cluj-Napoca, 1998, 75 - 134
18. SWARTZ ME - *Method development and selectivity control for small molecule pharmaceutical separations by CE*, J Liq Chrom, 1991, 14:923.
19. SWARTZ ME, KRULL IS - *Analytical Method Development and Validation*, Marcel Dekker, Inc NY, USA, 1997.
20. SWARTZ ME, MAZZEO JR, GROVER ER et al - *Validation of enantiomeric separations by micellar electrokinetic capillary chromatography using synthetic chiral surfactants*, J Chrom A, 1996, Vol 735, 303-310.
21. U.S. Pharmacopeia 23, p 1982-1984, 1776-1777, U.S. Pharmacopeia Convention, 1995.
22. VIRLICHIE JL, AYACHE A - *A ruggedness test and its application for HPLC validation*, STP Pharma Pratiques, 1995, 5:49-60.

A vízben oldódó vitaminok és a dezoxikólsav közötti kölcsönhatás vizsgálata

Gyöngyi Dudutz¹, Mária Kincses Ajtay²

Acidul dezoxicolic, una dintre acizii biliari importanți din punct de vedere fiziologic, datorită caracterului său amfifil este o substanță cu tendință de a forma complecși de incluziune. Constantele de formare ale compușilor rezultați s-au calculat pe baza teoriei formării complecșilor în trepte, utilizând datele furnizate de determinări potențiometrice, efectuate în soluții apoase diluate ale acidului dezoxicolic și ale unor vitamine hidrosolubile. Rapoartele molare de combinare între reactanți este 1:1, 2:1 și 3:1 ordinea de mărime a constantelor de formare este între 10^3 - 10^4 . Acidul ascorbic participă în complex cu formarea legăturilor de hidrogen multiple și puternice, ceea ce se reflectă și în valoarea cea mai mare a constantei de stabilitate. Din rezultatele obținute reiese că stabilitatea combinațiilor formate le atribuie în primul rând forțelor moleculare slabe de tip van der Waals, care se stabilizează ulterior prin legături de hidrogen și legături dipolare. Stabilitatea complexului format crește semnificativ cu numărul grupărilor de OH al moleculei oaspete și cu creșterea tendinței de a forma legături de hidrogen.
Cuvinte cheie: acid dezoxicolic, complecși de incluziune, vitamine

Deoxycholic acid, one of the physiologically important biliary acids, due to its amphiphil character has a tendency to form inclusion complexes. The formation constants of the resulted compounds were calculated on the basis of the theory of complex formation in steps/gradual, using data from potentiometrical determination in diluted aqueous solutions of deoxycholic acid and some hydrosoluble vitamins. The combination molar ratios of the reactants are 2:1 and 3:1, the scale of the formation constants being situated between 10^3 - 10^4 . The ascorbic acid participates in the complex forming by multiple and strong hydrogen bindings, that reflects also in the highest stability constant. It is clear from the obtained results that the stability of the formed combinations is due firstly to the weak van der Waals molecular forces that stabilize later by hydrogen and bipolar bindings. The greater the possibility of forming numerous hydrogen bindings and the bigger the strength of the binding, the higher is the stability of the formed complex, that is the greater the number and pronounced the acid character of the -OH groups in the guest molecule.

Key words: deoxycholic acid, inclusion complexes, vitamins

Az epében található epesavak szteránvázis vegyületek, az 5- β -kolánsav hidroxiszármazékai. A legfontosabb epesav a 3,7,12- α -trihidrox-5 β -kolánsav vagy kólsav, míg a gyógyszerészeti szempontból legtanulmányozottabb a 3,12- α -dihidrox-5 β -kolánsav vagy dezoxikólsav (DKS). A DKS molekulában az A/B gyűrű kapcsolódása cisz konfigurációjú, a B/C valamint a C/D gyűrűk illeszkedése transz, ennek következtében a gyűrűrendszer egy görbe felületet alkot, amelynek az amfipatikus jellegét az egyik oldalán található a térállású OH csoportok, az ellenkező oldalon pedig a szteránváz és az apoláris metilcsoportok kölcsönzik.

Felületaktív sajátosságaik következtében diszpergáló és szolubilizáló hatásúak, elősegítik a zsírok felszívódását és egyes rosszul oldódó

gyógyszerek szolubilizálást, fokozzák a koleszterol és a zsírban oldódó vitaminok abszorpcióját, aktiválják a pancreatikus lipáz, szerepük van a normális perisztaltika fenntartásában, hidrokolerikus, kolecsisztokinikus és gyenge diuretikus hatásuk is van.

Toxicitásuk kicsi, de hosszas használat esetén irritálnak, elősegítik fekélyek megjelenését, intravénásan arteriális hipotenziót, bradikardiát okoznak, csökkentik a bélmozgást, a központi idegrendszerre gátló hatással vannak, kísérletileg teratogén hatást is kimutattak. Újabb kutatások figyelemre méltóak arra, hogy a dezoxikólsavnak szerepe lehet a gasztro-intesztinális daganatok patogenezisében az enterociták membránjában található foszfolipázok aktiválásán és a szuperoxid gyökök képződésének közvetett serkentésén keresztül.⁴

Az epesavakat - elsősorban a konjugátlan epesavakat, a sóikat és az epekonvokat - a szubsztitív terápiában használják, peroralisan adagolva a bélből szívódnak fel, a májba kerülnek és a széklettel ürülnek.

¹Disciplina de Industria medicamentului și Biotehnologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

²Disciplina de Toxicologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

Adresa de corespondență: Prof. dr. Dudutz Gyöngyi, Disciplina de Industria medicamentului și Biotehnologie, Universitatea de Medicină și Farmacie, str. Gh. Marinescu nr. 38, 4300 Târgu-Mureș

Amfifil sajátosságuk következtében az epesavak, főleg a vízben oldódó nátriumsóik szolubilizáló hatású, detergens típusú anyagok, és mint ilyeneket felhasználják egyes gyógyszerekben segédanyagként a hatóanyag oldékonyságának a növelésére.^{3,6,7}

Az orálisan alkalmazott hidrofíl farmakonok gyakran rosszul szívódnak fel a kettősrétegű lipidmembránokon. A membrántranszportot fokozó segédanyagok elősegítik a gyógyszer abszorpcióját és ezzel javítják a biodisponibilitását. A komplexképző és a lipidmembránokra gyakorolt hatásuk következtében módosíthatják (gátolhatják vagy serkenthetik) egyes anyagok kioldását és felszívódását.^{1,3,4,5,6,7}

A dezoxikólsav szerkezeti sajátosságainak tulajdoníthatóan réteges csatornatípusú zárványkomplexek képzésére hajlamos. Közismert a zsírban oldódó vitaminok felszívódásában játszott szerepe. Felvetődik a kérdés, hogy a bélből felszívódó vízben oldódó vitaminok és az epesavak között van-e kölcsönhatás, és ha igen, az milyen erősségű. Dolgozatunkban a vízben oldódó vitaminok és a dezoxikólsav kölcsönhatását vizsgáltuk híg vizes oldatokban és a kölcsönhatás jellemzésére meghatároztuk a képződő komplexek stabilitási állandóit.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A nátriumdezoxikóllát és a vízben oldódó vitaminok (tiamin hidroklorid, piridoxin hidroklorid, nikotinsav, nikotinamid és aszkorbinsav) híg vizes oldatainak potenciometriás titrálása során nyert adatok segítségével a lépcsőzetes komplexképzés elmélete alapján kiszámítottuk a keletkező komplexek stabilitási állandóit.⁹ A titrálásokat Radelkis OP-204/1 potenciométerrel, 0-14 pH-ra kalibrált üveg- és kalomel elektródok segítségével, $1 \cdot 10^{-3}$ M-os HCl oldattal végeztük az alábbi oldatokban:

A. $\text{DKSNa } 1 \cdot 10^{-3} \text{ M} + \text{KCl } 1 \cdot 10^{-2} \text{ M}$

B. $\text{DKSNa } 1 \cdot 10^{-3} \text{ M} + \text{KCl } 1 \cdot 10^{-2} \text{ M} + \text{vitamin } 1 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

C. $\text{DKSNa } 1 \cdot 10^{-3} \text{ M} + \text{KCl } 1 \cdot 10^{-2} \text{ M} + \text{vitamin } 2 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

A DKS protonálódási állandójának ($k_1 = 2,5 \times 10^6$), valamint a különböző vitaminok jelenlétében titrált DKSNa oldat fölös sósav fogyasztásának figyelembevételével az (1) képlet segítségével különböző pH értékeknél kiszámítottuk a komplexképzésben részt nem vevő szabad dezoxikóllát ionok koncentrációját.

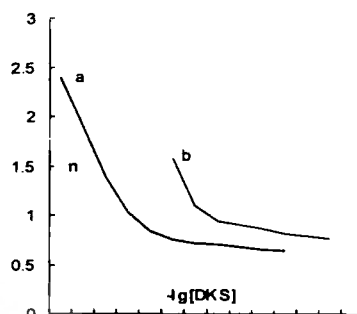
$$[\text{DKS}^-] = \frac{(n_{\text{DKS}^-} - n_{\text{HCl}}) \cdot 1000}{(2,5 \cdot 10^6 \cdot [\text{H}^+] + 1) \cdot (V + \Delta V)} \quad (1)$$

A keletkező komplexekben az átlagos ligandumszám a (2) összefüggéssel számítható ki.

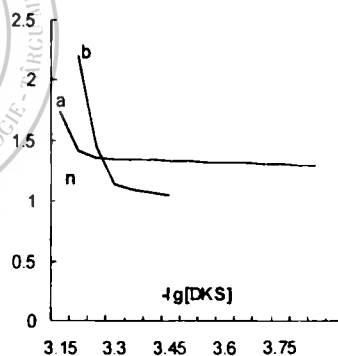
$$n = \frac{n_{\text{HCl}}}{\dots} \quad (2)$$

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

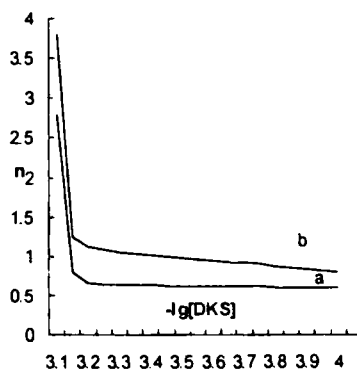
Grafikusan ábrázolva a titrálási görbék szolgáltatata adatok segítségével számított értékpárokat - az n értékeket a $-\lg[\text{DKS}^-]$ függvényében - a képződési görbéket nyertük, amelyekről a félértékpontoknál ($n=0,5; 1,5; 2,5; \dots$) a stabilitási állandók logaritmusai közvetlenül leolvashatók (1, 2, 3, 4, 5 ábra).



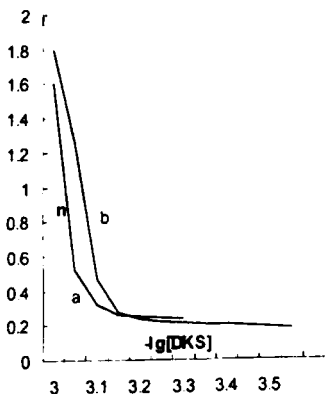
1. ábra. DKS-Ti képződési görbék
a. $10 \text{DKS}:1\text{Ti}$
b. $5 \text{DKS}:1\text{Ti}$



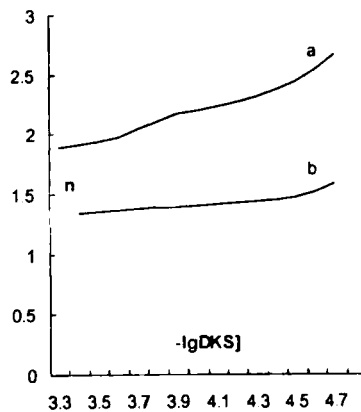
2. ábra. DKS-Pi képződési görbék
a. $10 \text{DKS}:1\text{Pi}$
b. $5 \text{DKS}:1\text{Pi}$



3. ábra. DKS-NS képződési görbék



4. ábra. DKS-NA képződési görbéi
a. 10DKS:1NA
b. 5DKS:1NA



5. ábra. DKS-AS képződési görbéi
a. 10DKS:1AS
b. 5DKS:1A

Az I. táblázat összefoglalja a DKS és a vizsgált vitaminok kölcsönhatása során híg vizes oldatban keletkező komplexek stabilitási állandóit és vegyülési

mólarányait a megfelelő pH tartományban potenciometriás meghatározás alapján.

I. Táblázat. A DKS - vitamin komplexek vegyülési mólarányai és stabilitási állandói

Vizsgált rendszer	DKS - vitamin mólarány az oldatban	pH	Vegyülési mólarány	lgK	K
DKSNa-Ti	10:1	7,25	2:1	3,18	$1,51 \cdot 10^3$
	5:1	7,25	2:1	3,35	$2,16 \cdot 10^3$
DKSNa-Pi	10:1	7,75	2:1	3,16	$1,39 \cdot 10^3$
	5:1	8,25	2:1	3,21	$1,63 \cdot 10^3$
DKSNa-NS	10:1	8,50	2:1	3,13	$1,35 \cdot 10^3$
	5:1	9,00	2:1	3,12	$1,32 \cdot 10^3$
DKSNa-NA	10:1	8,25	1:1	3,05	$1,12 \cdot 10^3$
	10:1	8,25	2:1	3,10	$1,26 \cdot 10^3$
DKSNa-AS	10:1	5,00	3:1	4,58	$3,75 \cdot 10^4$
	5:1	5,00	2:1	4,60	$3,99 \cdot 10^4$

A hidrogénhidakkal fej-láb helyzetben kapcsolódó DKS gazdamolekulákból kialakuló kettős rétegek és a közöttük helyetfoglaló vendégmolekulák alkotják a dezoxikólsav csatornatípusú zárványkomplexeit. A kettősrétegek kialakulásában ugyancsak a hidrogénhidaknak van elsődleges szerepük. A kettősréteg külső felülete hidrofób, a rétegek között képződő csatorna hidrophil. A nempoláris vendégmolekulák az antiparallel lefutású egymással érintkező kettősrétegek között kialakuló lipofil üregekbe illeszkednek be, míg a poláris molekulák a DKS molekulákból álló rétegek hidrophil üregeibe épülnek be. A csatornák különböző méretű molekulák befogadására alkalmasak, átmérőjük a DKS molekulák közötti átlagos távolságtól függ. A komplexek kialakulásában szerepet játszó erők a vendégmolekulák szerkezetétől függően lehetnek van der Waals erők elsősorban az alifás molekulák esetében, a d elektronokkal kialakuló erős kölcsönhatások az aromás molekulák esetén és hidrogénhid kötések a hidrophil jellegű molekulák esetén.

A DKS-vitamin komplexek stabilitási állandóinak 10^3 - 10^4 nagyságrendje a kölcsönhatásban szerepet játszó kötőerők gyenge voltára utal. A csatornát alkotó gazdamolekulák a vizsgált vitamin molekulákat, mint vendégmolekulákat, hidrogénhid kötésekkel kötik meg. A kialakuló komplexek stabilitása annál nagyobb, minél több és erősebb hidrogénhid kötés kialakítására van lehetőség. Ezt igazolják a kísérletileg meghatározott stabilitási állandó értékek. Az egyes vízdoldékony vitaminok molekulaméretét, térbeli formáját és hidrogénhid kialakítására alkalmas hidrophil csoportjainak a számát figyelembevéve a DKS-val a legstabilabb komplexet az aszkorbinsav képezi. A többszörös hidrogénhid kötések kialakítására való lehetőség és a molekulaméretének jelentőségére utal az a tény, hogy 1:1 arányú komplexet csak a kisméretű nikotinamid esetében nyertünk, a többi esetben főleg a 2:1 arányú komplexek képződését (nagy DKS főleg jelenlétében AS esetében 3:1 arányú komplexét is) észleltük.

KÖVETKEZTETÉSEK

A vizsgált vitaminok a DKS-val híg vizes oldatban kölcsönhatásba lépnek és a kialakuló csatornájellegű kettősrétegek hidrofil üregeibe illeszkedve gyenge komplexeket képeznek (a stabilitási állandók nagyságrendje 10^3 - 10^4), amelyeknek a kialakulásában a hidrogénhid kötések játszóak a főszerepet. A legstabilabb komplexet az AS képezi, 2:1 és 3:1 molarányban – komplexstabilitás 10^4 nagyságrendű, ami összhangban van az irodalomban leírt hidrofil farmakon-DKS komplexek alapján várt kölcsönhatással.

IRODALOM

1. ALDINI R, MONTAGNI M – *Intestinal absorption of bile acids in the rabbit; different transport rates in jejunum and ileum*, Gastroenterology, 1996, 110:459-468
2. BLAKEBOROUGH M, OWEN R – *Free radical generating mechanism in the colon, their role in the induction and promoting of colorectal cancer*, Free Rad Res Community, 1989, 6:359-367
3. BOWE CL, MOKHTARZADEH L, VENKATESAN P et al – *Design of compounds that increase the absorption of polar molecules*, Proc Natl Acad Sci, Pharmacology, 1997, 94:12218-12223
4. BUDER S, GUANERI M – *Cosmetic applications of lecithin/ bile salts mixed micelles*, Cosmet Toilettes, 1993, 108:63-68
5. CARRELI V, DI COLO G – *Bile acids and enhancers of steroid penetration through excised, hairless mouse skin*, Intl J Pharm, 1993, 89:81-89
6. HEUMANN D – *Bile salts membrane interactions and the physicochemical mechanism of bile salt toxicity*, Ital J Gastroenterol, 1995, 27:256-261
7. KIRILENKO F, Gregoriadis G – *Fat soluble vitamins in liposomes. Studies on incorporation efficiency and bile salt induced vesicle desintegration*, J Of Drug Targeting, 1993, 1:361-368
8. NAGATA M, YOTSUYANAGA T – *Solubilisation of vitamin K, by bile salts and phosphatylcholine-bile salts mixed micelles*, J Pharm Pharmacol, 1988, 40:85-88
9. OHTAKI Y, HIDA T – *Deoxycholic acid as an endogenous risk factor for hepatocarcinogenesis and effects of gomosin A, a lignan component of schizandra fruits*, Anticancer Res, 1996, 16:751-752
10. SILLÉN LG – *Acta Chem Scand*, 1956, 10, 186, in: Inczedy J: *Komplex egyensúlyok analitikai alkalmazása*, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1970, 106-115



Model experimental "in vivo" privind evaluarea gradului de calcificare cinetică a pericardului ovin stabilizat cu glutaraldehidă

D. Iorga¹, Anca Sin², Agneta Simionescu¹, H. Suciuc¹, C. Chivu¹, Odeta Zeceș³, C. Eșanu³, F. Stancu³

Ipoteza de lucru: Studiul de față, urmărește dinamica acumulării de calciu, în funcție de timpul de stabilizare cu glutaraldehidă (GA) și stabilește dacă GA și durata stabilizării pot influența calcificarea pericardului și timpul optim de stabilizare la care calcificarea este minimă sau absentă. **Material și metodă:** Pericardul ovin recoltat de la animale tinere de 1 an (la abator) a fost împărțit în cinci grupe și stabilizat timp de 5, 7, 15, 30 de minute și respectiv două zile în GA 0,7% în tampon de fosfat salin la pH 7,4. Pericardul martor, a fost stabilizat cu GA 0,7% tamponată, timp de 14 zile. Modelul experimental s-a realizat pe șobolani albi în creștere prin implantare subcutanată a fragmentelor tisulare probă și martor pentru inducerea calcificării. După patru și respectiv opt săptămâni fragmentele de pericard au fost explantate, pentru analiza modificărilor macroscopice și microscopice precum și pentru dozarea calciului din țesut. **Rezultate:** Analiza microscopică a pus în evidență depozite minime sau absența calcificării iar dozarea calciului tisular din fragmentele explantate a relevat o acumulare cinetică extrem de redusă (comparativ cu rezultatele obținute în țesutul pericardului bovin). **Concluzii:** Acumularea cinetică foarte redusă de calciu în pericardul ovin demonstrează că acest țesut poate deveni o alternativă viabilă la pericardul bovin pentru confecționarea bioprotezelor valvulare. **Cuvinte cheie:** calcificare, pericard ovin, glutaraldehidă, model experimental

Objectives: The present study intends to follow up the dynamic accumulation of calcium in relation to glutaraldehyde (GA) stabilization time and to demonstrate if GA and the stabilization time can influence the pericardium calcification and the optimum time of stabilization for which calcification is kept to a minimum or is absent. **Material and method:** Sheep pericardium harvested from young animals was divided into five groups and stabilized for 5, 7, 15, 30 minutes and 2 days respectively in GA 0,7% phosphate buffered pH 7,4. The untreated pericardium was stabilized with 0,7 buffered GA for 14 days. The experimental model was performed on white rats through subcutaneous implantation of treated and untreated tissue fragments for calcification induction. After 4, and 8 weeks respectively, the pericardium fragments were explanted in order to analyze macroscopic and microscopic modifications as well as the quantitative measurement of calcium. **Results:** The microscopic analysis showed minimum stores or absence of calcification. The measurement of tissue calcification from explanted fragments revealed a low dynamic calcium accumulation compared to the bovine pericardium. **Conclusions:** Low dynamic calcium accumulation in sheep pericardium demonstrates that this tissue represents a viable alternative to bovine pericardium in the manufacture of valve bioprostheses. **Keywords:** calcification, sheep pericardium, glutaraldehyde, experimental model

Stabilizarea chimică cu GA mărește rezistența mecanică și biologică a biomaterialelor derivate din țesuturi biologice, facilitând astfel utilizarea acestora în chirurgia valvulară.

Observațiile clinice au arătat că după funcționarea "in vivo" pe termen lung, aceste țesuturi stabilizate sunt susceptibile la procesul de calcificare patologică, ce imităză durabilitatea în timp a acestora.

Investigații recente, ce urmăresc utilizarea pericardului autolog în reconstrucția sau înlocuirea

valvulară, au arătat că expunerea intraoperatorie la acțiunea GA, poate stabiliza țesutul, conferindu-i proprietățile mecanice și biologice necesare, concomitent cu reducerea calcificării acestuia.^{3,6,12}

Cu toate acestea, calcificarea reprezintă principala cauză a disfuncției bioprotezelor valvulare, deoarece depunerea inițială de săruri insolubile de calciu este extrem de dăunătoare, prin tendința acestora de a crește permanent, atingând dimensiuni impresionante.^{2,4,12}

Aceste depozite de calciu pot avea două efecte majore asupra țesutului biologic: a). pot rigidiza țesutul, împiedicând funcționarea normală a bioprotezei valvulare; b) pot induce formarea de noduli de abraziune, ce pot duce la apariția rupturilor tisulare.¹²

Aceste observații au condus spre investigarea potențialului GA "per se" de a induce calcificarea tisulară.

Centrul de Boli Cardiovasculare Târgu-Mureș, Clinica de Chirurgie Cardiovasculară
Disciplina de Biologie Celulară, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș
Studenți, Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș
Adresa pentru corespondență: D. Iorga, Centrul de Boli Cardiovasculare Târgu-Mureș, Clinica de Chirurgie Cardiovasculară, Str. Gh. Mărinescu nr 50

Ipoteza de lucru

În acest studiu am conceput un model experimental pe șobolani în creștere, care reușește în timp relativ scurt calcificarea accelerată a țesutului implantat subcutanat (accelerare a procesului de circa 15 ori) cu aspecte calitative și cantitative similare cazurilor clinice.⁷ Modelul de față urmărește dinamica acumulării de calciu în funcție de timpul de stabilizare cu GA și stabilește:

-dacă GA și durata stabilizării pot influența calcificarea pericardului

-timpul optim de stabilizare la care calcificarea țesutului este minimă sau absentă.

MATERIAL ȘI METODĂ

a). Prepararea pericardului ovin.

Pericardul a fost recoltat proaspăt la abator, de la ovine de 1 an.

-după îndepărtarea țesuturilor adiacente și spălări repetate cu ser fiziologic, s-au croit fragmente dreptunghiulare de 4/5 cm, din zone fără vascularizație și uniforme ca grosime (valoare medie de 1mm măsurată cu micrometru)

-fragmente de pericard *probă* au fost stabilizate într-o soluție de GA 0,7%, în tampon de fosfat salin, pH 7,4 timp de 5,7,15,30 de minute și 2 zile.

-la sfârșitul fiecărei etape de stabilizare reacția cu GA a țesutului a fost stopată prin spălare și neutralizare cu o soluție de aminoacizi de (2x10 minute) urmată de 2-3 spălări repetate cu ser fiziologic.

-conservarea țesutului până la implantare, în ser fiziologic steril.

-fragmente de pericard ovin *martor* au fost stabilizate în soluție de GA 0,7% în tampon de fosfat salin pH 7,4 timp de 14 zile, (în condițiile standard pentru prepararea pericardului) în vederea utilizării ca biomaterial intraoperator și confecționarea de bioproteze valvulare.

b). Modelul experimental pe șobolani în creștere

Animalele selectate pentru acest studiu au fost 40 de șobolani albi masculi din rasa Wistar în greutate de 60 g și în vârstă de 3 săptămâni. Lotul a fost împărțit în 5 grupe, fiecare grupă conținând 8 animale.

-din fragmentele de pericard *probă* au fost croite fragmente de 1/1 cm, ce au fost împărțite în 5 grupe, corespunzător timpilor de stabilizare: grupul I (5 minute); grupul II (7 minute); grupul III (15 minute), grupul IV (30 minute) grupul V (2 zile).

-din fragmentele de pericard *martor* au fost croite fragmente de 1/1 cm, care au fost apoi implantate la fiecare animal din cele 5 grupe.

-animalele selectate au fost anesteziate prin injectarea intraperitoneală a unui amestec de ketamină (50 mg/kg corp) și xilină (12 mg/kg corp)

-animalele, după ce au fost conționate pe față ventrală, au fost tunse pe față dorsală pe o suprafață de aproximativ 6/4 cm, iar suprafața a fost dezinfectată.

-cu un bisturiu steril, s-au practicat 4 incizii

-la nivelul fiecărei incizii s-a creat câte o cavitate de circa 1/3 cm prin dilacerarea țesutului subcutanat.

-fragmentele tisulare *probă* (corespunzătoare fiecărui timp de stabilizare) după ce au fost spălate 3 x 10 minute cu ser fiziologic, au fost implantate subcutanat (câte unul în fiecare cavitate la membrele anterioare ale fiecărui șobolan din cele 5 grupe).

-fragmentele de pericard *martor*, după spălare cu ser fiziologic, au fost implantate câte unul în fiecare cavitate (la nivelul membrelor posterioare, la fiecare din animale); fiecare cavitate a fost închisă prin aplicare de agrafe chirurgicale Michéle.

Animalele au fost introduse (câte unul) în cuști separate, (numerotate) și îngrijite în condiții standard de laborator (la Biobaza Universității de Medicină și Farmacie Tg. Mureș) cu hrană și apă "ad libitum" la o temperatură constantă de 22°C, umiditate 50-60% și ciclu de iluminare de 12 ore.¹² Manipularea și îngrijirea animalelor a fost efectuată de personal specializat, conform indicațiilor Ghidului Oficial elaborat de Național Institutes of Health, Bethesda, USA.¹² S-a efectuat cântărirea periodică a animalelor și s-a adaptat alimentația astfel încât la explantare să atingă o greutate cel puțin dublă, față de greutatea inițială (indicator de creștere normală).¹²

După 4 săptămâni ($n=20$ din animale) și respectiv 8 săptămâni ($n=20$) de la implantare, animalele din fiecare grup au fost eutanasiate (cele care au avut o greutate dublă față de cea de la implantare) prin administrarea unei supra-doze de anestezic, iar fragmentele *probă* și *martor* au fost explantate și introduse separat (corespunzător timpilor de stabilizare chimică) în eprubete marcate conținând ser fiziologic.

Fragmentele, au fost apoi transportate la laborator și prelucrate pentru evaluarea calcificării prin:

a). analiza macroscopică

b). analiza microscopică (histologică) utilizând tehnicile de colorare cu hematoxilină eozină pentru aspectul general și von Kossa (pentru depunerile de calciu).

c). dozarea calciului tisular prin uscarea fragmentelor timp de 24 ore la temperatura de 90°C, cântărire, hidroliză în HCl 6n (normal), filtrare și analiză la spectrometrul de absorbție atomică (SAA). Valorile obținute au fost exprimate în $\mu\text{gCa}/\text{mg}$ țesut uscat.

REZULTATE

Explantarea pericardului la 4 săptămâni (4 animale din fiecare grup):

a). *Analiza macroscopică*: la grupul I (5 minute), 2 fragmente *probă* erau infectate din grupul III (15 minute) 1 fragment *probă* infectat; grupul IV (30 minute), 1 fragment de pericard *probă* infectat iar din grupul V (2 zile), 1 fragment *probă* era de asemenea infectat. Fragmentele infectate (12,5%) au fost excluse din studiu.

La deschiderea fiecărei cavități, am remarcat

probă cât și a matorului) și care separa țesutul implantat de țesuturile adiacente. Am detectat prezența reacției inflamatorii locale doar în cazul fragmentelor infectate. De asemenea, țesuturile explantate nu prezentau urme de vascularizație sau fibrozare. În schimb, am observat îngroșarea fragmentelor probă și mator (la măsurarea grosimii țesutului valorile au fost de 2-3 ori mai mari decât cele măsurate înainte de implantare)

Din punct de vedere macroscopic, nu am identificat urme de calcificare tisulară la țesutul probă sau mator.

b) *Analiza histologică:* la fragmentele de pericard probă din fiecare grup, colorația von Kossa nu a pus în evidență prezența calcificării sau prezența unei calcificări minime la 7 minute de stabilizare (formațiunile tisulare ce conțin calciu se colorează de obicei în brun închis spre negru, nucleii în roșu, iar restul componentelor tisulare în roz deschis). Colorația cu *hematoxină eozină* a pus în evidență la toate preparatele prezența de infiltrate celulare masive colorate în roz sau în roșu).

La fragmentele tisulare colorate cu *hematoxină eozină* s-a pus în evidență prezența unui infiltrat celular.

c) Dozarea calciului din țesut

Conținutul de calciu corespunzător tipurilor de stabilizare chimică (Figura 1).

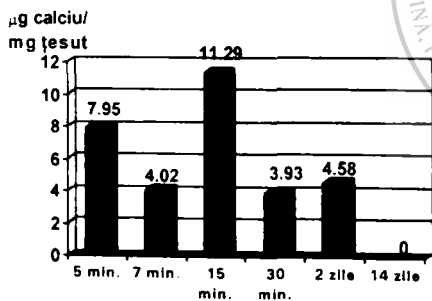


Figura 1. Conținutul de calciu în funcție de timpul de stabilizare a pericardului ovin cu GA 0,7% în tampon de fosfat salin pH 7,4 la 4 săptămâni de la implantarea subcutanată

Explantarea pericardului ovin la 8 săptămâni

a) *Analiza macroscopică* nu a evidențiat fragmente sulare infectate atât la țesutul probă cât și la mator.

În fiecare cavitate a fost prezentă capsula de țesut. Reacția inflamatorie locală nu a fost prezentă la nici unul din grupuri.

De asemenea, nu am observat urme de vascularizație, fibrozare sau calcificare tisulară. Îngroșarea tisulară a fost prezentă atât la fragmentele probă cât și la mator.

b) Analiza histologică

Colorația cu *hematoxină eozină* a fragmentelor explantate a pus în evidență prezența infiltratului celular.

La analiza microscopică a fragmentelor de pericard mator colorate cu *von Kossa*, nu au fost evidențiate urme de calciu.

c) *Conținutul de calciu* din țesutul probă și mator corespunzător timpilor de stabilizare chimică (Figura 2).

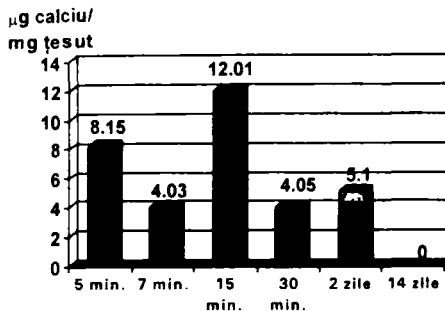


Figura 2. Conținutul de calciu în funcție de timpul de stabilizare a pericardului ovin cu GA 0,7% în tampon de fosfat salin pH 7,4 la 8 săptămâni de la implantarea subcutanată

DISCUȚII

În urma analizei macroscopice a fragmentelor tisulare explantate, formarea capsulei este rezultatul reacției de corp străin pe care a indus-o țesutul implantat ceea ce s-a constatat și în cazul implantării subcutanate a pericardului bovin.^{1,3,12,13}

Absența reacției inflamatorii locale sau a infecției (prezentă doar izolat la câteva fragmente de țesut) la 4 și 8 săptămâni de la implantare nu conduce la observația că stabilizarea pericardului cu GA conferă acestuia o antigenicitate redusă și nu induce reacții de respingere tip gazdă contra grefă, adică țesutul stabilizat este biocompatibil (această observație fiind valabilă și în cazul pericardului bovin).^{3,5,11,12} De asemenea, absența vascularizației țesutului, ca și în cazul pericardului bovin, relevă faptul că țesutul nu a suferit modificări structurale în urma stabilizării chimice și a implantării subcutanate, acesta fiind izolat de țesutul gazdă prin capsula tisulară.³

Analiza histologică a pericardului ovin explantat nu a pus în evidență prezența calcificării tisulare la 4 sau 8 săptămâni, atât în cazul pericardului probă cât și a matorului. Spre deosebire de acesta, în cazul pericardului bovin s-au evidențiat depozite de calciu difuze la 5 și 15 minute de stabilizare și depozite punctiforme în zona centrală a țesutului (după 15 minute) și depozite masive aglomerate sau nodulare la 30, 120 de minute și respectiv 14 zile.^{2,3,4,6,12}

Aceste observații comparative arată că spre deosebire de pericardul bovin la care rezultatele evidențiază o posibilă relație cauzală între stabilizarea cu GA și apariția depunerilor de calciu intratisulare,^{2,3} pericardul ovin stabilizat cu GA nu calcifică sau prezintă o calcificare minimă în urma implantării subcutanate. Această ipoteză urmează a fi verificată în continuare prin implantarea intracirculatorie la animale mari a pericardului ovin autolog stabilizat.

Dozarea calciului din țesut a pus în evidență un conținut de calciu de circa zece ori mai mic comparativ cu pericardul bovin.^{3,12}

În cazul pericardului ovin, cantitatea de calciu, dozată din țesut a fost minimă la 7, 30 de minute și respectiv 2 zile de stabilizare și sensibil egală la 4 și 8 săptămâni de la implantare.

Pornind de la aceste observații, pentru a reduce la minim timpul de stabilizare chimică intraoperator, timpul optim de stabilizare la care calcificarea tisulară a fost minimă, este de 7 minute.

Această constatare s-a dovedit a fi valabilă și în cazul pericardului bovin stabilizat la care dozarea calciului a pus în evidență un timp mediu de stabilizare de 7-8 minute (la care calcificarea a fost minimă), pentru ca la peste 30 de minute stabilizarea maximă s-a corelat cu nivele maxime de calciu.^{3,8,9,10,12,13,14}

CONCLUZII

Testarea subcutanată a pericardului ovin relevă o acumulare de calciu minimă sau absentă atât la 4 cât și la 8 săptămâni de la implantare, ceea ce demonstrează că acest țesut poate deveni (după testarea intracirculatorie la animale mari) o alternativă viabilă la pericardul bovin, pentru confecționarea bioprotezelor valvulare.

BIBLIOGRAFIE

1. DAHM M, LYMAN WD, SCHWEL AB et al - *Immunogenicity of glutaraldehyde-treated bovine pericardium*, The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 1990, 99:1082-1090.
2. GRABENWOGER M, SIDER J, WOLNER E - *Impact of glutaraldehyde on calcification of pericardial bioprosthetic heart valve material*, Annals of Thoracic Surgery, 1996, 62:772-775.
3. IORGA D, SUCIU H, CHIVU C et al - *Rolul stabilizării cu glutaraldehidă în calcificarea pericardului bovin; studiu cinetic pe un model experimental "in vivo"*, Revista de Medicină și Farmacie, 2001, 47:
4. IORGA D, SUCIU H, CHIVU C et al - *Calcificarea materialelor biologice stabilizate utilizate în înlocuirea valvulei cardiace*, Revista de Medicină și Farmacie, 2001, 47
5. JORGE-HERRERO E, FERNANDEZ P, ESCUDERO C et al - *Calcification of pericardial tissue pretreated with different aminoacids*, Biomaterials, 1996, 17:571-575.
6. LEVY RJ - *Glutaraldehyde and the calcification mechanism of bioprosthetic heart valves*, J Heart Valve Disease, 1994, 3:101-104.
7. SCHOEN FJ - *Valvular disease*, in: Schoen FJ ed, Interventional and Surgical Cardiovascular Pathology, Toronto, WB Saunders Co, 1989, 124-160.
8. SCHOEN FJ, FERNANDEZ Y, GONZALES-LAVIN L et al - *Causes of failure and pathologic findings in surgically removed Ionescu - Shiley standard bovine pericardial heart valve bioprostheses: emphasis on progressive structural deterioration*, Circulation, 1987, 76:618-627.
9. SCHOEN FJ, HARASAKI H, KIM KM et al - *Biomaterial-associated calcification: Pathology, mechanism, and strategies for prevention*, J Biomed Mater Res, 1998, 22:11-36.
10. SCHOEN FJ, LEVY RJ, NELSON AC et al - *Onset and progression of experimental bioprosthetic heart valve calcification*, Lab Invest, 1985, 52:523-532.
11. SIMIONESCU D, SIMIONESCU AGNETA, DEAC R - *Modulation of collagenases and the biocompatibility of pericardial-derived artificial heart valves*, American Society for Artificial Internal Organs, 1997, vol rez, 78.
12. SIMIONESCU D - *Biopatologia valvelor cardiace naturale și artificiale*, Teză de doctorat, 1999
13. VALENTE MARIALUISA, ELENA PETTENAZZO, GAFTANO T et al - *Detoxified glutaraldehyde cross-linked pericardium: subcutaneous rat model*, Journal of Heart Valve Disease, 1998, 7:283-291.
14. WALLEY VM, WOLFSOHN AL, GHADIALY FN et al - *Noncalcific cusp thickening in Ionescu-Shiley cardiac valvular bioprosthesis*, Modern Pathology, 1995, 8:121-129.

Tuberculoza extrapulmonară la copiii între 0-14 ani din județul Mureș, între anii 1994-1999

Gabriela Jimborean¹, Marinela Gabor²

În județul Mureș, între 1994-1999 s-au înregistrat 267 cazuri de tuberculoză la copii (210 localizări pulmonare - 78,7%, 31 pleurezii - 11,6% și 26 tuberculoze extrapulmonare - 9,7%). Ponderele meningitei tuberculoase la copii este importantă - 41,9% din totalul meningitelor tuberculoase, dar au scăzut cazurile la vârsta de risc 0-4 ani. Tuberculoza pleurală este în creștere, formele meningeale, osteoarticulare și angiolimfomatice sunt în scădere. Complicațiile tuberculozei extrapulmonare sunt încă frecvente și severe. Confirmarea etiologică este mediocră în pleurezii - 9,7%, în meningite - 46,2% și în meningite - 100% (confirmare histopatologică) în tuberculoza ganglionară. În rest, s-au coroborat criteriile de diagnosticare cu mare probabilitate: focar de tuberculoză, debut lent, răspuns pozitiv la tratament, testul tuberculinic pozitiv, examenul histopatologic, proba terapeutică. Evoluția cazurilor sub tratament standard a fost favorabilă. Ameliorarea diagnosticului rapid prin investigații biotice și bacteriologice moderne ar permite un tratament rapid și diminuarea complicațiilor. Ameliorarea depistării precoce a tuberculozei pulmonare ar determina diminuarea frecvenței tuberculozelor extrapulmonare. Cuvinte cheie: tuberculoză extrapulmonară, complicații, confirmare diagnostică

Between 1994-1999, in the Department of Mures we registered 267 children with tuberculosis, 210 pulmonary locations - 78,7%, 31 pleural effusions - 11.6%, 26 extra-respiratory forms 9.7%. Among the whole group of tuberculous meningitis, this location in children is important: 41.9%, but we saw a decrease at the "risk age" (0-4 years). Pleural tuberculosis grew and meningeal, osteo-articular and lymph-node one faded. The complications of extra-respiratory tuberculosis were still frequent and severe. The etiologic proof is poor in pleural effusions - 9.7%; there is a high confirmation in osteo-articular and meningeal locations (71.5%, 46.2%) and 100% positive histologically confirmation in lymph nodes tuberculosis. In non-proved etiologic cases (bacteriology or histologically) the diagnosis was established upon associated criteria: epidemiology, mild onset, bacillary consumption, positive tuberculin-skin test, radiology, and drug response. The evolution was favorable after standardised therapy. The improvement of rapid diagnosis by modern biotic and bacteriologic procedures would allow an early and adequate treatment with the decrease of the complications. The improvement of the early diagnosis in the pulmonary tuberculosis will decrease the frequency of the extrapulmonary locations.

Key-words: extrapulmonary tuberculosis, complications, confirmation of the diagnosis

Tuberculoza (TBC) extrapulmonară la copii este încă o prezență constantă în patologie, aflată în relație directă cu diseminările frecvente limfohematogene ale TBC primare de la copii. Diagnosticul unor forme de TBC extrapulmonară este dificil și necesită o strânsă colaborare între diferitele specialități medicale și investigații moderne: prelevări biotice, medii Bactec, polimeraze Chain Reaction (PCR), etc. Depistarea precoce a TBC pulmonare permite evitarea complicațiilor diseminative și reducerea TBC extrapulmonare.

MATERIAL ȘI METODĂ

S-au luat în studiu toate cazurile de TBC extrapulmonară activă (57), forme pleurale și

extrapulmonară la copiii între 0-14 ani din județul Mureș, între anii 1994-1999. La aceste cazuri s-a studiat:

Ponderele TBC extrapulmonare din totalul cazurilor de TBC activă înregistrată;

Distribuția cazurilor pe sexe și pe subgrupe de vârstă;

Confirmarea bacteriologică și histopatologică;

Diagnosticul clinico-radiologic;

Tratamentul și evoluția sub tratament;

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Între 1994 -1999 s-au înregistrat 267 cazuri de TBC la copii (210 localizări mediastino-pulmonare, 31 pleurezii serofibrinoase -11,6% și 26 forme extrapulmonare -9,7%). Atât pleurezia cât și formele extrapulmonare au o pondere mai mare din totalul TBC la copii față de adulți (8,6% respectiv 5,9%)¹, fapt explicat prin frecvența crescută a diseminărilor limfohematogene în cadrul TBC primare prezentă la vârstele tinere (Tabelul I).

¹ Disciplina Fiziologie, Clinica Pneumologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș
² Disciplina Pneumologie Târgu-Mureș
Adresa pentru corespondență: Dr. Gabriela Jimborean, Disciplina Pneumologie, Universitatea de Medicină și Farmacie, str. Gheorghe Aron nr 38, 4300 Târgu-Mureș

Tabelul I. Ponderea TBC pulmonare, pleurale și extrapleurale la copiii de 0-14 ani comparativ cu adulții, între anii 1994-1999

	Total TBC înregistrate 3447	TBC pulmonară 2929 Raport adulți /copii-13		TBC pleurală 305	TBC extrapleurale 213		
Adulți	3180	2719	85,5%	274	8,6%	187	5,9%
Copii 0-14 ani	267	210	78,7%	31	11,6%	26	9,7%

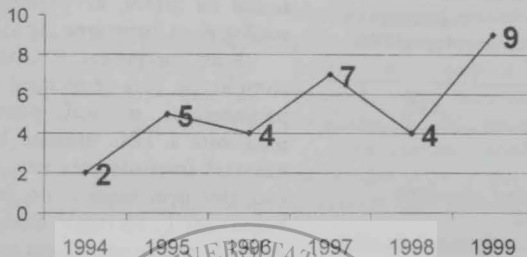


Figura 1. Evoluția pleureziei TBC la copii în intervalul 1994-1999

S-au înregistrat 31 pleurezii serofibrinoase TBC. Meningita TBC (13 cazuri) ocupă primul loc în între 1994-1999 numărul de pleurezii prezintă oscilații în cadrul localizărilor extrapleurale la copii dar este în cu tendință de creștere mai evidentă în 1999 (Figura 1) scădere (creșterea din 1999 fiind determinată de cazuri cu 30 cazuri - 96,8% s-au semnalat în grupa de vârstă la adulți) (Tabelul II). 5-14 ani, 1 caz la grupa 1-4 ani.

Distribuția pleureziei TBC în funcție de sex arată o frecvență sporită a afecțiunii la sexul masculin (10 pe cazuri -71%, date comparabile cu cele din TBC totalul cazurilor de meningite TBC. Evoluția meningitei TBC între anii 1994-1999

Confirmarea bacteriologică - 3 cazuri (9,7%) și histopatologică -1 caz a fost modestă datorită paucibacilarității produselor patologice în pleurezia TBC. În restul cazurilor s-au utilizat criterii diagnostice de mare probabilitate:

-Date epidemiologice - focar de TBC, factori de risc pentru TBC 29 cazuri - 93,5%;

-Date clinice - debut lent, impregnare bacilară 30 cazuri - 96,7%;

-Lichidul pleural - exudat serofibrinos cu glucoza scăzută, predominantă limfo-monocitară 28 cazuri - 90,3%;

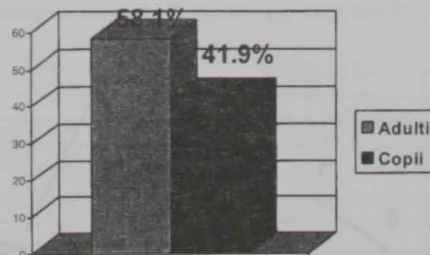
-Testul tuberculinic efectuat la 100% din cazuri - pozitiv în 100%;

-Examenul radiografic toracic cu leziuni concomitente: adenopatie primară mediastino-hilară 9 cazuri - 29%;

-Evoluția nefavorabilă sub antibioterapie nespecifică și favorabilă sub medicație antituberculoasă;

Tratamentul antibiotic a fost standardizat (2 luni Isoniazidă, Rifampicină, Pirazinamidă, 4 luni Isoniazidă și Rifampicină) și asociat cu evacuarea colecțiilor, corticoterapie (100% din cazuri) și

Anul	Total meningite TBC	Meningite TBC la adulți	Meningite TBC la copii
1994	8	4	4
1995	3	2	1
1996	3	1	2
1997	3	2	1
1998	4	1	3
1999	10	8	2
	31	18	13



Tabelul III. Distribuția meningitei TBC la copii în funcție de subgrupa de vârstă

Vârsta în ani	0-1 ani	1-4 ani	5-14 ani
Nr. cazuri	13	2	11
	15,4%		84,6%

Tabelul IV. Frecvența meningitei TBC la copii (din totalul TBC active înregistrate la copii)

Total TBC active înregistrate la copiii 0-14 ani	Meningite TBC	Frecvența meningitei TBC
267	13	4,8%

Tabelul V. Complicații și asocieri agravante în meningita TBC

Complicații și asocieri agravante în meningita TBC	Număr
Complicații neurologice:	1
• Hidrocefalie	
• Deficit motor	1
Pneumonie cazeoasă TBC	1
Miliara pulmonară	3
Morbul Pott	1
Infecție HIV/SIDA	1
	6 46,2%

Ponderea copiilor din totalul meningitelor TBC este 41,9%; raportul adulți/copii -1,4 (Tabelul II, Fig. 2) este mai mic față de același raport din TBC pulmonară - 13 (Tabelul I), ceea ce exprimă riscul crescut al copiilor cu TBC primară la complicații diseminative. Numărul copiilor sub 4 ani (indicator de gravitate al endemiei) (2 cazuri -15,4%) (Tabelul III), este mai redus decât cel din studiu efectuat la Institutul de Pneumologie București, între 1996-1998, 58%.⁷

Între 1994-1999 în județul Mureș s-au înregistrat 4,8% meningite din totalul de 267 cazuri de TBC la copii (Tabelul IV). Un caz de meningită a prezentat infecție HIV/SIDA asociată.

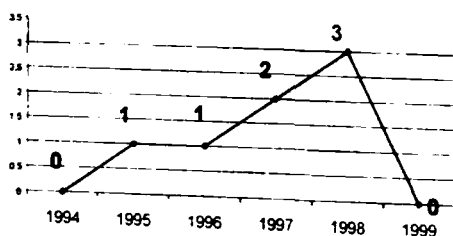


Figura 4. Evoluția TBC osteoarticulare la copii în intervalul 1994-1999

S-au înregistrat 8 cazuri - 61,5% la sexul masculin și 5 cazuri - 38,5% la sexul feminin, raport B/F -1,6 mai scăzut față de cel din TBC pulmonară -2,4, fapt explicat prin frecvența mai ridicată a TBC extrapulmonară la sexul feminin față de TBC pulmonară (date concordante cu cele din literatură).^{4,8}

Confirmarea bacteriologică din LCR a fost bună - 6 cazuri - 46,2% (meningita TBC = formă paucibacilară). Utilizarea și în județul Mureș a unor metode moderne bacteriologice: medii Bactec, PCR, sonde de ADN, ar permite o confirmare rapidă a etiologiei cu instituirea rapidă a tratamentului țintit.^{2,3}

S-au înregistrat 6 cazuri grave cu asocieri și complicații, ceea ce reclamă un efort sporit din partea personalului medical pentru depistarea în faze incipiente a TBC primare la copii (Tabelul V). Este necesară intensificarea educației sanitare a populației mai ales prin medicii de familie pentru prezentarea bolnavilor în serviciile medicale la primele simptome de boală pentru prevenirea apariției complicațiilor.

Tratamentul meningitei TBC a fost în toate cazurile antibiotic standard: 2 luni asociația Isoniazidă, Rifampicină, Pirazinamidă și Streptomycină și 4 luni Isoniazidă și Rifampicină, asociat cu: corticoterapie pentru prevenirea complicațiilor fibroase, neurotrofice, vitamine. Evoluția a fost favorabilă în toate cazurile. Nu s-au înregistrat decese.

TBC osteoarticulară -7 cazuri (+1 caz Morb Pott asociat cu meningită) se află pe locul secund în cadrul TBC extrapulmonară. TBC osteoarticulară crește inițial între 1995 și 1998 apoi scade la zero, în 1999 (Figura 3).

S-a înregistrat 1 caz la grupa de vârstă 1-4 ani, 6 cazuri - 85,7% la grupa 5-14 ani. Raportul B/F a fost de 1,3 mult scăzut față de cel din TBC pulmonară printr-un număr crescut de cazuri la sexul feminin.

Confirmarea cazurilor a fost bacteriologică (2 cazuri - 28,6%) sau histopatologică - 3 cazuri - 42,9%, în total 71,5%. În literatura de specialitate se citează: 20-25%⁸ și 52%⁶ confirmare bacteriologică. Utilizarea unor metode de finete de prelevare în toate cazurile (aspirat osos/biopsie) pentru examenul histopatologic și bacteriologic și metode moderne bacteriologice: metoda Bactec, cromatografia gaz-lichid, PCR, pentru produsele paucibaculare din TBC osteoarticulară ar permite ameliorarea confirmării etiologice.^{2,6,8,9,10} Acest deziderat este posibil printr-o colaborarea strânsă „în echipă” între specialitățile de medicină generală, pneumologie, radiologie, tomografie computerizată și ortopedie / chirurgie.

În restul cazurilor diagnosticul s-a stabilit prin coroborarea unor criterii de mare probabilitate pentru TBC: proveniență din focar (4 cazuri), asocierea cu alte localizări de TBC (5 cazuri), testul tuberculinic pozitiv (100%), aspectul clinico-radiologic al cazurilor.

Localizarea TBC osteoarticulare a fost preponderentă la nivelul articulației șoldului 4 cazuri - 57%, 2 cazuri la articulația genunchiului, 1 caz la metacarp și 1 caz (asociat cu meningită) de Morb Pott.

În literatura de specialitate se citează localizarea cea mai frecventă la nivelul coloanei vertebrale, urmată de articulația coxofemurală și de genunchi.^{5,6,9}

3 cazuri - 42,8% - au prezentat complicații severe: abcese osifluente 1 caz, distrugere osoasă importantă 1 caz, fractură patologică 2 cazuri.

Tratamentul a fost antibiotic standard (100% din cazuri) la care s-a adăugat tratament ortopedic 4 cazuri și chirurgical 2 cazuri. Evoluția a fost favorabilă cu vindecare la toate cazurile (dar cu sechele funcționale 3 cazuri) și nu s-au înregistrat decese.

S-au înregistrat 6 cazuri de TBC ganglionară periferică (2 cazuri la 1-4 ani iar restul la grupa 5-14 ani). A predominat sexul feminin (4 cazuri - 66,6%), raport B/F 0,5, inversat față de TBC pulmonară (date concordante cu cele din literatură).^{1,4,5,8}

Confirmarea etiologică s-a efectuat prin examen histopatologic (granuloame TBC specifice) din piesele de excizio-biopsie în toate cazurile. Diagnosticul histopatologic din biopsia chirurgicală ganglionară permite cu mare acuratețe diagnosticul diferențial cu limfoamele, alte boli de sistem sau determinări neoplazice.

Localizarea adenopatiei TBC a fost în toate cazurile laterocervicală (concordantă cu comunicările din literatură).^{5,8}

Tratamentul a fost antibiotic standard (100%), asociat cu excizia pachetelor de ganglioni patologici. Evoluția a fost favorabilă fără recidive.

CONCLUZII

Ponderea procentuală a TBC extrapulmonare la copii este mai mare față de adulți (diseminările limfohematogene sunt mai frecvente în TBC primară);

Grupa de vârstă 5-14 ani este cel mai frecvent afectată 89,5%. Afectarea sexului feminin în TBC extrarrespiratorie este mai importantă față de cea din TBC pleuropulmonară;

Pe parcursul intervalului de studiu, la copii, TBC pleurală este în creștere iar TBC meningeală, osteoarticulară și ganglionară sunt în ușoară scădere;

Confirmarea bacteriologică a meningitei TBC este ridicată - 46,2%;

Confirmarea TBC osteoarticulare a fost bacteriologică în 28,6% din cazuri și histopatologică în 42,9% din cazuri;

Complicațiile TBC osteoarticulare au fost frecvente și grave (42,8%). Efectuarea la toate cazurile suspecte, a biopsiei din focarul patologic osteoarticular (cu examen bacteriologic și histopatologic) ar permite stabilirea rapidă a diagnosticului, instituirea tratamentului și prevenirea complicațiilor;

TBC ganglionară a fost confirmată în proporție de 100% prin examen histopatologic din biopsia ganglionară;

La cazurile fără confirmare bacteriologică sau histopatologică, stabilirea diagnosticului s-a realizat prin coroborarea criteriilor de mare probabilitate pentru TBC: focar de TBC, debut lent cu impregnare bacilară, testul tuberculinic pozitiv, asocierea cu alte localizări ale TBC, proba terapeutică;

Tratamentul antibiotic standardizat al TBC extrapulmonare a permis o evoluție favorabilă sub tratament chiar la cazurile complicate.

BIBLIOGRAFIE

1. BLIDARU I, DIDILESCU C, PLOPEANU D - *Considerații de ordin clinic și epidemiologic asupra cazurilor cu TBC extrapulmonară înregistrate în sectorul IV al municipiului București în ultimii 10 ani (1989-1998)*, Pneumologia, 1999, 3:237.
2. CARBONELLE B, CARPENTIER E, CASTETS M - *Use of the Bactec TB 460 method for the bacteriological diagnosis of tuberculosis. Results of a multicenters study*, Pathologie Biologie, 1995,43:401-406.
3. CHRETIEN J, MARSAC J - *Tuberculose pulmonaire*, Abreges Pneumologie, Ed Mason Paris, ed III, 1990, 390-391
4. DIDILESCU C, MARICA C, JALBA M - *Evoluția TBC extrarrespiratorii în România*, Pneumofiziologia, 1995, 44:117-123.
5. JIMBOREAN G - *Tuberculoza extrapulmonară. Studiul micobacteriilor responsabile de îmbolnăvirile de tuberculoză și micobacterioze. Observații clinice și microbiologice*, Lucrare de doctorat, UMF Tg Mureș, 2000.
6. MARTINI M, LARBAOUI D, BOULAHBAL F - *Diagnostic de certitudine des tuberculoses osseuses et osteo-articulaires*, Ann Chir, 1975, 29:111-117.
7. MURGOCI R, MURGOCI GH, ANASTASATU O - *Aspecte epidemiologice ale meningitei tuberculoase la copil*, Pneumologia, 1999, 48:232.
8. MURRAY J, NADEL AJ - *Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases*, in Murray J, Nadel AJ (eds), Text book of Respiratory Medicine, Second edition, Ed WB Saunders Company, Philadelphia 1994, 1094-1161;
9. STOICESCU IP, DIDILESCU C - *Aspecte epidemiologice ale tuberculozei osteoarticulare*, Pneumologia, 1997, 46:245-251;
10. VACHEE A, SAVAGE C, BLANCKAERT F et al - *Diagnosis of osteoarticular tuberculosis by gen-probe amplified Mycobacterium tuberculosis direct test (AMTD)*, Clinical Mycobacteriology, Ed Prous Science, 1998, 165-171;

Studiu asupra efectului hemoreologic acut al fosinoprilului și valsartanului în arteriopatiile diabetice asociate cu hipertensiune arterială

Piroska Kelemen, Emese Bálint, Katalin Makó

Importanța diabetului zaharat constă în morbiditatea și mortalitatea cardiovasculară crescută, ce depășește semnificativ pe cea întâlnită la populația generală. Asocierea hipertensiunii la diabetul zaharat crește exponențial riscul cardiovascular. În diabetul zaharat există o hipervâscozitate sanguină, care împreună cu alți factori determină o stare protrombotică, de hipercoagulabilitate. Scopul acestei lucrări este studierea efectului hemoreologic acut al fosinoprilului și a valsartanului în arteriopatiile diabetice asociate cu hipertensiune arterială, urmărind modificarea vâscozității sanguine. Am inclus în studiu 2 loturi de câte 20 de bolnavi cu arteriopatie diabetică confirmată angiografic și cu hipertensiune asociată în std.II. Ca lot de control am ales 20 de bolnavi cu arteriopatie diabetică fără hipertensiune. Cele 3 loturi au fost asemănătoare între ele în privința repartiției pe sexe, pe grupe de vârstă, vechimea diabetului zaharat și stadiul arteriopatiei diabetice. Toți bolnavii au primit tratament hemoreologic (perfuzii cu Dextran 70 alternativ cu Pentoxifilin 200mg/zi), 14 zile. La primul lot, ca medicație antihipertensivă s-a administrat Fosinopril 20mg/zi, la al doilea Valsartan 80mg/zi, în monoterapie. S-a măsurat și s-a comparat vâscozitatea sanguină la cele 3 loturi înainte și după 14 zile de tratament. Fosinoprilul și valsartanul au scăzut semnificativ vâscozitatea sanguină după 14 zile de tratament ($p < 0,001$). Explicația acestor rezultate hemoreologice constă în efectul lor favorabil asupra disfuncției endoteliale, remodelării peretelui vascular și sistemului de hemostază-fibrinoliză. Cuvinte cheie: arteriopatie diabetică, vâscozitate sanguină, Fosinopril, Valsartan

The importance of diabetes mellitus derives from the fact that cardiovascular morbidity and mortality in diabetic population is significantly higher, than in non-diabetic population. The association of arterial hypertension to diabetes mellitus increases the cardiovascular risk. In diabetes mellitus there is an increased blood viscosity, which together with other factors determine a prothrombotic state, a hypercoagulability. In the present work we studied the acute hemorheological effect of Fosinopril and Valsartan in diabetic arteriopathy associated with arterial hypertension. We included 2 groups of 20 patients with diabetic arteriopathy confirmed angiographically and with associated hypertension. The control group consists of 20 patients with diabetic arteriopathy and without hypertension. The 3 groups were assembled almost identically concerning sex ratio, groups of age, the oldness of diabetes and the stage of diabetic arteriopathy. All of the patients received hemorheological treatment with Dextran 70 alternated with Pentoxifylline 200 mg/day, for 14 days. The 1st group received Fosinopril 20mg/day, the 2nd group Valsartan 80mg/day as antihypertensiv treatment, in monotherapy. We measured and compared the blood viscosity in all 3 groups before and after the treatment. Fosinopril and Valsartan have proved to be efficient on the existing hemorheological changes in the diabetic arteriopathy associated with hypertension, they decreased significantly the blood viscosity ($p < 0,001$). They have favourable effects on endothelial dysfunction, vascular remodelling and hemostatic-fibrinolytic status. Key words: diabetic arteriopathy, blood viscosity, Fosinopril, Valsartan

Diabetul zaharat este unul dintre cei mai importanți factori de risc cardiovasculari (studiul Framingham). 70-80% a bolnavilor diabetici decedază în complicații cardiovasculare.¹⁴

Se cunoaște frecvența mare a asocierii hipertensiunii arteriale (HTA) la diabetul zaharat. În

diabetul zaharat de tip 2, care reprezintă 85-90% a populației diabetice, la depistarea bolii deja 50%, peste 5-10 ani 80% au asociat HTA.²⁶ Asocierea HTA la diabetul zaharat crește exponențial riscul cardiovascular. Concluziile studiului UKPDS Blood Pressure ne arată că tratând eficient HTA, scade semnificativ morbiditatea și mortalitatea cardiovasculară, mai accentuat, decât prin controlul glicemiei. Echilibrarea metabolismului glucidic previne și scade semnificativ evoluția complicațiilor microangiopatie.²⁶

În diabetul zaharat există modificări hemoreologice determinate de mai mulți factori: disfuncția endotelială, hiperfibrinogenemie, fibrinoliză scăzută, agregare și aderare eritocitară și trombocitară crescută, de dislipidemia diabetică aterogenă și de hipervâscozitatea sanguină. Astfel apare o stare protrombotică, de hipercoagulabilitate, care are rol în aterogeneza accelerată caracteristică acestei boli.¹³

Din mulțimea medicamentelor antihipertensive inhibitorii enzimei de conversie a angiotensinei (IECA) și blocații receptorilor angiotensinei II (ARAI) scad progresia modificărilor micro-și macroangiopatice. Aceste efecte favorabile se datorează mecanismelor lor de acțiune.¹²

Scopul acestei lucrări este studierea și compararea efectelor hemoreologice acute a Fosinoprilului și Valsartanului în arteriopatiile diabetice asociate cu hipertensiune arterială (HTA), urmărind modificarea vâscozității sanguine.

MATERIAL ȘI METODĂ

Am efectuat un studiu prospectiv, comparativ, randomizat, simplu orb privind efectul fosinoprilului și valsartanului asupra vâscozității sanguine în tratamentul pacienților cu arteriopatii diabetice asociat cu HTA.

În studiu au fost incluse 2 grupe de câte 20 de bolnavi cu arteriopatie diabetică confirmată angiografic și cu HTA asociată, internați în Clinica Medicală II, pe perioada ianuarie 2000 - ianuarie 2002. Incluziunea s-a făcut pe baza acordului explicit al pacienților, după o informare detaliată asupra scopurilor și metodei studiului. Criteriile de includere au fost următoarele:

1. prezența diabetului zaharat de tip 2
2. vârstă între 51-69 ani
3. prezența arteriopatiei diabetice confirmată angiografic
4. prezența HTA esențială std. II.
5. absența unor contraindicații pentru tratamentul cu Fosinopril sau Valsartan (hipersensibilitate, sarcină, alăptare, stenoză bilaterală de a.renală, stenoză de a.renală pe rinichi unic, insuficiență renală, insuficiență hepatică, ciroză biliară, colestază)

Criteriile de excludere au fost următoarele:

1. IMA, AVC sau boli tromboembolice în ultimele 6 luni
2. insuficiență cardiacă std. III sau IV
3. alte stări cu hipervâscozitate – de ex. mielom multiplu
4. tratament anticoagulant cu cumarinice.

Ca lot de control am ales 20 de bolnavi cu arteriopatie diabetică confirmată angiografic, fără HTA.

Angiografiile au fost făcute la Laboratorul de Angiografie a Clinicii Medicale II prin metoda percutană transformorală selectivă.

Bolnavii au fost împărțiți în două loturi egale de

stadiul arteriopatiei diabetice.

Pentru diagnosticarea HTA la loturile 1 și 2 ne-am bazat pe anamneză, respectiv pe 3 măsurători separate ale TA cu valori sistolice peste 140 mmHg sau diastolice peste 90mmHg, fără tratament antihipertensiv. Stadializarea HTA s-a făcut pe baza examenului eco cardiac, ECG de repaus și a examenului fundului de ochi.

Pentru stadializarea arteriopatiei diabetice am folosit clasificarea Fontaine acceptat și de WHO.

Cele 3 loturi au primit tratament hemoreologic 14 zile, care a constat din perfuzii endovenoase cu dextran 70 alternativ cu pentoxifilin 200mg/zi. Pe lângă tratamentul hemoreologic primul lot (Lot 1) a beneficiat de tratament antihipertensiv cu fosinopril 20mg/zi, lotul al doilea (Lot 2) cu valsartan 80mg/zi, 14 zile. Tratamentul antihipertensiv s-a administrat în monoterapie, în priză unică, dimineața la orele 8,00. Eficiența tratamentului antihipertensiv administrat în monoterapie s-a controlat la a 10-a zi a internării cu monitorizare pe 24 de ore (ABPM tip BTL 08). În perioada premergătoare internării cu 4 săptămâni bolnavii n-au beneficiat de tratament hipolipemiant sau antihipertensiv din grupa medicamentelor inhibitorii enzimei de conversie sau antagoniștii receptorului angiotensinei II.

La lotul de control s-a administrat numai tratament hemoreologic timp de 14 zile.

S-au determinat și s-au comparat valorile vâscozității sanguine în prima zi și după 14 zile de tratament la cele 3 loturi.

Vâscozitatea sanguină a fost determinată cu vâscozimetrul „Preciss 344” prin metoda Hess Martinet. Valorile normale ale vâscozității sanguine determinate cu această metodă sunt între 32-35cP.

Obiectivul principal al studiului a fost urmărirea efectului hemoreologic acut al Fosinoprilului și Valsartanului asupra vâscozității sanguine pe lângă efectul antihipertensiv bine cunoscut. Ca obiective secundare s-a analizat toleranța preparatelor apreciat clinic.

Pentru prelucrarea statistică și compararea datelor s-a folosit testul lui Wilcoxon (Wilcoxon's rank sum tests), pentru date pare (the signed rank test) și pentru date impare (the two-sample test), considerând semnificativ $p < 0,05$.

REZULTATE

La loturile noastre 45% din pacienți au fost femei, între 54-69 ani (vârstă medie 61,5 ani), 55% au fost bărbați, între 51-64 ani (vârstă medie 57,5 ani) (Figura 1). Analizând caracteristicile pacienților incluși în studiu am remarcat estomparea diferenței între sexe caracteristice arteriopatiei nediabetice (arteriopatie cronică obliterantă aterosclerotică, trombangieită obliterantă) unde predomină afectarea sexului masculin

Pacienții noștri fac parte din grupa de vârstă cu cel mai mare risc cardiovascular (55-65 ani) în funcție de vârstă, corespunzător datelor din literatură (Figura 1).³

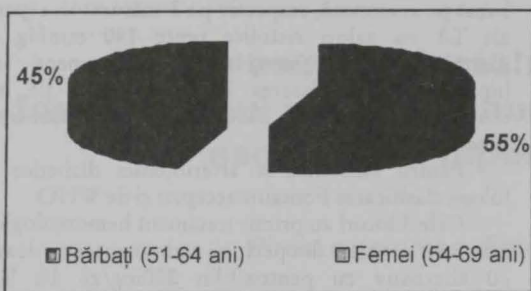


Figura 1. Repartiția bolnavilor pe sexe și grupe de vârstă (lot 1,2 și lot de control)

În funcție de vechimea bolii, 15% au fost cu diabet zaharat recent depistat, 15% cu vechime între 1-5 ani, 30% între 6-10 ani și 40% cu durată peste 10 ani (Figura 2). În literatura de specialitate la depistarea diabetului zaharat de tip 2 50% a pacienților suferă deja de complicații cardiovasculare.²²

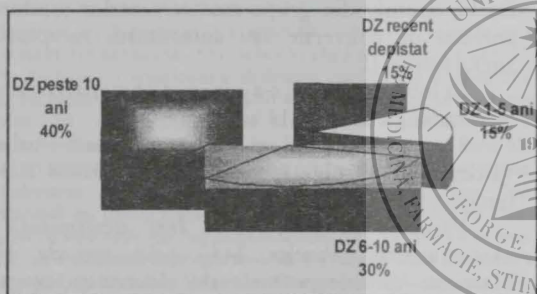


Figura 2. Repartiția bolnavilor în funcție de vechimea diabetului zaharat (lot 1,2 și lot de control)

În funcție de stadiul arteriopatiei diabetice, după stadializarea Fontaine, în toate cele 3 grupe 45% a pacienților au fost în stadiul II, 20% în stadiul III și 35% în stadiul IV (Figura 3).

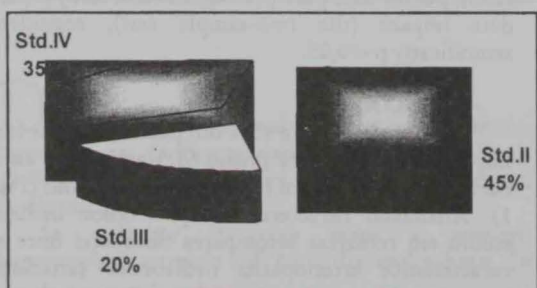


Figura 3. Repartiția bolnavilor în funcție de stadiul arteriopatiei diabetice (lot 1,2 și lot de control)

Valorile tensionale au prezentat scădere semnificativă la ambele loturi la 10 zile de tratament valorile erau sub 160/90 mmHg. Nu era între obiectivele principale scăderea TA sub 140/90 mmHg în aceste 10-14 zile.

Valorile vâscozităților sanguine inițiale măsurate la cele 3 loturi confirmă existența hipervâscozității sanguine în arteriopatia diabetică (valori între 36-46 cP în loturile 1, 2 și între 34-44 cP în lotul de control). De menționat că în grupa bolnavilor cu diabet zaharat fără HTA (de control) valorile sunt mai puțin ridicate față de loturile 1 și 2. Asocierea DZ cu HTA agravează modificările hemoreologice crescând și mai mult vâscozitatea sanguină.

Vâscozitatea sanguină prezintă o scădere semnificativă ($p < 0,001$) după 14 zile de tratament complex hemoreologic asociat cu fosinopril 20mg/zi (lot1) (Figura 4).

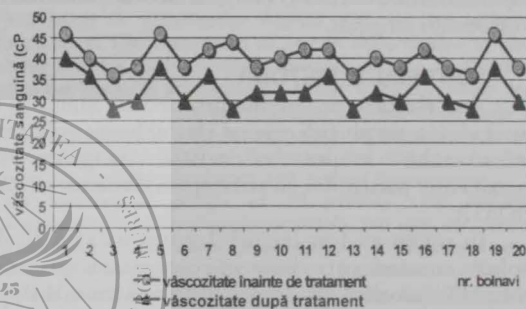


Figura 4. Scăderea vâscozității sanguine la lotul 1 sub tratament hemoreologic + Fosinopril n=20, $p < 0,001$

La lotul 2 după tratament hemoreologic asociat cu valsartan 80mg vâscozitatea sanguină prezintă scădere semnificativă ($p < 0,001$) (Figura 5).

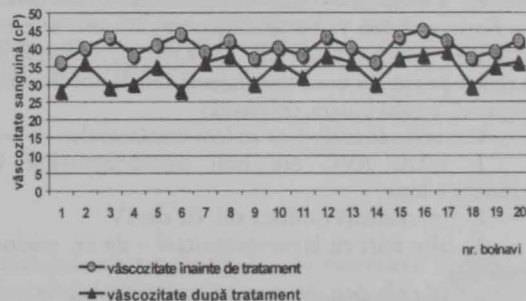


Figura 5. Scăderea vâscozității sanguine la lotul 2 sub tratament hemoreologic + Valsartan n=20, $p < 0,001$

Vâscozitatea sanguină prezintă scădere semnificativă și la lotul de control după 14 zile de tratament hemoreologic, dar în măsură mai mică ($p < 0,005$) (Figura 6).

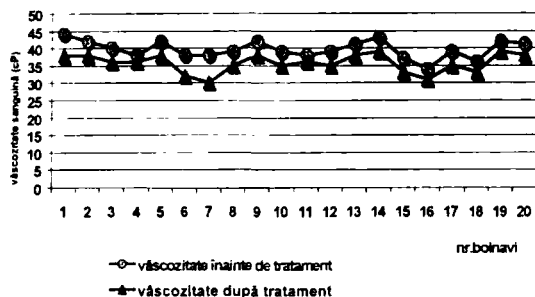


Figura 6. Scăderea vâscozității sanguine la lotul de control sub tratament hemoreologic n=20, p<0,005

Am comparat mărimea scăderii vâscozității sanguine între lotul 1 (tratament hemoreologic asociat cu fosinopril) și cel de control (tratament hemoreologic), respectiv lotul 2 (tratament hemoreologic asociat cu valsartan) și cel de control, cu testul lui Wilcoxon pentru date impare.

Diferența în scăderea vâscozității sanguine între loturile 1 – cel de control ($p_1 < 0,001$) și loturile 2 – cel de control ($p_2 < 0,001$) este semnificativă.

Aceste date ne sugerează faptul că atât fosinoprilul, cât și valsartanul au efecte hemoreologice acute, ele scad vâscozitatea sanguină în mod semnificativ după 14 zile de tratament. Aceste efecte se adaugă la efectul hemoreologic al perfuziilor cu Dextran - Pentoxifilin.

Diferența în scăderea vâscozității sanguine între loturile 1 și 2 a fost ne semnificativă ($p < 0,1$). După aceste rezultate putem trage concluzia că nu există diferențe semnificative între efectele hemoreologice acute a fosinoprilului și a valsartanului în ce privește efectul lor asupra vâscozității sanguine.

Toleranța fosinoprilului și a valsartanului a fost foarte bună, fără să fie necesar întreruperea tratamentului.

DISCUȚII

Angiotensina II este una din substanțele cele mai intense vasoconstrictoare ale organismului, are activitate proliferativă și mitogenă accentuată, activează sistemul de enzimă oxidază vasculară din peretele vascular, accentuând astfel sinteza radicalilor liberi, scăzând sinteza de NO și crescând sinteza de endotelină.^{9,23,29}

Toate acestea determină disfuncție endotelială, primul lanț patogenetic al aterogenezei.

Recent s-a descris relația între sistemul renin-angiotensină și cel fibrinolitic: creșterea nivelului angiotensinei II crește expresia inhibitorului activatorului plasminogenului 1 (PAI-1) la nivelul celulei endoteliale. Creșterea nivelului PAI-1, fiind inhibitor endogen al fibrinolizei, determină o stare protrombotică și agravează disfuncția endotelială. La această stare contribuie și scăderea sintezei activatorului plasminogenului tisular (tPA), ca o

consecință a degradării bradikininei. Astfel, efectul enzimei de conversie este trombogen.^{27,28} Nivelul plasmatic crescut al markerilor fibrinolizei, ca PAI-1 și antigenul activatorului plasminogenului de tip tisular (atg tPA) identifică pacienții cu risc crescut.⁷

În diabetul zaharat apare o stare protrombotică, de hipercoagulabilitate, determinată de mai mulți factori: disfuncția endotelială (prin scăderea sintezei NO și creșterea sintezei endotelinei), hiperfibrinogenemie, agregare-aderare trombocitară crescută, care determină o tromboză accentuată, la care se asociază o fibrinoliză scăzută din cauza creșterii PAI-1 și scăderii tPA. La pacienții cu diabet zaharat nivelul plasmatic al PAI-1 este crescut față de cei nediabetici.¹⁷ PAI-1 este crescut și la pacienții hipertensivi, posibil din cauza disfuncției endoteliale sau a forței de forfecare crescute.¹⁵ Starea protrombotică, fibrinoliza scăzută cresc riscul evenimentelor cardiovasculare, atero-trombotice la bolnavii cu diabet zaharat și HTA asociat.¹⁶

Echilibrarea metabolismului glucidic în sine, dintre antidiabeticele orale metformina și pioglitazona scad nivelul PAI-1 și astfel riscul cardiovascular.¹²

IECA, ARAII și antagoniștii canalelor de Ca pot afecta fibrinoliza, pentru că atât angiotensina II, cât și Ca intracelular influențează sinteza de PAI-1.

Datele clinice despre efectele IECA asupra fibrinolizei sunt limitate. Studiul "Fosinopril versus Amlodipine Comparative Treatments Study"¹⁶ urmărește comparativ efectele fosinoprilului și a amlodipinei asupra PAI-1, angiotensinei II, atg tPA, fibrinogenului, proteinei C reactive, interleukinei 6 și a TA la pacienții cu diabet zaharat de tip 2 asociat cu HTA. Tratamentul cu fosinopril 20-40mg/zi administrat 4 săptămâni scade semnificativ nivelul PAI-1, în mod dependent de doză și independent de efectul antihipertensiv al medicamentului. Efectul asupra celorlalți parametri urmăriti a fost ne semnificativ.¹⁶

Mecanismul de acțiune a IECA este inhibarea enzimei de conversie a angiotensinei cu următoarele consecințe:

1. scăderea nivelului angiotensinei II
2. creșterea nivelului bradikininei
3. creșterea sintezei NO, a prostaglandinei și EDHF (factorul endotelial de hiperpolarizare), scăderea concentrației endotelinei
4. prin scăderea nivelului PAI-1 se ameliorează activitatea fibrinolitică alterată

În studiul „Effects of Four Angiotensin II-Receptor Antagonists on Fibrinolysis in Postmenopausal Women with Hypertension” s-a urmărit efectul a 4 reprezentanți ai acestei grupe antihipertensive asupra nivelului PAI-1.⁶ Rezultatul studiului a fost o scădere ne semnificativă a nivelului plasmatic al PAI-1 de valsartan și de losartan, o creștere ne semnificativă de către irbesartan și semnificativă de către candesartan față de placebo, după o administrare de 12 săptămâni. Datele din literatura de specialitate nu sunt concludente în privința efectelor antagoniștilor receptorilor angiotensinei II asupra

fibrinolizei, unele studii arată scăderea nivelului PAI-1^{4,10}, altele arată neinfluențarea ei.²⁵

Mecanismul de acțiune a ARAII diferă de cel al IECA, printre altele prin faptul că prima grupă de antihipertensive nu inhibă degradarea bradikininei. ARAII blochează selectiv receptorii AT1 și permit efectele benefice ale angiotensinei la nivelul receptorului AT2 (vasodilatator, antiproliferativ, activarea sintezei NO, creșterea fluxului coronarian, a oxigenării miocardului și protecția miocardului în timpul evenimentelor ischemice).²⁹

Valsartanul are efect favorabil asupra disfuncției endoteliale, previne proliferarea neointimală, inhibă oxidarea LDL-lipoproteinei, reduce eliberarea radicalilor liberi, astfel prevenind procesul de ateroscleroză.^{8,18} Schieffer și colaboratorii au demonstrat efectul antiinflamator al valsartanului pe placă coronariană umană obținută prin endarterectomie.²¹ Din studii reies următoarele efecte favorabile ale acestei reprezentante a grupeii ARAII: în prevenirea restenozării stentului efectuată pentru leziuni coronariene complexe, mai pronunțat la pacienți cu diabet zaharat; asupra proliferării neointimale după implantare de stent¹⁹; reduce semnificativ microalbuminuria ($p < 0,001$) în nefropatia diabetică incipientă (MARVAL Study). Importanța acestei ultime afirmații constă în următorul fapt: microalbuminuria se consideră markerul disfuncției endoteliale sistemice și este un factor predictiv pentru morbiditatea și mortalitatea cardiovasculară (MARVAL Study).

IECA și ARAII au următoarele efecte hemoreologice:

1. ameliorează disfuncția endotelială prin stimularea sintezei NO și scăderea sintezei endotelinei
2. scad microalbuminuria – marker ai disfuncției endoteliale sistemice
3. au efect antiagregant plachetar
4. inhibă proliferarea celulară, migrarea și funcția macrofagelor
5. au efect antioxidant, antiinflamator
6. potențează efectul antitrombotic al endotelului
7. ameliorează activitatea fibrinolitica endogenă alterată din diabetul zaharat prin inhibarea activității PAI-1, în cazul Fosinoprilului și prin creșterea secreției tPA (prin bradikinină)
8. scad fibrinogenemia
9. scad nivelul factorului von Willebrand și a trombomodulinei – markeri ai disfuncției endoteliale
10. ameliorează remodelingul vascular și cardiac, accentuează compliance-ul arterial
11. au efect neutru sau favorabil asupra profilului lipidic.

Aceste efecte multiple explică rezultatele hemoreologice favorabile ale fosinoprilului și valsartanului chiar după 14 zile de tratament. Scăderea vâscozității sanguine sub tratament hemoreologic asociat cu fosinopril sau valsartan, respectiv diferența între scăderea vâscozității sanguine sub tratament

hemoreologic asociat cu fosinopril sau valsartan și tratamentul hemoreologic este semnificativă.

Tratamentul hemoreologic cu Dextran și Pentoxifilin scade semnificativ vâscozitatea sanguină la lotul de control, dar într-o măsură mai mică decât tratamentul complex. Aceste efecte se datorează:

1. creșterii volumului circulant și a presiunii de perfuzie
2. scăderii vâscozității sanguine
3. inhibării agregabilității eritrocitelor-efect antisludge
4. creșterii flexibilității eritrocitare
5. formării unui strat molecular protector pe suprafața endotelului și a trombocitelor – efect antitrombotic
6. scăderii concentrației lipoproteinelor serice – efect hipolipemic

Aceste efecte multiple ameliorează hemodinamica și hemoreologia membrului ischemic, ajută formarea circulației colaterale, ameliorează circulația distal de ocluzie și crește rezerva arterială.¹

Tratamentul complex hemoreologic+anti-hipertensiv cu fosinopril sau valsartan au efecte net favorabile asupra tulburărilor hemoreologice existente în angiopatiile diabetice asociate cu HTA.

Activitatea sistemului renină-angiotensină-aldosteron se consideră factor de risc cardiovascular. În tratamentul bolnavilor diabetici inhibarea activității acestui sistem determină scăderea mortalității și morbidității cardiovasculare.^{11,20,24}

CONCLUZII

1. Tratamentul hemoreologic asociat cu fosinopril respectiv cu valsartan scade semnificativ vâscozitatea sanguină după 14 zile de tratament ($p < 0,001$), pe lângă efect antihipertensiv eficient.
2. Tratamentul hemoreologic în sine scade semnificativ vâscozitatea sanguină la lotul de control, dar într-o măsură mai mică ($p < 0,005$).
3. Fosinoprilul și Valsartanul au efecte favorabile asupra modificărilor hemoreologice existente în arteriopatia diabetică asociată cu HTA. Explicația constă în efectul lor asupra disfuncției endoteliale, remodelării peretelui vascular și sistemului de hemostază-fibrinoliză.
4. IECA și ARAII sunt antihipertensive de elecție în DZ de tip 2 asociat cu HTA.
5. În caz de diabet zaharat cu complicații vasculare se indică tratament medicamentos cu IECA sau ARAII, chiar dacă nu se asociază HTA.

BIBLIOGRAFIE

1. BRASSAI Z, BRASSAI A, PUSKÁS A et al – *Hemorheologic treatment in chronic occlusive arterial disease of the lower limbs*, Romanian Journal of Angiology and Vascular Surgery, 2000, 1:14-16
2. BROWN NJ, AGIRBASLI M, VAUGHAN DE – *Comparative effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II type 1 receptor antagonism on plasma fibrinolytic balance in humans*, Hypertension, 1999, 34:285-290

3. CONOLLY VM, KESSON CM – *Socio-economic status and clustering of cardiovascular disease risk factors in diabetic patients*, Diabetes Care, 1996, 19:419-422
4. ERDEM Y, USALAN C, HAZNEDAROGLU IC et al – *Effects of angiotensin converting enzyme and angiotensin II receptor inhibition on impaired fibrinolysis in systemic hypertension*, Am J Hypertens, 1999, 11:1071-1076
5. FOGARI R, MUGELLINI A, ZOPPI A et al – *Effect of Losartan and perindopril on plasma PAI-1 and fibrinogen in hypertensive type II diabetic patients*, J Hypertens, 1999, 17:558
6. FOGARI R, ZOPPI A, GIANDOMENICO M et al – *Effects of four Angiotensin II Receptor Antagonists on Fibrinolysis in Postmenopausal Women with Hypertension*, Current Therapeutical Research, 2001, 1:68-77
7. FOLSOM AR, WU KK, ROSAMOND WD et al – *Prospective study and incidence of haemostatic factors of coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study*, Circulation, 1997, 96:1102-1108
8. FRIEDEMANN G, EMMERICH M, DALFERTH P et al – *Proatherogene Effekte von Angiotensin II werden durch AT1-Rezeptorenvermittelt (Abstr)*, Perfusion, 1999, 2:104
9. GERÓ L – *Angiotenzin – convertáló enzim (ACE) – gátlók terápiai hatásai diabetes mellitusban*, Medicus Universalis, 2002, XXXV. évfolyam:81-84
10. GOODFIELD NE, NEWBY DE, LUDLAM CA et al – *Effects of acute angiotensin II type I receptor antagonism and angiotensin converting enzyme inhibition on plasma fibrinolytic parameters in patients with heart failure*, Circulation, 1999, 99:2983-2985
11. HANNSON et al – *Effect of angiotensin converting inhibition compared with conventional therapy on cardiovascular morbidity and mortality in hypertension: the Captopril Prevention Project*, Lancet, 1995, 345:611-616
12. HANNSON et al – *Effects of intensive blood pressure lowering and low-dose aspirin in patients with hypertension: principal results of the Hypertension Optimal Treatment (HOT) randomized trial*, HOT Study Group, Lancet, 1998, 351:1755-1762
13. KÁLI A – *Diabetes és atherosclerosis*, Tényeken Alapuló Orvoslás, 2002, 1A:13-15
14. KING H, AUBERT RE, HERMAN WH – *Global burden of diabetes 1995-2025*, Diabetes Care, 1998, 21:1414-1431
15. MARRIS TK, TSONKALA C, KRESPI P et al – *Haemostasis balance disorders in patients with essential hypertension*, Throm Res, 1997, 88:99-107
16. MARCO P, LONNEKE VF, STEVEN RD et al – *Fosinopril Versus Amlodipine Comparative Treatments Study, A randomized trial to assess effects on plasminogen activator inhibitor – 1*, Circulation, 2002, 105:457-461
17. MORISHIOS E, ASAKURS H, JOKAJI H et al – *Hypercoagulability and high lipoprotein (a) levels in patients with type II diabetes mellitus*, Atherosclerosis, 1996, 120:7-14
18. MUECK A, SEEGER H, LIPPERT TH – *Effect of Valsartan on the in vitro oxidation of low density lipoprotein*, Proceedings of the 11th International Symposium on Atherosclerosis, Paris, 1997 (Abstr)
19. PETERS S, GÖTTING B, TRUMMEL M et al – *Valsartan for prevention of restenosis after stenting of type B2/C lesions: the Val-PREST Trial*, The Journal of Invasive Cardiology, 2001, 2:93-97
20. Results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy – *Effects of ramipril on cardiovascular and microvascular outcomes in people with diabetes mellitus*, Lancet, 2000, 355:253-259
21. SCHIEFFER B, HILFIKER-KLEINER D, DREXLER H – *Angiotensin II aktiviert die JAK/STAT Kaskade über einen NAD(P)H Oxidase abhängigen Mechanismus (Abstr)*, Z Kardiol, 1999, 88:284
22. SPANHEIMER ROBERT G – *Reducing cardiovascular risk in diabetes*, Postgraduate Medicine, 2001, 4:33-43
23. TAKAHASHI K, GHATEI MA, LAM LC et al – *Elevated plasma endothelin in patients with diabetes mellitus*, Diabetologia, 1990, 33:306-310
24. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators – *Effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor, ramipril, on death from cardiovascular causes, myocardial infarction and stroke in high-risk patients*, N Engl J Med, 2000, 342:145-152
25. TURNER RC et al – *Risk factors for coronary artery disease in noninsulin dependent diabetes*, BMJ, 1998, 316:823-826
26. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group – *Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes (UKPDS 38)*, Brit Med J, 1998, 317:703-713
27. VAUGHAN DE – *Fibrinolytic balance, the renin-angiotensin system and atherosclerotic disease*, Eur Heart J, 1998, 19:9-12
28. VAUGHAN DE – *The Renin-Angiotensin system and fibrinolysis*, Am J Cardiol, 1997, 79:9-11
29. VÍZI E Sz – *Humán farmakológia*, Medicina könyvkiadó Rt, Budapest, 2002, 503-515, 524-529
28. ZIMMET P, SERJENTSON S – *The epidemiology of diabetes mellitus and its relationship with cardiovascular disease, in new aspect of diabetes*, Lefebvre PJ, Standl E, eds De Gruyter, Berlin, 1992, 5-22

Rezultatele tratamentului laparoscopic în sterilitatea prin anovulație în sindromul de ovare polichistice

L. Pușcașiu

Literatura medicală din ultimii ani consacră un număr impresionant de articole tratamentului laparoscopic în sindromul de ovare polichistice generator de sterilitate prin anovulație.

Obiectivul articolului nostru este acela de a evalua rezultatele reproductive a 30 de paciente cu anovulație prin sindrom de ovare polichistice care nu au răspuns favorabil la tratamentul de primă intenție cu citrat de clomifen la care am practicat forarea capsulei ovariene pe cale laparoscopică. Rata cumulativă a sarcinilor la 12 luni a fost de 42%. La pacientele care au obținut sarcini am înregistrat o diferență statistic semnificativă în privința vârstei mai reduse, a duratei mai reduse a sterilității și a metodei de tratament utilizate (curent monopolar comparativ cu curentul bipolar).

Cuvinte cheie: sindrom de ovare polichistice, infertilitate, laparoscopie

In the latest years laparoscopic ovarian cautery has been described as a method of ovulation induction in women with polycystic ovarian disease.

The objective of our study is to describe and analyse the factors affecting the pregnancy rate of laparoscopic ovarian drilling for polycystic ovarian syndrome in 30 women with anovulatory infertility.

The cumulative pregnancy rate 12 months after the treatment was 42%. Women who conceived following surgery had a shorter duration of infertility, were younger and were treated with monopolar cautery rather than bipolar.

Key-words: polycystic ovarian disease, infertility, laparoscopy

Sindromul de ovare polichistice (SOP) continuă să se prezinte ca o entitate nosologică încă incomplet înțeleasă care apare frecvent în practica ginecologică, în diferite grade de severitate.

Cum cel mai frecvent aceste paciente se prezintă pentru sterilitate cauzată de anovulație cronică, eforturile terapeutice s-au axat pe deblocarea intrinsecă a ovulației și astfel reluarea fertilității.^{39,40}

Descris inițial în primii ani ai secolului XX, sindromul era considerat netratabil pînă în anii '30 când în SUA se introduce rezecția cuneiformă de ovar.^{41,44}

Urmează apoi epoca în care au devenit de uz curent inductorii de ovulație, în paralel cu îngrijorarea cauzată de posibilitatea apariției de aderențe post-operatorii după rezecția parțială de ovar, aderențe care ar putea împiedica asupra fertilității.⁸

În ultimii ani, odată cu dezvoltarea tehnicilor laparoscopice tratamentul chirurgical al SOP a revenit în actualitate prin rezultatele obținute în apariția ovulației și restaurarea fertilității.¹²

Promotorii abordului laparoscopic au argumentat prin probabilitatea mai scăzută de apariție a aderențelor după laparoscopie comparativ cu laparotomie.^{23,24}

Urmarea a fost o renaștere a interesului pentru tratamentul chirurgical al sindromului de ovare polichistice, interes augmentat și de rata minimă a morbidității postoperatorii, specifică procedurilor laparoscopice.^{21, 22, 23, 24, 24}

S-a mai argumentat că laparoscopia reprezintă oricum timpul ultim al investigației complete a sterilității considerîndu-se că acesta reprezintă și momentul optim de intervenție în cazul SOP.^{14, 15, 18, 26, 30, 36}

În plus, nu ar mai fi necesară monitorizarea biochimică și/sau ecografică ciclică ca în cazul inductorilor de ovulație deoarece tratamentul

chirurgical laparoscopic ar induce, în principiu, mai multe cicluri ovulatorii.^{9, 13, 16, 17, 20, 27, 34, 45, 50}

De asemenea, riscul sarcinilor multiple sau al sindromului de suprastimulare ovariană nu a fost observat după acest tratament, unele studii raportând chiar și rate mai reduse ale avortului spontan comparativ cu cele înregistrate în urma administrării de inductori ai ovulației.^{1, 2, 3}

Nu în ultimul rând, există și un argument de natură financiară care ia în considerare costul ridicat al terapiei cu gonadotrofine, cost nesuportat de sistemul asigurărilor de sănătate; se ajunge astfel la situația în care o pacientă care nu a răspuns favorabil la terapia cu citrat de clomifen să nu mai aibă alte alternative terapeutice.^{48, 49}

Se consideră că în prezent 15-25% din pacientele cu anovulație se dovedesc rezistente la terapia cu citrat de clomifen. Aceste paciente vor trebui supuse costisitorului tratament cu gonadotrofine.

Ca urmare a acestei situații s-a ajuns la o reconsiderare a tratamentului chirurgical în sindromul de ovare polichistice, numeroase studii raportând o formă abstractizată a clasicei rezecții cuneiforme de ovar și anume tratamentul laparoscopic prin drilling mono- sau bipolar al suprafeței ovarului.^{4, 5, 6, 7, 35, 52}

Studiul nostru este un studiu retrospectiv care are ca obiectiv evaluarea rezultatelor reproductive și a factorilor care le influențează după tratamentul laparoscopic al unei serii consecutive de 30 de paciente cu sindrom de ovare polichistice care nu au răspuns favorabil la tratamentul cu clomifen citrat, internate în perioada 1 Iulie 1998-1 Octombrie 2001 în Clinica Obstetrică-Ginecologie Nr 1 Târgu-Mureș.

MATERIAL ȘI METODĂ

Pacientele

În acest studiu am evaluat o serie de 30 cazuri consecutive de paciente cu anovulație prin SOP internate în Clinica Obstetrică-Ginecologie Nr.I din Târgu-Mureș în perioada 1 Decembrie 1997 - 1 Octombrie 2001 la care am practicat "drilling" ovarian pe cale laparoscopică.

Datele au fost extrase din foile de observație clinică, registrele operatorii și din contactele ulterioare cu aceste paciente în ambulator și au fost introduse într-un fișier Microsoft Excel, varianta pentru Windows 97 de unde au fost apoi analizate.

Toate aceste paciente au fost anterior tratate cu clomifen citrat (Clomid, Clostilbegyt) în doze de 50-200mg/zi, 5 zile, pe parcursul a minimum 6 cicluri menstruale, fără apariția sarcinii.

Pacientele la care s-au identificat alte cauze posibile de sterilitate (inclusiv ale partenerului) nu au fost incluse în studiu.

Spermograma a fost considerată normală dacă concentrația spermatozoidilor este mai mare de 20 de milioane/ml, motilitatea grad A egală sau peste 25% iar motilitatea A+B peste 50%, cu o morfologie în care peste 30% din celule au forma capului normală. La

acestea se adaugă un volum seminal mai mare sau egal cu 2,0 ml, pH-ul între 7,2-7,8 cu mai puțin de 1 milion de leucocite/ml și sub 1000 de bacterii/ml.⁴¹

Preoperator, la aceste paciente s-a efectuat dozarea sangvină a LH și a FSH - în ziua a V-a de la debutul menstruației spontane sau induse cu progesteron calculându-se raportul LH:FSH, respectiv dozarea progesteronului seric în ziua a XXI-a, precum și ecografie transvaginală cu o sondă de 7,5 Mhz.

Diagnosticul de SOP s-a pus pe baza următoarelor criterii:

1. Raportul LH: FSH determinat în faza foliculară inițială a ciclului menstrual (între zilele 2 și 5) mai mare decât 2 sau aspectul particular obținut la ecografia endovaginală (hipertrofie stromală și numeroși foliculi mici de 6-8 mm plasați periferic).⁴⁷

2. În timpul laparoscopiei diagnostice ambele ovare apar mărite de volum, cu capsula îngroșată, albă și netedă (ovarele de porțelan, descrise clasic)

Pacientele au fost programate pentru intervenția chirurgicală începând cu ziua a VI-a postmenstrual, fiind internate cu o zi înainte de intervenție, respectiv externate în medie la 2,4 zile postoperator.

Nu am înregistrat complicații operatorii imediate sau tardive, nu am instituit tratament antibiotic suplimentar și nu s-a înregistrat nici o conversie la laparotomie.

Tehnica operatorie

Tehnica operatorie în cazul abordului laparoscopic pentru SOP ține cont de principiile laparoscopiei operatorii, astfel: pacienta este în anestezie generală cu intubație oro-traheală, acoperită cu câmpurile sterile, după ce în prealabil s-au montat electrodul de dispersie pentru curentul monopolar, respectiv manipulatorul uterin.

La inducerea anesteziei pacientele au primit profilaxie antibiotică perioperatorie cu 1 flacon Cefobid i.v.

Se efectuează incizia intraombilicală clasică apoi se induce pneumoperitoneul prin acul Veress pînă la 15 mm Hg de CO₂.

Se introduce trocarul de 10mm și sistemul optic conectat la camera de luat vederi și la terminalul TV.

Se introduc apoi sub control optic trocarele auxiliare de 5mm, câte 2 lateral în punctele clasice.

După inspecția inițială a cavității peritoneale pacienta se plasează în poziție Trendelenburg pentru un abord optim al pelvisului și îndepărtarea anselor intestinale după care s-a continuat procedura cu laparoscopia diagnostică cu cromotubație excluzând leziunile tubo-peritoneale sau endometriotice generatoare de sterilitate.

Apoi, cu ajutorul unei pense introduse prin unul din trocarele de 5 mm se prinde ligamentul utero-ovarian realizând fixarea ovarului și se efectuează "forarea" capsulei cu ajutorul curentului bipolar de 45 W transmis prin pensa bipolară fină aplicată pe suprafața ovarului cu fâlcile minim deschise astfel încât curentul să treacă printre ele producând mici crater de suprafața

ovarului sau cu ajutorul curentului monopolar de 30 W aplicat prin acul Corson.³¹

Acesta este un ac care se introduce prin trocarul auxiliar de 5mm și care este izolat pe toată lungimea lui mai puțin ultimii 5 mm distali. Izolarea aceasta electrică împiedică dispersia periferică a curentului monopolar, reducând riscul lezării accidentale a organelor adiacente, în special ansele intestinale.

Curentul se aplică pe o durată de 2-4 secunde, efectuându-se cratere cu diametrul de 4 mm și o adâncime de 3-4 mm.

În funcție de mărimea ovarului se practică 6-12 astfel de cratere, cu respectarea zonei hilului.

Abordul laparoscopic s-a făcut de așa manieră încât instrumentele să vină în contact cu capsula ovariană pe cât posibil perpendicular.

Procedura se repetă apoi de partea controlaterală identic.

Urmează apoi un lavaj abundent al zonelor forate, pentru fiecare ovar în parte, lavaj care se face cu 1-2 litri de soluție Ringer lactat.

La sfârșitul operației după inspecția finală a cavității peritoneale se lasă 500 ml soluție Ringer în cavitatea peritoneală în speranța reducerii formării aderențelor.^{11, 19, 25, 29, 37}

Analiza statistică a rezultatelor

Rezultatele reproductive au fost analizate utilizând metoda tabelor de supraviețuire iar analiza impactului diverșilor factori asupra acestor rezultate s-a făcut prin metoda Kaplan-Meier considerând semnificativ $p < 0,05$.

Rezultatele au fost exprimate prin rata cumulativă a sarcinilor.^{10, 44, 53}

REZULTATE

Lotul nostru a fost alcătuit din 30 de paciente (reprezentând 14,7% din totalul pacientelor sterile internate în această perioadă în clinica noastră) din care 24 cu sterilitate primară și 6 cu sterilitate secundară.

Punctul de start al urmăririi a fost considerat ziua operației iar punctul final prima zi a ultimei menstruații care a precedat instalarea unei sarcini intrauterine.

Pentru pacientele care nu au obținut o sarcină durată maximă a urmăririi a fost de 36 de luni, respectiv cea minimă de 6 luni, de la data operației.

Durata medie a urmăririi pentru întreg lotul a fost de 12 luni.

Vârsta medie a pacientelor a fost de 29,7 cu extremele între 23 și 39 de ani și deviația standard de 4,13 ani.

Durata medie a sterilității 5,7 ani cu extremele între 3 și 12 ani, deviația standard 2,24 ani.

Pentru fiecare pacientă s-a calculat indicele masei corporale, rezultat prin împărțirea greutateii (în Kg) la pătratul înălțimii (în metri); valoarea medie a fost 26,30 și deviația standard 3,13 cu extremele între 20,08 și 31,22 kg/m²

Din totalul celor 30 de paciente, în 16 cazuri raportul LH: FSH a fost mai mare decât 2.

Din totalul celor 30 de paciente tratamentul s-a făcut utilizând curentul monopolar în 19 cazuri, respectiv curentul bipolar în 11 cazuri.

Rata cumulativă a sarcinilor la 6 și 12 luni a fost respectiv de 20%, respectiv 42% (Figura 1).

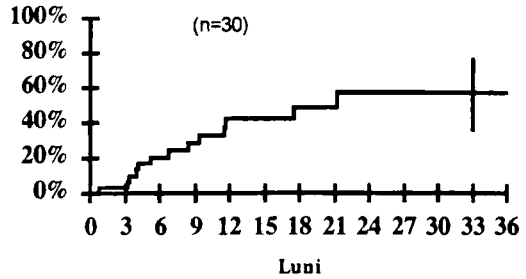


Figura 1. Rata cumulativă a sarcinilor după tratamentul laparoscopic al sindromului de ovare polichistice

Toate sarcinile obținute au fost intrauterine, cu o rată generală a avortului spontan de 15,3% (2 cazuri din totalul celor 13 sarcini obținute)

La pacientele care au obținut sarcină intervalul mediu operație - concepție a fost de 7 luni.

Am analizat în continuare impactul mai multor factori asupra rezultatelor reproductive astfel: vârsta, tipul sterilității (primară sau secundară), durata sterilității, indicele masei corporale, raportul LH: FSH și tehnica utilizată (curent mono sau bipolar).³²

DISCUȚII

Efectul vârstei asupra rezultatelor reproductive În lotul nostru vârsta medie a pacientelor a fost de 29,7 cu extremele între 23 și 39 de ani și deviația standard de 4,13 ani.

Noi am analizat efectul vârstei pacientelor asupra ratei cumulative a sarcinilor, divizând lotul nostru în două grupe: cele cu vârsta sub 30 de ani respectiv cele cu vârsta peste 30 de ani.

Comparând efectul vârstei asupra ratei cumulative a sarcinilor am remarcat că în lotul pacientelor mai tinere, sub 30 de ani rata cumulativă a sarcinilor este semnificativ superioară ratei din grupul cu vârsta peste 30 de ani ($p < 0,01$).

Astfel rata cumulativă a sarcinilor la 12 luni este în primul grup de 70% iar în cel de-al doilea 15%.

Efectul tipului și duratei sterilității

Din analiza datelor noastre a rezultat că pacientele care anterior operației au mai fost însărcinate au rezultate reproductive superioare celor cu sterilitate primară, diferența în rata cumulativă a sarcinilor fiind semnificativă ($p=0,03$).

În privința duratei sterilității care pe lotul nostru a fost în medie 5,7 ani cu extremele între 3 și 12 ani, deviația standard 2,24 ani, împărțirea în două grupe respectiv cu o durată a sterilității peste 6 ani și cealaltă grupă cu o durată a sterilității peste 6 ani rezultatele au

indicat o rată cumulativă a sarcinilor superioară în grupul cu durată mai redusă a sterilității ($p < 0,05$).

Efectul indicelui masei corporale

Indicele masei corporale la pacientele urmărite de noi a avut valoarea medie de 26,30kg/m² și deviația standard 3,13 cu extremele între 20,08 și 31,22 kg/m² și nu a avut influență semnificativă asupra ratei succesului în studiul nostru, valoarea acestuia fiind similară la pacientele care au obținut sarcini și la cele care nu au rămas însărcinate ($p = 0,11$).

Putem astfel afirma că obezitatea care este destul de frecvent întâlnită la pacientele cu sindrom de ovare polichistice nu reprezintă o contraindicație a tratamentului prin abord laparoscopic dar că sunt necesare unele precauțiuni în privința riscurilor anestezice precum și la inducerea pneumoperitoneului care uneori poate fi dificilă.

Efectul tehnicii folosite asupra ratei succesului

În lotul studiat de noi rata cumulativă a sarcinilor după drilling cu curent monopolar a fost mai mare decât în cazurile la care am utilizat curentul bipolar, cu o diferență semnificativă, $p < 0,05$.

O explicație a acestui fapt poate fi găsită în aceea că curentul monopolar generează o afectare termică a țesutului ovarian mai mare decât cel bipolar sau datorită faptului că acest curent monopolar se scurge spre placa de împământare trecând selectiv prin acele zone ale țesutului ovarian care generează cea mai scăzută rezistență la trecerea curentului electric spre deosebire de curentul bipolar care trece exclusiv între cele două falci ale pensei.

O altă posibilă explicație ar fi că instrumentele conectate la curentul monopolar generează leziunea termică mai în profunzimea masei ovariene, generând o mai redusă posibilitate de apariție ulterioară a aderențelor spre deosebire de leziunea care apare după aplicarea curentului cu pensa bipolară care acționează mai la suprafață, crescând șansa de apariție a aderențelor care ulterior vor interfera cu captarea ovulului.

Pe de altă parte însă trebuie recunoscut și riscul mai scăzut de leziune termică accidentală la aplicarea curentului bipolar.

Efectul raportului preoperator LH/FSH asupra ratei succesului

Raportul LH/FSH > 2 reprezintă o caracteristică hormonală a sindromului de ovare polichistice și în lotul nostru a fost înregistrat la 16 din cele 30 de paciente studiate.

Urmărind curbele ratei cumulative a sarcinilor la aceste paciente am observat că nu apare o diferență statistic semnificativă între grupul cu raportul LH/FSH > 2 și restul pacientelor, $p = 0,12$ chiar dacă în primul lot numărul succeselor este mai mare.

CONCLUZII

1. Tratamentul infertilității prin anovulație în cadrul sindromului de ovare polichistice prin abord laparoscopic generează bune rezultate reproductive, cu o rată cumulativă a sarcinilor la 1 an de 42%.

2. Intervalul mediu între operație și instalarea primei sarcini la pacientele care au rămas însărcinate a fost de 7 luni.

3. Rata avortului spontan la pacientele tratate prin drilling ovarian este mai scăzută decât ratele avortului spontan după tratamentul cu gonadotropine (15,3% pe lotul studiat de noi, comparativ cu 20%-30% cît apreciază literatura de specialitate).⁴²

4. Pe lotul studiat de noi nu s-au înregistrat sarcini gemelare sau multiple fapt diferit de loturile tratate medicamentos unde rata sarcinilor multiple este ridicată.

5. Utilizarea acestei metode în tratamentul infertilității din sindromul de ovare polichistice nu ridică probleme legate de sindromul de hiperstimulare ovariană care poate apărea în urma tratamentului medical cu inductori de ovulație.

6. Inductorii medicamentoși ai ovulației au fost incriminați în unele studii de dezvoltarea ulterioară, la distanță, a unor procese maligne ovariene⁵⁰, fapt neîntâlnit în urma tratamentului laparoscopic.

7. Costul tratamentului laparoscopic este inferior celui cu gonadotropine prin aceea că nu necesită nici laborioasa monitorizare hormonală și ecografică care se adaugă la prețul deja ridicat al medicației.

8. Rata aderențelor postoperatorii se presupune a fi mai scăzută după tratamentul laparoscopic decât după rezecția cuneiformă de ovar clasică prin aceea că sângerarea este redusă sau absentă, nu se utilizează material de sutură și nu apare fenomenul de uscare a peritoneului ca în cazul laparotomiei. În plus, lavajul abundent din finalul procedurii are un bun efect în combatarea apariției aderențelor. Rezultatele estetice sunt de asemenea excelente prin lipsa cicatricilor vizibile, iar recuperarea post operatorie foarte rapidă.

9. Rezultatele reproductive sunt cu atât mai bune cu cât vârsta pacientei este mai scăzută, durata sterilității mai redusă și dacă pacienta a mai fost însărcinată.

10. Excesul ponderal nu are influență directă asupra ratei succesului, dar poate constitui un factor de risc anestezic sau poate genera dificultăți tehnice intraoperatorii, mai ales în momentul inducerii pneumoperitoneului.

11. Deși statistic diferența nu a fost semnificativă în lotul tratat utilizând curentul monopolar rata sarcinilor a fost mai mare. Utilizarea pensei bipolare scade însă semnificativ riscul lezării termice accidentale a organelor intraperitoneale.

12. Tratamentul de primă intenție al anovulației în sindromul de ovare polichistice rămâne citratul de clomifen. Pentru acele cazuri de rezistență la acest tratament opțiunea tratamentului prin drilling ovarian pe cale laparoscopică reprezintă o excelentă alternativă fapt justificat prin rezultatele reproductive bune, prin simplitatea metodei și rata redusă a complicațiilor, procedura putând fi executată acolo unde este indicată și nicidecum de rutină în continuarea laparoscopiei diagnostice care încheie algoritmul de diagnostic al

BIBLIOGRAFIE

- 1 ABDEL GADIR A, KHATIM MS, ALNASER HBI et al - *Ovarian electrocautery: responders versus non-responders*, Gynecol Endocrinol, 1993, 7:43-48.
- 2 ABDEL GADIR A, MOWAFI RS, ALNASER HMI et al - *Ovarian electrocautery versus menopausal gonadotrophins and pure follicle stimulating hormone therapy in the treatment of patients with polycystic disease*, Clin Endocrinol (Oxf), 1990, 33:585-592.
- 3 ABDEL GADIR A, ALNASER HBI, MOWAFI RS et al - *The response of patients with polycystic ovarian disease to human menopausal gonadotropin therapy after ovarian electrocautery or a luteinizing hormone-releasing hormone agonist*, Fertil Steril, 1992, 57:309-313.
- 4 ADASHI EY, ROCK JA, GUZICK D, WENTZ AC et al - *Fertility following bilateral ovarian wedge resection: a critical analysis of 90 consecutive cases of the polycystic ovary syndrome*. Fertil Steril, 1981, 36: 320-325.
- 5 ARMAR NA, MCGARRIGLE HHG, HONOUR J et al - *Laparoscopic ovarian diathermy in the management of anovulatory infertility in women with polycystic ovaries: endocrine changes and clinical outcome*. Fertil Steril, 1990, 53:45-49.
- 6 ARMAR NA, LACHELIN GCL - *Laparoscopic ovarian diathermy: an effective treatment for anti-oestrogen resistant anovulatory infertility in women with the polycystic ovary syndrome*, Br J Obstet Gynecol, 1993, 100:161-164.
- 7 BALEN AH, JACOBS HS - *A prospective study comparing unilateral and bilateral laparoscopic ovarian diathermy in women with polycystic ovarian syndrome*. Fertil Steril, 1994, 62:921-925.
- 8 BUTTRAM VC JR, VAQUERO C - *Post-ovarian wedge resection adhesive disease*, Fertil Steril, 1975, 26:874-876.
- 9 CAMPO S, FELLI A, LAMANNA MA et al - *Endocrine changes and clinical outcome after laparoscopic ovarian resection in women with polycystic ovaries*, Hum Reprod, 1993, 8:359-363.
- 10 CRAMER DW, WALKER AM, SCHIFF I - *Statistical methods in evaluating the outcome of infertility therapy*, Fertil Steril, 1979, 32:80-86.
- 11 DABIRASHRAFI H, MOHAMAD K, BEHJATNIA Y et al - *Adhesion formation after ovarian electrocauterization on patients with polycystic ovarian syndrome*, Fertil Steril, 1991, 55:1200-1201.
- 12 DONESKY BW, ADASHI EY - *Surgically induced ovulation in the polycystic ovary syndrome: wedge resection revisited in the age of laparoscopy*, Fertil Steril, 1995, 63:439-463.
- 13 FARHI J, SOULE S, JACOBS HS - *Effect of laparoscopic ovarian electrocautery on ovarian response and outcome of treatment with gonadotropins in clomiphene citrate-resistant patients with polycystic ovary syndrome*, Fertil Steril, 1995, 64:930-935.
- 14 FELEMBAN A, TAN SL, TULANDI T - *Laparoscopic treatment of polycystic ovaries with insulated needle cautery: a reappraisal*, Fertil Steril, 2000, 73:266-269.
- 15 GJONNAESS H - *Polycystic ovarian syndrome treated by ovarian electrocautery through the laparoscope*, Fertil Steril, 1984, 41:20-25.
- 16 GJONNAESS H, NORMAN N - *Endocrine effects of ovarian electrocautery in patients with polycystic ovarian disease*, Br J Obstet Gynecol, 1987, 94:779-783.
- 17 GJONNAESS H - *Late endocrine effects of ovarian electrocautery in women with polycystic ovary syndrome*, Fertil Steril, 1998, 69:697-701.
- 18 GJONNAESS H - *Ovarian electrocautery in the treatment of women with polycystic ovary syndrome(PCOS)*, Acta Obstet Gynecol Scand, 1994, 73: 407-412.
- 19 GJONNAESS H - *The course and outcome of pregnancy after ovarian electrocautery in women with polycystic ovarian syndrome: the influence of body-weight*, Br J Obstet Gynecol, 1989, 96:714-719.
- 20 GREENBLATT E, CASPER RF - *Endocrine changes after laparoscopic ovarian cautery in polycystic ovarian syndrome*, Am J Obstet Gynecol, 1987, 156:279-285.
- 21 GREENBLATT E, CASPER RF - *Adhesion formation after laparoscopic ovarian cautery for polycystic ovarian syndrome: lack of correlation with pregnancy rate*, Fertil Steril, 1993, 60:766-770.
- 22 GREENBLATT E, CASPER RF - *Laparoscopic ovarian drilling in women with polycystic ovarian syndrome*, Prog Clin Biol Res, 1993, 381:129-138.
- 23 GREENBLATT E - *Surgical options in polycystic ovary syndrome patients who do not respond to medical ovulation induction*, Baill Clin Obstet Gynaecol, 1993, 7:421-433.
- 24 GURGAN E, YARALI H, URMAN B - *Laparoscopic treatment of polycystic ovarian disease*, Hum Reprod, 1994, 9:573-577.
- 25 GURGAN E, KISNISI H, YARALI H et al - *Evaluation of adhesion formation after laparoscopic treatment of polycystic ovarian disease*, Fertil Steril, 1991, 56:1176-1178.
- 26 GURGAN T - *Laparoscopic treatment of PCOS*, Gynaecol Endosc, 2000, 9 Supp:7(abs).
- 27 INSLER V, SHOHAM Z, BARASH A et al - *Polycystic ovaries in non-obese and obese patients: possible pathophysiological mechanism based on new interpretation of facts and findings*, Hum Reprod, 1993, 8:379-384.
- 28 KECKSTEIN J - *Laparoscopic treatment of polycystic ovarian syndrome in laparoscopic surgery*, Bailleres Clin Obstet Gynaecol, 1989, 3:563-581.
- 29 KISTNER RW - *Peri-tubal and peri-ovarian adhesions subsequent to wedge resection of the ovaries*, Fertil Steril, 1969, 20:35-42.
- 30 KOVACS G, BUCKLER H, GANGAH M et al - *Treatment of anovulation due to polycystic ovarian syndrome by laparoscopic ovarian cautery*. Br J Obstet Gynecol, 1991, 98:30-35.
- 31 KOVACS GT - *Endoscopic surgical approach to the treatment of anovulation due to polycystic ovary syndrome-ovarian drilling*, in: Sutton C, Diamond MP (eds.) "Endoscopic Surgery for Gynaecologists", 1993, WB Saunders Company Ltd London, 147-153.
- 32 LI TC, SARAVELOS H, CHOW MS et al - *Factors affecting the outcome of laparoscopic ovarian drilling for polycystic ovarian syndrome in women with anovulatory infertility*, Br J Obstet Gynecol, 1998, 105:338-344.
- 33 LUCIANO AA, MAIER DB, KOCH EI et al - *A comparative study of postoperative adhesions following laser surgery by laparoscopy versus laparotomy in the rabbit model*, Obstet Gynecol, 1989, 74:220-224.
- 34 NAETHER OGJ, BAUKLOH V, FISCHER R et al - *Long-term follow-up in 206 infertility patients with polycystic ovarian syndrome after laparoscopic electrocautery of the ovarian surface*, Hum Reprod, 1994, 9:2342-2349.
- 35 NAETHER OGJ - *Spontankonzeption nach laparoskopischer Koagulation der Ovaroberflaechen bei Patientin mit primaerer normogonadotroper hyperandrogenemischer Amenorrhoe*, Geburtshilfe Frauenheilkd, 1992, 52:494-495.
- 36 NAETHER OGL, FISCHER R, WEISE HC - *Laparoscopic electrocoagulation of the ovarian surface in infertility patients with polycystic ovarian disease*, Fertil Steril, 1993, 60:88-94.
- 37 NAETHER OGL, FISCHER R - *Adhesion formation after laparoscopic electrocoagulation of the ovarian surface in polycystic ovary patients*, Fertil Steril, 1993, 60:95-98.
- 38 PORTUONDO JA, MELCHOR JC, NEYRO JL et al - *Periovarian adhesion following ovarian wedge resection or laparoscopic biopsy*, Endoscopy, 1984, 16:143-145.
- 39 RADULESCU C - *Sindromul de ovare polichistice*, in: Radulescu C (ed): Ginecologie, vol I, Editura Medicală, București, 1988, 173-186.
- 40 RITTMASER RS - *Hyperandrogenism*, in: Copeland LJ (ed): Textbook of gynecology, W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1993, 414-446.

- 41 ROWE PJ, COMHAIRE FH, HARGREAVE TB et al - *Clinical assessment of male infertility*, in: Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB, Mellows HJ (eds): WHO manual for standardized investigation and diagnosis of the infertile couple, Cambridge University Press, Cambridge-New York-Melbourne, 1993, 21-25.
- 42 SAGLE M, BISHOP K, RIDLEY N et al - *Recurrent early miscarriage and polycystic ovaries*, Br Med J, 1988, 297:1027-1028.
- 43 STEIN IF - *Ultimate results of bilateral ovarian wedge resection: twenty-five years follow-up*, Int J fertil, 1956, 1:333-344.
- 44 STEIN IF, LEVENTHAL ML - *Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries*, Am J Obstet Gynecol, 1935, 29:181-191.
- 45 SUMIOKI H, UTSUNOMIYA T, MATSUOKA K et al - *The effect of laparoscopic multiple punch resection of the ovary on hypothalamo-pituitary axis in polycystic ovary syndrome*, Fertil Steril, 1988, 50:567-572.
- 46 TULANDI T, CHERRY N - *Clinical trials in reproductive surgery: Randomization and life-table analysis*, Fertil Steril, 1989, 52:12-14.
- 47 TULANDI T, WATKIN K, TAN SL - *Reproductive performance and three dimensional ultrasound volume determination of polycystic ovaries following laparoscopic ovarian drilling*, Int J Infertil, 1997, 42:436-440.
- 48 VAN VOORHIS BJ, STORVALL DW, ALLEN BD et al - *Cost-effective treatment of the infertile couple*, Fertil Steril, 1998, 70:995-1005.
- 49 VAN VOORHIS BJ, SPARKS AET, ALLEN BD et al - *Cost-effectiveness of infertility treatments: A cohort study*, Fertil Steril, 1997, 67:830-836.
- 50 VAN DER WEIDEN RMF, ALBERDA AT, DE JONG FH et al - *Endocrine effects of laparoscopic ovarian electrocautery in patients with polycystic ovarian disease, resistant to clomiphene citrate*, Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1989, 32:157-162.
- 51 VENN A - *Cancer and fertility treatments*, in: Healy DL, Kovacs GT, McLachlan R, Rodriguez-Armas O: Reproductive medicine in the twenty-first century, Proceedings of the 17th World Congress on Fertility and Sterility, Melbourne, Australia, The Partenon Publishing Group Inc, New York, London 2001, 322-330.
- 52 WEISE HC, NAETHER OGJ, FISCHER R - *Behandlungsergebnisse mit der Oberflaechenkauterisierung polyzystischer Ovarien bei Sterilitaetspatientinnen*, Geburtshilfe Frauenheilk, 1991, 51:920-924.
- 53 WINGO PA, HIGGINS JE, RUBIN GL et al - *Life-table Analysis*, in: Wingo PA, Higgins JE, Rubin GL (eds): *An epidemiologic approach to reproductive health*. WHO/HRP/EPI, Geneva, 1994, 346-56.



Nefropatie membranoasă asociată infecției cu virusul hepatitei B

G. Dogaru¹, Carmen Căldăraru², C.E. Vari³

Este prezentat cazul unui pacient cu nefropatie membranoasă secundară infecției cu virusul hepatitei B, cu sindrom nefrotic secundar, asociind modificări clinico-biologice importante secundare unei proteinurii masive. După prezentarea unor probleme de diagnostic, se fac câteva considerații referitoare la terapia nonimunologică, cea imunologică și terapia complicațiilor în nefropatia membranoasă secundară virusului hepatitei B cu sindrom nefrotic secundar. Cuvinte cheie: nefropatie membranoasă, virusul hepatitei B, sindrom nefrotic

We report the case of a patient with hepatitis B virus associated membranous nephropathy, with secondary nephrotic syndrome and with clinical and biological changes due to a massive proteinuria. After the presentation of some diagnostic problems, the paper make some considerations about the immunologic and nonimmunologic therapy and the treatment of some of the complications of hepatitis B associated glomerulonephritis with secondary nephrotic syndrome.

Key words: membranous nephropathy, hepatitis B virus, nephrotic syndrome

Nefropatia membranoasă este cea mai frecventă cauză de sindrom nefrotic, incidența crescută recomandând-o ca a treia cauză de insuficiență renală cronică la adult.¹⁶

Deși în țările industrializate este mai frecventă forma idiopatică, 20-30% din cazuri sunt secundare, fiind implicate în etiologie: agenți infecțioși, virusul hepatitei B, o serie de tumori maligne, medicamente și alte cauze diverse, asocieri publicate, în majoritate, doar o singură dată în literatură.

O altă caracteristică importantă este faptul că de multe ori este imposibilă excluderea riguroasă a formei secundare, nefropatia membranoasă putând să precedă cu luni sau chiar ani debutul clinic al unei boli sistemice.²⁵

Istoricul natural al glomerulonefritei membranoase recunoaște o varietate de modele evolutive, de la remisiile spontane până la proteinurie masivă cu degradarea rapidă a funcției renale.

Prezentare de caz

Descrim cazul unui pacient de 51 de ani, domiciliat în mediul rural, care se internează în contextul unui sindrom edematos, cu dispnee de efort și valori tensionale crescute.

Istoricul bolii e nesemnificativ: debut cu aproximativ două luni înaintea internării în clinica noastră, perioadă în care pacientul a fost internat de repetate ori în numeroase servicii medicale, pentru dispnee și edeme gambiere masive, cu hidrotorace bilateral, evidențindu-se prezența unei proteinurii peste 3,5g/24 ore; în acest context pacientul a fost etichetat ca sindrom nefrotic idiopatic și s-a inițiat tratamentul cu enalapril, indometacin și metilprednisolon în doze de 16 mg/zi timp de 20 zile.

Din antecedentele patologice ale ale pacientului reținem de intervenții chirurgicale: amigdalectomie și o osteosinteză cu tijă după fractură, fără alte prezentări pentru acordare de servicii medicale.

La internare, examenul obiectiv al pacientului evidențiază anasarcă, mucoase vizibile palide, hiperpnee, dispnee la eforturi medii, tensiune arterială 160/100 mmHg.

Investigații

În momentul internării în clinica noastră profilul biologic sanguin al pacientului era următorul: VSH 52 mm/oră, hemoglobină 12,5 g/dl, hematocrit 35 %, leucocite 5300/mm³, trombocite 386000/mm³, uree 39,2 mg/dl, creatinina 1 mg/dl, acid uric 7 mg/dl, bilirubină totală 0,33 mg/dl, bilirubină directă 0,11 mg/dl, fosfataza alcalină 110 U/l, gama GT 19 U/l, GOT 11 U/l, GPT 8 U/l, colesterol 380 mg/dl, trigliceride 370 mg/dl, LDH 303 U/l, proteina C reactivă absentă, fibrinogen 680 mg/dl, proteinemie 4,2 g/dl, electroforeza proteinelor serice: albumine 32,3%, alfa 1 globuline 7,8%, alfa 2

¹Disciplina Medicină internă III, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

²Disciplina Fiziologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

³Disciplina Farmacodinamie, Universitatea de Medicină și Farmacie, Târgu-Mureș

Adresa pentru corespondență: dr. G. Dogaru, Clinica Nefrologie, str. Ghe. Marinescu nr 1, 4300 Târgu-Mureș

globuline 22,5%, beta 1 globuline 9%, beta 2 globuline 15,4%, gama globuline 13%, albumine/globuline 0,5, IgG 500 mg/dl, IgM 130 mg/dl, IgA 180 mg/dl, AAN negativ, crioglobuline negativ, complexe imune circulante 145×10^{-3} , complement C3 158 mg/dl, C4 33 mg/dl, markeri hepatitici: AgHBs pozitiv, antiHCV negativ, AgHBe negativ, antiHBe negativ, antigen specific prostatic negativ.

Examenul de urină indica prezența hematuriei microscopice, rar cilindri granuloși, urocultură sterilă, proteinurie 8,2 g/24 ore (410 mg/dl), proteine Bence Jones negativ.

Examenul ecografic abdominal evidențiază: rinichi 120 mm bilateral, litiază calice inferior rinichi stâng, lichid liber în cavitatea peritoneală.

Examenul ecografic cardiac fără modificări.

Radiografie toracică: colecție lichidiană în cavitatea pleurală dreaptă, pleurezie închistată la baza scizurii oblice stânga și pe peretele lateral stâng.

Radiografie craniu: zonă de liză rotundă cu diametrul de 9 mm, zonă de hiperostoza la nivelul celulelor mastoideiene, leziuni posibil evocatoare de mielom multiplu.

Puncție medulară: se exclude o disimunoglobulinemie.

Urografie intravenoasă: secreție prezentă bilateral, sistem pielo-caliceal dilatat pe stânga cu tije caliceale răsfirate, aspect de vezică de luptă.

Consult urologic: aspectul urografic al rinichilor și al vezicii urinare sugerează diagnosticul de tuberculoză reno-urinară; se recomandă examen pentru bacil Koch (BK) urinar, culturi pentru BK.

Tomografie computerizată cu vizualizarea toracelui și abdomenului: pleurezie bilaterală, ficat la limita superioară a normalului cu valori densitometrice difuz scăzute, ascită în cantitate medie, litiază caliceală rinichi stâng.

Examenul endoscopic eso-gastro-duodenal: esofag, stomac normal, fără varice esofagiene.

Colonoscopia nu evidențiază modificări sugestive pentru un proces neoplazic colonic.

În contextul clinic și paraclinic prezentat mai sus am stabilit următorul diagnostic: Sindrom nefrotic impur. Anasarcă. Litiază caliceală inferioară rinichi stâng. Hipertensiune arterială stadiul I. Tuberculoză urinară în observație. Infecție cu virusul hepatitei B

Ridicându-se suspiciunea de tuberculoză reno-urinară, a fost necesară temporizarea puncției bioptice renale până la definitivarea culturilor pentru bacilul Koch.

După 6 săptămâni în care am indicat la domiciliu tratament cu inhibitori de enzimă de conversie ai angiotensinei (IEC) și diuretic cu diuretice de ansă și antialdosteronice, cu evoluție staționară, fără modificări semnificative a stării clinice a pacientului; în prezența unui examen negativ pentru un proces specific urinar, se efectuează puncția biopsie renală transcutanată.

Puncție biopsie renală. Examenul în microscopie optică evidențiază: fragment de corticală și medulară

bazale îngroșate și imagini de depozite nodulare (spike-uri); interstițiul renal conține arii de fibroză cu atrofia și dispariția tubilor din zonă, colecție de celule xantomatoase și rare celule inflamatorii, suprafața acestora nedepășind 20% din preparat; tubii conțin cilindri proteici. Microscopia în imunofluorescență: s-au examinat 7 glomeruli; IgG depunere glomerulară (+++), granulară fină, parietală, globală, difuză, depunere tubulară (+), epitelială, granulară focală. IgA negativ. IgM negativ. Frațiunea C3 cu depunere glomerulară (+), aspect asemănător cu cel de la IgG, depunere tubulară (++) epitelială, focală; frațiunea C4 cu depunere glomerulară (+), aspect asemănător cu cel de la IgG, depunere tubulară (++) epitelială, focală; frațiunea C1q cu depunere glomerulară (++) parietală pseudolineară, globală, difuză; lanțuri ușoare kappa cu depunere glomerulară (+++) cu aspect asemănător cu cel de la IgG, lanțuri ușoare lambda cu depunere glomerulară (+++) cu aspect asemănător cu cel de la IgG; fibrinogen negativ. Concluzii: glomerulonefrită membranoasă.

47. În prezența leziunilor histologice sugestive pentru nefropatie membranoasă și a prezenței AgHBs pozitiv se pune problema unui sindrom nefrotic secundar și se indică efectuarea puncției bioptice hepatice în vederea administrării unui tratament patogenetic.

Examen histopatologic (puncție biopsie hepatică): hepatită cronică virală cu activitate necrotico-inflamatorie moderată (scor 9) și fibroza limitată la spațiul port.

În urma consultului gastro-enterologic se întocmește dosarul pentru acceptare în programul de tratament al hepatitei cronice virale și se începe terapia cu lamivudină 100mg/zi.

Se asociază în tratament enalapril, furosemid, spironolactonă, diltiazem, simvastatin și se indică scăderea aportului de proteine alimentare.

În următoarele trei luni, starea pacientului se deteriorează evident, clinic cu dispnee, ortopnee, anasarcă fără răspuns la administrarea de albumină umană și doze mari de diuretice, cu apariția în acest context de modificări hidro-electrolitice (hipotasemie severă, hiponatremie) ce impun spitalizarea pe termen îndelungat a pacientului. Din examinările paraclinice menționăm: proteinurie masivă (15,7 g/24 ore, 1005 mg/dl), proteine serice totale 3,8g/dl, colesterol 600 mg/dl, trigliceride 348 mg/dl, fibrinogen 860 mg/dl.

În acest moment, în contextul evoluției nefavorabile se suplimentează tratamentul cu ciclofosamidă 1,5 mg/kgc/zi și prednison 10 mg/zi, cu monitorizarea parametrilor hematologici impuși de drogurile administrate.

La două luni de la începerea tratamentului menționat pacientul se internează în contextul unei tromboflebite profunde a membrului inferior drept; se impune anticoagularea, pacientul fiind externat sub tratament cu trombostop 1/zi.

În ciuda episodului trombotic, evoluția este favorabilă, cu dispariția edemelor, a ascitei și a colecției pleurale și ameliorarea evidentă a stării clinice a

Paraclinic se constată scăderea marcată a proteinuriei la 5,12 g/24 ore (118 mg/dl), scăderea colesterolului și a fibrinogenului, cu ușoară creștere a proteinemiei, fără modificări ale hemoleucogramei care să impună stoparea tratamentului imunosupresiv; acest profil biologic se menține și la patru luni de la începerea tratamentului imunosupresiv.

DISCUȚII

Asocierea dintre AgHBs, nefropatia membranoasă și sindromul nefrotic a fost raportată pentru prima oară de Coombs și colab în anii 70. Majoritatea pacienților nu prezintă semne clinice de hepatită iar biopsia hepatică evidențiază leziuni care se înscriu în tabloul histopatologic al hepatitei cronice.⁶

Tratamentul nefropatiei membranoase continuă să genereze mari controverse, istoricul natural al bolii fiind foarte variat, prognosticul urmând a fi stabilit pentru fiecare caz în parte în funcție de evoluția clinică, apariția insuficienței renale, leziunile histologice demonstrate.

O mare parte din intervențiile terapeutice sunt îndreptate spre scăderea proteinuriei, ținta finală fiind însă încetinirea evoluției spre insuficiență renală, fiind demonstrat rolul proteinuriei ca factor de risc independent de progresie a degradării funcției renale.¹¹

Aceasta este și concluzia studiului MDRD (Modification of Diet in renal Disease) care demonstrează că proteinuria e un predictor independent al declinului funcției renale la pacienții cu afectare renală nondiabetică arătând că scăderea ratei filtrării glomerulare a fost maximă la pacienții cu proteinurie de peste 1g/24 ore crescând progresiv cu fiecare creștere de un gram a proteinuriei.¹⁹

Nu în ultimul rând, în cazurile cu sindrom nefrotic, măsurile terapeutice trebuie să țină cont și de complicațiile apărute în cursul evoluției bolii, cele mai importante fiind complicațiile cardiovasculare și cele trombo-embolice.

Tratamentul nonimunologic

Deși sunt extrem de rare situațiile în care astfel de metode au dus la remisia completă a sindromului nefrotic, se pot încerca restricția proteică, administrarea de antiinflamatoare nesteroidice (AINS) și de inhibitori de enzimă de conversie.

Restricția proteică

Restricția proteică – mult controversată datorită riscului de malnutriție consecutive, pare a avea totuși beneficii majore la pacienții cu proteinurie masivă.¹⁰

Deși majoritatea nefrologilor recomandă un aport proteic normal, la pacienți cu proteinurie masivă se poate încerca o restricție proteică moderată (0,8g/kg/zi), cu monitorizarea continuă a statusului nutrițional al pacientului.¹²

Antiinflamatoarele nesteroidice

În ciuda efectelor benefice întâlnite ocazional la pacienți cu proteinurie masivă, rolul AINS în scăderea substanțială a proteinuriei pare a fi supraestimat. Multiplele efecte adverse renale cauzate de inhibarea prostaglandinelor, ca de exemplu cele asupra perfuziei

renale, formarea edemelor, toxicitatea renală, dar și frecventele efecte adverse gastro- intestinale restrâng indicațiile acestei clase de medicamente în controlul proteinuriei.¹⁵

Inhibitorii enzimei de conversie

Utilizarea IEC este indicată atât la hipertensivi cât și la pacienții nehipertensivi, efectul benefic al IEC realizându-se printr-un mecanism care nu e încă bine precizat, el fiind în parte datorat scăderii proteinuriei, dar și reducerii consecutive a leziunilor interstițiale rezultat al reducerii "traficului" tubular.^{17,23}

IEC oferă în plus și beneficiul controlului valorilor tensionale având, și din acest motiv, rol în încetinirea progresiei spre insuficiența renală.

Ruggenenti și colab subliniază că beneficiile aduse de terapia cu IEC sunt dependente de vechimea tratamentului, cei cu tratament de durată prezentând protecție crescută împotriva declinului funcției renale, iar în unele cazuri chiar o remisie a progresiei bolii renale.²¹

Terapia patogenetică

E impusă de natura bolii de bază. Utilizarea interferonului în tratamentul hepatitei cronice de tip B este urmată frecvent de inducerea unei remisii complete a glomerulonefritei membranoase, remisiile fiind mai frecvente dacă infecția s-a realizat în perioada adultă decât perinatal sau în copilărie.^{1,5}

La ora actuală lamivudina este folosită cu succes în suprimarea replicării virale la pacienții cu hepatită B, studii randomizate demonstrând eficacitatea mai mare comparativ cu a interferonului și numărul mai redus de efecte adverse.⁹

Există însă puține date asupra efectului lamivudinei în tratamentul nefropatiilor glomerulare secundare, un tratament eficient trebuind să determine reducerea leziunilor glomerulare cu scăderea consecutivă a proteinuriei.

Tratamentul imunologic

Terapia imunosupresivă urmărește modularea componentei imune a bolii. Primele studii asupra terapiei imunosupresive la pacienții cu nefropatii glomerulare și sindrom nefrotic au fost realizate în anii 70 folosind prednison. Ulterior au fost testate și alte imunosupresoare: azatioprină, ciclofosamidă, clorambucil și ciclosporină, tacrolimus, micofenolat mofetil, pentru nefropatia membranoasă studiile riguroase fiind dificil de realizat datorită evoluției spontane variabile a bolii.

Literatura confirmă eficiența tratamentului imunosupresiv, dar există puține date comparative între diferite tipuri de imunosupresoare, acestea referindu-se în general la grupuri mici de pacienți.

Într-un studiu comparativ al eficienței ciclofosamidei și clorambucilului în reducerea proteinuriei la pacienți cu nefropatie membranoasă și insuficiență renală, Branten AJW și colab. demonstrează eficiența crescută a ciclofosamidei, dovedită de numărul mai mare de remisii complete și parțiale, subliniind și numărul mic de efecte secundare al tratamentului de lungă durată cu ciclofosamidă.^{1,20}

La ora actuală nu există un consens asupra terapiei în nefropatia membranoasă. Algoritmurile terapeutice stabilesc însă o serie de reguli, insistându-se asupra tratamentului conservativ și al complicațiilor specifice sindromului nefrotic, terapia imunosupresoare fiind indicată în special la pacienții făcând parte din clasa de risc înalt. Sexul masculin, vârsta peste 50 ani, proteinuria masivă (peste 6 g/24 ore) și persistentă (mai mult de 6 luni), prezența insuficienței renale și leziunile interstițiale demonstrate bioptic sunt toți factori asociați unui prognostic rezervat.⁴

Contrar atitudinii de așteptare indicată de majoritatea nefrologilor, unii autori consideră că nu e justificată nici o întârziere în inițierea terapiei în nefropatia membranoasă și arată că tratamentul cu steroizi, agenți citotoxici sau ciclosporină nu elimină și nici măcar nu încetinește rata generării de autoanticorpi la subiecții cu nefropatiei membranoasă cu evoluție malignă.^{22,24}

Un alt aspect care merită a fi menționat este cel legat de administrarea unui tratament imunosupresiv la un pacient cu hepatită cronică virală, existând posibilitatea de accentuare a replicării virale, care ar putea avea ca și consecință evoluția nefavorabilă a glomerulonefritei datorită creșterii antigenemiei.

Tratamentul complicațiilor

Asocierea dintre sindromul nefrotic și fenomenele tromboembolice este bine cunoscută, statusul hipercoagulant fiind determinat de alterări ale sistemului fibrinolitic, modificări ale unor zimogeni și cofactori (creșterea nivelelor plasmatice de factor II, V, VII, XIII, fibronectină și fibrinogen), deficit de AT III și de disfuncția plachetară. Pacientul nostru prezenta risc crescut de accident tromboembolic datorită hipoproteinemiei cu hipoalbuminemie severă, hipercolesterolemiei și hiperfibrinogenemiei.

Bellomo și Atkins, într-o încercare de a aprecia riscurile anticoagularii profilactice comparativ cu cele ale atitudinii de așteptare a unui eveniment trombotic, au calculat o reducere cu 32% a evenimentelor morbide datorată profilaxiei, dar au admis ca limite ale studiului dificultățile în a compara morbiditatea asociată unui episod hemoragic cu a unui episod trombotic și lipsa informațiilor din literatură asupra criteriilor estimate a fi necesare pentru calcularea frecvenței evenimentelor.²

Astăzi, majoritatea nefrologilor utilizează anticoagularea profilactică numai la pacienții cu risc crescut pentru eveniment trombotic (albuminemie de sub 20g/l) corectitudinea acestei abordări rămânând însă extrem de controversată.^{13,18}

Varietatele anomalii ale profilului lipidic din sindromul nefrotic au oferit prilejul unor controverse legate de riscul aterogen. Rezultatele discordante obținute de diferitele studii au fost datorate diferențelor dintre loturile studiate: sindrom nefrotic, în prezența sau absența insuficienței renale, a diabetului zaharat sau a terapiei cu corticosteroizi. Din punct de vedere teoretic însă modificările în compoziția lipoproteinelor din sindromul nefrotic conferă un risc crescut de boală

ateromatoasă și generează un status de hipercoagulabilitate caracteristic.¹⁴

Unii autori leagă riscul cardiovascular de durata expunerii la hiperlipidemie. Terapia cu corticosteroizi induce și ea tulburări lipidice de tip hiperlipidemie mixtă și modificări aterogene demonstrate.⁷

În ceea ce privește tratamentul hiperlipidemiei din sindromul nefrotic, restricția lipidelor este insuficientă, eficiența fibraților este extrem de variabilă când hiperlipidemia e moderată și inexistentă dacă trigliceridele depășesc 500 mg/dl, promițătoare fiind însă rezultatele oferite de introducerea în tratament a statinelor cu rol atât asupra hipercolesterolemiei cât și asupra hipertrigliceridemiei.⁸

Cazul prezentat se remarcă prin durata lungă a evaluării, impus inițial de internarea pacientului în diferite servicii medicale în care accesibilitatea la metodele diagnostice era limitată, apoi de suspiciunea de tuberculoză reno-urinară care a impus temporizarea efectuării puncției bioptice renale, urmată de imposibilitatea evaluării histopatologice complete în lipsa imunofluorescenței și a examenului electronomicronic, fiind necesară intervenția unui serviciu de morfologie dintr-un alt centru universitar.

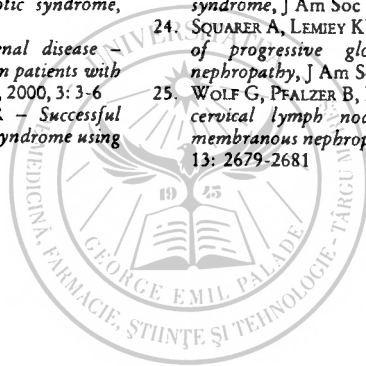
După afirmarea naturii secundare a glomerulopatiei, timpul scurs în așteptarea reducerii viremiei sub tratament cu lamivudină în speranța controlului afecțiunii glomerulare s-a dovedit a fi în defavoarea pacientului, starea clinică a acestuia degradându-se progresiv, edemul devenind practic ireductibil la tratament în prezența proteinuriei masive în plus asociindu-se fenomenele tromboembolice. În acest context s-a impus introducerea tratamentului imunosupresiv (atitudine regăsită de altfel în literatură, dar sub controlul strict al viremiei) ca ultimă alternativă terapeutică, urmată, din fericire, după un interval de două luni, de îmbunătățirea stării clinice a pacientului cu dispariția edemelor în contextul scăderii proteinuriei la 3 g/24 ore.

În final comentăm, ca făcând parte din "dilema" terapeutică, accesul dificil al pacientului la terapie, motivat atât financiar cât și de greutatea în procurarea ciclofosfamidei (greu procurabilă în rețeaua de farmacie cu circuit extern) și numeroasele întreruperi în administrarea de lamivudină datorate neeliberării medicamentelor cu gratuitate, întreruperi în cursul cărora, din motivele arătate mai sus, ne-am pus chiar problema întreruperii administrării drogurilor imunosupresoare.

BIBLIOGRAFIE

1. ADLER SG, NAST CC - *Membranous nephropathy in Primer on kidney disease*, Greenberg A, Academic Press, San Diego, California, 1994: 165-169
2. BELLOMO R, ATKINS RC - *Membranous nephropathy and thromboembolism: is prophylactic anticoagulation warranted?*, *Nephron*, 1993, 63: 249-254
3. BRANTEN AJW, REICHERT LJM, KOENE RAP, WETZELS JFM - *Oral cyclophosphamide versus chlorambucil in the treatment of patients with membranous nephropathy and*

4. CATTRAN D - *Management of membranous nephropathy*, Nephrology, 2000, 5: 209-213.
5. CHUNG DR, YANG WS, KIM SB ET AL - *Treatment of hepatitis B virus associated glomerulonephritis with recombinant human alpha-interferon*, Am J Nephrol, 1997, 17: 112-117
6. COOMBS B, STASTNY P, SHOREY J ET AL - *Glomerulonephritis with deposition of Australia antigen- antibody complexes in glomerular basement membrane*, Lancet, 1971, 2:234-237
7. DAIROU F - *Lipid disorders and cardiovascular risks in nephrology*, Nephrol Dial Transplant, 1998, Suppl 4: 30-33
8. DEIGHAN CJ, CASLAKE MJ, MCCONNELL M, ET AL - *Increased atherogenicity of low-density lipoprotein in heavy proteinuria*, Nephrol Dial Transplant, 1998, 13: 1183-1188
9. GITLIN N - *Hepatitis B: diagnosis, prevention and treatment*, Clinical Chemistry, 1997, 43: 1500-1506]
10. KLAHR S, LEVEY AS, BECK GJ ET AL - *The effects of dietary restriction and blood pressure control on the progression of chronic renal disease*, N Engl J Med. 1994, 330: 887-894.
11. KEANE WF - *Proteinuria: its clinical importance and role in progressive renal disease*, Am J Kidney Dis, 2000, 35, Suppl 1: S97-S105
12. KOPPLE JD, LEVEY AS, GREENE T ET AL - *Effect of dietary protein restriction on nutritional status in the Modification of Diet in Renal Disease Study*, Kidney Int, 1997, 52: 778-791
13. KUHN K, HAAS-WOHRLE A, LUTZ-VORDERBRUGGE A, FELTEN H - *Treatment of severe nephrotic syndrome*, Kidney Int, 64: S50-S53.
14. LECHLEITNER M - *Dyslipidaemia and renal disease - pathophysiology and lipid lowering therapy in patients with impaired renal function*, J Clin Basic Cardiol, 2000, 3: 3-6
15. LOW CL, MCGOLDRICK MD, BAILIE GR - *Successful management of steroid- resistant nephrotic syndrome using ibuprofen*, Clin Nephrol, 1997, 47: 60-62
16. MAISONNEUVE P, AGODOA L, GELLERT R ET AL - *Distribution of primary renal diseases leading to end- stage renal failure in the United States, Europe and Australia/New Zealand: results from an international comparative study*, Am J Kidney Dis, 2000, 35: 157-165
17. MEYER TW - *Inhibition of angiotensin- converting enzyme and the progression of non- diabetic renal disease*, Nephrology Rounds, 1997, 1.
18. ORTH SM, RITZ E - *The nephrotic syndrome*, N Engl J Med, 1998: 1202-1211.
19. PETERSON JC, ADLER S, BURKART JM et al for Modification of Diet in Renal Disease Study (MDRD) Group - *Blood pressure control, proteinuria and the progression of renal disease*, Ann Intern Med, 1998, 123: 754-762.
20. PONTICELLI C, ALTIERI P, SCOLARI F ET AL - *A randomized study comparing methylprednisolone plus chlorambucil versus methylprednisolone plus cyclophosphamide in idiopathic membranous nephropathy*, J Am Soc Nephrol, 1998, 9: 444-450.
21. RUGGENENTI P, PERNA A, GHERARDI G ET AL - *Renal function and requirement for dialysis in chronic nephropathy patients on long-term ramipril: REIN follow-up trial. Gruppo Italiano di Study Epidemiologici in Nephrologia (GISEN)*, Lancet, 1998, 352: 1252-1256
22. SAFAI-INFANGER M, MYERS BD - *Management of membranous nephropathy*, Nephrology Rounds, 2000, 3, 1
23. SCHWARTZ A - *New aspects of the treatment of nephrotic syndrome*, J Am Soc Nephrol, 2001, 12: S44-S47
24. SQUARER A, LEMIEY KV, AMBALAVANAN S, ET AL - *Mechanisms of progressive glomerular injury in membranous nephropathy*, J Am Soc Nephrol, 1998, 9: 1389-1398
25. WOLF G, PFALZER B, HELMCHEN U, STAHL RAK - *Enlarged cervical lymph nodes two years after diagnosis of membranous nephropathy*, Nephrol Dial Transplant, 1998, 13: 2679-2681



Manifestări neurooftalmologice în pneumosinusul dilatant sfenoidal

Alice Juncu¹, Gh. Mühlifay²

Prezentăm cazul bolnavei B. M. în vârstă de 13 ani diagnosticată cu pneumosinus dilatant sfenoidal, cu ocazia unui consult interclinic ORL pentru o infecție intercurrentă rinosinusală maxilară. Aceasta ne-a determinat să subliniem rolul rinologului în diagnosticul acestei afecțiuni cu o multitudine de manifestări dominante neurooftalmologice, care îngreunează medicul în acuratețea diagnostică.

Cuvinte cheie: pneumosinus dilatant, cefalee, fund de ochi

We present the case of 13 years old patient with pneumosinus dilatans sphenoidal. We were able to diagnose the case by the occasion of an interdisciplinar consultation. That make us to emphasis the importance of the rhinologic specialist to diagnose this disease with a lot of neuroophthalmologic symptoms which make the specialist heavy in diagnosis accuracy.

Key words: Pneumosinus dilatans, headache, eyes examination

Pneumosinusul dilatant sfenoidal, prin creșterea în volum a sinusului afectat produce fenomene de compresie și dislocare a structurilor vecine, cu afectare cel mai adesea a nervilor optici producând cefalee și alte tulburări neurologice. Elementele rinologice fiind aparent absente, orientarea spre consultul ORL este întârziată.

CAZUL CLINIC

Pacienta B. M., în vârstă de 13 ani, internată în Clinica Neuropsihiatrie Infantilă cu diagnosticul: Epilepsie cu crize polimorfe. Sindrom de hipertensiune intracraniană subcompensat netumoral cu însemnate modificări de fund de ochi. Sinuzită maxilară dreaptă. Pacienta este îndrumată la consult interclinic ORL pentru afecțiunea rinosinusală maxilară recent supraadaugată.

Din antecedentele personale fiziologice și patologice reținem: pacienta provine din sarcină dificilă, cu suferință fetală severă la naștere (asfixie albastră severă), descumare în lambouri a tegumentelor, pentru care a urmat tratament PEV 7 zile. Este internată la Clinica NPI în 1996 cu diagnosticul reacție encefalitică, suspect epilepsie și reinternată în iunie-iulie 1997 cu următoarele acuze: cefalee nocturnă (și vesperală) care o trezește din somn, la intervale de 2 zile până la 2-3 săptămâni; rar cefalee diurnă și senzație de amețeală cu încheșarea vederii, senzație subiectivă de "rău" și slăbiciune, care o obligă să se așeze, cu durată de minute, survenind spre seară, la oboseală. Acuzele au apărut în ianuarie 1997, inițial survineau aproape zilnic, la internare apărând de 2-3 ori pe săptămână. De menționat că în decembrie 1996, când a mai fost internată, avea încheșarea vederii la OS.

Examenul local ocular realizat prin examinarea bolnavei la lumina zilei, examenul biomicroscopic al polului anterior și fundul de ochi la trei examinări succesive evidențiază:

¹Centrul de Sănătate Militar Mureș

²Clinica ORL Târgu Mureș, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

-status ortoptic: ortoforie, motilitate normală în toate direcțiile mono- și binocular;
 -pol anterior de aspect normal, ușor ectropion uveal la OS, cristalin transparent; reflexe pupilare prezente;
 -examenul fundului de ochi în iunie 1997: la OD papilă hiperemică cu proeminență de 2 dioptrii și edem papilar, aspect de ciupercă (fără hemoragii), la OS papilă hiperemică cu proeminență de 1 dioptrie, discret edem peripapilar. După 2 luni examenul fundului de ochi pune în evidență papile hiperemice cu margini șterse și edem peripapilar la ambii ochi, iar examenul din octombrie același an descrie papile proeminente în formă de ciupercă, fără edem retinian înconjurător, fără semne de stază vasculară (turgescență, tortuaritate), periferia retinei nemodificată.

Examenul funcțional ocular arată:

- acuitatea vizuală: AO 1,0 f.c.
- tensiunea intraoculară normală
- câmpul vizual nemodificat.

Refractometrie computerizată după cicloplegie:

OD= +0,75-0,75/ 180 și OS= +1,0 - 1,0/ 174

Diagnosticul oftalmologic este: Suspect Drusen papilar profund AO.

Examenul local neurologic evidențiază sensibilitatea punctelor Arnold bilateral, Chwostek +++, ROT VII, simetrice.

Examen psihic: intelect și comportament normal.

Examenul clinic pe aparate și sisteme evidențiază semne de hipertensiune intracraniană.

Investigațiile paraclinice efectuate redau un profil biologic normal, fără modificări ale testelor de laborator uzuale. Examenul E.E.G. din iunie 1997 evidențiază un traseu teta fără anomalii. La hiperpnee apar descărcări hipervoltate de ULPA și CVU bilaterale, mai exprimate anterior, cât și 6 crize electrice RMC, 3 c/s - b.s.s), dintre care una după încetarea hiperpneei. După examinare ulterioară în cadrul aceleiași internări examenul E.E.G. cu traseu dominant teta, mai amplu și mai iritativ pe derivațiile posterioare. La hiperpnee (5 minute) nu apar anomalii de focar. Traseul bioelectric în octombrie același an de aspect normal.

Examenul computer tomografic din iunie 1997 evidențiază un aspect C.T. cerebrovascular normal.

Cu ocazia consultului ORL din octombrie 1997 se efectuează un control computer tomografic care evidențiază o îngroșare moderată a mucoperiostului sinusului maxilar drept și edem al mucoperiostului la nivelul cornetelor nazale mijlocii și inferior drept, pneumatizare a cornetelor mijlocii, mai mult la stânga, iar examenul amănunțit al sinusului sfenoidal relevă o hiperpneumatizare⁴, cu o creștere marcată a volumului sinusului și subțierea pereților, pneumatizarea aripilor sfenoidului bilateral, parțial a clivusului și a proceselor clinoidale anterioare, asimetrie sinusală cu sinus stâng mai voluminos, recesuri multiple intrasinusale, fără conținut patologic.¹

La nivelul emergenței nervului optic din globul ocular se observă o discretă proeminență hiperdensă corespunzătoare papilei nervului optic.

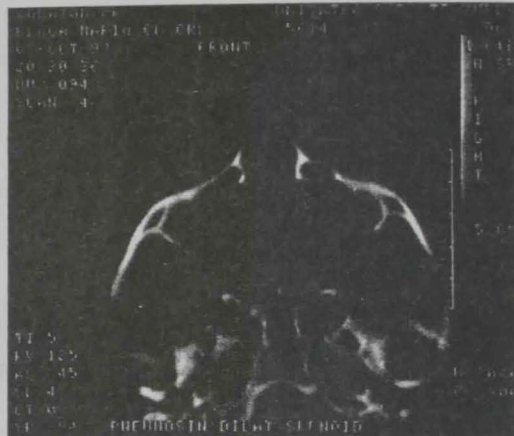


Figura 1. Imagine C.T. axial

Examenul local ORL: la rinoscopia anterioară se observă deviația septului nazal spre dreapta, îngustarea foselor nazale, cu tumefiere moderată a cornetelor nazale mai ales la dreapta, cornet mijlociu stâng voluminos, fără secreții patologice; la rinoscopia posterioară resturi de vegetații adenoide.

Examenul endoscopic nazal: sept nazal deviat, cu convexitate la dreapta și îngustarea fosei nazale, cornete inferioare moderat turgescente, pituitară ușor hiperemică și tumefiată, secreții mucopurulente minime la dreapta, resturi de vegetații adenoide. Cornetele mijlocii voluminoase, mai ales la stânga, recesele sfenoidale înguste și meatele mijlocii incomplet examinabile.



Figura 2. Imaginea endoscopică a abordului orificiului sinusul sfenoidal

TRATAMENT

De la apariția crizelor epileptice, bolnava a urmat tratament cu Carbamazepina și Ederen, întrerupt de mamă în ianuarie 1997. Se reia tratamentul în cursul aceleiași luni cu Deparkine și Ederen, suplimentat cu Prednison în cursul internării la Clinica NPI în iunie-iulie același an și măsuri de profilaxie a crizelor (interzicerea expunerii la soare și căldură, a efortului fizic, a consumului de alcool, cacao, ciocolată).

După clarificarea diagnosticului, pacienta se transferă la Clinica ORL unde se practică tratament chirurgical endoscopic nazosinusal în anestezie generală cu intubație orotraheală (30 octombrie 1997).

S-a practicat abordul sinusului sfenoidal prin recesul sfenoetmoidal (Figura 2), după evidențierea ostiumului sinusului parțial îngustat și blocat, realizându-se o lărgire a orificiului natural, cu extirparea mucoperiostului sinusului inferior și asigurarea unei căi largi de aerisire și drenaj a sinusului.⁶ Aspectul intraoperator a fost al unui sinus voluminos, nelocuit și fără modificări macroscopice ale mucoperiostului, cu multiple recesuri și asimetria celor două sinusuri.⁷

Evoluția postoperatorie, la trei săptămâni de la intervenția chirurgicală, cuprinde următoarele modificări: dispariția cefaleei și a stării de amețeală și traseu E.E.G. fără modificări.

Controlul neuropsihiatric la 1 lună decide suprimarea tratamentului antiepileptic, în evoluția ulterioară nu mai apar crize epileptice.

Controlul oftalmologic la 6 săptămâni: fără tulburări de vedere, aspectul ocular aproape identic cu mențiunea că la nivelul papilelor nervilor optici (dealtfel la fel de proeminente ca și înainte), mai ales la OS se conturau niște proeminențe rotunde sub formă de perle.

Examenul fundului de ochi la mama pacientei decelează un clasic drusen papilar superficial AO. Pe baza caracterului ereditar și al modificărilor papilei, decelabile pe CT, concluzia este că nu a fost stază veritabilă, ci mai degrabă un drusen papilar modificat de fenomenele compresive datorate pneumosinusului dilatant sfenoidal.

La două luni postoperator pacienta își recapătă randamentul școlar, fără a mai prezenta simptome subiective.

DISCUȚII

Cefaleea, care domină tabloul clinic al pacientei, este un simptom cu o frecvență apreciabilă în patologia umană.³

Interpretarea parțială, fragmentată a cazului, inițial neurologică, apoi oftalmologică, nu soluționează cazul.

Pneumosinusul dilatant ca și entitate patologică lipsește din majoritatea tratatelor de specialitate.

Acestea considerăm a fi motivele pentru care a existat o întârziere în soluționarea diagnosticului.

CONCLUZII

Pneumosinusul dilatant reprezintă o afecțiune rară, afectarea sinusului sfenoidal fiind totuși cea mai frecvent întâlnită.

Nu există o statistică precisă a cazurilor, prezentările de cazuri fiind rar citate în literatura de specialitate.^{4,5}

Fără a fi complet elucidată etiopatogenia, este unanim acceptată intervenția chirurgicală de lărgire a orificiului sinusului, aceasta asigurând vindecarea.

Nerecunoașterea la timp a bolii duce la afectări ireversibile nervoase (e.g. cecitate), nu rareori bilaterale.²

Colaborarea strânsă între diferite specialități (oftalmologie, neurologie, ORL, radiologie) în această patologie de graniță, este singura șansă de diagnostic și tratament efectiv și eficient a unei afecțiuni deseori curabile.^{3,4,8}

BIBLIOGRAFIE

1. KAYALIOGLU G, OYAR O, GOVSA F - *Nasal cavity and paranasal sinus bony variations: a computed tomographic study*, Rhinology, 2000, 38:108-113.
2. MAROON JC, HEPLER R - *Pneumosinus dilatans, Klippel-Treilaunay-Weaver syndrome and progressive visual loss*, Annals Ophthalmol, 1995, 105-108.
3. MILLER NR, GOLNIK KC, ZEIDMAN SM et al - *Pneumosinus dilatans: a sign of intracranial meningioma*, Surg Neurol, 46:471-474.
4. MÜLFAY V - *Pneumosinus dilatant sfenoidal*, Otolaringol, 1975, 5:327.
5. REICHER MA, BEHTSON JR - *Pneumosinus dilatans of the Sphenoid sinus*, J Neurodiol, 1986, 7:891-898.
6. STAMMBERGER H - *Endoscopic and Radiologic Diagnosis*, in: Stammburger H, Hawke M: *Essentials of Endoscopic Sinus Surgery*, Mosby-Year Book, Inc St Louis, 1993, 59-108.
7. WORLEY GA, KOTNIS R, JACOME-HOOD J et al - *The effectiveness of guidelines in reducing inappropriate C.T scans of the paranasal sinuses*, Rhinology, 2001, 39:125-127.

IN MEMORIAM

50 DE ANI DE LA TRECEREA ÎN NEFIINȚĂ A PROFESORULUI DR. FESZT GYÖRGY SENIOR, PRIMUL DECAN ȘI RECTOR AL INSTITUTULUI DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN TÂRGU-MUREȘ

Chiar și după 50 de ani pentru acei ce l-au cunoscut pe Domnul Profesor Dr. Feszt György senior, imaginea și amintirile despre el rămân vii. În discursul de înmormântare s-a subliniat că cel plecat dintre noi a fost un cetățean fidel al Patriei, un membru marcant al breslei medicilor, medic distins, profesor și om de știință de seamă prin toată activitatea sa.

S-a născut la Cluj în 1899. Diploma de medic a dobândit-o în 1912 la Universitatea din Cluj. Din 1941 este conferențiar de radio-diagnostic, iar din 1945 la Facultatea de Medicină din Târgu-Mureș devine profesor și șeful Clinicii de Radiologie și Decanul Facultății de Medicină, iar mai apoi Rector. Se afirmă prin dinamism și inițiativă, având un rol însemnat în fondarea învățământului medical superior la Târgu-Mureș.

Acest om cu desăvârșire bun și inteligent, a dobândit aprecierea unanimă prin două aspecte ale activității sale: pe de o parte datorită activității profesionale, didactice și științifice de succes, iar pe de altă parte grație personalității și comportamentului respectuos și uman ca medic.

Pe lângă rezultatele profesional-științifice deosebite, se menționează și atitudinea sa exemplară în familie cu rădăcini în mediul natal. A devenit, grație marilor sale calități, un om într-adevăr însemnat, unul dintre cei mai de seamă reprezentanți ai școlii noastre de medicină și farmacie. Ceea ce a considerat bun și drept a apărut și a luptat împotriva a ceea ce a considerat rău sau a ceea ce a prejudiciat știința. Ca Decan al Institutului de Medicină și Farmacie din Târgu-Mureș în anii postbelici a avut ca principal obiectiv apărarea interesului studenților și rezolvarea imediată a tuturor problemelor lor. Tot astfel a abordat și problemele prijinirii activității științifice ale cadrelor didactice. A fost omul dreptății și al soluțiilor imediate. Și-a subordonat viața privată activității puse în slujba comunității fără a precupeți nici un efort pentru realizarea obiectivelor pe care și le-a propus.

Pe lângă preocupările sale multidirecționale didactice și organizatorico-administrative bine definite, a îndeplinit cu consecvență și munca de redactare și de publicare în diferite reviste, cum ar fi: Magyar Röntgen Közlöny, Magyar Nőgyógyászat, EME Értesítő, Erdélyi Orvosi Lap și Ardealul Medical. În paginile ultimei reviste a abordat subiectul conlucrării dintre colegii

ÖTVEN ÉVE HALT MEG ID. DR. FESZT GYÖRGY (1889-1952) A MAROSVÁSÁRHELYI ORVOSI ÉS GYÓGYSZERÉSZETI INTÉZET ELSŐ DÉKÁNJA ÉS REKTORA

Ötven év távlatában is elevenek a képek és a személyes emlékek, amelyek kísérik mindazokat, akik ismerték, szerették és együtt dolgoztak id. Feszt György professzorral. Az akkor elhangzott gyászbeszédekben kitűnt, hogy a nagy halott a hazának hű polgára, az orvosi rend díszje, jeles orvos, orvostanár és az orvostudomány jeles művelője volt.

Kolozsvárt, 1889-ben született, orvosi oklevelet 1912-ben ugyanott szerzett, 1941-től a kolozsvári Tudomány Egyetem Orvosi Karán a röntgen diagnosztika előadó tanára, 1945-től Marosvásárhelyen professzor, a röntgentani klinika vezetője, az Orvosi Kar dékánja, majd az Orvosi és Gyógyszerészeti Intézet rektora volt. Jelentős szerepe volt a marosvásárhelyi orvosi és gyógyszerészeti felsőoktatás megszervezésében.

Munkája nyomán két irányban érdemelt ki méltó és követendő elismerést: egyfelől tudományos és oktatói sikeres működése, másfelől tiszta jelleme és humánus orvosi magatartása által. A kitűnő szakorvos tudományos érdemeinek figyelembevételétől nem feledkezhetünk meg például családi életéről, gerincességéről és mindig az orvos és gyógyszerészhallgatók érdekeit támogató szeretetéről. Magatartásának vonásai a szülői házban örökölt erényeiben gyökereztek. Azt, amit jónak és igaznak látott, azért minden erejével fáradhatatlanul küzdött, a rosszat és a tudományra nézve károsnak tűnő dolgokat azonnal leleplezte és félreállította. Mint a marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Intézet első dékánjának célja a háború utáni első években az egyetemi hallgatók mindennemű problémáinak felkarolása és azok azonnali megoldása volt. Ugyanilyen hozzáállással kezelte a katedrák tudományos munkájában felmerült kérdéseket is. Az igazságos, a gyors és az azonnali megoldásos embere volt. A munkát tekintette értékhatározónak. Egyéni életét következetesen alárendelte a közösség szolgálatának, a ráháruló feladatokat szívesen vállalta, bár lelke mélyén többször nem volt derűlátó, de rendületlenül bízott, a fejlődésben, az újjáépítésben és a még megoldatlan kérdések megoldásában.

Kiterjedt tudományos és oktatói munkássága mellett igen bőven kivette részét az orvosi közéletből és a sokirányú társadalmi munkából. Mindezek mellett állandóan közölt tudományos munkákat a Magyar Röntgen Közlönyben, a Magyar Nőgyógyászatban, az EME Értesítőben, az Erdélyi

români și maghiari. Cartea publicată în 1948, intitulată: „Az orvosi röntgentan elméleti alapismeretei” (Principiile teoretice ale radiologiei medicale), a constituit un izvor de informații pentru multe generații de medici.

Profund mișcați de tragedia existenței umane, ne gândim că cel ce a fost de o hărnicie exemplară, deosebit de pretențios cu sine însuși, de o sensibilitate sufletească rară, Domnul Profesor a plecat dintre noi când aveam atîta nevoie de Dînsul, confirmînd că soarta umană are un sfîrșit hazarduos. Ne liniștește în schimb faptul că în timpul vieții sale, societatea, studenții, colegii cărora le-a dedicat viața l-au înconjurat cu respect și afecțiune.

Cu toate că pierderea sa este în primul rînd a familiei, după 50 de ani Domnul Profesor ne lipsește tuturora, mai ales pentru cei care au fost aproape de căldura inimii sale.

Profesorii facultății noastre, studenții și bolnavii aduc un pios omagiu și cu nostalgie își amintesc că acum 50 de ani a dispărut dintre noi Profesorul universitar DR. FESZT GYÖRGY SENIOR. Amintirea lui va rămîne veșnic vie în inimile noastre.

In numele discipolilor recunoșcători

Dr. Rácz Ludovic Ernest

Orvosi Lapban és az Ardealul Medical-ban. Ez utóbbiakban a román-magyar orvosi együttműködésről is írt. 1948-ban kiadott könyvéből „Az orvosi röntgentan elméleti alapismeretei”-ből számos orvosnemdzedék tanult.

... megrendülve szemléljük most is az emberi lét tragikumát és arra gondolunk, hogy a végtelen szorgalmú, önmagával szemben igényes, érzékeny lelkületű orvostanár akkor távozott sorainkból, amikor a legjobban szükség volt rá, bizonyítván az emberi sors kiszámíthatatlanságát. A vigasztalást abban látjuk, hogy mindig méltán vette körül a társadalom, az egyetem munkaközössége és a diákság, akikért dolgozott.

Ötven év távlatában is úgy érezzük, hogy a nagy veszteség közös, de a fájdalom leginkább a családtagoké és azoké, akik a nagy halott lelke melegéhez közel álltak.

Egyetemünk tanárai, diákjai és betegei kegyelettel emlékeznek meg az 50 éve elhunyt id. FESZT GYÖRGY-re. Híven és kegyelettel őrizzük emlékét.

Hálás tanítványainak nevében:

Dr. Rácz Lajos Ernő



Recomandări pentru autori

Revista de Medicină și Farmacie - Orvosi es Gyogyszerezeti Szemle este publicația Universității de Medicină și Farmacie din Târgu-Mureș, revistă care publică articole din orice domeniu al cercetării și practicii medicale în limbile română, maghiară și limbi de circulație internațională, cu tematica grupată în următoarele secțiuni: referate generale, articole originale, prezentări de cazuri clinice. Revista publică de asemenea scurte informări legate de apariții editoriale, participări la manifestări științifice, articole privitoare la istoria medicinei, stagi de pregătire sau orice alte aspecte ale vieții medicale și universitare.

Manuscrisele trebuie redactate în conformitate cu instrucțiunile prezentate mai jos, numai cele care vor respecta aceste cerințe urmând a fi înaintate spre aprobare Consiliului științific.

Manuscrisele vor fi depuse în plic închis la registratura Universității de Medicină și Farmacie din Târgu-Mureș (cam 142) sau vor fi trimise pe adresa Universitatea de Medicină și Farmacie din Târgu-Mureș, str. Ghe. Marinescu nr. 38, 4300 Târgu-Mureș, "pentru Revista de Medicină și Farmacie".

Un articol poate fi acceptat pentru publicare cu condiția ca acesta (sau părți din acesta) să nu fi fost anterior publicat decât în rezumat.

Toate articolele trimise spre publicare trebuie să fie însoțite de o "Scrisoare de însoțire" semnată de toți autorii articolului în care să se menționeze: 1. *faptul că lucrarea nu a mai fost trimisă spre publicare*, 2. *dacă lucrarea a fost/nu a fost publicată în rezumat*, 3. *dacă autorii doresc ca manuscrisul și ilustrațiile să le fie returnate în cazul neacceptării articolului*, 4. *dacă autorii sunt/nu sunt abonați ai revistei*, 5. *numărul de cuvinte conținute de manuscris (fără rezumat și legenda la figure)*, 6. *că este exclus orice potențial conflict de interese*.

CONSIDERENTE ETICE

Revista publică materiale referitoare la investigații umane sau experiențe pe animale cu condiția ca planul lucrării să fi fost aprobat de comitetele locale de etică sau să fie în concordanță cu standardele existente în țara de unde provine articolul.

Orice detalii sau fotografii trimise spre publicare în care s-ar putea realiza identificarea unui pacient trebuie să fie însoțite de consimțământul scris al pacientului sau al executorului său legal.

Pentru schemele și figurile provenite din alte materiale trebuie menționată sursa bibliografică sau permisiunea autorului.

FORMATUL MANUSCRISELOR

Manuscrisele se expediază în triplu exemplar, însoțite obligatoriu o dischetă (sau suport CD-ROM) conținând informația respectivă.

REDACTAREA MANUSCRISELOR va fi făcută la două rânduri, pe hârtie format A4, cu păstrarea de margini libere de 2,5 cm și folosind caractere românești de tip Arial 12 pt. Titlul articolului, rezumatele în limba română și engleză, textul articolului, figurile, legenda figurilor, tabelele, legenda tabelelor, bibliografia vor fi separate, fiecare, pe pagină separată.

PAGINA DE TITLU va include titlul articolului (în aceeași limbă ca și textul propriu-zis), prenumele și numele autorilor, locul de muncă al autorilor, adresa autorilor responsabili pentru corespondență.

TITLUL ARTICOLULUI va conține cel mult 100 caractere (inclusiv spațiile dintre cuvinte), fiind interzisă folosirea abrevierilor.

REZUMATUL va cuprinde maximum 200 cuvinte și se redactează în mod obligatoriu în limbile română și engleză. Rezumatul nu va conține tabele, figuri sau referințe bibliografice. Pe aceeași pagină vor fi menționate cel mult 4 cuvinte cheie sugestive pentru tematica articolului.

TEXTUL ARTICOLULUI va începe pe pagină separată, fără a fi precedat de titlu, fiind structurat în cazul articolelor originale sub următoarea formă: introducere, material și metodă, rezultate, concluzii și discuții.

Lungimea articolului va fi cuprinsă între: 1000-2000 cuvinte pentru editoriale, 2500-4000 cuvinte pentru referate

generale, 1500-2500 cuvinte pentru articole originale și 1000-1500 cuvinte în cazul prezentărilor de caz.

Cu excepția unităților de măsură se recomandă evitarea abrevierilor; în situația în care acestea nu pot fi evitate, explicarea acestora se va face la prima mențiune în text.

TABELELE se redactează pe pagină separată și se numerotează cu cifre romane.

FIGURILE se redactează pe pagină separată și se numerotează cu cifre arabe; graficele vor fi executate fără fundal, în nuanțe alb/negru/gri.

Se acceptă o figură și un tabel la fiecare 400 cuvinte. Figurile și tabelele se citează în text în paranteze rotunde conform modelului: (Figura 1, Tabelul I), fiind specificată poziția acestora în text printr-un chenar în interiorul căruia se va înscrie numărul figurii sau al tabelului. Legenda figurilor sau tabelelor se redactează pe pagină separată.

Vor fi acceptate fotografii clare, originale, realizate alb/negru (expediate în 3 exemplare, în plciuri separate), cu dimensiuni 80/80 mm, pe fiecare figură fiind notat numărul figurii și orientarea acesteia (sus /dreapta /stânga /jos).

În cazul preluării figurilor sau tabelelor din alt material, autorul trebuie să precizeze sursa bibliografică, eventual permisiunea autorului. Desenele originale vor fi semnate de autor.

Nu se precizează în textul articolelor numele celor care au efectuat diferite investigații sau analize de laborator.

MULȚUMIRI. Se prezintă la sfârșitul textului, înainte de bibliografie, împreună cu suficiente detalii privitoare la sprijinul primit (fonduri, echipamente, medicamente).

BIBLIOGRAFIA se citează în text în paranteze drepte [1, 2] și se numerotează în ordine alfabetică. Pentru fiecare referință se vor menționa cel mult trei autori, pentru restul folosindu-se abrevierea et al. Pentru titlul revistelor, abrevierile se vor face în conformitate cu Index Medicus, U.S. National Library of Medicine. Dacă revista nu este citată în Index Medicus, se scrie numele ei complet.

Editarea bibliografiei se va face respectând întocmai (tip de caractere, ordinea citărilor, semne de punctuație) următorul model:

-pentru articole se menționează: numele autorilor, titlul articolului, numele revistei, anul apariției, volumul, prima și ultima pagină.

Exemplu:

Chung DR, Yang WS, Kim SB et al - *Treatment of hepatitis B virus associated glomerulonephritis with recombinant human alpha-interferon*, Am J Nephrol, 1997, 17: 112-117

-pentru cărți se menționează: autorul capitolului, numele capitolului, editorii, numele cărții, editura, anul apariției, prima și ultima pagină.

Exemplu:

Franz M - *Monophasic action potential mapping*, in Shenasa M, Borggreffe M, Breithardt G (eds): Cardiac Mapping, Futura Publishing Co Inc Mount Kisco, NY, 1993, 565-583

REDACTARE COMPUTERIZATĂ

Pentru fișierele text este acceptată redactarea cu versiunea Word for Windows 97 (Office 97) a editorului de texte Word for Windows (*.doc). Fotografurile sunt acceptate în format *.jpg, *.tif, versiune grayscale. Graficele se vor efectua în Word for Windows 97, nu vor conține fundal, vor fi realizate în nuanțe de gri și se vor salva sub formă de document (*.doc). Tabelele vor fi redactate și salvate în formatul Word 97 (*.doc).

CONTROLUL MANUSCRISELOR

Nu mai manuscrisele care vor respecta indicațiile de mai sus vor fi examinate de Colegiul de redacție și Consiliul științific și trimise la referenți. Numai după includerea articolului într-un număr al revistei autorii vor primi o scrisoare prin care se certifică acceptarea articolului.

