

P.11 616

Revista de Medicină și Farmacie

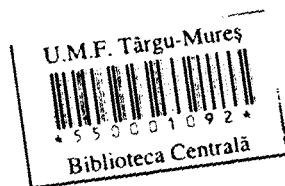
Vol. 53
2007²

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, 540142 Târgu Mureș
Tel. (+40)-265-215551, Fax (+40)-265-210407

CONSILIUL ȘTIINȚIFIC

Prof. dr. Constantin Copotoiu
Rector

Prof. dr. Örs Nagy
Prof. dr. Klara Brânzaniuc
Prorector

Prof. dr. Ioan Nicolaescu
Cancelar

Conf. dr. Virgil Gliga
Prof. dr. Sorin Popșor
Prof. dr. Maria Dogaru
Decan

Prof. dr. Gyöngyi Dudutz
Prof. dr. Galafton Oltean
Prof. dr. Dezső Kovács
Secretari științifici

COLEGIUL DE REDACȚIE

Prof. dr. Marius Sabău
Redactor șef

Șef lucr. dr. Carmen Căldăraru
Secretar de redacție

Prof. dr. Francisc Schneider
Prof. dr. Toru Shimizu
Prof. dr. Nicole Berger
Prof. dr. György Benedek
Prof. dr. Miklós Kasler
Prof. dr. Zoltan Szentirmay
Prof. dr. Dan Teodor Simionescu

Prof. dr. Angela Borda
Prof. dr. Carol Cséő
Prof. dr. Radu Deac
Conf. dr. Dan Dobreanu
Conf. dr. Grigore Dogaru
Prof. dr. Imre Egyed
Prof. dr. Ștefan Hobai
Șef. lucr. dr. Silvia Imre
Conf. dr. Monica Monea Pop
Prof. dr. Ioan Muntean
Prof. dr. Monica Sabău
Prof. dr. Béla Szabo
Conf. dr. Tibor Szilágyi
Șef. lucr. dr. Camil E. Vari
Redactor

Tehnoredactare: Deak Vasile
Coperta: MasterDruck Târgu Mureș

In memoriam Gheorghe Arsenescu

Hipertensiunea pulmonară asociată infecției HIV

Anca Georgescu 89

Analiza deplasării dentare și a distribuției stress-ului
sub acțiunea forțelor ortodontice

Ligia Cristina Brezeanu, Cristina Bică, Alexandru Monea,
Monica Pop 96

MLPA – o metodă nouă pentru identificarea mutațiilor genice și
cromozomiale

Katalin Csép 101

Aportul ultrasonografiei standard și Doppler în diagnosticul
bolilor renale

Mirela Gliga 107

Rosmarinic acid in the genus *Stachys* L.

Szilvia Czigle, Erzsébet Háznagy-Radnai,
J. Tóth, I. Máthé, D. Grančai 114

Corelarea aspectelor endoscopice ale mucoasei gastrice obținute
prin endoscopia cu magnificație, cu aspecte clinicopatologice

Daniela Dobru, Simona Muresan, Angela Borda,
Simona Mocanu, Simona Stolnicu 118

Infiltratul limfocitar intratumoral: factor prognostic
al melanomului malign

Réka Dösa, Emőke Horváth, Z. Pávai, O. Stan 124

Determinarea cantitativă a unor aditivi alimentari din băuturi
răcoritoare

Ana-Maria Fárr, Monica Tarcea, Simona Drăgoi, Antonia Orban,
Ramona Ureche, Katika Péter 129

Aspecte clinice și terapeutice în hipospadias

H. Gozar, Angela Borda, V. Gliga 132

Adenocarcinomul de prostată metastazat la nivel osos -
mortalitatea pe parcursul a 4 ani de hormonoterapie

Roxana L. Lucaciu, Lucia Dican, Corina ML Ionescu, MT Bojiță 135

Determinarea pentoxifilinei din matrițe hidrofile prin cromatografie
de lichide de înaltă performanță

Eleonora Mircia, Silvia Imre, Emese Sipos, Adriana Popovici,
Veronica Avrigeanu 139

Comparare a 3 doze diferite de misoprostol administrat după mifepriston pentru inducerea medicamentoasă a avortului – un studiu multicentric, randomizat, controlat, dublu-orb L. Pușcașiu, B. Szabo, C. Enciulescu, M. Horga, F. Rosznyai, R. Făgărășan, O. Pupăză, M. Căpîlnă, C. Molnar, C. Mărginean, R. Nicolau, Sz. Kiss	143
Cunoștințe de educație sexuală într-un eșantion populațional urban Cornelia Rada, Monica Tarcea, Prejbeanu Ileana	148
Studiu privind cunoașterea și implementarea sistemului HACCP la unități producătoare din județul Mureș Monica Tarcea, Anna-Mária Fárr	154
Analiza componentelor chimice ale apei potabile din Municipiul Târgu-Mureș Ramona Ureche, Monica Tarcea	158
Managementul de spital - mortalitatea intraspitalicească la nivel național E. Wusinczky, Monica Tarcea, Ramona Ureche	163



In memoriam Gheorghe Arsenescu

(1919-1987)

Se împlinesc în acest an 20 de ani de la moartea celui care a fost în anii "60-"80 o figură proeminentă a universității noastre - profesorul Gheorghe Arsenescu.

S-a născut în 1919 în comuna argeșeană Cocu și după absolvirea în 1944 a Institutului Medical Sanitar de la Facultatea de Medicină din București a participat la cel de al 2-lea război mondial pe frontul de vest în calitate de medic al regimentului 11 infanterie. Pentru fapte de viteză în luptele pentru eliberarea Ardealului, la Oarba de Mureș în toamna anului 1944, a fost decorat cu ordinele Coroana României și Mihai Viteazul cu spade.

A lucrat începând din 1950 la Institutul de Fiziologie Normală și Patologică sub conducerea profesorului Daniel Danielopolu, al cărui elev a fost, iar apoi din 1957 sub conducerea profesorului Grigore Benetato.

În 1963 este numit conferențiar la catedra de Fiziologie de la Institutul de Medicină și Farmacie din Târgu-Mureș. În 1968 obține titlul de profesor și devine șef al catedrei, funcție în care va activa până în 1987. A fost conducător de doctorat (1969) și a obținut titlurile de profesor universitar emerit (1971) și doctor docent (1973).

Domeniul principal de preocupare științifică încă din anii "50 a fost electrofiziologia miocardică în care a

abordat probleme de avangardă pe atunci - interpretarea și analiza vectorială a ECG, valoarea construcției diferențiale a acesteia, electrofiziologia infarctului miocardic, valoarea gradientului ventricular.

În 1957 face o călătorie de studii în Germania unde se familiarizează cu metodele moderne de electrofiziologie bazate pe înregistrările cu micro-electrozi și aduce în țară o instalație adecvată unor astfel de studii pe care le va dezvolta la Târgu-Mureș împreună cu colaboratorul său Marius Sabau. A studiat efectele asupra miocardului normal sau hipertrofic de șobolan ale unor substanțe sau mediatori chimici, ale radioizotopilor și ale razelor X sau ale întinderii. Studiile electrofiziologice au fost corelate cu cele de biochimie, histologie și histochimie.

Rezultatele cercetărilor au fost comunicate la numeroase manifestări științifice naționale și internaționale la care a participat sau publicate în reviste și cărți de specialitate.

Nu a neglijat nici studiile de fiziologie clinică pe care le-a început sub influența maestrului său Daniel Danielopolu. Astfel, a urmărit variațiile normale ale ECG ortogonale la indivizii sănătoși în funcție de vârstă și sex, măsurătorile prelucrate cu ajutorul calculatorului la Institutul de Fizică Atomică din București constituind criterii pentru diagnosticul automat al ECG folosind analiza multivariată în premieră în România.

A ținut cursuri de înaltă ținută academică pe care studenții le-au apreciat cu atât mai mult cu cât a avut față de ei mereu un comportament cu adevărat părintesc. A fost sever cu colaboratorii pe care i-a îndrumat în formarea lor cu multă exigență dar cu o corectitudine exemplară.

A fost membru al Consiliului Științific al Facultății de Medicină și al Consiliului Științific al Institutului de Medicină și Farmacie din Târgu-Mureș.

A fost membru permanent al Consiliului Internațional al Societății de Electrocardiologie începând din 1987 și a participat cu lucrări la congresele anuale ale societății.

Profesorul Arsenescu a fost creatorul școlii de electrofiziologie miocardică experimentală și clinică la Târgu Mureș, școală care continuă și în prezent linia imprimată cu peste 4 decenii în urmă.



*Prof. dr. Marius Sabau
șeful catedrei de Fiziologie
UMF Târgu-Mureș*

Hipertensiunea pulmonară asociată infecției HIV

Anca Georgescu

Hipertensiunea pulmonară asociată infecției HIV este o complicație cardiovasculară a infecției HIV care a crescut dramatic ca frecvență la pacienții supuși terapiei antiretrovirale înalt active. Evoluția naturală a bolii este spre o progresivă creștere a rezistenței vasculare pulmonare, cu insuficiență ventriculară dreaptă și moarte. Hipertensiunea arterială pulmonară este dificil de diagnosticat iar tratamentul acesteia reprezintă o adevărată provocare. Articolul trece în revistă cele mai recente date cu privire la epidemiologia, fiziopatologia, diagnosticul și terapia bazată pe studii clinice a acestei afecțiuni.

Cuvinte cheie: HIV, hipertensiune pulmonară, diagnostic, tratament

HIV-related pulmonary hypertension is a cardiovascular complication of HIV infection that has dramatically increased in patients with highly active antiretroviral therapy. The natural evolution of the disease is characterized by a progressive increase in pulmonary vascular resistance leading to right ventricular failure and death. Pulmonary arterial hypertension is often difficult to diagnose and challenging to treat. This paper provides most recent data about epidemiology, pathophysiology, diagnosis and evidence-based treatment recommendations for this disease.

Key words: HIV, pulmonary hypertension, diagnosis, therapy

Hipertensiunea pulmonară (HTP) asociată infecției HIV a fost descrisă pentru prima dată în 1987, pentru ca astăzi să se contureze ca un sindrom cu o patogeneză complexă, frecvent asociat afectării multisistemice produse de HIV.³³ Hipertensiunea pulmonară este definită prin creșterea presiunii medii în artera pulmonară peste 25 mm Hg în repaus și peste 30 mm Hg la efort.^{25, 26, 28}

Deși asemănătoare cu hipertensiunea pulmonară primitivă, această hipertensiune pulmonară asociată infecției HIV prezintă o serie de particularități epidemiologice: predominența la sexul masculin și o vârstă medie a pacienților de aproximativ 33 de ani; au fost citate câteva zeci de cazuri la copii.^{1, 4, 33} Prevalența globală a sindromului de hipertensiune pulmonară este de 0,5% la pacienții cu infecție HIV.^{13, 23, 28}

PATOGENEZĂ

Sexul masculin pare a fi un factor de risc pentru hipertensiunea pulmonară asociată infecției HIV, la fel și hemofilia (13% din copii).^{28, 42} Un factor de risc cert pentru dezvoltarea acestui sindrom îl reprezintă anumite gene ale complexului major de histocompatibilitate – HLA-DR6 și HLA DR52, care predispon la un răspuns imunologic care va promova

leziunile vasculitice pulmonare și hipertensiunea pulmonară consecutivă.²⁶ Nu există însă date care să confirme o corelație între frecvența sau severitatea acestui sindrom și statusul imunologic al pacientului (numărul de limfocite TCD).⁴⁴ Totuși, unele studii indică presiuni medii în artera pulmonară mai mari la pacienții cu infecție HIV în stadiul de SIDA, dar fără a indica dacă aceasta este secundară unei boli a parenchimului pulmonar (frecvente în acest stadiu) sau aparent legată doar de HIV.^{24, 40} Unele studii indică o regresie a severității hipertensiunii pulmonare în paralel cu restaurarea imunologică secundară HAART.^{37, 43}

La fel ca și în cazul hipertensiunii pulmonare primitive, hipertensiunea pulmonară asociată infecției HIV are o patogenie extrem de complexă, fiind incriminate un răspuns vasomotor anormal al patului vascular pulmonar, tulburări ale angiogenezei pulmonare și tulburări ale canalelor ionice celulare. La acestea se adaugă disfuncția ventilatorie restrictivă și obstructivă produsă de infecțiile pulmonare recurente, cu hipoxie și hipertensiune pulmonară secundară, infecția cu alte virusuri, în special virusurile hepatitice B și C dar și CMV, consumul de cocaină și de droguri de uz intravenos.^{28, 29, 30, 31, 38}

Rolul infecției HIV „per se” în patogeniza hipertensiunii pulmonare este foarte discutat. Datele experimentale sugerează cu tărie că HIV nu poate infecta endoteliul pulmonar sau alte structuri ale vaselor pulmonare, spre deosebire de structuri endoteliale cu

altă topografie (cerebrală, coronariană, limfatică, etc) care pot fi infectate de către acesta.^{16,44} De aici și concluzia că efectul HIV de producere a hipertensiunii pulmonare trebuie să fie unul indirect, prin mediatori ai inflamației, factori de creștere sau promovarea producerii de substanțe vasoactive.^{28,30,44}

Celulele endoteliale și celulele musculare netede din patul vascular pulmonar sunt foarte susceptibile la proliferarea indusă sub acțiunea unor citokine inflamatorii cum sunt interleukina 6, interleukina 1 β și factorul de necroză tumorală α . Acești mediatori ai inflamației prezintă frecvent niveluri serice foarte ridicate la pacienții cu infecție HIV, exercitând numeroase efecte negative asupra multor organe și sisteme. Sub acțiunea acestor mediatori ai inflamației, prin creșterea expresiei moleculelor de adeziune celulară, mai ales la nivelul venulelor postcapilare, se recrutează un infiltrat inflamator limfoplasmocitar în interstițiul pulmonar și perivascular, infiltrat care va crește producția de citokine și va închide un cerc vicios care întreține hipertensiunea pulmonară. Mediatorii inflamației pot produce hipertensiune pulmonară și prin efectul de stimulare a factorului de creștere plachetar, care va exercita acțiune procoagulantă asupra endoteliului capilar, cu microtromboze capilare consecutive. Efectul este mai pronunțat sub acțiunea interleukinei 1 β , expresia acestui mediator fiind mult crescută la pacienții cu infecție HIV și hipertensiune pulmonară.^{15,17,18, 42, 46,48}

Proliferarea endotelială și tulburările angiogenezei pulmonare pot fi secundare acțiunii proteinei HIV tat. Acțiunea acestei proteine asupra patului vascular pulmonar este duală: pe de o parte acționează direct ca un agent proliferativ endotelial și pe de altă parte scade expresia unor gene care inhibă procesul de proliferare a endoteliului pulmonar.^{45,46}

Mediatori vasoactivi precum oxidul nitric, prostaciclina și endotelinele pot juca un rol crucial în dezvoltarea hipertensiunii pulmonare asociate infecției HIV, alături de mecanismele proliferative ale patului vascular pulmonar descrise anterior.^{10,29,30}

Oxidul nitric are un rol fiziologic de relaxare a celulelor musculare netede pe calea GMP ϵ . În cursul infecției HIV pot apărea tulburări ale mecanismelor fiziologice vasodilatatoare ale oxidului de azot, tulburări care pot duce la un deficit al concentrației acestuia la nivel vascular și hipertensiune pulmonară consecutivă. Fiziopatologia deficitului este complexă și are mai multe verigi. Astfel, macrofagele infectate HIV produc mari cantități de superoxid care interacționează rapid cu oxidul nitric, transformându-l în peroxinitrit și întrerupându-i precoce efectul fiziologic.²⁸ La fel, endotelina 1 (ET-1), după legare de receptorul endotelial ET $_A$, crește producția endotelială de superoxid, rezultând același efect de metabolizare mai rapidă a oxidului de azot. În paralel, apar mecanisme compensatorii, de augmentare a acțiunii NOS și de stimulare de către ET-1 a receptorului endotelial ET $_B$ care are efect inductiv asupra NOS. Cu toate acestea,

se pare că persistă un deficit de NO la nivelul endoteliului vascular, care poate duce la hipertensiune pulmonară și la un răspuns exagerat al endoteliului vascular la hipoxie sau mediatori ai inflamației.^{17,21,22,32}

Un alt vasodilatator al patului vascular pulmonar care intervine în reglarea presiunii pulmonare este prostaciclina. La pacienții cu infecție HIV au fost demonstrate concentrații scăzute ale prostaciclinei la nivelul patului vascular pulmonar, alături de scăderea prostaciclin-sintetazei și a expresiei „ARN responsabil de sinteza acestei enzime. Tratamentul substitutiv cu prostaciclina a ameliorat hipertensiunea pulmonară asociată infecției HIV, ceea ce întărește ipoteza intervenției deficitului de prostaciclină în patogeniza acestei hipertensiunii pulmonare.^{2,18}

Endotelinele sunt agenți cu efect vasoconstrictor marcat asupra vaselor pulmonare și cu efecte proliferative asupra celulelor musculare netede din peretele vascular, fiind incriminate în patogeniza hipertensiunii pulmonare asociate infecției HIV.²¹ Glicoproteina gp120 a HIV stimulează puternic producția de endoteline de către macrofagele infectate, explicând astfel nivelurile plasmatice și tisulare crescute ale acestui mediator la pacienții cu infecție HIV.¹⁸ Sunt descrise trei tipuri de endoteline (ET $_1$, ET $_2$, ET $_3$) și două categorii de receptori pentru endoteline (ET $_A$ și ET $_B$). ET $_A$ este sensibil doar la ET $_1$, mediind vasoconstricția, iar ET $_B$ este sensibil la toate clasele de endoteline, mediind vasoconstricție a celulelor musculare netede dar și vasodilație endotelială. Efectele endotelinelor sunt cele mai pronunțate pe arterele pulmonare mici, „de rezistență” și au un rol patogenic cert în hipertensiunea pulmonară asociată infecției HIV.^{18,22}

Având în vedere slaba corelație între nivelurile crescute de prostaciclină, endoteline și gradul hipertensiunii pulmonare la pacienții cu infecție HIV, au fost cercetați factori genetici care ar crește susceptibilitatea subiecților la diverși agenți vasoconstrictori. Astfel, studiul claselor II ale HLA a identificat ca factori de risc pentru hipertensiunea pulmonară asociată HIV HLA-DR6 și HLA-DR52.²⁶

Hipoxia alveolară este unul din factorii patogenetici importanți ai hipertensiunii pulmonare asociate infecției HIV, având în vedere frecvența afectare restrictivă a parenchimului pulmonar în condițiile statusului de imunodeprimat. Hipoxia alveolară duce la un reflex vasoconstrictor pulmonar care este până la un punct benefic, deoarece reduce șuntul sanguin intrapulmonar neperfuzând alveolele neventilate. Depășirea efectelor benefice ale reflexului duce la hipertensiune pulmonară. Sediul reflexului este la nivelul arterelor musculare mici și arteriolelor, mediatorul fiind hipoxia, acidoza și concentrația crescută a leucotrienelor. Treptat, are loc o creștere a expresiei receptorilor alfa adrenergici, care cresc astfel reactivitatea vasculară. Reflexul este contrabalansat de prostaciclină, oxidul nitric, inhibitorii canalelor lente de calciu, betasimpatomimetice. În timp, hipoxia alveolară duce la hiperplazia fibrelor musculare netede.

Reactivitatea acestui pat muscular hipertrofiat este mult crescută, închizând astfel un cerc vicios care întreține și agravează hipertensiunea pulmonară.^{18,30,44}

În concluzie, nu putem vorbi de un mecanism patogenetic unic al hipertensiunii pulmonare asociate infecției HIV. Există persoane cu o susceptibilitate genetică aparte la acțiunea agenților vasoconstrictori produși datorită agresiunii virale, la care se adaugă o categorie de pacienți cu hipoxie alveolară produsă prin afectarea parenchimului pulmonar de către variații agenți patologici.¹⁸

Examenul histopatologic al biopsiilor pulmonare la acești pacienți pune în evidență modificări foarte asemănătoare cu cele întâlnite în hipertensiunea pulmonară primitivă neasociată cu HIV.^{1,11} Modificările morfopatologice cele mai evidente se înregistrează la nivelul arteriolelor precapilare și constau în îngroșare a mediei arteriole, fibroză adventicială, proliferări intinale, ateroame, necroză fibrinoidă a peretelui vascular cu infiltrat inflamator cu polimorfonucleare neutrofile și eozinofile, leziuni cavernoase cu aspect "pseudovenos" ale unor segmente de perete arterial, leziuni angiomatoide, extindere perivasculară a fibrozei cu aspect de „bulb de ceapă”, leziuni "plexiforme" cu dilatări alternând cu stenoze ale lumenului vascular, pe alocuri cu trombi repermeabilizați.⁴⁵ Global, se constată o reducere a numărului de arteriole pe unitatea de parenchim pulmonar. Leziunile nu sunt prin nimic specifice hipertensiunii pulmonare asociate infecției HIV, fiind asemănătoare cu cele din hipertensiunea pulmonară primitivă sau secundară unor boli pulmonare cronice. Totuși, frecvent se asociază un infiltrat inflamator limfoplasmocitar pulmonar. Nici microscopia electronică, nici imunohistochimia nu au reușit să dovedească prezența HIV la nivelul țesutului pulmonar sau al vaselor tributare acestuia.^{23,30,42,46}

TABLOU CLINIC

Manifestările clinice pot fi înșelătoare la un pacient la care nu suspiciunea o boală cardiovasculară. Primul și cel mai frecvent simptom este dispneea, care îmbracă un caracter progresiv, de la dispnee la eforturi mari până la dispnee severă, de repaus; este de remarcat absența unei afectări pulmonare semnificative care să explice dispneea, această discrepanță fiind cea care îndrumă clinicianul spre explorarea aparatului cardiovascular.^{3,23} Fatigabilitatea însoțește dispneea, fiind greu de deosebit la copii de alterarea stării generale secundare infecției HIV.⁶ Durerile toracice apar la peste 50% din pacienți, fiind secundare dilatării arterei pulmonare; durerea poate îmbrăca caracterul anginei pectorale și de obicei se asociază cu hipertensiune pulmonară severă.²⁷ Sincopa de efort apare la pacienții cu hipertensiune pulmonară severă, pe fondul neadaptării debitului cardiac sistemic la necesitățile crescute.^{6,11} Ocazional pot fi înregistrate tuse neproductivă, hemoptizii, variate tulburări de ritm ale inimii.⁶ De remarcat evoluția relativ rapidă în timp a acestui tablou simptomatic, care se conturează în forma severă în aproximativ 6 luni,

spre deosebire de hipertensiunea pulmonară primitivă neasociată infecției HIV, în care simptomele de mai sus se conturează în 2-3 ani.^{11,23,34}

Examenul obiectiv pune în evidență acrocianoza sau chiar cianoza generalizată (30-50%), care reflectă destul de fidel gravitatea hipertensiunii pulmonare. Degetele hipocratice se evidențiază la 10% din pacienți, fiind secundare eliberării factorului de creștere plachetar din trombocitele stagnante în capilarele periferice. Examenul cordului poate pune în evidență cardiomegalie, pulsații xifoidiene ale ventriculului drept, accentuarea și dedublarea zgomotului II la focarul arterei pulmonare, clacment protosistolic pulmonar, suflu sistolic pulmonar. Apariția insuficienței ventriculare drepte se traduce prin turgescența venelor jugulare, hepatomegalie și edeme periferice, suflu de insuficiență tricuspidiană, galop ventricular drept. Frecvent se conturează tabloul insuficienței cardiace globale. Valorile tensiunii arteriale sistemice sunt cel mai adesea normale.^{11,23,34,36}

Radiografia toracică pune în evidență hipertrofia arterei pulmonare (90%), accentuarea desenului vascular hilar (80%) și scăderea desenului vascular periferic (50%).^{26,33,34,38} La fel de importantă ca înregistrarea acestor aspecte este lipsa unei afectări semnificative a parenchimului pulmonar, în măsură să producă dispnee.²⁴ Electrocardiografic se identifică cel mai adesea deviație axială dreaptă, hipertrofie sau „fortare” ventriculară dreaptă. Hipertrofia atriului drept se traduce prin unde „p” ample în derivațiile inferioare, bloc minor sau major de ramură dreaptă, tahicardie sinusală.^{23,31} Ecocardiografia pune cel mai adesea în evidență dilatație ventriculară dreaptă, dilatație atrială dreaptă, regurgitare tricuspidiană; tot ecocardiografic se pot face aprecieri destul de fidele ale presiunilor în artera pulmonară și cavitățile drepte și ale parametrilor funcționali ai ventriculului drept.^{5,9,11,42,44} La suspiciunea de hipertensiune pulmonară asociată infecției HIV se impune cateterismul cardiac cu măsurarea parametrilor hemodinamici și oximetriei ai cavităților drepte și efectuarea angiografiei pulmonare.^{42,44} Uneori poate fi necesară efectuarea unei biopsii pulmonare pentru confirmarea sau infirmarea unei pneumopatii difuze drept cauză a hipertensiunii pulmonare.^{11,42,46}

PRINCIPII TERAPEUTICE

Premisa tratamentului hipertensiunii pulmonare la un pacient cu infecție HIV o reprezintă o solidă documentare a acesteia – examen clinic, radiologic, ecocardiografic, cateterism cardiac, în anumite cazuri biopsie pulmonară, măsurarea principalilor parametri funcționali pulmonari, scintigrafia pulmonară – și pe baza acestei documentări stabilirea etiologiei ei, aparent primitivă, asociată infecției HIV sau secundară unor anomalii cardiace sau vasculare (disfuncție miocardică, cardiomiopatie dilatativă cu fenomene de insuficiență cardiacă, valvulopatii pulmonare, tricuspidiene, mitrale, aortice, tromboembolism pulmonar recurent sau acut,

vasculite sistemice), anomalii pulmonare (pneumonie cu *Pneumocystis carinii*, pneumonie interstițială limfocitară, pneumonie interstițială nespecifică, pneumonie cu CMV, sarcoidoză, afecțiuni restrictive ale parenchimului pulmonar prin tuberculoză, pleurezii, supurații pleuropulmonare).^{1,11,28}

În funcție de etiologia secundară, cu etiologie bine stabilită sau aparent primitivă, și conduita terapeutică este diferită. În primul caz vom proceda la un tratament etiologic, pe când în cel de al doilea la un tratament patogenetic.

Măsurile generale în tratamentul hipertensiunii pulmonare asociate infecției HIV sunt de o deosebită importanță. Astfel, pacienții trebuie sfătuiți să evite eforturile fizice mari sau chiar medii. Sarcina este contraindicată, agravând prin suprasolicitarea hemodinamică hipertensiunea pulmonară (HTP), indiferent de etiologie iar travaliul fiind grevat de riscul morții subite. Pacienții trebuie să evite infecțiile respiratorii, care pot duce la agravări ale HTP sau care pot evolua deosebit de sever la pacienții cu HTP. Consumul de contraceptive orale este contraindicat la pacienții cu HTP asociată infecției HIV, dar acest aspect ocupă un loc mai puțin important (dar nu de neglijat) la pacienții pediatrie. La fel și consumul de cocaină sau droguri de uz intravenos, care agravează marcat hipertensiunea pulmonară. În cazurile severe, cu insuficiență cardiacă dreaptă, repausul la pat cu trunchiul ridicat este important. Oxigenoterapia este indicată la o saturație a O₂ de sub 90-92%, dar oxigenoterapia cronică, cu debit mic, nu s-a dovedit benefică, modificările patului vascular pulmonar fiind ireversibile și efectul vasodilatator pulmonar al oxigenului nefiind manifest.^{6,11}

Hipertensiunea pulmonară secundară unor boli asociate infecției HIV beneficiază în primul rând de un tratament etiologic. Astfel, pneumonia cu CMV beneficiază de tratament cu ganciclovir sau foscarnet; pneumonia cu *Pneumocystis carinii* beneficiază de tratament cu trimetoprim-sulfametoxazol și pentamidină; pneumonia interstițială limfocitară și sarcoidoza pot beneficia de corticoterapie. Tuberculoza pulmonară cu variate tulpini de micobacterii beneficiază de tratament antituberculos, iar infecțiile bacteriene pulmonare de antibioterapie nespecifică. Pacienții cu cardiomiopatie dilatativă și insuficiență cardiacă și HTP secundară beneficiază de tratamentul convențional al insuficienței cardiace. De tratament specific beneficiază pacienții cu valvulopatii de diverse etiologii. Trombembolismul pulmonar recurent cu HTP are indicație de anticoagulare cronică, iar vasculitele sistemice beneficiază de terapie imunosupresoare. Hipertensiunea pulmonară din ciroza hepatică poate fi influențată favorabil de tratamentul etiologic al cirozei (terapie antivirală în ciroza virală B) și în mică măsură de tratamentul convențional al hipertensiunii portale și al consecințelor acesteia.^{6,28} În toate aceste hipertensiuni pulmonare secundare unor boli asociate infecției HIV, optimizarea tratamentului antiviral este de mare importanță.^{6,20,49,50,51}

Tratamentul hipertensiunii pulmonare aparent primitive asociate infecției HIV se lovește tocmai de lipsa identificării unui agent etiologic; în consecință tratamentul este unul patogenetic sau simptomatic.

Efectul terapiei antiretrovirale în tratamentul hipertensiunii pulmonare asociate infecției HIV este puțin cunoscut. Date clinice neconfirmate încă de studii largi indică un efect favorabil al unor agenți antiretrovirali asupra hipertensiunii pulmonare. Aceștia ar fi zidovudina, didanosina, lamivudina, indinavirul. Unele studii au arătat o frecvență mai mică a hipertensiunii pulmonare la pacienții tratați doar cu inhibitori nucleozidici de reverstranscriptază decât la pacienții cu terapie HAART (0,7% versus 2,0%), dar, pe de altă parte, rolul HAART în etiologia HTP nu este bine dovedit iar beneficiile HAART depășesc cu mult posibilele efecte deletere ale terapiei legate de evoluția HTP. În general, un status imunologic bun ameliorează evoluția naturală a majorității afecțiunilor asociate infecției HIV, deci un regim terapeutic antiretroviral corect condus reprezintă o premisă a unei evoluții mai bune a patologiei cardiovasculare asociate HIV în general.^{6,37,49,50,51}

Folosirea tratamentului vasodilatator în tratamentul HTP asociate infecției HIV se bazează pe premisa reducerii postsarcinii ventriculului drept. Efectul vasodilatatoarelor asupra circulației pulmonare este modest sau nul, hipertensiunea arterială pulmonară fiind „fixă”, dar, în anumite cazuri și aceasta poate fi influențată de terapia vasodilatatoare. În condiții ideale ar trebuie făcută o selecție a pacienților care beneficiază de terapie vasodilatatoare orală. Un criteriu ar fi creșterea debitului cardiac fără creșterea presiunii arteriale pulmonare (PAP) sau și mai bine scăderea PAP la administrarea intravenoasă de prostaciclina.¹¹

Agenții vasodilatatori „per os” folosiți sunt blocanții canalelor de calciu, inhibitorii enzimei de conversie a angiotensinei și nitrații.

Dintre blocanții canalelor de calciu cel mai folosit sunt nifedipina, în doze de 30-60 mg/zi sau diltiazemul, în doze de 300-600 mg/zi. Studii mai recente utilizează amlodipina. Unii pacienți au răspuns terapeutic favorabil, dar efectele sunt, apreciate global, modeste. Efectele adverse ale terapiei cu calciu blocante pot fi importante. Astfel, acești agenți prezintă efect inotrop negativ, putând duce la scăderea debitului cardiac. Frecvent duc la hipotensiune arterială sistemică și la retenție de sodiu cu edeme periferice.^{3,9}

Alți agenți vasodilatatori orali cum sunt inhibitorii enzimei de conversie ai angiotensinei, nitrații, hidralazina, isoproterenolul, diazoxidul și tolazolina nu au fost eficienți în tratamentul HTP asociate infecției HIV. Totuși, acești agenți sunt utili sau chiar indispensabili în tratamentul insuficienței ventriculare drepte care apare secundar hipertensiunii pulmonare. În aceeași situație este indicat tratamentul diuretic, care însă trebuie administrat cu prudență, întrucât poate reduce marcat presarcina și debitul cardiac, situație în care și terapia cu vasodilatatoare are efecte nefavorabile.^{3,6,11}

Terapia anticoagulantă este adesea indicată la pacienții cu HTP aparent primitivă. Bazele fiziopatologice ale folosirii acesteia sunt complexe. În primul rând, un procent ridicat din HTP etichetate ca fiind primitive nu sunt „plexogene” ci secundar tromboembolice. O altă motivație a anticoagulării pacientului cu HTP primitivă este faptul că trombozele pulmonare mici, „în situ”, sunt extrem de frecvente la pacienții cu HTP, mai ales în fazele avansate ale bolii. Microtrombozele complică frecvent leziunile endoteliale care au fost dovedite a avea un rol patogenetic în hipertensiunea pulmonară asociată infecției HIV. În cele din urmă, dar nu în ultimul rând, dilatația cavitaților cardiace în fazele avansate ale HTP, instalarea fibrilației atriale, se asociază cu un risc emboligen pulmonar și sistemic important, care impune terapia anticoagulantă. Dacă în toate situațiile de mai sus terapia anticoagulantă s-a dovedit a fi benefică, nu același lucru se poate spune despre folosirea terapiei anticoagulante în fazele incipiente ale HTP; în care se pare că nu aduce nici un beneficiu. Tratamentul anticoagulant, la pacienții care nu prezintă contraindicații pentru acesta, se face cu preparate dicumarinice, urmărindu-se obținerea unui INR (international normalized ratio) între 2 și 3.^{3,6,23,28}

Sildenafilul este un inhibitor de fosfodiesterază 5 pe calea guanosinmonofosfatului ciclic, folosit pe cale largă în tratamentul disfuncției erectile. Sildenafilul crește concentrația oxidului nitric la nivelul endoteliului capilar pulmonar, de unde și efectul vasodilatator al acestuia. Datele experimentale și ulterior și cele clinice au demonstrat efectul favorabil al preparatului în tratamentul HTP primitive și a celei asociate infecției HIV. Sildenafilul exercită un efect relaxant asupra vaselor pulmonare mici, de „rezistență” reducând la unii pacienți și în stadiile inițiale ale bolii, valorile presiunii arteriale pulmonare. Astfel, pacienții prezintă ameliorarea dispneei, reducerea fatigabilității, creșterea parametrilor funcționali ai ventriculului drept. Dozele folosite în tratamentul hipertensiunii pulmonare sunt mult mai mari decât cele folosite în tratamentul disfuncției erectile - 100 mg sildenafil de 5 ori zilnic. Asocierea cu Ritonavir este contraindicată, acesta din urmă crescând de aproximativ 11 ori nivelul plasmatic al sildenafilului; este necesară prudență la pacienții cu insuficiență cardiacă severă și la cei cu hipotensiune arterială sistemică. Toleranța preparatului este bună, cele mai frecvente reacții adverse fiind tulburări dispeptice, tulburări de vedere, migrene, tahicardie, hipotensiune arterială, sincope, anemie, leucopenie. Efectele terapeutice sunt însă modeste, fiind indicat doar în stadiile incipiente ale HTP asociate infecției HIV. Sunt necesare trialuri terapeutice mai largi pentru a evalua eficiența preparatului.^{35,41,47}

Suplimentele enterale sau parenterale de arginină oferă un substrat endogen pentru producerea de oxid de azot. Atât administrarea parenterală (500mg/kg în 30 minute) cât și cea enterală (1,5g/10kg) duce la o modestă ameliorare a parametrilor funcționali cardiaci, fără reacții adverse notabile.³

O altă opțiune terapeutică în tratamentul HTP asociate infecției HIV o reprezintă folosirea unor antagoniști ai receptorului pentru endoteline, cel mai folosit fiind bosentan (Tracleer®). Bosentanul este un antagonist competitiv și specific al receptorilor pentru endoteline ET_A și ET_B, având o afinitate mai mare pentru receptorul ET_A. După cum se știe, există o concentrație crescută a endotelinelor la nivelul patului vascular pulmonar al pacienților cu HTP, sugerând cu tărie rolul patogenetic al acestora. Administrarea de bosentan a dus la o creștere semnificativă a indexului cardiac și la o reducere a presiunii medii în artera pulmonară, a rezistenței vasculare pulmonare și a presiunii atriale drepte. Simptomele pacientului (dispneea apreciată după scorul Borg), cât și clasa WHO a hipertensiunii pulmonare sunt influențate favorabil de tratamentul cu bosentan. Medicamentul este indicat în formele severe ale HTP (clasa WHO III sau IV). Toleranța cardiovasculară a preparatului este foarte bună, nefiind înregistrate cazuri de deteriorare hemodinamică, dar folosirea sa este limitată de un puternic efect hepatotoxic, neputând fi folosit la pacienți cu creșteri de peste 3 ori ale valorilor transaminazelor serice. De asemenea, nu poate fi folosit la pacienți cu alterare severă a funcției renale. Anemia este o reacție adversă care poate limita folosirea preparatului la anumiți pacienți. Dozele utile sunt de 125 mg de 2 ori pe zi, dar dozele inițiale sunt de 2x62,5 mg de 2 ori pe zi.^{3,6,7} Alți antagoniști ai endotelinelor se află în uz clinic sau în studii clinice de fază III. Un agent promițător este sitaxsentanul, administrat per os, în doze de 100-300 mg de două ori pe zi. Profilul de siguranță al preparatului este mai favorabil decât în cazul bosentanului, mai ales în ceea ce privește reacțiile adverse hepatice. Ambrisentanul este un antagonist de ET_A aflat doar în studii clinice, dar care se dovedește a fi foarte promițător ca efecte și profil de siguranță.³

O altă alternativă terapeutică o reprezintă folosirea prostaciclinelor, administrate pe cale intravenoasă, în perfuzie continuă. Cel mai folosit preparat este epoprostenolul, care, administrat intravenos duce la scăderea presiunii în artera pulmonară, scăderea rezistenței vasculare pulmonare și creșterea debitului cardiac, cu ameliorare subiectivă și obiectivă a pacientului. Un alt efect benefic din punct de vedere clinic este cel antiagregant plachetar. Efectele apar la aproximativ 15 minute de la injectarea intravenoasă, dar timpul de înjumătățire foarte scurt al preparatului impune administrarea intravenoasă continuă pentru un efect terapeutic optim. Deși administrarea acută a preparatului este benefică, efectele devin tot mai pronunțate în timp, așteptându-se un răspuns favorabil, cu ameliorare semnificativă a parametrilor hemodinamici pulmonari la o durată de administrare de ordinul lunilor sau chiar anilor (3-6 ani). Preparatul este indicat la pacienții cu HTP primară sau asociată HIV clasele funcționale III sau IV WHO, care nu răspund favorabil la mijloacele convenționale enumerate anterior. Preparatul se administrează în perfuzie

continuă, printr-un cateter venos central la care este atașat un injectomat. Doza de atac este de 2,2 ng/kgc/minut, cu creștere progresivă, în aproximativ 12 săptămâni, la 11,2 ng/kgc/min. Ajustarea dozelor se face în funcție de răspunsul clinic și reacțiile adverse. Cele mai frecvente reacții adverse sunt curbură, febra, tahicardia, variate tulburări de ritm ale inimii, trombocitopenia, cefalea, tulburări vasomotorii, hipercalcemia și tusea. Infecțiile la nivelul cateterului venos central reprezintă o posibilitate care trebuie abordată cu foarte mare seriozitate, fiind vorba de pacienți imunodeprimați. Prețul de cost limitează serios utilizarea preparatului, ale cărui efecte pe termen lung sunt favorabile și evidente mai ales în condițiile pacientului cu infecție HIV supus terapiei HAART, care beneficiază de o supraviețuire tot mai îndelungată.^{2,3,6}

Alt preparat aflat în uz clinic este terprostinitul, care se poate administra atât în perfuzie continuă (1,3 ± 3,1 ng/kg/min) cât și subcutanată, ultima cale fiind mai puțin eficientă.^{3,19}

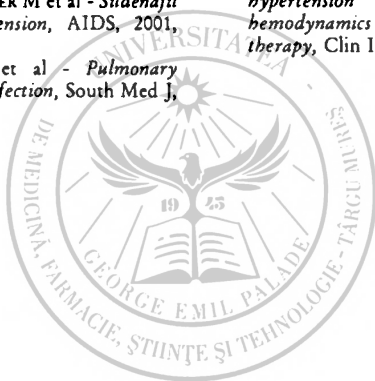
Administrarea altor analogi prostaglandinici pe cale respiratorie – iloprost sub formă de aerosoli, a dus la unele rezultate favorabile, cu o foarte bună toleranță a tratamentului, un spectru de siguranță bun, dar și efecte terapeutice mai modeste decât în cazul administrării intravenoase continue.^{3,12,14}

Transplantul cord-plămân, care reprezintă ultima soluție terapeutică a pacienților cu hipertensiune pulmonară primitivă, nu este indicat la pacienții cu infecție HIV, din cauza prognosticului rezervat pe termen scurt și datorită problemelor legate de imunosupresie la un pacient deja imunodeprimat.^{3,6,40}

BIBLIOGRAFIE

- ABMAN SH - *Pulmonary hypertension in older children: new approaches and therapies*, Paediatr Respir Rev, 2006, 7(Suppl 1):S177-179
- AGUILAR RV, FARBER HW - *Epoprostenol therapy in HIV-associated pulmonary hypertension*, Am J Respir Crit Care Med, 2000, 162:1846-1850.
- BADESCH DB, ABMAN SH, AHEARN GS et al - *Diagnosis and the management of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines*, Chest, 2004, 126:146-178.
- BERGER S, KONDURI GG - *Pulmonary hypertension in children: the twenty-first century*, Pediatric Clinics of North America, 2006, 53:534-551.
- BOSSONE E, BODINI BD, MAZZA A et al - *Pulmonary arterial hypertension: the key role of echocardiography*, Chest, 2005, 127:1836-1843.
- BURKART KM, FARBER HW - *HIV-associated pulmonary hypertension: diagnosis and treatment* in Barbaro G (ed): *HIV Infection and the Cardiovascular System*, Adv Cardiol Basel, Karger, 2003, 40:197-207.
- CHANNICK RN, SIMONNEAU G, SITBON O et al - *Effects of the dual endothelin-receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary hypertension: a randomized placebo-controlled study*, Lancet, 2001, 358:1119-1123.
- CHETTY R - *Vasculitides associated with HIV infection*, J Clin Pathol, 2001, 54:275-278.
- DANILES LB, KRUMMEN DE, BLANCHARD DG - *Echocardiography in pulmonary vascular disease*, Cardiol Clin, 2004, 22:383-399.
- EHRENREICH H, RIECKMANN P, SINOWATY F et al - *Potent stimulation of monocytic endothelin-1 production by HIV-1 glycoprotein*, J Immunol, 2003, 150:4601-4609.
- FARBER HW - *HIV-associated pulmonary hypertension*, AIDS Clin Care, 2006, 13:53-59.
- GHOFRANI HA, FRIESE G, DISCHER T et al - *Inhaled iloprost is a potent acute pulmonary vasodilator in HIV-related severe pulmonary hypertension*, European Respiratory Journal, 2004, 23:321-326.
- GRUBB JR, MOORMAN AC, BAKER RK et al - *The changing spectrum of pulmonary disease in patients with HIV infection on antiretroviral therapy*, AIDS, 2006, 20:1095-1107.
- HOEPER M, SCHWARTZ M, EHLENDING S et al - *Long-term treatment of primary pulmonary hypertension with aerosolized iloprost, a prostacyclin analogue*, N Engl J Med, 2004, 342:1866-1870.
- HUMBERT M, MONIT G, BRENOT F et al - *Increased interleukin-1 and interleukin-6 serum concentrations in severe primary pulmonary hypertension*, Am J Resp Crit Care Med, 2005, 151:1629-1631.
- KANMOGNE GD - *Noninfectious pulmonary complications of HIV/AIDS*, Curr Opin Med, 2005, 11:208-212.
- KASTEN-SPORTES C, WEINSTEIN C - *Molecular mechanisms of HIV cardiovascular disease*, in: Lipshultz (ed): *Cardiology in AIDS*, New York, Chapman&Hall, 1998, 267-269.
- KLINGS ES, FARBER HW - *The pathogenesis of HIV-associated pulmonary hypertension*, in: Barbaro G (ed): *HIV Infection and the Cardiovascular System*, Adv Cardiol Basel, Karger, 2003, vol 40:71-82.
- LANG I, GOMEZ-SANCHEZ M, KNEUSSL M et al - *Efficacy of long-term subcutaneous terprostinit sodium therapy in pulmonary hypertension*, Chest, 2006, 129:1636-1643.
- LIU C, LIU K, JI Z et al - *Treatments for pulmonary arterial hypertension*, Respir Med, 2006, 100:765-774.
- MACLEAN MR - *Endothelin-1 and serotonin: mediators of primary and secondary pulmonary hypertension?*, J Lab Clin Med, 2003, 134:105-114.
- MASAKI J, KIMURA S, YANAGISAWA M et al - *Molecular and cellular mechanisms of endothelin regulation: Implication for vascular function*, Circulation, 1991, 84:1457-1468.
- MEHATA NJ, KHAN IA, MEHTA RN et al - *HIV-related pulmonary hypertension: Analytic review of 131 cases*, Chest, 2000, 118:1133-1141.
- MESA RA, EDELL ES, DUNN WF et al - *Human immunodeficiency virus infection and pulmonary hypertension: Two new cases and a review of 86 reported cases*, Mayo Clin Proc, 2002, 73:37-45.
- MORRIS A, MASUR H, HUANG L - *Current issues in critical care of the human immunodeficiency virus-infected patient*, Crit Care Med, 2006, 34:42-49.
- MORSE JH, BARST RJ, ITESCU S et al - *Primary pulmonary hypertension in HIV infection: An outcome determined by particular HLA class II alleles*, Am J Respir Crit Care Med, 1996, 153:1299-1301.
- NICK HS, KIM MD - *Diagnosis and evaluation of the patient with pulmonary hypertension*, Cardiology Clinics, 2004, 22:1366-1343.
- PELLICELLI AM, BARBARO G, PALMIERI F et al - *Primary pulmonary hypertension in HIV patients: A systematic review*, Angiology, 2001, 52:31-41.
- PELLICELLI AM, D'AMBROSIO C, VIZZA CD et al - *HIV-related pulmonary hypertension. From pathogenesis to clinical aspects*, Acta Cardiol, 2004, 59:323-330.
- PELLICELLI AM, PALMIERI F, CICALINI S et al - *Pathogenesis of HIV-related pulmonary hypertension*, Ann NZ Acad Sci, 2001, 946:82-94.
- PELLICELLI AM, PALMIERI F, D'AMBROSIO CD et al - *Role of human immunodeficiency virus in primary pulmonary hypertension*, Angiology, 1998, 49:1005-1011.
- PEPKE-ZABA J, MORRELL NW - *The endothelin system and its role in pulmonary arterial hypertension (PAH)*, Thorax, 2005, 60:443-444.

33. PETITPRETZ P, BRENOT F, AZARIAN R et al - *Pulmonary hypertension in patients with human immunodeficiency virus infection: Comparison with primary pulmonary hypertension*, Circulation, 2000, 89:2722-2727.
34. PETROSILLO N, PELLICELLI AM, BOUMIS E et al - *Clinical manifestation of HIV-related pulmonary hypertension*, Ann NY Acad Sci, 2001, 946:82-94.
35. PRASAD S, WILKINSON J, GATZOLIS MA - *Sildenafil in primary pulmonary hypertension*, N Eng J Med, 2000, 343:1342-1343.
36. PROVENCHER S, JAIS X, YAICI A et al - *Clinical challenges in pulmonary hypertension: Roger S Mitchell lecture*, Chest, 2005, 128(6 Suppl):622S-628S.
37. PUGLIESE A, ISNARDI D, SAINI A et al - *Impact of highly active antiretroviral therapy in HIV-positive patients with cardiac involvement*, Br Infect Soc, 2000, 40:282-284.
38. RESTREPO CS, DIETHELM L, LEMOS JA et al - *Cardiovascular complications of human immunodeficiency virus infection*, Radiographics, 2006, 26:213-231.
39. RICH S, BRUNDAGE BH - *High-dose calcium channel-blocking therapy for primary pulmonary hypertension: Evidence for long-term reduction in pulmonary arterial pressure and regression of right ventricular hypertrophy*, Circulation, 1987, 76:135-141.
40. ROSEN MJ - *Critical care of immunocompromised patients: Human immunodeficiency virus*, Critical Care Medicine, 2006, 34:1233-1244.
41. SCHUMACHER YO, ZDEBIK A, HUONKER M et al - *Sildenafil in HIV-related pulmonary hypertension*, AIDS, 2001, 15:1747-1748.
42. Seoane L, Shellito J, Welsh D et al - *Pulmonary hypertension associated with HIV infection*, South Med J, 2005, 94:635-639.
43. SPEICH R, JENNI R, OPRAVIL M et al - *Regression of HIV-associated pulmonary hypertension and long-term survival during antiretroviral therapy*, Swiss Med Wkly, 2001, 131:663-665.
44. SUDANO I, SPIEKER LE, NOLL G et al - *Cardiovascular disease in HIV infection*, American Heart Journal, 2006, 151(6):566-578.
45. TUDER RM, BROVES BM, BADESCH DB et al - *Exuberant endothelial cell growth and elements of inflammation are present in plexiform lesions of pulmonary hypertension*, Am J Pathol, 1994, 144:275-285.
46. VOELKEL NF, COOL C - *Pathology of pulmonary hypertension*, Cardiol Clin, 2004, 22(3):343-351.
47. WONG AR, RASOOL AH, ABIDIN NZ et al - *Sildenafil as treatment for Human Immunodeficiency virus-related pulmonary hypertension in a child*, J Paediatr Child Health, 2006, 42:147-148.
48. YU SM - *Mechanism of catecholamine-induced proliferation of smooth muscle cells*, Circulation, 1997, 94:547-554.
49. ZAREBA KM, MILLER TL, LIPSHULTZ SE - *Cardiovascular disease and toxicities related to HIV infection and its therapies*, Expert Opin Drug Saf, 2005, 4:1017-1025.
50. ZINKERNAGEL AS, VON OVERBECK J, OPRAVIL M et al - *Long-term survival and interruption of HAART in HIV-related pulmonary hypertension*, Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2005, 24:153-155.
51. ZUBER JP, CALMY A, EVISON JM et al - *Pulmonary arterial hypertension related to HIV infection: improved hemodynamics and survival associated with antiretroviral therapy*, Clin Infect Dis, 2004, 38:1178-1185.



Analiza deplasării dentare și a distribuției stress-ului sub acțiunea forțelor ortodontice

Ligia Cristina Brezeanu¹, Cristina Bică², Alexandru Monea², Monica Pop²

Scopul acestui studiu îl reprezintă analiza cantitativă și calitativă a reacțiilor biomecanice în cursul deplasărilor dentare sub acțiunea forțelor ortodontice.

Material și metodă: am creat un model general tridimensional pentru incisivul central superior ce include dinte-ligament parodontal-os alveolar, pe baza datelor morfologice și dimensiunilor acestui dinte, cu ajutorul programului de analiză Algor. Modelul conține 1379 noduri și 976 elemente finite. Am realizat studii comparative privind comportamentul dintelui supus acțiunii forțelor ortodontice de diferite intensități.

Rezultatele obținute în urma simulărilor computerizate sunt reprezentate de: deplasări după direcția forței, stress după direcția forței și stress Von Mises.

Concluzii: Metoda Elementului Finit permite determinarea cantitativă și vizualizarea grafică a deplasărilor și a stress-ului în orice punct al ansamblului dinte-ligament parodontal-os alveolar. Mediul de programare utilizat permite modelarea și simularea reacțiilor biomecanice în studiile de caz considerate. Analiza stress-ului după teoria lui Von Mises indică o zonă de stress maxim pe suprafața opusă celei de aplicare a forței și de asemenea zone importante de stress pe fața vestibulară a dintelui și la nivel apical.

Cuvinte cheie: deplasare ortodontică, stress, Metoda Elementului Finit

Aim: this study targets a quantitative and qualitative analysis of the biomechanical reactions during an orthodontic movement in different situations when various intensities of orthodontic forces were applied.

Material and method: according to the geometry and morphological data of the upper central incisor, and using a soft (Algor) based on the Finite Element Method, a general three-dimensional model has been created, which includes tooth-periodontal ligament- alveolar bone ensemble. The model contains 1379 nodes and 976 finite elements. Comparative studies concerning the tooth behavior have been realized in cases when orthodontic forces with different intensities were applied.

The results obtained after the computer simulations are: displacements depending on the force direction, stress depending on the force direction and Von Mises stress.

Conclusions: The Finite Element Method allows the quantitative determination and the graphical visualization of displacements and stress in any point of the tooth-periodontal ligament-alveolar bone ensemble. The programming medium used permits the modelling and simulations of the biomechanical reactions in the conducted case-studies. Von Mises stress analysis indicates a maximum stress area on the opposite side of the force application and also important stress areas on the labial incisor side and on the apical level.

Key words: orthodontic displacement, stress, Finite Element Method

Metoda Elementului Finit (FEM) este o metodă numerică de analiză ce permite identificarea extrem de precisă a stress-ului structural și a deplasărilor. Conceptul fundamental cu care operează FEM are la bază aproximarea prin discretizare a întregului continuu în subdomenii numite elemente finite, cu proprietăți fizice și funcționale identice cu cele ale elementului studiat, conectate între ele prin puncte denumite noduri.

În ortodonție, comparativ cu alte metode, FEM are numeroase avantaje, evidențiate de abilitatea de a include eterogenitatea structurilor dento-parodontale și neregularitatea conturului dentar în proiectarea și design-ul dintelui. De asemenea, pentru o analiză mai riguroasă, FEM permite aplicarea forțelor în diferite direcții și cu diferite intensități.

Scopul acestui studiu îl reprezintă analiza cantitativă și calitativă a deplasării dentare și a distribuției stress-ului în urma aplicării unei forțe ortodontice de intensitate cunoscută asupra incisivului central superior (IC sup). Acest dinte a fost ales deoarece manifestă deplasarea dentară cea mai semnificativă și prezintă un risc ridicat de resorbție radiculară comparativ cu restul dinților.³

MATERIAL ȘI METODĂ

Am creat un model general tridimensional pentru IC sup ce cuprinde dinte-ligament parodontal (PDL)-os alveolar, ținând cont de următoarele 3 considerente principale:

1. Geometria dintelui și a structurilor parodontale

Definirea și crearea modelului IC sup cu ajutorul programului de analiză Algor s-a realizat prin editarea și construcția dintelui, spațiului parodontal și osului alveolar înconjurător conform dimensiunilor și datelor morfologice din manualele de specialitate.^{4,11} Modelul constă din 1379 noduri și din 976 elemente finite.²

¹Facultatea de Inginerie, Universitatea „Petru Maior” Târgu-Mureș
²Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

Adresa pentru corespondență: Dr. Cristina Bică, Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie, str. Gh. Marinescu nr. 38, 540139, Târgu-Mureș, cristina.bica@yahoo.com

2. Proprietățile fizice ale dintelui și parodontiului sunt reprezentate de coeficientul lui Poisson notat cu „ ν ” și modulul de elasticitate longitudinală Young notat cu „ E ”.⁵

3. Configurația forței ortodontice

Programul utilizat ne-a permis crearea oricărei configurații pentru forța ortodontică: punct de aplicare, direcție și intensitate. În acest cadru, am simulat o deplasare ortodontică de tip basculare sub acțiunea unei forțe orizontale, având ca punct de aplicare nodul din centrul feței vestibulare a IC sup., cu două intensități diferite, pentru dezvoltarea de studii comparative a rezultatelor:

$F = 1\text{N}$ (forță ortodontică optimă)

$F = 5\text{N}$ (forță supraliminară).

REZULTATE

Volumul foarte mare de rezultate obținute în urma simulării impune sistematizarea lor astfel:

1. Deplasări după direcția forței ortodontice;
2. Stress după direcția forței ortodontice aplicate;
3. Stress după teoria Von Mises; stress-ul Von Mises reprezintă stress-ul rezultat sau echivalent din spațiul tridimensional.⁶

STUDIUL DE CAZ I: $F = 1\text{N}$

1. Deplasări după direcția forței

Rezultatele grafice pun în evidență distribuția deplasărilor după direcția forței. Valorile acestor deplasări pot fi apreciate prin gradul de colorare corespunzător, iar zonele de culori identice sugerează zone cu aceleași valori ale deplasărilor. Gradul de deplasare la nivelul dintelui este invers proporțional cu distanța față de punctul de aplicare al forței: dacă la nivelul zonei de aplicare a forței gradul de deplasare este maxim (10^{-3}mm), la nivelul planului bazal „0” (colet dentar) devine cu un ordin de mărime mai mic ($5 \times 10^{-4}\text{mm}$), iar la nivelul apexului gradul de deplasare este $2 \times 10^{-6}\text{mm}$ (Figura 1, Figura 2).

2. Stress-ul după direcția forței

Distribuția stress-ului este semnificativă după direcția de aplicare a forței și este pusă în evidență de-a lungul secțiunii longitudinale, atât din punct de vedere al modulului, cât și al orientării în raport cu axa forței:

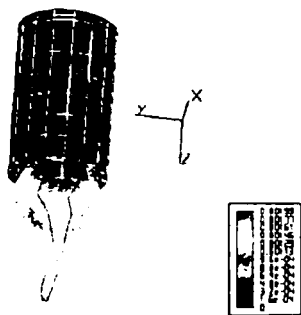


Figura 1. Distribuția deplasărilor (mm)

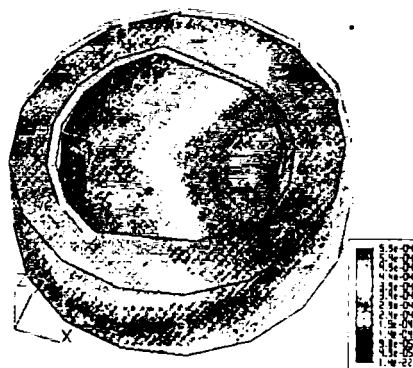


Figura 2. Detaliu - distribuția deplasărilor la nivelul coletului

semnul „-” indică zone de compresiune iar semnul „+” indică zone de întindere. Zona de solicitare maximă este situată în vecinătatea punctului de aplicare a forței.

Prin vizualizarea în detaliu a secțiunilor transversale radiculare de la nivelul coletului (Figura 3) și respectiv apexului (Figura 4), se evidențiază:

-În PDL - stress maxim de tip compresiune ($-0,3\text{N/mm}^2$) la nivelul coletului, pe fața palatinală (P) a dintelui, opusă suprafeței de aplicare a forței și stress de tip întindere pe fața V, la colet ($+0,01\text{N/mm}^2$).

-În PDL - stress de tip compresiune la nivelul apexului pe fața V (aproximativ $-0,17\text{N/mm}^2$) și de tip întindere pe fața P.

-În osul alveolar - stress de tip întindere de valori semnificative ($+0,25$ până la $+0,3\text{N/mm}^2$) pe fețele mezială (M) și distală (D) la colet și de valoare $+0,1\text{N/mm}^2$ la nivelul feței V.

-În osul alveolar - stress de tip compresiune pe fața P la colet ($-0,03$ până la $-0,13\text{N/mm}^2$).

3. Stress-ul după teoria lui Von Mises

Distribuția stress-ului echivalent calculat după teoria Von Mises pune în evidență în imaginea de ansamblu cât și în secțiune, zonele de stress importante:

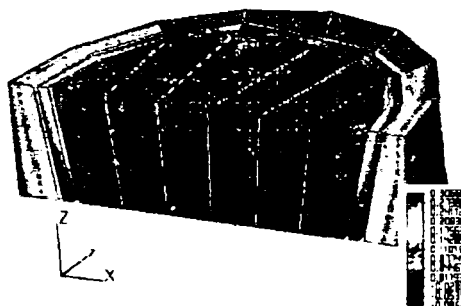


Figura 3. Detaliu - distribuția stress-ului la nivelul coletului - secțiune longitudinală [N/mm²]

Explicații:

- Legenda indică valorile numerice ale deplasărilor corespunzătoare diferitelor zone ale modelului de studiu, exprimate în mm;
- Pentru o reprezentare sugestivă, valorile numerice sunt explicate (convertite) într-un spectru de culori;
- Fiecărei valori indicate în tabel îi corespunde o culoare, iar zonele de culori identice semnifică o comportare similară din punct de vedere al deplasării (zone cu aceleași valori ale deplasărilor sau zone de egală deplasare).

-O zonă de stress echivalent Von Mises maxim situată pe fața palatinală, opusă celei de aplicare a forței, la colet și de valori rezultante pozitive mari: 0,40 până la 0,60 N/mm²;

-O zonă de stress Von Mises semnificativă la apex, pe fața V, de valori mai reduse: 0,20 până la 0,30 N/mm², (Figura 5).

-O zonă de stress în vecinătatea punctului de aplicare a forței, pe fața V cu valori de 0,20 până la 0,26 N/mm², (Figura 6).

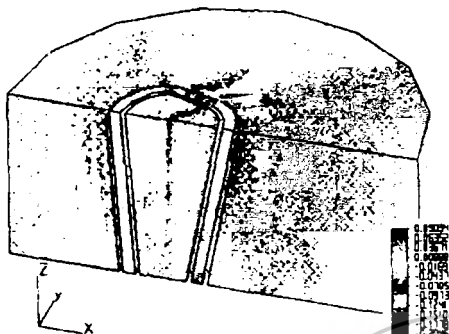


Figura 4. Detaliu - distribuția stress-ului la nivelul apexului - secțiune longitudinală [N/mm²]

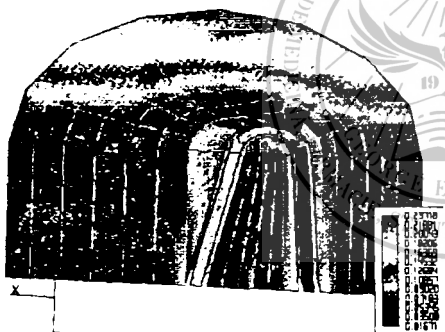


Figura 5. Detaliu - distribuția stress-ului echivalent Von Mises, secțiune longitudinală la apexul dintelui [N/mm²]

STUDIUL DE CAZ II: F = 5 N

1. Deplasări după direcția forței

Aplicarea unei forțe orizontale în același punct nodal de pe fața V a IC sup., după aceeași direcție, dar de o intensitate de 5 ori mai mare, evidențiază consecințele forțelor ortodontice supraliminare. Rezultatele grafice indică distribuția deplasărilor și a zonelor de egale deplasări, cu valori ridicate la nivelul coroanei dentare (0,008 mm), apoi descrescătoare, cu valori minime la apexul dintelui (1,2 x 10⁻³ mm) (Figura 7).

2. Stress-ul după direcția forței

Evaluarea rezultatelor privind stress-ul după direcția forței indică faptul că din punct de vedere calitativ, fenomenul se desfășoară identic ca și în cazul precedent (F = 1 N): zonele de compresiune și de întindere sunt distribuite similar pe fețele P și V, la fel și zonele de stress maxim, însă din punct de vedere cantitativ, cu diferențe privind ordinul de mărime al

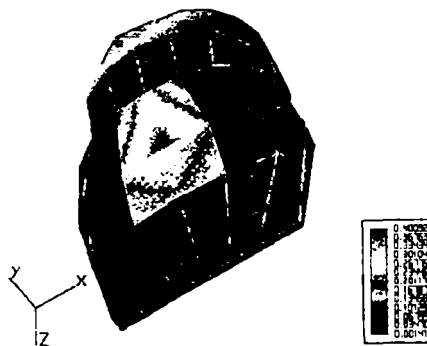


Figura 6. Detaliu - distribuția stress-ului echivalent Von Mises în coroana dintelui [N/mm²]

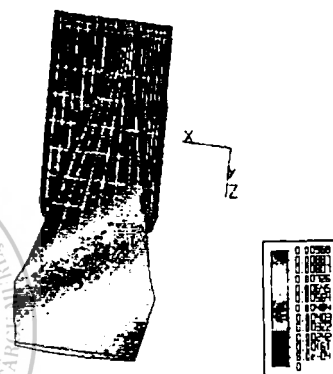


Figura 7. Distribuția deplasărilor în secțiunea longitudinală dinte-PDL-os [mm]

stress-ului. Astfel, în osul alveolar înconjurător, se înregistrează un stress de tip compresiune pe fața P cu valoarea de -0,26 N/mm², când F = 5 N (Figura 8), și de valoare -0,03 N/mm², când F = 1 N (Figura 3).²

3. Stress-ul echivalent Von Mises

Distribuția tensiunilor echivalente Von Mises indică aceleași zone de stress semnificativ ca și în cazul forței de intensitate de 1 N însă la valori mult ridicate:

-la colet, stress echivalent cu valori de 2,5 până la 3,8 N/mm², când F = 5 N față de valorile 0,4 până la 0,6 N/mm², când F = 1 N;

-la nivelul apexului, stress-ul resultant are valorile 1,6 până la 2,2 N/mm², când F = 5 N și valorile 0,2 până la 0,3 N/mm², când F = 1 N (Figura 9).

DISCUȚII

Utilizarea FEM în studiile de analiză a deplasării dentare ortodontice și a distribuției stress-ului a fost justificată și și-a dovedit eficiența datorită caracterului geometric neregulat al dintelui pe de o parte și datorită structurii eterogene din punct de vedere a proprietăților fizice a ansamblului dinte-PDL-os alveolar pe de altă parte.

FEM a permis determinarea cantitativă și vizualizarea grafică a deplasărilor și a stress-ului, practic în orice punct al ansamblului dinte-PDL-os alveolar.

Simulările realizate în studiile de caz au permis obținerea unor rezultate dintre cele mai complexe și relevante, care pot fi exploatate datorită interfeței grafice deosebit de atractive.

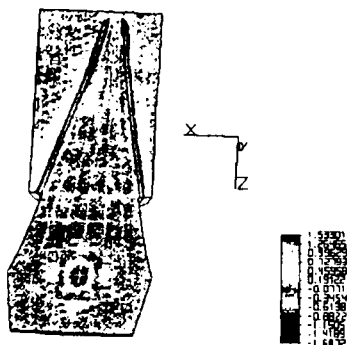


Figura 8. Distribuția stress-ului, secțiune longitudinală dinte-PDL-os [N/mm].

În editarea modelului discretizat general am apelat la cunoștințe din domeniul anatomiei și morfologiei dento-parodontale (parametrii dimensionali) dar și la noțiuni fundamentale de rezistență a materialelor (caracteristici de elasticitate, tensiuni, deformații, grade de libertate, condiții la limită).⁵

În cazul simulării mișcării de basculare prin aplicarea unei forțe orizontale cu intensitatea de 1N în centrul feței vestibulare (V) a IC sup., rezultatele grafice pun în evidență distribuția deplasărilor (deformațiilor) atât în vedere de ansamblu, cât și de-a lungul secțiunii longitudinale. Astfel, valorile acestor deplasări pot fi apreciate prin gradul de colorare corespunzător iar

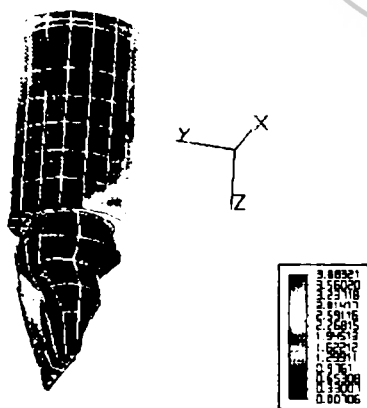


Figura 9. Distribuția stress-ului echivalent Von Mises [N/mm].

zonele de culori identice sugerează zone cu aceleași valori ale deplasărilor.

Distribuția stress-ului după direcția de aplicare a forței este pusă în evidență de-a lungul secțiunii longitudinale, atât din punct de vedere al modulului, cât și al orientării în raport cu axa forței: semnul „-” indică zone de compresiune, iar semnul „+” indică zone de

întindere. Zona de solicitare maximă este situată în vecinătatea punctului de aplicare a forței.

Ansamblul solicitărilor de tip întindere și de tip compresiune produse în diagonală la nivelul coletului, respectiv a apexului, generează fenomenul de basculare.

Studiul de caz dezvoltat corespunzător unei forțe orizontale de intensitate crescută ($F = 5N$) validează rezultatele obținute în cazul anterior ($F = 1N$) și permite evidențierea următoarelor elemente comparative:

-Aplicarea unei forțe de aceeași orientare și în același punct nodal, dar de intensitate crescută ($5N$) permite obținerea și vizualizarea distribuției deplasărilor și a zonelor de egale deplasări, cu valori ridicate la nivelul coroanei dentare, apoi descrescătoare, cu valori minime la apexul dintelui.

-Evaluarea rezultatelor privind stress-ul după direcția forței indică faptul că din punct de vedere calitativ, fenomenul se desfășoară identic ca și în cazul precedent ($F = 1N$): zonele de compresiune și de întindere sunt distribuite similar pe fețele P și V, la fel și zonele de stress maxim, însă din punct de vedere cantitativ, cu diferențe privind ordinul de mărime al stress-ului.

-Distribuția stress-ului echivalent Von Mises indică aceleași zone de stress semnificativ ca și în cazul în care forța avea intensitatea de 1N, însă la valori mult ridicate.

FEM stă la baza multor studii care au investigat tipurile de forțe ortodontice care induc un nivel ridicat de stress în zona apicală și care favorizează apariția resorbției radiculare.^{1,9} Pentru modelare și simulare a fost ales tot incisivul central superior, dar există studii în literatura de specialitate în care a fost modelată prin FEM deplasarea ortodontică a caninilor superiori, a molarului I superior sau a premolarului I superior.^{16,19,18} Rudolph și colab.¹² au realizat simulări pe modelul incisivului central superior ale deplasărilor de tip basculare, translație, intruzie, extruzie și derotare și au evidențiat faptul că stress-ul cel mai important la nivel apical este datorat forțelor verticale, dar și orizontale. Implicațiile clinice ale acestui studiu constau în faptul că dacă practicianul are rețineri în aplicarea unei tensiuni crescute la nivel apical (de exemplu, pacient cu resorbție radiculară la incisivi în antecedente), se vor aplica cu maximă prudență forțele verticale. Totuși, legătura dintre forțele externe și resorbția radiculară nu este deloc clară. Datorită unui număr redus de cazuri cu resorbție radiculară severă și datorită lipsei unui model animal clar, nu știm de ce forțe mecanice similare au efecte atât de diferite de la un individ la altul. Resorbția radiculară este însă un fenomen complex, multifactorial, cu praguri biochimice ce variază semnificativ în funcție de reactivitatea tisulară individuală.^{13,14,17}

Tanne¹⁵ a cuantificat rata de deplasare ortodontică și distribuția stress-ului prin FEM, comparativ la subiecți adolescenți și adulți. S-a pornit de la faptul că există variații considerabile în ceea ce privește răspunsul tisular parodontal între pacienții tineri și cei adulți datorită vascularizației și populației celulare diferite care au drept consecințe o fază de

hialinizare mai prelungită și deci o perioadă de tratament mai îndelungată la adulți. Reacțiile biochimice diferite din PDL la adulți și adolescenți, par a fi rezultatul proprietăților fizice diferite și în special a modulului de elasticitate Young, la cele două grupe de vârstă. În plus, a fost avansată ideea că un modul de elasticitate Young mai mare la adulți decât la tineri, crește riscul resorbției radiculare, deși relația dintre cei doi factori necesită investigații mai detaliate.^{7,8,10}

Utilizarea FEM a dovedit și validat importanța acestui tip de metode și a evidențiat o serie de avantaje:

-Posibilitatea de a modela domeniul neregulat, corespunzătoare configurației geometrice a corpurilor studiate, prin folosirea de elemente finite cu forme și dimensiuni diferite;

-Posibilitatea considerării oricăror condiții la limită, corespunzător problemei studiate;

-Posibilitatea de a trata, fără nici o dificultate, probleme în care proprietățile fizice ale structurilor studiate variază (parametrii fizici ai dintelui, ligamentului parodontal și osului alveolar).

CONCLUZII

1. FEM este o metodă numerică de analiză ce permite identificarea extrem de precisă a stress-ului structural și a deplasărilor pe baza proprietăților fizice ale structurilor analizate.

2. Utilizarea FEM în studiile de analiză a deplasării dentare ortodontice și a distribuției stress-ului a fost justificată și și-a dovedit eficiența datorită caracterului geometric neregulat al dintelui pe de o parte și datorită structurii eterogene din punct de vedere a proprietăților fizice a ansamblului dinte-ligament parodontal-os alveolar pe de altă parte.

3. Volumul foarte mare de rezultate obținute în urma simulării prin utilizarea programului Algor impune sistematizarea lor astfel: deplasări și stress după direcția forței ortodontice aplicate, stress după teoria lui Von Mises. Stress-ul Von Mises reprezintă stress-ul rezultat sau echivalent din spațiul tridimensional.

4. Gradul de deplasare la nivelul dintelui în cursul mișcării de basculare este invers proporțional cu distanța față de punctul de aplicare al forței.

5. Distribuția stress-ului după direcția de aplicare a forței este pusă în evidență de-a lungul secțiunii longitudinale, atât din punct de vedere al modulului, cât și al orientării în raport cu axa forței. Ansamblul solicitărilor de tip întindere și de tip compresiune produse în diagonală la nivelul coletului, respectiv a apexului, generează fenomenul de basculare.

6. Aplicarea unei forțe de aceeași orientare și în același punct nodal, dar de intensitate crescută indică faptul că din punct de vedere calitativ, fenomenul se desfășoară identic: zonele de compresiune și de

întindere sunt distribuite similar pe fețele palatinală, respectiv vestibulară, la fel și zonele de stress maxim, însă din punct de vedere cantitativ, cu diferențe privind ordinul de mărime al stress-ului.

BIBLIOGRAFIE

- AKPINAR I, ANIL N, PARNAS L - *A natural tooth's stress distribution in occlusion with a dental implant*, J Oral Rehabil, 2000, 27:538-545.
- BICĂ C - *Studiu clinic și experimental al influenței tratamentelor ortodontice asupra țesuturilor parodontale*, Teză de doctorat, UMF TG Mureș, 2005.
- BICĂ C, MONEA AL, BREZEANU LC - *Reacții biomecanice în deplasările ortodontice. Studiu prin Metoda Elementului Finu*, Congresul Internațional de Medicină Dentară, București, 2005.
- BRATU D, LERETTER M, COLOJOARĂ C - *Dinți umani permanenți. Morfologie, desen și modelaj*, Ed "Helicon" Timișoara, 1997.
- BREZEANU LC - *Rezistența materialelor. Solicitări fundamentale*, Ed. Universității "Petru Maior", Tg.Mureș, 1998, 19-28.
- BREZEANU LC - *Bazele calculului cu elemente finite*, Ed Universității "Petru Maior", Tg.Mureș, 2000.
- GRAMY A - *Alveolar bone resorption and the center of resistance modification (3-D analysis by means of the finite element method)*, Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2000, 117:399-405.
- JONES ML, HICKMAN J, MIDDLETON J - *A validated Finite Element Method Study of Orthodontic Tooth Movement in the Human Subject*, J Orthodontics, 2001, 28:29-38.
- LEITCHIRAKARAN V, JOSEPH EA - *Finite element analysis and strain gauge studies of vertical root fracture*, J Endod, 2003, 29:529-534.
- MIDDLETON J, HUBSCH PF, KRALJ B et al - *Numerical investigation of fixed orthodontic brackets*, J Engineering in Medicine, 2000, 214:311-323.
- MONEA AL, MONEA POP M - *Parodontologie*, Ed. Ardealul, Tg.Mureș, 1999.
- RUDOLPH DJ, WILES MG, SAMESHIMA GT - *A finite element model of apical force distribution from orthodontic tooth movement*, Angle Orthodontist, 2001, 71:127-131.
- SAMESHIMA GT, SINCLAIR PM - *Predicting and preventing root resorption: Part I. Diagnosis Factors*, Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2001, 119:505-510.
- SAMESHIMA GT, SINCLAIR PM - *Predicting and preventing root resorption: Part II. Treatment Factors*, Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2001, 119:511-515.
- TANNE K, YOSHIDA S, KAWATA T, SASAKI A - *An evaluation of the Biomechanical response of the Tooth and Periodontium to Orthodontic Forces in Adolescent and Adult Subject*, British J Orthod, 1998, 25:109-115.
- TOSIC G, GLISOVIC S, STANKOVIC M - *Modeling and analyzing intricate biological structures applying PC based software - Upper premolar case study*, Buletinul Științific Univ "Politehnica" Timișoara, 2000, 45:93-96.
- VLASKALIC V, BOYD RL, BAUMRIND S - *Etiology and sequelae of root resorption*, Semin Orthod, 1998, 4:124-131.
- ZIEGLER A, KEILIG L, KAWARIZADEH A - *Numerical simulation of the biomechanical behaviour of multi-rooted teeth*, European J Orthod, 2005, 27:333-339.
- YAMAMOTO M - *Analysis of stress distribution during movement of the maxillary first molar using the three-dimensional finite element method*, J Osaka Dent Univ, 2004, 38:61-71.

MLPA – o metodă nouă pentru identificarea mutațiilor genice și cromozomiale

Katalin Csép

Identificarea delețiilor și duplicațiilor unor gene sau fragmente genice constituie o adevărată provocare pentru diagnosticul molecular. Numeroase tehnici au fost elaborate - deși majoritatea acestora sunt utile pentru evidențierea deleției sau amplificării unor fragmente mici de câteva nucleotide sau fragmente cromozomiale mari, detectarea mutațiilor care afectează secvențe de câteva kilobaze nu este rezolvată. Introducerea metodei MLPA (Multiplex Ligation dependent Probe Amplification) poate constitui o soluție adecvată; prin această tehnică pot fi studiate simultan 45 de secvențe diferite, de dimensiune chiar mai mică sau mai mare, pentru evidențierea rearanjamentelor genomice. Metoda constă în hibridizarea unor sonde cu ADN-ul genomic analizat, urmată de amplificarea sondelor hibridizate, și analiza cantitativă a produșilor amplificați. MLPA este o metodă cu sensibilitate și specificitate crescută, simplă, rapidă și ieftină, care este recomandată de tot mai mulți autori pentru utilizare de rutină în diferite domenii.

Cuvinte cheie: MLPA

Deletion and duplication screening of single genes or exons is a huge challenge for molecular diagnosis. Several techniques have been developed, and although there are a number of useful methods for the detection of deletions or amplifications of a couple of nucleotides and large parts of chromosomes, the detection of these anomalies remains unsolved if the length of the fragment is about a few kilobases. The introduction of MLPA (Multiplex Ligation dependent Probe Amplification) may be the solution, when 45 different sequences of even smaller or larger dimensions can be screened simultaneously for these types of mutations. The method consists of sequence specific probe hybridization to the analyzed genomic DNA, followed by the amplification of the hybridized probes, and semi-quantitative analysis of the PCR products. MLPA is a method with high sensibility and specificity, simple, fast and cheap, which is recommended by more and more authors for everyday use in different domains.

Key words MLPA

MLP (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) este o metodă prin care se poate studia simultan schimbarea numărului de copii pentru 45 secvențe diferite de acid nucleic, într-o singură reacție simplă bazată pe tehnica amplificării prin PCR.

Modificarea numărului de copii a unor secvențe nucleotidice mai mari sau mai mici este frecvent implicată în etiopatogenia bolilor umane. De la trisomia 21 care determină sindromul Down, prin delețiile submicroscopice ale unor secvențe de milioane de nucleotide care cauzează sindroamele de microdeleții cum este sindromul Williams, până la delețiile sau duplicațiile unui singur exon ca cel al genei DMD care determină distrofia musculară Duchenne sau a genelor MLH1/MSH2 implicate în predispoziția la cancerul de colon, acest tip de tulburare a materialului genetic are consecințe patologice grave.

Metoda MLPA a fost elaborată în urmă cu trei ani pentru identificarea rapidă a delețiilor și amplificărilor genelor sau fragmentelor genice a căror evidențiere prin metodele obișnuite de analiză moleculară prezintă dificultăți; de atunci însă, tehnica a fost folosită cu succes atât pentru evidențierea unor mutații punctiforme cât și pentru identificarea unor trisomii. MLPA poate fi folosit pentru analiza modificărilor la nivel de ADN respectiv ARN, dar și pentru studii gradului de metilare CpG.

Metoda este sensibilă, necesitând numai 20 ng de ADN sau 10 ng de ARN, iar în ceea ce privește specificitatea, poate distinge diferențe de un singur nucleotid. Tehnica este reproductibilă, simplă și rapidă. Realizarea analizei necesită o dotare de laborator relativ modestă, iar determinările sunt ieftine (aproximativ 10-12 Euro/analiză).^{1,2,3}

PRINCIPIUL METODEI

În fond, prin MLPA se prepară probe de acid nucleic corespunzătoare pentru o reacție de PCR multiplex, în care până la 45 de secvențe de acid nucleic

¹Disciplina de Genetică, Universitatea de Medicină și Farmacie Targu-Mures

Adresa de corespondență: Katalin Csép, Disciplina de Genetică, Universitatea de Medicină și Farmacie, str. Gh. Marinescu nr. 38, 540 139 Targu-Mures, tel. 215551 - 184

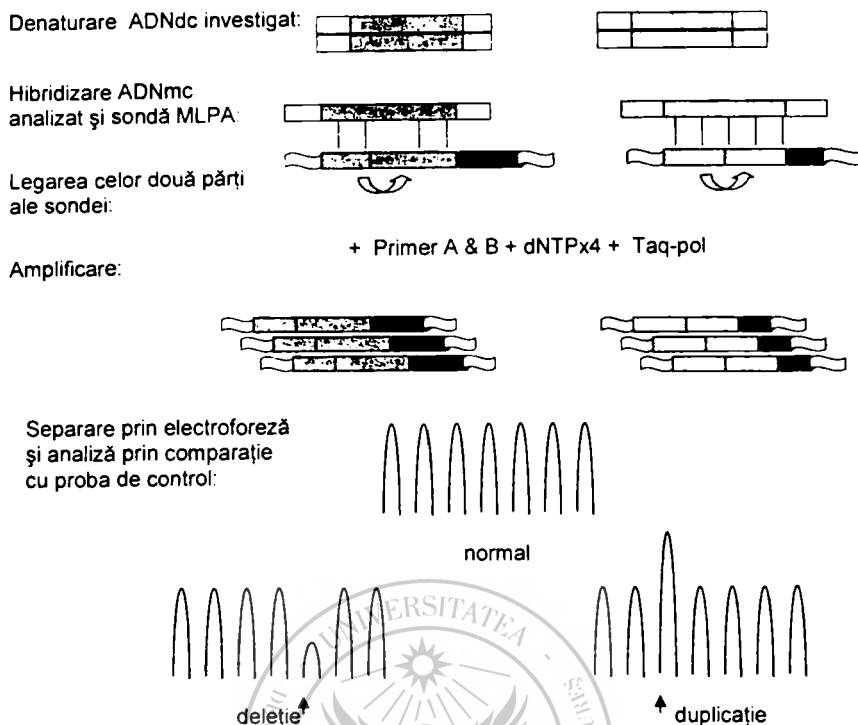


Figura 1. Schema metodei MLPA

pot fi amplificate simultan utilizând o singură pereche de primeri. Producții rezultate vor fi separate printr-o electroforeză de tip secvențiere. Testele MLPA sunt în așa fel proiectate, încât lungimea fiecărui produs amplificat este unică, crescând treptat cu câte 6 sau 9 nucleotide, iar dimensiunea totală se situează între 120 și 480 nucleotide. Aceste valori permit o separare optimă a fragmentelor.

ETAPELE METODEI

Metoda se realizează într-un tub de reacție, prin adăugarea diferitelor componente, iar prelucrarea unui set de 96 de probe durează mai puțin decât 3 ore. Tehnica parcurge următoarele etape:

1. Denaturare probei de 20-500 ng ADN la 98°C într-un thermocycler;
2. Adăugarea sondelor MLPA și hibridizarea la 60°C;
3. Adăugarea ligazei termostabile și legarea celor două părți ale sondei la 54°C timp de 15 minute;
4. Inactivarea ligazei prin încălzire la 98°C;
5. Adăugarea primerilor, a celor patru tipuri de dezoxiribonucleotide respectiv Taq polimerazei și amplificarea sondelor legate;

6. Analiza produșilor de PCR prin electroforeză capilară.

Deși reacția de amplificare MLPA este reproductibilă, întotdeauna sunt câteva secvențe a căror rată de amplificare per ciclu este cu 1-2% mai redus. Astfel, pentru a determina numărul copiilor de secvențe nucleotidice, nu este suficient un singur pattern de amplificare MLPA și rezultatul întotdeauna trebuie comparat cu profilul unei probe de control. Aria relativă de sub vârful corespunzător fiecărui produs de amplificare reflectă numărul relativ de copii ale secvenței țintă din proba analizată. Deleția unuia sau mai multor exoni/gene determină scăderea ariei de sub vârful corespunzător, iar amplificarea determină creșterea acesteia. (Figura 1)

TEHNICA OBTINERII SONDELOR

Obținerea fiecărei sonde necesită proiectarea și prepararea unei clone a fagului M13, purificarea ADNmc, și digestia cu enzime de restricție.

Fiecare sondă MLPA constă din două oligonucleotide (ON1 și 2, Figura 2). ON1 este un oligonucleotid scurt, sintetic, alcătuit la capătul 3' dintr-o secvență de 21-30 nucleotide (C1) complementară cu

o parte din secvența țintă, iar la capătul 5' dintr-o secvență de 19 nucleotide (A) complementară cu primerul A. ON2 este un oligonucleotid lung obținut prin clonare din *Escherichia coli* cu ajutorul unui vector SALSIA M13-derivat. ON2 are la capătul 5' o secvență de 25-43 nucleotide (C2) complementară cu cealaltă parte a secvenței țintă, în mijloc conține o secvență intermediară de lungime variabilă de 19 - 370 nucleotide (S – stuffer sequence), iar la capătul 3' se termină cu o secvență de 36 nucleotide (B) complementară cu primerul B. În general, amestecul dintr-un kit conține 35-42 sonde de lungime diferită, mărimea lor variind cu câte 6 sau 9 nucleotide.

În prezent există peste 120 de kituri MLPA diferite disponibile la MRC-Holland (www.mlpa.com), și se pot obține amestecuri și sonde noi realizate la cerere. În scop de cercetare, este posibilă și realizarea unui număr mic de sonde complet sintetice, cu o lungime a produsului amplificat situat între 100-130 nucleotide.²³

AVANTAJE

Cu ajutorul acestei metode se poate detecta o varietate de mutații, începând cu cele punctiforme cunoscute, genice extinse, până la rearanjamentele submicroscopice și mutațiile cromozomiale de structură sau număr.

1. Protocolul este identic pentru o gamă variată de aplicații. Tehnica se poate folosi în diferite scopuri, variând numai amestecul de sonde folosite;

2. Este o tehnică multiplă, prin care simultan se pot obține informații referitoare la până 45 secvențe diferite într-o singură reacție;

3. Metoda poate distinge secvențe care diferă într-un singur nucleotid, și poate detecta modificările de număr ale secvenței țintă, de chiar o singură repetiție în plus sau în minus;

4. Tehnica detectează secvențe de numai 60 de nucleotide, și astfel poate fi folosită pentru identificarea delețiilor sau duplicației unui singur exon;

5. Metoda este sensibilă: necesită numai 20 ng de ADN (aproximativ 3000 celule, 0,5 ml lichid amniotic), iar rezultatul nu depinde de cantitatea probei de ADN folosită;

6. Tehnica este reproductibilă și ușor de efectuat. Numeroase probe biologice pot fi investigate simultan;

7. Metoda este simplă, iar rezultatele se pot obține într-o zi pentru sute de probe analizate;

8. Se pot obține rezultate bune și din ADN parțial degradat (de ex. din preparate histopatologice);

9. Investiția suplimentară pentru introducerea metodei în majoritatea laboratoarelor de genetică moleculară este relativ redusă, deoarece dotarea necesară constă într-un thermocycler și electroforeză capilară;

10. Metoda este relativ ieftină (în prezent, un kit pentru 100 de reacții costă aproximativ 1000 Euro; kitul conține toți reactivii necesari: amestecul de sonde, soluții buffer, ligază, polimerază, cele patru tipuri de dNTP și perechea de primeri).

DEZAVANTAJE

1. Reacțiile sunt sensibile la contaminanți;

2. Obținerea sondelor MLPA este complicată, laborioasă și scumpă;

3. Nu se pot studia celule individuale;

4. Nu este adecvată pentru detectarea mutațiilor punctiforme necunoscute.

Deși o reacție este limitată la analiza a 45 de secvențe diferite, de regulă acesta este mai mult decât suficient pentru elucidarea diagnosticului în majoritatea cazurilor.

INDICAȚII ȘI POSIBILITĂȚI DE UTILIZARE

Utilitatea acestei metode semicantitative este susținută de cele aproximativ 200 de articole publicate de la prima descriere de către Schouten și colab., iar de la introducerea tehnicii în 2003 s-a lărgit și domeniul de utilizare.^{17,19,20} Se consideră că MLPA este o metodă rapidă și eficientă pentru detectarea delețiilor și amplificărilor genomice care pot scăpa examenelor convenționale.⁷

În prezent MLPA se folosește în special pentru detectarea unor mutații care afectează numărul de copii ale unor fragmente genice sau cromozomiale, dar și pentru evidențierea unor SNP cunoscute, în diferite domenii și specialități.^{4,5,8,9,13,14,15,23}

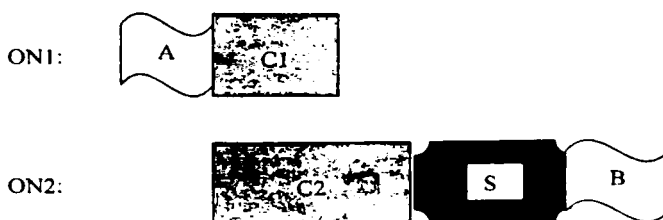


Figura 2. Structura sondelor MLPA

-Detectare rearanjamentelor mici în gene precum LDLR (hipercolesterolemia familială), DMD (distrofia musculară Duchenne), NF1 și NF2 (neurofibromatoze), CFTR (fibroza chistică), etc;

-Detectarea rearanjamentelor cromozomiale mari, precum cele care cauzează sindroamele Williams, Prader-Willi/Angelman, cri du chat, etc;

-Detectarea modificărilor de număr al copiilor din regiunile subtelomerice, de exemplu pentru elucidarea cazurilor de retard mintal de etiologie neprecizată;

-Detectarea modificărilor de număr al unor cromozomi, chiar din lichidul amniotic în cadrul diagnosticului prenatal, în aneuploidii 13, 18, 21, X, Y;

-În oncologie, pentru evidențierea modificării numărului de copii ADN în cancerul colorectal (MSH2, MLH1), mamar (BRCA1 și 2), etc;

-Studiul metilării insulelor CpG, de exemplu în sindromul X fragil sau în cazul genelor de supresie tumorală;

-Analiza ARNm în cazul genelor implicate în procesul inflamator și apoptoză.

Spectrul utilizării este în continuă creștere. Există kituri speciale pentru anumite tulburări care pot avea cauze genetice variate, cum sunt retardul mental și tulburările de sexualizare și se recomandă utilizarea acestei tehnici pentru screening-ul rapid și eficient al acestor afecțiuni.¹⁶ Se află în stadiul de elaborare alte probe specifice pentru telomer, centromer, dislexie, holoprozencefalie etc. și se pot realiza la comandă altele pentru diferite anomalii.

MLPA este foarte apreciată în oncologie, prezentând o serie de avantaje și posibilități noi. Unii autori recomandă utilizarea MLPA pentru screening în familiile predispușe la cancer și pentru caracterizarea moleculară rapidă, de rutină, în prima etapă a diferitelor tipuri de cancer, în special mamar și colorectal.^{1,7,16,11,12,20,22} Detectarea modificărilor de doză genic poate fi necesară nu numai pentru stabilirea diagnosticului, dar și în scop prognostic sau terapeutic. Astfel amplificarea genei ERBB2 (Her-2) este frecvent întâlnită în cancerul mamar și ovarian și se asociază cu un prognostic nefavorabil și rată de supraviețuire scăzută. Totodată acești pacienți pot beneficia de tratamentul cu Herceptin (Trastuzumab) care este un anticorp anti-Her-2. Pot fi supuse analizei și țesuturile vechi din preparate histopatologice incluse în parafină și tratate cu formaldehidă. Cantitatea de țesut necesară analizei având dimensiune foarte redusă, se pot studia și leziunile mici preneoplazice.² Pe de altă parte rezultatele se pot folosi și pentru a dovedi sau exclude caracterul clonal al modificărilor, respectiv identificarea și comparația liniilor celulare.³

COMPARAREA METODEI CU ALTE TEHNICI EXISTENTE ÎN PREZENT

Evidențierea unor deleții/duplicații noi ale genelor sau fragmentelor genice constituie o adevărată provocare pentru diagnosticul de laborator. În prezent se folosesc tehnici variate pentru detectarea numărului

anormal de copii ale secvențelor nucleotidice mai mari sau mai mici, cum este citogenetica clasică, FISH (Fluorescent In Situ Hybridisation), CGH (Comparative Genomic Hybridisation), Southern blotting, RT-PCR, etc. Majoritatea acestora permite identificarea deleției/amplificării unor secvențe scurte de câteva pb sau foarte extinse, dar există dificultăți în ceea ce privește evidențierea modificărilor de câteva kilobaze (de exemplu a unui singur exon); tehnicile respective sunt laborioase, necesită cantități mari de ADN și nu pot fi folosite pentru analiza simultană a mai multor probe. Mutațiile genice cauzate de deleția sau inserția câtorva nucleotide pot fi evidențiate cu ușurință prin PCR cantitativ/semicantitativ, Southern blotting și secvențiere, iar delețiile mari de ordinul megabazelor prin metode de citogenetică clasică sau moleculară. Identificarea deleției sau duplicației unei gene sau părți din genă întâmpină însă dificultăți tehnice, și probabil importanța și frecvența acestor anomalii este subestimată. O metodă adecvată pentru evidențierea acestor modificări probabil va putea elucida diagnosticul în numeroase cazuri în care diagnosticul este suspectat în baza examenului clinic, dar analizele de laborator nu pot evidenția nici o modificare dacă nu este posibilă căutarea țintită a mutației.^{4,5,18,20,23}

Citogenetica clasică poate evidenția aneuploidii și anomalii structurale care afectează un fragment de peste 4 milioane pb din genom, dar în cazul mutațiilor submicroscopice sau genice cariotipul pare normal. Astfel, în numeroase cazuri, analiza nu este informativă și este și laborioasă. Față de diagnosticul citogenetic obișnuit, pentru evidențierea trisomiilor umane, MLPA este o analiză mai rapidă și mai sensibilă: un test poate include până la 8 sonde pentru fiecare cromozom, deci anomaliile de număr pot fi detectate cu precizie și în probe fetale de dimensiuni reduse, ceea ce îi conferă un avantaj în diagnosticul prenatal.^{6,19}

FISH, o tehnică de citogenetică moleculară, poate detecta și modificările submicroscopice. Față de FISH, secvențele detectate de MLPA sunt mai mici, de aproximativ 60 de nucleotide, și este mult mai simplă și ieftină. MLPA însă, față de tehnicile de citogenetică, nu poate studia celulele individuale. Rezultatele reflectă media numărului de copii ale secvenței țintă din celulele analizate, deoarece ADN-ul se obține dintr-un amestec de celule. Astfel, de exemplu, în analiza neoplaziilor, este dificilă detectarea delețiilor/amplificărilor dacă proba biologică din care s-a extras ADN-ul conține mai puțin decât 50% de celule canceroase.^{10,14}

Prin Southern blotting se pot identifica majoritatea delețiilor și duplicațiilor, dar metoda este laborioasă, necesită mari cantități de ADN, iar anomaliile existente în afara sondei utilizate vor rămâne neidentificate.

Majoritatea metodelor convenționale care se bazează pe amplificarea prin PCR a probelor de ADN genomic nu pot detecta deleția sau duplicația unor alele deoarece este prezentă și alela normală. Delețiile și

amplificările cunoscute caracterizate pot fi detectate prin PCR, dar în majoritatea cazurilor nu se cunoaște exact punctul de ruptură, iar delețiile pot fi foarte variate. MLPA constituie o alternativă adecvată, care poate detecta delețiile și amplificările noi, dar față de o reacție PCR simplă, este mai sensibilă la contaminanți (fenol).

O reacție PCR multiplex în mod obișnuit utilizează o pereche de primeri pentru fiecare fragment amplificat; acești primeri sunt prezenți în exces, ceea ce poate determina o serie de probleme. Deoarece eficiența perechilor de primeri prezintă variații importante, este dificilă utilizarea metodei pentru cuantificarea relativă a secvențelor țintă. Mai mult, diferențe mici în ceea ce privește condițiile de reacție determină frecvent diferențe mari în ceea ce privește rezultatele obținute. MLPA evită aceste neajunsuri, deoarece amplificând nu proba biologică, ci sondele complementare determină utilizarea unei singure perechi de primeri. Deoarece oligonucleotidele care nu se leagă vor conține o singură secvență primer și astfel nu vor fi amplificate exponențial, nu este necesară îndepărtarea sondelor nelegate.²³

RT-PCR poate evidenția amplificările de număr mare ale unor secvențe, dar investigația simultană a mai multor secvențe este limitată. Utilizarea unor tehnici multiplex este esențială pentru detectarea de rutină a unor deleții și duplicații exonice în gene mari cu numeroși exoni implicați în etiologie în mod variabil (de ex. DMD – 79 exoni).

Tehnologia microarray este încă prea puțin sensibilă și reproductibilă pentru a detecta deleția sau duplicația unui singur exon. Totodată MLPA este o metodă mai ieftină, rapidă și simplă.

MAPH (Multiple Amplifiable Probe Hybridisation) este o metodă similară în care se cuantifică 40 de secvențe țintă diferite. MAPH utilizează sonde oligonucleotidice care hibridizează specific cu secvențele de acid nucleic. Fiecare probă hibridizată poate fi simultan amplificată utilizând o singură pereche de primeri. Rezultă un produs de amplificare de dimensiune unică, iar numărul de copii ale secvenței țintă este reflectată de intensitatea relativă a produsilor de sondă MAPH amplificați. Față de MLPA, MAPH este o tehnică laborioasă, necesitând imobilizarea și îndepărtarea excesului de acid nucleic. Obținerea sondelor pentru MAPH însă este mult mai simplă și nu necesită clonare.¹⁴

Varietatea mare de mutații și cantitatea frecvent redusă a produsului biologic studiat sunt limite frecvente ale utilizării tehnicilor uzuale în analiza modificărilor genetice în neoplazii, care pot fi rezolvate folosind tehnica MLPA.

Metoda MLPA, deci este în principiu o tehnică utilă pentru identificarea delețiilor și amplificărilor unor fragmente mai mici (cum ar fi un exon) sau mai mari (de exemplu un cromozom) ale materialului ereditar, care și-a dovedit superioritatea în identificarea delețiilor/duplicațiilor noi ale unor secvențe de câteva kilobaze în special la heterozigoți. Deși nu poate

identifica mutații punctiforme necunoscute, se poate folosi pentru evidențierea SNP cunoscute. În această situație însă, sondele folosite trebuie în așa fel proiectate, încât punctul de legătură a celor două oligonucleotide să fie situat la nivelul mutației. În cazul unui polimorfism, cele două oligonucleotide nu vor fi legate de către ligază, iar reacția de amplificare nu poate avea loc, ceea ce va determina lipsa semnalului.

PERSPECTIVE

Determinarea dozei genice are numeroase implicații, atât în cercetare, cât și în practica medicală. Deși a fost recent introdusă, metoda MLPA este folosită deja în peste 500 de laboratoare peste tot în lume. Folosit în prezent în special în scop de cercetare, iar în asociere cu alte metode în scop diagnostic, MLPA este recomandat pentru utilizare de rutină de către mulți utilizatori și autori ai publicațiilor de referință. În prezent este folosit în special în bolile genetice cauzate de mutații genice sau cromozomiale, pre- sau postnatal, respectiv în oncologie, dar utilizarea unor kituri cu genele implicate în procesul inflamator și apoptoză poate lărgi domeniul de utilizare.¹³

Unii autori recomandă utilizarea kiturilor în scop de screening în familiile predispușe la cancer. Totodată, poate fi utilă și pentru stabilirea prognosticului, urmărirea evoluției, inițierea și monitorizarea administrării unor medicamente noi.

Analiza automatizată a rezultatelor asistată de calculator poate aduce îmbunătățiri importante pentru MLPA.⁶

Obținerea sondelor pur sintetice în loc de cele obținute prin clonare poate ușura semnificativ procesul de realizare a kiturilor.²¹

Totodată trebuie menționat, că metoda se poate folosi nu numai în medicină, în scop de cercetare și de diagnostic, dar și în alte domenii foarte variate. Astfel de exemplu, MLPA se poate utiliza în agricultură pentru selectarea rapidă a homo- și heterozigoților.

În concluzie, tehnica MLPA este o metodă recent introdusă, care constituie o posibilitate simplă, ieftină și eficientă pentru analiza cantitativă relativă simultană a peste 40 de secvențe diferite de acid nucleic.

BIBLIOGRAFIE

1. AINSWORTH PJ - *Family cancer histories predictive of a high risk of hereditary non-polyposis colorectal cancer associate significantly with a genomic rearrangement in hMSH2 or hMLH1*, Clinical Genetic, 2004, 66:183-188.
2. BREMMER JF, BRAAKHUIS BJ, RUIJTER-SCHIPPERS HJ et al - *A noninvasive genetic screening test to detect oral preneoplastic lesions*, Lab Invest, 2005, 85:1481-1488.
3. BUIJS A, KRIJTBURG PJ, MEIJER E - *Detection of risk-identifying chromosomal abnormalities and genomic profiling by multiplex ligation-dependent probe amplification in chronic lymphocytic leukemia*, Haematologica, 2006, 91:1434-1435.
4. DE LELLIS L, CURIA MC, CATALANO T et al - *Combined use of MLPA and nonfluorescent multiplex PCR analysis by high performance liquid chromatography for the detection of genomic rearrangements*, Hum Mutat, 2006, 27:1047-1056.

5. DUDAREWITZ L, HOLZGREVE W, JEZIOROWSKA A et al - *Molecular methods for rapid detection of aneuploid*, J Appl Genet, 2005, 46:207-215.
6. GERDES T, KIRCHHOFF M, BRYNDORF T - *Automatic analysis of multiplex ligation-dependent probe amplification products (exemplified by a commercial kit for prenatal aneuploidy detection)*. Electrophoresis, 2005, 26(22):4327-4332.
7. GILLE JJ - *Genomic deletions of MSH2 and MLH1 in colorectal cancer families detected by a novel mutation detection approach*, Br J Cancer, 2002, 87:892-897.
8. HOCHSTENBACH R, MEIJER J, VAN DE BRUG J et al - *Rapid detection of chromosomal aneuploidies in uncultured amniocytes by multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)*, Prenat Diagn, 2005, 25:1032-1039.
9. LAI KK, LO IF, TONG TM et al - *Detecting exon deletions and duplications of the DMD gene using Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)*, Clin Biochem, 2006, 39:367-372.
10. MOERLAND E, HEZIK RL, AA TC et al - *Detection of HER2 amplification in breast carcinomas: comparison of Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) and Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) combined with automated spot counting*, Cell Oncol, 2006, 28:151-159.
11. MONTAGNA M - *Genomic rearrangements account for more than one-third of the BRCA1 mutations in northern Italian breast/ovarian cancer families*, Hum Mol Genet, 2003, 12:1055-1061.
12. NAKAGAWA H - *Identification and characterization of genomic rearrangements of MSH2 and MLH1 in Lynch Syndrome (HNPCC) by novel techniques*, Human Mutation, 2003, 22:258.
13. NYGREN AO, AMEZIANE N, DUARTE HM et al - *Methylation-specific MLPA (MS-MLPA): simultaneous detection of CpG methylation and copy number changes of up to 40 sequences*, Nucleic Acids Res, 2005, 33:e128.
14. PALOMARES M, DELICADO A, LAPUNZINA P et al - *MLPA vs multiprobe FISH: comparison of two methods for the screening of subtelomeric rearrangements in 50 patients with idiopathic mental retardation*, Clin Genet, 2006, 69:228-233.
15. PROCTER M, CHOU LS, TANG W - *Molecular diagnosis of Prader-Willi and Angelman syndromes by methylation-specific melting analysis and methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification*, Clin Chem, 2006, 52:1276-1283.
16. ROOMS L, REYNIERS E, WUYTS W et al - *Multiplex ligation-dependent probe amplification to detect subtelomeric rearrangements in routine diagnostics*, Clin Genet, 2006, 69:58-64.
17. SCHOUTEN JP, McELGUNN CJ - *Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification*, Nucleic Acids Research, 2002, 12:e57.
18. SELLNER LN, TAYLOR GR - *MLPA and MAPH: New Techniques for Detection of Gene Deletions*, Hum Mutat, 2004, 23:413-419.
19. SLATER HR - *Rapid, high-throughput prenatal detection of aneuploidy using a novel quantitative method (MLPA)*, J Med Genet, 2003, 40:907-912.
20. SLATER HR - *Improved testing for CMT1A and HNPP using Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) with rapid DNA preparations: Comparison with the Interphase FISH method*, Human Mutation, 2004, 24:164-171.
21. STERN RF - *Multiplex ligation-dependent probe amplification using a completely synthetic probe set*, Biotechniques, 2004, 37:399-405.
22. TAYLOR CF - *Genomic deletions in MSH2 or MLH1 are a frequent cause of hereditary non-polyposis colorectal cancer: identification of novel and recurrent deletions by MLPA*, Human Mutation, 2003, 22:428-433.
23. www.mlpa.com

Aportul ultrasonografiei standard și Doppler în diagnosticul bolilor renale

Mirela Gliga

Explorarea imagistica a rinichilor este esențială pentru stabilirea unui diagnostic de precizie. În acest context, cea mai accesibilă și neinvazivă metodă de explorare este ultrasonografia. Ea are aplicabilitate într-o gama largă de specialități medicale, începând cu cabinetul medicului de familie până la medicii specialiști interne, nefrologie sau urologie. În lucrare sunt prezentate pe larg indicațiile metodei cu exemplificări din colecția proprie. Se subliniază mai ales importanța metodei în situații de urgență atunci când un diagnostic rapid și exact poate salva viața bolnavului. Sunt prezentate de asemenea detalii tehnice ale metodelor de examinare: ecografia standard, Doppler color și Doppler pulsant ca și metode complementare de diagnostic.

Explorations of the kidneys are of primordial importance in diagnosing a patient. The most important method is ultrasound, because is noninvasive and repeatable. There are a lot of medical specialities where the method is usefull, starting with the family doctors, nephrologists, urologists. It is pointed the particular importance of the ultrasound in emergencies, when a precise and prompt diagnosis is needed in order to treat correctly. Also, ultrasonographic examinations are standard, Color and pulsated Doppler, and they are used alone or, most frecvent, combined. The images are from the personal collection of the autor.

Aprecierea morfologică a rinichilor constituie un pas hotărâtor pentru stabilirea diagnosticului în majoritatea bolilor renale, mai ales în situațiile de urgență cum ar fi insuficiența renală acută, colica renală, traumatismele renale sau mai nou, aprecierea precoce a rejetului după transplant renal. Ultrasonografia constituie o metodă accesibilă, neinvazivă, aplicabilă imediat în camera de urgență, repetabilă și ușor acceptată de bolnav. Prin aspectul parenchimului renal, al căilor urinare și al vascularizației (apreciată cu ajutorul efectului Doppler), ecografia poate tranșa rapid diagnosticul pozitiv sau exclude o serie de diagnostice diferențiale, având prin aceasta un aport hotărâtor în rapiditatea și acuratețea diagnosticului final.¹

ASPECTUL ECOGRAFIC NORMAL AL RINICHIULUI

1. Anatomie renală

Rinichii sunt localizați în cavitatea abdominală, retroperitoneal, „așezați” pe peretele abdominal posterior, fiind angulați în plan longitudinal și sagital. Această poziție este importantă pentru stabilirea planului de secțiune ecografică ce trebuie să cuprindă cât mai fidel axul longitudinal și transversal al rinichiului.

Axul longitudinal renal are de obicei o înclinație dinspre cranial spre caudal, dinspre posterior spre anterior și dinspre lateral spre medial, cunoașterea acestor detalii anatomice fiind extrem de importantă pentru stabilirea defectelor de rotație și poziție, multe dintre ele având determinism congenital.^{11,12}

Rinichiul drept (RD) are relații de vecinătate anatomică cu ficatul și flexura hepatică a colonului, fiind vizualizat ecografic cel mai bine prin fereastra

oferită de ficat. Polul inferior în schimb este de multe ori slab vizualizat datorită gazelor din colon, de aceea sunt deseori necesare secțiuni oblice la nivelul flancului drept, cu pacientul în decubit lateral stâng.

Rinichiul stâng (RS) este vizualizat prin fereastra oferită de splină, care, având dimensiuni mici comparativ cu ficatul creează uneori dificultăți mult mai mari de apreciere în ansamblu a RS, apărând frecvent ecranări datorită gazelor din flexura splenică a colonului sau descendent.

Valorile normale ale dimensiunilor renale sunt variabile, depind de vârstă și sexul pacientului, fiind mult studiate în literatură. În mod orientativ, la o examinare standard axul longitudinal renal nu trebuie să fie mai mic de 90mm iar grosimea parenchimului măsurată mediorenal pe secțiunea longitudinală să fie de minimum 15mm. În continuare se vor prezenta câteva date culese din literatură cu privire la dimensiunile renale normale.^{9,17}

Rinichiul adult cântărește 125-170 g la bărbat și 115-155 g la femeie, având 10-12 cm lungime, 5-8 cm lățime și 2,5-3 cm grosime.^{11,17}

Dimensiunile rinichilor sunt:

- lungimea rinichiului drept (cm):
 - la bărbați -11,3±0,8 (10,5-12,1)
 - la femei - 10,8±0,8 (10,0-11,6)
- lungimea rinichiului stâng (cm):
 - la bărbați -11,5±0,9 (10,6-12,4)
 - la femei - 10,9±1,0 (9,9-11,9)

ASPECTUL ECOGRAFIC STANDARD ȘI DOPPLER AL RINICHIULUI

Fără a absolutiza importanța metodei ultrasonografice, se poate spune că un pacient nefrologic nu este investigat complet dacă nu se efectuează și o ecografie a aparatului urinar.

Câteva dintre avantajele utilizării de rutină a ultrasonografiei în nefrologie sunt:

- este o metodă de investigație neinvazivă (absența efectelor secundare dăunătoare atât pentru pacient cât și pentru medic), practic fără riscuri; acestea pot apărea doar la expuneri de foarte lungă durată prin încălzirea țesuturilor dar în practică nici chiar examinarea obstetricală nu duce la efecte secundare.
- aplicabilitate imediată, chiar în cabinetul medicului de familie dacă există o minimă dotare,
- nu necesită pregătirea pacientului: în situațiile de urgență, sau atunci când examinatorul este experimentat, se poate folosi tehnica chiar dacă pacientul nu a ajutat
- repetabilitate;
- se poate face la pacienții în stare gravă, netransportabili, chiar și la patul bolnavului, dacă se dispune de un aparat portabil;
- informațiile se obțin rapid, pe loc și pot fi înregistrate pe hârtie sensibilă sau pe bandă video;
- preț de cost relativ mic față de alte tehnici imagistice;
- permite efectuarea unei investigații sonografice extinse: ecografia celorlalte organe retroperitoneale și abdominale, a cordului și vaselor inclusiv sonografia Doppler.¹⁹

Dezavantajele ultrasonografiei rezidă în:

a) limitele tehnice ale metodei: o rezoluție a imaginii dependentă de calitatea aparatului, la aparatele performante ea fiind comparabilă cu cea oferită de tomografia computerizată;

b) limitele aparatului disponibile datorită prețului de cost,

c) pregătirea și experiența examinatorului.

d) dificultatea de examinare Doppler a rinichilor datorită timpului limitat de apnee pe care îl au pacienții pentru examinarea vascularizației intrarenale

Indicațiile ultrasonografiei renale:

- infecțiile urinare;
- colica renală;
- litiaza urinară;²²
- hematuria macroscopică;
- diagnosticul diferențial al maselor abdominale solide de cele chistice;⁴
- diagnosticul și evaluarea tumorilor renale și ale căilor urinare;^{5,7}
- traumatismele abdominale și/sau renale;¹⁹
- diagnosticul hipertensiunii reno-vasculare;¹⁸
- malformațiile aparatului urinar;^{1,19}
- rinichiul nefuncțional urografic;
- atunci când urografia este contraindicată;
- diagnosticul etiologic al insuficienței renale acute (obstructivă, nonobstructivă);¹
- diagnosticul etiologic al insuficienței renale cronice;¹
- nefropatiile medicale;^{6,14}
- localizarea rinichiului în scopul procedurilor de intervenție diagnostică (puncția biopsie renală) sau terapeutică (evacuare de chisturi).
- evaluarea renală la bolnavul cirotic¹⁵
- evaluarea nefropatiei obstructive
- diagnosticul diferențial dintre insuficiența renală acută și cea cronică;
- evaluarea grefei renale;¹⁴

Practic, această examinare paraclinică pe care uneori o efectuăm chiar înaintea sosirii rezultatelor biochimice de laborator, intră în examenul de rutină reno-urinar.

În examinare standard, care este cea mai accesibilă, rinichii se vizualizează din mai multe incidențe, în funcție de interpunerea gazelor intestinale care împietăzesc foarte mult asupra calității imaginii obținute. Incidența obișnuită este cea longitudinală în hipocondrul drept folosind ca fereastră lobul drept hepatic pentru rinichiul drept și cea oblică la nivelul flancului stâng, folosind ca fereastră splina pentru rinichiul stâng. În multe situații însă, gazele provenind din interpoziția flexurilor colonice nu permit vizualizarea completă renală astfel că examinatorul trebuie să apeleze la multiple secțiuni oblice și transversale pentru surprinderea rinichiului în cât mai multe planuri de secțiune în vederea realizării unei „scanări” cât mai complete. Uneori este necesară examinarea din decubit ventral, folosind ca și fereastră ecografică masa musculară paravertebrală.¹

În imaginea 1 se vizualizează secțiunile standard efectuate la nivel renal pentru localizarea tuturor structurilor anatomiche.

Rinichiul drept este mai accesibil examinării datorită relației de vecinătate anatomică cu lobul drept hepatic, care constituie o bună fereastră ultrasonică pentru vizualizare completă în ax longitudinal și transversal a acestuia și inclusiv a regiunii suprarenale. Aspectul normal este vizualizat în figura 1.

Raporturile ecografice ale rinichiului drept sunt important de apreciat atât pentru detectarea unei posibile patologii coexistente dar și pentru orientarea ulterioară a vascularizației. Astfel, posterior RD vine în relație de vecinătate cu coasta XII și mușchiul pătratul lombelor, postero-medial cu mușchiul ilio-psoas, anterior cu flexura hepatică a colonului, spațiul Morrison al peritoneului, medial cu intestinul subțire iar superior cu glanda suprarenală.

Rinichiul stâng se pretează la dificultăți mult mai mari de vizualizare, datorită dimensiunilor mici ale splinei comparativ cu ficatul, precum și datorită învecinării cu colonul descendent și flexura splenică, uneori fiind necesară efectuarea secțiunilor posterioare, folosind ca și fereastră musculatura lombară. Aceste secțiuni sunt de asemenea dificile în cazurile pacienților cu deformități de coloană sau bazin. În aceste condiții există posibilitatea ca RS să nu fie vizualizat complet, fiind necesare pregătiri ale colonului sau alte examinări imagistice. Alte relații anatomice ale rinichiului stâng sunt: posterior și postero-medial la fel ca și RD, anterior fața posterioară a stomacului, medial joncțiunea duodeno-jejunală și aorta abdominală iar superior cu glanda suprarenală stângă. În condiții standard, RS are următorul aspect ecografic, vizualizat în figura 2.

Principalele elemente ecografice care sunt obligatoriu de urmărit la fiecare bolnav constau în dimensiunile axului longitudinal, dimensiunile

parenchimului renal exprimate în indicele parenchimos (IP), localizarea hilului renal, aspectul sinusului renal, aspectul parenchimului atât al corticalei cât și al medularei, grăsimea perirenală, lojele suprarenale, vezica urinară, organele de vecinătate, regiunea supradiaphragmatică.^{1,12,9} Pentru aprecierea mai exactă a statusului morfologic renal se determină volumul renal care rezultă din măsurarea celor 3 dimensiuni, lungimea, lățimea și grosimea calculându-se astfel volumul renal cu ajutorul formulei elipsoidului. Dimensiunile normale ale rinichilor sunt variabile la cei doi rinichi și în funcție de sex.

METODOLOGIE DE EXAMINARE

Examinarea se face „a jeun” cu vezica urinară plină sau în repoleție cât mai completă, pacientul plasat în decubit dorsal sau ventral cu întoarcere în decubul lateral stâng sau drept la nevoie, folosind un transductor cu frecvența de 3,5 MHz. Se efectuează secțiuni multiple în toate cele 3 planuri folosind ca și fereastră ecografică organe cu caracter parenchimos lipsite de gaze și anume ficatul, splina sau musculatura paravertebrală. Se localizează hilul renal în secțiuni transversale măsurându-se astfel diametrul longitudinal între cei doi poli, diametrul transversal la nivelul hilului latero-medial și grosimea prin secțiuni tot la nivelul hilului antero-posterior.^{1,9} Apoi se apreciază elementele hilului care din punct de vedere anatomic au orientarea dinspre anterior spre posterior în ordinea: vena, artera și bazinetul. Se examinează apoi sinusul renal care are aspect ecogen datorită multiplelor interfețe care se suprapun la acest nivel, formate din pereții vasculari, pereții căilor urinare intrarenale și țesutul grăsos. Parenchimul se apreciază din punctul de vedere al grosimii și aspectului corticalei în comparație cu medulara dar și cu ecogenitatea ficatului și a splinei. În mod normal corticala renală este mai hipocogenă decât parenchimul hepatic și ușor mai



Figura 1. Secțiune longitudinală subcostală în flancul drept

hiperecogenă decât cel splenic.^{1,9,12} Zonele medulare sunt mai bine vizibile la tineri, la care au un aspect ușor hipoecogen față de corticală, odată cu înaintarea în vârstă dar și în condiții patologice diferențierea cortico-medulară fiind tot mai ștearsă. De asemenea în condiții patologice această diferențiere se accentuează în sensul creșterii ecogenității corticalei (mai ales în glomerulopatii) sau a scăderii ecogenității medularei care devine transonică (în tubulopatii). Se trece apoi la examinarea vascularizației cu decelarea originii din aorta abdominală a arterelor renale și se examinează în continuare vascularizația intrarenală cu arterele segmentare în număr de 3-4 localizate în sinusul renal, arterele arcuate și interlobare.^{1,9} În final se vizualizează integritatea capsulei renale care este hiperecogenă, fină și bine vizibilă cu o rezoluție bună a aparatului.

EXAMINAREA CU AJUTORULUI EFECTULUI DOPPLER

Efectul Doppler este un efect fizic descris de Christian Johann Doppler în 1842 și se definește prin comportamentul sursei de ultrasunete în comparație cu organul țintă care se află în mișcare. În organismul uman, „organul” țintă sunt hematiile în mișcare sub forma fluxului sanguin, caracterizat prin sens și viteză de mișcare, astfel încât se poate aprecia vascularizația unui anumit teritoriu anatomic. De asemenea se diferențiază caracteristicile fluxului de tip arterial de cel de tip venos. Considerându-se că receptorul este staționar și știind că frecvența de emisie a transductorului este constantă și cunoscută FE, frecvența recepționată FR va fi egală cu FE.^{12,13,16,17} Dacă receptorul în mișcare se îndepărtează de transductor, frecvența recepționată va fi mai mică iar dacă receptorul se apropie de transductor, FR va fi mai mare decât FE. Elementul de bază pentru examinarea Doppler este frecvența diferențială FD care în primul

caz (staționar) este 0, în al doilea ($FR < FE$) va fi >0 , iar în cazul al treilea ($FR > FE$) va fi <0 . Cunoscând FD se poate calcula viteza fluxului folosind formula: $V = FD \times C / 2 \times FE \times \cos q$, V este viteza fluxului, FD frecvența diferențială, FE frecvența de emisie, C viteza de propagare a US în mediul respectiv, iar q este unghiul dintre fasciculul de US emis și direcția de mișcare a sângelui. Pentru că atât C cât și FE au valori constante cunoscute, se pot îngloba într-o constantă k formula devenind acum: $V = k \times FD / \cos q$, obținându-se astfel varianta simplă a formulei Doppler. Așa cum reiese din formulă factorii care influențează calitatea examinării Doppler sunt frecvența diferențială și unghiul teta care pentru acuratetea formulei trebuie să fie de cel mult 60° .^{1,9}

Informații optime sunt oferite dacă unghiul este între $0-20$ grade, aparatele moderne permițând calcularea automată și corecții chiar la unghiuri mai mari. Frecvența de emisie este de asemenea un element important. Viteza este invers proporțională cu frecvența de emisie, astfel încât pentru a putea înregistra viteze mai mari este necesară o frecvență mai mică a transductorului.

Structura anatomică vasculară normală intra și extrarenală este vizualizată în figura 4 examinarea Doppler făcându-se la mai multe nivele: trunchiul arterelor renale pentru stenoze și ramurile arterelor segmentare și interlobare pentru rezistivitatea intrarenală.

Astfel, prima entitate urmărită la examinarea vasculară renală este artera renală care se vizualizează la 0,5-1cm de la emergență, urmărind condițiile necesare examinării Doppler ideale, adică eșantionul Doppler să fie plasat în interiorul arterei, cu un unghi de sub 60 grade și să fie înregistrate min 3 fluxuri arteriale.^{1,9,17} Secțiunile efectuate sunt transversale la nivel mediu între epigastru și ombilic, eventual cu

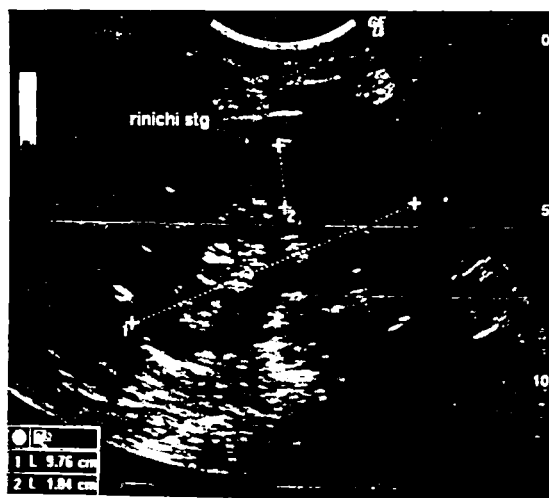


Figura 2. Secțiune longitudinală în flancul stâng sub rebordul costal. Ax lung și indice parenchimos.

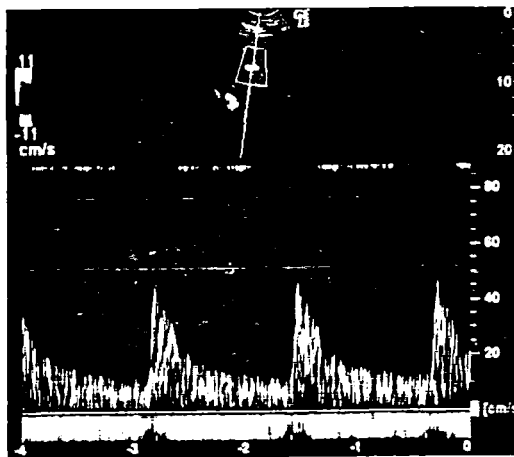
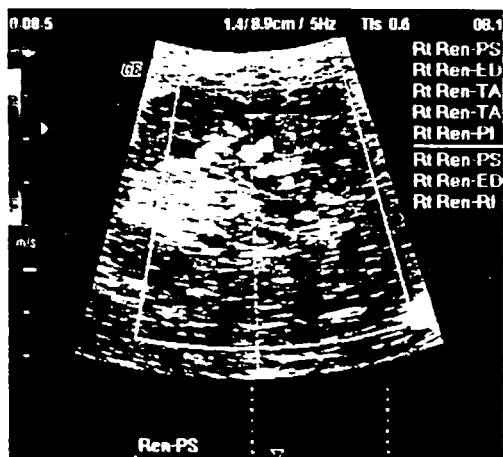
secțiuni oblice la nevoie pentru a evita gazele intestinale. În aceste condiții (care uneori pot fi greu realizate datorită imposibilității bolnavului de a menține apneea, a abdomenelor voluminoase sau aerocoliei), fluxul arterial normal are aspectul relevat în figura 3.

Acești parametri sunt cantitativi sau calitativi. Cei cantitativi sunt reprezentați de viteza sistolică, diastolică, viteza medie, indicele de rezistivitate și de pulsilitate, accelerație. Cei calitativi determină sensul, aspectul curbei și lărgirea spectrală. Informațiile obținute prin metoda Doppler sunt înscrise pe un grafic care înregistrează variația frecvenței diferențiale în funcție de timp și se numește curbă Doppler. Acest grafic reprezintă pe verticală variația frecvenței iar pe orizontală timpul. Toate traseele de formă oblică definesc modificarea vitezei în timp: accelerație (traseele ascendente) și decelerație (cele descendente). Prezența fluxului este dată de apariția unei modificări de traseu față de linia timpului. Sensul fluxului este stabilit convențional, deasupra axei timpului - sens pozitiv sau apropiat spre transductor și invers. Viteza fluxului poate fi aflată în orice moment folosind formula citată anterior cu corecția unghiului teta. Caracterul fluxului (laminar sau turbulent) este dat de aspectul omogen sau inhomogen al curbei de flux așa cum rezultă din imagini.¹⁷

Examinarea Doppler se poate face în mai multe moduri în funcție de construcția transductorului și modul de emisie-recepție a ultrasunetelor. Astfel în examinarea Doppler continuu (utilă pentru examinarea vaselor periferice superficiale) un cristal emite continuu. Venele renale se examinează cu setări asemănătoare la nivelul trunchiului venos și la nivel intraparenchimat, examinarea fiind mai ales calitativă în ce privește prezența fluxului în cazurile de tromboze venoase mai ales cele consecutive invaziei venoase neoplazice. În

figura 3 se descrie aspectul normal al fluxului venos, care uneori poate fi vizualizat concomitent cu cel arterial,^{10,13,16} semnal care este recepționat tot continuu de alt cristal. Pentru examinările de profunzime cu fluxuri multiple, se folosește examinarea Doppler pulsant când același cristal emite și apoi recepționează semnalul obținut. Această modalitate oferă posibilitatea de a examina fluxul într-un teritoriu bine precizat cu ajutorul "eșantionului Doppler", fără ca semnalul să fie influențat de alte fluxuri de vecinătate. În această situație se stabilește zona de examinat prin eco bidimensional apoi se aplică "eșantionul" Doppler la nivelul vasului care se dorește examinat și se pornește semnalul pulsant. Se obține o curbă pulsatorie a vitezelor în funcție de timp, care păstrează o "fereastră" spectrală neagră, lipsită de semnal. Această metodă poartă numele de ecografie Doppler - Duplex. Fluxul laminar (ordonat) are fereastră spectrală netă și spectru îngust, fluxul turbulent (dezordonat de obicei de stenoze) are spectru larg și "fereastră" spectrală disparsă. Fluxurile arteriale sunt diferite de cele venoase prin caracteristicile de viteză și de aspect spectral așa cum reiese din figura 3 a și b. Examinarea trunchiurilor vasculare se face cunoscând aspectele anatomice normale și variantele posibile care sunt descrise în continuare. Aceste aspecte sunt relevante în evaluarea precoce a rejetului posttransplant dar și în aprecierea rejetului cronic.^{3,20,21}

Artera renală dreaptă are origine anterioară sau posterioară din aortă, în timp ce artera renală stângă nu are niciodată emergență anterioară. Din trunchiul arterei emerg 3 până la 6 artere segmentare care se regăsesc la nivelul complexului ecogen central. Există și variante anatomice, în 13% din cazuri emergența unei artere segmentare este mai aproape de aorta abdominală și în 10% există două artere renale.¹⁷ Condițiile de examinare sunt următoarele: bolnavul în decubit dorsal, după repaus digestiv de 6-8 ore,



a.

b.

Figura 3 Flux normal în artera și vena renală stângă la nivelul hilului. a - aspect Doppler color; b - aspect Doppler duplex

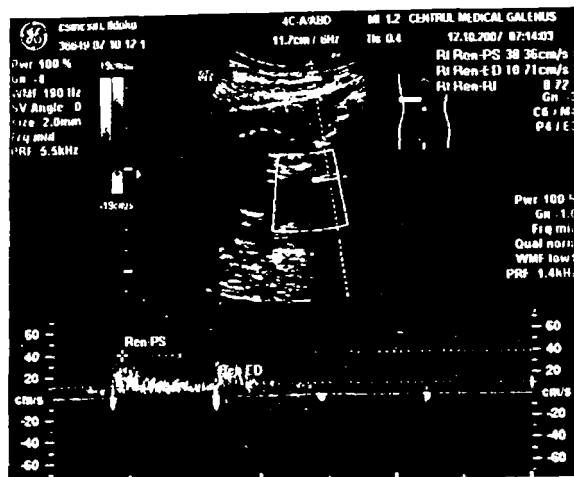


Figura 4. Vizualizarea arterei renale la nivelul hilului rinichiului drept. Ecografie Doppler Duplex.

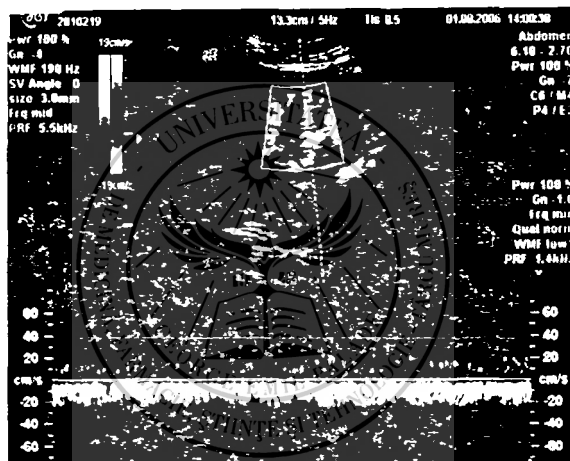


Figura 5. Examen Eco-Doppler Duplex cu vizualizarea fluxului în vena renală (vena se colorează în albastru și fluxul este negativ, ușor undulat, modulat după mișcările cordului)

obezitatea, calcificările aortei și gazele fiind factori de dificultate a examinării. În examen Doppler puls, arterele renale se caracterizează prin rezistivitate medie-joașă, cu viteze maxime de până la 100cm/sec și indice de rezistivitate IR sub 0,7. Indicele de pulsilitate normal este sub 1,25.

Examinarea la nivelul arterelor segmentare și interlobare necesită setare la viteze mici cu scăderea filtrului parietal și a frecvenței de repetiție a pulsului (setări asemănătoare cu cele venoase) datorită vitezelor mici prin aceste segmente arteriale. Sunt de asemenea artere de rezistență joasă, cu parametri asemănători.

Examinarea vasculară renală este favorizată de bogăția elementelor arteriale și implicit și venoase, având în vedere adaptarea anatomică după funcționalitatea renală, aspect oglindit în figura 5.

Venele renale au un traiect aproximativ asemănător arterelor, însoțindu-le pe acestea la nivelul hilului și a

ramificațiilor intrarenale. În hil, ordinea localizării din anterior spre posterior este: vena, artera și bazinetul.

Vena renală dreaptă este scurtă până la vărsarea în VCI, vena renală stângă având un traiect mai lung, anterior de aorta abdominală și posterior de artera mezenterică superioară.

Parametrii Doppler care se urmăresc au următoarele valori normale:

Viteza sistolică maximă în trunchiul arterei v max S
0,6- 1,4 m/s (< 1,8)

Viteza sistolică maximă intrarenal
0,5-0,9 m/s

Indicele de rezistivitate S – D / S.

0,56 – 0,7

Indicele de pulsilitate S – D / mediu

0,7 – 0,14

Raportul reno aortic V sistolica renală / V sistolică în aortă
< 3.5

Timpu de ascensiune sistolică

0.11 +/- 0.06

Accelerația

11 +/- 8 m/s²

Parametrii care sunt cei mai mult studiați sunt indicele de rezistivitate și de pulsilitate, care reflectă cel mai bine "rezistența" la flux a circulației intrarenale, aspect care ar reflecta cel mai fidel modificările morfologice intrarenale.^{1,9}

Fără a absolutiza importanța ecografiei în diagnosticul bolilor renale, totuși aceasta este considerată ca o metoda paraclinică de primă importanță la care se apelează uneori chiar înaintea altor examinări de laborator. Posibilitatea efectuării unui diagnostic de probabilitate rapid, a excluderii altor cauze posibile și mai ales diagnosticul definitiv care nu rareori se poate face direct în camera de gardă fac ca ecografia să fie tot mai mult folosită atât intraspitalicesc cât și, mai modern, chiar în cabinetul medicului de familie. Pe lângă examinarea renală, o viziune rapidă asupra întregului abdomen poate duce la stabilirea rapidă, fără marjă de eroare, a unui diagnostic fiabil, de precizie care să permită luarea imediată a măsurilor terapeutice necesare. Deși ecografia este o metodă deja folosită de peste 30 de ani, totuși sisteme computerizate moderne permit o calitate a imaginilor din ce în ce mai performantă.^{2,4}

BIBLIOGRAFIE

1. BADEA R, P MIRCEA, S DUDEA, F STAMATIEN - *Tratat de ultrasonografie clinică* - Editura Medicală, 2000, vol 1, pag 440-490
2. CHOI YH, KIM SH - *Contrast-enhanced ultrasonography of the kidney: a quantitative analysis of real - time perfusion imaging of the normal cortex and tumors*, *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2003, 29, Supplement 1: S36
3. CLAUDON M, MANDRY D, GALLOY A - *Improved diagnosis of early kidney allograft dysfunction by ultrasound with echo enhancer: A new method for the diagnosis of renal perfusion*, *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2006, 32, Supplement 1: P159
4. CORREAS J - *History of ultrasound in nephrology* - *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2001, 27: 447-453
5. FISCHER T, THOMAS A, SLOWINSKI T, ET AL - *Rare benign tumors of the kidney: US findings and the correlation with CT, MR and pathologic features*, *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2006, 32, Supplement 1: 226
6. GLIGA M, SOLOT O - *Studiu morfologic ultrasonografic renal în nefropatia diabetică*, Sesiunea științifică a cadrelor didactice UMF Targu- Mureș - noiembrie 2004
7. HIROKI W - *Early detection of renal cell carcinoma by ultrasonographic screening—based on the results of 13 years screening in Japan*, *Ultrasound in Medicine & Biology*, 1999, 25: 1033-1039
8. KONDO A, AKAKURA K, ITO H - *Assessment of renal function with color Doppler ultrasound in autosomal dominant polycystic kidney disease*, Department of Urology, Chiba University School of Medicine, Chiba, Japan.
9. MIRCEA P, POP Ș, CHIRA R - *Ecografie generală*, UMF Cluj Napoca, 203-246.
10. MONTEMEZZI S, SAGGIN P, ZONTA L, GORTENUTI G - *Intra-renal US and color Doppler: pathology or nephrologic significance*, *Arch Ital Urol Nefrol Androl*. 1992, 64, supp2: 131-138
11. QUATA E, BERTOLOTTO M - *Renal parenchymal disease: is characterisation feasible with ultrasound?*, *European Radiol*, 2002, 12: 2006-2020
12. QUARTO DI PALO F, RIVOLTA R, ELLI A, CASTAGNONE D - *Relevance of resistive index ultrasonographic measurement in renal transplantation*, *Nephron*. 1996;73:195-200.
13. ROSS M, LINN ROMREL, G KAY - *Histology- A Text and Atlas* - Third edition 1995: 558-567, 578-579.
14. PLATT JF, RUBIN JM, ELLIS JH - *Diabetic nephropathy: evaluation with renal duplex Doppler US*, *Radiology*. 1994;190:343-346.
15. PLATT JF, ELLIS JH, RUBIN JM, ET AL - *Renal duplex Doppler ultrasonography: a noninvasive predictor of kidney dysfunction and hepatorenal failure in liver disease*, *Hepatology*. 1994;20:362-369.
16. PLATT JF, ELLIS JH, RUBIN JM, ET AL - *Intrarenal arterial Doppler sonography in patients with nonobstructive renal disease: correlation of resistive index with biopsy findings*, *AJR Am J Roentgenol*. 1990;154:1223-1227.
17. PETERSEN LJ, PETERSEN JR, LADEFOGED SD, ET AL - *The pulsatility index and the resistive index in renal arteries in patients with hypertension and chronic renal failure*, *Nephrol Dial Transplant*. 1995;10:2060-2064.
18. SHUICHI M, KEIICHIRO K, RITSUKO Y, WASAKU K - *Intrarenal doppler findings of upstream renal artery stenosis: A preliminary report*, *Ultrasound in Medicine & Biology*, 1993, 9: 3-12
19. STEVEN A, GODWIN MD, GODWIN SA - *Introduction to Emergency Ultrasound. A Review Of Justifications, Indications And Significant Findings*, Department of Emergency Medicine at the University of Florida Health Science Center / Jacksonville.
20. TAPIO V, ARI K - *Ultrasonic measurement of glomerular diameters in normal adult humans*, *Ultrasound in Medicine & Biology*, 1996, 22: 987-997.
21. THALHAMMER C, ASCHWANDEN M, MAYR M ET AL. *Colour-coded duplex sonography after renal transplantation*, *Ultraschall Med*. 2007;28: 6-21
22. TUBLIN ME, DODD GD - *Acute renal colic: diagnosis with duplex Doppler*, *US Radiology*, 1994, 193:697-701
23. VEHMAS T, KAUKIAINEN A - *Factors associated with renal cortical echogenicity*, *Ultrasound in Medicine & Biology*, 2006, 32: 1151-1155

Nota autorului: imaginile prezentate sunt proprii, examenările au fost efectuate cu ajutorul unui aparat ecografic General Electric Logiq5.

Rosmarinic acid in the genus *Stachys* L.

Szilvia Czigle¹, Erzsébet Háznagy-Radnai², J. Tóth¹, I. Máthé^{2,3}, D. Grančai¹

Extractele părților aeriene a mai multor specii de plante din genul *Stachys* L. (Lamiaceae) au fost folosite în medicina populară, pentru tratarea infecțiilor, a bolilor reumatismale și a altor boli inflamatoare. Acidul Rosmarinic este știut ca având efectele antivirale și antioxidative ale familiei Lamiaceae. Am dezvoltat o metodă simplă HPLC pentru a determina conținutul acestui compus în frumzele a nouă specii de *Stachys*. Numărul total al derivaților acidului hidroxicinnamic, exprimat ca acid rosmarinic, au fost determinate prin utilizarea unei metode spectrofotometrice adaptate conform Farmacopiei Europene 5. Conținutul total al derivaților acizilor hidroxicinamici a fost între 0.17-3.60%; iar între acestea acidul rosmarinic a fost depistat la 0.005-0.45% din specii.

Cuvinte cheie: *Stachys* L., acid rosmarinic, HPLC, metoda spectrofotometrică

Extracts of the aerial parts of several plant species of the genus *Stachys* L. (Lamiaceae) have been used in folk medicine in infective, rheumatic and other inflammatory disorders. Rosmarinic acid is known as the antiviral and antioxidative principle of the Lamiaceae family. A simple HPLC method was developed to determine the content of this compound in the leaves of nine *Stachys* species. Total hydroxycinnamic acid derivatives, expressed as rosmarinic acid, were determined using a spectrophotometric method adapted from Ph. Eur. 5 as well. The content of total hydroxycinnamic acid derivatives, was found to be 0.17 % – 3.69 %, whereas rosmarinic acid content was found in the range between 0.05 % and 0.46 % in the respective species.

Keywords: *Stachys* L., rosmarinic acid, HPLC, spectrophotometric method

The genus *Stachys* L. is one of the largest genera of the Lamiaceae family, with some 300 species, most of them growing wild in Europe. It also comprises several medicinal plants with recognized therapeutic applications, of which especially *St. recta*, *St. sylvatica*, and *St. palustris* are used as herbal anti-inflammatory, anti-rheumatic, anti-bacterial and blood-clotting drugs. Plants of this genus have been applied in folk medicine to treat genital tumours, sclerosis of the spleen, inflammatory tumours and cancerous ulcers. Teas prepared from the whole plant, or its leaves or roots are used in phytotherapy for their sedative, diuretic and emmenagogue activities.^{1,5,9,15}

Despite *Stachys* is the second largest genus of the family Lamiaceae, little is known on its chemistry. Iridoids, e. g. harpagide, acetylharpagide, ajugol, are considered the main group of biologically active

constituents. Essential oil components were studied more in detail in some *Stachys* species. Phenolic compounds represent another important group of secondary metabolites of these plants, of which phenylpropanoic acids (rosmarinic and caffeic acid), and flavonoids are to be named.^{4,6,13,14}

To verify some of these points, nine *Stachys* species, either native or easily cultivated in Hungary, have been studied. These are *Stachys officinalis* L., *St. germanica* L., *St. byzantina* Koch, *St. grandiflora* Host, *St. macrantha* (C. Koch) Jasas, *St. palustris* L., *St. recta* L., *St. sylvatica* L., *St. annua* L. The respective plants were divided into four groups according to the sections considered in systematic botany. The distinction of the genera *Stachys* and *Betonica* is still uncertain, e. g. the first mentioned plant is broadly accepted by both the synonyms *Stachys officinalis* (L.) Trev. and *Betonica officinalis* L.

MATERIAL AND METHODS

Plant material

Plants of *Stachys* L. were cultivated in the Institute of Ecology and Botany of the Hungarian Academy of

Department of Pharmacognosy and Botany, Faculty of Pharmacy, Comenius University

²Institute of Pharmacognosy, University of Szeged, Hungary

³Institute of Ecology and Botany of the Hungarian Academy of Science, Vácraát, Hungary

Adresa de corespondență: Szilvia Czigle, Department of Pharmacognosy and Botany, Faculty of Pharmacy, Comenius University, Odbojárov 10, SK-832 32, Bratislava 3, Slovakia

Table I. Plant material

	Sections	Species	Place of collection	Date of collection
1.	Betonica	<i>St. officinalis</i>	Búcsútető, H	02.07.2001
2.	Eriostomum	<i>St. germanica</i> L. I	Bratislava, SK	20.06.2000
3.		<i>St. germanica</i> L. II	Vácrátót, H	24.06.2002
4.		<i>St. byzantina</i> Koch	Vácrátót, H	20.07.2002
5.	Stachys	<i>St. grandiflora</i> Host I	Vácrátót, H	21.06.1999
6.		<i>St. grandiflora</i> Host II	Vácrátót, H	24.06.2002
7.		<i>St. macrantha</i> (C.Koch) Jalas	Vácrátót, H	12.01.2001
8.		<i>St. palustris</i> L.	Fonyód, H	12.06.2004
9.		<i>St. recta</i> L. I	Kőrösfő, H	07.07.2001
10.		<i>St. recta</i> L. II	Vácrátót, H	17.07.2003
11.		<i>St. sylvatica</i> L.	Vácrátót, H	31.05.2002
12.	Olisia	<i>St. annua</i> L.	Vácrátót, H	16.07.2001

Science, Vácrátót, Hungary; in the Garden of Medicinal Plants of the Faculty of Pharmacy, Comenius University in Bratislava; or collected open-growing at localities in Hungary (Table I). The herb was dried at 32 °C and stored in paper sacks in a dark, cool and dry depository. Voucher specimens (No St.1-12) are deposited in the Herbarium of the Institute of Pharmacognosy, University of Szeged.

Chemicals

Methanol for HPLC was of gradient grade (Merck), other solvents and chemicals (tetrachloromethane, ethanol, *o*-phosphoric acid, hydrochloric acid, sodium nitrite, sodium molybdate, sodium hydroxide) of p. a. grade. Analytical standard rosmarinic acid (Aldrich).

Equipment

The HPLC system (Ecom, Czech Republic) consisted of a gradient programmer (GP3), a micropump (Beta10) and a variable UV-VIS detector (LCD 2082). Data were analysed with the integrator CSW 1.7 (DataApex, Czech Republic). The analytical column was a reversed phase Lichrospher 100 RP 18(e), 4 mm x 125 mm, 5 µm (MZ-Analytical, Germany).

For sample preparation, an ultrasonic bath (Tesla, Slovakia), a pH meter (Knick, Germany) and a centrifuge (Mechanika Precyzyjna, Poland) were used.

A Specol 11 spectrophotometer (Carl Zeiss, Jena, Germany) was used for the spectrophotometric measurement.

Sample preparation

Aerial parts of nine species of *Stachys* L. (12 samples) were ground to a fine powder (400) and 1.000 g of the powdered drug was refluxed with 50 ml of methanol in a Soxhlet extractor for 3 h and evaporated to dryness. The residue was dissolved in methanol, filtered and diluted to 25.0 ml with methanol prior to analysis (solution A).

The samples were treated using a liquid-liquid pre-separation method prior to HPLC analysis in order to prolong the life-time of the chromatographic column.¹⁶

Chromatographic analysis

The mobile phase consisted of methanol and water (pH 2.5, adjusted with *o*-phosphoric acid). A linear gradient in the range from 40 % to 80 % of methanol was used for the chromatographic separation.¹⁶ Rosmarinic acid eluted at approx. 50 % of methanol. The flow rate was 0.5 ml/min, the injection volume was 20 µl. All analyses were carried out at ambient temperature. Spectra were recorded at 320 nm. The method of external standard was used for quantification. The content of rosmarinic acid was calculated with reference to the drug dried at 105 °C and expressed in % (m/m).

Spectrophotometric analysis

Total hydroxycinnamic acid derivatives, expressed as rosmarinic acid, were determined by a spectrophotometric method adapted from Ph. Eur.⁵¹², using sodium nitrite and sodium molybdate reagents. The absorbance of the test solution was measured at 505 nm by comparison with the compensation solution.

Each sample was analysed in triplicate and means were calculated.

RESULTS AND DISCUSSION

The genus *Stachys* L. is one of the largest genera of the Lamiaceae but information about its chemistry is limited. We have examined nine *Stachys* spp., especially the ones that are native to Hungary and Slovakia but had not been the focus of research in Europe before.

The quantitative analysis of *Stachys* spp. was limited to certain constituents: rosmarinic acid was determined by a HPLC method (Figure 1); total hydroxycinnamic acid derivatives, such as rosmarinic acid, were determined by a spectrophotometric method (Figure 2).

The content of total hydroxycinnamic acid derivatives (THD), expressed as rosmarinic acid (RA), was found to be 0.17 % – 3.69 %, whereas rosmarinic acid content was found in the range between 0.05 % and 0.46 %.

Only one member of the section *Betonica*, *Stachys officinalis*, was analysed, the determined content of active compounds was as follows: 0.34 % THD, 0.13 % RA. Amongst the members of the section

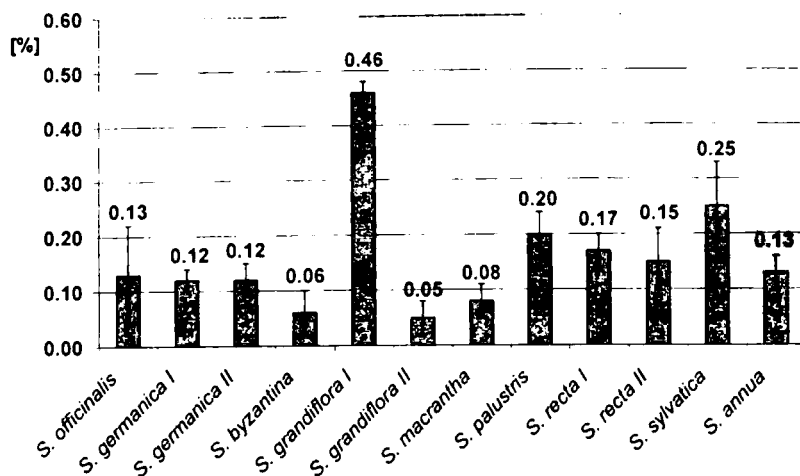


Figure 1. Content of rosmarinic acid in *Stachys* species determined by a HPLC method

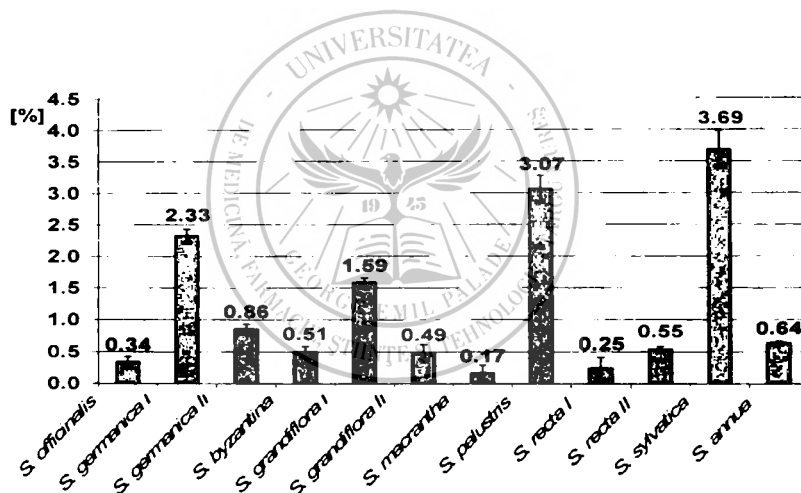


Figure 2. Content of total hydroxycinnamic acid derivatives, expressed as rosmarinic acid, in *Stachys* species determined by a spectrophotometric method

Eriostomum, two samples of *St. germanica* were analysed, plants collected in Bratislava (2.33 % THD, 0.12 % RA) and in Vácrátót (0.86 % THD, 0.12 % RA), together with *St. byzantina* (0.51 % THD, 0.06 %). The section *Stachys* was represented by 5 species and 7 samples – *St. sylvatica* showed highest contents (3.69 % THD, 0.25 % RA), whereas *St. macrantha* lowest contents of active compounds (0.17 % THD, 0.08 % RA). *Stachys annua* was the only representative of the section *Olisia* (0.64 % THD, 0.13 % RA).

Rosmarinic acid (RA) and caffeic acid (CA) are common constituents of Lamiaceae plants^{2,11}, but the published works provide mainly qualitative data on the

presence of these compounds. Several methods for the HPLC quantification of rosmarinic acid have been described.^{2,3,16} The content of rosmarinic and caffeic acids in 96 Lamiaceae taxa was also investigated using a TLC-densitometric method.⁸ Three *Stachys* species were included in this set: *St. byzantina* C. Koch, *St. grandiflora* (Stev.) Benth., and *St. sylvatica* L. A relatively high concentration of caffeic acid but no content of rosmarinic acid was determined in this three species.

The aim of this study was to determine the content of phenolic active compounds in the genus *Stachys*, as well as to detect possible intrinsic and extrinsic

influences on the content of these compounds. The results show no significant chemotaxonomic relevance of phenolics, neither a dependence on the geographical locality of the collection of the plants. Both these influences have been observed in terpenic constituents of the essential oil of another Lamiaceae plant, lemon balm.^{10,17} The content of rosmarinic acid does not vary significantly in the course of a vegetation period in lemon balm plants¹⁶, neither differences in its content amongst subspecies of lemon balm was observed.¹⁷ Further investigation of *Stachys* species and their chemistry and pharmacology is needed.

REFERENCES

1. CANTINO PD, HARLEY RM, WAGSTAFF SJ – *Genera of Labiatae: Status and Classification*, in: Harley RM, Reynolds T (eds): *Advances in Labiatae*, Science Royal Botanic Gardens, Kew, 1992, 511-555.
2. ČANIOVÁ A, BRANDŠTEROVÁ E – *HPLC analysis of phenolic acids in Melissa officinalis*, J Liq Chromatogr Rel Technol, 2001, 24:2647-2659.
3. GRACZA L, RUFF P – *Rosmarinsäure in Arzneibuchdrogen und ihre HPLC-Bestimmung*, Arch Pharm (Weinheim), 1984, 317:339-345.
4. HÁZNAGY-RADNAI E, CZIGLE SZ, JANICSÁK G et al – *Iridoids of Stachys species growing in Hungary*, J Planar Chromat, 2006, 19:187-190.
5. HÁZNAGY-RADNAI E, CZIGLE SZ, ZUPKO I et al – *Comparison of antioxidant activity in enzyme-independent system of six Stachys species*, Fitoterapia, 2006, 77:521-524.
6. HEGNAUER R – *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Band 4, Birkhausen Verlag, Basel, 1972, 289-346.
7. HOLZMANNOVÁ V – *Rosmarinic acid and its biological activity*, in: Czech Chem listy, 1996, 90:486-496.
8. JANICSÁK G, MATHÉ I, MIKLÓSSY-VÁRY V et al – *Comparative studies of the rosmarinic and caffeic acid contents of Lamiaceae species*, Biochem Syst Ecol, 1999, 27:733-738.
9. MALEKI N, GARJANI A, NAZEMIEH H et al – *Potent anti-inflammatory activities of hydroalcoholic extract from aerial parts of Stachys inflata on rats*, J Ethnopharmacol, 2001, 75:213-218.
10. MRĽIANOVÁ M, TEKEĽOVÁ D, FELKLOVÁ M et al – *Comparison of the Quality of Melissa officinalis L. cv. Citra with Melissas of European Origin (in Slovak)*, Čes slov farm, 2001, 50:299-302.
11. PETERS M, SIMMONDS MSJ – *Rosmarinic acid*, Phytochemistry, 2003, 62:121-125.
12. Pharmacopoea Europoeia, 5th edition, Strassbourg, Council of Europe, 2005, 1989-1990.
13. RADNAI E, DOBOS Á, VERES K et al – *Essential oils of Stachys species, growing in Hungary* (Proc Int Conf on MAP, Part 2, 2001), Acta Horticulturae, 2003, 597:137-142.
14. RADNAI E, VERES K, CZIGLE SZ et al – *Újabb adatok a Stachys fajok illóolaj-vizsgálatahoz*, Book of Abstracts Elvásztáztudományi Vándorgyűlés. 2002, Lillafüred, Hungary, 46.
15. SKALTSÁ HD, LAZARÍ DM, CHINON IB et al – *Composition and antimicrobial activity of the essential oils of Stachys candida and Stachys chrasantha from Southern Greece*, Planta Med, 1999, 65:255-256.
16. TÓTH J, MRĽIANOVÁ M, TEKEĽOVÁ D et al – *Rosmarinic acid – an important phenolic active compound of lemon balm (Melissa officinalis L.)*, Acta Facult Pharm Univ Comenianae, 2003, 50:139-146.
17. TÓTH J, MRĽIANOVÁ M, TEKEĽOVÁ D et al – *Comparison of two subspecies of lemon balm (Melissa officinalis L.) using HPLC and GC-MS methods*, Book of abstracts EuroConference Modern Analytical Methods for Food and Beverage Authentication, Lednice, 2002, 56.

Acknowledgements: This work was supported by the Slovak Grant Agency VEGA Project No. 1/4289/07, APVV-51-017905, and by the Hungarian National Scientific Research Foundation OTKA T 043148.

Corelarea aspectelor endoscopice ale mucoasei gastrice obținute prin endoscopia cu magnificație, cu aspecte clinicopatologice

Daniela Dobru¹, Simona Mureșan¹, Angela Borda²,
Simona Mocanu³, Simona Stolnicu³

Scop: Corelarea diverselor aspecte endoscopice ale mucoasei gastrice obținute prin endoscopia cu magnificație, cu aspecte clinicopatologice și infecția cu *Helicobacter Pylori*.

Metoda: Microstructura mucosala gastrica (pit pattern) și arhitectura microvascularizatiei au fost studiate la un lot de 70 de pacienti, utilizand un Video gastroscop cu magnificație Olympus EXERA-160 GIF-Q160Z.

Endobiopsiile au fost examinate histopatologic și testul rapid cu ureaza, pentru evidentiarea infectiei cu *Helicobacter Pylori*, a fost efectuat la toti pacientii.

Rezultate: Examinarea pit-patternurilor mucoasei gastrice a permis clasificarea acestora în 5 tipuri: Tip A - rotund regulat, Tip B oval regulat, Tip C - tortuos, Tip D - reticular, Tip E - vilos (conform majoritatii clasificarilor internationale actuale). Gradul de detectie a gastritei cronice atrofile prin endoscopia cu magnificație a fost de 92.5 % (20/22), procent mult mai ridicat decat în cazul endoscopiei conventionale (22.9% (5/22) ($p < 0.01$)). Metaplazia intestinala s-a pus în evidenta la 15 pacienti (68.18 %) Pit pattern-urile acestora au fost: tip E la 8 pacienti (53.3 %), tip D la 5 pacienti (33.3 %), tip C la 2 pacienti (13.3 %) Cinci din 8 pacienti (62.5 %) cu metaplazie intestinala completa (tip I) au prezentat tipul E de pit-pattern și doar un singur pacient din 7 pacienti (14.28 %) cu metaplazie intestinala incompleta (tip II și III) a prezentat pit-pattern E ($p < 0.05$). Analiza aspectului venulelor colectoare (RAC) de pe fata anterioara a corpului gastric a permis încadrarea în tipurile R (regulat), I (dezordonat) și D (disparitia vascularizatiei) Infectiei H.P. a fost prezenta într-o proportie mai mare (72.8%) la tipurile I și D. ($p < 0.01$).

Concluzii: Gastroscopia cu magnificație are valoare evidenta în diagnosticul gastritei cronice atrofile, a metaplaziei intestinale și a infectiei cu H.Pylori

Cuvinte cheie: endoscopie cu magnificație, pit-pattern, gastrita atrofica, metaplazie intestinala, *Helicobacter Pylori*

Aim: To explore the correlation of magnifying endoscopic patterns and histopathology, *Helicobacter pylori* (H pylori) infection of the gastric mucosa.

Methods: Gastric mucosal patterns in 70 patients with chronic gastritis were studied using Olympus EXERA-160 GIF-Q160Z magnifying endoscope. Histopathological examination and rapid urease test were taken with biopsy samples from the magnified sites of stomach. The magnifying endoscopic patterns were compared with histopathological results and H pylori detection.

Results: The pit patterns of gastric mucosa were classified as types A (round spot), B (short rod), C (branched), D (reticular) and E (villus). The detection rate of chronic atrophic gastritis by magnifying endoscopy was 92.5 % (20/22), which was significantly higher than that by routine endoscopy 22.9% (5/22) ($P < 0.01$). The pit patterns of 15 cases of intestinal metaplasia (IM) appeared as type E in 8 patients (53.3 %), type D in 5 (33.3 %) and type C in 2 (13.3 %). Five out of 8 patients (62.5 %) with complete type (type I) of IM appeared as type E of pit patterns, whereas only 1 of 7 (14.28 %) patients with incomplete type (types II and III) of IM appeared as type E ($P < 0.05$). Collecting venules in the anterior of lower part of gastric corpus were subgrouped into types R (regular), I (irregular) and D (disappeared). H pylori infection was found in 72.8 % cases in D and I types. H pylori infection rate in type R was significantly lower than that in other two types ($P < 0.01$).

Conclusion: Magnifying endoscopy may have an obvious value in diagnosing chronic atrophic gastritis, intestinal metaplasia and H pylori infection.

Key-words: magnifying endoscopy, pit patterns, chronic atrophic gastritis, intestinal metaplasia, *Helicobacter Pylori*

Prin aparitia sa recenta, endoscopia cu magnificație reprezintă un salt tehnologic extraordinar reusind sa pună în evidență defectele mucoasei gastrice, să demasce leziunile miniaturale și să pună în evidență microarhitectura vascularizatiei mucoasei gastrice.

Prin aceste înalte posibilitati tehnice, imaginea endoscopică obținută prin endoscopia cu magnificație se apropie din ce în ce mai mult de examinarea clasică histopatologică.

În ultimii ani au apărut o multitudine de studii internationale care tratează aplicațiile clinice ale endoscopiei cu magnificație dar majoritatea au fost axate pe patologii esofagiene și colonice.¹⁻²⁸

MATERIAL SI METODA

Studiul s-a desfășurat pe perioada 1 ianuarie 2007-1 martie 2007 pe un număr de 70 de pacienți (34

¹Departament Gastroenterologie II, Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu-Mureș

²UMF Târgu-Mureș, Catedra de histopatologie

³Departamentul de Histopatologie, Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu-Mureș

internati, 36 în ambulator) cu urmatoarele date demografice: 52 barbati (74.28%), 18 femei (25.71%), mediu de provenienta: 47.5 % mediu urban, 52.5 % mediu rural.

Simptomatologia pacienților a fost: sindrom dispeptic (97.7%), sindrom anemic (2.3%).

Diagnosticul endoscopic al lotului de pacienți a fost: 36% gastrita atrofică a corpului gastric, 64% gastrita atrofică a antrului.

Endoscopia cu magnificatie

Endoscopia cu magnificatie s-a efectuat cu Videogastroscoap cu magnificatie Olympus EXERA-160 GIF-Q160Z cu posibilitate de magnificatie de 150 de ori.

Examinarea s-a efectuat de catre endoscopisti cu experienta de peste 10 ani; s-a utilizat sistemul de captură a tuturor imaginilor pentru verificare ulterioară și diagnostic comparat.

Pregatirea pacientilor s-a efectuat prin sedare cu 5-10 mg diazepam intramuscular cu 10 minute pre-endoscopie si in situatiile necesare s-a administrat dimethyl silicon pentru dizolvarea secrețiilor gastrice aderente și a mucusului.

S-a urmarit și consemnat la fiecare pacient: pit-patternul mucoasei gastrice la nivel antral, al unghiului gastric si al corpului gastric cât și aspectul venulelor colectoare la nivelul peretelui anterior gastric al ultimei părți a porțiunii orizontale gastrice.

Examinarea histologica

La fiecare pacient s-au prelevat 2 biopsii de la nivelul antrului pentru testul rapid cu urează și pentru confirmare histopatologică a infecției cu *Helicobacter Pylori*.

Conform recomandărilor internaționale au fost considerate pozitive cazurile in care ambele probe au iesit pozitive pentru infectia cu *H. Pylori*.

Au fost prelevate in plus biopsii din zonele examinate cu endoscopul cu magnificatie (corpul gastric, unghiul gastric și antru) pentru examinarea histopatologică de rutină utilizând colorația cu hematoxilină – eozina.

Gradul inflamației a fost cuantificat (conform clasificărilor internaționale in vigoare) ca: usor, moderat si sever conform gradului de infiltrare de $<1/3$, $1/2-2/3$, $>2/3$ a procesului inflamator la nivelul mucoasei.

S-a utilizat clasificarea metaplaziei intestinale in tipul I (tipul complet) si tipul II (tipul intestinal incomplet) si tipul III (tipul colonic incomplet).

Analiza statistica

A fost aplicat testul χ^2 patrat iar valorile $p < 0.05$ au fost considerate statistic semnificative

REZULTATE

Pit-patternul si rezultatele histopatologice

Clasificarea pit-patternului mucosal bazată pe analiza imaginilor secvențiale obtinute și cu referinta la

rezultatele studiului lui Guelrud privind pit-patternul mucosal in esofagul Barrett, a permis delimitarea urmatoarelor 5 tipuri fundamentale:

•Tipul A rotund, punctiform prezent numai la nivelul corpului gastric si fornix cu corespondent de aspect histologic normal

•Tipul B oval regulat, cu orificii mai adanci dar mai putine ca in tipul C si cu distributie mai frecventa in antrul gastric si cu aspect histologic normal

•Tipul C tortuos present la nivelul mucoasei cu aspect histopatologic de inflamatie, edem sau metaplazie intestinala

•Tipul D reticular present in ariile de mucoasa cu modificari histologice evidente de inflamatie, edem și metaplazie intestinală

•Tipul E vilos caracteristic zonelor cu metaplazie intestinala (Figura 1).

De remarcat este posibilitatea de întrepătrundere a tipurilor descrise, prezentă la unele cazuri studiate în special în zona unghiului gastric.

Cuantificat pit-patternul de tip E s-a pus in evidenta la 8 pacienti (53.3 %), tipul D la 5 pacienti (33.3 %) si tipul C la 2 pacienti (13.3 %)

Cinci din 8 pacienti (62.5 %) cu metaplazie intestinala completa (tip I) au prezentat tipul E de pit-pattern si doar un singur pacient din 7 pacienti (14.28 %) cu metaplazie intestinală incompleta (tip II si III) a prezentat pit-pattern E ($p < 0.05$).

Aspecte ale gastritei atroifice examinata cu endoscopia cu magnificatie

Cu ajutorul endoscopiei conventionale se pot pune in evidenta o serie de caracteristici definitorii ale mucoasei gastrice de tip atrofic: mucoasa decolorată, lipsa pliurilor, vizualizarea vaselor din submucoasa. Aceste modificări definesc gastrita cronică atrofică și sunt puse in evidență prin endoscopia convențională in cazurile de gastrită cronică atrofică severă dar sunt dificil de evidențiat in formele medii sau ușoare.

Prin endoscopia cu magnificatie modificarile mucoasei de tip atrofic pot fi puse in evidență și in cazul formelor moderate sau ușoare. Prin magnificatie moderata (de 70-80 de ori) pot fi observate zone de mucoasa decolorată sau palidă iar prin magnificatie puternică (de 150 de ori) sunt evidențiate modificările structurale ale mucoasei.

Gradul de detectie a gastritei cronice atroifice prin endoscopia cu magnificatie a fost de 92.5% (20/22), procent mult mai ridicat decât in cazul endoscopiei convenționale (22.9% (5/22) ($p < 0.01$).

Aspecte ale metaplaziei intestinale evidențiate prin endoscopia cu magnificatie

Anumite aspecte (nodozități albicioase mucoale, cicatrici mici stelate albicioase etc) au fost descrise prin endoscopia convențională.³⁷

In acest studiu metaplazia intestinală s-a pus în evidență la 15 pacienti (68.18 %). La acești pacienti s-au descris trei tipuri de pit-patternuri: tipul C (2

Tabelul 1 Relatia dintre pit-patternul micosal si tipurile histologice ale metaplaziei intestinale

Pit patterns	Cazuri	Tip I IM	Tip II IM	Tip III IM
Tip C	2	1	1	0
Tip D	5	1	3	1
Tip E	8	6	1	1
Total	15	8	5	2

cazuri), tipul D (5 cazuri) si tipul E (8 cazuri). Metaplazia intestinală a fost confirmată histopatologic la toate cazurile.

Arhitectura venulelor colectoare si infectia cu *Helicobacter Pylori*

In conformitate cu datele din literatură (Studiul lui Yagi), am clasificat arhitectura microvascularizatiei în urmatoarele 3 tipuri:

- Tipul R regulat
- Tipul I neregulat
- Tipul D lipsa venulelor colectoare (Figura 2)

Analiza comparata între aceste aspecte si prezenta infectiei cu *H.pylori* a evidentiat faptul ca infectia cu *H.pylori* la cazurile cu tipul vascular I si D a fost semnificativ mai mare in comparatie cu tipul R ($p < 0.01$)

DISCUTII

Pit-patternul mucosal descris la suprafata mucoasei gastrice reflectă structura si tipul de aranjament al epiteliului de suprafata, morfologia, numarul, distributia si functia glandulara, edemul mucosal si inflamatia cât si morfologia vasculară.¹⁻¹⁰ Unitatea de baza a microstructurii de pe suprafata mucoasei gastrice este formata din nenumarate orificii glandulare separate de depresiuni care împreună definesc un anumit tip glandular (pit-pattern). Acesta este primul care sufera modificari in cazul leziunilor mucoasei gastrice.^{2,7,12,24-27}

Endoscopia cu magnificatie face posibilă vizualizarea arhitecturii orificiilor glandulare ale mucoasei gastrice deoarece are posibilitatea de a mări imaginea, similar cu cea a stereomicroscopului.

In studiul de față am cercetat corelarea dintre pit-patternurile mucosale si imaginile histopatologice cat si corelarea cu existenta infectiei cu *H.Pylori* la un număr de 70 de pacienti cu gastrită cronică.

Dificultatea de încadrare și definire a pit-patternului mucosal a derivat din lipsa unei clasificari standardizate unanim acceptate pe plan mondial. Clasificarea propusă de studiu a fost posibilă în urma

analizei unui număr mare de endoscopii cu magnificație și corelării acestor aspecte cu datele din literatura în domeniu.¹⁶

Tipul A si tipul B în concordanta cu datele altor studii^{14, 15, 16, 31, 34} au fost corelate cu mucoasa normala din corpul si antrul gastric.

Tipul C si tipul D în care orificiile glandulare au aspect sinuos, tortuos cu depresiuni largi, corespund cu modificările histopatologice ale inflamației și edemului mucosal.

Tipul E este pit-patternul care s-a corelat semnificativ cu metaplazia intestinala, evidentiata si confirmata histopatologic. Studiul lui Endo et al. despre metaplazia intestinala în esofagul Barrett si cardia gastrică relevă existența aceluiași tip E viols.^{11,12,13,15,17,19}

Modificarile care definesc gastrita cronică atrofică sunt puse în evidenta prin endoscopia convențională în cazurile de gastrita cronică atrofică severă dar sunt dificil de evidențiat în formele medii sau usoare.^{14,30-37}

Prin endoscopia cu magnificație modificarile mucoasei de tip atrofic pot fi puse în evidență și în cazul formelor moderate sau ușoare. Prin magnificatie moderata (de 70-80 de ori) pot fi observate zone de mucoasa decolorată sau palidă iar prin magnificație puternică (de 150 de ori) sunt evidențiate modificările structurale ale mucoasei.

Gradul de detectie a gastritei cronice atrofice prin endoscopia cu magnificație a fost mult mai ridicat decât în cazul endoscopiei convenționale.

Am studiat tipul histopatologic de metaplazie intestinala si corelarea cu aspectul obtinut prin endoscopie cu magnificatie.

Cinci din 8 pacienți (62.5%) cu metaplazie intestinală completă (tip I) au prezentat tipul E de pit-pattern și doar un singur pacient din 7 pacienti (14.28 %) cu metaplazie intestinală incompletă (tip II si III) a prezentat pit-pattern E ($p < 0.05$).

Venulele colectoare sunt venule foarte subțiri de la nivelul mucoasei gastrice direct conectate cu rețeaua capilară. În literatura de specialitate există doar câteva studii care abordează acest aspect și legatura cu infecția cu *H. Pylori*.^{25,26}

Studiul de fata a cercetat corelarea tipului de vascularizație cu existența infectiei cu *H.Pylori*, concluzionand ca tipul R și tipul I sunt semnificativ mai frecvente în infectia cu *H.Pylori*, endoscopia cu magnificație devenind astfel un instrument valoros în studii acestor aspecte.

In concluzie, endoscopia cu magnificație prin posibilitatea acesteia de a descrie leziuni miniaturale ale mucoasei si ale vascularizației, devine un instrument valoros în mana gastroenterologului.

Studiul de față demonstrează rolul endoscopiei cu magnificatie în diagnosticul atrofiei gastrice, metaplaziei intestinale si a infectiei cu *H. pylori*.

Dificultatea practicii de zi cu zi rezidă din lipsa unor clasificări internaționale standardizate în acest domeniu.

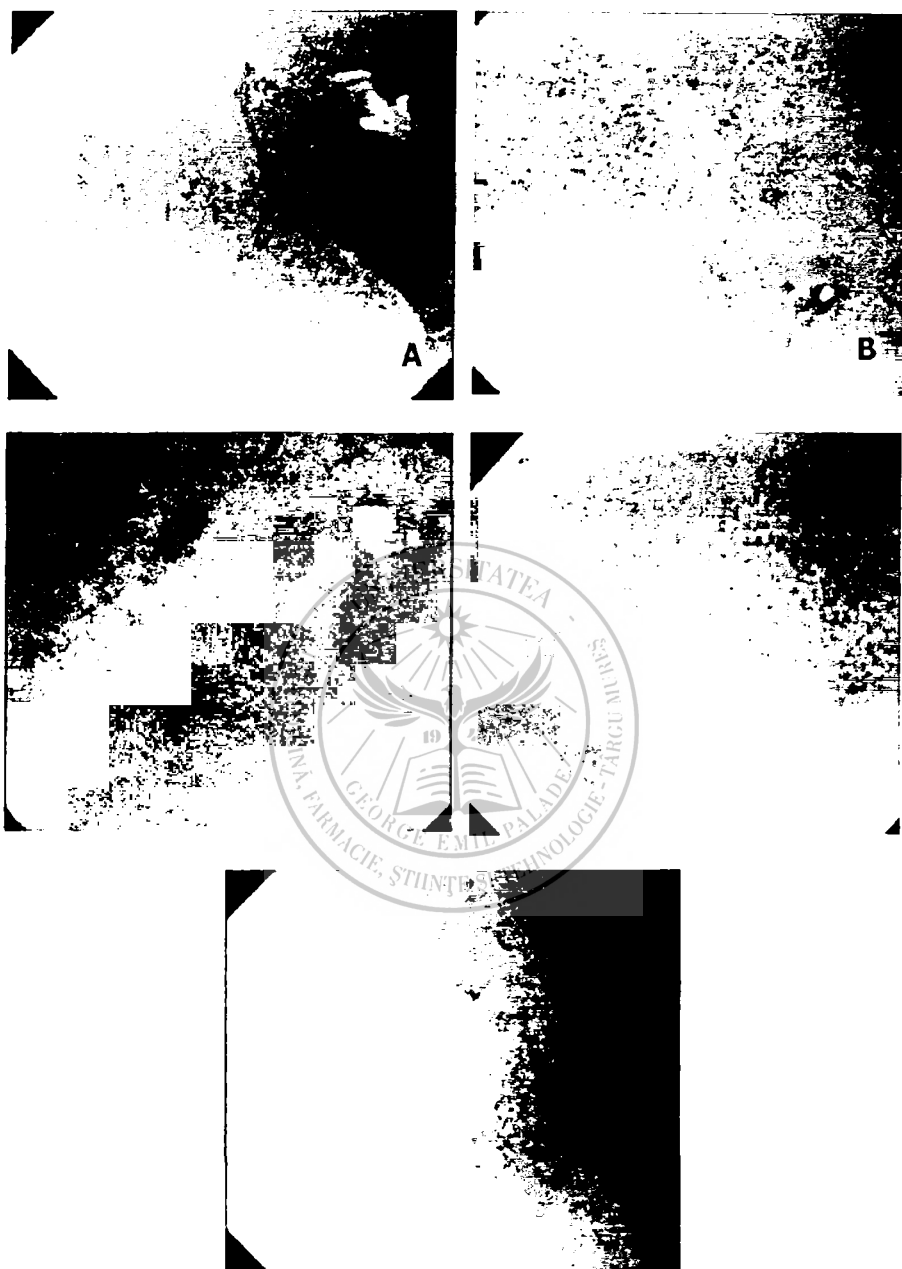


Figura 1. Pit-patternului mucosal gastric: tip A rotund, tip B oval, tip C tortuous, tip D reticular, tip E vilos



Figura 2 Arhitectura microvascularizatiei: Tip R regulat, Tip I neregulat, Tip D lipsa venulelor colectoare

BIBLIOGRAFIE

- BRUNO MJ - *Magnification endoscopy, high resolution endoscopy, and chromoscopy; towards a better optical diagnosis*. Gut 2003; 52(Suppl 4): iv7-11
- CALES P, OBERTI F, DELMOTTE JS, et al - *Gastric mucosal surface in cirrhosis evaluated by magnifying endoscopy and scanning electronic microscopy*. Endoscopy 2000; 32: 614-623
- CHEN X, CEN R, XU FX, ET AL - *Pathological analysis with new magnifying endoscopic classification of the gastric mucosal pattern*. Zhongguo Neijing Zazhi 2002; 8: 37-38
- CHINESE SOCIETY OF GASTROENTEROLOGY, CHINESE MEDICAL ASSOCIATION. *Common opinions on chronic gastritis of China*. Zhonghua Xiaohua Zazhi 2000; 20: 199-201
- ENDO T, AWAKAWA T, TAKAHASHI H, ET AL - *Classification of Barrett's epithelium by magnifying endoscopy*. Gastrointest Endosc 2002; 55: 641-647
- FUJII Y, SAITO Y, NOMURA M, ET AL - *Minute findings by magnifying colonoscopy are useful for the evaluation of ulcerative colitis*. Gastrointest Endosc 2002; 56: 535-542
- GAO HJ, YU LZ, BAI JF, ET AL - *Multiple genetic alterations and behavior of cellular biology in gastric cancer and other gastric mucosal lesions: H pylori infection, histological types and staging*. World J Gastroenterol 2000; 6: 848-854
- GUELUD M, HERRERA I, ESSENFELD H, CASTRO J, ANTONIOLI DA - *Intestinal metaplasia of the gastric cardia: A prospective study with enhanced magnification endoscopy*. Am J Gastroenterol 2002; 97: 584-589
- GUELUD M, HERRERA I, ESSENFELD H, CASTRO J - *Enhanced magnification endoscopy: a new technique to identify specialized intestinal metaplasia in Barrett's esophagus*. Gastrointest Endosc 2001; 53: 559-565
- HURLSTONE DP, FUJII T, LOBO AJ - *Early detection of colorectal cancer using high-magnification chromoscopic colonoscopy*. Br J Surg 2002; 89: 272-282
- INOUE H - *Magnification endoscopy in the esophagus and stomach*. Digestive Endoscopy 2001; 13(Suppl): S40-S41
- JIANG B - *Chromoendoscopy and high-magnification colonoscopy in early detection of colorectal cancer*. Diyi Junyi Daxue Xuebao 2002; 22: 385-387
- KATO S, FUJII T, KOBAYASHI I, ET AL - *Assessment of colorectal lesions using magnifying colonoscopy and mucosal dye spraying: can significant lesions be distinguished?* Endoscopy 2001; 33: 306-310
- KUMAGAI Y, INOUE H, NAGAI K, KAWANO T, IWAI T - *Magnifying endoscopy, stereoscopic microscopy, and the microvascular architecture of superficial esophageal carcinoma*. Endoscopy 2002; 34: 369-375
- KUDO S, KASHIDA H, TAMURA T, ET AL - *Colonoscopic diagnosis and management of nonpolypoid early colorectal cancer*. World J Surg 2000; 24: 1081-1090
- LI ZX, ZHANG XR, AN DL, CHEN FL, GONG JZ. *Diagnosis and treatment of early colorectal cancer*. Zhonghua Waike Zazhi 2000; 38: 352-354
- LIU YQ, ZHAO H, NING T, KE Y, LI JY - *Expression of 1A6 gene and its correlation with intestinal gastric carcinoma*. World J Gastroenterol 2003; 9: 238-241
- MAKIN GB, BREEN DJ, MONSON JR - *The impact of new technology on surgery for colorectal cancer*. World J Gastroenterol 2001; 7: 612-621
- MATSUMOTO T, HIZAWA K, ESAMI M, ET AL - *Comparison of EUS and magnifying colonoscopy for assessment of small colorectal cancers*. Gastrointest Endosc 2002; 56: 354-360
- MORITA T, TAMURA S, MIYAZAKI J, HIGASHIDANI Y, ONISHI S - *Evaluation of endoscopic and histopathological features of serrated adenoma of the colon*. Endoscopy 2001; 33: 761-765
- MIWA H, SATO N - *Shed light again on magnifying endoscopy for diagnosis of early gastric cancer*. Digestive Endoscopy 2001; 13: 127-128
- NAGATA S, TANAKA S, HARUMA K, ET AL - *Pit pattern diagnosis of early colorectal carcinoma by magnifying colonoscopy: clinical and histological implications*. Int J Oncol 2000; 16: 927-934
- NIWA Y, GOTO H, OHMIYA N, OHTSUKA Y, ANDO N - *Magnifying endoscopy for the diagnosis of early gastric cancer*. Digestive Endoscopy 2002; 14(Suppl): S70-S71
- PEITZ U, MALFERTHEIMER P - *Chromoendoscopy: from a research tool to clinical progress*. Dig Dis 2002; 20: 111-119
- SHARMA P, WESTON AP, TOPALOVSKI M, ET AL - *Magnification chromoendoscopy for the detection of intestinal metaplasia and dysplasia in Barrett's oesophagus*. Gut 2003; 52: 24-27
- SHI HX, WU YL - *Distinguishing colorectal minute lesions by high-resolution video endoscopy with indigo carmine dye spray*. Zhonghua Xiaohua Neijing Zazhi 1999; 16: 135-137
- TAMURA S, FURUYA Y, TADOKORO T, ET AL - *Pit pattern and three-dimensional configuration of isolated crypts from the patients with colorectal neoplasm*. J Gastroenterol 2002; 37: 798-806
- TONOOKA T, SANO Y, FUJII T, ET AL - *Adenocarcinoma in solitary large hyperplastic polyp diagnosed by magnifying colonoscopy: report of a case*. Dis Colon Rectum 2002; 45: 1407-1411
- TAJIRI H, MATSUDA K, FUJISAKI J - *What can see with the endoscope? Present status and future perspectives*. Digestive Endoscopy 2002; 14: 131-137
- TUNG SY, WU CS, SU MY - *Magnifying colonoscopy in differentiating neoplastic from nonneoplastic colorectal lesions*. Am J Gastroenterol 2001; 96: 2628-2632
- TAJIRI H, DOI T, ENDO H, ET AL - *Routine endoscopy using a magnifying endoscope for gastric cancer diagnosis*. Endoscopy 2002; 34: 772-777
- YAO K, OISHI T - *Microgastroscopic findings of mucosal microvascular architecture as visualized by magnifying endoscopy*. Digestive Endoscopy 2001; 13(Suppl): S27-S33
- YAO K, OISHI T, MATSUI T, YAO T, IWASHITA A - *Novel magnified endoscopic findings of microvascular architecture in intramucosal gastric cancer*. Gastrointest Endosc 2002; 56: 279-284
- YAGI K, NAKAMURA A, SEKINE A - *Comparison between magnifying endoscopy and histological, culture and urease test findings from the gastric mucosa of the corpus*. Endoscopy 2002; 34: 376-381
- YU YZ, WANG QH, YU ZL - *The gastric mucosal features of Helicobacter pylori associated gastritis evaluated by high-resolution magnifying endoscopy*. Zhonghua Xiaohua Neijing Zazhi 2002; 19: 274-277
- YAGI K, NAKAMURA A, SEKINE A - *Characteristic endoscopic and magnified endoscopic findings in the normal stomach without Helicobacter pylori infection*. J Gastroenterol Hepatol 2002; 17: 39-45
- ZHOU LY, LI JH, LIN SR, ET AL - *Endoscopic diagnosis of intestinal metaplasia in gastric mucosa*. Zhonghua Xiaohua Neijing Zazhi 2001; 18-19

Infiltratul limfocitar intratumoral: factor prognostic al melanomului malign

Réka Dósa¹, Emőke Horváth², Z. Pávai³, O. Stan⁴

Melanomul malign poate fi privit ca și prototipul tumorilor pentru care se dezvoltă strategii bazate pe imunologie pentru identificarea antigenelor tumorale. Prezența infiltratului limfocitar intratumoral (TIL), fenomen frecvent întâlnit în structura tumorii, presupune o reacție imună antitumorală din partea organismului imunocompetent. Cantitatea infiltratului inflamator prezintă corelație cu rata de supraviețuire. Acest răspuns este de obicei evaluat în faza de creștere verticală a tumorii și este categorizat ca fiind prezent sau absent.

Prezentăm un număr de 24 cazuri de melanom cutanat primar din care am efectuat reacții imunohistochemice pentru antigenele LCA, CD8, CD4 CD56, Granzyme B și APAF1 (marker al apoptozei).

Evaluările histopatologice au fost făcute de doi anatopatologi în mod independent. S-au evaluat infiltratele ca și fiind de densitate mare, medie sau joasă. Au fost evaluați de asemenea factorii clinici și morfologici (varsta, localizarea, stadiul Clark, grosimea tumorii).

Evaluarea TIL poate fi de folos în selectarea pacienților cu melanom cu potențial de răspuns terapeutic crescut la modulatoare biologice, deoarece TIL poate fi un efector local imun sensibil la IFN alfa-2 sau alți agenți biologici. Cuvinte cheie: antigeni de melanom, infiltrat limfocitar intratumoral (TIL)

Melanoma can also be regarded as a prototype cancer relying on immune-based strategies which have been developed to identify tumour antigens. Primary cutaneous melanoma is often an infiltrated lymphocyte that provides the opportunity to study what may be a local immunologic reaction to the tumour and to correlate the presence of these lymphocytes with overall survival. This response is usually measured by the level of intratumoral lymphocytic infiltrate (TIL) present at the base of the vertical growth phase of tumour and is categorized as present or absent.

We present a number of 24 cases of primary cutaneous melanoma.

Some immunohistochemical demonstrations of LCA, CD8, CD4 CD56, Granzyme B and APAF1 (apoptosis marker) were performed. The results derived from independent histopathologic reviews of two pathologists. We interpreted the high-density, moderate-density and low-density cell groups that infiltrated the tumour tissue. Clinical variables (age, tumour location, Clark level and thickness) were also analysed.

The intratumoral lymphocytic infiltrate evaluation may prove useful in selecting melanoma patients who will respond well to therapy with biologic response modifiers, because the TILs may be the local immune effectors cell targets of IFN alpha-2 or of other biologic agents.

Key words: melanoma antigens, tumor-infiltrating lymphocytes (TIL)

Frecvența melanoamelor maligne este în creștere pe plan mondial și caracterizează vârsta medie și înaintată, incidența maximă fiind între 40-50 ani.

Formele anatomoclinice sunt reprezentate în funcție de tendința de creștere a tumorii. Melanoamele în fază de creștere radială (melanomul cu extindere superficială, lentigo malign, melanomul acral lentiginos) sunt leziuni care se dezvoltă lent, de-a lungul joncțiunii dermo-epidermale, putând interesa și dermul papilar, care ulterior se transformă în creștere

verticală și încep să formeze noduli expansiv intradermice. Entitatea clinică numită melanom malign nodular corespunde unui melanom cu fază de creștere verticală, în absența unei leziuni precursorare maculare. Profunzimea și grosimea invaziei au semnificație prognostică majoră, fiind completate de o serie de alți factori clinici și histopatologici (Tabelul I).

MATERIAL ȘI METODE

În Laboratorul de Anatomie Patologică a Spitalului Clinic Județean de Urgență Târgu-Mureș am cercetat prezența infiltratului limfocitar intratumoral (TIL) cu evidențierea expresiei imunohistochemice a antigenelor caracteristice, prezența TIL-lui fiind considerată un factor de prognostic favorabil în evoluția melanoamelor maligne (MM). Cele 24 cazuri au fost diagnosticate în Laboratorul de Anatomie Patologică al Spitalului Județean Sfântu - Gheorghe. Pe baza buletinelor

¹Spitalul Clinic Județean "Fogolyán Kristóf" Sfântu-Gheorghe, Clinica de Dermatologie și Venerologie

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

³Catedra de Anatomie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

⁴Spital Clinic Județean "Fogolyán Kristóf" Sfântu-Gheorghe, Laboratorul de Anatomie Patologică

Adresa pentru corespondență: Dr. Horváth Emőke, Spital Județean de Urgență, Laborator de Anatomie Patologică, Str. Gheorghe Marinescu 50, Târgu-Mureș, tel. 212111/250

Tabelul I. Factori de prognostic în melanoame maligne

Clinici	Histologici	Parametrii biologici
Dimensiunea tumorii	Grosimea tumorii (indicele Breslow)	Expresia oncogenelor : ras, bcl-2
Prezența/absența ulcerăției	Profundimea invaziei (Nivelul Clark)	Gene supresoare : p53, p16, Nm23
Localizare (palmă, plantă, spate, cap, gât-risc crescut)	Indexul mitotic	Molecule de adesiune : metalo-proteinaze, integrine (Caderina E), CD 67, CD87
sex	Creștere verticală	Ki 67
vârsta	Limfocitele tumorinfiltratoare TIL	Factori ai angiogenezei : VEGF, CD 105
	Ulcerăția	Nivel LDH crescut
	Invazie vasculară	
	Semne de regresie	

Tabelul II. Caracteristicile anticorpilor primari folosiți în cadrul studiului imunohistochimic

Denumirea și caracteristicile anticorpului primar	Sursa	Demascarea antigenului	Localizarea antigenului	Control pozitiv
a. CD4 b. Lyophilised Monoclonal (NCL-CD4-368) Clone: 4B12 Diluție: 1/20	NOVOCASTRA (UK)	Cu căldură umedă sub presiune în soluție tampon EDTA pH 8,0, durata demascării 5 minute	Imunomarcaj membrana celulelor	Tonsilă
a. CD8 b. Lyophilised Monoclonal (NCL-CD8-295) Clone: 1A5 Diluție: 1/40	NOVOCASTRA (UK)	Cu căldură umedă sub presiune în soluție tampon citrat 0,01M, pH 6,0, durata demascării 5 minute	Imunomarcaj membrana celulelor	Tonsilă
a. Granzyme B b. Lyophilised Monoclonal (NCL-GRAN-B-295) Clone: 11F1 Diluție: 1/75	NOVOCASTRA (UK)	Cu căldură umedă sub presiune în soluție tampon citrat 0,01M, pH 6,0, durata demascării 5 minute	Imunomarcaj citoplasmatic de aspect granular	Limfom Hodgkin/tonsilă
a. Apoptosis Protease Activating Factor 1 b. Lyophilised Polyclonal (NCL-APAF1) Clone: 4B12 Diluție: 1/40	NOVOCASTRA (UK)	Cu căldură umedă sub presiune în soluție tampon citrat 0,01M, pH 6,0, durata demascării 7 minute	Imunomarcaj citoplasmatic	Miocard/piele
a. CD56 b. Lyophilised Monoclonal (NCL-CD56-504) Clone: CD564 Diluție: 1/75	NOVOCASTRA (UK)	Cu căldură umedă în cuptor cu microunde în soluție tampon citrat 0,01M, pH 6,0, durata de timp: 3? 5 minute.	Imunomarcaj citoplasmatic	Intestin subțire (celulele ganglionare a plexului Meissner)
Monoclonal Mouse Anti-Human Leucyta Antigen Clone PD7/26 Diluție: 1/75	DAKO (Danemarca)	Cu căldură umedă sub presiune în soluție tampon citrat 0,01M, pH 6,0, durata demascării 5 minute	Expresie la nivelul citoplasmei elementelor TIL	Nodul limfatic

histopatologice am introdus toate datele clinice și histologice în fișe de lucru, completând aceste date cu rezultatele examinărilor imunohistochimice. Prelucrarea statistică a datelor am efectuat cu Programul Statistica 5.0 prin corelarea expresiei TIL cu

alți factori prognostici: indicele Breslow, nivelul Clark, prezența ulcerăției, dimensiunea tumorii.

Selectarea materialului prelucrat:
Leziunile cutanate provin din cazuistica Clinicii

Tabelul III. Repartizarea TIL-ului în funcție de subtipul histologic

Subtip histologic	Nr. total MM	Nr. total TIL+	CD4+/CD8+	CD4-/CD8+	CD4+/CD8-	CD8+/CD56+	Nr. total TIL-
Melanom nodular	16	11	2	5	4	7	5
SSM	8	5	2	3	0	1	3
Total	24	16	4	8	4	8	8

de Dermatovenerologie, diagnosticate ca tumori melanocitare maligne pe baza examenului dermatoscopic (cu scor dermatoscopic peste 4,7 conform regulei ABCD după Stolz), excizate în limite de siguranță oncologică și confirmate în urma examenului histopatologic.

Pacienții au beneficiat de chimioterapie conform rezultatului histopatologic. În prezent sunt asimptomatici și sunt urmăriți conform protocolului de tratament al melanoamelor maligne.

În paneul folosit am inclus următorii antigeni: LCA, CD4, CD8, CD56, Granzyme B și APAF1 (marker al apoptozei). Rezultatele imunohistochimice au fost consemnate în fișe de lucru, completate cu datele clinice și cu aspectele microscopice ale leziunilor.

Secțiunile examinate le-am etalat pe lame silanizate, urmată de incubarea cu anticorpi mono- și policlonali (Tabelul II) și cu sistemul de amplificare En Vision. Pentru evidențierea produsului de reacție am folosit cromogenul diaminobenzidină (DAB).

Interpretarea preparatului colorat imuno-histochimic (cuantificarea reacțiilor) s-a realizat comparativ, raportând rezultatele obținute pe controlul pozitiv extern, precum și pe controlul negativ al reacției. Cuantificarea reacțiilor a fost efectuată de doi patologi experimentați prin menționarea semicuantitativă a expresiei, ea fiind notată ca prezentă (expresie abundentă, moderată) sau absentă (expresie slabă sau celule LCA pozitive absente), urmată de subtipizarea celor pozitive cu anticorpii CD4, CD8 și CD56.

REZULTATE

Incidența maximă a melanoamelor maligne am găsit-o la grupa de vârstă de 60-70 ani, vârsta medie fiind 62,7 ani cu deviație standard de 12,8.

Diagnosticul histopatologic a confirmat 8 cazuri de melanoame cu extindere superficială (SSM) și 16 melanoame nodulare, 58,32% (14 cazuri) cu nivel Clark 4 și 5, în 56, 32% a cazurilor cu prezența ulcerăției epidermului. Valoarea medie a indicelui

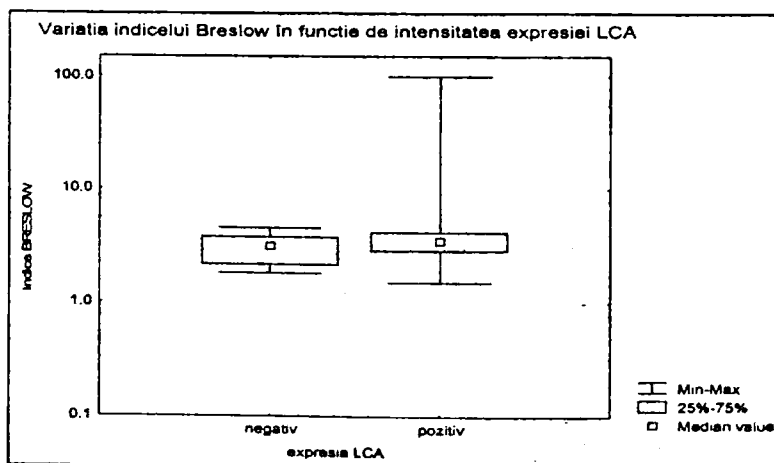


Figura 1. Variația indicelui Breslow în funcție de intensitatea expresiei LCA

Breslow a fost $4,05 \pm 1,08$, 58,33 % a tumorilor prezentând grosime între 2-4 mm.

Imunoreacția pentru LCA a fost pozitivă în 16 cazuri (66,66%) dintre cele 24 melanoame maligne investigate și caracterizează predominant tumorile cu indicele Breslow crescut, fără corelație statistic semnificativă între expresia LCA și grosimea tumorii (Figura 1). Dintre aceste cazuri 4 au prezentat coexpresia CD4 și CD8 (CD4+/CD8+), în 8 cazuri am găsit imunomarcaj numai pentru CD8, fără expresia CD4 (CD4-/CD8+), iar în 4 cazuri am găsit expresia CD4, fără prezența limfocitelor Th (CD4+/CD8-). Cele 13 cazuri (54,17%) CD8 pozitive s-au asociat cu expresia Granzyme B, iar în 8 cazuri am găsit coexpresie CD8 și CD56 (29,17%) (Tabelul III).

Nu am găsit corelație pozitivă statistic semnificativă între intensitatea expresiei LCA și subtipul histopatologic al tumorii (SSM/melanom nodular), între indicele Breslow, nivelul Clark ($p > 0,05$). Expresia APAPF1a a prezentat corelație statistic semnificativă cu prezența expresiei LCA ($p = 0,02$ -test Pearson C).

DISCUȚII

Existența reacțiilor de apărare anti-tumorală a fost intuită încă de la începutul secolului de Ehrlich, care avea convingerea că celulele neoplazice posedă pe suprafața lor antigene recunoscute de către sistemul imun și care generează un răspuns imun. Teoria supravegherii imune a cancerului lansată în 1960 de Burnett reprezintă o adevărată piatră de hotăr în imunologia tumorală. Conform acestei teorii, imunitatea mediată celular, de către limfocitele T joacă un rol esențial în controlul dezvoltării tumorilor. Noile descoperiri au demonstrat că nu numai limfocitele T citotoxice (Tc) au rol în imunitatea antitumorală. Existența celulelor spontane ucigașe nespecifice (NK), mecanismele citotoxicității- de distrugere a celulelor (prin necroză sau apoptoză), moleculele ce intervin în comunicarea intercelulară -receptorii pentru factorii de creștere sau molecule de adeziune celulară (CAM)-, împreună formează o adevărată rețea cu rol protector împotriva extinderii procesului tumoral. Ineficiența acestui mecanism în cazul organismului imunocompetent se explică prin existența mecanismelor de scăpare ale tumorilor de sub controlul imun.⁴

În cazul melanoamelor maligne antigenele tumorale cele mai importante sunt cele de linieaj, care reprezintă antigenele de diferențiere, cu specificitate de țesut, care pot să fie specifice tumorii sau doar asociate tumorii (fiind prezente și pe țesuturile normale corespunzătoare). Aceste antigene induc cel mai frecvent răspunsuri imune, melanosomi reprezentând un compartiment unic lineajului melanocitic, prezente însă și pe melanocite normale, fiind teoretic antigene self. Cu toate acestea, sistemul imun prezintă reactivitate față de mai multe antigene de linieaj melanocitic, cum ar fi: Melan-A/MART-1, gp-100/pmel17, tirozinaza, TRP-1/-2 (Tyrosinase Related Protein), MCIR (Melanocortin-1 Receptor) și

polipeptida P3.¹¹ Aceste antigene sunt specifice melanoamelor, chiar dacă din punct de vedere al secvenței de aminoacizi sunt identice cu ale melanocitelor normale. În majoritatea cazurilor prezintă însă alterări posttranslaționale, selectarea acestor antigene producând uneori beneficii, cum ar fi de exemplu apoptoza indusă de UVB produsă de supraexpresia TRP-2. epitopii recunoscuți de celulele imune sunt utilizați în studiile (trialurile) de fază I ale imunoterapiei vaccinale ale melanoamelor.¹⁰ Imunitatea intensă față de aceste antigene poate provoca regresia tumorii și apariția unui vitiligo autoimun, acest din urmă fenomen fiind considerat un marker surrogat pentru un prognostic mai bun.⁴

Deoarece pentru inducerea acestei imunități este necesară administrarea ambelor subpopulații limfocitare Th CD4 și Tc CD8, studiile recente s-au axat pe stabilirea rolului fiecăreia în răspunsul imun antitumoral.

Similar cu ceea ce se întâmplă în orice reacție imună, pentru a se putea introduce reacția anti tumorală specifică este absolut necesar să se realizeze activarea Th CD4 pozitive în urma prezentării antigenelor tumorale (epitopi) sub formă de MHC de clasă II, molecule existente pe celulele prezentatoare de antigen (APC profesionale). La rândul lor, celulele CD4+ activate răspund prin proliferare și secreție de mediatori, interleukine, cu rol în activarea și proliferarea altor tipuri de celule efectoare ale răspunsului imun: limfocitele B, NK, monocite/macrofage și granulocite. Distrugerea celulelor tumorale se realizează fie prin contact direct, fie prin eliberarea limfotixinei TNF-b.⁷

Celulele NK CD 56 +/CD16+, activate de Th CD4+ nu prezintă restricție de histocompatibilitate, ele lizează celulele tumorale prin diferite mecanisme: citotoxicitate celulară dependentă de anticorp (ADCC), citotoxicitate directă etc. Faptul că soarecii cu atimie congenitală nu fac mai frecvent tumori spontane, deși sunt lipsiți de limfocite mature imunocompetente, par să confirme rolul important al celulelor NK în apărarea antitumorală. Numărul și activitatea funcțională a acestora are tendința de a scădea pe măsura evoluției tumorilor, iar în unele boli limfoproliferative ele sunt absente.¹¹ Coexpresia CD8 cu CD56 în 8 cazuri ai lotului am considerat factori de prognostic pozitiv, consemnate în fișe de lucru.

Pentru a interpreta valoarea prognostică a prezenței TIL în melanoame maligne aceasta trebuie analizată separat în cazurile cu creștere radială și cea verticală. În faza de creștere radială, în general apare un infiltrat limfocitar marcat, care poate rezulta regresia parțială a melanomului.¹² Conform datelor din literatură în faza de creștere verticală există de asemenea un răspuns imun, dar nu atât de pronunțat ca în faza de creștere radială. Elder și colab. caracterizează aceste limfocite ca fiind tumorinfiltrative (TIL) sau neinfiltative.⁵ În cazul TIL-lui limfocitele și celulele NK infiltrează leziunea, ele pătrunzând printre celulele

tumorale, extinzându-se între ele și formând rozete în jurul celulelor individuale la nivelul cărora apar câteodată și semne degenerative. În cazul celor neinfilitrative infiltratul limfocitar se localizează în jurul tumorii. Corelație pozitivă între supraviețuire și prezența infiltratului limfocitar există doar în cazul TIL-lui.^{9,2}

Limfocitele Th CD8, componentă importantă a TIL-lui după unii autori au valoare prognostică independentă, fiind factor de prognostic favorabil.^{1,2} Cele 12 cazuri LCA+/CD8+, cu sau fără expresia CD4 le-am considerat ca o subgrupă cu evoluție favorabilă, în comparație cu cazurile fără expresia TIL sau cu expresia selectivă de CD4 (Tabelul III). Aceștia din urmă sunt pacienții care trebuie să beneficieze de citokinoterapie adjuvantă de lungă durată care are scopul menținerea organismului sub efect imunomodulator în scopul eliminării și inactivării metastazelor nedecelabile cu metodele actuale paraclinice.

În mod paradoxal, în unele studii regresia parțială este corelată cu prezența metastazelor în cazul SSM. Elder și colab. presupun că regresia are un rol permisiv în generarea fazei de creștere verticală obliterând faza de creștere radială, nerecunoașterea antigenelor de celulele antitumorale din faza de creștere verticală, astfel prezența regresiei în faza de creștere radială prezentând o corelație negativă cu rata de supraviețuire.⁶ În studiul nostru nu am găsit corelație statistic semnificativă între intensitatea expresiei TIL-lui și faza de creștere a melanomului, ele fiind prezente în 5 cazuri de SSM și în 11 de melanoame nodulare.

Corelația semnificativă ($p=0,02$ -test Pearson C) între prezența APAF1 la nivelul tumorilor cu TIL abundent (tradus prin pozitivitate intensă de LCA) față de tumorile TIL negative demonstrează complexitatea patomecanismelor prin care TIL contribuie la inițierea imunității antitumorale.

Conform datelor din literatură (studii efectuate pe un număr mare de pacienți) există diferențe de supraviețuire în funcție de cantitatea TIL¹: în cazul melanoamelor cu creștere verticală supraviețuirea este de 77%, respectiv 55% referitoare la 5, respectiv 10 ani în cazurile cu TIL abundent, aceste valori scăzând la 53%, respectiv 43% în cazurile cu infiltrat moderat. În absența TIL-lui supraviețuirea scade la 37%, respectiv 27%.¹

Studiul nostru prospectiv urmărește aceste subgrupe TIL pozitive și TIL negative, fiind urmat peste 3, respectiv 10 ani de o reevaluare a rezultatelor clinice în oglinda factorilor de prognostic studiați recent în cazul melanomului malign.

CONCLUZII

Stabilirea factorilor de prognostic reprezintă un moment esențial în terapia melanoamelor maligne.

Imuncolorarea permite tipizarea elementelor celulare care intră în componența TIL-lui, predominanța CD8 versus CD4 având semnificație prognostică favorabilă. Trebuie însă menționat faptul că metodele imunohistochimice au o utilitate deosebită în diagnosticul și prognosticul unor cazuri selecționate de melanom malign, dar din păcate însă, markerii utilizați în imunohistochimie nu permit diferențierea tumorilor benigne de cele maligne. Malignitatea trebuie întotdeauna determinată utilizând criterii morfologice.

Nu am găsit corelație pozitivă semnificativă statistic între intensitatea expresiei LCA și subtipul histopatologic al tumorii (SSM/melanom nodular), între indicele Breslow, nivelul Clark ($p>0,05$). Expresia APAF1 a fost semnificativ mai intensă în cazul tumorilor cu expresie LCA intensă ($p=0,02$ -test Pearson C). Scăderea ratei de apoptoză în celulele tumorale din melanoame aflate în faza de creștere verticală, asociată cu absența TIL poate fi considerată factor de prognostic nefavorabil.

Integrând aceste rezultate obținute printre factorii de prognostic clasici studiați la acest lot de pacienți, în cadrul studiului nostru prospectiv pot fi identificați pacienții cu risc crescut la apariția precoce a metastazelor.

BIBLIOGRAFIE

- BALCH CM, BUZAID AC, SOONG SJ et al - *Final Version of the American Joint Committee on Cancer Staging System for Cutaneous Melanoma*, Journal of Clinical Oncology, 2001, 19:3635-3648.
- BALCH CM, WILKERSON JA, MURAD TM et al - *The prognostic significance of ulceration of cutaneous melanoma*, Cancer, 1980, 45:3012-3017.
- BALICA S, LAZAR E - *Rolul markerilor imunohistochimici în diagnosticul și aprecierea prognosticului melanomului cutanat*, Romanian J Path, 2005, 8:271-278.
- CARMEN GEORGIU - *Antigenele tumorale în imunologia tumorală*, Romanian J Path, 2005, 8:71-86.
- ELDER D, MURPHY G - *Atlas of tumor pathology, Melanocytic Tumors of Skin*, AFIP, Washington DC, 1991, 110-191.
- HOMSI J, KASHANI-SABET M, MESSINA JL et al - *Cutaneous melanoma : Prognostic factors*, Cancer Control, 2005, 12:223-228.
- LAZAR-MOLNAR E, HEGYESI H, TÓTH S et al - *Autocrine and paracrine regulation by cytokines and growth factors in melanoma*, Cytokine, 2000, 6:547-554.
- OROSZ Zs - *A melanoma malignum patológiái diagnózisának buktatói*, Magyar Onkológia, 2003, 47:27-41.
- RYAN L, KRAMAR A, BORDEN E - *Prognostic factors in metastatic melanoma*, Cancer, 1993, 71:2995-3005.
- SOMLAI B - *A melanom áttétképzésének klinikai jellemzői*, Magyar Onkológia, 2003, 47:85-89.
- SZEKERES GY, BATTÁNYI Z - *A malignus melanoma immundiagnosztikája*, Magyar Onkológia, 2003, 47:45-51.
- YEE C, THOMPSON JA, ROCHE P et al - *Melanocyte destruction after antigen-specific immunotherapy of melanoma: direct evidence of T cell-mediated vitiligo*, J Exp Med, 2000, 192:1637-1644.

Determinarea cantitativă a unor aditivi alimentari din băuturi răcoritoare

Ana-Maria Fărr¹, Monica Tarcea², Simona Drăgoi¹, Antonia Orban¹,
Ramona Ureche², Katica Péter¹

Scop: Evaluarea conținutului de conservanți în diferite băuturi răcoritoare comercializate în Târgu- Mureș.

Material și metodă: S-a făcut determinarea cantitativă cu HPLC pe un cromatograf lichid tip DIONEX 4500 I la două tipuri de conservanți: benzoat de sodiu și sorbat de potasiu din 60 de probe de băuturi răcoritoare recoltate de la unități comerciale din oraș, la începutul anului 2003.

Rezultate: Conform Ord. MS nr.438/2002 valorile sunt depășite privind conținutul în benzoat de sodiu la majoritatea probelor de băuturi răcoritoare din gama C. (86,6%) și conținut depășit de sorbat de potasiu la 50% din probele de tip C. Probele de tip P. arată rezultate mai bune, depășiri privind conținutul în benzoat fiind fost găsite la 5 probe (16,6 %), iar depășiri de sorbat la 3 probe (10%). Menționăm că conform Ord. MS nr.975/1998, care stabilea limitele maxime pentru aceste substanțe (și care s-a modificat cu noul Ordin nr. 438/2002) valorile admise pentru benzoatul de sodiu se încadrează în limitele maxime admise la toate probele, iar conținutul de sorbat de potasiu este depășit la 7 probe de tip C.

Concluzii: Subliniem importanța igienico-sanitară a estimării conținutului de conservanți în alimente pentru depistarea valorilor depășite.

Cuvinte cheie: aditivi alimentari, băuturi răcoritoare, HPLC

Aim: Evaluation of preservatives concentration in different beverages commercialized in Târgu Mureș.

Methods: We have made a HPLC quantitative test with the aid of a chromatograph type DIONEX 4500 I liquid for two types of preservatives: sodium benzoate and potassium sorbate for 60 beverage samples collected from commercial units in the town at the beginning of 2003.

Results: According to the Directive of the Ministry of Health no. 438/2002 we found excess in the content of 86.6% of sodium benzoate and of 50% of sodium sorbate for the tested type C beverage samples. In case of type P samples we found better results; only 16.6% exceeded the standard level of benzoate and 10% the sorbate. Regarding the Directive of the Ministry of Health no. 975/1998 which established maximal values admitted for these particular substances (and changed by the new Directive no. 438/2002), our results for sodium benzoate were adequate for all analysed samples, and for the analysed potassium sorbate concentrations they were higher than standards in 7 samples of type C out of 30.

Conclusions: We would like to underline the hygienic importance of control for preservatives concentration in food and beverages.

Key words: food additives, beverages, HPLC

Folosirea unor substanțe chimice pentru conservarea sau îmbunătățirea calităților senzoriale ale alimentelor este tot mai frecventă. Chiar în condițiile respectării normelor legislative stabilite de JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), utilizarea acestora poate avea efecte negative asupra sănătății.¹

Aditivii alimentari sunt substanțe care se folosesc la prepararea unor produse alimentare în scopul ameliorării calității acestora sau pentru a permite aplicarea unor tehnologii avansate de prelucrare.^{2,3}

Substanțele folosite în acest scop se notează cu indicativul "E număr".

Ordinul Ministerului Sănătății nr. 975/1998 pentru aprobarea Normelor igienico-sanitare pentru alimente

reglementează utilizarea aditivilor alimentari la noi în țară, iar în Monitorul Oficial nr. 722 bis din 2 octombrie 2002 a apărut Ordinul pentru aprobarea normelor privind aditivii alimentari destinați utilizării în produsele alimentare pentru consum uman, care sunt aliniate la standardele în domeniu ale Uniunii Europene.^{2,4}

Aditivii alimentari pot fi grupați în următoarele categorii: coloranți, conservanți, antioxidanți, emulgatori, săruri de topire, agenți de îngroșare, gelifianți, stabilizatori, stimulatori de arome, acidifianti, corectori de aciditate, antiaglomeranți, amidon modificat, îndulcitori, agenți de afânare, antispușmanți, agenți de glazurare, ameliorator de făină, agenți de întărire, agenți de umezire, agenți de sechestrare (de blocare), enzime, agenți de încărcare, gaz propulsor și de ambalare.

Conform datelor din literatura de specialitate unii aditivi alimentari pot avea efecte negative asupra sănătății (de ex. benzoatului i se atribuie efecte iritante asupra mucoaselor și efect alergizant).^{2,4,6}

¹Centrul de Sănătate Publică Târgu-Mureș
²Discipline de Igienă, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș
Adresa de corespondență: dr. Fărr Ana-Maria, Centrul de Sănătate Publică, str. Gh. Marinescu 40, cod 540139 Târgu Mureș, tel. 0265 215754, fax 0265 219320; email: farra_a@yahoo.com sau farra@cspmures.ro

Tabelul I. Conținutul de conservanți din băuturi răcoritoare

Nr. crt.	Produsul analizat	Benzoat de sodiu (mg/L)	Sorbat de potasiu (mg/L)
1	C 1	166.069	214.523
2	C 2	165.843	220.469
3	C 3	177.189	322.413
4	C 4	154.371	149.814
5	C 5	171.234	234.246
6	C 6	163.420	201.860
7	C 7	154.784	296.241
8	C 8	163.738	230.891
9	C 9	171.876	201.257
11	C 10	173.785	203.951
11	C 11	176.589	293.751
12	C 12	150.820	129.816
13	C 13	160.991	280.136
14	P 1	144.970	206.776
15	P 2	142.012	193.543
16	P 3	143.745	213.467
17	P 4	149.428	225.489
18	P 5	150.934	216.139
19	P 6	150.450	216.933
20	P 7	138.930	199.425
21	P 8	132.729	190.036
22	P 9	188.403	272.881
23	P 10	152.312	231.547
24	P 11	147.404	225.417
25	P 12	146.483	219.596
26	P 13	154.703	217.873
27	C 14	170.842	231.264
28	C 15	174.517	268.293
29	C 16	164.141	319.142
30	C 17	165.582	305.848
31	C 18	152.396	146.164
32	C 19	162.268	318.842
33	C 20	172.067	261.082
34	C 21	169.617	209.031
35	P 14	150.163	240.427
36	P 15	143.317	217.669
37	P 16	145.551	231.564
38	P 17	154.198	254.923
39	P 18	147.136	234.043
40	P 19	147.785	230.663
41	P 20	130.059	229.086
42	P 21	143.317	228.935
43	P 22	128.258	193.634
44	P 23	148.001	235.320
45	P 24	146.776	242.530
46	P 25	140.291	222.476
47	P 26	135.103	213.012
48	P 27	135.175	207.228
49	P 28	146.920	231.940
50	C 22	154.432	308.316
51	C 23	157.240	226.839
52	C 24	151.995	290.619
53	C 25	157.642	270.789
54	C 26	160.249	294.639
55	C 27	140.701	134.369
56	C 28	140.221	284.499
57	C 29	163.760	317.456
58	C 30	147.081	303.418
59	P 29	163.306	271.478
60	P 30	125.047	205.471

MATERIAL ȘI METODĂ

Conservanții alimentari sunt substanțe care se introduc în alimente pentru prevenirea modificărilor nefavorabile ale însușirilor senzoriale și pentru prelungirea duratei de păstrare. Se încadrează în această categorie substanțele care acționează ca antiseptic și se opun multiplicării în alimente a microflorei saprofite de alterare (bacterii, mușgaiuri, drojdii). Benzoatul de sodiu este bactericid slab, fungistatic și activ contra drojdiilor la pH scăzut. Sorbatul de potasiu are spectru fungistatic larg și nu dă gust alimentelor. Acești conservanți nu distrug microorganismele din băuturi răcoritoare, inhibând doar creșterea lor. Dacă un produs este deja alterat substanțele conservante nu schimbă situația.^{4,6}

În lucrarea de față s-a făcut determinarea cantitativă cu HPLC a două tipuri de conservanți: benzoat de sodiu (E211) și sorbat de potasiu (E202) din 60 de probe de băuturi răcoritoare comerciale.³

Am luat în studiu băuturi necarbogazoase din gama de răcoritoare codate tip C. și tip P. Probele de băuturi au fost aduse din diferite unități comerciale ale orașului, provenind din loturi diferite și cu diferite arome. S-au făcut determinări privind conținutul în benzoat de sodiu și sorbat de potasiu din 30 probe de răcoritoare tip P. și 30 probe tip C. Cei doi conservanți se găsesc împreună în ambele sortimente de băuturi. Determinările s-au efectuat pe un cromatograf lichid tip DIONEX 4500 I, în condițiile de utilizare descrise mai jos:

Coloană	Li Chrospher 100 RP-18
Lungimea coloanei	125 mm
Diametrul intern	4 mm
Diametrul particulelor	5 μm
Cantitatea probei	45 μl
Debit eluent	1,5 ml/min
Compoziția eluentului	10% metanol cu 90% 0,01M KOH/Hac, pH=4,93
Pompa	GPM II
Detector	VDM II (cu lungime de undă variabilă 190-800 nm)
Detector de lungime de undă	235 nm

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Determinările de conservanți din băuturi răcoritoare, prin metoda lichid-cromatografică³, ne-au condus la rezultatele evidențiate în tabelul I.

Ordinul MS nr. 975/1998 stabilea limitele admise astfel: pentru benzoat de sodiu (E211) 200 mg/l, pentru sorbat de potasiu (E202) 300 mg/l.⁸

Conform noii reglementări - Ordinul Ministerului Sănătății nr. 438 din Monitorul Oficial nr. 722 bis/2002, aceste reglementări se modifică astfel: 150 mg/l pentru E211 și 300 mg/l pentru E202, iar dacă cei doi conservanți se găsesc împreună în produsul respectiv (cum este și cazul de față), limitele admise sunt: 150 mg/l pentru E211+250 mg/l pentru E202.⁷

Ținând cont de aceste valori stabilite avem următoarele rezultate:

-din cele 30 probe de băuturi C., la 26 (86,6%) s-au găsit depășiri în ceea ce privește conținutul în benzoat de sodiu

-conținutul în sorbat de potasiu a fost peste limitele stabilite la 15 (50%) din cele 30 probe de C.

-din cele 30 probe de băuturi P la 5 (16,6%) au fost găsite depășiri ale valorii admise de benzoatul de sodiu.

-conținutul în sorbat de potasiu a fost depășit la 3 probe (10%) din cele 30 probe de răcoritoare tip P.

Interpretarea acestor rezultate plecând de la vechiul Ordin al MS nr. 975/1998 ar arăta altfel și anume:

-nu am depistat depășiri ale valorilor admise privind conținutul în benzoat de sodiu la nici una din probe

-am înregistrat depășiri privind conținutul în sorbat de potasiu la 7 probe, toate din gama C (Tabelul I).

CONCLUZII

Conservanții sunt aditivi cu o largă răspândire, folosiți în foarte multe produse alimentare, chiar și în unele produse farmaceutice. În ceea ce privește conținutul în conservanți al băuturilor nealcoolice este foarte importantă urmărirea respectării cantităților admise de legislația în vigoare, prin determinări cantitative.

În studiul de față am găsit valori depășite privind conținutul în benzoat de sodiu la majoritatea probelor de băuturi răcoritoare din gama C. (86,6%) și conținut depășit de sorbat de potasiu la 50% din probele tip C.

Probele de răcoritoare tip P. arată rezultate mai bune, depășiri privind conținutul în benzoat fiind fost găsite la 5 probe (16,6%), iar depășiri de sorbat la 3 probe (10%).

Ne propunem efectuarea acestor determinări în continuare în anul următor, completat cu determinarea altor aditivi alimentari, cum ar fi unii coloranți sintetici.

BIBLIOGRAFIE

1. DENGATE S, RUBEN A - *Additives in beverages*, J Pediatr Child Health, 2002, 3:373-376.
2. DUMITRESCU H și colab - *Igiena mediului. Igiena alimentației. Igiena copiilor și adolescenților*, Ed Eurobit, Timișoara, 2002.
3. HORVATH Cs - *High-performance liquid chromatography*, Academic Press, London, 1980.
4. MACOVEI N - *E-urile și problemele de sănătate*, Ed. Christiana, București, 2000.
5. MANESCU S și colab - *Igiena*, Ed. Medicală, București, 1996.
6. PETRESCU C și colab - *Igienă practică și ecologie medicală*, Ed Eurobit, Timișoara, 1999.
7. *** - Ordinul Ministerului Sănătății nr. 438 pentru aprobarea Normelor privind aditivii alimentari destinați utilizării în produsele alimentare pentru consum uman, publicat în Monitorul Oficial nr. 722 bis, din 2002, partea I.
8. *** - Ordinul Ministerului Sănătății nr. 975/1998 pentru aprobarea Normelor igienico-sanitare pentru alimente, publicat în Monitorul Oficial nr. 266 din 1999, partea I.

Aspecte clinice și terapeutice în hipospadias

H. Gozar¹, Angela Borda², V. Gliga³

Scop: Studiul copiilor internați în Clinica Chirurgie Pediatrică Targu-Mureș, cu diagnosticul de hipospadias. **Material și metodă:** Au fost studiate 81 de cazuri consecutive de copii cu hipospadias, internați în clinica noastră între 1.10.2002 și 1.10.2006. A fost avută în vedere vârsta de prezentare, numărul spitalizărilor, durata medie de spitalizare, tipul hipospadiasului, bolile asociate, tratamentul efectuat, complicațiile apărute. **Rezultate:** Am analizat 81 de pacienți, cu 1 până la 6 internări. Vârsta medie de spitalizare a fost de 7,01 ani. 41 pacienți (31,78%) au prezentat malformații asociate. Durata medie de spitalizare a fost de 7 zile. 67,9% din cazuri au prezentat hipospadias anterior, 17,29% hipospadias penian mediu, iar 14,81% hipospadias penian posterior sau peno-scrotal. Tehnica de uretroplastie cea mai utilizată a fost cea descrisă de Duplay (79,16%), la care, în ultima perioadă, au fost aduse unele modificări. **Concluzii:** Tehnica Duplay oferă condiții de plasticie uretrală satisfăcătoare pentru aproape toate tipurile de hipospadias. Cele mai frecvente complicații au fost reprezentate de fistulele uretrale și dehiscența plăgii. **Cuvinte cheie:** hipospadias, uretroplastie, Duplay.

Purpose: A study of hospitalised patients with hipospadias at the Clinic of Pediatric Surgery Targu-Mureș.

Material and methods: We have studied 81 consecutive cases of children hospitalised with hipospadias at our clinic in period of 1.10.2002-1.10.2006. We analysed ages of children, number of hospitalisation, length of hospitalisation, type of hipospadias, associated malformations, treatment, complication.

Results: 81 of different patients with 1-6 hospitalisation. Average was 7,01 years, 41 of them (31,78%) presented associated malformations. Average duration of hospitalisation was 7 days. 67,9 % presented anterior hipospadias, 17,29 % median penian hipospadias, and 14,81% posterior hipospadias even peno-scrotal. Most utilized technique of urethroplasty was one described by Duplay (79,16%). This method has been recently modified. **Conclusion:** Duplay method offers satisfying conditions of urethroplasty for all type of hipospadias. It was a significant number of complications, represented especially by urethral fistula and dehiscence of urethroplasty.

Key words: hipospadias, urethroplasty, Duplay.

Hipospadiasul este o malformație congenitală caracterizată prin deschiderea meatului uretral pe fața ventrală a penisului, proximal de vârful glandului. Meatul poate fi localizat pe toată lungimea penisului, de la gland la scrot sau chiar la nivelul perineului.

Este o malformație destul de frecventă, studiile americane și europene apreciind o incidență de 3 la 1000 de băieți nou-născuți.¹ Studii din alte zone geografice raportează incidențe de până la 8,2.¹ De remarcat că este o malformație cu incidență în creștere, în ultimii ani, pe plan mondial. Factorii incriminați în producerea malformației sunt hormonal, familiali, de mediu. Se asociază frecvent cu alte malformații congenitale, ca hernia inghinală, ectopia testiculară, malformații de tract urinar, malformații digestive, intersexualitate.⁴

Aspectul clinic este caracteristic. Pe lângă faptul că orificiul uretral este situat pe fața ventrală a penisului, acesta este cel mai adesea stenotic (uneori chiar

punctiform). Penisul prezintă frecvent încurbare ventrală, datorită coardei fibroase ventrale asociate. Prepuțul e aglomerat dorsal, iar tegumentul de pe fața ventrală a penisului este subțire, întins. Ca urmare a acestor modificări, copiii cu hipospadias prezintă dificultate în urinare, jet urinar împrăștiat, iar mai târziu erecții și copulații necorespunzătoare. Din aceste considerente, pe lângă modificările morfologice amintite anterior, această malformație are și importante implicații psiho - sociale.

MATERIAL ȘI METODĂ

Au fost studiați 81 pacienți internați în Clinica Chirurgie Pediatrică din Targu - Mureș, pe o perioadă de 4 ani, din 1.10.2002 până în 1.10.2006, cu diagnosticul de hipospadias. Deoarece tratamentul se realizează în etape, în cazul unor pacienți s-au înregistrat mai multe internări, unele efectuate și pentru tratamentul afecțiunilor asociate.

Am studiat vârsta de prezentare, numărul spitalizărilor, durata medie de spitalizare, tipul hipospadiasului, tratamentul efectuat. Tratamentul a cuprins 3 timpi operatori consecutivi: meatoplastie, deflectare, uretroplastie.

¹Spitalul Clinic Județean Mureș

²Disciplina Histologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Targu-Mureș

³Clinica Chirurgie Pediatrică, Universitatea de Medicină și Farmacie Targu-Mureș

Adresa de corespondență: Dr. Horea Gozar, Spitalul Clinic Județean Mureș, Str. Gheorghe Marinescu 50, 540136 Targu-Mureș

La majoritatea pacienților s-a efectuat tehnica de uretroplastie Duplay²: o incizie în U pe fața ventrală a penisului, care circumscrie orificiul uretral. Se prepară lambourile laterale și după introducerea unei sonde uretro-vezicale, se efectuează uretroplastia, cu fire separate, pe sondă. Se închide apoi plaga cu lambourile tegumentare laterale. Îmbunătățiri ale tehnicii clasice au fost efectuate prin interpunerea unui strat intermediar conjunctivo-vascular între neouretră și tegument și prin incizie mediană, longitudinală, în placa uretrală, pentru a scădea tensiunea din sutură.⁷

Vor fi trecute în evidență și celelalte tehnici efectuate, în funcție de tipul hipospadiasului.

REZULTATE

Copiii internați aveau vârste cuprinse între o luna și 18 ani (Figura 1). Au fost 129 de internări, la 81 de pacienți diferiți (în intervalul de 4 ani studiat am existat copii cu până la 6 internări - Tabelul I). Din cei 81 de pacienți, 41 au prezentat diferite malformații asociate (Tabelul II).

Durata medie de spitalizare a fost de 7 zile. Internările au fost între 2 zile (meatoplastie sau

tratamentul afecțiunilor asociate) și 10 zile (uretroplastie).

După localizarea orificiului uretral, am avut: hipospadias anterior, în 55 de cazuri (67,9%), hipospadias penian (mediu), în 14 cazuri (17,29%), hipospadias penian posterior sau peno-scrotal, 12 cazuri (14,81%).

Am avut 32 de copii internați pentru meatoplastie, 23 pentru deflectare, 48 de internări pentru efectuarea uretroplastiei, 24 pentru tratamentul afecțiunilor asociate, 2 pentru altele (investigații suplimentare - RMN, plastia cheloidelor).

În cazul hipospadiasului anterior, s-au utilizat tehnicile de uretroplastie MAGPI (meatal advancement and glanuloplasty) (2), Arap (2), Mathieu (3) și Duplay (19). În cazul hipospadiasului mediu, tehnicile Duplay (10) și Denis Brown (2), iar în cazul hipospadiasului posterior, tehnicile Duplay (9) și Cecil-Culp (1).

Complicațiile au fost relativ frecvente: edem penian (la toate uretroplastiile), stemoze meatale (4), fistule uretrale (10), dehiscenta parțială sau totală a plăgii operatorii (11).

DISCUȚII

Chirurgia hipospadiasului a fost mereu o problemă de actualitate, în continuă dinamică. În ultima perioadă, în lume se tinde la scăderea vârstei de realizare a uretroplastiei, efectuare pe cât posibil, a reconstrucției peniene într-un singur timp operator, modificări ale tehnicilor operatorii „clasice”, îmbunătățirea materialelor chirurgicale utilizate, îngrijiri pre- și postoperatorii de mai bună calitate.³ Cu toate acestea, nu există un consens pe plan mondial în rezolvarea diferitelor tipuri de hipospadias și nici o tehnică chirurgicală aplicabilă, fără rezerve în toate cazurile. În literatura de specialitate sunt descrise peste 300 de astfel de tehnici.

În lotul nostru de studiu, am avut copii internați cu vârste între o lună și 18 ani, cu vârsta medie de 7,01 ani. Pe plan mondial, această vârstă tinde să fie scăzută, recomandându-se intervenții chirurgicale între 6-18 luni.⁴

Studiile dau procente de afecțiuni asociate (în special hernie inghinală, umbilicală, ectopie testiculară) foarte diferite.⁵ Noi am găsit 41 de astfel de pacienți, adică 31,78 %. Tipurile de malformații decelate, corespund cu cele citate de literatură.

Obiectivele tratamentului au fost următoarele: meat urinar de calibrul corespunzător, deflectarea penisului, plasarea meatului în vârful glandului, formarea unui gland simetric, conic, formarea unei neouretre de calibrul uniform, cicatrice tegumentară de aspect satisfăcător.

Meatoplastia a fost efectuată aproape exclusiv prin meatotomie ventrală uretrală. Doar în 4 cazuri s-a efectuat meatoplastia dorsală tip Heineke-Mikulicz (incizie longitudinală în placa uretrală, la nivelul meatului și apoi sutură transversală a plăgii).

Deflectarea a fost efectuată prin incizie transversală pe fața ventrală a penisului, distal de orificiul uretral și excizia coardei fibroase.

Număr pacienți

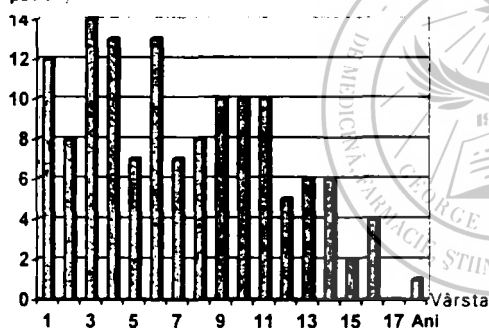


Figura 1. Distribuția pe vârstă

Tabelul I. Număr de internări/pacient

Nr. Internări	Nr. pacienți
1	52
2	18
3	6
4	3
5	1
6	1

Tabelul II. Malformații asociate

Afecțiuni asociate	Nr.	(%)
Retenție testiculară	12	14,81
Hernie inghinală / hidrocel	4	4,93
Afecțiuni renale (rinichi ectopic, hidronefroza, infecție urinară)	6	7,40
Palmură peno-scrotală	5	6,17
Malformații cardiace	4	4,93
Hernie ombilicală	2	2,46
Alte afecțiuni	8	9,87

Din cele 48 de uretroplastii efectuate, 38 au fost realizate cu tehnica Duplay (79,16%), descrisă anterior. Deși această tehnică a fost descrisă încă din 1869 de Thirsch pentru epispadias și 1880 de Duplay pentru hipospadias, rămâne actuală pentru aproape orice tip de hipospadias. În ultima perioadă s-au adus îmbunătățiri acestei tehnici: prepararea unui strat intermediar, conjunctivo-vascular, de la nivelul prepușului, rotat ventral, plasat deasupra neouretrei, incizia mediană, longitudinală, în placa uretrală (artificii operatorii descrise de Snodgrass), realizarea suturii neouretrei cu fir continuu (polypropylene, 6-0), intradermic.⁴ Și noi am aplicat în cazul ultimelor 3 uretroplastii, modificările menționate anterior. Aceste artificii operatorii au putut fi practicate și în cazul tehnicii Mathieu⁶, pentru hipospadiasul anterior. În cazul hipospadiasului glandular sau balanic, s-au efectuat, cu rezultate satisfăcătoare, tehnicile MAGPI și Arap. Tehnica Denis Browne, utilizată destul de des în trecut pentru hipospadiasul penian, a fost aproape abandonată. Într-un caz de hipospadias peno-scrotal, s-a practicat tehnica Cecil-Culp.

Complicațiile au fost relativ frecvente și s-au datorat atât dificultății efectuării uretroplastiei, cât și unei dotări materiale necorespunzătoare (fire de sutură, instrumente de mărire, cauter adecvat).

În cazul stenozelor s-au efectuat dilatări cu sonde sau meatoplastii. În cazul fistulelor uretrale și al dehiscențelor de sutură a trebuit să fie reluată uretroplastia.

CONCLUZII

Reconstrucția peniană în cazul hipospadiasului rămâne o problemă insuficient rezolvată. Pot fi efectuate mai multe tehnici, în funcție de localizarea orificiului uretral, dar, după părerea noastră, tehnica Duplay, combinată cu interpunerea unui strat conjunctivo-vascular intermediar de la nivel prepușal și incizia longitudinală a plăcii uretrale (Snodgrass), oferă o bună plastie uretrală pentru majoritatea tipurilor de hipospadias.

BIBLIOGRAFIE

1. ASHCRAFT KW, HOLCAME GW, MURPHY JP – *Pediatric Surgery*, Edition 4, Elsevier Saunders, 2005, 807-830.
2. DEXTER RM, FRANZONI DF – *Distal hipospadias repair by the modified Thiersch-Duplay technique with or without hinging the urethral plate: a near ideal way to correct distal hipospadias*, J Urol, 1999, 162:1156-1158.
3. DOGRA BB – *One stage repair in hipospadias by prepuccial island flap technique*, Indian Journal of Plastic Surgery, 2003, 36:18-22.
4. HODIDI AT, AZMY AF – *Hypospadias Surgery*, Springer, 2004, 120-164.
5. PALMER LS, PALMER JS, FRANCO J – *The „Long Snodgrass”: applying the tubularized incised plate urethroplasty to penoscrotal hypospadias in 1- stage or 2- stage repairs*, J Urol, 2002, 168:1748-1750.
6. SAMORE MA, MALIK MA, IQBAL Z – *Management of distal hipospadias: Mathieu's repair versus tubularized incised plate urethroplasty*, Pakistan Journal of Surgery, 2006, 22:154-158.
7. SNODGRASS W – *Tubularized incised plate urethroplasty for distal hypospadias*, J Urol, 1994, 151:464.

Adenocarcinomul de prostată metastazat la nivel osos - mortalitatea pe parcursul a 4 ani de hormonoterapie

Roxana L Lucaciu¹, Lucia Dican², Corina ML Ionescu¹, MT Bojiță³

Obiectivul studiului este de a urmări cauzele, numărul și procentul de decese înregistrate în urma instituirii a 8 tipuri de hormonoterapie, în cazul adenocarcinomului de prostată metastazat la nivel osos.

Cuvinte cheie: adenocarcinom, hormonoterapie, deces

The aim of the present study is to establish the causes, the number and the percentage of deceases recorded after the administration of 8 hormone therapy schemes, in the case of metastasated prostate adenocarcinoma at bone level.

Key words: adenocarcinoma, hormone therapy, decease

Adenocarcinomul de prostată reprezintă unul dintre cele mai frecvente cancere al sexului masculin. Statisticile efectuate demonstrează că, adenocarcinomul de prostată ocupă actual aproximativ 20% din patologia malignă a bărbatului.^{1,6}

În cercetarea oncologică, primul loc îl ocupă prelungirea duratei de supraviețuire, pe locul al doilea situându-se asigurarea calității vieții.^{2,4}

Decesele ce survin pe parcursul hormonoterapiei nu sunt datorate doar cancerului. Acestea pot fi produse de reacțiile adverse consecutive hormonoterapiei sau pot avea la bază alte cauze.^{1,5}

MATERIAL ȘI METODĂ

Studiul a fost efectuat în cadrul Institutului Oncologic Național "Prof. Dr. I. Chiricuță" Cluj-Napoca, pe o perioadă de 4 ani. S-au luat în studiu 8 loturi a câte 35 pacienți, diagnosticați cu cancer de prostată metastazat osos M_{1b}(os), cu un scor Gleason 7-10, având vârsta cuprinsă între 60-70 ani. Pacienții incluși în studiu au fost aleși astfel încât studiul să fie reprezentativ. Astfel:

• Lotul I - terapie combinată: orhiectomie bilaterală (OB) urmată de Flutamidă (Fluta): 3x1comprimat/zi (250mg/comprimat), la un interval de 8 ore.

• Lotul II - terapie combinată: orhiectomie bilaterală urmată de Bicalutamid (Bica): 1comprimat/zi (50mg/comprimat).

• Lotul III - terapie combinată: orhiectomie bilaterală urmată de Cyproteronă (Cypro): 2x2 comprimate/zi (50mg/comprimat), la un interval de 12 ore.

• Lotul IV - terapie combinată: Flutamidă + Goserelină (Gose), administrare simultană. Flutamida se administrează: 3x1comprimat/zi (250mg/comprimat), la un interval de 8 ore, iar Goserelina: 3,6 mg/28 zile, administrată sub cutanat în peretele abdominal.

• Lotul V - monoterapie: Leuprorelină (Leupro): 3,75 mg/28 zile, administrată subcutanat în peretele abdominal.

• Lotul VI - monoterapie: Flutamidă: 3x1comprimat/zi (250mg/comprimat), la un interval de 8 ore.

• Lotul VII - monoterapie: Bicalutamid: 1 comprimă/zi (50mg/comprimat).

• Lotul VIII - monoterapie: Cyproteronă: 3x2 comprimate/zi (50mg/comprimat), la un interval de 8 ore.

Evoluția pacienților pe întreaga durată a hormonoterapiei a fost monitorizată prin intermediul dozării antigenului specific de prostată.

¹Catedra de Biochimie farmaceutică și laborator clinic, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Haieganu" Cluj-Napoca
²Catedra de Biochimie medicală, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Haieganu" Cluj-Napoca
³Catedra de Analiza Medicamentului, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Haieganu" Cluj-Napoca
Persoana de contact: Roxana L. Lucaciu, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Haieganu" Cluj-Napoca, str. Pasteur 4/6, e-mail: roxaneluc@yahoo.com

S-a evidențiat numărul și procentul de decese înregistrate pe tot parcursul studiului pentru cele opt tipuri de terapii luate în studiu. S-au reprezentat:

-numărul și % de decese datorate cancerului
-numărul și % de decese datorate reacțiilor adverse produse de HT

-numărul și % de decese datorat altor cauze
-numărul și % total de decese (din orice cauză)

În terapia adenocarcinomului de prostată se dorește stabilirea unui echilibru între beneficiu-efecte adverse—cost ținând cont în primul rând de eficacitatea actului terapeutic și de asigurarea unui confort (pe cât posibil) pentru pacient. Beneficiul constă în diminuarea simptomatologiei algice și urinare și prelungirea duratei de supraviețuire.

REZULTATE

Pentru a putea calcula procentele, sunt reprezentați numărul de pacienți decedați datorită reacțiilor adverse/lot, numărul de pacienți decedați din altă cauză/lot, numărul de pacienți decedați datorită cancerului/lot și numărul total de decese/lot (Tabelul I).

Observație: La debutul studiului fiecare lot era alcătuit din 35 de pacienți. Diferența dintre 35 și numărul total de decese consemnate în Tabelul I reprezintă suma dintre pacienții cărora li s-a stopat HT datorită reacțiilor adverse, pacienți care continuă altă terapie (pierduți din evidență din punct de vedere al acestui studiu) și supraviețuitorii în urma celor 4 ani de studiu.

S-au reprezentat:

•Procentul de decese datorate reacțiilor adverse, ținând seama de numărul total de pacienți care au decedat din această cauză. (Figura 1)

•Procentul de decese datorate altor cauze (nedatorate cancerului de prostată și nici reacțiilor adverse consecutive HT), ținând seama de numărul total de pacienți care au decedat din aceste cauze. (Figura 2)

•Procentul de decese datorate cancerului, ținând seama de numărul total de pacienți care au decedat din această cauză. (Figura 3)

•Procentul total de decese, ținând seama de numărul total de pacienți care au decedat. (Figura 4)

Tabelul I. Reprezentarea numărului de decese datorate: reacțiilor adverse, altor cauze, cancerului și al numărului total de decese

Lot	Număr decese datorate reacțiilor adverse	Număr decese din altă cauză	Număr decese datorate cancerului	Număr total de decese
OB+Fluta	2	6	22	30
OB+Bica	0	5	25	30
OB+Cypro	3	3	28	34
Fluta+Gose	1	2	25	28
Leupro	0	3	31	34
Fluta	2	3	28	33
Bica	0	3	31	34
Cypro	4	4	26	34

Decese datorate reacțiilor adverse. Meta+

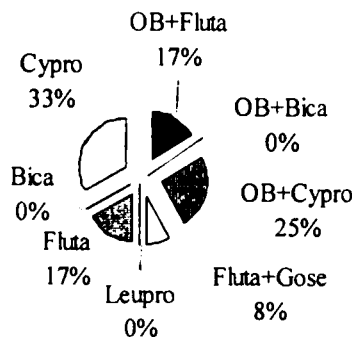


Figura 1. Procentul de decese datorate reacțiilor adverse, ținând seama de numărul total de pacienți care au decedat din această cauză

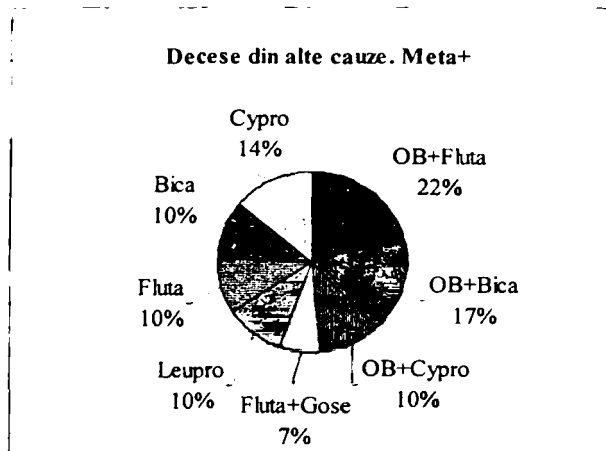


Figura 2. Procentul de decese datorate altor cauze, ținând seama de numărul total de pacienți care au decedat din acea ste cauză

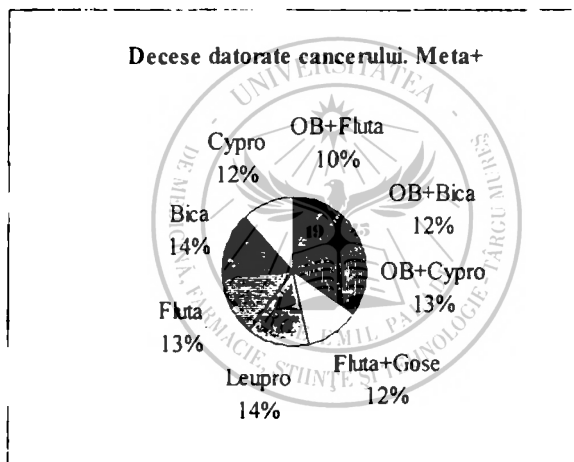


Figura 3. Procentul de decese datorate cancerului, ținând seama de numărul total de pacienți care au decedat din această cauză

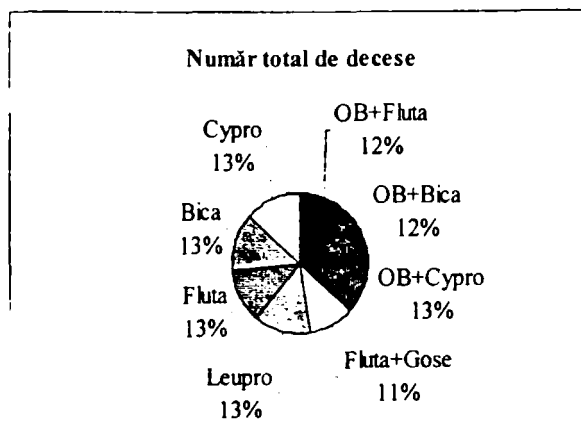


Figura 4. Procentul total de decese, ținând seama de numărul total de pacienți care au decedat

DISCUȚII ȘI CONCLUZII

În urma efectuării studiului s-a concluzionat:

•Numărul de decese înregistrat datorită reacțiilor adverse provocate de HT descrește în următoarea ordine:

Cypro > OB+Cypro > OB+Fluta = Fluta > Fluta + Gose

Numărul cel mai mare de decese este înregistrat în cazul lotului VIII – Cypro și numărul cel mai mic de decese este înregistrat în cazul lotului IV – Fluta+Gose. Lipsa deceselor datorate efectelor adverse se constată în cadrul loturilor II – OB+Bica, V – Leupro și VII – Bica. Prin urmare, Cypro și Fluta sunt cei 2 compuși implicați în declanșarea de reacții adverse ce determină decese, cel mai incriminat fiind Cypro.

Pentru a evita decesele produse de efectele adverse consecutive HT în practica terapeutică curentă se recomandă utilizarea Bica sau Leupro. Ținând cont de balanța eficacitate-risc este de preferat terapia combinată OB+Bica.

•Numărul de decese înregistrat din alte cauze descrește în următoarea ordine:

OB+Fluta > OB+Bica > Cypro > OB+Cypro = Leupro = Fluta = Bica > Fluta+Gose

În cadrul lotului I – OB+Fluta se înregistrează cel mai mare număr de decese datorat altor cauze, iar în lotul IV – Fluta+Gose cel mai mic număr de decese datorat altor cauze. S-a urmărit numărul de decese datorat altor cauze având ca și scop realizarea studiului de supraviețuire prin metoda Kaplan Meier. În acest caz nu se poate vorbi de o mai bună eficacitate a unei anumite scheme terapeutice deoarece decesele sunt survenite din alte cauze și se presupune că nu sunt influențate de schema terapeutică administrată.

•Numărul de decese înregistrate datorită adenocarcinomului de prostată metastazat descrește în următoarea ordine:

Bica = Leupro > OB+Cypro = Fluta > Cypro > OB+Bica = Fluta+Gose > OB+Fluta

Din această reprezentare ar rezulta că cei mai mulți pacienți decedați datorită cancerului se află în cadrul loturilor VII – Bica și V – Leupro (la egalitate), iar

numărul cel mai mic de pacienți decedați datorită cancerului se află în cadrul lotului I – OB+Fluta.

•Numărul total de decese înregistrat pe parcursul celor 4 ani de studiu descrește în următoarea ordine:

OB+Cypro = Leupro = Bica = Cypro > Fluta > OB+Fluta = OB+Bica > Fluta+Gose

Numărul cel mai mare de decese (număr total) pe parcursul celor 4 ani este înregistrat în cazul loturilor III – OB+Cypro, V – Leupro, VII – Bica și VIII – Cypro, la egalitate. Cea mai mică mortalitate înregistrându-se în cadrul lotului IV – Fluta+Gose, urmat de loturile I – OB + Fluta și II – OB+Bica, la egalitate.

Pentru exactitatea interpretării, având ca scop evidențierea variantei terapeutice optime din punct de vedere a duratei de supraviețuire, interesează cu precădere numărul total de pacienți decedați pe parcursul studiului, respectiv numărul de supraviețuitori în urma încheierii studiului.

Astfel, din punct de vedere a numărului total de decese, cele mai eficiente scheme terapeutice s-au dovedit a fi terapiile combinate: Fluta+Gose, urmată în de-a-proape de OB+Bica și OB+Fluta, la egalitate. Dintre monoterapii cea mai eficace este administrarea de Flutamidă.

BIBLIOGRAFIE

1. BOTT SRJ, BIRTLE AJ, TAYLOR CJ et al – *Prostate cancer management: (2) an update on locally advanced and metastatic disease*, Postgrad Med J, 2003, 79:643-645.
2. CHARALABOPOULOS K, GOLIAS C, CHARALABOPOULOS A et al – *Quality of life in patients suffering from prostate adenocarcinoma. A global approach*, Hippokratia, 2005, 9:7-16.
3. CHODAK GW – *A critical review of maximal androgen blockade for advanced prostate cancer*, Reviews in urology, 2004, 6(suppl 8):S18-S23.
4. MELMED G, KWAN L, REID K et al – *Quality of life at the end of life: trends in patients with metastatic prostate cancer*, Urology, 2002, 59:103-109.
5. MIYAMOTO H, MESSING EM, CHANG C – *Androgen deprivation therapy for prostate cancer: current status and future prospects*, The Prostate, 2004, 9999:1-22.
6. TANNOCK FI – *Management of metastatic prostate cancer*, Oncology Rounds, 2000, 2(3).

Determinarea pentoxifilinei din matrițe hidrofile prin cromatografie de lichide de înaltă performanță

Eleonora Mircia¹, Silvia Imre², Emese Sipos³, Adriana Popovici³, Veronica Avriganu¹

Lucrarea prezintă determinarea prin HPLC a pentoxifilinei din cinci noi formulări tip comprimate retard cu matriță hidrofilă. Analiza cromatografică s-a realizat pe o coloană C18, cu o fază mobilă conținând apă: acetonitril 70:30 (V/V) și detecție în UV la 280 nm. Toate cele cinci formulări studiate au corespuns prevederilor din farmacopee din punctul de vedere al conținutului în pentoxifilină.

Cuvinte cheie: pentoxifilină, HPLC

The paper describes the HPLC determination of pentoxifylline from five new controlled release tablets with hydrophilic matrix. A C18 column with a mobile phase containing water: acetonitrile 70 : 30 (V/V) and UV detection at 280 nm. was used. All five formulations had the content of pentoxifylline in agreement with pharmacopoeia dispositions.

Key words: pentoxifylline, HPLC

Pentoxifilina [3,7-dihidro-3,7-dimetil-1-(5-oxohexil)-1H-purin-2,6-dionă]¹³ (Figura 1), este un derivat xantic (derivat de teobromină)⁵ și metabolitul activ al pentofilinei.

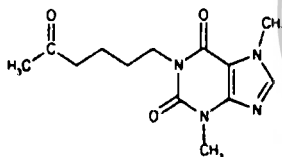


Figura 1. Pentoxifilina, structura chimică

Pentoxifilina ameliorează proprietățile reologice ale sângelui², prin îmbunătățirea capacității de deformare a eritrocitelor, micșorarea vâscozității sângelui și inhibarea agregării plachetare.¹ Se utilizează în tratamentul unor afecțiuni arterio-venoase.^{6,7}

Matrițele hidrofile, atât cele care realizează controlul cedării substanțelor medicamentoase prin relaxare macromoleculară și difuziune, cât și cele care realizează controlul cedării prin eroziune sunt frecvent folosite pentru controlul cedării substanțelor medicamentoase.⁸

Una din tehnicile des utilizate pentru dozarea pentoxifilinei din forme farmaceutice este cromatografia de lichide de înaltă performanță.^{3,12} În scopul caracterizării fizico-chimice a formelor farmaceutice nou obținute¹⁰, s-a dezvoltat și aplicat o

metodă de cromatografie de lichide de înaltă performanță (HPLC) de dozare a pentoxifilinei. Metoda propusă este simplă și permite determinarea cantitativă rapidă a pentoxifilinei din comprimate cu cedare prelungită.

MATERIAL ȘI METODĂ

Forme farmaceutice studiate

S-au analizat comprimate cu cedare prelungită, utilizând ca substanță activă pentoxifilina, prin modelarea tehnologică a eliberării substanței medicamentoase din comprimate. Ca formatori de matriță hidrofilă s-au utilizat hidroxietilceluloza (HEC) și hidroxipropilmetilceluloza (HPMC) în diferite proporții: hidroxietilceluloză (HEC) 17%, 34% și hidroxipropilmetilceluloză (HPMC) 31%, 34%, 45%; incorporarea pentoxifilinei în matriță s-a realizat prin metoda granulării umede, utilizând ca aglutinant o soluție apoasă 5% de PEG 6000. Granulele obținute au fost supuse procesului de comprimare cu o mașină de comprimat cu excentric (Korsch). Formulările experimentale obținute conțin 400 mg pentoxifilină / comprimat. Solubilitatea pentoxifilinei în apă prin încălzire (77 mg/ml la 25°C și 191 mg/ml la 37°C).⁹ permite formularea acestora în matrițe hidrofile.

Materiale

Pentoxifilină substanță de referință (S.C.Terapia S.A., Cluj-Napoca); acetonitril (Merck); apă purificată (Direct Q-5 Millipore, Millipore SA, Molsheim, France).

Aparatură și condiții cromatografice

Pentru realizarea determinărilor s-au utilizat: balanță AB 54S (Mettler-Toledo, Elveția); baie cu ultrasunete T 700H (Elma Transsonic); Sistem HPLC

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

²Disciplina de Analize Medicamentului, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

³Disciplina de Tehnologie Farmaceutică, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

Adresa pentru corespondență: Asist. univ. drd Eleonora Mircia, Disciplina de Chimie Organică, Universitatea de Medicină și Farmacie, Facultatea de Farmacie, Str. Gh. Marinescu nr. 38, Târgu-Mureș, 540139, tel. 0265-215551/169, e-mail: nmircia@yahoo.com

Agilent seria 1100 (Agilent Technologies, SUA) format din pompă cuaternară, injector automat, detector UV, termostată coloană.⁴

Separarea s-a realizat pe o coloană Hypersil C18, 250 mm X 4,6 mm; 5 μ m (Zorbax, Agilent Technologies, SUA); faza mobilă a fost constituită din apă (A) și acetonitril (B), în raport A:B=70:30 (V/V). Înainte de utilizare, faza mobilă a fost degazată pe baia de ultrasunete și filtrată printr-un filtru Millipore de 0,45 μ m. Faza mobilă a fost eluată cu un debit de 1 ml/min. Separarea s-a făcut la 30 °C, măsurând semnalul dat de detector la 280 nm, iar volumul de injectare a probei a fost de 10 μ l.

Prepararea soluțiilor standard de calibrare

În vederea determinării pentoxifilinei din comprimate, s-a ales ca metodă de evaluare cantitativă metoda standardului extern. În acest sens, în fiecare zi de analiză s-a preparat o soluție stoc de pentoxifilină în apă cu concentrația 200 μ g/ml pentoxifilină prin dizolvarea pe baia de ultrasunete a 10 mg pentoxifilină în 25 ml apă distilată într-un balon cotelat de 50 ml și completare la semn cu apă distilată. Din soluția stoc se prepară cinci soluții standard de lucru în apă cu concentrația de 10 μ g/ml prin diluarea în balon cotelat a câte 0,5 ml soluție stoc la 10 ml cu apă distilată.

Prepararea soluțiilor de analizat

Determinările pentru fiecare tip de formulare s-au efectuat pe un număr de câte cinci comprimate datorită numărului redus de comprimate avute la dispoziție, iar

interpretarea rezultatelor s-a făcut ținând cont de prevederile Farmacopeei Britanice 2005¹¹ care stabilește limitele de acceptanță ale conținutului în substanță activă în funcție de numărul diferit de comprimate luate în lucru. Se cântăresc cele cinci comprimate, se calculează masa medie a acestora, apoi se pulverizează în mojar și se omogenizează amestecul. Se prelevează 25 mg pulbere (echivalentul a 10 mg pentoxifilină), se aduc cantitativ într-un balon cotelat de 100 ml și se agită cu 50 ml apă distilată pe baia de ultrasunete timp de 10 minute. După completarea la semn cu apă distilată (concentrația 100 μ g/ml pentoxifilină), probele au fost filtrate printr-un filtru Millipore de 0,45 μ m, după care câte 1 ml de filtrat a fost transferat într-un balon cotelat de 10 ml și s-a adus la semn cu apă distilată. Extracția pentoxifilinei s-a realizat în același mod pentru toate cele cinci formulări studiate. În vederea verificării interferențelor datorate excipienților, s-au obținut în paralel și comprimate blanc (fără conținut de substanță activă) corespunzătoare celor cinci formulări studiate. Comprimatele blanc au fost extrase în același mod ca cele analizate.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În condițiile cromatografice propuse s-a constatat o specificitate bună a separării, la timpul de retenție al pentoxifilinei (PTX) neexistând interferențe datorate excipienților (Figurile 2 și 3). Separarea se caracterizează prin următorii parametri cromatografici: timp de retenție $t_R = 3,5 (\pm 0,05)$ minute, număr de talere (platouri)

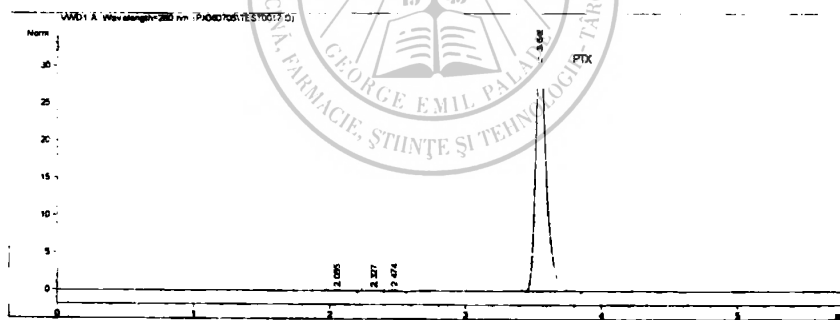


Figura 2. Cromatograma soluției standard de pentoxifilină (PTX) în apă

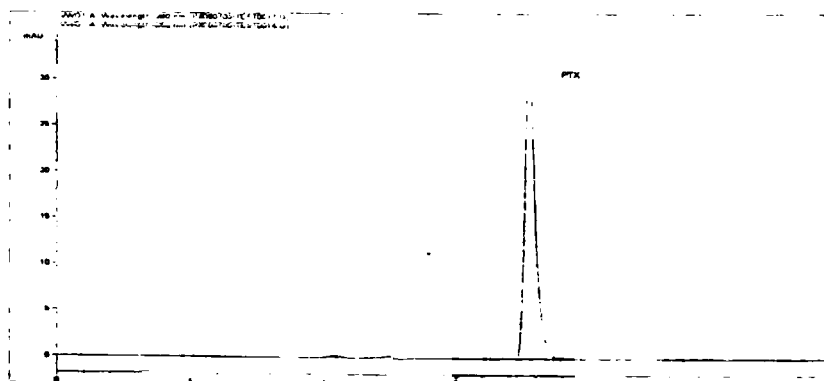
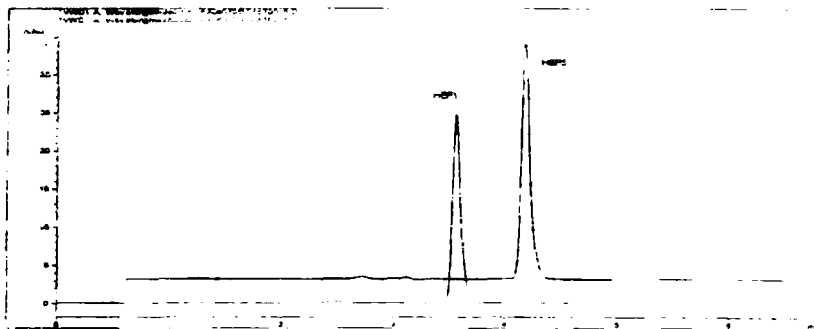
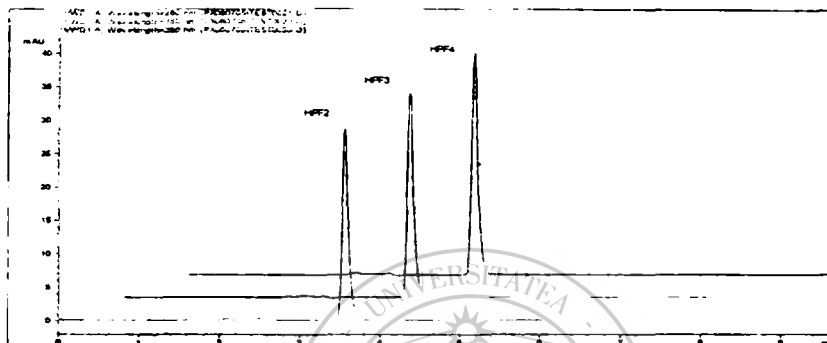


Figura 3. Cromatograma soluției blanc obținută din formă farmaceutică reconstituită HEF, fără substanță activă și a soluției standard de pentoxifilină (PTX)

Figura 4. Reprezentare comparativă a cromatogramelor probelor HEF₁ și HEF₅Figura 5. Reprezentare comparativă a cromatogramelor probelor HPF₂, HPF₃ și HPF₄

teoretice $N = 11165$, simetria picului $S = 0,82$. Se poate concluziona că pentoxifilina se separă eficient și specific în condițiile cromatografice propuse.

Metoda instituită a fost aplicată la dozarea din comprimate retard a pentoxifilinei. Calculele s-au efectuat prin compararea ariilor picurilor obținute cu soluțiile probă cu cele obținute cu soluțiile standard de lucru, în fiecare zi de analiză. Valori tipice obținute cu soluțiile standard de calibrare: aria medie $\bar{A} \pm DS = 176,8 (\pm 0,3)$, $CV\% = 0,2$, unde DS reprezintă deviația standard, iar $CV\%$ coeficientul de variație procentual.

Pentru evaluarea cantitativă s-a luat în calcul media a trei determinări pe fiecare soluție probă.

Figura 4 prezintă comparativ cromatogramele probelor obținute din comprimate cu hidroxietilceluloză (HEC).

În figura 5 sunt redată cromatogramele pentoxifilinei extrase din matrițe hidrofile pe bază de hidroxipropilmetilceluloză (HPMC) preparate cu diferite proporții de polimer.

În urma prelucrării datelor obținute experimental, conținutul în pentoxifilină al celor cinci tipuri de formulări propuse (matrițe hidrofile pe bază de hidroxietilceluloză și hidroxipropilmetilceluloză în proporții diferite), corespunde prevederilor Farmacopeei Britanice, conform cărora limitele acceptabile pentru un conținut de 400 mg/cpr sunt cuprinse între 356,8-444 mg (89,2%-111%) dacă determinările se fac pe cinci comprimate. Rezultatele obținute experimental pentru fiecare tip de formulare sunt redată în tabelul I.

CONCLUZII

Aplicând o metodă HPLC în fază inversă și detecție UV s-a realizat determinarea cantitativă a pentoxifilinei din cinci noi tipuri de comprimate pe bază de matriță hidrofilă. Concentrațiile determinate corespund din punct de vedere al conținutului în substanță activă.

Tabelul I. Rezultatele obținute în urma dozării pentoxifilinei din comprimatele retard studiate

Nr. crt.	Tip de comprimat	Cod comprimat	Polimerul formator de matriță hidrofilă	Concentrația de polimer în matriță (%)	Concentrația medie [mg/cpr]	Valoarea % față de cantitatea declarată
1.	F ₁	HEF ₁	HEC	34	370,40	92,60
2.	F ₂	HPF ₁	HPMC	34	379,40	94,85
3.	F ₃	HPF ₂	HPMC	45	379,70	94,92
4.	F ₄	HPF ₄	HPMC	31	418,10	104,52
5.	F ₅	HEF ₅	HEC	17	390,60	97,65

BIBLIOGRAFIE

1. BYNDU U, PANDIAU K, NARAYANAN SR - *Determination of pentoxifylline in pharmaceutical preparations*, Pharmazie, 1993, 48:621-622.
2. GRIGOLEIT HG, LEONHARDT H - *Rheology of blood and pentoxifylline*, Pharmatherapeutica, 1997, 1(10):642-651.
3. MUSCH G, HAMOIR T, MASSART DL - *Determination of pentoxifylline (oxpentifylline) and its 5-hydroxy-metabolite in human plasma by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection*, J Chromatogr Biomed Appl, 1989, 87:368-374.
4. ÖZSOY Y, TUNÇEL T et al - *Formulation and in vitro release of pentoxifylline lipophilic matrix tablets*, Proc 4th World Meeting of APGI/APV, Florence, April 2002, Summary book, 2002, 105-106.
5. PROFIRE L, PASCU MC et al - *Synthesis and physico-chemical characterization of some new theobromine derivatives*, Timișoara Medical Journal, 2005, 5:63-68.
6. STROESCU V - *Bazele farmacologice ale practicii medicale*, Editura Medicală, București, 2001, 422-423.
7. USMANI OS, BELVISI MG et al - *Theobromine inhibits sensory nerve activation and cough*, Faseb J, 2005, 2:231-233.
8. VREČER F, KRAMAR A - *Study of dissolution of pentoxifylline from sustained release tablets based on alginate matrix*, Farm Vestn Slov, 1994, 45:335-345.
9. VREČER F, KRAMAR A - *Study of pentoxifylline release from matrix tablets based on cellulose ethers*, Proc 1st World Meeting of APGI/APV, Budapest, May 1995, Summary book, 1995, 249-250.
10. YUEN KH, WONG JW et al - *Comparative bioavailability study of two controlled-release pentoxifylline tablet preparations*, Drug Dev Ind Pharm., 2000, 7:803-807.
11. *** - British Pharmacopoeia, HMSO Publication, London, 2005.
12. *** - European Pharmacopoeia 5th edition, Council of Europe, Strasbourg, 2004.
13. *** - Farmacopeea Română, ediția a X-a, Editura Medicală, București, 1993.



Comparare a 3 doze diferite de Misoprostol administrat după Mifepriston pentru inducerea medicamentoasă a avortului – un studiu multicentric, randomizat, controlat, dublu-orb

L. Pușcașiu, B. Szabo, C. Enciulescu, M. Horga, F. Rozsnyai, R. Făgărășan, O. Pupăză, M. Căpîlnă, C. Molnar, C. Mărginean, R. Nicolau, Sz. Kiss

Scopul studiului a fost compararea eficacității unei scheme de tratament care include o doză unică orală de 200 mg mifepriston, urmată de administrarea orală sau vaginală de misoprostol. Studiul a fost dublu orb, controlat, randomizat, multicentric, iar grupul de studiu a fost alcătuit din 150 de paciente care au solicitat întrerupere legală de sarcină la care s-a administrat 200 mg mifepriston oral în ziua a I-a, urmat de administrarea a 0,8 mg misoprostol, oral sau vaginal în ziua a III-a. Pacientelor la care s-a administrat oral precum și unul din grupurile cu administrare vaginală au continuat cu 0,4 mg misoprostol oral, de 2 ori pe zi, pentru 7 zile.

Avortul complet a fost efectul principal urmărit. S-au mai investigat efectele secundare, momentul expulziei produsului de concepție și durata sîngerării.

Rata avortului complet a fost de 92,3% în cazul grupului cu administrare orală de mifepriston, urmată de continuarea administrării orale, respectiv 93,5% în grupul cu administrare exclusiv vaginală și 94,7% în grupul cu administrare inițial orală urmată de continuarea administrării pe cale orală de misoprostol. Pe lotul studiat în centrul nostru rata eșecului a fost de 0,68% (din cele 146 de paciente înrolate într-un singur caz a fost necesară evacuarea chirurgicală a uterului după regimul medicamentos administrat).

Pentru sarcinile în care amenoreea este mai lungă de 57 de zile administrarea vaginală de misoprostol este mai eficientă decît administrarea orală cînd se continuă cu administrarea de 0,4 mg misoprostol oral, de 2 ori pe zi, timp de 7 zile. Continuarea administrării de misoprostol crește eficacitatea în acest grup de amenoree comparativ cu o singură doză vaginală de misoprostol în ziua a III-a dar nu scurtează perioada de sîngerare. Nu s-au înregistrat diferențe în privința eficacității dacă amenoreea a fost sub 57 de zile.

Cuvinte cheie: avort medicamentos, mifepriston, misoprostol

The aim of this study was to compare the efficacy of oral and vaginal administration of misoprostol after a single oral dose of 200 mg of mifepristone and to investigate whether the efficacy can be improved and the duration of bleeding shortened by continuing oral administration of misoprostol for one week.

This is a multicentric (15 Gynecology Clinics in 11 countries) double blind, randomized, controlled trial including a total of 2219 healthy women requesting medical abortion with less than 63 days of amenorrhoea.

Mifepristone 200 mg was administered orally on day one, followed by 0,8 mg misoprostol either orally or vaginally on day three; the oral group and one of the vaginal groups continued with 0,4 mg of oral misoprostol administered twice a day for seven days.

The main outcome was a complete abortion; the secondary outcomes were side effects, time to expulsion and duration of bleeding.

The complete abortion rate was 92,3% in the oral plus continued oral misoprostol group, in the vaginal-only group was 93,5% and it was 94,7% in the vaginal group that continued with oral misoprostol, when considering undetermined cases of failures.

The failure rate in our centre in case of 146 women was 0,68% (after the medical procedure 1 case of surgical evacuation was necessary).

Key words: medical abortion, mifepristone, misoprostol

Avortul medical de trimestrul I nu există în practica curentă în România, dar este înregistrat și utilizat de rutină pentru întreruperea sarcinii mici în China, Franța, Suedia și Marea Britanie.

Administrarea de Mifepriston urmată la 2 zile de administrarea unui analog de prostaglandine a devenit o metodă alternativă la întreruperea chirurgicală a sarcinii incipiente de la finele anilor 80.

Regimul terapeutic adoptat în Europa a fost de 600 mg de Mifepriston, urmat de 0,4 mg de Misoprostol administrat oral, în cazul în care vârsta gestațională era de pînă la 49 de zile de la prima zi a ultimei menstruații normale. Cînd vîrsta gestațională era cuprinsă între 50-63 de zile de prima zi a ultimei menstruații prostaglandina recomandată era gemeprost administrat vaginal.

De la înregistrarea acestui regim terapeutic mai multe studii au urmărit ameliorarea dozelor utilizate în avortul medical: mai multe trialuri multicentrice au

arătat că utilizând diferiți analogi prostaglandinici efectul obținut cu 600 mg de Mifepriston poate fi obținut și cu doar 200 mg de Mifepriston.^{12,13}

S-a demonstrat de asemenea că doza orală de 400 mg de Misoprostol este insuficientă la vârsta gestațională mai mare de 7 săptămâni.¹²

Trebuie însă luate în considerare avantajele pe care Misoprostolul le prezintă față de Gemeprost: cost mai scăzut, stabilitate la temperatura camerei și eficacitate și în cazul sarcinilor mai avansate.

Un studiu pe un lot de 263 de paciente care prezentau amenoree de sarcină de până la 63 de zile a arătat că administrarea vaginală a 0,8 mg de Misoprostol după administrarea orală a Mifepristonului a dus la procente mai ridicate de avort complet decât cele înregistrate după administrarea orală a aceleiași doze de Misoprostol (95%, comparativ cu 87%).

De asemenea, procentul pacientelor care au prezentat diaree și vomă a fost mai scăzut în grupul cu administrare vaginală.⁴

Eficacitatea mai mare după administrarea vaginală a Misoprostolului ar putea fi explicată prin modelul contracției uterine astfel induse: se produc contracții uterine regulate, de durată mai lungă și cu amplitudine progresivă pe când administrarea orală nu este urmată de activitate contractuală uterină regulată.⁵

Eficacitatea poate fi și mai bună după administrarea de doze repetate de Misoprostol care a contribuit la completarea avortului și care au fost bine tolerate pe o durată de 2 săptămâni de administrare.^{6,8,9,10}

Unul din principalele dezavantaje ale avortului indus medicamentos, comparativ cu cel chirurgical este dat de durată mai mare a sângerării post-avort.³

În trei studii multicentrice conduse de OMS durata medie a sângerării după avortul medicamentos a fost de 11-12 zile.^{12,13,14}

Pe lângă faptul că eficacitatea metodei crește după tratamentul de mai lungă durată cu Misoprostol se înregistrează și o scădere a duratei de sângerare prin creșterea contractilității uterului și expulzia precoce a produsului de concepție.

Așa cum sugerează o serie de studii, majoritatea femeilor preferă administrarea orală de Misoprostol, pe care o consideră mai convenabilă și mai intimă.⁷

Aceste motive au dus la inițiativa de a investiga dacă eficacitatea misoprostolului administrat oral poate fi crescută prin utilizarea unei doze inițiale crescute, respectiv prin continuarea administrării timp de o săptămână a misoprostolului.

Scopul acestui studiu multicentric a fost acela de a compara eficacitatea de producere a avortului, efectele secundare și durata sângerării a trei scheme de tratament diferite în privința căii de administrare și a duratei de administrare a misoprostolului.

MATERIAL ȘI METODĂ

Studiul a fost unul multicentric, dublu-orb, randomizat și controlat cu scopul de a compara eficacitatea a 3 scheme de tratament și s-a desfășurat în

15 centre din întreaga lume, cel din România fiind la Tîrgu-Mureș. Celelalte centre au fost în China (3), India (3), Finlanda, Vietnam, Slovenia, Norvegia, Singapore, Suedia, Ungaria și Mongolia.

Studiul a inclus paciente însărcinate sănătoase care au solicitat întrerupere de sarcină ce nu depășea 9 săptămâni sau 63 de zile de amenoree de la prima zi a ultimei menstruații normale – vârstă gestațională confirmată prin ecografie. Pacientele au avut toate vârsta necesară consimțământului, în conformitate cu legea.

În studiu au fost înrolate doar pacientele cu sarcină intrauterină unică și un nivel al hemoglobinei peste 100 g/L.

Toate pacientele și-au dat acordul scris de a participa la studiu și au fost de acord să utilizeze altă modalitate de contracepție decât cea hormonală sau sterilul până la prima menstruație de după avort.

Criteriile de excludere: contraindicații la expunerea la mifepriston (patologie a glandelor suprarenale) sau la misoprostol (hipertensiune arterială, stenoză mitrală, astm bronșic, glaucom, anemie, hipotensiune); alergii la mifepriston sau misoprostol; antecedente sau prezența trombolismului, afecțiuni hepatice; antecedente sau prezența pruritului de sarcină; antecedente de intervenții chirurgicale la nivelul colului uterin; prezența unui dispozitiv intrauterin contraceptiv; suspiciunea sau prezența sarcinii extrauterine.

Alte criterii de excludere au fost fumatul a peste 10 țigări pe zi în ultimii 2 ani, alți factori de risc cardiovasculari precum și alăptarea.

Înainte de înrolarea în studiu toate pacientele au semnat consimțământul informat, au fost examinate medical și ginecologic, s-au măsurat greutatea, înălțimea și nivelul hemoglobinei.

Pacientele înrolate în studiu au fost randomizate pentru unul din cele 3 brațe ale tratamentului, care diferă în privința căii de administrare a Misoprostolului precum și în privința continuării tratamentului cu Misoprostol sau cu placebo, timp de încă 7 zile, pe cale orală.

Pentru fiecare din cele 3 brațe doza unică de Mifepriston a fost de 200 mg, administrat oral în ziua I-a a studiului.

În ziua a III-a a studiului (la 36-44 de ore de la administrarea Mifepristonului) grupul cu calea de administrare orală/orală (O/O) a primit 0,8 mg de Misoprostol pe cale orală și pastile placebo pe cale vaginală; grupurile cu administrare vaginală/orală (V/O) și exclusiv vaginală (V) au primit 0,8 mg de Misoprostol vaginal și tablete placebo pe cale orală.

După administrarea Misoprostolului pacientele au fost urmărite pentru o perioadă de 3 ore. De asemenea, ele au fost rugate să completeze un jurnal în care să marcheze zilele de sângerare și prezenta eventualelor efecte secundare. Grupurile O/O și V/O au continuat tratamentul cu 0,4 mg Misoprostol oral, de 2 ori pe zi, timp de 7 zile, începând din ziua a IV-a a studiului, în timp ce grupul V a primit doar placebo.

După administrarea Misoprostolului pacientele au fost urmărite pentru o perioadă de 3 ore, cu monitorizarea semnelor vitale și a eventualelor efecte secundare.

Pacientele s-au întors pentru urmărire și reevaluare în zilele 15 și 43 de la tratament, ocazii cu care s-a măsurat de fiecare dată nivelul hemoglobinei.

Obiectivul studiului a fost să compare cele trei scheme de tratament în privința eficacității, frecvenței efectelor secundare și duratei sângerării.

Ipoteza de lucru a fost aceea că Misoprostolul administrat pe cale vaginală va fi mai eficient în inducerea avortului complet decât pe cale orală, mai ales la pacientele cu vîrstă gestațională mai mare și că administrarea continuă de Misoprostol pe cale orală, începută în ziua a IV-a va ameliora și mai mult eficacitatea și va contribui la scăderea duratei de sîngerare.

Principalul rezultat urmărit a fost avortul complet. Acesta a fost inițial evaluat la vizita de ziua a 15-a prin examen clinic și ecografic iar evaluarea finală s-a făcut la examenul final din ziua a 43-a. S-a considerat avort complet situația în care s-a evidențiat expulzia produsului de concepție, precum și după examenul clinic și ecografic pelvin, precum și neefectuarea unui control uterin instrumental de urgență sau de elecție pe perioada de urmărire și până la prima menstruație.

Continuarea gestației după tratament a fost considerată eșec al tratamentului, la fel și continuarea unei sarcini neviabile (lipsa activității cardiace-ecografice).

Necesitatea unui control uterin instrumental a definit avortul incomplet.

Rezultat nedeterminat a fost considerat în cazul în care pacientele nu s-au prezentat pentru evaluarea finală, respectiv dacă au dorit să părăsească studiul înainte de cunoașterea rezultatului final sau au optat pentru terminarea chirurgicală a sarcinii.

Rezultatele secundare au inclus efectele secundare ale tratamentului (greață, vomă, diaree, durere în etajul abdominal inferior), durata până la expulzia produsului de concepție și durata sîngerării vaginale post-avort.

Pentru ca studiul să aibă puterea statistică necesară s-a calculat că fiecărui braț de tratament îi sunt necesare 700 de paciente, adică 2100 de subiecți. Acest număr asigură o putere statistică de 90% de a detecta diferența dintre eficacitatea de 90% și cea de 95% între brațul cu administrare orală respectiv unul din brațele cu administrare vaginală a Misoprostolului, în condițiile în care s-a asumat că 10% din paciente vor fi pierdute din evaluarea finală.¹¹

La fel ca și pentru celelalte 14 centre, numărul de paciente înrolate la Tîrgu-Mureș a fost de 150 din care au fost validate 146.

Analiza statistică

Studiul a fost unul dublu orb, atât participanții cât și investigatorii nefiind informați despre dozele și rutele de administrare ale Misoprostolului pentru fiecare pacientă în parte.

Analiza finală a datelor centralizate s-a făcut la sediul din Geneva al OMS apoi noi am efectuat o analiză a site-ului nostru. Fiecare pacientă a fost analizată în grupul în care a fost inițial randomizată.

S-a efectuat analiza comparativă a datelor demografice, a antecedentelor ginecologice și obstetricale precum și în privința sarcinii actuale, în fiecare grupă de tratament.

Procentul femeilor cu avort complet, avort incomplet, avort reținut sau sarcină în evoluție după tratament au fost calculate în intervalul de încredință de 95% (IC 95%) utilizând distribuția exactă binomială.¹¹

Riscul relativ (RR) de a înregistra eșecul avortului complet a fost calculat prin metode standard iar IC 95% prin metoda Taylor a aproximării seriilor, precum și prin metoda Mantel-Haenszel pentru ajustările pentru fiecare centru.¹¹

S-a efectuat de asemenea o analiză stratificată a eficacității luînd în considerare durata amenoreei și paritatea.¹⁴

REZULTATE

Caracteristicile de bază a le celor trei grupe de tratament au fost similare: vîrsta medie a fost de 27 de ani, greutatea medie 56 kg și nivelul mediu al hemoglobinei 125 g/L.

În jur de 50% din paciente au fost nulipare, peste 1/3 aveau avorturi induse în antecedente iar lungimea medie a ciclului menstrual a fost de 29 de zile.

Rata avortului complet a fost de 92,3% (IC 95% între 90,1-94,1) în grupul O/O; 94,7% (IC 95% între 92,9 - 96,2) în grupul V/O și 93,5% (IC 95% între 95,2 - 95,2) în grupul V. În această analiză au fost incluse și pacientele la care urmărirea nu s-a încheiat conform protocolului și care au fost considerate ca eșecuri.

Dacă aceste paciente se exclud din analiză împreună cu cele la care protocolul nu a fost întocmai urmat și cele total sau parțial non-compliance procentele obținute au fost respectiv: 97,1% (IC de 95% între 95,4-98,3), 98,3% (IC de 95% între 96,9-99,2) și 96,8% (IC de 95% între 95,1- 98,1)

La analiza nestratificată pacientele în cele 3 grupuri de tratament nu au un risc semnificativ diferit de eșec ($p=0,1608$).

Procentajul pacientelor la care s-a înregistrat eșecul avortului complet în cele 3 grupuri de tratament a variat între 2,7% și 12,7% în funcție de centru.

Procentul sarcinilor rămase în evoluție a fost de 1,2% în grupul O/O, de 0,1% în grupul V/O și 0,3% în grupul V.

Riscul ca sarcina să continue a fost de 9 ori (semnificativ) mai mare în grupul O/O comparativ cu grupul V/O (RR= 9,0, IC de 95% între 1,1 - 71,0), respectiv de 4,5 ori (semnificativ) mai mare comparativ cu grupul V (RR= 2,0, IC de 95% între 0,2-22,1). În cazul celor 2 grupuri cu administrare vaginală riscul continuării sarcinii nu a fost semnificativ diferit.¹¹

Dacă luăm în considerare lungimea amenoreei, procentul pacientelor la care s-a înregistrat eșecul avortului nu a fost diferit la vârstele gestaționale de sub 49 de zile, respectiv între 50-56 de zile de amenoree.

În cazul pacientelor cu vârsta de sarcină de peste 57 de zile în grupul O/O riscul de eșec a fost de 3 ori mai mare în comparație cu cele din grupul V/O, respectiv pacientele din grupul V au un risc de eșec de 2,2 ori mai mare decât cele din grupul V/O.

Paritatea a afectat semnificativ procentul avortului complet nulpărele având un procent de eșec mai mare decât multiparele (7,5% comparativ cu 5,4%). Această diferență s-a menținut și după ajustarea privind lungimea amenoreei, antecedentele de avort spontan, antecedentele de abort indus și vârsta pacientei.

Peste 50% din expulziile constatate în cele 3 grupe de tratament au avut loc în timpul celor 3 ore de la administrarea misoprostolului. În jur de 40% din expulzii au avut loc pînă la vizita de ziua a 15-a. Lipsa expulziei a fost 2,0% în grupul O/O, 0,4% în cel V/O și 0,3% în grupul V.¹¹

Durata sîngerării nu a fost semnificativ diferită la femeile la care s-a înregistrat avortul complet, fiind în medie de 13 zile în grupul O/O și V, respectiv de 12 zile în grupul V/O. Trebuie subliniat că 25% din paciente au sîngerat 17 zile sau mai mult, în fiecare din cele 3 grupuri de tratament. Durata tratamentului a fost similară și după ajustarea privind lungimea amenoreei.

Între 46,9-51,4 % din paciente au început să sîngereze după mifepriston și înainte de misoprostol și 46,2-50,1% au început să sîngereze în cele 3 ore de observație de după administrarea misoprostolului.¹¹

Percepția pacientelor în privința severității sîngerării a fost de asemenea similară la cele 3 grupuri de tratament.

DISCUȚII

Scopul studiului a fost în principal să documentăm că eficacitatea tratamentului oral crește prin administrarea de misoprostol pentru încă o săptămînă, în particular în cazul sarcinilor de peste 49 de zile de amenoree, astfel că femeile care preferă calea de administrare orală să beneficieze de acest tratament.

Nu am decelat însă diferențe în procentajul avortului complet în cazul sarcinilor de pînă la 56 de zile de amenoree comparativ cu administrarea vaginală, însă diferențele au apărut în cazul sarcinilor mai avansate.

S-a dovedit că în cazul pacientelor cu sarcini de peste 57 de zile de amenoree administrarea vaginală a 0,8 mg de misoprostol (V/O) după administrarea prealabilă de 200 mg de mifepristone este mai eficace decât administrarea orală a misoprostolului, (O/O) în producerea avortului complet.

Pacientele din grupul cu administrare orală a misoprostolului (O/O) au un risc de aproape 3 ori mai mare de a eșua în producerea avortului complet comparativ cu cele din grupul cu administrare vaginală (V/O).

În acest grup de amenoree administrarea continuă de misoprostol (V/O) crește eficacitatea, comparativ cu administrarea unică a 0,8 mg misoprostol vaginal (V) dar crește și incidența diareei de 3 ori.

Studiul a arătat că eficacitatea avortului medical este mai mică la femeile nulpăre, rezultat în discordanță cu alte studii care raportează o rată de succes mai mare la nulpăre comparativ cu multiparele^{2,11} acestea au fost însă studii observaționale.

Momentul expulziei produsului de concepție a fost evaluat în 3 perioade de timp diferite: înainte de administrarea misoprostolului, la 3 ore de la administrarea acestuia și la 15 zile de la administrarea misoprostolului – rezultatele au fost similare în cele 3 grupuri de tratament.¹¹

Pentru întreg lotul studiat 23,6% din paciente aveau resturi la vizita din ziua a 15-a dar 90% prezentau avort complet la 45 de zile, fără a fi nevoie de evacuarea chirurgicală a uterului.

Deoarece durata lungă de sîngerare reduce acceptabilitatea avortului medical am încercat să testăm dacă administrarea continuă de misoprostol conduce la diminuarea duratei sîngerării – însă durata sîngerării s-a dovedit similară în toate cele 3 grupuri de tratament și nu a fost diminuată de dozele suplimentare de misoprostol.¹¹

CONCLUZII

1. În cazul pacientelor la care durata amenoreei de sarcină este de 57 de zile sau mai mult administrarea vaginală a misoprostolului este mai eficace comparativ cu calea orală atunci când în ambele cazuri tratamentul este continuat cu 0,4 mg de misoprostol oral de 2 ori pe zi, 7 zile.

2. Continuarea tratamentului cu 0,4 mg de misoprostol oral de 2 ori pe zi, 7 zile duce la creșterea eficacității tratamentului, comparativ cu administrarea unei doze unice vaginale de misoprostol în ziua a III-a după mifepriston, pentru această durată a amenoreei. Continuarea tratamentului nu duce însă la reducerea duratei de sîngerare.

3. Aceste diferențe nu apar la paciente a căror durată a amenoreei este sub 57 de zile.

Avortul medicamentos de prim trimestru trebuie oferit legal și pacientelor din țara noastră ca o alternativă valabilă și eficientă la avortul chirurgical, eforturi fiind necesare pentru găsirea unei modalități de reducere a aîgerării post-avort.

BIBLIOGRAFIE

1. ASHOK PW, TEMPLETON A, WAGAARACHCHI PT - *Factors affecting the outcome of early medical abortion: a review of 4132 consecutive cases*, Br J Obstet Gynaecol, 2002, 109:1281-1289.
2. BARTLEY J, TONG S, EVERINGTON D - *Parity is a major determinant of success percentage in medical abortion: a retrospective analysis of 3161 cases of early medical abortion treated with reduced doses of mifepristone and vaginal gemeprost*, Contraception, 2000, 62:297-303.

3. DAVIS A, WESTHOFF C, DE NONNO L - *Bleeding patterns after early abortion with mifepristone and misoprostol or vacuum aspiration*, J Am Womens Assoc, 2000, 55:141-144.
4. EL-RAFAEY H, RAJASEKAR D, ABDALLA M - *Induction of abortion with mifepristone-RU 486- and oral or vaginal misoprostol*, N Engl J Med, 1995, 332:983-987.
5. GEMZEL-DANIELSSON K, MARIONS L - *Comparison between oral and vaginal administration of misoprostol on uterine contractility*, Obstet Gynecol, 1999, 93:275-280.
6. GOUK EV, LINCOLN K, KHAIR A - *Medical termination of pregnancy at 63 to 83 days gestation*, Br J Obstet Gynaecol, 1999, 106:535- 539.
7. NGAI SW, TANG OS, HO PC - *Randomized comparison of vaginal (200 micrograms every 3 h) and oral (400 micrograms every 3 h) misoprostol when combined with mifepristone in termination of second trimester pregnancy*, Hum Reprod, 2000, 15:2205-2208.
8. SCHAFF EA, STADALIUS LS, EISINGER SH - *Vaginal misoprostol administred at home after mifepristone for abortion*, J Fam Pract, 1997, 44:353-360.
9. TANG OS, GAO PP, CHENG L - *Pilot study on the use of a mifepristone and misoprostol*, Contraception, 1998, 57:89-91.
10. WEEKS AD, STEWARD P - *The use of low dose mifepristone and vaginal misoprostol for first trimester termination of pregnancy*, Br J Fam Plann, 1995, 21:85-86.
11. *** - *WHO Research Group on Post-ovulatory Methods of Fertility Regulation: WHO multinational study of tree misoprostol regimens after mifepristone for early medical abortion. I: Efficacy*, Br J Obstet Gynaecol, 2003, 110:808-818.
12. *** - *WHO Task Force on Postovulatory Methods of Fertility Regulation. Comparison of two doses of mifepristone in combination with misoprostol for early medical abortion:a randomised trial*, Br J Obstet Gynaecol, 2000, 107:524-530.
13. *** - *WHO Task Force on Postovulatory Methods of Fertility Regulation. Medical abortion at 57 to 63 days gestation with a lower dose of mifepristone and gemeprost. A randomized controlled trial*, Acta Obstet Gynecol Scand, 2001, 80:447-451.
14. *** - *WHO Task Force on Postovulatory Methods of Fertility Regulation: Termination of pregnancy with reduced doses of mifepristone*, BMJ, 1993, 307:532-537.



Cunoștințe de educație sexuală într-un eșantion populațional urban

Cornelia Rada¹, Monica Tarcea², Prejbeanu Ileana³

Scop: Evaluarea cunoștințelor privind educația sexuală și riscul transmiterii unor boli sexuale, într-un lot populațional din mediul urban.

Material și metodă: Este un studiu epidemiologic transversal de evaluare, realizat pe un eșantion de 1859 de subiecți selecționați aleator din 8 orașe reprezentative ale regiunilor istorico-geografice românești: Târgu Mureș, Timișoara, Baia Mare, Iași, Constanța, Ploiești, Craiova și București. S-a aplicat un chestionar complex de evaluare a comportamentului sexual, a stilului de viață și cunoștințelor în domeniu, cu o distribuție egală pe sexe, grupe de vârstă și nivel de pregătire școlară. Datele au fost prelucrate folosindu-se programul SPSS.

Rezultate: Distribuția respondenților care au auzit de boli transmise sexual arată diferențe semnificative pe sexe ($p < 0,05$), femeile având mai multe cunoștințe și fiind mai interesate de aceste afecțiuni decât bărbații. Cele mai multe cazuri cu gonoree au fost raportate în Târgu Mureș (26,3%) respectiv cele mai puține în Constanța și Ploiești (5,3%). Nivelul de educație și socio-economic ridicat se asociază cu nivelul ridicat de cunoștințe în domeniu.

Concluzii: Considerăm că este necesară educația sexuală în școli pentru formarea precoce a bagajului informativ de prevenire a bolilor transmise sexual, de prezentare precoce la medicul specialist la nevoie, de deprindere a atitudinilor corecte de igienă personală și protecție, precum și a cunoștințelor în domeniu la toate grupele populaționale.

Cuvinte cheie: boli transmise sexual, gonoree, educație sexuală, comportament sexual

Aim: Evaluation of knowledges regarding sexual behavior and also infection risk perceptions in a representative sample of Romanian adults from urban areas.

Methods: Is an epidemiological study, based on 1859 subjects who were randomly selected from 8 historical / geographical cities from our country: Baia Mare, Iasi, Constanța, Ploiesti, Craiova, Timisoara, Targu Mures and Bucuresti. We applied a questionnaire, regarding sexual behavior and life style, with an equal distribution by gender, age and education. We used SPSS programme for statistics.

Results: Distribution of interviewers who heard about sexual transmitted diseases shows significant differences by gender ($p < 0,05$), women are having more knowledges and interest for these diseases than men. Among men, we had gonorrhea at 89.5% and among women we had trichomonas at 83.7% and also candidosis at 81.1%. The most frequent cases of gonorrhea were reported in Targu Mures (26.3%) and the less in Constanta and Ploiesti (5.3%). Regarding HIV transmission sources we received a high amount of correct answers (>90%). It shows a link between education and high economic level with better knowledges in this area.

Conclusions: We consider that is very important to maintain an efficient school sexual education in modelling a healthy sexual behavior and prevention of STD.

Keywords: sexual transmitted diseases, gonorrhea, sexual education, sexual behavior

In ultimii ani bolile cu transmitere sexuală au crescut ca număr și vor crește în continuare dacă nu se vor lua măsuri drastice pentru combaterea mecanismului care permite împrăștierea acestor afecțiuni în rândul populației.

Nivelul social-economic scăzut, prezența prostituției clandestine, a vagabondajului sexual permit înmulțirea acestor afecțiuni cu grave consecințe în viitor asupra populației și a stării de sănătate. Numărul mare de contacte sexuale întâmplătoare, ocazionale, cu persoane necunoscute, îngreunează desfășurarea unei

anchete epidemiologice corecte, astfel încât sursa de infecție nu este descoperită la timp, acțiune primordială în stoparea fenomenului de extindere rapidă a bolilor cu transmisie sexuală.^{4,5,6}

Primul pas în tratarea bolilor cu transmitere sexuală este consultul medical și diagnosticarea corectă. Nu este recomandat tratamentul empiric sau ca urmare a consultării unor surse de informare neoficiale de multe ori incorecte. În primă fază medicul poate fi unul de familie ce va trimite pacientul la un specialist în boli dermato-venerice, care în urma analizelor va aplica tratamentul corespunzător. Acest tratament trebuie continuat pe toată perioada recomandată, chiar dacă simptomele dispar, iar actul sexual poate fi reluat după 3 zile de la încetarea tratamentului în conformitate cu recomandările medicului specialist.

¹Centrul de Cercetări Antropologice al Academiei Române, București

²Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu Mureș, Disciplina de Igienă

³Universitatea de Medicină și Farmacie Craiova

Adresa de corespondență: dr. Monica Tarcea, Disciplina de Igienă, Universitatea de Medicină și Farmacie, str. Gh. Marincescu 38, cod 540139, Târgu Mureș; tel. 0744791967, fax 0265210407, email: monad@umtgm.ro

Riscul de infectare cu aceste boli este mai mare în contactul sexual cu mai mulți parteneri, atunci când nu este folosit prezervativul ca mijloc de protecție și când sunt utilizate droguri injectabile intravenos, când partenerul se droghează sau are la rândul lui mai mulți parteneri sexuali.

Pe calea sexuală se pot transmite o serie de afecțiuni cu evoluție acută cu disconfort major, cu cronicizare, cu complicații posibile, efecte teratogene și cancerigene și cu repercusiuni psihologice: bolile transmise sexual (BTS). În România incidența acestor afecțiuni este crescută față de țările europene și se înregistrează o adresabilitate scăzută la medic a celor bolnavi ca urmare și o diseminare accentuată în focare.^{1,2} Scăderea vârstei la debutul activității sexuale, creșterea numărului de parteneri sexuali, a vârstei la căsătorie precum și a importanței acordate vieții sexuale cresc riscul BTS în condițiile lipsei de protecție și de informare.

Așa cum le spune și numele bolile transmisibile sexual sunt infecții care pot fi transferate de la o persoană la alta prin contact sexual. Majoritatea acestora sunt tratabile. Totuși, chiar și gonoreea altădată ușor de tratat a devenit rezistentă la tratamente și antibioterapia clasică, iar unele afecțiuni ca herpesul, SIDA și polipii genitali, cauzate de virusuri, nu se pot vindeca. Unele din aceste infecții sunt disconfortante pe când altele pot fi letale. Sifilisul, SIDA, herpesul genital și hepatita pot cauza moartea prin complicații. Multe din aceste BTS sunt factori de risc pentru boala inflamatorie pelvică, cancerul cervical sau complicații la naștere.^{3,4}

Cheltuielile cu afecțiunile transmise sexual sunt extrem de costisitoare, atât pentru persoanele care se tratează singure, care încalcă legea, cât și pentru stat, care acoperă gratuit tratamentul celor bolnavi.

Bolile cu transmitere sexuală pot avea consecințe severe, în special la femei, dacă nu sunt tratate, ceea ce susține o dată în plus importanța testării pentru BTS. Din aceste motive amintite, educația legată de sănătatea reproducerii și prevenția sunt importante.^{5,10}

Scopul acestei lucrări a urmărit evaluarea cunoștințelor de educație sexuală, a parcticilor privind evitarea infectării cu BTS și HIV/SIDA, a percepției privind riscul personal de infectare, precum și a concepțiilor greșite asupra căilor de transmitere a virusului HIV într-un lot populațional din mediul urban.

MATERIAL ȘI METODĂ

Acest studiu epidemiologic transversal s-a realizat pe un eșantion de 1859 de subiecți selecționați aleator din 8 orașe reprezentative ale regiunilor istorico-geografice românești: Târgu Mureș, Timișoara, Baia Mare, Iași, Constanța, Ploiești, Craiova și București.

S-a aplicat un chestionar complex de evaluare a comportamentului sexual, a stilului de viață și a datelor demografice, cu o distribuție egală pe sexe, grupe de vârstă și nivel de pregătire școlară. Limitele de vârstă au fost între 15 și 75 de ani și cu repartizare pe 3 grupe

de pregătire școlară (elementară, medie și superioară). Nu au fost cuprinse în eșantionare persoane de specialitate în domeniul medical: medici, cadre sanitare, moașe etc.

Datele au fost prelucrate în sistem informatizat folosindu-se programul SPSS.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Subiecții au fost intervievați dacă au auzit și dacă au fost tratați de șapte BTS. Cele mai cunoscute sunt sifilisul și gonoreea și cea mai puțin cunoscută este Chlamydia (Tabelul I). Ponderi însemnate dintre cei investigați au raportat ca au auzit, în ordine descrescătoare, de următoarele afecțiuni: herpes genital, candidoză, trichomonas, vegetații genitale, cifre mai crescute decât în studii anterioare.^{1,3}

În eșantionul nostru, 90,58% din subiecți și-au început viața sexuală.

Distribuția respondenților care au auzit de boli transmise sexual arată diferențe semnificative pe sexe ($p < 0,05$), privind unele BTS, femeile având mai multe cunoștințe și fiind mai interesate de aceste afecțiuni decât bărbații (Figura 1).

Pentru ambele sexe, cel mai scăzut nivel de cunoștințe se înregistrează printre persoanele necăsătorite și pentru cele de sub 24 de ani. De asemenea nivelul de cunoștințe privind BTS crește odată cu creșterea nivelului de școlarizare și a nivelului socio-economic.

Tabelul I. Pondereea persoanelor care au auzit și care au fost tratate pentru boli transmisibile sexual

BTS	Au auzit %	Au fost tratați %
Sifilis	94.6	0.6
Gonoree	73.4	3.1
Trichomonas	53.9	5.6
Vegetație genitală	46.4	0.8
Herpes genital	66.1	1.0
Candidoză	63.3	13.4
Chlamydia	35.0	1.1

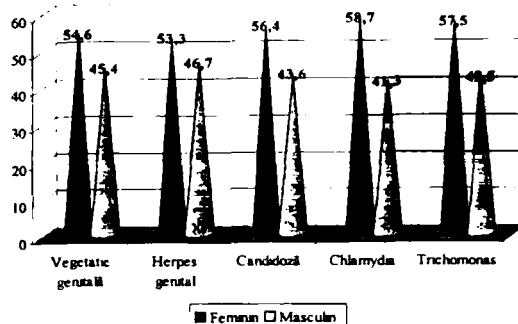


Figura 1. Repartizarea subiecților care au auzit de bolile transmise sexual în funcție de sex

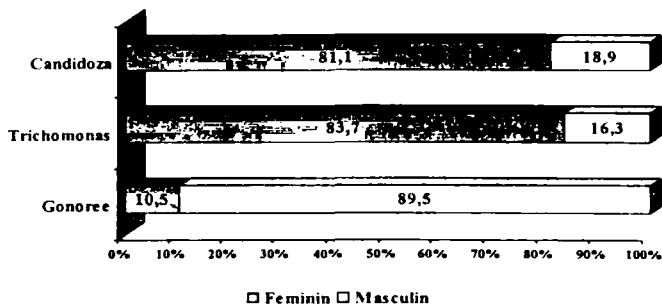


Figura 2. Distribuția respondenților care au fost tratați de boli transmise sexual în funcție de sex

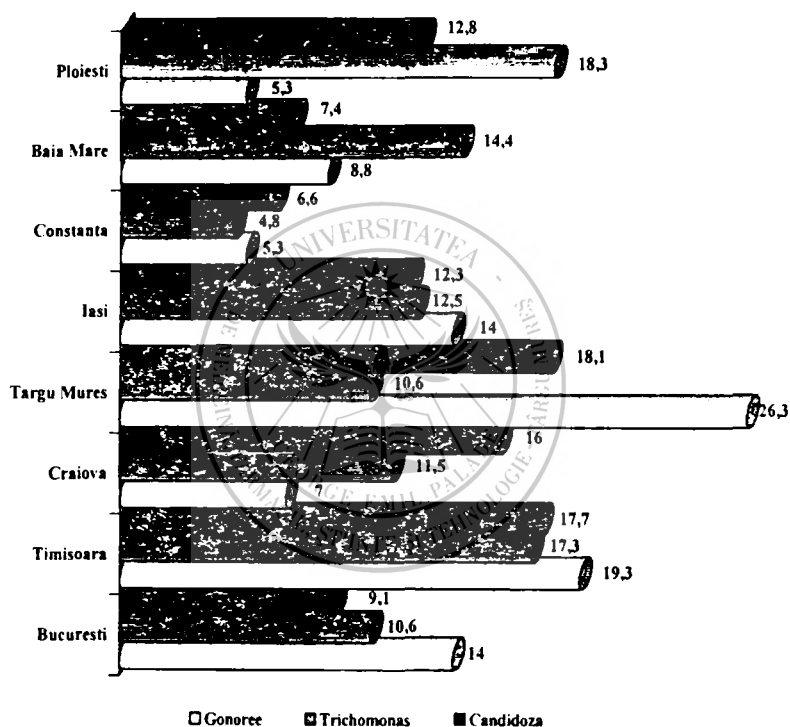


Figura 3. Repartizarea respondenților care au fost tratați de BTS pe localități

Tabelul II. Ponderea răspunsurilor legate de modalitățile de transmitere a HIV/SIDA

Modalitatea de transmitere HIV	Nu %	Da %
WC-ul	93,9	6,1
Baia	95,1	4,9
Sărutul	84,9	15,1
Îmbrățișarea, atingerea intimă	89,1	10,9
Înțepături de insecte	74,1	25,9
Relații heterosexuale	17,8	82,2
Relații homosexuale	11,7	88,3
Transfuzii de sânge	4,9	95,1
Ace nesterilizate	5,5	94,5
De la mamă la făt	13,4	86,6

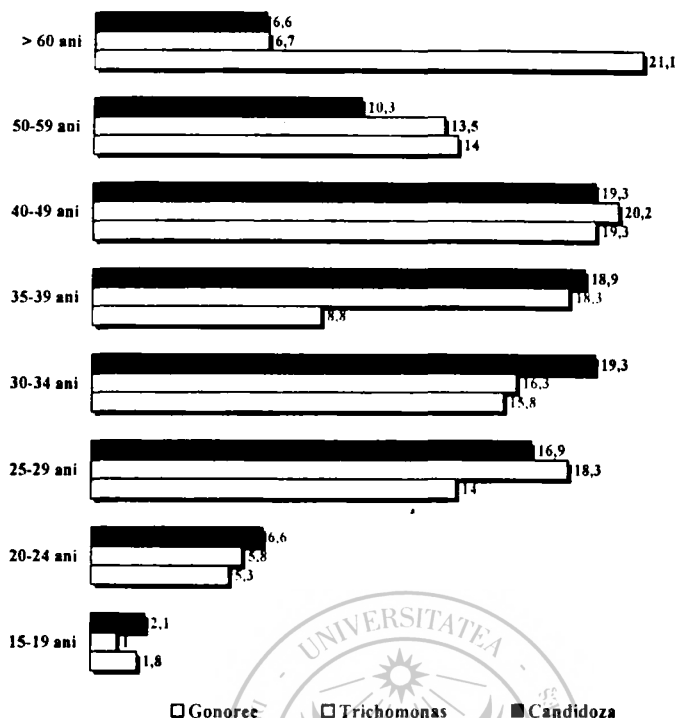


Figura 4. Distribuția pe grupe de vârstă a respondenților tratați cu BTS

Persoanele chestionate care au fost tratate de boli transmise sexual sunt în procent redus: doar 0,6% dintre cei chestionați au fost tratați de sifilis, 3,1% de gonoree, 5,6% despre trichomonas, iar cei mai mulți au fost tratați de candidoză - 13,1% (Tabelul I). Desigur răspunsurile trebuie privite sub rezerva reacției de prestigiu fiind posibil ca ponderea reală a celor tratați să fie mai mare. De altfel și statisticile despre incidența și prevalența BTS bazate pe raportările medicilor nu reflectă fenomenul real în populație deoarece BTS sunt de multe ori asimptomatice sau cu simptome nespecifice, persoanele infectate nefiind conștiente de infecție.

De asemenea, s-au înregistrat diferențe semnificativ statistic pe sexe și pe afecțiuni ($p < 0,05$) în rândul persoanelor care au declarat că au fost tratate de cel puțin o boală cu transmitere sexuală. La bărbați a predominat gonoreea (89,5%) la femei ponderea mai mare a avut-o și trichomonasul (83,7%) și candidoza (81,1%) (Figura 2).

La afecțiunile care au avut ponderea cea mai mare (candidoză, trichomonas și gonoree) se evidențiază o serie de deosebiri pe localitățile investigate fără ca testul chi să indice diferențe semnificative, de exemplu cazurile cu gonoree și candidoză au fost cele mai numeroase în Târgu Mureș (26,3% și respectiv 18,1% dintre mureșenii chestionați au fost tratați) și cel mai puțin frecvente în Constanța (5,3% și 6,6%).

Pentru candidoză cele mai multe cazuri tratate au fost în Targu- Mureș (18,1%) și Timișoara (17,7%), iar cele mai puține în Constanța (6,6%). Trichomonasul a fost tratat cel mai adesea în Ploiești (18,3%) și Timișoara (17,3%), iar cel mai rar în Constanța (4,8%). Gonoreea a fost cel mai frecvent tratată în Targu Mureș (26,3%) și Timișoara (19,3%), respectiv cel mai puțin în Constanța și Ploiești (5,3%) (Figura 3).

Distribuția pe grupe de vârstă a subiecților tratați cu boli transmise sexual evidențiază o pondere mai accentuată pentru adulți (25-50 de ani) față de uneri cu

Tabelul III. Opinia privind eficiența prezervativului împotriva BTS în funcție de nivelul de școlarizare

Eficiența prezervativului împotriva BTS	Nivel de educație %					Total
	Scoala elementară	Scoala generală	Liceu	Post liceală	Universitate	
Puțin eficace	3,5	8,9	5,7	6,8	5,9	6,4
Eficace	47,7	32,8	38,4	38,3	43,3	39,4
Foarte eficace	30,2	38,8	46,2	44,1	47,4	44,2
Nu știu	18,6	19,5	9,8	10,8	3,4	10,0

acces la prezervativ și cu educație sexuală în școală și față de vârșnicii cu activitate sexuală redusă și lipsa prezervativului înainte de '89. Putem lua în considerare și posibilitatea ca adulții de azi să aibă mai multe experiențe sexuale decât vârșnicii înainte de 1989 și deci să fie mai expuși.

În afară de gonoree, care are o evoluție fluctuantă de la o vârstă la alta și fără un pattern anume, atât candidoza cât și trichomonas ca afecțiuni tratate, au avut un crescendo de la vârștele tinere (de la 15-19 ani cu o medie de 1,5% către 29 de ani cu o medie de 17,1%), urmată de un platou până la grupa de vârstă 40-49 de ani, și o scădere a frecvenței către 60 de ani la 6,6%, ca urmare a reducerii activității sexuale (Figura 4).

În ceea ce privește, infecția HIV/SIDA, se remarcă o pondere ridicată a persoanelor cu suficiente cunoștințe legate de această boală (în medie de peste 99%) ca rezultat al campaniilor mass-media susținute de informare legate de această maladie gravă și a introducerii suplimentare în școli a cursurilor opționale de educație sexuală, precum și a creșterii accesului la internet (Tabelul II).

Principalele modalități la risc de infectare cunoscute sunt transfuziile de sânge (95,1%), acele nesterilizate (94,5%), relațiile homosexuale (88,3%) și respectiv heterosexuale (82,2%), cu creșteri semnificative comparativ cu studii din anul 2004.⁹

Cu toate acestea, sunt mulți care au dat răspunsuri incorecte. Un set de întrebări cu răspunsuri predefinite a evaluat cunoștințele privind evitarea infectării HIV și concepțiile greșite despre transmiterea HIV.

Evaluarea statistică a răspunsurilor incorecte prin testul chi relevă diferențe semnificative pe grupe de vârstă ($p < 0,01$) la modalitatea de transmitere prin WC și baie. Opiniile eronate de transmiterea HIV/SIDA prin baie/WC au fost prezente într-un procentaj destul de mic (4,9% / 6,1%). Un sfert dintre cei chestionați au menționat totuși că înțepăturile de insecte pot cauza transmiterea HIV, o cifră de luat în seamă ca lipsă de informare corectă sau confuzie de interpretare.¹¹

Ponderea celor care știu despre transmiterea virusului HIV de la mamă la făt și care au cunoștințe despre transmiterea verticală este de 86,6%, în special femeile din mediul urban, iar dintre acestea în special cele de vârstă fertilă, cu nivel de instruire mediu și superior, nivel socio-economic ridicat, cele cu experiență sexuală și cele de etnie maghiară.

Ponderea răspunsurilor incorecte legate de transmiterea HIV/SIDA prin toaletă și baie repartizată pe grupe de vârstă, ne arată că adolescenții și vârșnicii adaugă pe lista modalităților de risc de infectare cu HIV/SIDA și baia/WC-ul, probabil din lipsa de informații certe, adolescenții care nu au avut încă parte de cursuri preventive iar vârșnicii care nu mai sunt direct interesați de această boală sau nu au avut surse de informare în trecut. Remarcăm două vârfuri la procentaj (25% dintre ei și respectiv 25,6%) la tinerii sub 19 ani și vârșnicii peste 60 de ani care au concepții greșite legate de transmiterea HIV prin baie/WC.

Pe localități cu procent mare de cunoștințe existente în domeniu, menționăm București, Târgu Mureș și Timișoara.

O variabilă importantă care evidențiază diferențe semnificative în cunoașterea căilor de transmitere a BTS este nivelul de instruire. Astfel testul chi arată diferențe semnificative statistic la un $p < 0,01$ între cei care au doar școala elementară și generală comparativ

Tabelul IV. Primele surse de informații privind BTS – pondere de adresabilitate

Surse de informații privind BTS	Prima sursă %	A doua sursă %
Medici, cadre sanitare	35,8	3,1
Părinți, rude	16,9	6,0
Prieteni, cunoștințe	24,0	16,9
Cărți de specialitate	18,1	29,7
Ziare, radio, TV, internet	2,5	17,3
Școala	0,6	6,2
Alte surse	0,1	0,1
Total	98,0	79,2
NR	2,0	20,8
Total	100,0	100,0

cu cei cu liceu și facultate. Cum era de așteptat ponderea cea mai mare a răspunsurilor eronate se înregistrează în rândul celor cu nivel de instruire scăzut. Astfel dintre toți cei care au apreciat în mod greșit că SIDA se transmite prin WC și baie cei mai mulți sunt cu nivel de instruire scăzut (16,7%). Corespondența între nivelul educațional și concepțiile greșite despre transmiterea HIV/SIDA este semnificativă pentru cei cu nivel de școlarizare scăzut (școală elementară și generală) cu o pondere medie de 15% răspunsuri incorecte. La polul opus, sunt cei care au pregătire superioară cu un bagaj de cunoștințe corecte și fondate pe o bază mai detaliată de informații primite la liceu și universitate.

Am urmărit suplimentar opinia subiecților luați în studiu privind eficiența prezervativului împotriva BTS (Tabelul III). Majoritatea respondenților au o percepție corectă privind protecția pe care o poate realiza prezervativul: peste 90% dintre femei și bărbați știu că utilizarea prezervativului previne transmiterea virusului HIV și altor BTS, respectiv 84% susțin eficacitatea prezervativului.

Există totuși un procent de 10% care nu au cunoștințe legate de utilizarea prezervativului ca metodă de prevenire a îmbolnăvirii cu HIV/SIDA procent mai scăzut față de studii anterioare.^{1,12} Semnalăm că dintre cei care nu cunosc despre eficacitatea prezervativului împotriva BTS ponderea cea mai mare o dețin cei cu școală elementară și generală (Tabelul III).

Pentru a evidenția importanța sprijinului serviciilor sanitare și educaționale în educația pentru sănătate a populației am urmărit ponderea principalelor surse de informare privind BTS. Prima sursă cel mai

frecvent a fost menționată categoria medici/cadre sanitare (cu 35,8%) cifră îmbucurătoare, urmată de categoria prieteni/cunoștințe (de 24% dintre ei). Ca sursă secundară de informații a fost menționată categoria cărți de specialitate (de 29,7%) și mass-media (17,3%). Semnalăm că 20,8% dintre cei chestionați care nu au menționat a doua sursă de informare BTS, ci doar câte una (Tabelul IV).

Protecția ultimului contact sexual este influențată de statutul marital și de vârstă, cu diferențe semnificative statistic ($p < 0,05$). În studiul de față, utilizarea prezervativului a fost de trei ori mai mare în rândul tinerilor singuri decât în rândul celor aflate în cuplu.

Structura eșantionului arată că 51,2% dintre cei chestionați erau căsătoriți sau trăiau în concubinaj, 48,8% erau necăsătoriți, divorțați, văduvi sau separați, 0,7% dintre cei intervievați nu au început viața sexuală, pondere mai mică față de 2004.⁹ Aproximativ două treimi din bărbații tineri au raportat experiență sexuală premaritală.

Dintre cei căsătoriți, doar 43,8% s-au protejat la ultimul contact sexual, comparativ cu cei necăsătoriți cu 56,2% frecvență de protecție. Lipsa protecției a fost motivată cu dorința unui copil și/sau infertilitate. Aceste situații pot fi cauze de diseminare a BTS, cu excepția persoanelor vârstnice inactive sexual și a persoanelor cu un partener sexual stabil.

Ponderea utilizării unei metode contraceptive a fost mai mică la femeile care au avut primul contact sexual în cadrul căsătoriei (36%), față de femeile care și-au început viața sexuală înaintea căsătoriei (58%).

Dinamica din ultimul deceniu a incidenței BTS este marcată de creșterea incidenței sifilisului, și scăderea incidenței pentru gonoree (probabil nereal datorită raportării incomplete). Remarcăm afectarea predilectă la vârstele tinere, din mediul urban, a persoanelor fără ocupație, necăsătorite, precum și a persoanelor cu parteneri sexuali întâmplători.

De asemenea un rol important revine profilaxiei și controlului acestor boli prin crearea unei rețele accesibile de diagnostic și tratament pentru BTS, identificarea precoce a bolnavilor, surselor și contactilor acestora, tratamentul corect, asociate cu urmărirea post-terapeutică.⁴⁵

CONCLUZII

Bolile cu transmitere sexuală reprezintă o problemă majoră de sănătate publică, cu largi implicații populaționale, sociale și medicale, fapt ce impune dezvoltarea de strategii în domeniu, privind profilaxia, diagnosticul și tratamentul corect al acestor afecțiuni, precum și elaborarea unui sistem eficient de management, informațional și legislativ pentru implementarea acestora.

Nivelul cunoștințelor populației urbane legate de bolile cu transmitere sexuală este satisfăcător, ca denumire, modalități de transmitere, surse de informare și comportamente de prevenire. Totuși există și persoane care nu au cunoștințe suficiente în domeniu, în

special vârstnicii și cei cu un nivel de instruire redus.

Susținem importanța educației sexuale în școli pentru formarea precoce a bagajului informativ de prevenire a bolilor transmise sexual, de prezentare precoce la medicul specialist la nevoie, de deprindere a atitudinilor corecte de igienă personală și protecție, precum și a cunoștințelor în domeniu la toate grupele populaționale, cu predilecție pentru populația tânără (adolescenții) în asociere cu comportamentele lor la risc.

Nota: Instituțiile implicate în studiu au fost Centrul de Cercetări Antropologice Academia Română, Spitalul „Dr. I. Cantacuzino” București, UMF București, UMF Târgu Mureș, UMF Timișoara, DSP Dolj, UMF Craiova, UMF Iași, Universitatea „Andrei Șaguna” Constanța, DSPJ Maramureș, Muz. Jud. de Științe Naturii Ph. Ploiești.

BIBLIOGRAFIE

1. CLARK JK, BREY RA, BANTER AE - *Physicians as educators in adolescent sexuality education*, Journal of School Health, 2003, 73:389-391.
2. FEROLI KL, BURSTEIN GR - *Adolescent sexually transmitted diseases: New recommendations for diagnosis, treatment, and prevention*, American Journal for Maternal/Child Nursing, 2003, 28:113-118.
3. GALLUP-BLACK A., WEITZMAN BC - *Teen pregnancy and urban youth: competing truths, complacency, and perceptions of the problem*, Journal of Adolescent Health, 2004, 34:366-375.
4. HOLMES KK, LEVINE R, WEAVER M - *Effectiveness of condoms in preventing sexually transmitted infections*, Bulletin of the World Health Organization, 2004, 82:454-464.
5. IVANCIC-DOUCETTE K, HAGLUND K - *Adolescents & HIV: the coming storm*, Advance for Nurse Practitioners, 2004, 12:79-82.
6. MARCU L. PAUNESCU B - *Cunoștințele, atitudinile și practicile tinerilor cu vârste cuprinse între 15 și 24 de ani, legate de infectarea și transmiterea ITS/HIV/SIDA și de cunoștințele practicării sexului neprotejat*, Ed Medicală, București, 2004.
7. ȘERBĂNESCU F, MORRIS L, FRIEDMAN J - *Studiul Sănătății Reprodusei României, 1999. Raport Final*, 2001, CDC, ARSPMS.
8. WIDDICE L et al - *Teens tell us the risks and benefits of having sex*, Journal of Adolescent Health, 2005, 36:107-108.
9. *** - *„Sănătatea Reprodusei la Tineri, România”, 2004, Raport Final*, CDC, IOMC, FICF, CEDPA, CNS, București.
10. *** - *Center for Disease Control and Prevention, 2004, Youth risk behavior surveillance—United States, 2003, MMWR Surveillance Summaries, 53(SS-2), 1-96.*
11. *** - *Strategia națională pentru prevenirea și controlul infecțiilor cu transmitere sexuală*, Ministerul Sănătății, 2004.
12. *** - *Strategia națională pentru supravegherea, prevenirea și controlul cazurilor de infecție cu HIV/SIDA, în perioada 2004-2007.*

Studiu privind cunoașterea și implementarea sistemului HACCP la unități producătoare din județul Mureș

Monica Tarcea^{1,2}, Anna-Mária Fárr²

Scop: Obținerea și interpretarea unor informații despre unitățile alimentare producătoare mureșene referitor la existența unor sisteme de siguranță a produselor alimentare.

Material și metodă: Au fost aplicate chestionare unui număr de 40 unități producătoare din județul Mureș, chestionare conținând întrebări referitoare la profilul de activitate al unității, aria de distribuție a produselor, nivelul de informare referitor la sistemul HACCP, stadiul implementării sistemului și existența unui alt sistem de management al calității implementat și certificat.

Rezultate: Majoritatea unităților alimentare evaluate cunosc sistemul HACCP de management, dar numai jumătate au inițiat implementarea acestui sistem, cifre de pondere redusă.

Concluzii: Prin alinierea la legislația UE unitățile producătoare vor fi obligate la implementarea sistemului HACCP, ceea ce va ridica eficiența industriei alimentare și siguranța alimentelor și a consumatorului.

Cuvinte cheie: HACCP, siguranța alimentelor, management alimentar

Aim: To obtain and evaluate some information regarding some food industrial units of Mures district regarding implemented food safety systems.

Methods: We applied a questionnaire to 40 food industrial unit managers of Mures County, regarding unit profile, products distribution area, level of information about the HACCP system, steps of system implementation in each unit and/or other implemented quality systems.

Results: Most of the evaluated food units have known about the HACCP system management, but only half of them have already initiated the implementation of this system in their unit.

Conclusions: All food production units will have to implement HACCP system by UE regulations to be used in our country, which should lead to a higher efficiency in food industry, benefit in food safety and consumers' health.

Key words: HACCP, food safety, food management

Conform Codex Alimentarius, HACCP (Hazard Analysis in Critical Control Points - Analiza Riscurilor în Puncte Critice de Control) este un sistem care permite identificarea pericolelor specifice (biologice, chimice sau fizice) suspectate de a afecta siguranța unui produs alimentar definit și luarea măsurilor necesare pentru a asigura prevenirea sau controlul acestor pericole.^{1,2}

Legislația în domeniul siguranței produselor alimentare este clar definită atât în cadrul Uniunii Europene cât și în România, aceasta făcând referiri specifice la punerea în practică și la termenele care trebuiesc respectate la implementarea sistemului HACCP.

Directiva Consiliului Comunității Europene nr. 93/43/EEC/ 14 iunie 1993 privind igiena produselor alimentare prevede asigurarea unui sistem unitar de urmărire a calității produselor alimentare, care să întărească încrederea consumatorului în siguranța produselor alimentare. Această directivă obligă statele membre ale Uniunii Europene la implementarea sistemului HACCP începând cu data de 15 decembrie 2001.³

În țara noastră menționăm existența Ordinului Ministerului Sănătății nr. 1956/1995 privind obligativitate introducerii sistemului HACCP în circuitul alimentelor.⁴ Legea nr. 54/2002 de aprobare a Ordonanței de Urgență nr. 97/2001 precizează reglementările producției, circulației și comercializării alimentelor.⁵

Hotărârea de Guvern nr. 1198/2002 cuprinde regulile generale de igienă pentru produsele alimentare și procedurile de verificare a respectării acestor reguli.

¹Disciplina de Igienă, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

²Centrul de Sănătate Publică Târgu Mureș – Compartimentul Igiena alimentară, mediului și așezărilor umane

Adresa de corespondență : conf univ dr Tarcea Monica, Disciplina de Igienă, Universitatea de Medicină și Farmacie, str Gh Marinescu 38, 540 139 Târgu Mureș, tel 0265 215551, int 207, fax 0265 210407, e-mail: monaumt@yahoo.com

Unitățile din sectorul alimentar trebuie să identifice activitățile care sunt determinante pentru securitatea alimentară și trebuie să garanteze că procedurile securitate corespunzătoare sunt stabilite, implementate, menținute și revizuite pe baza principiilor utilizate în sistemul de analiză a riscurilor și punctelor critice de control.^{4,9} Legea nr. 150/2004 stabilește principiile generale care se aplică alimentelor și hranei pentru animale, aplicându-se la toate etapele producției, prelucrării, distribuției și comercializării alimentelor.⁹

Metoda Analiza Riscurilor; Puncte Critice de Control constituie o abordare sistematică a realizării siguranței pentru consum a produselor alimentare, care constă în aplicarea a șapte principii de bază și anume:

Principiul 1: Evaluarea riscurilor asociate cu obținerea și recoltarea materiilor prime și ingredientelor, prelucrarea, manipularea, depozitarea, distribuția, prepararea culinară și consumul produselor alimentare. Este indicat ca această analiză a riscurilor să fie efectuată în faza de proiectare a produsului și a procesului tehnologic de fabricație, pentru a defini punctele critice de control înainte de începerea fabricației.

Principiul 2: Determinarea punctelor critice prin care se pot ține sub control riscurile identificate. Un punct critic de control este definit ca orice punct sau procedură dintr-un sistem specializat în fabricarea de produse alimentare în care pierderea controlului poate avea drept consecință punerea în pericol a sănătății consumatorilor.

Principiul 3: Stabilirea limitelor critice care trebuie respectate în fiecare punct critic de control. O limită critică este definită ca toleranța admisă pentru un anumit parametru al punctului critic de control.

Principiul 4: Stabilirea procedurilor de monitorizare a punctelor critice de control. Monitorizarea reprezintă testarea sau verificarea organizată a punctelor critice de control și a limitelor critice.

Principiul 5: Stabilirea acțiunilor corective ce vor fi aplicate atunci când, în urma monitorizării punctelor critice de control, este detectată o deviație de la limitele critice.

Principiul 6: Organizarea unui sistem eficient de păstrare a înregistrărilor, care constituie documentația planului HACCP.

Principiul 7: Stabilirea procedurilor prin care se va verifica dacă sistemul HACCP funcționează corect. Aceste verificări vor fi făcute atât de către producătorul însuși, cât și de către organismele de control. Verificările au rolul de a confirma faptul că, în urma aplicării planului HACCP, toate riscurile au fost identificate și sunt sub control.^{3,4}

Ca parte a sistemului HACCP se cere implementarea măsurilor de GMP – Bunele Practici în producție – măsuri preventive vizând condițiile de organizare internă și externă în scopul reducerii probabilității de contaminare a produsului alimentar din surse interne sau externe.

Scopul studiului a fost obținerea unor informații despre unitățile alimentare producătoare mureșene referitor la existența unor sisteme de siguranță a produselor alimentare.

MATERIAL ȘI METODA

Au fost aplicate chestionare unui număr de 40 unități producătoare din județul Mureș, chestionare conținând întrebări referitoare la profilul de activitate al unității, aria de distribuție a produselor, nivelul de informare referitor la sistemul HACCP, stadiul implementării sistemului, existența unui alt sistem de management al calității implementat și certificat. Chestionarul conține 8 întrebări, din care 7 sunt de tip închis una de tip deschis.

Chestionarele au fost aplicate la unități producătoare cu diferite profiluri de activitate, după cum urmează:

- 10 unități de panificație
- 1 moară
- 1 unitate producătoare de paste făinoase
- 3 patiserii
- 2 unități producătoare de băuturi răcoritoare
- 1 unitate producătoare de băuturi alcoolice și oțet
- 1 unitate producătoare de băuturi alcoolice și spirit medicinal
- 1 unitate producătoare de margarină
- 1 unitate producătoare de ceaiuri
- 1 unitate producătoare de apă minerală
- 1 unitate producătoare de conserve
- 6 unități producătoare de carne și produse din carne
- 1 unitate producătoare de dulciuri
- 2 unități producătoare de muștar
- 1 unitate producătoare de zahăr
- 7 unități producătoare de lapte și produse lactate.

REZULTATE

Pe baza materialului de evaluare am obținut următoarele rezultate:

-din cele 40 de unități producătoare 14 sunt amplasate în mediul rural, 26 în mediul urban (65%).

-aria de distribuție a produselor:

-13 unități își desfac produsele la nivel de județ

-24 la nivel național

-3 unități produc și pentru export.

Referitor la gradul de informare despre sistemul HACCP:

-5 unități nu dețin informații referitoare la sistemul HACCP (12,5%)

-16 unități au informații vagi (40%)

-19 unități sunt bine informate (47,5%).

Stadiul implementării sistemului HACCP:

-zero la 21 de unități

-3 unități au contactat o firmă de consultanță (7,5%)

-1 unitate și-a instruit personalul în vederea implementării sistemului (2,5%)

-la 6 unități sistemul este în curs de implementare (15%)

-la 6 unități sistemul este implementat (15%)

-la 3 unități sistemul este implementat și certificat (7,5%).

>Măsura în care consideră că sistemul HACCP este eficient: -29 unități consideră că sistemul este eficient (72,5%); 11 unități nu știu dacă sistemul este eficient (27,5%).

>Existența unui alt sistem de management al calității implementat:

-9 unități au alt sistem, din care 7 au sistemul ISO, 2 unități nu au nominalizat sistemul implementat
-31 unități nu au alt sistem implementat (77,5%).

>Existența unui alt sistem de management al calității certificat:

-7 unități au alt sistem certificat, din care 5 au sistemul ISO, 2 nu au nominalizat sistemul

-33 unități nu au alt sistem de management al calității certificat (82,5%).

Din cele 40 unități la care s-a aplicat chestionarul 5 (12,5%) nu au nici un fel de informații referitoare la sistemul HACCP, 35 unități (87,5%) cunosc existența acestui sistem, din care 19 sunt bine informați.

21 de unități (52,5%) nu au inițiat implementarea sistemului HACCP, iar 19 (47,5%) din unitățile chestionate au ajuns la diferite stadii, 6 unități (15%) și-au implementat sistemul, la 6 unități (15%) sistemul este în curs de implementare, iar 3 unități (7,5%) au sistemul HACCP implementat și certificat.

29 unități (72,5%) consideră util sistemul HACCP, celelalte 11 unități (27,5%) nu cunosc importanța sistemului de management al calității în industria alimentară.

Un număr de 9 unități (22,5%) și-au implementat alt sistem de management al calității, din care 7 au nominalizat sistemul ISO.

Din cei care și-au implementat alt sistem de management al calității 7 (17,5%) unități au și certificate pe acel sistem, sistemul ISO fiind nominalizat de 5 unități.

Deșalcat pe tipuri de unitate din cele 6 unități ce și-au implementat sistemul HACCP, 3 sunt producători de lapte și produse lactate, o unitate de panificație, una de produse din carne și un producător de margarină. Din aceste 6 unități 4 sunt situate în mediu urban, 2 în mediu rural.

Cele 3 unități care au sistemul HACCP implementat și certificat își desfac produsele la nivel național.

Aria de desfacere a produselor la unitățile ce și-au implementat sistemul HACCP este județeană la o unitate, națională la 4 unități, o unitate produce pentru export.

Din cele 3 unități ce și-au implementat și certificat sistemul ISO una are și sistem ISO implementat și certificat.

Din cele 6 unități care au sistemul HACCP implementat, 3 au și sistem ISO (implementat la o unitate, implementat și certificat la două).

La 6 (15%) din unitățile chestionate sistemul HACCP este în curs de implementare. Din aceste 6 unități două sunt unități producătoare de băuturi răcoritoare, două de lapte și produse lactate, o unitate de panificație și un producător de ceaiuri.

>Din cele 6 unități la care sistemul HACCP este în curs de implementare 3 sunt din mediul urban, 3 din mediul rural. Două din aceste unități au sistem ISO implementat.

>O unitate din cele 40 (2,5%) și-a instruit personalul în vederea implementării sistemului HACCP. Acesta este producător de carne și preparate din carne din mediu urban, produsele sale sunt desfăcute la nivel național. Nu are alt sistem de management al calității implementat.

>3 unități (7,5%) din cele cărora au fost aplicate chestionarele au contactat o firmă de consultanță în vederea implementării sistemului HACCP. Toate trei sunt unități de panificație, din mediu urban, două au desfacere la nivel de județ, una la nivel național. Nici una nu are alt sistem de management al calității implementat.

>21 unități (52,5%) cărora li s-au aplicat chestionarele nu au avut inițiat implementarea sistemului HACCP. Împărțirea acestora pe profilul de activitate al unității este următoarea:

-6 unități de panificație; 1 producător de paste făinoase; 1 producător de băuturi alcoolice și oțet; 1 producător de băuturi alcoolice și spirit medicinal; 1 producător de apă minerală; 1 producător de conserve; 1 producător de dulciuri; 2 producători de muștar; 4 producători de carne și produse din carne.

>Din aceste 21 de unități 9 sunt amplasate în mediu rural, 12 în mediu urban (57,14%).

>După aria de desfacere a produselor aceste 21 de unități se prezintă astfel: 9 la nivel de județ, 11 la nivel național, 1 unitate produce pentru export.

>Gradul de informare cu privire la cunoștințe despre sistemul HACCP la aceste 21 de unități este următorul: lipsa informării la 5 unități (23,8%), informații vagi la 11 unități, 2 unități au afirmat că sunt bine informate (9,52%).

>Din cele 21 de unități 11 consideră ca fiind important sistemul HACCP (52,38), 10 nu cunosc importanța acestui sistem.

>2 unități din cele 21 au sistem ISO implementat și certificat (9,52%).

>Existența sistemului de management HACCP este cunoscută de o mare parte (87,5%) din unitățile chestionate, respectiv bine informați în legătură cu sistemul fiind doar 47,5% dintre unități și tot 47,5% dintre unități au inițiat implementarea sistemului HACCP, din care 3 (7,5%) și-au implementat și certificat sistemul, iar la 6 unități (15%) sistemul este în curs de implementare.

CONCLUZII

Majoritatea unităților alimentare evaluate cunosc sistemul HACCP de management, dar numai jumătate au inițiat implementarea acestui sistem, cifre de pondere redusă. Prin alinierea la legislația UE unitățile producătoare vor fi obligate la implementarea sistemului HACCP, ceea ce va ridica eficiența industriei alimentare și siguranța alimentelor și a consumatorului.

BIBLIOGRAFIE

1. IONUȚ C et al - *Compendiu de igienă*, Ed Medicală Universitară „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, 2004.
2. MANESCU Ș et al - *Igienă*, Ed Medicală București, 1996.
3. ROTARU G, MORARU C - *HACCP, Analiza Riscurilor, Punctele critice de Control*, Ed Academica, Galați, 1997.
4. SAVU C, GEORGESCU N - *Siguranța alimentelor-riscuri și beneficii*, Ed. SemnE, București, 2004.
5. *** - *Directiva Consiliului Comunității Europene nr. 93/43/EEC/ 14 iunie 1993 privind igiena produselor alimentare.*
6. *** - *Ordinului Ministerului Sănătății nr. 1956/1995 privind obligativitatea introducerii sistemului HACCP în circuitul alimentelor.*
7. *** - *Legea nr. 54/2002 de aprobare a Ordonanței de Urgență nr. 97/2001 privind reglementările producției, circulației și comercializării alimentelor.*
8. *** - *Legea nr 150/2004 privind siguranța alimentelor.*
9. *** - *Ghid de Bună practică a Igienei Alimentare*, DSP Sibiu, 2004.



Analiza componentelor chimice ale apei potabile din Municipiul Târgu-Mureș

Ramona Ureche, Monica Tarcea

Scop: În lucrarea de față prezentăm rezultatele determinărilor pe intervalul 2005-2006 a unor parametri chimici de potabilitate din apa de robinet recoltată din 5 puncte ale orașului Târgu Mureș.

Metodologie: Recoltările s-au efectuat lunar, din locuri care s-au dorit să acopere diferite cartiere reprezentative din oraș, respectiv Cornișa, Centru, Aleea Carpați, Dâmbu Pietros și Tudor. Testele de evaluare s-au făcut în laboratorul de chimie sanitară al disciplinei de Igienă, prin metodele clasice și pentru parametrii reprezentativi de calitate a apei potabile. Am analizat nivelul următorilor indicatori: pH-ul, duritatea totală, oxidabilitatea, clorurile și clorul rezidual.

Rezultate: Datele monitorizate pentru indicatorii de calitate a apei potabile distribuite locuitorilor orașului Târgu Mureș, sunt în limitele normale, fără variații lunare importante, cu excepția concentrațiilor de clor rezidual liber și total care depășesc constant și semnificativ crescute limitele standard admise, cu efecte nocive prin risc de expunere îndelungată. Variațiile de calitate sunt legate de sezon și gradul de poluare al apei râului Mureș. **Concluzii:** Se impune gestionarea atentă a apei râului Mureș, ca sursa de aprovizionare pentru un număr mare de populație de pe un teritoriu întins de parcurgere a râului Mureș, din arealul transilvan.

Cuvinte cheie: duritatea apei, clor rezidual, apă potabilă, calitatea apei

Aim: In this study we present the results of testing the chemical indicators of drinking water samples collected from 5 districts of the town Targu Mures, during 2005-2006 period.

Methods: The collection of water samples was made monthly from some representative districts of our town. Within the chemical laboratory of our department we determined by using classical methods the main parameters of drinking water like: pH, hardness, oxygen chemical consuming, chlorine salts and residual chlorine.

Results: The monitored data were between the required standard limits, with no important monthly fluctuation, except for free residual chlorine concentrations that constantly exceeded the permitted standard limits and with a risk for long exposures. The variations of the parameters of the quality of drinking water are related to the different seasons and levels of the river Mures water contamination.

Conclusion: It is very important to have an efficient Mures river quality water control, like the main source of drinking water for a large population as in a large area of Transylvania.

Key words: hardness, residual chlorine, drinking water, water quality

Componentele chimice dizolvate în apa potabilă influențează calitatea acesteia, precum și sănătatea consumatorilor.

După principalele efecte induse, Global Environment Monitoring System (GEMS)^{1,9} clarifică elementele chimice în trei categorii:

a. elemente esențiale

-macroelemente (Ca, Mg, Na, K, Cl)

-microelemente (I, F, Se, Cu, Zn etc.)

Acestea pot avea efecte pozitive sau negative prin cantitatea lor (carență sau exces)

b. elemente cu efecte toxice asupra organismului (nitrați, unele metale grele, cianuri) pentru care se stabilesc pragurile admise.

c. elemente cu acțiune genotoxică (substanțe organice, sintetice, pesticide), pentru care nu se cunoaște nivelul de prag admis.^{1,7}

În municipiul Târgu Mureș apa de robinet se obține prin tratarea apei de suprafață din râul Mureș, care adusă la standardele de potabilitate este distribuită consumatorilor prin sistemul central de aprovizionare cu apă.

Legea 458/2002 reglementează calitatea apei potabile, având ca obiectiv protecția sănătății oamenilor împotriva efectelor oricărui tip de contaminare a apei potabile, prin asigurarea calității ei de apă curată și sanogenă.⁴

Legea definește astfel apa potabilă:

„Apa destinată consumului uman este

a) orice tip de apă în stare naturală sau după tratare, folosită pentru băut, la prepararea hranei ori pentru alte scopuri casnice

b) toate tipurile de apă folosită ca sursă în industria alimentară pentru fabricarea, procesarea, conservarea sau comercializarea produselor ori substanțelor destinate consumului uman".⁴⁶

Parametrii de calitate ai apei sunt: microbiologici, chimici și indicatori.

Parametrii indicatori sunt în număr de 27, cuprinzând valorile CMA pentru proprietăți fizice, chimice și bacteriologice ale apei potabile.

MATERIAL ȘI METODA

În lucrarea de față prezentăm rezultatele determinărilor pe intervalul 2005-2006 a unor parametri chimici de potabilitate din apa de robinet recoltată din 5 puncte ale orașului Târgu Mureș.

Recoltările s-au efectuat lunar, din locuri care s-au dorit să acopere diferite cartiere reprezentative din oraș, respectiv Cornișa, Centru, Alea Carpați, Dâmbu Pietros și Tudor.

Testele de evaluare s-au făcut în laboratorul de chimie sanitară al disciplinei de Igienă, prin metodele clasice și pentru parametrii reprezentativi de calitate a apei potabile.

Am analizat nivelul următorilor indicatori: pH-ul, duritatea totală, oxidabilitatea, clorurile și clorul rezidual.

Metodologia s-a bazat pe metodele de laborator specifice de analiză și anume, titrarea cu complexon III pentru duritatea totală, metoda cu KmnO_4 pentru oxidabilitate, metoda Mohr cu AgNO_3 pentru cloruri, metoda colorimetrică cu ortotolidină-metaarsenit pentru clorul rezidual și metoda comparativă cu bandă indicator pentru pH.⁴⁵

Recoltarea s-a făcut din punctele stabilite, în vase speciale și analizele desfășurate în laborator în maximum 48 de ore de la recoltare. Pentru fiecare parametru am făcut câte două analize și am înregistrat media rezultatelor obținute.

Rezultatele le prezentăm și le interpretăm conform CMA stabilite de standarde.⁴

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Am repartizat datele obținute în tabele, corespunzător datei de recoltare și analiză, distribuite pe zone / puncte de recoltare și respectiv pe parametri chimici investigați.

Parametrul pH: s-a încadrat în limitele standard, cu o două excepții din sezonul de iarnă (noiembrie și decembrie), când a avut o tentă de aciditate ajungând până la o cifră de 6,00 pentru trei puncte de recoltare Cornișa, Alea Carpați și Dâmbu (Tabelele I - VI), probabil prin poluare accentuată a apei cu reziduuri menajere și scăderea cantității de precipitații din aceea perioadă și concentrarea apei. Cele 6 probe necorespunzătoare din 40 testate în total pentru pH reprezintă o pondere de 15%.

Parametrul duritate: după noua lege este evaluat la limită inferioară de 5 grade germane de duritate. Doar 2 probe au fost necorespunzătoare standardelor (5%), în tot sezonul de iarnă, cu nivele scăzute de 3,29 și 3,6

grade germane de duritate, corespunzătoare punctelor de recoltare Cornișa și Centru (Tabelele I - VIII).

Duritatea este redusă pentru apa râului Mureș, sursă de apă de suprafață influențată de precipitații, cu implicații în patologia cardiovasculară.

Duritatea apei afectează negativ procesul de spălare (inclusiv a corpului uman), dar în schimb influențează pozitiv patologia cardiovasculară, apa dură fiind considerată factor protector. Studii mai recente consideră că nu duritatea în sine este benefică, ci calciul (Ca) și magneziul (Mg), ai căror compuși sunt factorul major determinat al durității. Apa cu carență în săruri de calciu și magneziu determină o mortalitate prin bolile cardiovasculare mult crescută. S-a stabilit o corelație inversă între duritatea apei și mortalitatea cardio-vasculară. Scăderea concentrației de calciu determină aritmii, modificări EKG cu creșterea intervalului Q-T.^{1,46}

Parametrul oxidabilitate s-a încadrat în limitele cerute de 10 mg/dl la toate probele de analiză, indiferent de sezon sau punct de recoltare (Tabelele I - VIII).

Parametrul cloruri care definește și proveniența dar și gradul de poluare al apei a fost corespunzător pentru toate probele de analiză (Tabelele I - VIII).

Conținutul în cloruri și alte săruri de calciu și magneziu sunt reduse în acest areal al râului Mureș, sursă de aprovizionare cu apă a orașului.

Parametrul clor rezidual, rezultat din tratarea apei cu clor gazos adăugat pentru dezinfecție, a prezentat cele mai multe variații ale nivelelor cu depășiri ale limitelor admise. Separat pe trimestre, sezonul cald a fost cel mai afectat, probabil și relațional cu precipitațiile abundente din perioada respectivă, cu acumulări de substanțe organice și implicat tratarea suplimentară a apei. 22 de probe din 40 au fost peste limitele de admitere (55%) cu o pondere foarte ridicată, de atenționare. Pe puncte de recoltare, Cornișa, Dâmbu și Centru au avut cele mai multe probe necorespunzătoare, ca tone de distribuție a apei la consumator. Cornișa cu 100% probe necorespunzătoare, Dâmbu cu 87,5%, Centru cu 75%, Alea Carpați cu 75% și respectiv Tudor cu 62,5% probe necorespunzătoare. Lunile cele mai afectate au fost decembrie, martie, aprilie, mai și septembrie, fără o varianță semnificativă pe sezon cald-rece, probabil funcție de calitatea apei brute și nivelul de poluare (Tabelele I - VIII).

Nivelul crescut al clorului rezidual împrumut a apei potabile distribuite populației târgu-mureșene un gust aparte, de multe ori refuzat senzorial de consumatori, deși calitativ este în limite normale.

Uneori, poluarea este chiar consecința nedorită a măsurilor luate în scop de depoluare. Astfel, la clorinarea apei se formează și trihalometani, incriminați pentru efecte cancerigene. În apă trebuie să mai rămână o cantitate de clor rezidual care să anihileze microbii ce mai impurifică apa pe parcurs pe rețea până la consumator, dar nu în exces deoarece alterează apa organoleptic și e și dăunător sănătății.

Tabelul I. Valorile parametrilor chimici de calitate a apei potabile din data de 28.11.2005

Zone de recoltare a probelor	PARAMETRII CHIMICI				
	pH	Duritate	Oxidabilitate în KMnO_4	Cloruri	Clor rezidual
	N=6,5-9,0	N>5 grade	N<10 mg/l	N<250 mg/l	N=0,10-0,25 mg/l
Cornișa	6,00	7,14	1,58	28,36	3,00
Centru	6,50	7,14	3,16	24,82	0,05
Aleea Carpați	6,00	6,37	2,52	28,36	0,70
Dâmbu Pietros	6,00	6,86	3,20	26,70	2,80
Tudor	6,80	6,06	1,60	22,60	0,60

Tabelul II. Valorile parametrilor chimici de calitate a apei potabile din data de 12.12.2005

Zone de recoltare a probelor	PARAMETRII CHIMICI				
	pH	Duritate	Oxidabilitate în KMnO_4	Cloruri	Clor rezidual
	N=6,5-9,0	N>5 grade	N<2 mg/l O_2	N<250 mg/l	N=0,10-0,25 mg/l
Cornișa	6,20	3,29	1,65	26,60	2,80
Centru	7,00	3,6	3,00	24,20	0,20
Aleea Carpați	6,00	6,20	2,50	18,00	0,70
Dâmbu Pietros	6,00	6,80	3,00	25,00	2,00
Tudor	6,80	6,20	2,40	22,00	0,60

Tabelul III. Valorile parametrilor chimici de calitate a apei potabile din data de 13.02.2006

Zone de recoltare a probelor	PARAMETRII CHIMICI				
	pH	Duritate	Oxidabilitate în KMnO_4	Cloruri	Clor rezidual
	N=6,5-9,0	N>5 grade	N<2 mg/l O_2	N<250 mg/l	N=0,10-0,25 mg/l
Cornișa	6,80	8,00	1,86	35,46	2,80
Centru	6,80	7,40	3,00	26,60	0,80
Aleea Carpați	7,00	6,30	2,52	28,30	0,70
Dâmbu Pietros	6,80	6,80	3,20	26,60	1,80
Tudor	6,80	8,00	2,80	22,20	0,60

Tabelul IV. Valorile parametrilor chimici de calitate a apei potabile din data de 21.03.2006

Zone de recoltare a probelor	PARAMETRII CHIMICI				
	pH	Duritate	Oxidabilitate în KMnO_4	Cloruri	Clor rezidual
	N=6,5-9,0	N>5 grade	N<2 mg/l O_2	N<250 mg/l	N=0,10-0,25 mg/l
Cornișa	6,60	7,20	1,80	30,20	2,60
Centru	6,80	7,00	2,60	26,60	0,60
Aleea Carpați	6,80	6,60	2,50	28,30	0,60
Dâmbu Pietros	6,80	6,80	3,20	26,60	1,00
Tudor	6,80	8,00	3,00	22,20	0,80

Tabelul V. Valorile parametrilor chimici de calitate a apei potabile din data de 04.04.2006

Zone de recoltare a probelor	PARAMETRII CHIMICI				
	pH	Duritate	Oxidabilitate în KMnO_4	Cloruri	Clor rezidual
	N=6,5-9,0	N>5 grade	N<2 mg/l O_2	N<250 mg/l	N=0,10-0,25 mg/l
Cornișa	6,60	7,00	2,00	28,00	2,00
Centru	6,80	7,00	2,60	26,60	0,80
Aleea Carpați	7,00	6,40	2,50	28,30	0,60
Dâmbu Pietros	6,80	6,80	3,20	26,60	1,00
Tudor	6,80	7,80	3,00	22,20	0,80

Tabelul VI. Valorile parametrilor chimici de calitate a apei potabile din data de 12.05.2006

Zone de recoltare a probelor	PARAMETRII CHIMICI				
	pH	Duritate	Oxidabilitate în KMnO_4	Cloruri	Clor rezidual
	N=6,5-9,0	N>5 grade	N<2 mg/l O_2	N<250 mg/l	N=0,10-0,25 mg/l
Cornișa	6,80	7,00	1,60	26,00	2,00
Centru	6,80	7,00	2,60	26,40	0,80
Aleea Carpați	7,00	6,80	2,50	28,00	0,80
Dâmbu Pietros	6,80	6,80	3,00	26,80	1,00
Tudor	6,80	8,00	3,00	24,00	0,80

Tabelul VII. Valorile parametrilor chimici de calitate a apei potabile din data de 06.06.2006

Zone de recoltare a probelor	pH	Duritate	PARAMETRII CHIMICI		
			Oxidabilitate în KMnO ₄	Cloruri	Clor rezidual
	N=6,5-9,0	N>5 grade	N<2 mg/l O ₂	N<250 mg/l	N=0,10-0,25 mg/l
Cornișa	7,00	8,79	1,80	27,00	1,50
Centru	6,50	7,14	2,70	32,00	0,15
Aleea	7,00	9,34	2,15	28,00	0,50
Carpați					
Dâmbu	6,50	8,35	2,25	30,00	0,10
Pietros					
Tudor	6,50	8,57	2,40	28,16	0,10

Tabelul VIII. Valorile parametrilor chimici de calitate a apei potabile din data de 12.09.2006

Zone de recoltare a probelor	pH	Duritate	PARAMETRII CHIMICI		
			Oxidabilitate în KMnO ₄	Cloruri	Clor rezidual
	N=6,5-9,0	N>5 grade	N<2 mg/l O ₂	N<250 mg/l	N=0,10-0,25 mg/l
Cornișa	7,00	7,14	1,58	28,36	2,00
Centru	6,50	6,00	3,16	24,82	0,60
Aleea Carpați	7,00	7,00	2,52	28,36	0,70
Dâmbu					
Pietros	6,00	6,86	3,20	26,70	1,80
Tudor	6,80	6,06	1,60	22,60	0,60

Clorinarea gazoasă indirectă, are dezavantajul major că formează compuși secundari toxici (de exemplu trihalometani cum sunt cloroformul), incriminați inclusiv pentru posibil efect cancerigen. Apa ce se supune clorinării trebuie să fie curată, altfel cea mai mare parte din clor se consumă în alte reacții decât cele vizate, de distrugere a microbilor. Un alt efect nedorit este cel al formării clorfenolilor, care afectează grav gustul chiar la concentrații infime de 1:20.000.000.

Repartizarea pe puncte de recoltare a evidențiat faptul că punctul-zona cea mai afectată din punct de vedere calitativ a fost Cornișa și Dâmbu cu 11 probe necorespunzătoare din 40 (27,5%), urmate de Aleea Carpați cu 22,5%, respectiv Centru și Tudor cu doar 15% probe neadmisibile. Punctul de recoltare Cornișa a înregistrat o situație cu 3 parametri necorespunzători, comparativi cu zona Tudor care stă cel mai bine calitativ chimic, neavând niciodată mai mult de un parametru depășit.

Comparativ pe sezonul cald și cel rece, nu există diferențe semnificative de interpretare și variație a probelor necorespunzătoare pe puncte de recoltare (p=0,21).

Datele noastre nu prezintă diferențe notabile față de studii anterioare efectuate în areal nostru sau studii anterioare din alte areale de pe parcursul râului Mureș.^{2,3,5}

CONCLUZII

În general, calitatea din punct de vedere chimic a apei potabile distribuită în arealul municipiului Târgu Mureș este corespunzătoare, cu mici scăpări legate de duritatea mică și pH-ul variabil.

Variațiile de calitate sunt legate de sezon și gradul de poluare al apei râului Mureș.

Datele monitorizate pentru indicatorii de calitate a apei potabile distribuite locuitorilor orașului Târgu Mureș sunt în limitele normale, fără variații lunare importante, cu excepția concentrațiilor de clor rezidual liber și total care depășesc constant și semnificativ crescute limitele standard admise, cu efecte nocive prin risc de expunere îndelungată.

Se impune gestionarea atentă a apei râului Mureș, ca sursa de aprovizionare pentru o populație numeroasă de pe un teritoriu întins de parcurgere a râului Mureș, din arealul transilvan.

BIBLIOGRAFIE

1. LAZA V – *Patologia hidrică neinfecțioasă*, în: Compendiu de Igienă, sub redacția prof Carmen Ionuț, Ed Medicală universitară "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, 2004, 206-230.
2. URECHE R, DĂNILA M - *Calitatea apei de suprafață, principala sursă de aprovizionare cu apă potabilă a orașului Tg Mureș*, Revista de Medicină și Farmacie Tg Mureș, 2002, 3:245-247.
3. URECHE R, DĂNILA M, CÂDEA E - *Studiu privind utilizarea ozonului ca metodă de dezinfecție a apei potabile*, Revista de Medicină și Farmacie Tg Mureș, 2000, 1-2:341-344.

4. *** - Legea nr. 458 din 8 iulie 2002 privind calitatea apei potabile, publicată în Monitorul Oficial, Partea I nr 552 din 29 iulie 2002.
5. *** - Raport anual privind starea mediului în România 2001 - Ed Ministerul Apelor și Protecției Mediului, București 2002.
6. *** - Planul Național de Acțiune pentru Mediu și Sănătate - MS, București, iulie 2004.
7. *** - *Financial Management Of Water Supply And Sanitation* - A Handbook, World Health Organisation, Geneva 1994
8. *** - *Guidelines For Drinking-Water Quality*, vol II, World Health Organisation, Geneva 1997.
9. *** - *Operation And Maintenance Of Urban Water Supply And Sanitation Systems* - A Guide For Managers, World Health Organisation, Geneva 2004.



Managementul de spital - mortalitatea intraspitalicească la nivel național

E. Wusinczky¹, Monica Tarcea², Ramona Ureche²

Scopul lucrării: Caracterizarea fenomenului mortalității intraspitalicești, elucidarea principalelor cauze ale mortalității și identificarea problemelor de mortalitate la nivel de furnizor de servicii spitalicești.

Material și metodă: Este un studiu epidemiologic, statistic, de evaluare a unor indicatori epidemiologici, raportați la nivel național. Analiza a fost efectuată pe cazurile externate din toate spitalele în luna februarie, anul 2006 (357.362 cazuri).

Rezultate: Totalul deceselor înregistrate este de 3.157 (0,88% din cazurile externate), pentru luna februarie 2006. Rata mortalității la nivel național este de 0,88%. Durata medie de spitalizare a cazurilor decedate este de 8,8 zile. Cele mai multe decese (29%) se produc în ziua internării (12%) sau în ziua următoare (17%). Durata medie a spitalizării cazurilor decedate pe spital variază între 0 și 359 de zile, iar pentru 25% dintre spitale durata medie a spitalizării cazurilor decedate este mai mică de 3,3 zile. Vârsta medie a cazurilor decedate este de 61 ani. Patologia responsabilă pentru cele mai multe decese intraspitalicești este reprezentată de Bolile cerebrovasculare specifice cu excepția atacului ischemic tranzitor și Stopul cardiac, responsabile pentru 15 și respectiv 10% din totalul deceselor.

Concluzii: Tipurile de secții cu cele mai multe decese: Medicina internă, Neurologie și Chirurgie generală, responsabile pentru 15-19% fiecare din decesele înregistrate la nivel național.

Cuvinte cheie: mortalitate, management sanitar, servicii de spital

Aim: Estimation of hospital mortality phenomenon, of main causes of death and also identification of mortality situations related to hospital management services involved.

Material și metodă: Este un studiu epidemiologic, statistic, de evaluare a unor indicatori epidemiologici, raportați la nivel național. Analiza a fost efectuată pe cazurile externate din toate spitalele în luna februarie, anul 2006 (357.362 cazuri).

Methodology: It is an epidemiological study, based on evaluation of an hospital manager and health services indicators, reported in our country. We used files from all checked out cases from all hospitals during february 2006.

Results: All registered deaths were 0.88% from checked out cases (3157). Mortality rate on national level was 0.88%. Average period for hospitalisation deceased cases was 8.8 days. Most of the deceased cases (29%) were registered in the first day of hospital checked in (12%) or during the very next day (17%). Average period of hospitalised deceased cases varied between 0 and 359 days, and for 25% of hospitals was less than 3.3 days. Average age of deceased cases was 61 years. Pathology involved for the most deceased cases hospitalised was Cardiovascular diseases especially stroke and heart stroke (15% and 10% of deceased cases).

Conclusion: Type of hospital departments with most of deceased cases were: Internal medicine, Neurology and Surgery, responsible for 15-19% of all deaths registered to national level.

Key words: mortality, management, hospital services

Studiile epidemiologice oferă cele mai bune surse pentru evaluarea riscului de mortalitate pentru om. Chiar dacă datele umane sunt disponibile, pot apare incertitudini importante cum sunt: lipsa unor informații adecvate privind expunerea din trecut a subiectului, incertitudinile statistice, lipsa de confirmare a expunerii la determinanți de risc cât și urmărirea neadecvată, acestea putând afecta serios rezultatele studiului. În contrast cu studiile experimentale pe animale, unde durata de expunere și condițiile observației sunt specifice înaintea determinării cercetării, studiile epidemiologice sunt limitate la datele disponibile.^{1,4,5,6}

În această lucrare am urmărit caracterizarea fenomenului mortalității intraspitalicești, elucidarea principalelor cauze ale mortalității și identificarea problemelor de mortalitate la nivel de furnizor de servicii spitalicești.

METODĂ DE LUCRU

-Este un studiu epidemiologic, statistic, de evaluare a unor indicatori epidemiologici, raportați la nivel național.

-Analiza a fost efectuată pe cazurile externate din toate spitalele în luna februarie, anul 2006 (357.362 cazuri).

-Rata mortalității (RM) a fost calculată ca raport între numărul de decese și numărul de cazuri externate.^{3,7}

-Numărul de decese reprezintă cazurile externate care au avut tipul externării sau starea la externare = „decedat”.⁷

¹Casa de Asigurări de Sănătate a județului Brașov

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

Adresa de corespondență: conf. dr. Tarcea Monica, Universitatea de Medicină și Farmacie, str. Gh. Marinescu 38, 540139 Târgu Mureș, tel. 0744 791967, email: monad@umftgm.ro

Obiective:

1. Măsurarea fenomenului mortalității intraspitalicești la nivel național.
2. Evaluarea duratei medii de spitalizare a cazurilor decedate în funcție de caracteristicile acestora.
3. Evaluarea vârstei medii a cazurilor decedate în funcție de caracteristicile acestora.
4. Aflarea principalelor cauze ale mortalității din punct de vedere al volumului (număr de decese) și al intensității (rata mortalității).
5. Identificarea spitalelor cu mortalitate crescută din punct de vedere al volumului (număr de decese) și al intensității (rata mortalității).^{4,9}

REZULTATE**1. Mortalitatea spitalicească la nivel național**

- a) Totalul deceselor înregistrate este de 3.157, pentru luna februarie 2006.
- b) Rata mortalității la nivel național este de 0,88%.

2. Durata medie de spitalizare a cazurilor decedate

- a) Durata medie de spitalizare a cazurilor decedate este de 8,8 zile.
- b) Cele mai multe decese (29%) se produc în ziua internării (12%) sau în ziua următoare (17%).
- c) 80% dintre decese se produc în primele 12 zile de la internare.
- d) Durata medie de spitalizare (DMS) a cazurilor decedate pe spital:

-variază între 0 și 359 de zile

Tabelul I.a-c DMS a cazurilor decedate pe tip de secție

Secții	DMS	Nr. decese	% Decese
Acuți	7.9	2998	94.96%
Cronici	27.0	159	5.04%

Tip Secție 1	DMS	Nr. decese	% Decese
Medicală	7.8	2286	72.41%
Chirurgicală	11.6	871	27.59%

Tip Secție 2	DMS	Nr. decese	% Decese
Chirurgie specialități	8.1	890	28.19%
Medicală specialități	11.0	793	25.12%
Medicală generală	5.3	624	19.77%
Chirurgie generală	11.1	512	16.22%
Neonatologie	3.5	131	4.15%
Pediatrie generală	10.6	75	2.38%
Ortopedie	15.8	43	1.36%
Pediatrie specialități	23.5	40	1.27%
Obstetrică Ginecologie	3.7	12	0.38%
Recuperare	9.3	3	0.10%

- pentru 25% dintre spitale, DMS a cazurilor decedate este mai mică de 3,3 zile
- pentru 50% dintre spitale, DMS a cazurilor decedate este mai mică de 6,7 zile
- pentru 75% dintre spitale, DMS a cazurilor decedate este mai mică de 10,7 zile.

e) DMS a cazurilor decedate pe tip de secție (Tabelele I a-c): predomină la secțiile de acuți (94,96%), medicale (72,41%), medicină internă și neurologie (19%).

f) DMS a cazurilor decedate pe sexe: arată o apropiere în pondere a deceselor pe sexe și pe durata medie de spitalizare (Tabelul II).

Tabelul II. DMS a cazurilor decedate pe sexe

Sex	DMS	Nr. decese	% Decese
M	9.5	1761	55.78%
F	8.0	1396	44.22%

g) DMS a cazurilor decedate pe tip de internare: cele mai multe cazuri de deces au fost înregistrate pe secția de urgență (cu 75,32% din total) (Tabelul III).

Tabelul III. DMS a cazurilor decedate pe tip de internare

Tip Internare	DMS	Nr. decese	% Decese
Urgență	7.5	2378	75.32%
Trimitere medic specialist ambulatoriu	12.6	382	12.10%
Trimitere medic de familie	10.2	264	8.36%
Transfer inter-spitalicesc	22.5	104	3.29%
Altele	11.5	26	0.82%
La cerere	0.0	1	0.03%

h) DMS a cazurilor decedate pe tip de DRG (chirurgical / medical): ponderea deceselor este mai ridicată pe secțiile medicale (84%), iar durata cea mai lungă de spitalizare a fost pe secțiile chirurgicale (de 14,9 zile în medie).

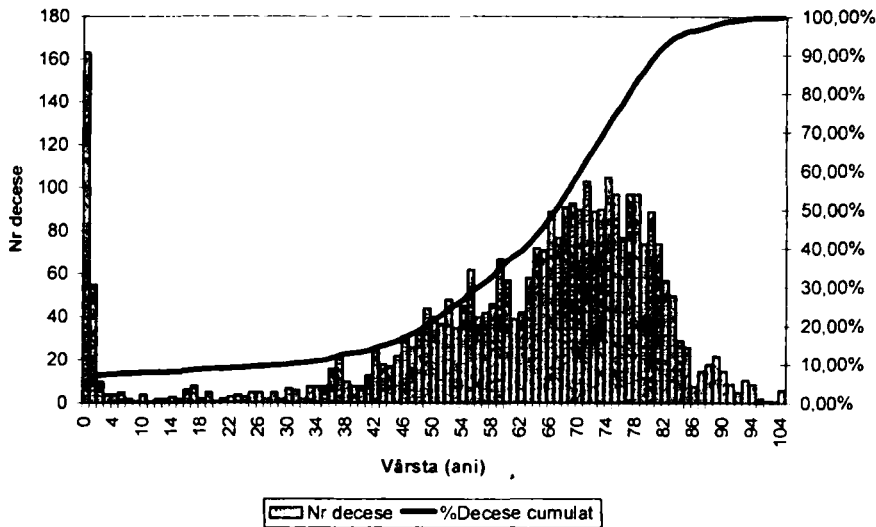
i) DMS a cazurilor decedate pe categorii majore de diagnostic: cele mai frecvente decese s-au datorat bolilor sistemului circulator (cu 27,56% din total) și ale sistemului nervos (cu 24,45%), iar cele mai puține au fost legate de naștere (0,13%).

j) DMS a cazurilor decedate pentru grupele de diagnostic (DRG) cu cele mai multe decese: pe grupe de diagnostic cele mai multe decese s-au datorat bolilor cerebro-vasculare (15,24%) și stopului cardiac (10,45%), iar cele mai puține s-au datorat hemoragiei gastro-intestinale cu complicații (1,05%). Infecțiile respiratorii la tineri dau cele mai multe zile de spitalizare 21,3 ca medie.

3. Vârsta medie a cazurilor decedate

a) Vârsta medie a cazurilor decedate este de 61 ani

Figura 1. Număr decese după vârstă



b) Cele mai multe decese se constată la vârste mai mici de 2 ani și la grupa de vârstă 50-80 ani (Notă: este vorba de frecvența deceselor, nu de rata mortalității).

c) Se remarcă decesele la vârste mai mici de 1 an (5% din totalul deceselor) (Figura 1).

d) Vârsta cazurilor decedate pe spital -variază între 0 și 104 ani
 -pentru 25% dintre spitale vârsta medie a cazurilor decedate este mai mică de 54 ani
 -pentru 50% dintre spitale vârsta medie a cazurilor decedate este mai mică de 62 ani
 -pentru 75% dintre spitale vârsta medie a cazurilor decedate este mai mică de 69 ani.

e) Vârsta cazurilor decedate pe tip de secție (3 clasificări)⁹: majoritari la acuți (94,96%), din secțiile de medicală (72,41%).

f) Vârsta medie a cazurilor decedate pe sexe: 59 de ani pentru femei și 64 de ani pentru bărbați.

g) Vârsta medie a cazurilor decedate pe tip de internare (Tabelul V):

h) Vârsta medie a cazurilor decedate pe tip de DRG (chirurgical/medical): 60 de ani pentru secțiile medicale și 62 pentru chirurgicale.

Tabelul V. Vârsta medie a cazurilor decedate pe tip de internare

Tip internare	Vârsta medie	Nr. decese	% decese
Urgență	62	2378	75.32%
Trimitere medic specialist ambulatoriu	58	382	12.10%
Trimitere medic de familie	63	264	8.36%
Transfer interspitalicesc	37	104	3.29%
Altele	34	26	0.82%
La cerere	76	1	0.03%

Tabelul IV. a-b. Vârsta cazurilor decedate pe tip de secție

Secții	Vârsta medie	Nr. decese	% Decese
Acuți	61	2998	94.96%
Cronici	61	159	5.04%

Tip Secție	Vârsta medie	Nr. decese	% Decese
Medicală	60	2286	72.41%
Chirurgicală	62	871	27.59%

4.Principalele cauze ale mortalității intraspitalicești la nivel național

a) S-au constatat decese pentru 245 dintre cele 469 DRG înregistrate.

b) Patologia responsabilă pentru cele mai multe decese intraspitalicești.

-Se remarcă DRG 014 (Boli cerebrovasculare specifice cu excepția atacului ischemic tranzitor) și DRG 129 (Stop cardiac, neexplicat) responsabile pentru 15 și respectiv 10% din totalul deceselor.

c) Patologia cu cele mai mari rate ale mortalității intraspitalicești:

-Se remarcă DRG 129 (Stop cardiac, neexplicat) cu RM de 95%.

-Alte 8 DRG au RM între 20 și 33%, 17 DRG au RM între 10 și 19%, 27 DRG au RM între 5 și 9% și 82 DRG au RM între 1 și 4%.

5. Mortalitatea la nivel de tip de secție

a) S-au constatat decese la 58 dintre cele 95 de tipuri de secții pentru care au fost trimise date

b) Tipurile de secții cu cele mai multe decese

-Se remarcă trei tipuri de secții (Medicina internă, Neurologie, Chirurgie generală) responsabile pentru 15-19% fiecare din decesele înregistrate la nivel național

-Alte 13 tipuri de secții sunt responsabile fiecare pentru 1-9% din totalul deceselor, iar restul de 41 tipuri de secții sunt responsabile fiecare pentru mai puțin de 1% din totalul deceselor

(Notă: % Decese reprezintă proporția deceselor înregistrate în tipul de secție respectiv din totalul deceselor înregistrate la nivel național).

c) Tipurile de secții cu cele mai mari RM

-Pentru cele 58 de tipuri de secții la care s-au constatat decese, RM este cuprinsă între 0,02 și 6,56%

-21 tipuri de secții au RM peste 1% (printre care, medicină internă, chirurgie, neurologie, neurochirurgie, terapie intensivă, pneumoftiziologie, nefrologie sau neonatologie).

6. Mortalitatea la nivel de spital

a) S-au constatat decese la 250 dintre cele 357 de spitale care au trimis date

b) Pentru aceste 250 de spitale RM este cuprinsă între 0,02 și 9,52%, mai ridicat decât în alte studii.²⁴

CONCLUZII

-Totalul deceselor înregistrate este de 3.157, pentru luna februarie 2006.

-Rata mortalității la nivel național este de 0,88%.

-Durata medie de spitalizare a cazurilor decedate este de 8,8 zile.

-Cele mai multe decese (29%) se produc în ziua internării (12%) sau în ziua următoare (17%).

-Durata medie a spitalizării cazurilor decedate pe spital variază între 0 și 359 de zile, iar pentru 25% dintre spitale durata medie a spitalizării cazurilor decedate este mai mică de 3,3 zile.

-Vârsta medie a cazurilor decedate este de 61 ani.

-Cele mai multe decese se constată la vârste mai mici de 2 ani și la grupa de vârstă 50-80 ani.

-Patologia responsabilă pentru cele mai multe decese intraspitalicești este reprezentată de Bolile cerebrovasculare specifice cu excepția atacului ischemic tranzitor și Stopul cardiac, responsabile pentru 15 și respectiv 10% din totalul deceselor.

-Patologia cu cele mai mari rate ale mortalității intraspitalicești: Stopul cardiac cu rata de mortalitate de 95%.

-S-au constatat decese la 58 dintre cele 95 de tipuri de secții pentru care au fost trimise date.

-Tipurile de secții cu cele mai multe decese: Medicina internă, Neurologie și Chirurgie generală, responsabile pentru 15-19% fiecare din decesele înregistrate la nivel național.

BIBLIOGRAFIE

1. BACH S – *Human Resources and new approaches to public sector management: improving HRM capacity*, WHO, Department of Organization of Health Services Delivery, 2001.
2. BARA AC, VAN DEN HEUVEL W, MAARSE JA – *Reforms of the Health Care system in Romania*, Croatian Medical Journal, 2002, (43):446-252.
3. FARKAS E – *Elemente de sănătate publică și management sanitar*, Ed University Press Târgu-Mureș, 2006.
4. HORNBY P, FORTE P – *Guidelines for introducing Human Resources Indicators to monitor health services performance*, Centre for health planning and management, Keele University, 2002.
5. MCKEE M, HEALY J – *Hospitals in a changing Europe*, European Observatory on Healthcare Systems, series Open University Press, OMS, 2002.
6. RITCHIE J, POWER C, HUGHES J – *Using Individual Patients Needs for Nursing Human Resources Planning*, Canadian Health Services Foundation, 2003.
7. VLĂDESCU C, RADULESCU S, OLSAVSZKY V – *Sisteme de sănătate în tranziție*, România, 2000, Observatorul European al sistemelor de Sănătate, Organizația Mondială a Sănătății - Biroul Regional pentru Europa, 2000.
8. *** – Institutul Național de Statistică – *Anuarul Național de Statistică al României – 2005*, București, 2006.
9. *** – *Legea nr. 95 din 14 aprilie 2006 privind reforma în domeniul sănătății*, publicată în MO nr.372 din 28.04.2006, Titlul VII Spitalele.

Recomandări pentru autori

Revista de Medicină și Farmacie – Orvosi és Gyógyszerészeti 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 informații legate de apariții editoriale, participări la manifestări științifice, articole privitoare la istoria medicinei, stagii 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 Universității de Medicină și Farmacie din Târgu-Mureș, str. Ghe. Marinescu nr. 38, 540139 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 figuri), 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 începe, 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 dintr-un 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, discuții și concluzii.

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 1), 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 plicuri 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.

MULTUMIRI. 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.

Ediția 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 capitoului, numele capitoului, editori, 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). Fotografiele 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 pot primi o scrisoare prin care se certifică acceptarea articolului.

