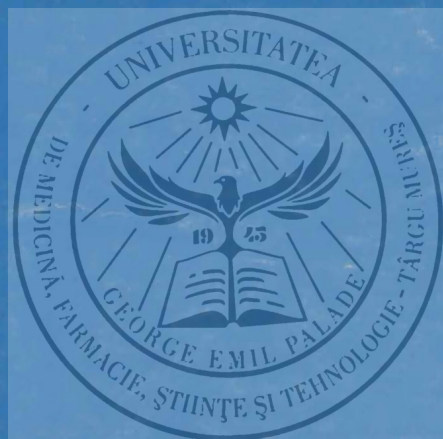


Revista de Medicină și Farmacie

Universitatea de Medicină și Farmacie din Târgu-Mureș



Orvosi és Gyógyszerészeti Szemle

Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem

2003

Vol. 69 nr. 1



Revista de Medicină și Farmacie

Orvosi és Gyógyszerészeti Szemle

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

ISSN 1221-2229

Adresa
Gheorghe Marinescu nr. 38, 4300 Târgu Mureș
Tel. (+40)-265-215551
Fax (+40)-265-210407

CONSILIUL ȘTIINȚIFIC

Prof. dr. Marius Sabău
Rector

Prof. dr. Ōrs Nagy
Prof. dr. Constantin Copotoiu
Prorectori

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

Prof. dr. Béla Tőkés
Prof. dr. Galafteon Oltean
Conf. dr. Dezső Kovács
Secretari științifici

Prof. dr. Ioan Nicolaescu
Cancelar

COLEGIUL DE REDACȚIE

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

Tehnoredactare: Deák Vasile
Coperta: MasterDruck Târgu Mureș

REFERATE GENERALE

Examinarea copilului cu cataractă congenitală
Sena Bectaș, S. Abu Ngera, Z. Pap 1

Biopsia hepatică transcutanată
D. Georgescu, Imola Török, Anca Sin 6

Aspecte cardiovasculare și aterogene în disfuncțiile tiroidiene
subclinice
Cristina Corina Radu 12

CE TREBUIE SĂ ȘTIM DESPRE...

Criterii actuale de diagnostic microscopic al tumorilor de pancreas
endocrin
M. Turcu, Camer Ibadula-Salim, Lia-Maria Simu, G. Simu 18

ARTICOLE ORIGINALE

Calcificările cardiovasculare
și tulburările metabolismului fosfo - calcic la hemodializați
Carmen Căldăraru, G. Dogaru, I. Barb, I. Hosu,
Violeta Roman, G. Popescu, Kincső Mátyás,
Alexandra Florea, Aurora Iulia Smădu 21

Farmacocinetica diclofenacului sodic din microsferele de gelatină
Adriana Ciurba, Adriana Popovici 28

Influența unor central-deprimante fenotiazinice asupra efectului
antinociceptiv al Tramadolului
Sorina Cucuiet, Gh. Feszt 33

Considerații asupra complicațiilor cardiace la copii
cu infecție HIV/SIDA
Amalia Făgărășan, Rodica Pascu 39

Aplicarea metodelor QSAR și CADD în cazul unor noi sulfonamide cu nucleu acridinic L. Ferencz	43
Studiul posibilelor interacțiuni între derivații benzodiazepinici și substanțe auxiliare. I. Termostabilitatea nitrazepamului în prezența ciclodextrinelor și a polietilenglicolului Hajnal Kelemen	49
Valoarea predictivă a modificărilor tensiunii arteriale în cursul testului tilt pentru sincopa vasovagală C. Podoleanu, A. Frigy, D. Dobreanu, S. Micu, Doina Podoleanu, E. Carașca	53
Polarografia nitronelor III. Acțiunea structurii chimice asupra procesului de electrod și separarea efectelor substituenților Gabriela Suci, B. Tőkés	57
Modelarea computerizată a unor interneuroni din hipocampusul de șobolan T. Szilagy, Z. Lőrinczi	62



Examinarea copilului cu cataractă congenitală

Sena Bectaş¹, Z. Pap²

Cataractele congenitale sunt o cauză de handicap vizual la copil. Examinarea pediatrică trebuie coroborată cu cea oftalmologică deoarece cataracta congenitală poate fi izolată, asociată cu un sindrom malformativ sau cu etiologie infecțioasă virală sau nevirală, idiopatică sau de alte cauze.

Examenul oftalmologic va cuprinde determinarea acuității vizuale, evidențierea reflexului fotomotor, examinarea nistagmusului optocinetic, evaluarea vederii binoculare și determinarea sensibilității la contrast.

Examenul instrumental cuprinde examenul cu o sursă luminoasă și lupa binoculară, examenul biomicroscopic, oftalmoscopia și măsurarea tensiunii oculare.

Examenul complementare vor completa examenul oftalmologic și ajută în diagnosticarea precoce și precisă a tulburărilor de vedere la copilul mic.

Cuvinte cheie: cataractă congenitală, examen pediatric, examinare oftalmologică, examene complementare

The congenital cataracts are a cause of visual disability for a child. The pediatric investigation must be corroborated by the eye investigation as the congenital cataract may be isolated or associated with a malformed syndrome or an infection cause due to a virus or non-virus or any other reasons.

The eye examination will include: finding out the visual acuity, the outline of the photomotor reflex, the examination of the binocular sight and finding out the sensitivity at contrast.

The instrumental examination includes the examination with a light source and with the binocular magnifying glass, the biomicroscopic examination, the eye examination with ophthalmoscope and taking the intraocular pressure.

The complementary investigation will be added to the eye examination and will help to an accurate and precious diagnosis of the eye troubles of a little child.

Key words: congenital cataract, pediatric investigation, eye investigation, complementary investigation

Vederea, primul mijloc de cunoaștere a mediului înconjurător, are un rol deosebit de important în procesul de instruire, de asimilare și în dezvoltarea inteligenței la om, încă din momentul nașterii sale.^{1,2,3}

Cataractele congenitale reprezintă o cauză de handicap vizual la copil, când acuitatea vizuală este mai mică decât 1/20, asociată cu sau fără îngustarea câmpului vizual sub 20 grade.^{1,2,11,22}

Cunoștințele aprofundate despre particularitățile de dezvoltare anatomo-funcțională ale ochiului la nou-născut și sugar, ameliorarea tehnicilor chirurgicale, au permis recunoașterea unui pronostic mai bun al cataractelor congenitale.^{4,16,19}

Depistarea precoce a tulburărilor de vedere și îndrumarea lor spre serviciile de specialitate au condus la tratarea și recuperarea cât mai eficientă a handicapului vizual.^{23,25,26,27,27}

Etiologic¹¹ se disting:

- cataracte congenitale izolate;
- cataracte congenitale asociate cu o anomalie oculară sau făcând parte dintr-un sindrom plurimalformativ;

- cataracte congenitale de origine infecțioasă:

- virală: rujeola, varicela, zona zoster, mononucleoza infecțioasă, gripa, hepatita. Un posibil rol al infecției intrauterine cu virusul hepatitei B în apariția cataractei congenitale este certificat de descoperirea urmelor de virus în masele cristaliniene, în umoarea apoasă și în sângele copiilor operați;¹⁰

- nevirală: sifilisul;

- cataracte congenitale de origine parazitară: toxoplasmoza.

Cataracta congenitală de altă etiologie poate fi determinată de:

- hiperferitinemia ereditară (după unii autori s-ar asocia cu cataracta congenitală);⁹

- carența în vitamina A sau excesul de vitamina A ar determina apariția cataractei congenitale.

¹Clinica de Oftalmologie, Spitalul Municipal Constanța

²Clinica de Pediatrie II, Târgu-Mureș

Adresa de corespondență: dr. Sena Bectaş, Clinica de Oftalmologie, Spitalul Municipal Constanța, str. Ion Creangă, nr. 5, Medgidia, jud. Constanța

Cataracta congenitală izolată prezintă două forme⁶:

- ereditară;
- sporadică.

Cataracta ereditară reprezintă 10-20% din cataractele congenitale și se transmit autosomal dominant. Se prezintă sub diferite forme: cataracte de tip sutural, axial, nuclear, lamelar, în formă de colac de salvare sau totală.

Cataractele sporadice, o treime din cataractele congenitale, au transmitere autosomal dominantă sau recesivă. Unele dintre ele sunt legate de un factor sistemic ce nu a fost pus în evidență.

Asociații patologice oculare cu cataracte congenitale sunt⁷: microftalmie, colobom palpebral, stafilom corneean, micro sau megalocornee, colobom irian, aniridie, resturi de membrană pupilară, keratocon, ectopie a cristalinelui, retinopatie pigmentară.

Studii efectuate în Spania au arătat că cele mai frecvente malformații oculare la nou-născut sunt: anoftalmia (microftalmia), cataracta congenitală, opacități comune, glaucom congenital, coloboame.

Malformațiile asociate au avut cea mai mare incidență. Sindroamele cromozomiale au reprezentat 60% din totalitatea sindroamelor găsite, din care 15% au fost sindroame autosomal recesive, 10% au fost sindroame de mediu și 5,83% sindroame autosomal dominante. Cele mai frecvente sindroame au fost determinate de anomalii de braț, în proporție de 59,33%.

În sindroamele plurimalformative, malformațiile auriculare și faciale s-au întâlnit în 47,1% din cazuri, 42,5% fiind ale sistemului nervos, 42,2% ale membrilor, iar defectele genitale s-au întâlnit la 30,6% din cazuri.²

Cataracta congenitală, ca element al unui sindrom general, apare mai frecvent în următoarele sindroame^{4,14}:

- Sindromul Bonnevie – Ullrich;
- Sindromul Conrad;
- Sindromul François;
- Sindromul Lowe;
- Sindromul Marinescu – Sjögren;
- Sindromul Rothmund;
- Sindromul Sjögren – Larson.

Cataracta congenitală fiind prezentă într-un mare număr de sindroame plurimalformative, în vederea unui diagnostic precoce și corect, examinarea copilului se va face cât mai riguros.

Examenul pediatric trebuie coroborat cu un examen oftalmologic.^{29,32}

Examinarea clinică începe încă de la primul contact cu copilul, apreciindu-se atitudinile, mișcările și dimensiunile segmentelor ca și proporțiile dintre ele.¹⁴ Se examinează forma capului, feței, dimensiunile ochilor, distanța interpupilară, dimensiunea nasului, proeminența mandibulei sau retroproiecția ei.^{17,21}

Măsurarea taliei, cântărirea și compararea datelor cu standardele pentru vârstă și sex, fac parte din protocolul examenului clinic, alături de palpare, percuție și auscultație.³¹

Se face un interogatoriu amănunțit asupra tuturor persoanelor ce au venit în contact cu nou-născutul, mama putând furniza informații valoroase despre copil, privind modul de apariție a bolii, primele simptome și modul în care a evoluat.^{17,21}

Se va ancheta comportamentul copilului pe plan psihic și vizual.³¹ Se vor lua date pentru precizarea transmiterii genetice, prin prezența în familie a unei boli ereditare.³⁰

Investigația genetică începe încă din momentul anamnezei.^{28,31} De multe ori pentru descoperirea etiologiei genetice este necesară întocmirea arborelui genealogic.

Pediatria preventivă deschide largi perspective pentru abordarea terapeutică a bolilor ereditare și/sau congenitale.¹⁴

Consultul genetic și sfatul genetic au două obiective:

- să precizeze riscul de recurență în aceeași familie a anomaliei respective;

- să pună în alertă medicul asupra riscului apariției anomaliei genetic determinată la următoarea naștere, dându-i posibilitatea stabilirii unui diagnostic precoce.

Pe plan comportamental, copilul ce nu apucă jucăriile, nu întinde mâinile spre biberon, nu surâde la apariția părinților este susceptibil de a avea un defect ocular.³

Pozițiile anormale ale ochilor, mișcările spontane, mișcări nistagmiforme sau pendulare, mișcări digito-oculare, imposibilitatea de urmărire a luminii slabe, absența reacției la lumină puternică, sunt semne ce necesită un bilanț ocular complet sub anestezie generală la copilul mic.^{15,29,32}

Cataracta congenitală prezintă trei aspecte diferite^{5,7}:

- forme totale bilaterale, neonatale când sugarul prezintă o tulburare de comportament, privire inexpressivă, nistagmus, leucocorie și mai rar strabism;

- forme parțiale bilaterale când acuitatea vizuală este scăzută și nu se constată strabism;

- forme unilaterale sau cu predominanță unilaterală, când sugarul sau copilul prezintă strabism manifest, leucocorie unilaterală ce determină ambliopie unilaterală.

Copilul este adus de părinți la medic pentru pupile albe (leucocorie) și mai rar pentru strabism. Examenul oftalmologic la copilul nou-născut și sugar trebuie să se conformeze unui anumit protocol.

Examenul trebuie să se desfășoare în liniște iar gesturile cele mai traumatizante se vor face la sfârșitul examenului.⁶ Copilului i se va administra un sedativ ușor înainte de examinare sau se va face sub anestezie generală.

Acuitatea vizuală încă din prima lună se măsoară cu testul Teller. Nu se măsoară decât o acuitate vizuală în prag de sensibilitate la contrast.⁶ Tehnica privirii preferențiale asigură o măsurătoare rapidă și exactă la copiii care nu au ajuns la vârsta vorbirii.

Copilul este așezat pe genunchii părinților la 50 cm de o despărțitură conținând 2 ecrane circulare. Pe un

ecran este proiectat un grilaj iar pe celălalt un câmp omogen. Se observă ochii copilului și mișcările capului pentru a determina care din ecrane este preferat, stabilindu-se astfel acuitatea vizuală.

Acuitatea pe obiect²⁹, determină acuitatea vizuală pe principiul privirii preferențiale arătându-i-se copilului o minge. Se calculează astfel:

$$A_v = \frac{\text{Dis tan ța obiectului(mm)} \times 0,00145}{\text{Mărim ea obiectului(mm)}}$$

Testul de imagini²⁹ scoate în evidență nu numai acuitatea vizuală ci și înțelegerea copilului în numirea imaginilor prezentate. Se prezintă copilului imaginile una câte una, serii de imagini la distanță și apropiere, copilul numind obiectele observate. Se mai folosesc: testele Kolt sau H, vederea la punct, testul LH.

Testul Kolt²⁹ se efectuează prezentând copilului o planșă cu patru simboluri iar copilul apasă pe un buton care declanșează o melodie în cazul în care se recunoaște simbolul, stimulând astfel și instinctul de joacă.

Testele LH și H constau în prezentarea pe rând a patru serii de obiecte sau simboluri de la distanță și de aproape, copilul fiind pus să le recunoască.

Vederea la punct²⁹ determină acuitatea vizuală în funcție de mărimea punctului urmărit de copil la mișcarea la dreapta sau la stânga a unui punct. Se cercetează și clipirea de amenințare și urmărirea oculară.

Lumina intermitentă permite aprecierea în afara fixatiei a poziției ochilor.

Acuitatea vizuală nu este cifrabilă înainte de 2,5-3 ani.⁶ Acuitatea vizuală la copiii foarte mici se poate determina prin proiecția luminii în fiecare ochi succesiv.^{20,24} Dacă fixează central și stabil, acuitatea vizuală a ochiului testat poate fi considerată normală. Dacă fixația este stabilă dar excentrică, acuitatea vizuală este slabă. Dacă fixația nu este nici centrală, nici stabilă, acuitatea vizuală este foarte slabă.

Copilul mic cu ambliopie pronunțată^{20,24} la acoperirea ochiului cu vederea bună va face o mișcare reflexă de apărare ceea ce semnifică scăderea vederii.

Testul de acoperire a ochilor este important și în stabilirea aliniamentului ocular.²⁹

Reacția la atenția vizuală²⁹ constă în stimularea vizuală și observarea expresiei, gesturilor copilului la un anumit stimul vizual. Normal va apare aceeași reacție vizuală la repetarea testului.

Reacția la întoarcere după stimul a privirii, capului sau corpului – exprimă interesul pentru stimulul vizual al copilului. Același efect se produce la retestare.²⁹

Pentru copiii mici s-au inventat o serie de optotipuri cu figuri variate, chiar jucării. Din cauza fenomenului de aglomerare se preferă optotipuri izolate: Plüger-E și Landolt-C.²⁹ Cele mai utilizate sunt optotipurile decimale, mai ales semnele Ammon.¹³

Se mai pot da în mână copilului figuri geometrice sau semne, dintre care va alege cea mai corespunzătoare cu semnul arătat pe optotip.

Refracția se studiază sub atropină cel mai bine cu refractometre automate. Reflexul fotomotor se examinează într-o cameră semiobscură datorită miozei la nou-născut. La prematur poate fi necesară o stimulare luminoasă de mare intensitate înainte de examinare.⁶

La examinarea nistagmusului optocinetic monocular, răspunsul este asimetric până la patru luni. El devine simetric între 4-8 luni. Până la 2 ani, un răspuns asimetric nu este considerat patologic. Dacă vederea binoculară nu se dezvoltă corect, răspunsul optocinetic rămâne asimetric pe ambii ochi. Nistagmusul optocinetic poate fi declanșat și de absența vederii centrale.

Tulburările grave de transparență determină alterarea sensibilității la contrast pentru toate frecvențele.

Evaluarea vederii binoculare se face la²⁹:

- lentile colorate (Worth, Shober);
- lentile de polarizare (Pola, Titmus);
- oglinzi (sinoptofor);
- prisme (prisme verticale);
- lentile Bagolini;
- imagini cu umbre (Lang).

Evaluarea vederii stereoscopice se face încă de la 6 luni, copilul căutând să prindă desenele.

Lentilele Bagolini se folosesc în vederea examinării vederii binoculare în condiții normale. Lentilele sunt orientate la 45° la stânga și 135° la dreapta. Pacientul privește spre sursa de lumină prin lentile, de la apropiere și de la distanță. Fiecare ochi va percepe o direcție diferită a razei de lumină.

Dacă vederea binoculară este labilă, lentilele vor dezorienta pacientul, care va descrie:

- locul și modul de încrucișare a razelor;
- strălucirea și lungimea razelor;
- diplopia și pauza dintre raze.

Testul Worth (testul de merit) constă în acoperirea ochiului drept cu lentilă roșie și a ochiului stâng cu lentilă verde. În camera întunecată se pot vedea 4 lumini, iar cea albă se va colora în culoarea lentilei ochiului dominant. Pacientul va spune culoarea luminilor ce le vede și câte lumini vede.

În ortofozie și strabism convergent cu corespondență retiniană anormală armonioasă pacientul vede cele 4 orificii. În strabismul convergent cu corespondență retiniană normală crucea se dedublează și se văd 5 figuri. În strabismele cu neutralizare, pacientul vede ori două teste roșii, ori trei teste verzi.

Testul Lang (testul cu 2 stilouri) constă în a ruga pacientul să unească capetele ascuțite a două stilouri situate unul într-o mână iar celălalt în cealaltă mână. Se efectuează testul binocular și monocular.

Fenomenul Pulfrich constă în impresia de rotire în cerc a unui pendul în mișcare plasat în fața ochiului acoperit cu o lentilă roșu închis a pacientului.

Testul Lang folosește imagini dispartate pe fundal gri. Planșa se va plasa la 40 cm, cerându-i-se pacientului să găsească imaginile ascunse. Imaginile pot fi percepute numai în prezența funcției binoculare. Testul

se face la copiii mici prin arătarea imaginilor, iar copiilor mai mari li se cere să numească imaginile. Testul este ușor de parcurs și nu implică alte instrumente sau ochelari de polarizare.

Testul Titmus – pacientul folosește ochelari de polarizare. Plășa nu va fi mișcată și este plasată la 40 cm de pacient.

Există 3 teste diferite:

- a) musca: se testează stereoscopia grosieră;
- b) seria de animale, când pacientul va indica animalul prezentat stereoscopic;
- c) cercurile: test care măsoară nivelul de stereoscopie în funcție de ultimul cerc arătat corect.

Testul Frisby constă în observarea stereoscopică a unui cerc plasat într-una din cele 4 zone ale cartonului, cerc în relief existent pe 3 cartoane cu grosimi diferite. Copilul va arăta cercul. Acest test este potrivit pentru copiii mici.

Sinoptofor – test Pola. Stereotestul pe sinoptofor folosește imagini stereoscopice. Testul Pola folosește ochelari speciali care prezintă obiecte polarizate.

Testul Bruckner este folosit la copiii mai mici sau cu handicap, când fixarea nu poate fi determinată prin alte metode. Constă în direcționarea luminii prin oftalmoscop, astfel ca ochii pacientului să fie iluminați simultan de la o distanță de 1 m.

Strălucirea în cele 2 reflexe este comparată. Dacă unul din reflexe este mai strălucitor, problemele se identifică la acel ochi. În cazul fixării excentrice, ochiul deviat are reflexul de strălucire și de roșu mai mare.

Examenul instrumental⁴ se face cu răbdare și delicatețe. Examenul la lumina zilei evidențiază numai partea centrală a cristalinului, zona sa periferică fiind acoperită de iris.

Examinarea cu o sursă luminoasă și lupa binoculară permite examinarea corneei, pupilei, licărirea pupilară în toate sectoarele (dacă este absentă sau prezentă) și examinarea culorii ei.

Luminatul lateral⁵ folosește un fascicul de lumină convergent produs de o sursă de lumină și o lentilă biconvexă care este proiectat pe suprafața de examinat. Se poate examina cu ochiul liber (luminat lateral simplu) sau printr-o lupă (luminatul lateral combinat).

Examenul biomicroscopic⁶, permite aprecierea gradului de opacifiere a cristalinului prin examinarea umbrei lăsate de iris pe cristalin. Dacă straturile mijlocii sunt opacificate, în pupilă se vede o semilună de umbră situată de partea sursei luminoase, restul fiind cenușiu.

Pupilometrie. Pupilometrul de comparație este o bandă de carton (pupilometrul Haab) sau o placă de sticlă (pupilometrul Follin) pe care sunt desenate diametre de 1 - 11 mm. Se va compara pupila subiectului cu aceste cercuri, stabilindu-se dimensiunea ei. Pupilometrele cu radiații infraroșii permit înregistrarea reflexului pupilar direct și a reflexului pupilar consensual. Pupilometrele diferențiale (Sander, Engel) măsoară pragul de excitabilitate fotomotorie.

Oftalmoscopia⁷ se practică la sfârșitul examinării. Se instilează un midriatic slab cu ½ oră înaintea

examinării, 1 picătură de homatropină 0,5%. Dacă dilatarea este insuficientă sau efectul este lent, 12 - 20 minute mai târziu se instilează 1 picătură de neosinefrină 5% și o picătură tropicamidă 5%. Dacă cristalinul are opacități, ele apar negre pe fondul roșu al pupilei.

Tensiunea oculară se va determina prin explorare digitală sau instrumentală.

Tensiunea intraoculară poate fi apreciată cu ajutorul unor metode ce realizează o deformare parietală mai mare sau mai mică prin indentații sau aplanatii, printr-o măsurătoare în echilibru sau instantanee cu control și citire optică sau automată cu sau fără transcripții grafice, cu sau fără contact corneean. Examele complementare vor completa examenul clinic general.⁶

La sugari sunt realizate șase tipuri de examene: explorare radiologică, scanerul, ecografii în mod A și B, electroretinograme (ERG), potențialele vizuale evocate (PEV).

Ecografia poate determina grosimea și poziția cristalinului.^{18,31,36} Folosită în scop diagnostic, ea permite diferențierea unui cristalin normal de unul opacifiat. Diagnosticarea unui cristalin opacifiat se traduce printr-o creștere a ecogenității cristalinului.^{30,36} Ecografia nu poate pune însă în evidență decât opacitățile importante. Determinarea dimensiunilor camerei anterioare, grosimii cristalinului și a axului antero-posterior prin ecografie este necesară copiilor cu cristalin cataractat ce urmează a fi supuși intervenției chirurgicale cu implant de cristalin. Constatarea unei anomalii oculare la examenul ecografic, dat fiind că de cele mai multe ori aceste anomalii se integrează într-un sindrom malformativ, reprezintă un motiv de cercetare pentru descoperirea și altor malformații.

Biometria clinică la copil folosește în scop diagnostic și prognostic în cataracta congenitală. S-a constatat³⁵ că lungimea globului ocular la copiii cu cataractă până la 18 luni este mai mică decât la cei fără cataractă. Calcularea valorii pseudofacului este o altă aplicabilitate a biometriei.

Electroretinograma are rolul de a pune în evidență prezența undeii „a” și a undeii „b” care traduc o bună funcționare retiniană.²⁴ O alterație marcată a ERG, negativă sau stinsă, arată că tulburarea este de cauză retiniană. O cataractă totală diminuează puțin amplitudinea undelor ERG. Suspiciunea unei cecități la sugar necesită completarea examenului clinic cu ERG. Dacă PEV și ERG sunt normale și funcția vizuală este normală. Dacă PEV este conservată și ERG stinsă, există alterații ale retinei. În afecțiunile bilaterale ale căilor optice (atrofii optice) PEV sunt sărace și alterate. În afecțiunile unilaterale ale căilor optice există o asimetrie de înregistrare.

Examele de laborator – glicemia, VSH-ul, hemoleocograma, azotemia, examenul de urină, timpul de sângerare și timpul de coagulare – ajută în stabilirea unui diagnostic corect.³⁹

Erorile metabolice pot fi detectate prin dozarea enzimelor în celule izolate (leucocite, eritrocite) sau în fibroblaști cutanați în culturi de celule.⁷ Prin studiul

leucocitelor pot fi identificate cel puțin 35 de tulburări metabolice și un număr la fel de mare pentru eritrocite. O serie de enzime nu pot fi detectate însă în aceste celule. Tehnologia ADN-ului recombinat a permis identificarea genelor mutante și precizarea defectului primar.

Examinarea oculară este necesară încă din maternitate urmată de controale periodice în vederea depistării cât mai precoce a tulburărilor vizuale.³⁴

Un studiu britanic efectuat pentru depistarea cataractelor congenitale și a cataractelor infantile a găsit un număr de 235 cazuri cu cataractă congenitală depistată în proporție de 35 % la examinarea atentă după naștere și 12 % cazuri depistate la 6-8 săptămâni de la naștere. Dintre aceste cazuri, 36% au prezentat și acuze simptomatice, jumătate din acestea au fost reexamineate de un oftalmolog la 3 luni, iar 1/3 au fost examinate la un an.³⁵

Examinarea atentă a oricărui copil nou-născut, sugar prin examen clinic general va putea conduce la depistarea unor sindroame malformative asociate cu cataractă congenitală sau a unor boli metabolice cu repercusiuni asupra analizatorului vizual.

BIBLIOGRAFIE

1. ABRAHAMSSON M, MAGNUSSON G, SJOSTROM A et al - *The Occurrence of Congenital Cataract in Western Sweden*, Acta Ophthalmologica Scandinavica, 1999, 77:578-580
2. BERMEJO E, MARTINEZ FRIAS M - *Congenital Eye Malformations: Clinical-Epidemiological Analysis of 1124654 Consecutive Births in Spain*, American Journal of Medical Genetics, 1998, 75:497-504
3. BUIUC S - *Metode de examinare a ochiului, principii teoretice și practice de oftalmologie*, Editura Tehnopress, Iași, 2000, 248-267
4. BUIUC S, JOLOBCEASTAI L - *Oftalmologie practică*, vol I-II, Editura Junimea, Iași, 1980-1981
5. CERNEA P, CONSTANTIN F - *Explorări funcționale în oftalmologie*, Editura Junimea, Iași, 1975
6. CERNEA P, SIRETEANU LIANA - *Cristalinul*, Tratat de oftalmologie, Editura Medicală, București, 2002, 484-492
7. CERNEA P - *Anomaliile ale cristalinului*, Anomaliile oculare congenitale, vol I, Editura Medicală, București, 1988, 194-217
8. CERNEA P, MUNTEANU GH - *Opticopatia*, Editura Medicală, București, 1983
9. Cervera Bravo A, Planas Sebastian M, Alarabe A Alarde et al - *Hiperferitinemia aislada en un lactante sano: síndrome hereditario de hiperferitinemia y cataractas*, Anales españoles de pediatría, 2000, 52:70-267
10. CUSHNIR VN, VOVK EM - *The role of HBV-infection in development of cataracts in children and adults*, Oftalmologia, 1997, 41:22-318
11. DUMITRACHE MARIETA - *Oftalmologie*, Editura Națională, București, 1998, 133-134
12. FODOR F, SIRETEANU LIANA - *Oftalmologie*, Editura Didactică și Pedagogică, București, 1981
13. FODOR F, POP D, POPA DOINA - *Oftalmologie infantilă*, Editura Medicală, București, 1983, 135-141
14. GEORMĂNEANU M, MUNTEAN I - *Pediatrie*, Editura Didactică și Pedagogică RA, București, 1995, 47-51, 108-111
15. GEORMĂNEANU M, ROȘIANU SABINA - *Patologia sugarului și copilului mic*, Editura Medicală, București, 1975, 62-70
16. IORDACHESCU F - *Pediatrie*, vol II, Editura Națională, București, 1998, 1138-1164
17. IORDĂNESCU CARMEN, JURJA SANDA - *Oftalmologie practică*, Editura Medicală, București, 1999, 109-114
18. KOOS MARIE-JEANNE - *Ecografia în oftalmologie*, Editura Solness, Timișoara, 1998, 67-76
19. LAIBSON PETERS R - *Year Book of Ophthalmologie 1993*, Arch Ophthalmol, 110:1607-1609, 1992, 244-248
20. MAGRAM I - *Amblyopia-Etiology Detection and Treatment*, Pediatr Rev, 1992, 13:7-14
21. MANOLESCU D - *Oftalmologie*, Editura Medicală, București, 1958, 541-543
22. NELSON LB - *The Visually Handicapped Child*, Pediatr Rev, 1984, 6:173-182
23. NUCCI P - *Di nuova sull IOL in eta pediatrica ci siamo persi qualcosa?*, L'oculista italiano, 2001, 129/130:34-37
24. OLTEANU M et al - *Tratat de oftalmologie*, vol I, Editura Medicală, București, 1989, 192-378
25. OLTEANU M, STANCIU DANIELA, BANACU I et al - *Actualități în oftalmologie 1981/1982*, Editura Centrala Industrială de Medicamente, București, 92
26. OLTEANU M, FILIP M, BANACU I et al - *Actualități în oftalmologie*, Editura Centrala Industrială de Medicamente, București, 1984, 2:69-72
27. OLTEANU M, FILIP M, BANACU I et al - *Implantare secundară de cristalin artificial*, Actualități în oftalmologie, 1987, Editura Centrala Industrială de Medicamente, București, 5:140-145
28. PAUNESCU PODEANU A - *Baze clinice pentru practica medicală*, Editura Medicală, București, 1983, 422-423
29. PELZ R - *Module de curs*, prezentat la seminarul organizat la Constanța, 2002, proiectul ODILE
30. POP R - *Oftalmologie*, Editura Cărții de Știință, Cluj-Napoca, 1995
31. POP T - *Diagnostic cu ultrasunete*, Editura Medicală, București, 1982
32. RESTIAN A - *Diagnosticul medical*, Editura Dacia, Cluj-Napoca, 1988
33. RAHI JS, DEZATEUX C - *National cross sectional study of detection of congenital and infantile cataract in the United Kingdom: role of childhood screening and surveillance*, BMJ, 1999, 318:5-362
34. STANCIU C - *Semiologie medicală*, Curs UMF, ediția a II-a, 1992, 33-35
35. STĂNILA ADRIANA - *Cristalinul*, SC POL Sibiu SA, Sibiu, 2001, 78-89
36. STĂNILA ADRIANA - *ABC în oftalmologie*, Editura Tribuna, Sibiu, 1997, 19-29, 121-130
37. STĂNILA ADRIANA, SĂCELEANU AM, MIHAI E et al - *Oftalmologie-ghid practic*, Editura Imago, Sibiu, 2000
38. ȘTEFANIU I, NIȚULESCU C, ZENBA M et al - *Recuperarea funcțională în cataracta congenitală unilaterală-caz clinic*, Oftalmologia, 42:3-71
39. VLAD P - *Breviar de chirurgie oculară*, București, 1989, 136-138, 154-155

Biopsia hepatică transcutanată

D. Georgescu¹, Imola Török¹, Anca Sin²

Un diagnostic corect al afecțiunilor hepatobiliare nu este posibil fără biopsia hepatică. Aceasta rămâne "standardul de aur" în diagnosticul celor mai multe afecțiuni hepatice și frecvent este folosită și pentru aprecierea prognosticului și eficienței măsurilor terapeutice. Problemele majore pe care le ridică folosirea metodei sunt evitarea complicațiilor și obținerea de punctate corespunzătoare. Pentru cele mai bune rezultate sunt esențiale trei elemente: o indicație corectă, respectarea contraindicațiilor și o tehnică de execuție corectă. Autorul face o trecere în revistă a tuturor acestor aspecte, actualizate cu date din literatura de specialitate și din experiența personală.

Cuvinte cheie: biopsie hepatică, histologie, morfopatologie

A detailed diagnosis for hepatobiliary disease is impossible without liver biopsy. This method remains the "gold standard" in diagnosis of most liver diseases and frequently is performed to assess prognosis and to monitor therapy. The major concern of the method is to avoid complications and to obtain a good histological sample. For best results, three requirements are essential: a precise indication, excluding contraindications and the correct performance of the biopsy. The author is making an overview of all this aspects with up to date data from the literature and personal experience.

Key words: liver biopsy, histology, pathology

Deși practică de mai bine de un secol, biopsia hepatică și interpretarea modificărilor histologice ale ficatului ocupă un loc aparte în diagnosticul și tratamentul pacienților cu hepatopatii acute sau cronice. Ultimele decenii au adus noi metode de evaluare a modificărilor histologice, prin diversele scoruri de evaluare (Knodel, Ishak, Metavir), precum și noi tehnici histologice de mare acuratețe, cum sunt colorațiile speciale (tricromă, reticulină, Pearls modificată, PAS, orceină), imunohistochimia pentru antigene virale, componenți ai matricei intercelulare, receptori de suprafață a celulelor infiltratului inflamator, microscopie electronică, metode cantitative de dozare a cuprului, fierului și porfirinelor sau a diferitelor enzime, identificarea materialului genetic viral în ficat prin reacția de polimerizare în lanț, chiar în condițiile absenței acestuia în sânge.^{2,3}

ISTORIC

Prima biopsie hepatică a fost efectuată de către P. Erlich în anul 1880 la un diabetic. În anii următori biopsii hepatice sporadice au fost efectuate de către L. Lucatello (1895), F. Schupfer (1907), A. Bingel (1923).¹³ Treptat, biopsia hepatică se afirmă ca o metodă sistematică de diagnostic și se pune la punct un instrumentar specific metodei, practică la serii largi de bolnavi de către I. Silverman (1938), P. Iversen (1939), Kofler W. (1940).^{13,10} Intrarea biopsiei hepatice în practica curentă se face abia după anul 1957, când G. Menghini pune la punct prima metodă de biopsiere a ficatului fără trocar, metodă care îi poartă numele și este cea mai folosită și astăzi.^{13,17} În anul 1964 Wang Hsin-Fang efectuează prima biopsie hepatică ghidată ultrasonografic iar în anul 1983 L. Greiner efectuează prima biopsie hepatică ghidată computer-tomografic.¹³

INDICAȚII

Indicațiile metodei sunt foarte largi, ele trebuind judecate în contextul celorlalte modificări clinice, biologice și imagistice. O sistematizare a acestora din punctul de vedere al patologului este următoarea:^{2,3,15}

¹Clinica Medicală 1, Universitatea de Medicină și Farmacie, Târgu-Mureș

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

Adresa pentru corespondență: Dr. Dan Georgescu, Clinica Medicală 1, Universitatea de Medicină și Farmacie, Târgu-Mureș, Str. Gheorghe Marinescu 38

1. Elucidarea cauzei unei hepatomegalii. Aceasta poate reflecta din punct de vedere anatomopatologic infiltrat inflamator, steatoză, congestie, depozitare de amiloid, cupru, fier sau produși ai metabolismului intermediar a glucidelor sau lipidelor, granuloame, tumori primare sau metastatice. Este de la sine înțeles că în fiecare din aceste cazuri numărul bolilor hepatice care intră în discuție este foarte mare, acoperind practic întreg domeniul de activitate al hepatologiei, biopsia hepatică fiind indicată în aproape toate afecțiunile hepatice.

2. Evaluarea unei hepatite cronice. Termenii de hepatită cronică persistentă și activă au fost înlocuiți cu unul din scorurile menționate, cel mai folosit fiind scorul Knodell. Diagnosticul corect al unei hepatite cronice cuprinde astăzi etiologia (virală B, C, D, G, autoimună, medicamentoasă, steatohepatita, etc), gradul activității necroinflamatorii (ușor, moderat, sever – cu nota corespunzătoare scorului folosit) și stadializarea fibrozei (ușoară, moderată, severă sau ciroză – cu nota corespunzătoare scorului folosit). Scorurile numerice nuanțează mai mult gradul și stadiul afectării hepatice și permit o mai bună urmărire în timp a evoluției bolii. Folosirea scorurilor a reprezentat un mare pas în încadrarea nozologică unitară a pacienților cu hepatite cronice, încadrare care a dus la posibilitatea unor studii multicentrice largi și la o conduită terapeutică codificată și unitară, precum și la limitarea subiectivismului examinatorului. Nu în ultimul rând biopsia hepatică aduce și multe considerații etiologice, dar acestea trebuie întotdeauna coroborate cu datele paraclinice, în special în hepatitele cronice virale și autoimune.

3. Stadializarea unei boli hepatice cunoscute. Boli cu istorie naturală cunoscută, cum sunt hepatopatia etanolică, ciroza biliară primitivă, colangita sclerozantă primară, trec prin stadii histologice bine definite, care au corespondent clinic evident doar în fazele terminale, de ciroză. Astfel se evaluează steatoza și fibroza din hepatopatia etanolică sau cele patru stadii caracteristice ale cirozei biliare primare.

4. Etiologia unei formațiuni tumorale hepatice. Stabilirea benignității sau malignității, iar în ultimul caz a originii primare sau secundare, a tipului histologic și gradul de diferențiere sunt capitale în instituirea conduitei terapeutice. Biopsia hepatică din formațiune, ghidată ecografic sau computer-tomografic este de mare valoare în aceste împrejurări.

5. Diagnosticul precoce al cirozei hepatice. Biopsia hepatică ne arată dacă ficatul este cirotic sau nu, iar în această ultimă eventualitate ne arată dacă obstacolul este sinusoidal, perisinusoidal sau portal. Transformarea nodulară a ficatului, nodulii de regenerare hiperplazici, boala hepatică granulomatoasă pot fi diagnosticate cu acuratețe prin examenul histologic.

6. Icterele și colestaza de etiologie neprecizată, mai ales dacă nu sunt dilatale căile biliare intrahepatice, reprezintă o altă indicație a biopsiei hepatice.

7. Monitorizarea rejetului și altor complicații ale transplantului hepatic. În această situație biopsii

hepatice seriate se practică după un protocol bine stabilit, precum și în cazul deteriorării clinice. Se ajustează astfel tratamentul imunosupresor și se pot recunoaște eventualele recurențe ale hepatitelor virale.

8. Obținerea de date secvențiale pentru conducerea terapiei în diverse boli hepatice sau extrahepatice. Protocoalele terapeutice pentru hepatitele cronice virale sau autoimune presupun biopsii hepatice seriate. La fel și studiul hepatotoxicității unor medicamente (ex. metotrexat, antituberculoase).

9. Sindromul febril de etiologie neprecizată, stadializarea limfoamelor maligne, hepatitele acute cu evoluție atipică, steatoza hepatică, bolile metabolice hepatice și teaurismozele hepatice reprezintă indicații mai rare ale biopsiei hepatice.^{2,3,13}

Indicațiile metodei fiind atât de largi, acoperind practic întreaga patologie hepatică, iar numărul pacienților fiind foarte mare, se impune o serie de precizări: vom practica biopsia atunci când celelalte examinări nu au putut tranșa diagnosticul, când biopsia poate modifica conduita terapeutică sau poate aduce informații prognostice importante. Este de subliniat faptul că fiind o metodă cu risc, pacientul trebuie întotdeauna să aibă un beneficiu cert de pe urma metodei.^{13,17,22}

SELECȚIA PACIENȚILOR

Selecția pacienților cărora urmează a li se practica biopsia este un act deosebit de important, care este recomandabil să fie efectuat chiar de medicul care efectuează biopsia.¹³ Întrunirea unor anumiți parametri ai hemostazei și coagulării este cel mai important criteriu de selecție. Pacienții trebuie să aibă numărul de trombocite peste 70 000/mm³ (100 000/mm³ după unii autori), timpul de protrombină maximum 4 secunde crescut față de martor, timp de sângerare și coagulare normale.^{2,3,4,28} Foarte adesea acești parametri sunt alterați la pacienții cu boli hepatice, deci înregistrarea acestora cu o mare acuratețe și cu mult discernământ, mai ales în ceea ce privește posibilele erori de laborator este de mare importanță. În cazul alterării acestor parametri este necesară urmărirea lor în dinamică, lărgirea explorării hemostazei și coagulării și reevaluarea pacientului, având în vedere faptul că de multe ori acești parametri au o evoluție ondulantă și se poate găsi un moment favorabil pentru biopsie.¹⁵ Este la fel de importantă chestionarea bolnavului cu privire la existența sindromului hemoragipar și a reacțiilor alergice. Este obligatorie efectuarea unei ecografii hepatice, pentru a depista eventualele hemangioame, chiste, dilatări ale căilor biliare, anomalii de poziție ale colonului sau colecistului. Este importantă efectuarea unei electrocardiografe la pacienții peste 40 de ani.^{16,17} Obșnuim mai nou completarea unui mic formular cu explorările menționate.

Bolnavului i se va explica în ce constă metoda, se va pune accent pe beneficiile terapeutice care vor urma și se va obține acordul verbal, în unele situații scris, care va fi consemnat în foaia de observație.^{4,10,16}

CONTRAINDICAȚII

Contraindicațiile metodei sunt numeroase, identificarea și respectarea acestora fiind de o importanță deosebită: alterarea parametrilor hemostazei și coagulării sub valorile menționate, insuficiența cardiacă, insuficiența respiratorie, ascita, pleurezia și pneumonia dreaptă, icterul obstructiv și colestaza cu căi biliare dilatate, ciroza decompensată vascular, peritonita, leziuni focale hepatice ca hemangioamele și echinococoză, amiloidoză hepatică, metaplazia mieloidă cu mieloscleroză, infiltrația leucemică a ficatului, hernia diafragmatică dreaptă, pareza hemidiafragmului drept, lipsa acordului pacientului, lipsa de cooperare a pacientului.^{13,15,17,28} Pacienții cu alterări ale parametrilor hemostazei și coagulării care necesită efectuarea biopsiei hepatice sunt candidați la biopsia hepatică transvenoasă, efectuată cu un ac special atașat unui cateter introdus sub control radiologic într-o venă suprahepatică și ulterior în ficat.^{2,3,20}

TEHNICĂ

Biopsia hepatică se va efectua într-o încăpere special destinată acestui scop, sau în care se practică alte manevre invazive care presupun grad ridicat de aseptie și antisepsie. Practica efectuării biopsiei hepatice la „patul bolnavului” nu permite respectarea normelor necesare de aseptie. Trebuie acordate la îndemână toate mijloacele de tratament ale complicațiilor (lipotimii, colaps, alergii, tulburări de ritm), iar proximitatea unui serviciu chirurgical și existența facilităților pentru transfuzie sunt deosebit de importante în cazul apariției unor complicații.^{13,17}

Biopsia hepatică se practică cel mai bine dimineața, pentru a putea urmări corspunzător bolnavul în orele care succed explorarea. Puncția biopsie hepatică se practică *a jeun*, pentru a evita sindroame dispeptice și mai ales pentru ca pacientul sa aibă stomacul gol dacă se va impune o intervenție chirurgicală. Diabeticii pot să-și desfășoare programul alimentar normal.^{13,14,15,17}

Premedicația cu anticolinergice (Atropină 0,5–1 mg) la pacienții care nu au contraindicații este deosebit de importantă pentru a prevenii reacțiile vagale, mai ales la tineri. Sedarea cu Diazepam 10 mg sau Midazolam 5 mg este de luat în considerare la pacienții anxioși.^{2,3,4}

Poziția bolnavului este în decubit dorsal, cu mâna dreaptă sub ceafă, pentru a expune bine flancul drept. Se va percuta marginea superioară și inferioară a ficatului, atât în inspir, cât și în expir profund și se va marca prin zgâriere cu un ac fin spațiul intercostal ales pentru puncție, care trebuie să fie în plină matitate în expir profund și între liniile axilare anterioară și posterioară.^{14,17} Obişnuim ca locul biopsiei hepatice să îl alegem percutoric iar ulterior să verificăm ecografic traiectul acului, pentru a ne asigura că puncționăm ficatul și a nu intercepta vase hepatice sau căi biliare de calibru mai mare. Verificarea ecografică a locului și traiectului puncției a dus la scăderea incidenței

complicațiilor și obținerea de punctate mai bune.^{1,19} Efectuarea biopsiei hepatice doar după percutorie este o metodă desuetă care începe să nu mai fie practică, având în vedere larga accesibilitate a ecografiei și marile beneficii care le aduce.^{13,19,25} Schimbarea locului puncției ales percutoric se face dacă pe traiectul ales, pe o distanță de aproximativ 6 cm, se constată prezența de vase hepatice, căi biliare, colecist, intestin, pleură.^{19,23,25} Controlul ecografic va schimba aproximativ 10% din locurile de biopsie alese percutoric.²³ Se vor efectua cu bolnavul câteva exerciții de repaus respirator în inspir și expir maxim, pentru o bună colaborare în timpul efectuării biopsiei. Tegumentele se degresează cu benzină, apoi se dezinfectează cu iod. Anestezia locală se face cu Xilină 1%, 5–10 ml, strat cu strat, începând cu dermul, țesutul subcutanat, mușchiul intercostal. Continuând progresia lentă a acului, la un moment dat vom întâmpina o rezistență ușoară, iar acul va prelua mișcările respiratorii ale bolnavului, fapt care ne indică că am interceptat capsula hepatică. În acest moment bolnavul intră în repaus respirator – pentru a nu inciza ficatul cu vârful acului – și injectăm o cantitate mică de anestezic și în capsula hepatică. Acul folosit pentru anestezie trebuie să fie cât mai fin, preferabil 21 – 22 G. După aproximativ 5 minute se practică o incizie de 1–2 mm a tegumentelor, cu o profunzime de 3–5 mm, cu ajutorul unui bisturiu lanceolat. Se face, dacă este cazul, hemostază prin compresiune, după care urmează practicarea biopsiei propriu-zise.^{2,3,13,17}

Alegerea acului de biopsie depinde de suspiciunea diagnostică și preferințele operatorului.

Cele mai folosite sunt acele Menghini, cu diametrul interior de 0,85 – 1,00 – 1,20 – 1,6 mm, ace care au bizoul în unghi ascuțit sau drept, pereții extrem de fini și marginile ascuțite și ușor îndreptate spre lumenul acului. La ac este atașată o seringă etanșă cu care se aspiră în timpul biopsiei. Acul este prevăzut cu un mandren care împiedică pătrunderea punctatului în seringă, iar seringă conține 2–4 ml ser fiziologic. Acele Menghini dau o rată mică a complicațiilor, dar folosirea lor cere îndemănare și experiență, iar rata biopsiilor nereușite este destul de mare în cazul cirozei.¹⁴ Tehnica biopsiei cu acest tip de ac este următoarea: se pătrunde cu acul prin spațiul intercostal, moment în care se aude o pocnitură, dată de fascia internă a mușchiului intercostal, moment în care se simte și o oarecare rezistență la înaintare. În acest moment se presupune că am ajuns cu acul în vecinătatea capsulei hepatice. Invităm bolnavul să inspire profund, moment în care ținem lejer siringa în mână, pentru ca acul să preia mișcările ficatului dacă din greșeală a fost introdus în acesta – situație în care se retrage câțiva milimetri. Invităm apoi bolnavul să expire profund și să păstreze apneea. Se injectează în acest moment 2 ml ser pentru a curăța lumenul acului de eventualele resturi tisulare. Se aspiră la maxim, producând în seringă și ac vacuum și se pătrunde brusc în ficat, fără mișcări de torsiune sau mișcări laterale. După introducerea, la fel de brusc, menținând aspirația în seringă, acul se retrage complet, fără mișcări de torsiune sau laterale. Întreaga manevră

durează aproximativ o secundă. Introducerea acului se face de obicei perpendicular pe planul tegumentar. Punctatul se exprimă într-un vas. Dacă nu se obține punctat, sau acesta este mic, se repetă manevra, schimbând direcția acului. Se pot face maximum 3 pasaje, cu mențiunea că fiecare din ele crește riscul hemoragiilor. De multe ori o puncție „albă” semnifică interceptarea pleurei și pătrunderea acului între diafragm și capsula hepatică, situație care impune revizuirea locului în care facem biopsia. Ficatul cirotic poate fi o altă cază de eșec a biopsiei, caz în care vom folosi un ac tăietor.^{2,3,14,17}

O alternativă o reprezintă folosirea acelor tăietoare, care realizează biopsia hepatică fără a fi nevoie de aspirație (ac „tru cut”). Principiul metodei constă în introducerea în ficat a unui mandren care prezintă o adâncitură semicilindrică, în care va intra țesut hepatic. Ulterior, peste mandren culisează un ac foarte ascuțit („teacă tăietoare”) care secționează porțiunea de ficat care a intrat în adâncitura mandrenului. Timpul manevrei fiind destul de lungi, pentru a scurta faza intrahepatică a puncției se folosesc dispozitive automate, care realizează aceste mișcări prin simpla apăsare a unui buton, situație în care biopsia este foarte simplă pentru operator, constând în introducerea acului 1-2 cm în ficat și apăsarea butonului, apoi retragerea acului în care se va afla punctatul. Metoda este simplă, eficientă în aproape toate situațiile și mai ales în cazul ficatului cirotic, dar riscul hemoragiilor este mai mare.¹⁴

În comerț există o varietate mare de ace automate, aspirative sau nu, dar prețul de cost le dezavantajează față de acul Menghini (B Braun Hepafix, Vygon), care este cel mai folosit.¹⁴

Pentru biopsiile hepatice țintite ecografic se folosesc ace aspirative prevăzute cu un mâner (B Braun Sonocan) sau ace automate care simplifică manevrele, biopsia putând fi efectuată chiar și cu mâna stângă.¹⁴

Biopsia cu ace fine tip Chiba (20 G) furnizează mai mult date citologice în tumorile hepatice, fragmentele tisulare obținându-se mai greu. Tehnica constă în progresia acului până în dreptul tumorii, sub ghidaj ecografic sau tomografic, apoi retragerea mandrenului, montarea unei seringi și prin aspirație continuă, rotire lentă și apoi retragere bruscă obținerea unui fragment tisular.¹

Alegerea diametrului acului este de mare importanță. Acele cu diametru mic 1,2 mm sau chiar 0,8 - 1 mm dau o rată mică a complicațiilor, dar calitatea slabă a punctatelor poate crește numărul pasajelor necesare, deci riscul hemoragic. Acele cu un diametru mai mare 1,4 mm - 1,6 mm (există ace și de 1,8 și 2 mm) cresc riscul hemoragic dar permit obținerea de punctate corespunzătoare la un singur pasaj. În cazul unor anomalii ale hemostazei, la vârstnici, copii, vom alege ace cu diametrul de maximum 1,2 mm și vom prefera efectuarea unui singur pasaj.^{21,24}

Fragmentul de țesut hepatic obținut, indiferent de metodă, se examinează macroscopic, apoi se fixează în formalină tamponată 10% pentru microscopia optică, în glutaraldehidă pentru microscopia electronică sau se

congelează în azot lichid pentru reacții imunohistochimice și PCR.^{2,3,13}

După biopsie se face, dacă este cazul, hemostază cutanată prin compresie, apoi se aplică pansament steril pentru 24 de ore. Pacientul va păstra repaus la pat 24 de ore, două ore pe partea dreaptă. Va păstra repaus alimentar 6 ore, iar în următoarele 24 de ore va fi urmărit din punctul de vedere al pulsului, tensiunii arteriale, examenului abdomenului, eventualele acuze subiective. În primele 2 ore, pulsul și tensiunea arterială vor fi consemnate la fiecare 15 minute.^{13,17}

Examenul macroscopic al punctatului este deosebit de important. Fragmentarea acestuia indică de multe ori restructurarea cirotică a ficatului, fiind însoțită și de o culoare gri-albicioasă a acestuia. Aspectul inhomogen al acestuia se întâlnește și în tumorile hepatice. Culoarea verzuie, accentuată la introducerea în formol, indică de obicei colestaza. În sindromul Dubin Johnson, punctatul are o culoare brun foarte închisă. Fluorescența punctatului la examenul în lumina ultravioletă - lampa Wood - este caracteristică porfirinilor; examinarea tuturor punctatelor în lumină fluorescentă fiind obligatorie. Culoarea gălbuie, ca și picăturile de grăsime din aspiratul din seringă indică steatoza.^{2,3,13,17}

COMPLICAȚII

După efectuarea biopsiei hepatice pacienții se plâng în 5-10% din cazuri de o serie de neplăceri care nu pot fi considerate complicații propriu-zise: durere epigastrică moderată, durere în hipocondrul drept, cu iradiere în spate sau în umăr, durere la mișcările respiratorii.^{3,7} Aceste fenomene sunt de intensitate ușoară și trecătoare în primele ore; de obicei nu necesită tratament, arareori se administrează analgezice minore.⁶

Complicațiile biopsiei hepatice sunt rare, unele din ele fiind însă cauză de morbiditate și mortalitate:

Hemoragia precoce (primele 2-6 ore) și hemoragia tardivă (până la 14 zile) sunt cele mai de temut complicații. Cauzele sunt secționarea ficatului cu acul de puncție, interceptarea unui ram mai mare al venei porte sau arterei hepatice, anomaliile hemostazei sau coagulării, hipertensiunea portală, staza venoasă hepatică, interceptarea unor artere diafragmatice, lezarea arterei intercostale.^{3,27,28} Simptomele pacientului pot fi foarte înșelătoare, în consecință monitorizarea hemodinamică și examenul repetat al abdomenului sunt obligatorii. Odată diagnosticată, clinic sau ecografic, sângerarea se poate trata conservator (plasmă, factori de coagulare, substituție volemică) sau chirurgical - cele mai multe leziuni putând fi rezolvate laparoscopic.¹³

Hematomul intrahepatic și hematomul subcapsular sunt tot complicații hemoragice; cele de dimensiuni mici sau foarte mici sunt frecvente și se rezolvă spontan, cele mari pot necesita intervenție chirurgicală.^{27,28}

Hemobilia este o complicație rară dar posibilă prin realizarea unei comunicări între un vas hepatic și căile biliare. De obicei se remite spontan, dar uneori necesită hemostază prin cateterism selectiv al vasului incriminat sau chiar chirurgicală. Colecistita acută prin colmatarea cisticului cu cheaguri a fost rareori raportată.^{8,27}

Puncția vezicii biliare este rareori cauzată de o poziție anormală a colecistului – se evită prin efectuarea unei ecografii abdominale și respectarea reperelor anatomice. Consecința este peritonita biliară care impune intervenție chirurgicală de urgență.¹³

Scurgerile biliare prin interceptarea unei căi biliare mai mari pot duce la coleperitoneu și peritonită biliară – cel mai adesea sunt minime, dar uneori necesită intervenție chirurgicală.¹³

Puncția colonului se evită prin respectarea reperelor anatomice și excluderea interpoziției de colon (permanente sau temporare) prin efectuarea unei ecografii abdominale²³ sau, dacă avem dubii, a unui examen radiologic „pe gol” al abdomenului. Ca o regulă generală, biopsia hepatică se practică doar în plină matitate la percucia toracelui.

Puncția rinichiului, plămânului, pleurei nu se însoțesc de regulă de complicații dar duc la eșecul metodei.²⁴

Pneumotoracele minim și hemotoracele sunt complicații rare, care de obicei se rezolvă spontan.²⁴

Infecția, respectiv abcesul hepatic, abcesul subfrenic reflectă erori grave de asepse.

Experiența serviciului nostru arată o frecvență redusă a complicațiilor, similară cu cea raportată de majoritatea autorilor: analizând 500 biopsii hepatice efectuate în ultimi 5 ani, durerea locală ușoară a apărut cu o frecvență de 12,2%, durerea severă 1%, coleperitoneu 0,4%, sincopă 0,2%, hemotorace minim 0,2%. Nu am înregistrat complicații hemoragice. Nici un bolnav nu a necesitat intervenție chirurgicală. Mortalitatea a fost 0%.

O metaanaliză a complicațiilor a 79 381 biopsii hepatice indică o letalitate de 0,015%, iar altă metaanaliză a 19 563 biopsii hepatice indică mortalitate 0.^{5,25}

BIOPSIA HEPATICĂ LA PACIENȚII AMBULATORI

Politica sanitară din ultimul deceniu a dus la efectuarea a tot mai multe manevre medico-chirurgicale în ambulator, printre care și biopsia hepatică. Rezultatele au fost foarte bune, cu respectarea următoarelor contraindicații: anomalii chiar minore ale hemostazei și coagulării; vârstă peste 50 de ani; indicația de biopsie pusă de alt medic decât cel care efectuează biopsia; diametrul acului peste 1,6 mm; efectuarea a mai mult de două pasaje; pacient cu nivel cultural redus; absența unei legături telefonice cu pacientul; domiciliul pacientului îndepărtat de spital; mijloace de transport la domiciliu necorespunzătoare; pacienți care locuiesc singuri; copiii. Frecvența complicațiilor la pacienții ambulatori a fost mai mică decât la cei internați, probabil prin selecția riguroasă a cazurilor.^{11,12,18,29} Experiența noastră pe 123 biopsii hepatice ambulatorii este foarte bună, cu doar 5 complicații minore, respectiv durere locală ușoară.

BIOPSIA HEPATICĂ LA COPII

Indicațiile și contraindicațiile metodei la copii sunt aceleași ca și la adult. Este necesar acordul scris al

părinților. Tehnica biopsiei are unele particularități legate de anatomia și gradul de cooperare al copilului. Astfel, nu se vor folosi ace cu diametrul mai mare de 1,2mm.¹³ Controlul ecografic al locului biopsiei este obligatoriu.^{10,23} Sedarea este indicată întotdeauna, cele mai bune rezultate obținându-se cu Midazolam.¹³ Operatorul neputându-se baza pe cooperarea copilului în ceea ce privește repausul respirator absolut necesar pentru practicarea biopsiei, este nevoie de o rapiditate deosebită în practicarea biopsiei cu acul Menghini, aspect care îngreunează mult tehnica. Din această cauză, folosirea acelor automate, care realizează biopsia în fracțiuni de secundă este cea mai indicată la copii, în ciuda riscului hemoragic mai mare asociat cu folosirea acestor ace.²⁶ Complicațiile biopsiei hepatice la copii nu sunt mai frecvente decât la adulți, metoda fiind considerată ca fiind sigură la orice vârstă.^{13,26,27}

BIBLIOGRAFIE

1. AHMAD M, RILEY TR – *Can one predict when ultrasound will be useful with percutaneous liver biopsy?*, Am J Gastroenterol, 2001, 96:547-549
2. BRAVO AA, SHETH SG, CHOPRA S – *Liver biopsy*, N Engl J Med, 2001, 344:495-499
3. BRUZZI JF, O'CONNELL M, MURRAY JG – *Liver biopsy*, N Engl J Med, 2001, 344:2030
4. CADRANEL JF, RUEFAT P, DEGOS F – *Practices of liver biopsy in France: Results of a prospective nationwide survey*, Hepatology, 2000, 32:477-481
5. CADRANEL JF, RUEFAT P, DEGOS F – *The risks of percutaneous liver biopsy-Reply*, Hepatology, 2001, 33:764
6. CALDWELL SH – *Controlling pain in liver biopsy, or "We will probably need to repeat the biopsy in a year or two to assess the response"*, Am J Gastroenterol, 2001, 96:1327-1329
7. CASTERA L, NEGRE I, SAMII K et al – *Pain experienced during percutaneous liver biopsy*, Hepatology, 1999, 30:1529-1530
8. COELHO JCU, BONIN EA, MAR DA COSTA et al – *Acute cholecystitis secondary to hemobilia after percutaneous liver biopsy*, Digestive Surgery, 2001, 18:227-229
9. CRAWFORD AR, LIN XZ, CRAWFORD JM – *The normal adult human liver biopsy: A quantitative reference standard*, Hepatology, 1998, 28:323-331
10. DEGOS F, BENHAMOU JP – *Liver biopsy*, In: Bircher J, Benhamou JP, Mc Intyre N (eds) - Clinical Hepatology, Oxford University Press, 1999, 541-548
11. GARCIA -TSAO, BOYER JL – *Outpatient liver biopsy: how safe is it?*, Ann Intern Med, 1993, 118:150-153
12. GHEORGHE C, APOSTEANU G, GHEORGHE L et al – *Percutaneous liver biopsy in outpatients versus inpatients*, Romanian Journal of Gastroenterology, 1997, 6:81-84
13. KUNTZ E, KUNTZ HD – *Hepatology, principles and practice*, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 2002, 128-134
14. LEBREC D – *Various approaches to obtaining liver tissue – choosing the biopsy technique*, J Hepatol, 1996, 25:20-24
15. LEFKOWITZ JH – *Pathologic Diagnosis of Liver Disease*, In: Zakim D, Boyer TD - Hepatology-A Textbook of Liver Disease, WB Saunders, 1996, 844-845
16. MAYORAL W, LEWIS JH – *Percutaneous liver biopsy – What is the current approach? Results of a questionnaire survey*, Dig Dis Sci, 2001, 46:118-127
17. MENGHINI G – *Blind Liver Needle Biopsy*, In: Fruhmorgen P, Classen M-Endoscopy and Biopsy in Gastroenterology-Tehnică and Indications, Springer-Verlag, 1980, 133-140
18. MONTALTO G, SORESI M, CARROCCIO A et al. – *Percutaneous liver biopsy: a safe outpatient procedure?*, Digestion, 2001, 63:55-60

19. MURRAY-LYON IM, R DE WILDE - *Liver biopsy: „Blind” or under ultrasound control*, Gut, 2001, 49:157
20. NEUERBURG J, GUNTHER RW - *Transvenous liver biopsy*, Fortschr Rontgenstr, 1999, 170:521-527
21. PLECHA DM, GOODWIN DW, ROWLAND DZ et al - *Liver biopsy: effects of biopsy needle caliber on bleeding and tissue recover*, Radiology, 1997, 204:101-104
22. POYNARD T, RATZIU V, BEDOSSA P - *Appropriateness of liver biopsy*, Can J Gastroenterolo, 2000, 14:543-548
23. RILEY TR - *How often does ultrasound marking change the liver biopsy site?*, Am J Gastroenterol, 1999, 94:3320-3322
24. ROCKEN C, MEIER H, KLAUCK S et al - *Large-needle biopsy versus thin-needle biopsy in diagnostic pathology of liver diseases*, Liver, 2001, 21:391-397
25. ROSSI P, SILERI P, GENTILESCHI P et al - *Percutaneous liver biopsy using an ultrasound-guided subcostal route*, Dig Dis Sci, 2001, 46:128-132
26. SCHEIMANN AO, BARRIOS JM, AL-TAWIL YS et al. - *Percutaneous liver biopsy in children: Impact of ultrasonography and spring-loaded biopsy needles*, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2000, 31:536-539
27. SYCZEWSKA MW, KRUSZEWSKI T, KACZMARSKA AB - *Complications of percutaneous liver biopsy*, Romanian Journal of Gastroenterology, 2002, 11:105-107
28. TOBKES AI, NORD HJ - *Liver biopsy: review of methodology and complications*, Dig Dis, 1995, 13:267-274
29. VIVAS S, PALACIO A, RODRIGUEY M et al - *Ambulatory liver biopsy: complications and evolution in 264 cases*, Revista Espanola de Enfermedades Digestivas, 1998, 90:179-182



Aspecte cardiovasculare și aterogene în disfuncțiile tiroidiene subclinice

Cristina Corina Radu

Hipotiroidismul subclinic este definit ca o stare în care pacienții prezintă concentrații serice crescute ale hormonului tireotrop (TSH), cu nivele normale ale tiroxinei și triiodotironinei libere (FT₄ și FT₃), în absența semnelor de hipotiroidism. Afectarea sănătății include simptome generale și efecte asupra sistemului cardiovascular și metabolismului lipidic. Decizia introducerii tratamentului hormonal de substituție sau doar o simplă urmărire a pacientului depinde de natura și severitatea modificărilor clinice și biochimice și dacă riscul complicațiilor este mai mare cu sau fără tratament.

Hipertiroidismul subclinic este definit ca o stare în care nivele periferice ale hormonilor tiroidieni sunt normale, iar TSH-ul seric scăzut. Simptomele sunt absente, vagi sau nespecifice. Afectarea sănătății include simptome generale, efecte asupra sistemului cardiovascular și scăderea densității osoase. Creșterea incidenței fibrilației atriale și a mortalității asociată cu această boală este îngrijorătoare. În ceea ce privește tratamentul, datele din literatură sunt contradictorii.

Cuvinte cheie: hypo-/hipertiroidism subclinic, lipoproteine

Subclinical hypothyroidism is defined as a condition in which patients, without manifested symptoms, display elevated serum thyrotropin (TSH) concentrations, but still normal free-T₄ (FT₄) and free-T₃ (FT₃) levels. The health implications include general symptoms, effects on the lipid metabolism and the cardiovascular system. The decision to treat subclinical hypothyroidism or to simply follow the patient depends on the nature and the severity of clinical and biochemical abnormalities and whether the risk of complications is higher with or without treatment.

Subclinical hyperthyroidism is defined as a situation where the levels of the peripheral thyroid hormones are normal but serum TSH is low. Symptoms are absent or vague and nonspecific. The health implications include general symptoms, effects on the cardiovascular system and decreased bone density. The increased frequency of atrial fibrillation and the increased mortality reported are especially worrisome.

It is not clear whether subclinical hyperthyroidism should be treated or not.

Key words: subclinic hypo-/hyperthyroidism, lipoproteins

Hipotiroidismul subclinic ("insuficiența tiroidiană minimă") reprezintă o stare patologică caracterizată biologic prin valori serice crescute ale TSH-ului asociate cu valori ale FT₄ și FT₃ în limite normale, iar clinic prin absența simptomelor de hipotiroidism. În funcție de nivelul seric al TSH-ului se pot descrie trei grade de hipotiroidism subclinic: I - TSH peste valoarea normală, dar nu mai mare de 10 mU/l; II - TSH între 10,1-20 mU/l; III - TSH peste 20 mU/l.¹⁰

Prevalența hipotiroidismului subclinic

Hipotiroidismul subclinic este relativ frecvent. Prevalența bolii acceptată inițial este între 2,5 și 10,4%, în funcție de vârstă și sexul populației studiate. Procentul este mai ridicat la femei, peste 60 ani. În

studiul Framingham la pacienții peste 60 de ani s-a constatat o creștere a valorilor TSH la 10,4% din cei 2139 subiecți analizați; dintre aceștia 2,5% aveau hipotiroidism manifest, iar 7,9% hipotiroidism subclinic.³² În SUA 2% din femeile însărcinate au hipotiroidism subclinic, din acestea 58% prezentând anticorpi antitiroidieni. Bolnavii cei mai expuși sunt vârstnicii (la care prevalența poate fi impresionantă, ajungând până la 14%)³⁰, cei cu boli autoimune extratiroidiene și cei cu diabet zaharat tip 1.^{37,41}

În concluzie, prevalența hipotiroidismului subclinic crește cu vârsta, este mai mare la femei și la persoanele cu anticorpi antitiroidieni pozitivi.⁴²

Etiologia hipotiroidismului subclinic

Cauzele hipotiroidismului subclinic sunt aceleași cu ale hipotiroidismului primar manifest: cel mai frecvent boli tiroidiene autoimune, după tratamentul chirurgical sau cu iod radioactiv a bolii Basedow-

Graves sau gușii multinodulare toxice, în cursul tratamentului cu antitirodieni de sinteză, săruri de litiu sau amiodaronă, după iradierea externă a regiunii cervicale și a extremității cefalice pentru limfoame sau alte tumori maligne, gușă dishormonogenetică, deficit de aport iodat, tratament subdozat cu hormoni tiroidieni la pacienți cu hipotiroidism manifest.^{9,10,26}

Transformarea hipotiroidismului subclinic în forma clinic manifestă poate fi corelată cu nivelul seric crescut al anticorpilor antitiroidperoxidază sau al TSH-ului, înregistrându-se o progresie aproximativă a bolii de 5-10% anual, în funcție de populația studiată.^{34,43}

Manifestările generale

Sunt prioritar subiective și inconstante: astenie, intoleranță la frig, crampe musculare, tegumente uscate, constipație.

Manifestările cardiovasculare

Cel mai comun simptom este bradicardia. Hipertensiunea arterială diastolică a fost găsită la 20% dintre pacienți; s-au mai pus în evidență: microvoltaj pe electrocardiogramă, scăderea contractilității miocardice, miocardiopatie hipertrofică și revărsat pericardic. Intervalul de timp sistolic este alungit, iar fracția de ejeție a ventriculului stâng nu crește după efort. Aceste modificări sunt minime sau chiar absente la pacienții fără anomalii cardiace preexistente, dar sunt cu atât mai importante cu cât aceste anomalii sunt prezente.^{3,13,27}

Nu există o evidență clară că hipotiroidismul subclinic ar cauza boli cardiace clinice. Totuși insuficiența tiroidiană ușoară, evidențiată prin creșterea TSH-ului, poate fi asociată cu creșterea morbidității, particular prin boli cardiovasculare și o subtilă scădere a contractilității miocardice.²⁹ În hipotiroidismul subclinic, structura și funcția miocardului rămân normale în repaus, dar la efort apare o afectare a funcției ventriculare și o tulburare de adaptabilitate cardiovasculară și respiratorie.¹⁵

Vasodilatația mediată de flux – marker al funcției endoteliale – este semnificativ afectată, o astfel de modificare fiind considerată un eveniment precoce în dezvoltarea aterosclerozei. Lekakis și colab. au raportat că vasodilatația dependentă de endoteliu este mult afectată la cei cu hipotiroidism, cu TSH > 10 mU/l (4,4%), semnificativ afectată la cei cu hipotiroidism subclinic și TSH între 4-10 mU/l (5,8%), mai puțin afectată la pacienții cu TSH între 2,01-4 mU/l (7%), dar cu o diferență semnificativă statistic față de persoanele cu TSH între 0,4-2 mU/l (12%).²⁴

Scade rata de variabilitate cardiacă – marker al activității autonome – sugerând anormalități hipofuncționale ale sistemului nervos parasimpatic. Creșterea ușoară a LDL (lipoproteine cu densitate mică), colesterolului total și uneori și scăderea HDL (lipoproteine cu densitate mare) sunt modificări ce cresc riscul de dezvoltare a aterosclerozei și bolii coronariene. Fumatul poate contribui la incidența

crescută și poate agrava efectele metabolice ale hipotiroidismului subclinic.

După revascularizația coronariană, la pacienții cu hipotiroidism subclinic s-a observat o creștere a ratei durerii toracice, disecției și reocluziei.^{15,28}

S-a constatat de asemenea, că subiecții cu hipotiroidism subclinic cu nivele de TSH mult crescute și titruri crescute de anticorpi antitirodieni au risc mare de evoluție spre hipotiroidism clinic manifest, iar femeile peste 50 de ani cu nivele de TSH peste 10 mU/l și care fumează au cel mai mare risc pentru complicații cardiovasculare.¹⁵

Alterări ale metabolismului lipidic

Hipotiroidismul clinic manifest se caracterizează prin creșterea LDL, hipertrigliceridemie moderată, datorită creșterii fracțiunii VLDL (lipoproteine cu densitate foarte mică), prin diminuarea activității lipoproteinlipazei.^{2,6,7} Mulți pacienți cu hipotiroidism subclinic au concentrații lipidice serice normale. Rezultatele sunt destul de heterogene și chiar contradictorii pentru diferite grupuri de studiu. Au fost raportate mai frecvent creșteri ușoare ale LDL, colesterolului total și lp (a) și scăderi ale HDL^{21,39}, cu modificarea lor după tratamentul cu tiroxină (L-T4)⁴, dar și absența oricăror modificări ale subfracțiilor colesterolului înainte și după terapia cu L-T4.¹⁴ În metaanalize, concentrațiile serice ale HDL au crescut semnificativ (2 mg%, 0,1 mmol/l), ale colesterolului total au avut o reducere medie între 9 și 15 mg% (0,2 la 0,4 mmol/l) și ale LDL de 11 mg% (0,3 mmol/l) în urma terapiei cu L-T4.¹⁴ Efectul L-T4 poate fi mai pronunțat la cei cu hipercolesterolemie manifestă; într-un studiu, de exemplu LDL a scăzut cu 36 mg% (0,9 mmol/l, $p < 0,01$) la astfel de pacienți.³⁶

Rolul hormonilor tiroidieni în ceea ce privește concentrația plasmatică a lp (a) nu a fost pe deplin clarificat, rezultatele studiilor efectuate fiind contradictorii. Nivelul plasmatic fiziologic al lp (a) nu depășește 20-30 mg%, fiind determinat genetic (transmitere autosomal dominantă) și foarte stabil la un individ dat. În studii multivariabile, s-a regăsit o legătură între nivelul lp (a) și ateroscleroza coronariană, independent de alți factori de risc cardiovascular (creșterea LDL, trigliceridelor, hipertensiune arterială, fumat, vârstă). Unele studii au evidențiat o creștere a nivelului de lp (a) la pacienții cu hipotiroidism subclinic²¹, iar altele au demonstrat o scădere a concentrației lp (a) cu 23% când aceștia au fost tratați cu L-T4.¹¹ Multiple studii regresive au relevat faptul că 65,5% din variabilitatea nivelurilor de lp (a) au fost prin schimbări ale fenotipului lp (a) (60,5%), TSH-ului (3,5%) și vârstei (0,8%), iar analiza unui subgrup de pacienți cu izoforme mari de lp (a) a arătat că 28% din variabilitatea concentrațiilor de lp (a) poate fi explicată prin modificări în funcția tiroidiană (19,1%), vârstă (6,5%) și trigliceridelor (3,5%). Corelații mai mari au fost găsite între TSH și colesterolul total, LDL sau apoproteina B (apo B).⁷

Tratamentul hipotiroidismului subclinic

Există date contradictorii cu privire la terapia hipotiroidismului subclinic.

Importanța modificărilor lipidice și afectarea "subtilă" a funcției ventriculului stâng și a capacității cardio-pulmonare la efort în hipotiroidismul subclinic, poate justifica folosirea terapiei de substituție hormonală. Un argument în plus în favoarea tratamentului este faptul că rata progresiei silențioase spre un hipotiroidism sever este de aproximativ 5% pe an.^{14,19} Tratamentul precoce cu L-T4 poate reduce nivelul colesterolului total în medie cu 8% și să normalizeze efectele metabolice la fumători, cu toate că la unii pacienți terapia cu L-T4 poate exacerba angina pectorală sau o aritmie cardiacă.^{22,39}

Tratamentul hormonal substitutiv va restabili eutiroidia cu normalizarea parametrilor lipidici. Se administrează L-T4 50-75 $\mu\text{g}/\text{zi}$, în funcție de normalizarea TSH-ului seric, doza substitutivă fiind mai mică decât în cazul hipotiroidismului manifest.¹⁰

Terapia de substituție prudentă cu L-T4 este indicată atât în hipotiroidismul manifest, cât și în hipotiroidismul subclinic, cu sau fără angină pectorală pentru a contracara riscul cardiovascular rezultat al dislipidemiei.¹⁵ În unele cazuri, persistă o hipercolesterolemie foarte discretă, în ciuda unei funcții tiroidiene normale: aceasta se datorează unei hiperlipidemii familiale accentuată prin hipotiroidie, necesitând tratament de sine stătător.

La pacienții tineri, cu tiroidită Hashimoto sau postpartum, terapia trebuie începută cât mai repede posibil, cu obținerea eutiroidiei în 2-3 luni.

La vârstnici hipotiroidismul subclinic are o prevalență impresionantă, de până la 14%. S-ar putea astfel considera că o ușoară scădere a funcției tiroidiene ostă cu înaintarea în vârstă este o posibilă adaptare la nevoile energetice mai scăzute ale organismului, punându-se întrebarea necesității reale a terapiei de substituție în multe din aceste cazuri. În plus, administrarea de hormoni tiroidieni la persoane în vârstă trebuie privită cu precauție, ținând cont de patologia cardiacă ce coexistă frecvent. Terapia de substituție este indicată în hipotiroidismul subclinic ușor simptomatic, cu $\text{TSH} > 10 \text{ mU/l}$, atunci când profilul lipidic al bătrânului este modificat semnificativ, fiind posibil influențat de deficitul hormonal tiroidian.^{36,45} La această categorie de pacienți este necesară o evaluare cardiacă foarte atentă înainte de introducerea terapiei hormonale cu L-T4 pentru a evita exacerbarea unei angine pectorale determinată de creșterea consumului de oxigen a miocardului produsă de hormonii tiroidieni. Doza inițială de L-T4 trebuie să fie foarte scăzută, chiar 12,5 $\mu\text{g}/\text{zi}$ care va fi crescută la interval de 4-6 săptămâni, cu atingerea dozei substitutive în 3-4 luni (tratament strict individualizat, cu doza minimă necesară pentru atingerea unui nivel normal de TSH).^{12,19,44}

Este necesară o urmărire longitudinală a pacienților cu hipotiroidism subclinic pentru a defini

riscul pentru boală cardiovasculară asociat acestei disfuncții tiroidiene ușoare.

În concluzie, hipotiroidismul subclinic reprezintă o patologie diagnosticată în stadiul biochimic al bolii. Prezintă dezavantajul dificultății de stabilire a diagnosticului precoce, dar și avantajul posibilității terapeutice într-un stadiu precoce al bolii.¹⁰

HIPERTIROIDISMUL SUBCLINIC

Hipertiroidismul subclinic este definit ca o stare patologică în care nivelele periferice ale hormonilor tiroidieni sunt normale, în paralel cu un TSH seric scăzut (fiind exclusă insuficiența hipofizară), în absența simptomelor și semnelor clinice de hipertiroidie. În practică, distincția între "clinic" și "subclinic" este dificilă, fiind observate grade posibile de la eutiroidism la hipertiroidie severă. Decelarea simptomelor și semnelor de boală depinde atât de sensibilitatea pacientului, cât și de atenția (conștiinciozitatea) și experiența medicului.²⁰

Prevalența hipertiroidismului subclinic

Adevărata prevalență este greu de apreciat, deoarece în studiile efectuate eșantioanele de populație și modul de studiu au fost diferite (unele au inclus pacienți aflați în tratament cu tiroxină, iar în altele nu este specificat acest aspect, alții au studiat populație aparent sănătoasă sau numai pacienți vârstnici sau vârstnici spitalizați). Aceste aspecte pot explica diferențele între prevalențe găsite de diferiți autori (de la 0,7% la bărbați și 0,5% la femei la 11,8%). În studiul Whickham (efectuat în nord-estul Angliei, între 1972-1974) a fost găsită o prevalență mare a hipertiroidismului subclinic la femei – 10% dintre acestea (0% bărbați) au avut valori ale TSH-ului sub 0,5 mU/l.^{37,41} Se poate argumenta că la vremea respectivă nu erau disponibile determinările ultrasensibile de TSH. Wang & Crapo găsesc într-o altă zonă o rată a prevalenței între 0,6 și 6%.⁴² Probabil că există diferențe locale dependente de aportul de iod și alți factori. Se pare că în fostele zone endemice prevalența hipertiroidismului subclinic determinat de autoantimile tiroidiene este crescută, la fel ca și gușa nodulară toxică manifestă.

Etiologia hipertiroidismului subclinic

Cauzele unui TSH suprasat sunt diverse. Din start trebuie excluse hipotiroidismul de cauză centrală (hipofizară sau hipotalamică), bolile severe extratiroidiene, depresia, sarcina (nivele crescute de hCG-gonadotrofină corionică umană cu acțiune TSH-like), administrarea prelungită de glucocorticoizi, dopamină. Mulți autori accentuează faptul că la pacienții vârstnici spitalizați un TSH scăzut este mult mai frecvent datorat unei boli extratiroidiene decât unui hipertiroidism¹⁶, fiind indicată repetarea dozării TSH-ului după câteva săptămâni, înainte de a stabili diagnosticul de hipertiroidism subclinic. Nivele de TSH foarte scăzute, de exemplu între 0,01-0,03 mU/l denotă de obicei hipertiroidism. Datorită acestor

considerente chiar utilizând metode ultrasensibile de determinare ale TSH-ului este preferabil să se confirme prezența hipertiroidismului subclinic prin testul la TRH (thyrotropin-releasing hormone).^{5,15}

Cauzele acestei boli sunt reprezentate de un aport exogen de hormoni tiroidieni în scop terapeutic, de o producție endogenă în cadrul autonomiilor funcționale tiroidiene (adenom toxic, gușă multinodulară toxică, gușă non-toxică "autonomizată"), boală Graves "oftalmică" sau în remisiune, tiroidite autoimune (subacute și cronice), tiroidită subacută (tireotoxicoză de însoțire). Valori scăzute ale TSH-ului cu nivele normale de hormoni tiroidieni pot fi găsite și la pacienți cu hipertiroidism manifest parțial tratat, datorită unei inerții funcționale a hipofizei tireotrope inhibitate. Cea mai frecventă cauză însă o reprezintă tratamentul cu tiroxină (40-50%) în scop supresiv în cancerul tiroidian și pentru gușile netoxice (Tabelul I).^{10,23,25}

Evoluția naturală a bolii poate consta în dezvoltarea tireotoxicozei clinic manifeste: 8% în 6 ani în SUA și 18% în 7 ani în Europa.¹⁰

Tabelul I. Cauzele tireotoxicozei subclinice

TIREOTOXICOZĂ SUBCLINICĂ ENDOGENĂ	
-	boli tiroidiene autonome
-	boli tiroidiene autoimune
TIREOTOXICOZĂ SUBCLINICĂ EXOGENĂ	
-	tratament supresiv cu hormoni tiroidieni
-	tratament supradozat cu hormoni tiroidieni
-	aport crescut de iod (iod, medicamente cu conținut crescut de iod, substanțe radiologice de contrast)

Tablou clinic

Pacienții cu hipertiroidism subclinic prezintă un tablou clinic estompat, cu o simptomatologie greu de individualizat. Inconstant apare: creșterea ritmului cardiac de repaus, risc crescut defibrilație atrială (28% la pacienții cu TSH seric 0,1 mU/l, 16% la pacienții cu TSH seric cuprins între 0,1-0,4 mU/l, comparativ cu prevalența de 11% în rândul populației normale), dispnee la eforturi mici, astenie musculară, dureri osoase difuze (creșterea turn-over-ului osos cu scăderea densității osoase și apariția osteoporozei, mai ales la femeile aflate în postmenopauză), insomnie, labilitate psiho-emoțională cu o dispoziție afectivă crescută.⁴

Manifestări cardiovasculare

Tahicardia este cea mai caracteristică și constantă manifestare.

Ecocardiografia constată la acești pacienți o contractilitate miocardică crescută și frecvent o hipertrofie ventriculară stângă. Totodată se remarcă: un procentaj crescut al scurtării fracționate și a vitezei

medii de scurtare, ca și o reducere a timpului de contracție izovolumetrică; scad intervalele timpilor sistolici și raportul dintre perioadele de preejecție și timpul de eiecție a ventriculului stâng; cresc indexul de masă al ventriculului stâng și dimensiunile septului interventricular și ale peretelui posterior al ventriculului stâng. Aceste modificări dinamice "precipită" decompensarea miocardică în cazul unor leziuni organice cardiace preexistente și sunt direct proporționale cu vechimea evoluției hipertiroidismului subclinic.^{10,17} Sawin și colab. în contextul studiului Framingham au urmărit 61 de subiecți cu vârsta peste 60 de ani și cu valori serice de TSH sub 0,1 mU/l și au găsit după 10 ani o incidență cumulativă a fibrilației atriale de 28% comparativ cu 16% în grupurile cu TSH între 0,1 și 0,4 mU/l, 11% la cei cu TSH normal și 15% la cei cu TSH crescut.³¹ Szabolcs și colab. au raportat o creștere a mortalității la pacienții vârstnici cu boli cronice și nivele suprasate de TSH.³⁵ Aceste studii sugerează că departe de a fi o simplă curiozitate de laborator, hipertiroidismul subclinic trebuie luat mai mult în serios decât înainte.²⁰

Metabolismul lipidic

Studiile efectuate au demonstrat că în hipertiroidismul manifest netratat se produce o creștere a oxidării lipidelor în faza de post (a jeun) și imediat postprandial, concentrațiile LDL, HDL și apo B tind să fie scăzute, raportul LDL/HDL a fost găsit în limite normale, iar HDL₂/HDL₁ a fost mai mic decât după obținerea eutiroidismului. Se pare că în conversia HDL₂ în HDL₁ (fracțiunile principale ale HDL, numai prima dintre acestea fiind antiaterogenă) intervine trigliceridlipaza hepatică, enzimă stimulată de HT. Sucic și colab. studiind profilul lipidic și nivelele lp (a) în disfuncțiile tiroidiene înainte și după tratament au găsit la pacienții hipertiroidieni o creștere semnificativă a nivelelor colesterolului total, LDL și apo B după tratament, în timp ce HDL (HDL₂), trigliceridele și lp (a) au înregistrat doar o creștere moderată, care nu a ajuns la o semnificație statistică.³³ Într-un studiu s-a observat că hipertiroidienii (tireotoxicoză severă, în special cu nivele crescute de anticorpi anti-tiroidieni) au nivele crescute de lp (a) în comparație cu subiecții eutiroidieni. În forma subclinică a hipertiroidismului s-au raportat mai frecvent scăderea colesterolului total și a LDL.

Tratamentul hipertiroidismului subclinic

Dacă trebuie tratat sau nu hipertiroidismul subclinic – este o întrebare la care până în prezent nu sunt date suficiente pentru a putea răspunde. Ideal ar fi să avem rezultatele unor studii randomizate pe termen lung, care să compare pacienții tratați pentru hipertiroidism subclinic cu un grup control.

Beta-blocantele îmbunătățesc alura ventriculară, aritmiile atriale, hipertrofia miocardică, disfuncția diastolică la pacienții tratați cu L-tiroxină. De asemenea, pot fi utilizate sedative pentru nervozitate, insomnie.⁴

În gușile nodulare mari cu hipertiroidism subclinic este pertinentă recomandarea intervenției chirurgicale, înainte ca pacientul să devină prea în vârstă și gușa prea mare, mai ales că studiile efectuate au arătat că de obicei aceste situații evoluează spre un hipertiroidism manifest.^{18,42}

Unii autori sugerează utilizarea antitirodienelor de sinteză la pacienții cu autonomii tiroidiene care urmează să primească o cantitate mare de iod.

În primul rând este util să ne asigurăm dacă scăderea TSH-ului este tranzitorie sau nu, iar dacă hipertiroidismul subclinic persistă unii autori sunt de părere că este necesară o supraveghere atentă, în timp ce alții, mai agresivi, recomandă utilizarea unui tratament antitiroidian, mai ales dacă sunt prezente manifestări (fibrilație atrială, osteoporoză) ce pot fi agravate de un status hipertiroidian.²⁰

Hipertiroidismul subclinic se dovedește a fi o entitate patologică cu impact biologic major, potențial agresiv, în special în contextul evoluției naturale neîntrerupte, prin incompetența mijloacelor adecvate de identificare.¹⁰

BIBLIOGRAFIE

1. AITHAIS BU, STAUB JJ, RYFF AS et al - *LD₁/HDL changes in subclinical hypothyroidism: possible risk factors for coronary heart disease*, Clin Endocr, 1988, 28:157-163.
2. AREM R, PATSCH W - *Lipoprotein fractions in patients with grade I hypothyroidism: the effect of levothyroxine therapy*, Thyroidol Clin Exp, 1996, 8:15-20.
3. BASTIENI PA, VANHAELST BL, NEVE P - *Coronary heart disease in hypothyroidism. Observations in preclinical myxoedema*, Lancet, 1967, 2:1221-1222.
4. BIONDI B, FAZIO S, CARELLA C et al - *Endogenous subclinical hyperthyroidism affects quality of life and cardiac morphology and function in young and middle-age patients*, J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85:4701-4705.
5. BRAVERMAN I.F, PEARCE EN - *Subclinical hyperthyroidism*, Thyroid Intern, 2001, 5.
6. BRUCNERI E, THOMAS D - *Les hypercholesterolemies*, John Libbey Eurotext, London, 1997.
7. CARACCIO N, FERRANNINI E, MONZANI F - *Lipoprotein profile in subclinical hypothyroidism: response to levothyroxine replacement, a randomized placebo-controlled study*, J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87:1533-1538.
8. CARON P, CALAZEL C, PARRA HJ et al - *Decreased HDL cholesterol in subclinical hypothyroidism: the effect of L-thyroxine therapy*, Clin Endocrinol, 1990, 33:519-523.
9. CHIRIAES ND - *The many causes of subclinical hyperthyroidism*, Thyroid, 1996, 6:391-396.
10. CIRCO E - *Principii de diagnostic și tratament în endocrinologie*, Ed Leda & Muntenia, Constanța, 1999, 250-255, 276-278.
11. ENGLER H, RIESEN WF - *Effect of thyroid hormones on Lp (a) and lipid metabolism*, Clin Ch Lab Med, 1998, 36:731-735.
12. FENZI G, SALVATORE D, DE RIU S et al - *Subclinical hypothyroidism*, in: Pinchera A, Mann K, Hostalek U (eds): *The Thyroid and Age*, Merck European Thyroid Symposium, Italy, 1998, Schattauer, Stuttgart-New-York, 1998, 305-314.
13. GOMBERG MM, FRISHMAN WH - *Thyroid hormone and cardiovascular disease*, Am Heart J, 1998, 135:187-196.
14. HANNA FWF, LAZARUS JH, SCANLON MF - *Controversial aspects of thyroid disease*, BMJ, 1999, 319:894-899.
15. KAHALY GJ - *Cardiovascular and atherogenic aspects of subclinical hypothyroidism*, Thyroid, 2000, 8:665-679.
16. KAHALY GJ, NIESWANDT J, MOHR-KAHALY S - *Cardiac risks of hyperthyroidism in the elderly*, Thyroid, 1998, 8:1165-1169.
17. KLEIN I, OJAMAA K - *Thyroid hormone and the cardiovascular system*, N Engl J Med, 2001, 344:501-509.
18. KONG WM, SKEIRH MH, LUMB PJ et al - *A 6-month randomized trial of thyroxine treatment in women with mild subclinical hypothyroidism*, Am J Med, 2002, 112:348-354.
19. KOUTRAS DA - *Subclinical hypothyroidism*, Thyroid Intern, 1999, 3.
20. KOUTRAS DA - *Subclinical hyperthyroidism*, in: Pinchera A, Mann K, Hostalek U: *The Thyroid and Age*, Merck European Thyroid Symposium, Italy, 1998, Schattauer, Stuttgart-New-York, 1998, 315-324.
21. KUNG AWC, PANG RWC, JANUS ED - *Elevated serum lipoprotein (a) in subclinical hypothyroidism*, Clin Endocrinol, 1995, 43:445-449.
22. LANDENSON PW - *Recognition and management of cardiovascular disease related to thyroid dysfunction*, Am J Med, 1990, 88:638-642.
23. LEESE GP, JUNG RT, GUTHRIE C et al - *Morbidity in patients on L-thyroxine: a comparison of those with a normal TSH to those with a suppressed TSH*, Clin Endocrinol, 1992, 37:500.
24. LEKAKIS J, PAPAMICHAEL C, ALEVIZAKI M et al - *Flow-mediated, endothelium-dependent vasodilatation is impaired in subjects with hypothyroidism, borderline hypothyroidism, and high-normal serum thyrotropin (TSH) values*, Thyroid, 1997, 7:411-414.
25. MARQUESE E, HADEN ST, UTIGER RD - *Subclinical thyrotoxicosis*, Endocrinol Metab Clin North Am, 1998, 27:37-49.
26. MICHALOPOULOU G, ALEVIZAKI M, PIPERINGOS G et al - *High serum cholesterol levels in persons with "high-normal" TSH levels: should one extend the definition of subclinical hypothyroidism?*, Eur J Endocrinol, 1998, 138:141-145.
27. PALLAS D, KOUTRAS DA, ADAMOPOULOS P et al - *Increased mean serum thyrotropin in apparently euthyroid hypercholesterolemic patients: does it mean occult hypothyroidism?*, J Endocrinol, 1991, 14:743-746.
28. PUCCI E, CHIOVATO L, PINCHERA A - *Thyroid and lipid metabolism*, Intern J Ob Rel Metab Dis, 2000, 24:109-112.
29. ROSS DS - *Subclinical hypothyroidism*, in: Braverman LE, Utiger RD (eds): *The Thyroid, A Fundamental and Clinical Text*, Werner and Ingbar's, Seventh Edition, JP Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia-New York, 1996, 1010-1015.
30. SAMUELS MH - *Subclinical thyroid disease in the elderly*, Thyroid, 1998, 9:803-813.
31. SAWIN CT, GELLER A, WOLF PA et al - *Low serum thyrotropin: a risk factor for atrial fibrillation in older persons*, N Engl J Med, 1994, 331:1249.
32. SAWIN CT, CASTELLI WP, HERSHMAN JM et al - *The aging thyroid: thyroid deficiency in the Framingham Study*, Arch Intern Med, 1985, 145:1386-1388.
33. SUCIC M, BOZIKOV V, MESIC R et al - *Lipoprotein (a) levels in thyroid dysfunction before and after treatment*, Croat Med J, 1998, 39:19-22.
34. SURKS MI, OCAMPO E - *Subclinical thyroid disease*, Amer L Med, 1996, 100:217-223.
35. SZABOLCS I, DOHAN O, BERNARD W et al - *Increased mortality in chronically ill geriatric patients with suppressed TSH: a follow-up study*, presented at the 10th International Congress of Endocrinology, San Francisco, USA, 1996, Abstr. P3-1053.
36. TANIS BC, WESTERDORP BGI, SMELT AHM - *Effect of thyroid substitution on hypercholesterolemia in patients with subclinical hypothyroidism: a reanalysis of intervention studies*, Clin Endocrinol, 1996, 44:643-649.
37. TUNBRIDGE WMG, EVERED DC, HALL R et al - *The spectrum of thyroid disease in a community: The*

- Whickham survey*, Clin Endocrinol, 1997, 7:481-493.
38. TOTOIANU IG, VASILESCU G - *Bolile tiroidei la adult și copil*, Casa de editură "Lumina Transilvaniei", Tg-Mureș, 1993.
39. TURPIN G - *Pourquoi, quand, comment traiter les dyslipoproteinemies?*, Impressions, Dijon, 1997.
40. URSU HI - *Hipertiroidismul la vârstnici*, Ed Medicală, București, 1987.
41. VANDERPUMP MJP, TUNBRIDGE WMG, FRENCH JM et al - *The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickham Survey*, Clin Endocrinol, 1995, 43:55-68.
42. VANDERPUMP MJP, TUNBRIDGE WMG, FRENCH JM et al - *The development of ischemic heart disease in relation to autoimmune thyroid disease in a 20-year follow-up study of an English community*. Thyroid, 1996, 6:155-160.
43. WANG C, CRAPO LM - *The epidemiology of thyroid disease and implication for screening*, Endocrinol Metab Clin North Am, 1997, 26:189-218.
44. WEETMAN AP - *Hypothyroidism: screening and subclinical disease*, BMJ, 1997, 314:1175-1178.
45. ZBRANCA E, CRISTINA PREDĂ, BRĂNIȘTEANU DD et al - *Glandele endocrine și senescența*, Viața medicală, 2003, 22:2-3.



Criterii actuale de diagnostic microscopic al tumorilor de pancreas endocrin

M.Turcu¹, Camer Ibadula-Salim², Lia-Maria Simu³, G.Simu¹

Se prezintă principiile actuale de clasificare microscopică și dificultățile diagnosticului microscopic al tumorilor plecate din pancreasul endocrin. În baza posibilităților de tehnică imunomicroscopică și a caracterelor clinice ele se clasifică în tumori endocrine bine diferențiate, carcinoame endocrine puțin diferențiate și tumori mixte endocrine-exocrine.

Cuvinte cheie: pancreas, tumori endocrine, diagnostic microscopic

Actual principles for a microscopic classification and the difficulties of the microscopic diagnosis of the endocrin pancreatic tumors are discussed on the basis of the immunomicroscopic techniques as well as of the clinical signs, they are classified in well differentiated endocrine neoplasms, poorly differentiated endocrine carcinomas and mixed endocrine-exocrine neoplasms.

Key words: pancreas, endocrine tumours, microscopic diagnosis

Utilizarea metodelor imunomicroscopice, uneori a celor electronoptice, a determinat realizarea unor importante progrese în stabilirea unui diagnostic mai precis al tumorilor pancreasului endocrin, permițând formularea unui prognostic mai verosimil și aplicarea unui tratament cât mai potrivit. Persistă în continuare o serie de dificultăți derivând din varietatea importantă a acestor tumori, condiționată de diversele tipuri celulare care compun insulele, dar și de lipsa uneori, ca și în alte organe, a unor diferențe microscopice clare în tumorile cu comportare benignă sau malignă.

Aceste dificultăți sunt parțial rezolvate de noile clasificări ale acestor tumori.^{4,5} Ele se bazează în continuare pe aspectul microscopic al tumorii, ținând însă seama și de manifestări funcționale care uneori au semnificație prognostică, dar și de eventuala asociere cu structuri exocrine ale organului. Pe lângă dimensiunile tumorii, numărul de mitoze ca și al celulelor Ki67 pozitive permite o apreciere mai precisă a capacităților evolutive ale tumorii respective.

Aceste tumori sunt compuse, în general, din cele 4 variante principale ale insulelor lui Langerhans, celule secretoare de glucagon (A); insulină (B); somatostatină (D) și polipeptid pancreatic (PP). Pot apare însă și tumori constituite din celule enterocromafine secretoare de serotonină (EC). Uneori, ele pot conține și celule ectopice, care nu se găsesc în mod normal în pancreasul adult uman, cum sunt cele care secretă gastrină (G), peptid vasoactiv intestinal (VIP), factor de eliberare a hormonului de creștere (GRF), hormon corticotrop (ACTH) sau alți hormoni.

Luând în considerare aceste criterii, clasificările recente recunosc următoarele categorii de leziuni tumorale ale pancreasului endocrin:

1. Tumori endocrine bine diferențiate

A. Funcționale

- secretoare de insulină (insulinoame)
- secretoare de glucagon (glucagonoame)
- secretoare de somatostatină (somatostatinoame)
- secretoare de gastrină (gastrinoame)
- secretoare de VIP (vipoame)
- secretoare de serotonină cu sindrom carcinoid

-alte

B. Nefuncționale

- microadenoame, mai mici de 0,5 cm
- alte tumori nefuncționale

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

²Departamentul de Anatomie, Facultatea de Medicină a Universității din Constanța

³Disciplina Dermatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

Adresa de corespondență: dr. Mihai Turcu, Disciplina Morfopatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie, str. Gh. Marinescu 38, 4300 Târgu-Mureș

2. Carcinoame endocrine bine diferențiate caracterizate prin invazie locală, uneori și prin metastaze

A. Funcționale: gastrinoame, insulinoame, glucagonoame, vipoame, somatostatinoame, sindroame necaracteristice

B. Nefuncționale

3. Carcinoame endocrine puțin diferențiate

4. Tumori mixte exocrine-endocrine

5. Leziuni pseudotumorale

- hiperplazie insulară

- nesidioblastoză

- displazie endocrină

Tumorile endocrine bine diferențiate sunt compuse din țesut de tip endocrin, constituite din celule de regulă monomorfe, granulate, dispuse sub formă de microlobuli, trabecule sau mici grămezi. Celulele, în general uniforme, de dimensiuni mici sau medii au nuclei rotunzi sau ovali. Stroma este constituită dintr-o cantitate variabilă de țesut conjunctiv, bine vascularizată, uneori fibroasă. În rare cazuri, mai ales în insulinoame, se poate depune amiloid. Se observă și depunere de hialin sau de calciu. Tumorile sunt circumscrise, chiar încapsulate, uneori însă imprecis delimitate.

Examenul microscopic insistent al pancreasului poate pune în evidență microadenoame silențioase de 0,05-0,5 cm diametru. Malignitatea acestor tumori este sugerată de aspectele de invazie locală, pleomorfism, mitoze numeroase și invazie vasculară. Uneori, însă, tumora care nu prezintă aceste aspecte poate produce metastaze. De regulă, tumori limitate la țesutul pancreatic, fără semne de invazie vasculară, cu mai puțin de două mitoze pe 10 câmpuri microscopice de obiectiv puternic, cu 2% sau mai puține celule Ki67 pozitive și cu diametru sub 2 cm prezintă o comportare benignă (macroadenoame). Tumorile limitate la pancreas dar prezentând angioinvazie sau invazie perineurală, cu mai mult de două mitoze pe 10 câmpuri de obiectiv puternic și cu mai mult de 2% celule Ki67 pozitive prezintă un risc crescut pentru o comportare malignă.^{3,5}

Cele mai multe insulinoame prezintă o comportare benignă, în timp ce alte tipuri de tumori funcționale sunt de obicei maligne sau intră în categoria tumorilor cu posibil potențial malign.

Carcinoamele endocrine bine diferențiate sunt tumori formate din celule moderat atipice dispuse în cuiburi solide, trabecule sau grămezi celulare, putând prezenta invazie locală și metastaze. Celulele constituite prezintă adesea, dar nu constant, moderată atipie, cu nucleoli evidenți, hiperchromazie, index mitotic moderat crescut (2-10 mitoze pe 10 câmpuri) și un indice proliferativ Ki67 mai mare de 2%. Mai importante sunt aspectele de invazie vasculară sau perineurală. Cele mai multe astfel de tumori depășesc un diametru de 5-6 cm în momentul diagnosticului. Metastazele se produc în nodulii limfatici regionali și ficat.

Carcinomul endocrin puțin diferențiat este o tumoră epitelială formată din celule mici sau de dimensiuni moderate cu nuclei mari și citoplasmă puțin granulară sau lipsită de granulații. Ele formează grămezi solide imprecis delimitate, adesea interesate de necroză centrală.

Aceste tumori sunt foarte invazive și de obicei prezintă metastaze în ficat sau în alte organe, adesea extraabdominale. Zonele extinse de necroză, numărul mare de mitoze (10 sau mai multe pe 10 câmpuri) și de celule Ki 67 pozitive, ca și evidentele fenomene de invazie vasculară și perineurală, asigură diagnosticul.¹

Tumorile mixte exocrine-endocrine. Sunt tumori rare cu structură predominant exocrină dar în care cel puțin o treime din leziune este formată din celule de tip endocrin. Comportarea este determinată de natura componentei endocrine, de tip solid pseudo-papilar, acinar sau ductal. În primele două evenimente, componenta endocrină este de obicei compusă din celule endocrine de tip insular, în timp ce în cazul carcinomului ductal se pot întâlni atât celule insulare cât și de tip intestinal (celule secretoare de serotonină sau gastrină). O populație rară de celule endocrine sub formă de celule izolate sau formând mici grămezi apare destul de frecvent în tumorile pancreatice neendocrine, fără să influențeze comportarea clinică a tumorii. Singura excepție este prezența celulelor secretante de gastrină într-un chistadenocarcinom mucos, care uneori poate produce un sindrom Zollinger-Ellison.⁶ Invers, în tumori de tip endocrin pot apare diferențieri ductale, aspect care trebuie deosebit de includerea de ducturi pancreatice normale într-o proliferare tumorală endocrină.

Leziuni pseudo-tumorale

Hiperplazia insulară constă dintr-o creștere a numărului sau dimensiunilor insulelor Langerhans. Se întâlnește rar la persoane adulte prezentând semne de hiperinsulinism în absența unui insulinom sau asociată cu deficiență în α -1-antitripsină. La nou-născuți poate apare în asociere cu diabet matern, eritroblastoză fetală, tirozinemie ereditară sau sindrom Beckwith-Wiedmann.

Nesidioblastoză se caracterizează printr-o distribuție greșită a celulelor endocrine cu prezența de celule B hipertrofice și prezența de structuri complexe ductale-insulare producând hiperinsulinism și hipoglicemie mai ales la nou-născuți, mai rar la adulți. Interesează anumite zone din pancreas sau organul în mod difuz.

Displazia endocrină se prezintă sub forma unor proliferări de celule endocrine de mici dimensiuni în care structura insulelor apare modificată din cauza unei dispoziții trabeculare și a prevalenței anormale a unuia dintre cele 4 tipuri de celule insulare; se poate observa și ușoară atipie celulară. Se întâlnește în special în pancreasul bolnavilor cu tipul 1 de neoplazie endocrină multiplă.

BIBLIOGRAFIE

1. CAZELLA C, LA ROSA S, SOLEIRA E – *Criteria for malignancy in pancreatic endocrine tumors*, Endocr Pathol, 1997, 8:87-90.
2. CLARKE MR, BAKER EE, WEYANT RJ et al – *Proliferative reactivity in pancreatic endocrine pancreas: association with function, metastasis and survival*, Endocr Pathology, 1997,8:181-188.
3. PERET AG, MOSNIER JF, BUONO P et al – *The relationship between MIB-1 proliferation index and outcome in pancreatic neuroendocrine tumors*, Am J Clin Pathol, 1998, 109:286-293.
4. SOLCIA E, CAZELLA C, KOPPEL G – *Tumors of the pancreas*, Atlas of Tumor pathology, Annual Forum, Institute of pathology, Washington, 1995.
5. SOLCIA E, KOPPEL G, SOBIN LH – *Hystological typing of endocrine tumors*, WHO International Histological Classification of Tumors, Springer, Berlin, 1999
6. YU F, VENZON DJ, SERRANO J et al – *Prospective study of the clinical course, prognostic factors, causes of death and survival in patients with long standing Zollinger-Ellison syndrome*, J Clin Oncol, 1999, 17:615-630.



Calcificările cardiovasculare și tulburările metabolismului fosfo - calcic la hemodializați

Carmen Căldăraru¹, G. Dogaru², I. Barb³, I. Hosu⁴, Violeta Roman⁵, G. Popescu⁵, Kincső Mátyás⁶, Alexandra Florea⁷, Aurora Iulia Smădu⁷

Prezența calcificărilor valvulare și vasculare este o caracteristică frecventă la pacienții hemodializați, acestea putând contribui la riscul crescut de evenimente cardiovasculare. Scopul studiului a fost aprecierea prevalenței calcificărilor valvulare și vasculare la un lot de pacienți hemodializați și evaluarea principalilor factori de risc implicați în etiopatogenia modificărilor menționate. Analiza liniară multivariată demonstrează că vârsta este un predictor independent al calcificărilor cardiovasculare. Am demonstrat de asemenea o corelație strânsă între scorul calcificărilor și vechimea hemodializei. Studiul nu a putut demonstra implicarea tulburărilor metabolismului calciului și fosforului în etiopatogenia calcificărilor cardiovasculare la lotul de hemodializați analizat.

Cuvinte cheie: calcificări valvulare, calcificări vasculare, hemodializă

Vascular and valvular calcification are common in patients with end-stage renal disease who are treated with regular dialysis and may contribute to the very high risk of cardiac events in uremic patients.

The aim of the study was to analyze the prevalence of valvular and vascular calcification in a group of hemodialysis patients and to evaluate their risk factors. Multivariate analysis showed that older age is an independent predictor of cardiovascular calcification. Our findings showed an association between calcification score and the duration of hemodialysis. The study does not support the influence of calcium and phosphate metabolism as a major factor in valvular and vascular calcification.

Key words: vascular calcification, valvular calcification, hemodialysis

Patogeneza bolii cardiovasculare la pacienții cu afectare renală e mult mai complexă decât la populația generală, dată fiind concurența dintre factorii de risc tradiționali și factorii de risc adiționali tipici uremiei, de dependență acestor factori de stadiul și durata bolii renale și nu în ultimul rând de durata și tipul de terapie de substituție renală aplicată în fiecare caz în parte.²²

Tulburările metabolice asociate bolii renale în stadiu final și tratamentul acestora pot accelera dezvoltarea bolii cardiovasculare, un marker al acesteia fiind dezvoltarea calcificărilor valvulare și vasculare.

Mecanismele fiziopatologice care inițiază și accelerează calcificările valvulare urmate de stenoze în insuficiența renală sunt încă ipotetice dar probabil foarte complexe, implicând tulburările metabolismului

calciului și fosforului, stresul crescut de la nivel vascular secundar hipertensiunii și debitului cardiac crescut.

Variatele etiologii pot fi diferențiate prin expresia anatomică specifică numai în fazele inițiale; în stadiile tardive modificările aparatului valvular datorate calcificărilor sunt identice indiferent de etiologie.

Calcificarea vasculară e frecventă la pacienții cu insuficiență renală terminală, în special la cei dializați. Scleroza medie (Monckeberg) e una din leziunile caracteristice bolii arteriale uremice, cu consecințe dezastruoase asupra perfuziei tisulare (claudicație, boală ischemică cardiacă, hipertensiune sistolică, calcifilaxie).

Deși calcificarea vasculară a fost privită mult timp ca un proces de depozitare pasivă a cristalelor de fosfat de calciu, evidențe recente sugerează că ea ar reprezenta un proces activ în care celulele vasculare dovedesc o funcție osteoblastică.^{9,13,16,20,27}

Prevalența și extinderea calcificărilor vasculare se dovedesc a fi în majoritatea studiilor predictorii puternici ai mortalității cardiovasculare,³ iar calcificările valvulare (asociate aproape constant cu calcificări ale miocardului și arterelor mari -inclusiv ale coronarelor) au numeroase consecințe funcționale culminând cu apariția așa-numitei "cardiomiopatii de supraîncărcare"- caracterizată prin

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

²Sectia Clinică de Nefrologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

³Clinica Medicală IV, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

⁴Clinica Medicală II, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

⁵Centrul de Hemodializă Târgu-Mureș

⁶Clinica Medicală IV Târgu-Mureș

⁷Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

Adresa pentru corespondență: dr. Carmen Căldăraru, Disciplina de Fiziologie, Universitatea de Medicină și Farmacie, str. Ghe. Marinescu nr. 38, 4300 Târgu-Mureș

hipertrofie și dilatare a ventriculului stâng, scăderea fracției de ejeție și a debitului cardiac cu creșterea consecutivă a mortalității cardiovasculare.^{9,23,27}

În fine, ținând cont de prevalența mare a calcificărilor la hemodializați comparativ cu populația generală și riscul cardiovascular substanțial al pacienților cu insuficiență renală, unii cercetători emit ipoteza conform căreia "excesul de calcificare" este un factor de risc "aditional", caracteristic populației cu insuficiență renală cronică.³¹

La hemodializați, cuantificarea neinvazivă a calcificărilor valvulare și vasculare oferă, cel puțin teoretic, posibilitatea evaluării atât a riscului cardiovascular cât și a progresiei bolii, stabilizării sau posibilei ei regresii.

Dat fiind statutul câștigat de important factor de risc cardiovascular în insuficiența renală cât și opiniile diferite ale cercetătorilor legate de determinanții calcificărilor, prezentul studiu își propune evaluarea prevalenței calcificărilor la un grup de pacienți hemodializați și identificarea factorilor cu posibilă implicare în etiopatogenia calcificărilor cardiovasculare.

MATERIAL ȘI METODĂ

Pacienți studiați

Studiul s-a realizat pe un lot de 77 pacienți hemodializați, prin analiza foilor de observație și a protocoalelor de dializă în perioada 1999-2003. Criteriile de includere au fost absența diabetului zaharat și o vechime în dializă mai mare de trei luni. Din punctul de vedere al duratei și ritmului tratamentului de substituție, protocolul de dializă a fost același la toți pacienții. Au fost menționate boala renală care a determinat insuficiența renală cronică, statusul de fumător (actual sau anterior - da/nu), data primei hemodialize, medicația administrată. La fiecare pacient au fost determinate greutatea și înălțimea, suprafața corporală și indexul masei corporale (IMC) conform formulei: $IMC = \text{greutate (kg)} / \text{înălțime (m)}^2$.

În ceea ce privește tensiunea arterială, au fost luate în studiu toate valorile tensiunii arteriale sistolice și diastolice pre și postdializă din cele două luni anterioare evaluării ecocardiografice, folosindu-se în studiu mediile aritmetice ale acestor determinări. Presiunea pulsului a fost calculată ca diferența dintre valoarea sistolică și cea diastolică corespunzătoare. În aceeași perioadă au fost notate greutatea ideală și câștigul ponderal postdializă, folosindu-se pentru determinările statistice tot media aritmetică a acestor valori.

Determinări de laborator

Determinările de laborator au fost efectuate din sânge recoltat a jeune, în clinostatism, predialitic. Parametri biologici urmăriti au fost: hemoglobina, hematocritul, viteza de sedimentare a hematiilor, ureea, creatinina, acidul uric, ionograma, calciul total, fosforul, fibrinogenul, colesterolul total, colesterolul HDL și LDL, trigliceridele, albuminemia, valoarea fosfatazei alcaline.

Pentru o mai corectă evaluare a parametrilor biologici aceștia au fost cuantificați în perioada 1991 -

2003, din patru în patru luni, folosindu-se în calcul media aritmetică a tuturor valorilor înregistrate.

Definirea bolii cardiovasculare

Din documentația pacienților au fost selectate evenimentele cardiovasculare anterioare și ulterioare anului de începere a urmăririi (1999) folosindu-se următoarele definiții ale bolii cardiovasculare:

-boală coronariană: antecedente de accident coronarian acut, boală coronariană demonstrată angiocardigrafic sau episod de angină pectorală demonstrat electrocardiografic

-boală cerebrovasculară: prezența în antecedente a unui accident vascular cerebral

-boală arterială periferică: prezența claudicației intermitente, demonstrare oscilometrică a modificărilor circulatorii sau leziuni vasculare demonstrate angiografic

-insuficiența cardiacă: edem pulmonar acut sau insuficiență cardiacă globală, după eliminarea unei afecțiuni pulmonare

Examinări imagistice

Evaluarea ecocardiografică a fost realizată de același examinator, la 10-20 minute postdialitic. Protocolul de studiu a cuprins determinarea prezenței calcificărilor valvulare mitrale și aortice, a stenozelor și a insuficienței valvulare. La fiecare pacient s-a investigat prezența calcificărilor carotidiene și gradul stenozelor vasculare, grosimea intimă - medie folosită în studiu reprezentând, valoarea maximă determinată a acestui parametru.

În scopul analizei statistice a datelor am cuantificat prezența calcificărilor valvulare cu un scor stabilit după cum urmează: pentru fiecare localizare investigată unde a fost constatată prezența calcificărilor (carotidă, valva mitrală sau aortică) s-a acordat câte un punct, scorul fiind stabilit prin însumarea acestor valori. Scorul 0 a avut semnificația absenței calcificărilor cardiovasculare.

În vederea studiului potențialilor factori de risc implicați în generarea calcificărilor valvulare și vasculare carotidiene, am separat, din lotul inițial de hemodializați, 4 grupuri după cum urmează: pacienți fără calcificări, pacienți la care s-a constatat numai prezența calcificărilor valvulare, pacienți la care s-a constatat numai prezența calcificărilor carotidiene, pacienți cu calcificări valvulare și vasculare.

Analiza statistică a datelor

Prelucrarea statistică a datelor și reprezentarea grafică a acestora s-a realizat folosind programul de calcul tabelar SigmaStat 1 (Jandel Scientific).

Variabilele continue au fost exprimate ca medii $\pm$ deviația standard. Analiza varianței (ANOVA) a fost folosită pentru studiul diferenței între parametri considerați factori de risc cardiovascular la grupuri de hemodializați separate din lotul total pe diferite criterii.

Rezultatele prezentate pe baza tabelelor de contingență au fost apreciate cu testul chi-pătrat.

Pentru demonstrarea corelației dintre diferiți parametri au fost folosite regresia liniară simplă și multiplă.

Tabelul I. Profilul potențialilor factori de risc pentru apariția calcificărilor valvulare și vasculare la pacienții hemodializați

Parametru studiat	Fără calcificări	Calcificări carotidiene	Calcificări valvulare	Calcificări valvulare și carotidiene	p
Sex masculin	15/28	12/24	4/8	12/17	NS
Fumător anterior	14/28	10/24	5/8	9/17	NS
Fumător la data ex. ecografic	6/28	4/24	2/8	4/17	NS
Vârsta (ani)	42,1 ± 11,77	52,1 ± 12,14	45,5 ± 17,74	53,1 ± 6,00	0,00
Vechimea dializei (luni)	34,3 ± 25,3	41,8 ± 31,6	90,5 ± 75,2	84,3 ± 73,7	<0,05
Creatinină (mg/dl)	10,4 ± 2,62	11,8 ± 7,18	10,8 ± 1,54	11,1 ± 2,03	NS
Fibrinogen (mg/dl)	403,6 ± 563,5	209,1 ± 183,9	204,0 ± 107,9	249,6 ± 220,1	NS
Cholesterol (mg/dl)	163,3 ± 31,5	176,4 ± 30,2	149,4 ± 22,9	169,4 ± 34,1	NS
HDL colesterol (mg/dl)	38,8 ± 38,73	35,8 ± 33,40	29,4 ± 10,11	27,6 ± 9,35	NS
LDL colesterol (mg/dl)	100,5 ± 30,0	118,4 ± 31,7	84,5 ± 20,6	102,4 ± 29,4	<0,05
Trigliceride (mg/dl)	176,2 ± 123,6	160,0 ± 58,3	123,2 ± 33,3	164,3 ± 68,6	NS
Calciu total (mmol/l)	2,22 ± 0,464	2,22 ± 0,176	2,25 ± 0,229	2,31 ± 0,179	<0,05
Fosfor (mmol/l)	2,09 ± 0,342	1,93 ± 0,272	2,02 ± 0,359	2,20 ± 0,367	NS
Ca x P (mmol ² /l ²)	4,50 ± 1,203	4,28 ± 0,535	4,58 ± 1,143	5,10 ± 0,981	<0,05
Fosfataza alcalină (U/l)	205,8 ± 141,7	216,8 ± 78,2	240,6 ± 79,6	351,8 ± 468,4	NS
Albumina (g/l)	3,73 ± 0,363	3,58 ± 0,519	3,95 ± 0,234	3,58 ± 0,393	NS
IMC (kg/m ²)	23,0 ± 3,40	24,2 ± 4,07	22,7 ± 3,71	24,0 ± 4,21	NS
Grosime indice- medie (mm)	0,559 ± 0,0747	0,687 ± 0,1191	0,638 ± 0,1506	0,700 ± 0,1414	<0,05
TAs predializă (mmHg)	141,6 ± 21,8	141,8 ± 18,4	131,5 ± 21,0	145,3 ± 14,6	NS
TAd predializă (mmHg)	83,9 ± 8,92	84,6 ± 7,42	79,5 ± 8,28	85,3 ± 5,37	NS
PP (mmHg)	57,7 ± 13,64	57,2 ± 11,83	52,1 ± 13,66	60,1 ± 9,64	NS
Câștig ponderal (Kg)	1,50 ± 0,978	1,58 ± 1,045	1,62 ± 1,222	2,06 ± 0,913	NS
Prezența bolii cardiovasculare	2/28	5/24	3/8	11/17	<0,05

Pragul de semnificație acceptat a fost $p < 0,05$ ^{6,45}

REZULTATE

Lotul studiat a fost format din 43 bărbați (55,84%) și 34 femei (44,15%), prezența bolii cardiovasculare (definită ca mai sus) fiind înregistrată la 15 pacienți (19,48%) (5 femei și 10 bărbați).

Prezența calcificărilor carotidiene a fost înregistrată la 41 pacienți (53,24%) (17 femei – 22,07% și 24 bărbați – 31,16%).

În ceea ce privește prezența calcificărilor valvulare, 7 (9,09%) din pacienții hemodializați au prezentat calcificări aortice, 10 (12,98%) calcificări mitrale și 8 (10,38%) calcificări mitrale și aortice.

48 pacienți (62,33%) au prezentat calcificări valvulare sau vasculare iar 17 pacienți (22,07%) au prezentat și calcificări valvulare și vasculare.

La toți cei 15 pacienți cu boală cardiovasculară s-a constatat prezența de calcificări.

Analiza comparativă a posibilităților factori de risc pentru apariția calcificărilor cardio- vasculare la cele patru grupuri separate din lotul de hemodializați este prezentată în tabelul I.

Vechimea în dializă este un parametru statistic semnificativ crescut la pacienții la care s-a constatat prezența calcificărilor vasculare, în timp ce vârsta pacienților este mai mare în prezența calcificărilor vasculare.

În ceea ce privește metabolismul calciului și fosforului, mediile valorilor Ca și ale produsului Ca x P au fost crescute la pacienții cu calcificări valvulare și vasculare comparativ cu pacienții fără calcificări.

Media valorilor colesterolului LDL a fost statistic semnificativ crescută la pacienții cu calcificări

Tabelul II. Rezultatele analizei liniare multiple folosind ca variabilă dependentă scorul calcificărilor

	Coefficient	Eroare standard	t	p
Scorul calcificarilor	-0,33903	0,37515	-0,904	
Vechimea în dializă	0,00598	0,00182	3,279	0,0016
Vârsta	0,02015	0,00765	2,635	0,0102

Tabelul III. Rezultatele analizei liniare multiple folosind ca variabilă dependentă grosimea intimă - medie carotidiană

	Coefficient	Eroare standard	t	p
Grosimea intima-medie	0,316350	0,060806	5,20	<0,0001
Vârsta	0,004562	0,002041	4,38	<0,0001
LDL colesterol	0,000557	0,000406	1,37	0,1748
Câștig ponderal	0,026903	0,012626	2,13	0,0365

vasculare, la fel ca și media valorilor grosimii intimă-medie.

Analiza prin regresie liniară simplă demonstrează la pacienții cu calcificări vasculare o corelație liniară între valorile calcemiei și vechimea în dializă ($p < 0,05$, $r = 0,441$).

Scorul calcificărilor se corelează liniar cu vechimea în dializă ($p < 0,05$, $r = 0,388$), vârsta pacienților ($p < 0,05$, $r = 0,332$) și grosimea intimă-medie carotidiană ($p < 0,05$, $r = 0,387$).

Grosimea intimă-medie carotidiană se corelează liniar cu vârsta pacienților ($p < 0,0001$, $r = 0,514$), câștigul ponderal interdialitic ($p < 0,05$, $r = 0,327$) și valorile colesterolului LDL ($p < 0,05$, $r = 0,229$).

Analiza liniară multivariată demonstrează că vârsta este un predictor independent al scorului calcificărilor (Tabelul II, $p < 0,0001$, $r = 0,472$, $f = 10,6$), iar în ceea ce privește grosimea intimă-medie carotidiană cea mai importantă corelație se dovedește cea cu vârsta pacienților (Tabelul III, $p < 0,0001$, $r = 0,572$).

DISCUȚII

Prezența și extinderea calcificărilor vasculare și valvulare reprezintă un important factor de risc cardiovascular la populația generală, numeroase studii cuantificând alterările arteriale prin așa numitul "scor" al calcificărilor și dovedind că acesta este un predictor puternic al mortalității cardiovasculare și generale la dializați.¹

Studiul de față stabilește prevalența calcificărilor cardiovasculare la un lot de hemodializați și demonstrează o serie de factori de risc evidențiați ca având rol în etiopatogenia acestor modificări (tulburările metabolismului Ca-P, hipertensiunea) nu se corelează cu prezența calcificărilor, numai vârsta și vechimea în dializă fiind predictori independenți ai modificărilor valvulare și vasculare relate.

Ventura și colab. găsesc calcificări valvulare aortice la 78% din pacienți, mitrale la 26% din pacienți și duble (mitrale și aortice) la 24% din pacienți, autorii încercând să explice prevalența mare a calcificărilor prin administrarea de calciu (sub forma chelatorilor de fosfați) la toți pacienții lotului de studiu.⁴⁴

Ribeiro și colab. demonstrează prezența calcificărilor valvulare aortice la 52% din pacienții studiați și a celor mitrale la 44,5% (comparativ cu procente de 4,3%, respectiv 10,0% la lotul control)³⁵, iar Raggi și colab. cuantifică prevalența calcificărilor aortice la 34%, a celor mitrale la 45% și a ambelor valve la 21% din pacienții dializați, prezența calcificărilor fiind demonstrată computer tomografic.³³

La lotul studiat am evidențiat prezența calcificărilor aortice la 9,09% din pacienți, a celor mitrale la 12,98% din pacienți, iar a celor mitrale și aortice la 10,38% din pacienți, valori mai apropiate de cele determinate de Raj Dominic și colab. care demonstrează prezența calcificărilor valvulare la 16,7% din pacienții dializați.³⁴

Una din explicațiile prevalenței mici a calcificărilor la lotul nostru de hemodializați este

excluderea din studiu a pacienților cu diabet zaharat; nu mai puțin importante sunt însă absența administrării de calciu sub forma chelatorilor de fosfați și vârsta pacienților studiați (la Ribeiro media vârstei pacienților cu calcificări valvulare este de 67 ± 12 ani, iar la Ventura de 58 ± 17 ani, pacienții noștri prezentând o vârstă medie de $45,5 \pm 17,7$ ani).^{35,44}

Dacă Ventura și colab. găsesc o prevalență net crescută a calcificărilor valvulare aortice față de cele mitrale explicând diferența prin existența unui factor cu acțiune locală, independent de condițiile metabolice implicate în determinismul calcificărilor la uremici,⁴⁴ la lotul nostru de hemodializați nu am găsit astfel de diferențe.

Prezența calcificărilor vasculare, ca marker al aterosclerozei generalizate, e raportată diferit de diverși cercetători, în funcție de tipul și numărul arterelor investigate dar și de metoda de diagnostic folosită.^{17,18,24}

La pacienții noștri hemodializați prevalența calcificărilor carotidiene a fost de 53,23%, valori mai mici decât cele demonstrate de Savage și colab. (71%) la un lot asemănător în ceea ce privește vârsta pacienților și absența diabetului zaharat diferențele fiind probabil datorate asocierii altor potențiali factori de risc în studiul menționat (hipoalbuminemia).³⁶

Separarea, din lotul de hemodializați, a patru grupuri, pe baza prezenței sau absenței calcificărilor valvulare și vasculare, a fost făcută în ideea studiului comparativ al posibilor factori cu rol în etiopatogenia modificărilor enumerate.

Existența diferențelor statistic semnificative între vechimea în dializă a pacienților cu diferite tipuri de calcificări și corelația liniară dintre scorul calcificărilor și vechimea în dializă are semnificația recunoașterii rolului acestui parametru în etiopatogenia calcificărilor cardio-vasculare la pacienții dializați, fapt explicat de unii autori prin prelungirea duratei în care pacienții sunt expuși factorilor hemodinamici și biochimici implicați în patogeneza.¹⁸

Rezultatele sunt concordante cu cele obținute de alte studii,^{19,20} în general această dependență fiind explicată prin posibila acumulare a unor toxine uremice încă neidentificate; Maher și colab. asociază calcificările valvulare cu vechimea în dializă, rezultate asemănătoare obțin Ribeiro și colab. dar numai în ce privește pacienții cu calcificări aortice.^{28,35}

Numeroase studii includ vârsta printre factorii de risc ai apariției calcificărilor insistând asupra frecvenței mari și caracterului progresiv al acestor modificări la tinerii cu insuficiență renală.^{5,12,27} La pacienții studiați am demonstrat atât o medie a vârstelor semnificativ crescută la pacienții cu calcificări valvulare, dar și faptul că vârsta este un predictor independent al grosimii intimă-medie carotidiene și al scorului calcificărilor.

În ceea ce privește prevalența sexului masculin, el e recunoscut ca factor de risc cardiovascular tradițional, însă numeroase studii dovedesc faptul că nu există o legătură clară cu prezența calcificărilor valvulare sau vasculare.^{3,29} Nici la lotul nostru de hemodializați nu

am evidențiat legătura dintre prezența calcificărilor și sexul pacienților.

Deși se consideră că la pacienții cu insuficiență renală cronică hiperfosfatemia induce alterări ale homeostaziei calciului, cu crearea unei predispoziții spre calcificarea structurilor vasculare și valvulare, contribuind astfel la alterări funcționale și ale homeostaziei cardiovasculare, iar recent s-a sugerat că prezența calcificărilor vasculare la dializați este, cel puțin în parte, un fenomen iatrogen, datorat administrării chelatorilor de fosfați conținând calciu, analogilor de vitamină D și anticoagularii,^{1,8,10,15,17,21,40} rezultatele analizelor implicării metabolismului Ca-P în determinismul calcificărilor sunt contradictorii.

Numeroase studii nu găsesc corelații între valorile Ca, P și prezența calcificărilor cardiace, Guerin și colab. considerând că astfel de rezultate sunt explicate de valori ale produsului Ca x P sub cele considerate critice pentru precipitarea calciului (5,65 mmol²/l²).^{5,18,20}

Dimpotrivă, Ribeiro și colab., folosind în studiu media valorilor maxime ale Ca și P determinate la pacienți în 6 luni succesive consideră că P, Ca și produsul Ca x P au fost parametri cu rolul predictiv cel mai puternic pentru apariția calcificărilor valvulare, explicând rezultatele negative obținute de alți autori prin faptul că evaluarea statistică s-a realizat pe baza determinărilor metabolismului Ca x P efectuate în momentul studiului.¹⁹ Raggi și colab. demonstrează că o creștere a Ca seric cu 1 mg/dl este echivalentă în ce privește calcificarea vasculară cu 63,5 luni de dializă, iar o creștere cu 1 mg/dl a fosforului seric determină o creștere a calcificării echivalentă cu cea generată de 28,8 luni de dializă.¹⁹

Inconstanța asocierilor statistice dintre concentrațiile ionilor divalenți și calcificarea vasculară este pusă în general pe seama criteriilor de alegere a loturilor, a numărului în general mic de pacienți și caracterului observațional al studiilor.

Deși calciemia și valorile produsului Ca x P sunt crescute la pacienții cu calcificări vasculare, lipsa corelațiilor dintre scorul calcificărilor și parametrii studiați ai metabolismului Ca-P la analiza prin regresie liniară demonstrează că prezenatul studiu nu evidențiază rolul metabolismului Ca-P ca factor de risc semnificativ pentru calcificările cardiovasculare.

Studii recente verifică ipoteza implicării fosfatazei alcaline în creșterea riscului apariției calcificărilor vasculare și valvulare în insuficiența renală¹⁷; analiza de față nu evidențiază însă diferențe statistice semnificative ale valorilor acesteia la diferitele grupuri separate pe baza prezenței calcificărilor cardiovasculare.

La pacienții cu insuficiență renală fibrinogenul poate fi asociat disfuncției endoteliale sau poate reflecta un răspuns inflamator.^{2,20} Deși în mod clasic se consideră că acesta reprezintă un factor de risc important pentru ateroscleroză și prezența calcificărilor chiar și la populația generală²⁵, o serie de studii demonstrând asocierea independentă dintre fibrinogen și prezența calcificărilor vasculare^{11,20,43}, la lotul nostru

de hemodializați valorile fibrinogenului nu s-au corelat cu prezența alterărilor arteriale și valvulare.

Trebuie menționată și lipsa corelației dintre prezența calcificărilor și statusul de fumător sau albuminemie la pacienții studiați, rezultate diferite de cele ale lui Savage și colab.¹⁶ care acceptă ca explicație a acestei corelații ipoteza implicării hipoalbuminemiei în determinismul calcificărilor fie prin favorizarea unui status hipercoagulant sau inflamator cronic, fie prin malnutriție cu scăderea rezervelor de L-arginină având drept consecință reducerea sintezei de oxid nitric.¹²

Asocierea dintre alterările funcționale arteriale și anomalii lipidice e inconstantă: London²⁶ găsește corelații între modificările structurale și funcționale arteriale și modificările valorilor colesterolului HDL, Pohle și colab. atenționează asupra rolului colesterolului LDL în progresia calcificărilor valvulare aortice și a celor coronare³², Tamashiro și colab. insistă asupra rolului hipertrigliceridemiei și scăderii HDL în progresia rapidă a calcificărilor coronariene⁴², în timp ce Raggi și colab. nu găsesc corelații între prezența calcificărilor cardiace și parametrii metabolismului lipidic.¹⁹ Rezultate asemănătoare privitoare la absența asocierii lipide - calcificări sunt des obținute în literatura de specialitate, dar se consideră că ele nu implică în mod necesar concluzia că dislipidemia are importanță redusă, ci dovedesc existența altor factori (statusul inflamator, malnutriția, etc.) care pot masca această asociere.

La lotul nostru de hemodializați, deși am demonstrat creșterea statistic semnificativă a valorilor colesterolului LDL în prezența calcificărilor vasculare, nici unul dintre parametrii metabolismului lipidic nu a reprezentat un predictor independent al prezenței calcificărilor cardiovasculare.

Grosimea medie-intimă este considerată un marker al proprietăților structurale și funcționale ale peretelui vascular, studiile populaționale demonstrând că modificările acestui parametru sunt asociate cu o prevalență crescută a bolii cardiovasculare și cu prezența altor factori de risc cardiovascular.^{34,46}

La grupul nostru de hemodializați am găsit valori ale grosimii intimă-medie carotidiene semnificativ crescute la pacienții cu calcificări vasculare și existența unei corelații liniare între acest parametru și vârsta pacienților, valorile colesterolului LDL și câștigul ponderal interdialitic.

Vârsta este considerată și de alți autori un predictor independent al grosimii intimă-medie carotidiene^{11,20,36}, iar în ceea ce privește colesterolul LDL, și alte studii demonstrează că acesta reprezintă un factor de risc independent al grosimii intimă-medie carotidiene, în special la pacienți hipertensivi⁴¹, considerându-se că în prezența hipertensiunii, crește difuziunea LDL în spațiul subendotelial și se prelungește retenția LDL la nivelul intimei fiind favorizată astfel ateroscleroza indusă de colesterolul LDL.

Câștigul ponderal interdialitic, o măsură a hiperhidratării cronice, se corelează în general cu prezența hipertensiunii predializă³⁹, iar hipertensiunea este asociată, în diferite studii clinice, cu creșterea

grosimii intimă- medie carotidiene.¹⁴ Deși câștigul ponderal interdialitic și valorile sistolice respectiv diastolice ale tensiunii arteriale nu au prezentat diferențe la cele patru grupuri separate din lotul de hemodializați, corelația liniară dintre grosimea intimă- medie carotidiană și câștigul ponderal interdialitic poate fi explicată prin prisma alterărilor locale datorate stresului vascular crescut determinat de hipertensiune.

Studiul de față prezintă o serie de limite și potențiale surse de eroare, cea mai importantă fiind caracterul retrospectiv și natura observațională a analizei. Excluderea din lotul studiat a pacienților cu diabet zaharat determină o subestimare a prevalenței calcificărilor comparativ cu un lot de hemodializați neselectați. Analiza noastră, la fel ca majoritatea studiilor din literatură, se referă la un grup mic de pacienți (fapt datorat limitării numărului de paturi în centrele de hemodializă, analiza datelor biologice la pacienți făcând parte din diferite centre de hemodializă fiind mai greu de realizat din cauza metodelor diferite de evaluare ecografică și a parametrilor biologici practicate), acesta putând reprezenta un important factor de eroare. În plus, aprecierea semicantitativă a calcificărilor vasculare nu permite evaluarea concentrației calciului de la nivel arterial, determinare care ar oferi date mai precise asupra implicării acestui parametru în etiopatogenia calcificărilor.

O caracteristică importantă a prezentului studiu este dată de faptul că, spre deosebire de majoritatea analizelor la care s-a făcut referire anterior, folosirea mediilor parametrilor biologici obținuți după o perioadă îndelungată de supraveghere elimină riscul de eroare oferit de o modificare de scurtă durată a acestor parametri, cu rol minim (în acest context) în producerea unor alterări arteriale și valvulare cuantificabile.

În concluzie, studiul de față demonstrează o prevalență mare a calcificărilor cardiovasculare la hemodializați, fără a putea pune în evidență o legătură clară a acestor modificări cu parametrii metabolismului calciului și fosforului. Vârsta a reprezentat singurul predictor independent al prezenței calcificărilor, atât valvulare cât și vasculare, corelația dintre scorul calcificărilor și vechimea în dializă demonstrând rolul important al acesteia din urmă în generarea modificărilor valvulare și vasculare.

Studii prospective, de lungă durată, efectuate pe un număr mare de pacienți sunt necesare pentru a stabili relațiile complexe dintre calcificări și numeroșii factori de risc la care sunt expuși pacienții uremici hemodializați și pentru a înțelege modul în care trebuie să se acționeze terapeutic pentru prevenirea apariției calcificărilor cardiovasculare.

BIBLIOGRAFIE

1. AMANN K, GROSS ML, LONDON GM, RITZ E - *Hyperphosphataemia - a silent killer of patients with renal failure?* Nephrol Dial Transplant. 1999;14:2085-2087.
2. BLACHER J, DEMUTH K, GUERIN A, ET AL - *Influence of biochemical alterations on arterial stiffness in patients with end-stage renal disease.* Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1998;18:535-541.
3. BLACHER J, GUERIN AP, PANNIER B, ET AL - *Arterial calcifications, arterial stiffness and cardiovascular risk in end-stage renal disease.* Hypertension 2001;38:938-942.
4. BLACHER J, PANNIER B, GUERIN AP, ET AL - *Carotid arterial stiffness as a predictor of cardiovascular and all-cause mortality in end-stage renal disease.* Hypertension 1998;32:570-574.
5. BRAUN J, OLDENDORF M, MOSHAGE W, ET AL - *Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcification in chronic dialysis patients.* Am J Kidney Dis. 1996;27:394-401.
6. CHRISTENSEN HB - *Statistics step by step.* Boston: Houghton Mifflin Company, 1977.
7. COLADONATO JA, SZSZECH LA, FRIEDMAN EA, OWEN WF - *Does calcium kill ESRD patients - the skeptic's perspective.* Nephrol Dial Transplant. 2002;17:229-232.
8. COZZOLINO M, DUSSO AS, SLATOPOLSKY E - *Role of calcium-phosphate product and bone-associated proteins on vascular calcification in renal failure.* J Am Soc Nephrol. 2001;12:2511-2516.
9. DAVIES MR, HRUSKA KA - *Pathophysiological mechanisms of vascular calcification in end-stage renal disease.* Kidney Int. 2001;60:472-479.
10. DRUEKE TB, ROSTAND SG - *Progression of vascular calcification in uraemic patients: can it be stopped?* Nephrol Dial Transplant. 2002;17:1365-1368.
11. EBRAHIM S, PAPACOSTA O, WHINCUP P, ET AL - *Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women (The British Regional Heart Study).* Stroke 1999;30:841-850.
12. FOLEY RN, PARFREY PS, HARNETT JD, ET AL - *Hypoalbuminemia, cardiac morbidity, and mortality in end-stage renal disease.* J Am Soc Nephrol. 1996;7:728-736.
13. GARDNER CD, FORTMANN SP, KRAUSS RM - *Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women.* JAMA 1996;276:882-888.
14. GARIPEY J, MASSONNEAU M, LEVENSON J, ET AL - *Evidence for in vivo carotid and femoral wall thickening in human hypertension.* Hypertension 1993;22:111-118.
15. GIACHELLI CM - *Ectopic calcification. Gathering hard facts about soft tissue mineralization.* Am J Pathol. 1999;154:671-675.
16. GIACHELLI CM, JONO S, SHIOI A, ET AL - *Vascular calcification and inorganic phosphate.* Am J Kidney Dis. 2001;38:S34-S37.
17. GOLDSMITH DJ, COVIC A, SAMBROOK PA, ACKRILL P - *Vascular calcification in long-term haemodialysis patients in a single unit: a retrospective analysis.* Nephron 1997;77:37-43.
18. GOODMAN WG, GOLDIN J, KUIZON BD, ET AL - *Coronary artery calcification in young adults with end stage renal disease who are undergoing dialysis.* N Engl J Med. 2000;342:1478-1483.
19. GREAVES SC, GAMBLE GD, COLLINS JF, ET AL - *Determinants of left ventricular changes associated with chronic hemodialysis.* Am J Kidney Dis. 1994;24:768-776.
20. GUERIN AP, LONDON GM, MARCHAIS SJ, METTIVIER F - *Arterial stiffening and vascular calcification in end-stage renal disease.* Nephrol Dial Transplant. 2000;15:1014-1021.
21. HERGESELL O, RITZ E - *Phosphate binders in uraemia: pharmacodynamics, pharmacoeconomics, pharmacoeffects.* Nephrol Dial Transplant. 2002;17:14-16.
22. JARDINE AG, McLAUGHLIN K - *Cardiovascular complications of renal disease.* Heart 2001;86:459-466.
23. KATZ AM - *Cardiomyopathy of overload: a major determinant of prognosis in congestive heart failure.* N Engl J Med. 1990;322:100-110.
24. LESKINEN Y, SALENIUS JP, LEHTIMAKI T, ET AL - *The prevalence of peripheral arterial disease and medial arterial calcification in patients with chronic renal failure: requirements for diagnostics.* Am J Kidney Dis. 2002;40:472-479.

25. LEVENSON J, GIRAL P, MEGNIEN JL, WANNER C - *Fibrinogen and its relations to subclinical extracoronary and coronary atherosclerosis in hypercholesterolic men*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;1997:45-50.
26. LONDON GM, MARCHAIS SJ, SAFAR ME, ET AL. - *Aortic and large artery compliance in end-stage renal failure*. *Kidney Int*. 1990;37:137-142.
27. LONDON GM, PANNIER B, MARCHAIS SJ, GUERIN AP - *Calcification of the aortic valve in the dialyzed patient*. *J Am Soc Nephrol*. 2000;11:778-783.
28. MAHER ER, YOUNG G, SMITH-WALSH B, ET AL. - *Aortic and mitral valve calcification in patients with end stage renal disease*. *Lancet*. 1987;2:875-877.
29. MAILLOUX LU - *Hypertension in the dialysis patient*. *Am J Kidney Dis*. 1999;34:359-361.
30. MALERGUE MC, URENA P, PRIEUR P, ET AL. - *Incidence and development of aortic stenosis in chronic hemodialysis. An ultrasonographic and biological study of 112 patients*. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 1997;90:1595-1601.
31. PASCAZIO L, BIANCO F, GIORGINI A, ET AL. - *Echo color Doppler imaging of carotid vessels in hemodialysis patients: evidence of high levels of atherosclerotic lesions*. *Am J Kidney Dis*. 1996;28:713-720.
32. POHLE K, MAFFERT R, ROPERS D, ET AL. - *Progression of aortic valve calcification. Association with coronary atherosclerosis and cardiovascular risk factors*. *Circulation*. 2001;104:1927-1932.
33. RAGGI P, BOULAY A, CHASAN-TABER S, ET AL. - *Cardiac calcification in adult haemodialysis patients. A link between end-stage renal disease and cardiovascular disease?* *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:695-701.
34. RAJ DOMINIC SC, SOMIAH S, MANI K, ET AL. - *Valvular dysfunction in uraemia*. *Indian J Med Res*. 1996;103:98-102.
35. RIBEIRO S, RAMOS A, BRANDAO A, ET AL. - *Cardiac valve calcification in hemodialysis patients: role of calcium-phosphate metabolism*. *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13:2037-2040.
36. SAVAGE T, CLARKE AL, GILES M, ET AL. - *Calcified plaque is common in the carotid and femoral arteries of dialysis patients without clinical vascular disease*. *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13:2004-2012.
37. SCHINKE T, KARSENTY G - *Vascular calcification - a passive process in need of inhibitors*. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15:1272-1274.
38. SIMONS PCG, ALGRA A, BOTS M, ET AL. - *Common carotid intima-media thickness and arterial stiffness. Indicators of cardiovascular risk in high-risk patients. The SMART Study*. *Circulation*. 1999;100:951-957.
39. SPOSITO M, NIETO F, VENTURA JE - *Seasonal variations of blood pressure and overhydration in patients on chronic hemodialysis*. *Am J Kidney Dis*. 2000;35:812-818.
40. STRAUMANN E, MEYER B, MISTELI M, ET AL. - *Aortic and mitral valve disease in patients with end-stage renal failure on long-term hemodialysis*. *Br Heart J*. 1992;67:236-239.
41. SUN P, DWYER KM, NOEL BAIREY MERZ C, ET AL. - *Blood pressure, LDL cholesterol, and intima-media thickness. A test of the "Response to Injury" hypothesis of atherosclerosis*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:2005-2010.
42. TAMASHIRO M, ISEKI K, SUNAGAWA O, ET AL. - *Significant association between the progression of coronary artery calcification and dyslipidemia in patients on chronic hemodialysis*. *Am J Kidney Dis*. 2001;38:64-69.
43. TRIBOUILLOY C, PELTIER M, COLAS L, ET AL. - *Fibrinogen is an independent marker for thoracic aortic atherosclerosis*. *Am J Cardiol*. 1998;81:321-326.
44. VENTURA JE, TAVELLA N, ROMERO C, ET AL. - *Aortic valve calcification is an independent factor of left ventricular hypertrophy in patients on maintenance haemodialysis*. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17:1795-1801.
45. ZOCCALI, C - *Le basi statistiche ed epidemiologiche della medicina clinica. Aspetti tecnici in nefrologia*. www.acccmed.net/stat/. 1999.
46. ZUREIK M, DUCIMETIERE P, TOUBOUL PJ - *Common carotid intima-media thickness predicts occurrence of carotid atherosclerotic plaques longitudinal results from the Aging Vascular Study (EVA) Study*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1622-1629.

Farmacocinetica diclofenacului sodic din microsferile de gelatină

Adriana Ciurba, Adriana Popovici

S-au preparat microsferi de gelatină cu diclofenac sodic prin metoda de denaturare chimică a proteinei. În această lucrare s-a cercetat farmacocinetica diclofenacului sodic încorporat în diferite tipuri de microsferi de gelatină, după administrarea unor doze unice pe cale orală la iepuri. Cuvinte cheie: microsferi de gelatină, diclofenac, farmacocinetică

Termic degradation sodium diclofenac microspheres were studied. Different kind of gelatin microspheres sodium diclofenac pharmacokinetics was carried out, after oral administration of one dose in rabbits.

Key words: gelatin microspheres, diclofenac, pharmacokinetic

Prin formularea microsferelor cu diclofenac sodic s-a urmărit obținerea unor forme farmaceutice care să asigure o eliberare prelungită a substanței medicamentoase. Ca material formator de matrice s-a ales gelatina, iar microsferile au fost preparate prin denaturarea chimică a proteinei.²⁴ S-au studiat microsferi de 315-500 μm, în două variante de reticulare cu formaldehidă: 24, respectiv 48 de ore.⁵ S-a cercetat biodisponibilitatea relativă a diclofenacului sodic din două probe de microsferi de gelatină (1 și 2) și din produsul Diclofenac Duo (Pharmavit) pe baza concentrațiilor plasmatice după administrarea unor doze unice de 75 mg diclofenac sodic pe cale orală, la iepuri. Lucrarea este un studiu de farmacocinetică experimentală preclinică pe animale de laborator, nefiind un studiu care să evalueze echivalența terapeutică a unor formulări diferite cu diclofenac sodic.

MATERIALE ȘI METODE

Material:

-microsferi de gelatină cu diclofenac sodic 315-500 mm, reticulate cu vapori saturați de formaldehidă timp de 24 de ore (1), respectiv 48 de ore (2)

-Diclofenac Duo -capsule (Pharmavit)

-heparină (Biochemie Austria)

-cromatograf JASCO PU 980/UV 970-975 (HPLC)

-centrifugă T 23 Janitzki

Metode

Administrarea și prelucrarea probelor

Microsferile de gelatină cu diclofenac sodic s-au administrat prin gavaj la un număr de șase iepuri albi masculi cu greutatea cuprinsă între 2,9 - 3,8 kg. Administrarea s-a efectuat în doză unică, dimineața, pe stomacul gol cu 3 ml ser fiziologic. Pe perioada studiului animalele de experiență au avut acces la apă. S-au prelevat probe de sânge din vena auriculară printr-o canulă prin care, între prelevări, s-a perfuzat soluție de glucoză 5 %. Intervalele de prelevare au fost la 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 6; și 8 ore după administrare. Sângele s-a recoltat pe heparină, s-a centrifugat, iar plasma separată s-a păstrat la congelator până la determinarea cantitativă.

Determinarea cantitativă a diclofenacului sodic din plasmă

Determinarea diclofenacului în plasmă s-a realizat prin cromatografie de lichide de înaltă performanță

(HPLC) cu detectare UV a substanței medicamentoase după metode publicate.¹³ Tamponul fazei mobile a constat într-un amestec 1:1 (V/V) de soluție apoasă K_2HPO_4 (1,8 g/l) și apă. Tamponul s-a ajustat la $pH=2,7$ cu H_3PO_4 . Faza mobilă ($pH=2,7$ tampon fosfat - metanol, 30:70, V/V) s-a folosit cu debitul de 1 ml/min, la temperatura camerei. Timpul de retenție a fost de 4 minute. S-a construit o curbă de calibrare prin ajustarea suprafeței picurilor cu concentrații cunoscute de substanță medicamentoasă, folosind regresia liniară prin metoda celor mai mici pătrate. S-a constatat liniaritate în domeniul de concentrații 20 ng/ml și 2000 ng/ml.

Pentru prepararea probelor într-un tub de sticlă de 10 ml s-au adăugat 2 ml plasmă, 2 ml acid clorhidric și 6 ml benzen. Tubul s-a agitat 10 min și s-a centrifugat 5 min la 4000 r.p.m.. Cinci ml supernatant s-au evaporat la sec la 40°C. Reziduul s-a reluat cu 100 ml fază mobilă. O probă corespunzătoare (30 μ l) s-a introdus în injectorul cromatografului.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În tabelele I, II și III sunt redate valorile individuale ale concentrațiilor plasmatice ale diclofenacului sodic după administrarea unei doze unice de 75 mg diclofenac sodic la iepuri sub trei forme: microsfele de gelatină cu diclofenac sodic în două variante de reticulare (1 și 2) și conținutul capsulelor Diclofenac Duo (Pharmavit) utilizat ca produs de referință.

În figurile 1, 2 și 3 sunt prezentate curbele valorilor individuale ale concentrațiilor serice.

Valorile medii ale concentrațiilor plasmatice ale diclofenacului sodic pentru cele trei produse studiate sunt prezentate în figura 4. Se constată că absorbția substanței active se realizează destul de rapid, ajungând la o valoare maximă de 0,80 μ g/ml la aproximativ 2,5 ore de la administrare, după care eliminarea decurge în două faze, una rapidă și una mai lentă.

Tabelul I. Valorile individuale și medii ale concentrațiilor plasmatice ale diclofenacului sodic după administrarea unor doze unice din microsfele reticulate 24 de ore - (1) (exprimare în μ g/ml)

Subiect	Timpul (ore)							
	1	1,5	2	2,5	3	4	6	8
1	0,073	0,391	0,609	0,706	0,653	0,502	0,092	0,010
2	0,095	0,450	0,750	0,822	0,788	0,601	0,160	0,017
3	0,124	0,521	0,972	1,068	1,015	0,761	0,244	0,027
4	0,099	0,460	0,775	0,826	0,803	0,571	0,169	0,021
5	0,113	0,513	0,834	0,904	0,869	0,699	0,188	0,025
6	0,084	0,437	0,620	0,660	0,648	0,502	0,143	0,020
Media	0,098	0,462	0,760	0,831	0,796	0,606	0,166	0,020
$\pm S_x$	$\pm 0,03$	$\pm 0,09$	$\pm 0,27$	$\pm 0,29$	$\pm 0,28$	$\pm 0,21$	$\pm 0,10$	$\pm 0,01$

Tabelul II. Valorile individuale și medii ale concentrațiilor plasmatice ale diclofenacului sodic după administrarea unor doze unice din microsfele reticulate 48 de ore - (2) (exprimare în μ g/ml)

Subiect	Timpul (ore)							
	1	1,5	2	2,5	3	4	6	8
1	0,22	0,173	0,437	0,519	0,472	0,322	0,017	0,013
2	0,060	0,601	0,917	1,063	1,092	0,711	0,208	0,030
3	0,041	0,319	0,626	0,751	0,602	0,401	0,118	0,020
4	0,049	0,329	0,685	0,824	0,784	0,471	0,117	0,025
5	0,021	0,150	0,386	0,507	0,453	0,251	0,075	0,011
6	0,047	0,324	0,681	0,818	0,839	0,592	0,131	0,021
Media	0,040	0,316	0,622	0,747	0,707	0,458	0,111	0,020
$\pm S_x$	$\pm 0,03$	$\pm 0,32$	$\pm 0,39$	$\pm 0,42$	$\pm 0,50$	$\pm 0,34$	$\pm 0,12$	$\pm 0,01$

Tabelul III. Valorile individuale și medii ale concentrațiilor plasmatice după administrarea unor doze unice din capsulele Diclofenac Duo (Pharmavit) (exprimare în μ g/ml)

Subiect	Timpul (ore)							
	1	1,5	2	2,5	3	4	6	8
1	0,168	0,593	0,830	0,861	0,937	0,803	0,260	0,053
2	0,130	0,489	0,617	0,652	0,667	0,589	0,159	0,029
3	0,160	0,586	0,922	1,072	1,092	0,760	0,245	0,045
4	0,182	0,608	0,984	1,126	1,140	0,780	0,338	0,058
5	0,130	0,521	0,812	0,832	0,853	0,607	0,188	0,027
6	0,166	0,587	0,821	0,845	0,909	0,619	0,250	0,052
Media	0,156	0,564	0,831	0,898	0,933	0,693	0,240	0,044
$\pm S_x$	$\pm 0,04$	$\pm 0,09$	$\pm 0,25$	$\pm 0,35$	$\pm 0,34$	$\pm 0,19$	$\pm 0,12$	$\pm 0,02$

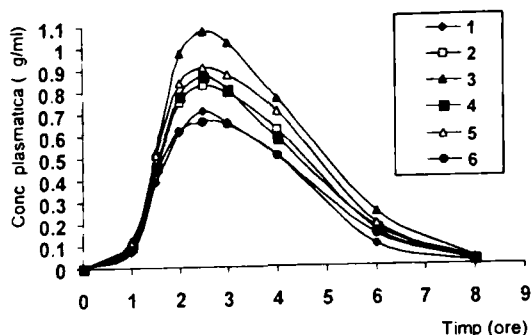


Figura 1. Valorile individuale ale concentrațiilor plasmatice ale diclofenacului sodic în urma administrării microsferei reticulate 24 de ore (Doza = 75 mg diclofenac sodic)

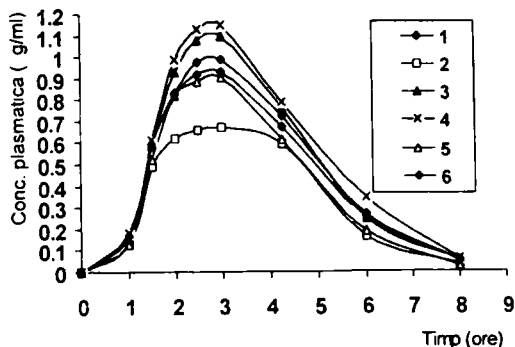


Figura 3. Valorile individuale ale concentrațiilor plasmatice ale diclofenacului sodic în urma administrării capsulei Diclofenac Duo (Doza = 75 mg diclofenac sodic)

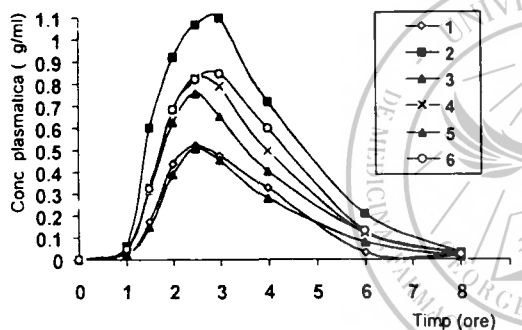


Figura 2. Valorile individuale ale concentrațiilor plasmatice ale diclofenacului sodic în urma administrării microsferei reticulate 48 de ore (Doza = 75 mg diclofenac sodic)

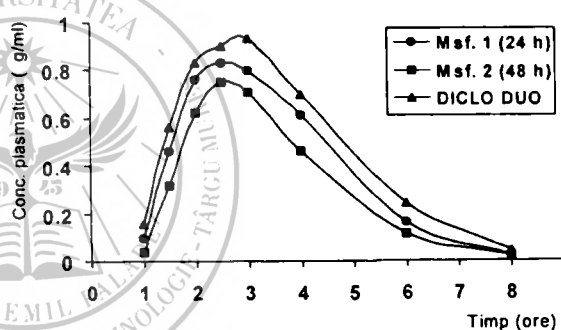


Figura 4. Concentrațiile plasmatice ale diclofenacului sodic după administrarea a 75 mg sub forma produselor test (1 și 2) și a produsului de referință (media aritmetică)

În cazul produsului Diclofenac Duo nivelul concentrațiilor plasmatice este mai ridicat decât în cazul microsferei. Cel mai scăzut nivel al concentrațiilor plasmatice s-a observat în cazul microsferei de gelatină cu diclofenac sodic reticulate cu formaldehidă 48 de ore, datorită gradului de reticulare mai avansat și eliberării substanței active într-o măsură mai mică.

Parametrii farmacocinetici individuali ai diclofenacului sodic și valorile medii ale acestora după administrarea celor două tipuri de microsfere de gelatină cu diclofenac sodic și a produsului Diclofenac Duo (Pharmavit), sunt indicați în tabelele IV, V și VI.

Rezultatele au fost evaluate conform testului "t" Student prevăzut în FRX, fiind considerate semnificative numai rezultatele care s-au încadrat într-o probabilitate de apariție de 95 % ($p < 0,05$).

Constanțele de absorbție au valori comparabile constatându-se o absorbție mai puțin rapidă din capsulele Diclofenac Duo ($k_a = 4,119 \pm 2,01$) în

comparație cu microsferele reticulate 24 (1), respectiv 48 de ore (2). Concentrațiile maxime ale substanței active în plasmă în cazul celor două tipuri de microsfere (1 - $C_{max} = 0,831 \pm 0,29$; 2 - $C_{max} = 0,755 \pm 0,44$) și în cazul capsulelor Diclofenac Duo ($C_{max} = 0,933 \pm 0,34$) se ating la 2,5 ore; $2,667 \pm 0,52$ și la 3 ore, constatându-se un t_{max} mai rapid în cazul microsferei reticulate 24 de ore ($t_{max} = 2,5$ ore).

Tempul de înjumătățire biologică este asemănător în cele trei cazuri. Valorile mai mari ale MRT (timp mediu de existență a moleculei în organism) în cazul Diclofenacului Duo ($3,658 \pm 0,41$) în comparație cu microsferele (1 - $3,508 \pm 0,44$; 2 - $3,492 \pm 0,38$) se explică printr-o eliberare mai lentă a substanței medicamentoase din capsulele Diclofenac Duo.

Mărimea absorbției diclofenacului sodic din cele trei preparate studiate este redată de mărimea ariei de sub curba concentrațiilor plasmatice în timp (ASC). Comparând valoarea ariilor de sub curbă obținute pentru cele trei preparate și considerând ca referință

Tabelul IV. Valorile individuale și medii ($\pm$ eroarea standard) ale parametrilor biofarmaceutici ai diclofenacului sodic după administrarea unor doze unice de 75 mg pe cale orală sub forma microsferelor de gelatină 315-500 μ m reticulate 24 de ore cu formaldehidă, rezultate din analiza farmacocinetică, conform unui model necompartimentat

Subiect	Parametri farmacocinetici								
	k_a (h ⁻¹)	k_e (h ⁻¹)	C_{max} (μ g/ml)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	ASC_{0-1} (μ g·h·ml ⁻¹)	$ASC_{1-\infty}$ (μ g·h·ml ⁻¹)	$ASC_{0-\infty}$ (μ g·h·ml ⁻¹)	MRT (h)
1	4,362	0,978	0,706	2,5	0,708	2,207	0,011	2,218	3,225
2	3,324	0,550	0,822	2,5	1,260	2,643	0,307	2,950	3,372
3	1,977	0,724	1,068	2,5	0,957	3,624	0,050	3,674	3,457
4	3,864	0,667	0,826	2,5	1,039	2,795	0,044	2,839	3,426
5	3,480	0,463	0,904	2,5	1,494	2,995	0,455	3,450	3,838
6	5,823	0,521	0,660	2,5	1,329	2,234	0,289	2,523	3,702
Media $\pm$ S _e	3,805 $\pm$ 2,59	0,650 $\pm$ 0,38	0,831 $\pm$ 0,29	2,5	1,131 $\pm$ 0,58	2,749 $\pm$ 1,07	0,192 $\pm$ 037	2,942 $\pm$ 1,11	3,508 $\pm$ 0,44

Tabelul V. Valorile individuale și medii ($\pm$ eroarea standard) ale parametrilor biofarmaceutici ai diclofenacului sodic după administrarea unor doze unice de 75 mg pe cale orală sub forma microsferelor de gelatină 315-500 μ m reticulate 48 de ore cu formaldehidă, rezultate din analiza farmacocinetică, conform unui model necompartimentat

Subiect	Parametri farmacocinetici								
	k_a (h ⁻¹)	k_e (h ⁻¹)	C_{max} (μ g/ml)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	ASC_{0-1} (μ g·h·ml ⁻¹)	$ASC_{1-\infty}$ (μ g·h·ml ⁻¹)	$ASC_{0-\infty}$ (μ g·h·ml ⁻¹)	MRT (h)
1	3,057	0,775	0,519	2,5	0,894	1,328	0,011	1,339	3,138
2	4,132	0,561	1,092	3	1,234	3,317	0,380	3,697	3,657
3	3,038	0,553	0,751	2,5	1,253	1,986	0,219	2,205	3,698
4	4,215	0,578	0,824	2,5	1,198	2,278	0,220	2,498	3,542
5	3,470	0,600	0,507	2,5	1,155	2,284	0,125	1,409	3,567
6	3,511	0,752	0,839	3	0,921	2,598	0,032	2,630	3,453
Media $\pm$ S _e	3,570 $\pm$ 1,03	0,636 $\pm$ 0,2	0,755 $\pm$ 0,44	2,66 $\pm$ 0,52	1,109 $\pm$ 0,32	2,298 $\pm$ 1,34	0,164 $\pm$ 0,28	2,296 $\pm$ 1,78	3,492 $\pm$ 0,38

Tabelul VI. Valorile individuale și medii ($\pm$ eroarea standard) ale parametrilor biofarmaceutici ai diclofenacului sodic după administrarea unor doze unice de 75 mg pe cale orală sub forma capsulelor Diclofenac Duo (Pharmavit), rezultate din analiza farmacocinetică necompartimentală

Subiect	Parametri farmacocinetici								
	k_a (h ⁻¹)	k_e (h ⁻¹)	C_{max} (μ g/ml)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	ASC_{0-1} (μ g·h·ml ⁻¹)	$ASC_{1-\infty}$ (μ g·h·ml ⁻¹)	$ASC_{0-\infty}$ (μ g·h·ml ⁻¹)	MRT (h)
1	5,360	0,446	0,937	3	1,551	3,353	0,616	3,969	4,011
2	3,058	0,503	0,667	3	1,377	2,443	0,340	2,783	3,753
3	3,512	0,707	1,092	3	0,980	3,760	0,069	3,829	3,510
4	4,216	0,650	1,140	3	1,066	4,122	0,104	4,226	3,642
5	3,349	0,892	0,853	3	1,001	3,009	0,048	3,057	3,433
6	5,223	0,619	0,909	3	1,119	3,318	0,093	3,411	3,602
Media $\pm$ S _e	4,119 $\pm$ 2,01	0,602 $\pm$ 0,21	0,933 $\pm$ 0,34	3	1,182 $\pm$ 0,47	3,334 $\pm$ 1,19	0,211 $\pm$ 0,45	3,545 $\pm$ 1,14	3,658 $\pm$ 0,41

produsul Diclofenac Duo la care mărimea ariei este cea mai mare, s-a determinat biodisponibilitatea relativă a celor două preparate sub formă de microsferă (1 și 2), care este de 82,9 %, respectiv 64,7 %. Având în vedere faptul că indicele terapeutic al diclofenacului sodic este relativ mare, diferența în biodisponibilitate între microsferile de gelatină reticulate 24 de ore și produsul Diclofenac Duo nu prezintă semnificație în experimentul preclinic efectuat, lucru care nu poate fi afirmat și în cazul microsferelor reticulate 48 de ore.

CONCLUZII

Prin administrarea diclofenacului sodic sub formă de microsferă de gelatină reticulate 24 de ore se obțin concentrații medicamentoase plasmatice ușor mai scăzute comparativ cu produsul Diclofenac Duo. Viteza de absorbție și mărimea absorbției diclofenacului sodic din aceste două preparate este asemănătoare, diferențele nefiind semnificative statistic. În cazul microsferelor de gelatină având un grad de reticulare mai avansat (reticulate 48 de ore) se constată diferențe mai mari în ceea ce privește viteza absorbției și mărimea absorbției față de Diclofenac

Duo, biodisponibilitatea fiind de numai 64,7%. Biodisponibilitatea relativă a diclofenacului sodic din microsferile de gelatină 1 este de 82,9 % față de produsul Diclofenac Duo. Analizând valorile raporturilor ariilor de sub curbele concentrațiilor plasmatice, dar și valorile asemănătoare C_{max} și t_{max} se poate spune că cele două produse (microsferă de gelatină reticulate 24 de ore și Diclofenac Duo) ar putea avea o eficiență clinică asemănătoare estimată pe baza studiilor farmacocinetice preclinice.

BIBLIOGRAFIE

1. HERCEGOVA A, POLONSKY J - *Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in biological fluids*. Pharmazie 1999, 54: 7-10
2. LOU Y, GROVES M J - *The use of gelatin microparticles to delay the release of readily water-soluble materials*. J Pharm Pharmacol., 1995, 47: 97-102
3. MIRON M, LEUCUȚA S E - *Determinarea farmacocineticii unor antibiotice orale încorporate în microsferă de gelatină după administrare la iepuri*. Clujul Medical 1997, 70: 472-476
4. NARAYANI R, RAO K P - *Controlled release of anticancer drug methotrexate from biodegradable gelatin microspheres*. J Microencap. 1994, 11: 69-72
5. ROITMAN J, PIETSCH H - *Crosslinking reactions of gelatin films*. J Photogr. Sci., 1992, 40: 217-219



Influența unor central-deprimante fenotiazinice asupra efectului antinociceptiv al Tramadolului

Sorina Cucuiet, Gh. Feszty

Autorii au studiat la șoareci albi, folosind testul plăcii încălzite, influența unor neuroleptice fenotiazinice asupra efectului antinociceptiv al tramadolului, un agonist opioid sintetic cu afinitate relativ mică pentru receptorii μ și κ , având și activitate monoaminergică, datorită scăderii recaptării neuronale a noradrenalinei și serotonininei. Rezultatele au arătat că clorpromazina și levomepromazina au avut un efect antinociceptiv propriu și au potențat statistic semnificativ efectul analgezic al tramadolului. Trifluoperazina, dotată tot cu acțiune antinociceptivă a intensificat efectul tramadolului numai în doză mai mare, iar tioproperezina practic nu a influențat efectul tramadolului. Prometazina a fost sinergică cu efectul analgezicului numai când s-a administrat în doză mai mică. În concluzie, putem afirma că neurolepticele sedative măresc acțiunea analgezică a tramadolului în timp ce neurolepticele incisive manifestă o interacțiune slabă sau chiar nu influențează efectul antinociceptiv al analgezicului studiat. Se discută mecanismul de producere și importanța practică a interacțiunilor observate.

Cuvinte cheie: analgezie, tramadol, neuroleptice, fenotiazine

The authors using the hot plate test studied on albino mice the influence of some phenothiazine neuroleptics upon the antinociceptive effect of tramadol, a synthetic opioid agonist on μ and κ receptors, having also a monoaminergic activity, by the inhibition of norepinephrine and 5-hydroxytryptamine re-uptake. The obtained results showed that chlorpromazine and levomepromazine exert an antinociceptive action and potentiate statistically significant the antinociceptive effect of the tramadol. The triphluoperazine had also an antinociceptive activity, but it increased the effect of tramadol only when it was used in larger dose, while thioproperezine did not influence the effect of tramadol. Promethazine was synergic with tramadol only in a small dose. In conclusion, we can assert that sedative phenothiazines increase the antinociceptive effect of tramadol, while the incisive neuroleptics are less efficient or lack influence on this effect of the analgesic drug. The mechanism of the observed interactions and their practical importance is discussed.

Key words: analgesia, tramadol, neuroleptics, phenothiazines

Tramadolul (1-metoxifenil-2-dimetilaminoetilciclohexanol), un opioid sintetic cu efect analgezic comparabil cu cel al codeinei și dextropropoxifenului, este folosit pentru tratamentul durerilor moderate-severe, acute și cronice, fiind un analgezic eficient, bine tolerat și valoros la tratarea durerilor care nu necesită opioide mai puternice. Are un mecanism de acțiune complex, acționând ca agonist cu afinitate relativ mică la nivelul receptorilor μ și κ . În contrast cu alte opioide agoniste, acțiunea analgezică a tramadolului este doar parțial antagonizată de naloxonă. Prezintă o activitate monoaminergică, crescând nivelul extraneuronal al serotonininei și noradrenalinei prin inhibarea recaptării acestora, ceea ce contribuie la acțiunea analgezică la nivel spinal.

Deși a fost introdus mai demult în terapie, cercetările privind acțiunea tramadolului continuă și astăzi, medicamentul având multiple avantaje, cele mai importante fiind deprimarea redusă a centrului

respirator³⁰ și potențialul scăzut de instalare a dependenței.^{8,13,30} Un dezavantaj este eficacitatea moderată, care ar putea fi remediată prin asocieri sinergice, cum se practică în cazul altor analgezice opioide. În acest scop se folosesc diferite coanalgetice, medicamente cu mecanisme de acțiune și efecte principale diferite, care pot calma anumite tipuri de dureri sau pot fi utilizate ca adjuvante în asociere cu analgezicele propriu-zise pentru creșterea eficacității acestora. Printre coanalgetice un rol important îl ocupă fenotiazinele. În literatura de specialitate există doar date sporadice referitor la interacțiunea tramadolului cu substanțe coanalgetice, iar în legătură cu fenotiazinele nu am găsit date bibliografice.

Pornind de la aceste considerente ne-am propus studiul sistematic al influenței diferitelor coanalgetice asupra efectului antinociceptiv al tramadolului. În acest context am studiat influențarea acțiunii sale antinociceptive prin derivați fenotiazinici, în majoritate neuroleptice, ale căror interacțiuni cu analgezice propriu-zise au fost studiate în trecut.^{8,9,14,19} Cercetările propuse ar putea argumenta dacă ar fi justificată din punct de vedere teoretic utilizarea unor astfel de asocieri ale tramadolului în tratamentul durerii.

MATERIAL ȘI METODĂ

Experiențele au fost efectuate în laboratorul Disciplinei de Farmacologie a Facultății de Medicină, UMF Tg. Mureș pe 214 șoareci albi masculi adulți. Ca metodă analgezică am folosit testul plăcii încălzite¹², stimulul nociceptiv fiind temperatura de 53°C, iar reacția la durere lingerea lăbuței. S-au selectat pentru experiență animale care prezentau un timp de reacție inițial de maximum 25 sec.

Farmaconii folosiți au fost :

- tramadol (10 și 20 mg/kgc), preparatul Mabron, fiole, Medochemie Ltd
- clorpromazină (1; 2 și 5 mg/kgc), preparatul Plegomazin, fiole
- levomepromazină (1 și 2 mg/kgc), preparatul Levomepromazină, fiole
- trifluoperazină (1 și 2 mg/kgc), preparatul Trifluoperazină, fiole
- tioproperazină (1 mg/kgc), preparatul Majeptil, fiole

-prometazina (12,5 și 25 mg/kgc), preparatul Romergan, fiole

Am folosit și un lot martor injectat subcutanat cu ser fiziologic (0,1 ml/10 g corp) pentru a decela efectul placebo. Toți farmaconii s-au administrat subcutanat într-un volum de 0,1 ml/10 g corp. Modificarea reacției nociceptive (prelungirea timpului de reacție) s-a urmărit la 30' și respectiv 60' de la injectarea medicamentelor, considerându-se analgezie completă prelungirea la 60 de secunde (cut-off time). Am calculat diferențele între timpul de reacție medicamentos și cel inițial, în secunde $\pm$ eroarea standard a mediei. Am comparat rezultatele obținute de tramadol în sine față de cele obținute în urma asocierii lui concomitente cu derivații fenotiazinici studiați. Evaluarea statistică a rezultatelor s-a efectuat cu testul t Student.

REZULTATE

Rezultatele sunt expuse în tabelele 1 și 2.

Serul fiziologic a prelungit timpul de reacție (TR)

Tabelul 1. Efectul antinociceptiv al tramadolului și al unor fenotiazine în testul plăcii încălzite

Tratament /Doza (mg/kgc)	Nr. ani male	TRI (sec)		TRM 30' (sec)		TRM 60' (sec)	
		M	$\pm$ ES	M	$\pm$ ES	M	$\pm$ ES
Placebo (0,1ml/10gc)	20	17,2	$\pm$ 1,0	21,3	$\pm$ 2,2	18,6	$\pm$ 1,2
Tramadol 10	20	17,7	$\pm$ 0,9	23,6	$\pm$ 2,7	27,3	$\pm$ 2,6
Tramadol 20	10	16,9	$\pm$ 1,6	24,9	$\pm$ 4,3	30,6	$\pm$ 4,0
Clorpromazină 1	10	16,5	$\pm$ 1,5	23,0	$\pm$ 2,4	39,1	$\pm$ 3,2
Clorpromazină 1 + Tramadol 10	10	17,9	$\pm$ 0,8	35,2	$\pm$ 4,1	31,3	$\pm$ 5,2
Clorpromazină 2	10	19,8	$\pm$ 1,3	47,9	$\pm$ 4,9	42,5	$\pm$ 4,9
Clorpromazină 2 + Tramadol 10	20	20,0	$\pm$ 0,8	49,3	$\pm$ 2,7	52,8	$\pm$ 2,8
Clorpromazină 5	10	16,7	$\pm$ 1,6	36,0	$\pm$ 5,5	44,7	$\pm$ 6,2
Clorpromazină 5 + Tramadol 10	10	14,6	$\pm$ 1,9	54,7	$\pm$ 2,6	56,7	$\pm$ 2,5
Levomepromazină 2	8	21,7	$\pm$ 4,1	45,5	$\pm$ 4,9	45,7	$\pm$ 3,8
Levomepromazină 2 Tramadol 20	8	16,0	$\pm$ 1,6	56,2	$\pm$ 3,8	60,0	$\pm$ 0
Levomepromazină 1	8	17,8	$\pm$ 0,9	57,8	$\pm$ 2,1	60,0	$\pm$ 0
Tramadol 20							
Majeptil 1	8	18,6	$\pm$ 0,3	37,2	$\pm$ 4,5	25,8	$\pm$ 2,9
Majeptil 1 Tramadol 20	8	17,3	$\pm$ 0,8	34,6	$\pm$ 3,9	29,1	$\pm$ 5,4
Trifluoperazină 1	6	16,3	$\pm$ 1,6	39,0	$\pm$ 6,3	35,8	$\pm$ 7,0
Trifluoperazină 1 Tramadol 20	7	16,8	$\pm$ 1,0	39,3	$\pm$ 5,6	45,7	$\pm$ 5,8
Trifluoperazină 2	8	17,1	$\pm$ 0,7	32,0	$\pm$ 5,3	35,9	$\pm$ 3,3
Trifluoperazină 2 Tramadol 20	8	18,4	$\pm$ 1,8	44,6	$\pm$ 3,8	49,5	$\pm$ 4,5
Prometazina 12,5	5	14,6	$\pm$ 1,2	35,2	$\pm$ 6,8	43,0	$\pm$ 7,5
Prometazina 12,5 Tramadol 20	12	15,7	$\pm$ 0,8	47,8	$\pm$ 4,0	46,7	$\pm$ 4,4
Prometazina 25	6	16,8	$\pm$ 2,1	54,0	$\pm$ 4,5	51,7	$\pm$ 4,0
Prometazina 25 Tramadol 20	8	19,0	$\pm$ 1,3	42,7	$\pm$ 6,8	44,4	$\pm$ 6,0

Tabelul II Evaluarea statistică a prelungirii timpului de reacție în urma administrării tramadolului, fenotiazinelor și a combinației acestora

Tratament /Doza (mg/kgc)	Nr. animale	Δ TRM 30' (sec)		Δ TRM 60' (sec)		p	
		M $\pm$ ES		M $\pm$ ES		la 30'	la 60'
Placebo	20	4,2 $\pm$ 2,4		1,4 $\pm$ 1,6		-	-
Tramadol 10	20	5,8 $\pm$ 2,8		9,6 $\pm$ 2,7		NS*	< 0,02*
Tramadol 20	10	8,0 $\pm$ 4,6		13,7 $\pm$ 4,3		NS*	< 0,02*
Clorpromazină 1	10	6,5 $\pm$ 2,8		22,6 $\pm$ 3,5		NS*	< 0,001*
Clorpromazină 1 + Tramadol 10	10	17,4 $\pm$ 4,1		13,4 $\pm$ 5,2		< 0,02*	< 0,05*
						< 0,05**	NS**
Clorpromazină 2	10	28,0 $\pm$ 5,0		22,7 $\pm$ 5,0		< 0,001*	< 0,001*
Clorpromazină 2 + Tramadol 10	20	29,2 $\pm$ 2,8		32,7 $\pm$ 2,9		< 0,001*	< 0,001*
						0,001**	0,001**
Clorpromazină 5	10	19,3 $\pm$ 5,7		28,0 $\pm$ 6,4		0,02*	< 0,001*
Clorpromazină 5 + Tramadol 10	10	40,1 $\pm$ 3,2		42,1 $\pm$ 3,1		< 0,001*	< 0,001*
						< 0,001**	< 0,001**
Levomepromazina 2	8	23,8 $\pm$ 6,4		24,0 $\pm$ 5,6		< 0,01*	< 0,001*
Levomepromazină 2 + Tramadol 20	8	40,2 $\pm$ 5,2		44,0 $\pm$ 2,6		< 0,001*	< 0,001*
						< ,001**	< ,001**
Levomepromazină 1 + Tramadol 20	8	40,0 $\pm$ 2,3		42,2 $\pm$ 0,9		< 0,001*	< 0,001*
						< 0,001**	< 0,001**
Tioproperezină 1	8	18,6 $\pm$ 4,5		7,2 $\pm$ 2,9		< 0,01*	NS*
Tioproperezină 1 + Tramadol 20	8	17,3 $\pm$ 4,0		11,8 $\pm$ 5,4		< 0,01*	NS*
						NS**	NS**
Trifluoperazină 1	6	22,7 $\pm$ 6,5		19,5 $\pm$ 7,2		< 0,02*	< 0,05*
Trifluoperazină 1 + Tramadol 20	7	22,5 $\pm$ 5,7		28,9 $\pm$ 5,9		< 0,01*	< 0,001*
						NS**	NS**
Trifluoperazină 2	8	14,9 $\pm$ 5,3		18,8 $\pm$ 3,4		NS*	< 0,001*
Trifluoperazină 2 + Tramadol 20	8	26,2 $\pm$ 4,2		31,1 $\pm$ 4,8		< 0,001*	< 0,001*
						< 0,01**	< 0,02**
Prometazina 12,5	5	20,6 $\pm$ 6,9		28,4 $\pm$ 7,6		< 0,05*	< 0,01*
Prometazina 12,5 + Tramadol 20	12	32,1 $\pm$ 4,1		31,0 $\pm$ 4,5		< 0,001*	< 0,001*
						< ,001**	< 0,02**
Prometazina 25	6	37,2 $\pm$ 5,0		34,9 $\pm$ 4,5		< 0,001*	< 0,001*
Prometazina 25 + Tramadol 20	8	23,7 $\pm$ 6,9		25,4 $\pm$ 6,1		< 0,02*	< 0,01*
						NS**	NS**

Legenda : TRI = timpul de reacție inițial; TRM = timpul de reacție medicamentos; DTRM = diferența între TRM și TRI, M = media aritmetică a timpului de reacție; ES = eroarea standard a mediei; p = probabilitatea; * = testul t'Student pentru tratamentul medicamentos comparativ cu placebo, ** = testul t'Student pentru tratamentul asocierii medicamentoase comparativ cu tratamentul simplu cu tramadol

în măsură nesemnificativă cu 4,2 $\pm$ 2,4 sec la 30' și cu 1,4 $\pm$ 1,6 sec la 60'.

Tramadolul în ambele doze cercetate a produs o prelungire a timpului de reacție. Aceasta a fost statistic semnificativă față de placebo numai la 60 de minute, diferența cifrându-se după doza de 10 mg/kgc la 9,6 $\pm$ 2,7 sec ($p < 0,02$), iar după doza de 20 mg/kgc la 13,7 $\pm$ 4,3 sec ($p < 0,002$).

Clorpromazina a avut efect antinociceptiv statistic semnificativ dependent de doză. Astfel în doză de 1 mg/kgc a prelungit TR cu 6,5 $\pm$ 2,8 sec la 30' (nesemnificativ) și cu 22,6 $\pm$ 3,5 sec la 60' ($p < 0,001$). În doză de 2 mg/kgc a prelungit TR cu 28,0 $\pm$ 5,0 sec la 30' ($p < 0,001$) și cu 22,7 $\pm$ 5,0 sec la 60' ($p < 0,001$). În doza de 5 mg/kgc prelungirea TR la 30' a fost de 19,3 $\pm$ 5,7 sec ($p < 0,002$) și de 28,0 $\pm$ 6,4 sec după 60' ($p < 0,001$).

Asociată cu tramadol 10 mg/kgc clorpromazina 1 mg/kgc a prelungit TR cu 17,4 $\pm$ 4,1 sec după 30' ($p < 0,05$) și cu 13,4 $\pm$ 5,2 sec după 60' (nesemnificativ față de tramadol); în doză de 2 mg/kgc a prelungit TR cu 29,2 $\pm$ 2,8 sec după 30' ($p < 0,001$) și cu 32,7 $\pm$ 2,9 sec după 60' ($p < 0,001$), iar în doză de 5 mg/kgc a produs o prelungire a TR la 30' cu 40,1 $\pm$ 3,2 sec ($p < 0,001$) și cu 42,1 $\pm$ 3,1 sec după 60' ($p < 0,001$).

Levomepromazina a avut un efect antinociceptiv statistic semnificativ prelungind în doză de 2 mg/kgc TR cu 23,8 $\pm$ 6,4 sec la 30' ($p < 0,01$) și cu 24,0 $\pm$ 5,6 sec la 60' ($p < 0,001$). În asociere cu tramadol 20 mg/kgc levomepromazina 2 mg/kgc a prelungit TR cu 40,2 $\pm$ 5,2 sec după 30' ($p < 0,001$) și cu 44,0 $\pm$ 2,6 sec ($p < 0,001$), iar în doza de 1 mg/kgc a prelungit TR cu 40,0 $\pm$ 2,3 sec după 30' ($p < 0,001$) și cu 42,2 $\pm$ 0,9 sec după 60' ($p < 0,001$).

Tioproperezina în doză de 1 mg/kgc a prelungit TR cu $18,6 \pm 4,5$ sec la 30' ($p < 0,01$) și cu $7,2 \pm 2,9$ sec la 60' (ne semnificativ). În asociere cu tramadol 20 mg/kgc prelungirea TR (cu $17,3 \pm 4,0$ sec, respectiv $11,8 \pm 5,4$ sec) a fost ne semnificativă față de tramadol în sine.

Trifluoperazina (1 mg/kgc) a prelungit TR cu $22,7 \pm 6,5$ sec la 30' ($p < 0,02$) și cu $19,5 \pm 7,2$ sec la 60' de la administrare ($p < 0,05$). După doza de 2 mg/kg corp prelungirea TR a fost $14,9 \pm 5,3$ sec după 30' (ne semnificativ) și $18,8 \pm 3,4$ sec după 60' ($p < 0,001$). În combinație cu tramadol 20 mg/kgc trifluoperazina 1 mg/kgc a prelungit TR cu $22,5 \pm 5,7$ sec după 30' și cu $28,9 \pm 5,9$ sec după 60', ambele valori fiind ne semnificative față de tramadol. În cazul asocierii trifluoperazină 2 mg/kgc- tramadol 20 mg/kgc prelungirea TR a fost de $26,2 \pm 4,2$ sec la 30' ($p < 0,01$) și de $31,1 \pm 4,8$ sec la 60' ($p < 0,02$).

Prometazina 25 de mg/kgc a prelungit TR cu $37,2 \pm 5,0$ sec la 30' ($p < 0,001$) și cu $34,9 \pm 4,5$ sec la 60' ($p < 0,001$), în doză de 12,5 mg/kgc prelungind TR cu $20,6 \pm 6,9$ sec la 30' ($p < 0,05$) și cu $28,4 \pm 7,6$ sec la 60' ($p < 0,01$). Asocierea prometazinei 25 mg/kgc cu tramadol 20 mg/kgc a prelungit TR cu $23,7 \pm 6,9$ sec după 30' și cu $25,4 \pm 6,1$ sec 60' (diferențe ne semnificative față de tramadol). În schimb, combinația prometazină 12,5 mg/kgc+tramadol 20 mg/kgc a prelungit TR cu $32,1 \pm 4,1$ sec la 30' ($p < 0,001$), respectiv cu $31,0 \pm 4,5$ la 60' ($p < 0,02$).

DISCUȚII

Co-analgeticele sunt adesea combinate cu analgeticele tradiționale în tratamentul durerii, crescând analgezia fără a crește doza de analgetice opioid și neopioid. În această calitate sunt utilizate neuroleptice, antidepresive, anxiolitice, anti-epileptice.^{1,7,16,18,20,21,24} În anumite tipuri de durere neuropatică opioidele sunt chiar ineficiente, putându-se folosi psihotrope dintre cele menționate, eventual clonidină.^{12,24} Psihotropele constituie o componentă importantă a tratamentului durerii patologice și datorită faptului că aceasta reprezintă o experiență umană cu multe componente afective.

Interacțiunea sinergică/potențializatoare a neurolepticelor asupra analgeticelelor opioide a fost descrisă încă din anii '50 în legătură cu clorpromazina, primul neuroleptic fenotiazinic introdus în terapie. Pe parcursul anilor, în astfel de asocieri au fost folosite și alte neuroleptice descoperite între timp, punându-se în evidență și efectul antialgic propriu al unora.^{8,9} De asemenea, s-a precizat că există deosebiri mari între diferite neuroleptice atât în privința efectului antialgic propriu cât și a proprietății lor potențializatoare.^{9,19}

În practica anestezicologică folosirea de combinații neuroleptice-analgetice a devenit curentă nu numai pentru potențarea efectului analgetice ci și pentru combaterea agitației, anxietății, alertei generate de durere, respectiv atenuarea greșurilor produse de opioide. Astfel, se pot administra postoperator, în travaliu, infarct miocardic acut, lombosciatică, neuropatie diabetică, nevralgie postherpetică, dureri

canceroase. Dintre neuroleptice, ca medicație antialgică sunt utilizate clorpromazina, levomepromazina, trifluoperazina, flufenazina, flupentixol, haloperidol, droperidol.¹⁶ Din categoria derivaților fenotiazinici, clorpromazina, datorită efectului analgetice moderat și acțiunii potențializatoare se poate folosi și în traumatisme grave, colici și alte dureri spastice. Levomepromazina care este un neuroleptic preponderent sedativ, cu proprietăți anxiolitice marcate, este recunoscută și pentru efectul analgetice propriu, dependent de doză, comparabil cu analgezia opioidică.²³ În neuroleptanestezie prezintă un efect mai puternic decât al droperidolului și efecte adverse mai reduse.²⁴ Principalele efecte adverse sunt hipotensiunea ortostatică și somnolența. Trifluoperazina, un neuroleptic incisiv, poate potența efectul antinociceptiv al acetaminofenului în testul de contorsionare.¹⁵ Haloperidolul, dotat cu acțiune analgetice proprie antiemetice, anxiolitică, antipsihotică și potențializatoare^{6,17}, produce mai ales efecte adverse extrapiramidale. Risperidona, un blocant al receptorilor dopaminergici D2 și serotoninergici 5-HT2, este folosită în tratamentul durerii și al adicției la opioide, manifestând efect antinociceptiv în testul tail flick, anatagonizat de naloxonă.²⁹

În experiențele de față am constatat deosebiri destul de importante în privința interacțiunii tramadolului cu fenotiazinele studiate. Cei doi compuși propilaminici cu efect sedativ marcat - clorpromazina și levomepromazina - care au avut acțiune antinociceptivă proprie au intensificat semnificativ efectul antialgic al tramadolului, potențarea fiind mai marcată mai ales la levomepromazină, respectiv la clorpromazină administrată în doză cea mai mare. În schimb, dintre compușii reprezentanți ai fenotiazinelor incisive, trifluoperazina, care în doză mică a exercitat efect antinociceptiv, a influențat sinergic efectul tramadolului numai în doză mai mare. Tioproperezina, cu efect antialgic propriu slab, nu a crescut efectul tramadolului, ci dimpotrivă l-a scăzut. Prometazina, cunoscută pentru efectul antihistaminic H1 blocant și efectul central deprimant marcat, dar cu acțiune psihotropă redusă, în doză mică a realizat un sinergism aditiv cu tramadolul. În doză mare, care a produs în sine o puternică deprimare a reactivității animalelor, asocierea cu tramadol a determinat chiar scurtarea timpului de reacție, odată cu fenomene de trezire observate la animalele de experiență deprimare prin prometazină. Aceste rezultate concordă cu acele date bibliografice care pun în evidență anumite deosebiri între influența potențializatoare a neurolepticelor fenotiazinice asupra efectului antialgic al unor opioide. În experiențe pe animale Feszt și Lupșă⁸ au remarcat interacțiunea sinergică-potențializatoare a clorpromazinei, levomepromazinei și trifluoperazinei cu unele opioide slabe (codeină, dionină), respectiv scăderea efectului dioninei în urma asocierii cu promazina sau cu torecan. Într-un trial clinic, McGee și Alexander¹⁹ au constatat că promazina și prometazina nu au produs potențarea efectului analgetice al petidinei și morfinei. Astfel, ca și

în cazul altor opioide, asocierea tramadolului cu unele fenotiazine dotate cu efect antialgic propriu pare a fi utilă datorită potențării efectului antialgic. Combinația tramadol-fenotiazine, față de celelalte opioide utilizate în combinații, poate prezenta un avantaj datorită atenuării sedării cauzate de neuroleptice prin efectul de trezire al tramadolului.^{3,14,31}

În ceea ce privește mecanismul interacțiunii dintre tramadol și neurolepticele cercetate, considerăm că deosebirile marcate între influența derivaților derivați fenotiazinici pledează împotriva ideii ca sinergismul lor cu tramadol să aibă un mecanism farmacocinetic, deoarece fenotiazinele folosite nu prezintă deosebiri farmacocinetice relevante. Ni se pare mult mai verosimilă producerea unei interacțiuni farmacodinamice, având în vedere acțiunile speciale ale substanțelor asociate. În acest context reamintim că efectul analgezic al tramadolului implică atât influențarea receptorilor opioizi cât și unei componenete monoaminergice datorită creșterii nivelului extraneuronal al serotoninei și noradrenalinei.^{3,10} Astfel, în efectul său antialgic participă receptorii somatodendritici serotoninergici 5-HT(1A)²⁷ și receptorii 5-HT₂²², precum și stimularea sistemului alfa-2 adrenergic presinaptic, similar clonidinei, prin care tramadolul acționează și asemănător antidepresivelor²⁶; cei doi enantiomeri ai tramadolului au afinități diferite pentru acești receptori. În timp ce L-tramadolul inhibă în special recaptarea noradrenalinei²⁵, D-tramadolul interferează preferențial cu recaptarea serotoninei și este un agonist pe receptorii miu.^{25,10} Efectul analgezic rezultă din acțiunea complementară și sinergică a celor doi enantiomeri, la care mai contribuie metabolitul demetilat, dotat cu o afinitate mai mare pentru receptorul opioid decât substanța nemetabolizată.⁴

Neurolepticele, având la rândul lor un mecanism de acțiune complex, pot influența în mod diferențiat diferitele componente ale acțiunii tramadolului. În mecanismul de acțiune al neurolepticelor fenotiazinice un rol deosebit îi revine blocării receptorilor dopaminici, în special D₂, ele putând să blocheze de asemenea receptori alfa adrenergici, serotoninici, colinergici, histaminici, iar în doză mare exercită efect membranstabilizator nespecific. În acțiunea lor antialgică mai intervine mobilizarea sistemului opioidergic endogen, naloxon sensibil, demonstrat de exemplu în cazul levomepromazinei¹⁶, haloperidolului.^{6,17} Dintre aceste componente ale mecanismului de acțiune, în producerea sinergismului cu tramadol, trebuie luată în considerare blocarea unor autoreceptori serotoninergici și adrenergici presinaptici, prin care se accentuează eliberarea acestor substanțe neurotransmițătoare,^{10,22} favorizându-se efectul antialgic prin blocarea impulsurilor nociceptive la nivel spinal. De asemenea, este plauzibilă însumarea acțiunii exercitate de ambele componente ale asocierii la nivelul sistemului opioid, în special pe receptorii miu. La aceste mecanisme specifice contribuie desigur acțiunea membran-stabilizatoare a neurolepticelor. O

eventuală interacțiune la nivelul neurotransmisiei dopaminergice nu ni se pare verosimilă, deoarece în literatura de specialitate există date atât cu privire la rolul antinociceptiv cât și pronociceptiv al dopaminei. Astfel, activarea neuronilor mezolimbici prin opioide eliberate din mezencefal ar contribui la combaterea durerii în condiții de stres.¹ Pe de altă parte s-a pus în evidență că suprimarea receptorilor dopaminici pe cale genetică crește acțiunea analgezică a morfinei, dopamina participând într-un sistem care reduce analgezia realizată pe calea receptorilor miu și kappa.¹² În experiențele noastre tocmai fenotiazinele cu proprietăți antidopaminice puternice și selective au influențat mai puțin efectul antinociceptiv la tramadolului.

Rezultatele studiului experimental al interacțiunii tramadolului cu fenotiazine considerăm că prezintă interes și sub aspect practic, chiar din două puncte de vedere. Pe de o parte, ele dovedesc faptul că prin asocierea unor compuși bine aleși și în doze corespunzătoare, combinarea cu fenotiazine sedative duce la creșterea eficacității antialgice a tramadolului. Pe de altă parte, o astfel de asociere poate fi preconizată datorită proprietăților de trezire ale tramadolului, semnalate de mai mulți autori,^{3,14,31} care pot atenua efectul central depresimant nedorit al substanțelor neuroleptice.

CONCLUZII

1. Tramadolul, un opioid cu influență asupra sistemului monoaminergic, având un potențial redus de deprimare respiratorie și instalare a dependenței, în testul plăcii încălzite în doză de 10 și 20 mg/kg a avut efect antinociceptiv statistic semnificativ comparativ cu placebo la 60' de la injectare.

2. Fenotiazinele alchilaminice cu caracter sedativ și efect propriu analgezic (clorpromazina și levomepromazina) au potențat efectul antinociceptiv al tramadolului, putând fi asociate cu tramadolul ca medicație co-analgetică.

3. Dintre fenotiazinele piperazinice incisive, tioproperezina nu a prezentat sinergism cu analgezia realizată de tramadol, iar trifluoperazina, dotată cu efect antinociceptiv propriu a produs interacțiune sinergică numai în doză mai mare.

4. Prometazina, o fenotiazină antihistaminică a influențat sinergic efectul tramadolului numai în doza în care nu a avut efect central depresimant marcat.

Asocierea tramadolului cu fenotiazinele sedative poate fi favorabilă și datorită atenuării efectului depresimant al acestora din urmă prin acțiunea de trezire a tramadolului.

BIBLIOGRAFIE

1. ALTIER N, STEWART J – *The role of dopamine in the nucleus accumbens in analgesia*, Life Sci, 1999, 65:2269-2287
2. BREIBART W – *Psychotropic adjuvant analgesics for pain in cancer and AIDS*, Psychooncology, 1998, 7:335-345
3. COETZEE JF, MARITZ JS, DU TOIT JC – *Effect of tramadol on depth of anaesthesia*, Br J Anaesth, 1996, 76:415-418
4. COLLART L, LUTHY C, FAVARIO-CONSTANTIN C et al – *Duality of the analgesic effect of tramadol in humans*, Schweiz Med Wochenschr, 1993, 123:2241-2243

5. DAYER P, DESMEULES J, COLLART L - *Pharmacology of tramadol*, Drugs, 1997, 53:18-24
6. DAW JL, COHEN-COLE SA - *Haloperidol analgesia*, South Med J, 1981, 74:364-365
7. FEINBERG SD - *Prescribing analgesics. How to improve function and avoid toxicity when treating chronic pain*, Geriatrics, 2000, 55:44, 49-50
8. FESZT G, LUPŞA RI - *Experimental investigations concerning adjuvant analgesics, I Psychotropic drugs*, EME Orv Ert, 1993, 66:158-164,
9. FESZT G, LUPŞA RI - *Cercetări experimentale privind acţiunea antinociceptivă a unor substanţe şi asocieri neuro-psijofarmacologice*, Bul Acad Şt Med, 1987, 1-2:44-45
10. FRINK MC, HENNIES HH, ENGLEBERGER W et al - *Influence of tramadol on neurotransmitter systems of the rat brain*, Arzneimittelforschung, 1996, 46:1029-1036
11. GOBEL H, STADLER T - *Treatment of postherpes zoster pain with tramadol. Results of an open pilot study versus clomipramine with or without levomepromazine*, Drugs, 1997, 53:34-39
12. KING MA, BRADSHAW S, CHANG AH et al - *Potential of opioid analgesia in dopamine 2 receptor knock-out mice. Evidence for a tonically active anti-opioid system*, J Neurosci, 2001, 21:7788-7792
13. LEE CR, MCTAVISH D, SORKIN EM - *Tramadol. A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in acute and chronic pain states*, Drugs, 1993, 46:313-340
14. LEHMAN KA, HORRICHS G, HOECKLE W - *The significance of tramadol as an intraoperative analgesic. A randomized double-blind study in comparison with placebo*, Anaesthetist, 1985, 34:11-19
15. KOLEVA M, DIMOVA S - *Effects of nifedipine, verapamil, diltiazem and trifluoperazine on the antinociceptive activity of acetaminophen*, Meth Find Exp Clin Pharmacol, 2000, 22:741-745
16. LUPŞA RI - *Contribuţii la studiul farmacologic (experimental şi clinic) al unor substanţe şi asocieri medicamentoase cu efect analgetic*, Teză de doctorat, UMF Tg Mureş, 1997, 2-21, 31-42
17. MALTBE AA, CAVENAR JO, SULLIVAN JL et al - *Analgesia and haloperidol: a hypothesis*, J Clin Psychiatry, 1979, 40:323-326
18. MANCINI I, BODY JJ - *Treatment of cancer pain: the role of coanalgesics*, Rev Med Brux, 1998, 19:A319-322
19. MCGEE JL, ALEXANDER MR - *Phenothiazine analgesia - fact or fantasy*, Am J Hosp Pharm, 1979, 3:633-640
20. MERCADANTE S, PORTENY RK - *Opioid poorly-responsive cancer pain. Part 3. Clinical Strategies to improve Opioid Responsiveness*, J Pain Symptom Manage, 2001, 21 338-354
21. MERSKEY H - *Pharmacological approaches other than opioids in chronic non-cancer pain management*, Acta Anaesthesiol Scand, 1997, 41:187-190
22. OLIVA P, AURILIO C, MASSIMO F et al - *The antinociceptive effect of tramadol in the formalin test is mediated by the serotonergic component*, Eur J Pharmacol, 2002, 445:179-185.
23. PATT RB, PROPER G, REDDY S - *The neuroleptics as adjuvant analgesics*, J Pain Symptom Manage, 1994, 9:446-453
24. PORTENY RK - *Current pharmacology of chronic pain*, J Pain Symptom Manage, 2000, 19:16-20
25. RAFFA RB, FRIEDERICH E, REIMANN W et al - *Complementary and synergistic antinociceptive interaction between the enantiomers of tramadol*, J Pharmacol Exp Ther, 1993, 267:331-340
26. ROJAS-CORRALES MO, GIBERT-RAHOLA J, MICO JA - *Tramadol induces antidepressant-type effects in mice*, Life Sci, 1998, 63:175-180
27. ROJAS-CORRALES MO, ORTEGA-ALVARO A, GIBERT-RAHOLA J et al - *Pindolol, a beta-adrenoceptor blocker/5-hydroxytryptamine(1A/1B) antagonist, enhances the analgesic effect of tramadol*, Pain, 2000, 88:119-124
28. RENNEMO F, LARSEN R, BREIVIK H - *Avoiding psychic adverse effects during induction of neuroleptanaesthesia with levomepromazine. A double-blind study of levomepromazine and droperidol*, Acta Anaesthesiol Scand, 1982, 26:108-111
29. SCHREIBER S, BACKER MM, WEIZMAN R et al - *Augmentation of opioid induced antinociception by the atypical antipsychotic drug risperidone in mice*, Neurosci Lett, 1997, 228:25-28
30. TARKKILA P, TUOMINEN M, LINDGREN L - *Comparison of respiratory effects of tramadol and oxycodone*, J Clin Anesth, 1997, 9:582-585
31. VAUGHAN DJA, SHINNER G, THORNTON C et al - *Effect of tramadol on electroencephalographic and auditory-evoked response variables during light anaesthesia*, Br J Anaesth, 2000, 85:705-707
32. VOGEL GH, VOGEL WH - *Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assays*, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg, 1997, 370

Considerații asupra complicațiilor cardiace la copii cu infecție HIV/SIDA

Amalia Făgărășan¹, Rodica Pascu²

Afectarea cardiacă este comună în infecția HIV la adult și copil, bolile cardiace asociate infecției HIV-SIDA fiind insuficient apreciate și estimate. Implicarea cardiacă poate apărea în orice stadiu a infecției HIV și de cele mai multe ori este dificil de evidențiat precoce numai pe baza manifestărilor clinice. Ne-am propus evaluarea cardiacă (clinică, electrocardiografică și ecocardiografică) a unui număr de 41 de copii cu infecție HIV-SIDA internați sau aflați în evidența Clinicii de Boli Infecțioase III, Târgu-Mureș.

Pacienții au fost împărțiți în trei grupe, pe baza criteriilor clinico-imunologice: Grupa 1-HIV pozitivi asimptomatici, grupa 2, HIV pozitivi simptomatici și grupa 3, pacienți cu SIDA. Rezultatele studiului arată că 88,2% dintre pacienții diagnosticați cu SIDA au prezentat modificări cardiace de grade variate, de la disfuncție ventriculară stângă minimă până la cardiomiopatie dilatativă și pericardită tuberculoasă. În grupul 2, cu HIV pozitiv dar simptomatici, modificările cardiace au fost decelate la 69,2%, aici remarcându-se disfuncția ventriculară stângă și hipertensiunea pulmonară ușoară. În prima grupă, a pacienților cu HIV dar asimptomatici, numai 36,4% au prezentat modificări cardiace, manifestarea cea mai comună fiind tahicardia sinusală.

Cuvinte cheie: manifestări cardiace, HIV, copil

Cardiac involvement is common in HIV infected adults and children, cardiac disease associated with HIV infection and AIDS is an underestimated and underappreciated condition.

Cardiac involvement can occur at any stage of HIV infection and may be life threatening, even though most of the time clinically it is not.

We evaluated from cardiac point of view (clinical, EKG and echocardiographic) 41 children HIV infected/AIDS. The patients have been divided in to three groups, taking into consideration imunological and clinical criteria: group one - HIV infected asymphthomatic, group two - HIV infected symphthomatic and the third group with AIDS.

The results of the study show that 88,2% of the AIDS patients have shown cardiac manifestations of various degrees from left ventricular dysfunction to cardiomyopathy and effusion pericardial. The HIV infected patients symphthomatic have shown cardiac modifications up to 69%. In the first group of the HIV infected asymphthomatic patients only 36,4% have shown cardiac modifications, more commonly, sinusal tachycardia.

Key words: cardiac manifestations, HIV, child

Bolile cardiace asociate infecției HIV/SIDA sunt insuficient apreciate și estimate. Multe studii arată că 6-7% dintre adulții și copiii infectați HIV pot dezvolta o afecțiune cardiacă, iar 1-3% pot deceda printr-o complicație cardiacă.¹

Implicarea cardiacă se poate produce în orice stadiu al infecției HIV, fiind dificil de pus în evidență precoce numai pe baza manifestărilor clinice. Disfuncția ventriculară stângă și insuficiența cardiacă sunt considerate cele mai comune complicații cardiace la pacienții infectați HIV. Îmbucurător este că sub tratament medicamentos precoce instituit se poate îmbunătăți starea pacienților diagnosticați cu disfuncție ventriculară stângă.¹

Deși intervenția terapeutică pentru complicațiile cardiace nu poate prelungi viața tuturor acestor pacienți, tratamentul precoce va ajuta la îmbunătățirea calității vieții. Pentru multe dintre complicațiile cardiace la pacienții cu infecție HIV tratamentul este similar cu cel indicat pacienților cu probleme cardiace dar fără infecție HIV. Factorul cardiac care agravează starea pacientului HIV pozitiv/SIDA este instalarea cardiomiopatiei.

MATERIAL ȘI METODĂ

Studiul a constat din evaluarea cardiacă (clinică, electrocardiografică-EKG și ecocardiografică, în mod M, 2D și Doppler) a unui număr de 41 de copii internați în Clinica de Boli Infecțioase III, Târgu-Mureș sau aflați în evidență cu infecție HIV. Perioada de evaluare a fost din 7.01.2002-21.12.2002. Evaluarea cardiologică a fost efectuată la Secția Clinică de Cardiologie Pediatrică,

¹Secția Clinică de Cardiologie Pediatrică, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

²Clinica de Boli Infecțioase, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș

Adresa pentru corespondență: Dr Amalia Făgărășan, str. Moldovei nr. 12/11, 4300 Târgu-Mureș

Târgu-Mureș. Evaluare ecocardiografică s-a făcut cu un aparat VING-MED 725.

Pe baza cîterilor clinico-imunologice în vigoare cei 41 de pacienți au fost împărțiți în 3 grupe, respectiv grupa 1 compusă din 11 copii HIV pozitivi asimptomatici, grupa 2 cu 13 copii, HIV pozitivi simptomatici și a 3-a grupă cu 17 copii diagnosticați cu SIDA. Media de vîrstă în grupa 1 a fost de 12,6 ani, în grupa a 2-a de 11,3 ani și a treia grupă a avut o medie de vîrstă de 13,3 ani.

Un element important urmărit în studiu a fost evidențierea disfuncțiilor cardiace prin evaluare ecocardiografică. Am considerat ca fiind diagnosticați cu disfuncție ventriculară stîngă asimptomatică sau minoră toți acei pacienți care au avut la determinările echo în mod M valori ale fracției de scurtare (FS) sub 25% și fracția de ejeție (FE) sub 55%. S-a urmărit intervalul de timp de la diagnosticarea infecției HIV și momentul depistării modificărilor cardiace. Au fost diagnosticați pacienții cu disfuncție ventriculară stîngă simptomatică, cei care au prezentat pe lângă FS și FE scăzute și fenomene clinice de insuficiență cardiacă. Pacienții cu disfuncții ventriculare asimptomatice au beneficiat de tratament cu inhibitor al enzimei de conversie (Captopril 0,5 mg/Kg/zi), iar cei cu disfuncție simptomatică au primit Captopril și diuretic (Furantril 0,5-1 mg/Kg/zi), ei fiind evaluați ecocardiografic la 3 și respectiv 6 luni.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În urma examinării clinice, EKG și ecocardiografice a celor 3 grupe de pacienți am obținut următoarele rezultate: în grupa 1, cu copii HIV pozitivi asimptomatici 36,4% au prezentat modificări cardiace, manifestarea cea mai comună fiind tahicardia sinusală depistată clinic și pe traseele EKG. Evaluarea ecocardiografică nu a pus în evidență nici o modificare, parametrii funcției sistolo-diastolice a ventriculului stîng fiind corespunzători vîrstei. Rezultatele studiului sunt redată în tabelul I.

Tabelul I. Rezultatele evaluării cardiace la pacienții HIV pozitiv asimptomatici

Pacient	Vârsta în ani	Sex	Dg. HIV	Manifestări cardiace
CR	12,5	F	1997	Fără modificări
SE	13	F	2000	Fără modificări
SI	13	M	1997	Tahicardie sinusală
SA	12	F	2002	Fără modificări
KT	12,4	F	1998	Fără modificări
LB	12,8	F	1998	Tahicardie sinusală
BA	12	M	2002	Fără modificări
EZ	13	M	1995	Fără modificări
IS	13	M	1995	Tahicardie sinusală
PA	13	F	1997	Tahicardie sinusală
ME	12	F	2000	Fără modificări

Intervalul de timp între momentul diagnosticării infecției HIV și cel al modificărilor cardiace a fost de 1 lună până la 7 ani. Se remarcă din Tabelul I că pacienții

diagnosticați HIV de cca 4-5 ani au prezentat modificări cardiace.

Referitor la grupa a 2-a de pacienți, HIV pozitivi simptomatici, evaluarea cardiacă a pus în evidență 61,4% pacienți cu modificări cardiace. Cea mai comună manifestare cardiacă a fost disfuncția ventriculară stîngă, întâlnită la 5 pacienți.

Disfuncția ventriculară stîngă este considerată una din cele mai comune manifestări cardiace la pacienții cu infecție HIV. Un studiu recent referitor la prevalența disfuncției ventriculare stîngi la copii infectați HIV arată că 29% dintre ei pot dezvolta disfuncție ventriculară, cu FE sub 19%, iar mai mult de jumătate pot prezenta fenomene de insuficiență cardiacă.⁹

Disfuncția de ventricul stîng este un indicator precoce de insuficiență cardiacă; în literatura de specialitate¹⁰ se arată că disfuncția sistolică este precedată de disfuncția diastolică. Pacienților diagnosticați cu disfuncție ventriculară li se indică tratament cu inhibitor al enzimei de conversie, ce aduce în timp nete ameliorări ale funcției cardiace. De asemenea, un rol important în instalarea acestei disfuncții îl joacă deficiențele de L-carnitină și seleniu care apar în contextul malnutriției ce însoțește boala de fond. Dacă fenomenele de insuficiență cardiacă apar în scurt timp se impune determinarea nivelului seric al troponinei care de cele mai multe ori indică valori crescute, situație care demască o infecție cu cytomegalovirus pe care acești copii o pot contacta și care dacă nu se tratează fenomenele cardiace se agravează și pot determina chiar decesul. În absența infecției cu cytomegalovirus insuficiența cardiacă manifestă apare la pacienții cu disfuncție ventriculară stîngă cam la 3-4 ani de la data punerii diagnosticului.⁵

Din datele studiului efectuat de noi, la această grupă de studiu a reieșit că intervalul de la diagnosticarea infecției HIV la momentul diagnosticării disfuncției ventriculare a fost de 2-4 ani. Pacienții au beneficiat de tratament cu captopril și au fost evaluați la 3 și respectiv 6 luni. La evaluările periodice nu am obținut ameliorări semnificative ale FS și FE după tratament cu Captopril. Alte modificări înregistrate de noi la această categorie de pacienți au fost tahicardia sinusală la 3 pacienți, la care am înregistrat pe EKG modificări de ST-T în V1-V4 și prelungirea intervalului QTc la 0,46 secunde la un pacient.

La 2 pacienți, în vîrstă de 10 ani și 11 ani, s-a diagnosticat hipertensiune pulmonară ușoară. Din datele de anamneză a reieșit că ei au prezentat infecții bronhopulmonare recidivante. Datele din literatură arată că hipertensiunea pulmonară apare destul de frecvent la pacienții infectați HIV, ea fiind consecința fie a disfuncției ventriculare, fie a infecțiilor respiratorii recidivante și mai rar tromboembolismului pulmonar.^{7,9} Evoluția spre hipertensiune pulmonară severă și deces este frecventă și rapidă în absența tratamentului.

Rezultatele evaluării cardiace la grupa a 2-a sunt redată în tabelul II:

Tabelul II. Rezultatele evaluării cardiace la pacienții HIV pozitivi simptomatici

Pacient	Vârsta	Sex	Dg. HIV	Modificare cardiacă
D M	13 ani	M	1998	Disfuncție ventriculară, EKGQTc 0,46sec
C O	12 ani	F	1998	Disfuncție ventriculară
K A	11 ani	M	2001	Dilatate VD, Tahicardie sinusală
R A	13 ani	F	2001	Fără modificări
C G.	10 ani	M	2000	Hipertensiune pulmonară. IT grd.II
M D	12 ani	F	2001	Fără modificări
D T	11 ani	F	1998	Tahicardie sinusală
D.F.	11 ani	F	2002	Hipertensiune pulmonară
B O	13 ani	M	1998	Fără modificări
S C.	12 ani	M	1999	Disfuncție ventriculară
L M	13 ani	F	?	Tahicardie ventriculară
B C	11 ani	M	2000	Disfuncție ventriculară
C Z	12 ani	F	1999	Fără modificări

Referitor la grupa pacienților cu SIDA evaluarea cardiacă a pus în evidență că 82,2% pacienți au modificări cardiace. De remarcat la această categorie de pacienți este apariția de modificări cardiace severe, cum ar fi cardiomiopatia dilatativă, evidențiată la un copil de 12ani, diagnosticat cu infecție HIV de 5 ani, cu un nivel al CD4 sub 100 și pericardita de etiologie tuberculoasă, diagnosticată la un pacient de 13 ani care avea și o stare septică cu *Actinobacter*, diagnosticat cu infecție HIV de 7 ani.

Cardiomiopatia apărută la pacienții HIV/SIDA, este o manifestare frecventă și din păcate cu un prognostic prost. Manifestările comune cardiomiopatiei sunt tahicardia sinusală, fenomenele de insuficiență cardiacă congestivă, hipotensiunea.

Infecțiile cu *Mycobacterium avium*, citomegalovirusul, toxoplasma au influență negativă asupra evoluției cardiomiopatiei. De asemenea, trebuie evidențiate deficiențele nutriționale, hipoxemia, deficiențele electrolitice, anemia, toate elemente de prognostic prost pentru evoluția cardiomiopatiei la pacientul cu SIDA.

Referitor la pericardita tuberculoasă diagnosticată la un pacient din acest grup trebuie menționat că la copil este o manifestare mai rară decât la adultul cu HIV/SIDA. Atunci când se instalează are o evoluție rapidă spre tamponadă cardiacă, situație în care pericardiocenteza devine necesară.¹ La cazul nostru revărsatul pericardic a fost semnificativ, fără semne de tamponadă cardiacă, dar cu o evoluție favorabilă la tratamentul tuberculostatic, după 3 săptămâni reevaluarea ecocardiografică arăta rezorbtia completă a lichidului. Pacientul a fost reevaluat peste 3 luni și nu a prezentat semne de recădere. Pericardita de etiologie tuberculoasă la pacienții HIV se asociază cu intradermoreacție la tuberculină negativă.

Alte modificări înregistrate la această grupă sunt: disfuncția ventriculară stângă simptomatică, la 5 pacienți, tahicardia sinusală, hipertensiunea pulmonară ușoară și medie. Un pacient a prezentat dilatare

ventriculară dreaptă și fenomene de insuficiență cardiacă dreaptă. Rezultatele evaluării pentru această grupă de copii sunt redată în tabelul III.

Tabelul III. Rezultatele evaluării cardiace în lotul copiilor diagnosticați cu SIDA

Pacient	Vârsta în ani	Sex	Diagn. HIV	Manifestări cardiace
SA	13	F	2001	Disfuncție ventriculară
MD	12	F	2001	Tahicardie sinusală
BI	14	F	1998	Hipertensiune pulmonară
PC	12	F	2002	Disfuncție ventriculară
GA	12,4	M	2002	Hipertensiune pulmonară
PA	13	F	2001	Dilatate VD
GC	14	F	1993	Disfuncție ventriculară
RA	11	F	2001	Tahicardie sinusală
BC	13	M	1990	Disfuncție ventriculară
MA	13	M	1999	Disfuncție ventriculară
RI	12	M	1995	Fără modificări
IS	14	M	1996	Disfuncție ventriculară
CG	12	M	1997	Cardiomiopatie
IV	13	M	1995	Pericardită tbc
VCS	14	M	1995	Hipertensiune pulmonară
OC	12	F	2001	Fără modificări
BI	11	F	?	Disfuncție ventriculară

CONCLUZII

Implicarea cardiacă a fost pusă în evidență la 88,2% din pacienții diagnosticați cu SIDA.

Manifestările cardiace cele mai severe au fost cardiomiopatia dilatativă și pericardita tuberculoasă.

Disfuncția ventriculară stângă a fost manifestarea cardiacă cea mai frecventă în grupa pacienților HIV pozitivi simptomatici și cu SIDA.

Tahicardia sinusală a fost manifestarea cardiacă comună, prezentă la toate cele trei grupe examinate.

Evaluarea cardiacă și îndeosebi echocardiografia este necesară pentru îmbunătățirea managementului medical al copiilor infectați HIV/SIDA.

BIBLIOGRAFIE

1. ABLOUAFIA DM, BUSH P, PICOZZI V et al - *Cardiac tamponade due to primary pericardial lymphoma in a patient with AIDS*, Chest, 1994, 106:1295-1298.
2. AL-ATTAR I, OROV EJ, EXIL V et al - *Predictions of cardiac morbidity and related mortality in children with the acquired immunodeficiency syndrome*, *Pediatr Res*, 1995, 37:169.
3. BERGER JR, HARRIS G, GREGORIS J et al - *Cardiovascular disease in AIDS; a case control study*, *AIDS*, 1990, 4:239-244.
4. CANDRAY N, ZUTERE D, FORCE G et al - *Left ventricular diastolic function in asymptomatic and symptomatic human immunodeficiency virus carriers an echocardiographic study*, *Eur Heart J*, 1995, 16:61-67.
5. CARDOSO JD, MIRANDA MA, MOURA B et al - *Cardiac morbidity in the human immunodeficiency virus infection*, *Rev Port Cardiol*, 1994, 13:901-911.
6. CONNOR E, GODAL C, JOSHI V et al - *Dilated cardiomyopathy in children with acquired immunodeficiency syndrome: a pathologic study of five cases*, *Hum pathol*, 1998, 19:69-74.
7. LIPSHULTZ SE, SAUDERS SP, CHANACK S et al - *Cardiac manifestation of pediatric human immunodeficiency virus(HIV) infection*, *Circulation*, 1987, 76:515.

8. LIPSHULTZ SE, EASLEY K, KAPLAN S et al – *The relation between progressive immune dysfunction and ventricular dysfunction-the prospective NHLBI study*, Proc 2nd Int Conf Retrovirus, 1995, 90:193.
9. STEVEN E, ELIZABETH BANCROFT et al – *Cardiovascular manifestations of HIV infection in children*, Textbook of pediatric cardiology II, Williams of Wilkins, 1998,1823-1844.
10. STEINHERZ LJ, BROCHSTEIN A, ROBINS J et al – *Cardiac involvement in acquired immunodeficiency syndrome*, Am J Dis Child, 1986, 140:1241-1244.
11. TOVO PA, MARTINO M, GABIANO C et al – *Prognostic factors and survival in children with perinatal HIV infection*, Lancet,1992, 339:1249-1253.



Aplicarea metodelor QSAR și CADD în cazul unor noi sulfonamide cu nucleu acridinic

L. Ferencz

S-au sintetizat 16 sulfonamide noi cu nucleu acridonic, acridanic și acridinic, în care gruparea sulfonamidică apare în pozițiile 1, 2, 3 și 4

Compușii sintetizați par să fie puternic hidrofoabe, după cum rezultă din calculele după metoda REKKER și programul KOWWIN.

Am efectuat modelarea moleculară a sulfonamidelor cu nucleu acridinic folosind programele Hyperchem Lite Release 1.2 (o versiune demo), ©Hypercube și CS Chem 3D Pro® versiunea 5.0, ©CambridgeSoft Corporation.

Pentru minimizarea energiei (optimizarea geometrică) am utilizat algoritmul Polak-Ribiere și aplicația MOPAC, inclusă în pachetul Chem 3D, care utilizează un set de metode semi-empirice.

Cuvinte cheie: QSAR, CADD, sulfonamide.

Sixteen new sulphonamides with acridonic, acridanic and acridinic nucleus were synthesised, in which the sulphonamidic group appears in positions 1, 2, 3 and 4.

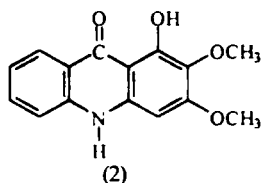
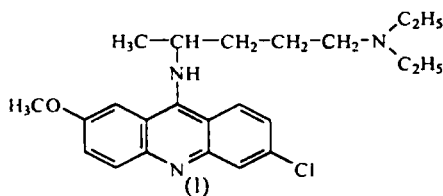
The synthesized compounds seem to be strongly hydrophobic, as it results from calculation using the REKKER method, and the KOWWIN software.

We performed the molecular modelling of the sulphonamides with acridinic nucleus with the programs Hyperchem Lite Release 1.2 (a demo version), ©Hypercube and CS Chem 3D Pro® version 5.0, ©CambridgeSoft Corporation.

For energy minimization (geometric optimization) the Polak-Ribiere algorithm was used, and the MOPAC application, included in Chem 3D package, which uses a set of semi-empiric methods.

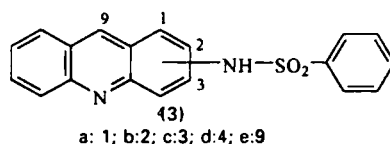
Key words: QSAR, CADD, sulphonamides.

În prezent se cunosc numeroși compuși cu nucleu acridinic cu aplicații multiple în terapeutică. Pentru a ne opri doar la două exemple, amintim atebrina⁽¹⁾, unul dintre cele mai eficiente medicamente în combaterea malariei^{1,6} sau arborinina (2), alcaloid cu o foarte bună acțiune anticonvulsivantă.

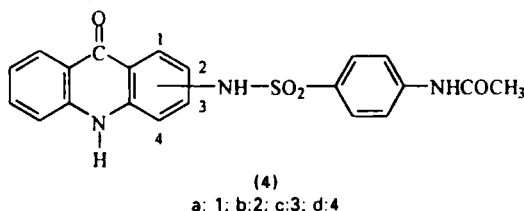


Spectrul larg de acțiuni biologice al sulfonamidelor -antibiotice, hipoglicemiante, diuretice- menține mereu trează interesul pentru această clasă de compuși.

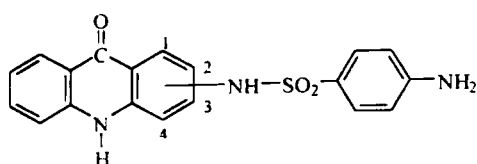
Datele din literatură arată că sunt cunoscute doar sulfamidele derivate de la 1,2,3,4 și 9-aminoacridină (3a...e), în care gruparea aminică din restul sulfonamidic (esențială pentru activitatea antimicrobiană) lipsește:



Din această cauză, am considerat utilă încercarea de a obține noi sulfonamide cu schelet acridinic³, în care gruparea sulfonamidică să apară în pozițiile 1,2,3 respectiv 4 (4a...d, 5a...d, 6a...d), după cum urmează: 1,2,3 și 4-(p-acetilaminobenzensulfonilamino)-acridona:



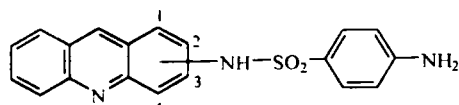
1,2,3 și 4-(p-aminobenzensulfonilamino)-acridona:



(5)

a: 1; b:2; c:3; d:4

1,2,3 și 4-(p-aminobenzensulfonilamino)-acridina:



(6)

a: 1; b:2; c:3; d:4

Substanțele au fost sintetizate prin intermediul aminoacridonelor. Derivații acetilați au fost intermediari în sinteza produșilor cu gruparea aminică liberă.

Din cauza scheletului acridinic, substanțele ar trebui să manifeste un caracter puternic hidrofob. Determinarea coeficientului de partiție lipide/apă (octanol/apă) ar impune folosirea metodei clasice cu pâlnie de separare. Conform acestei metode, fazele se saturează reciproc, după care substanța se dizolvă în soluția apoasă și pâlnia se scutură intens până la atingerea echilibrului. Fazele se separă și se determină concentrațiile în cele două faze cu ajutorul unei metode de analiză adecvate.

Metoda este deci relativ simplă, dar condițiile nu sunt riguros standardizate. Probleme mult discutate sunt raportul fazelor, modul și timpul de contact, etc. Componentele soluțiilor tampon folosite ca faze apoase și tăria ionică a soluțiilor pot influența coeficientul de partiție. Determinările se efectuează la temperatura camerei, deși coeficientul depinde de temperatură. Din punct de vedere metodic studiul compușilor foarte hidrofili sau foarte lipofili (cazul substanțelor sintetizate de noi) este dificil. Din cauza solubilității mici într-una dintre faze, trebuie folosite *raporturi de faze extreme, cu consecințe nefavorabile asupra preciziei măsurătorilor*. În aceste cazuri este mai indicată *calcularea acestui parametru*.

Metoda fragmentală a lui Rekker pentru *evaluarea* logaritmului coeficientului de partiție lipide/apă este o metodă aditivă, ușor de folosit. Utilizând această metodă, am calculat valorile logP pentru seria de sulfonamide sintetizate de noi.

MATERIAL ȘI METODĂ

Metoda fragmentală a lui Rekker pentru evaluarea coeficientului de partiție lipide/apă poate fi implementată pe calculatoare, prin codificarea algoritmului metodei și utilizând baze de date ce conțin

constantele fragmentale de hidrofobicitate. Un astfel de program (soft) este pachetul KOWWIN, Octanol-Water Partition Coefficient Program for MS Windows 3.1 al firmei Syracuse Research Corporation.⁷ Folosind acest program, am calculat valorile logP pentru o serie de sulfonamide bacteriostatice^{4,5}, în vederea comparării valorilor obținute cu cele *măsurate* în sistemul octanol/apă de către diverși autori. Acești parametri au fost calculați în această lucrare pentru sulfonamidele sintetizate de noi (4a...d), (5a...d).

Modelarea moleculară a sulfonamidelor cu nucleu acridinic am efectuat-o cu ajutorul programului Hyperchem Lite Release 1.2 (o versiune de probă),⁸ Hypercube și cu CS Chem 3D Pro⁹ versiunea 5.0,¹⁰ CambridgeSoft Corporation.

Pentru minimizarea energiei (optimizarea geometrică) am folosit algoritmul Polak-Ribiere, precum și aplicația MOPAC, inclusă în pachetul Chem 3D, o aplicație de calcul molecular, care utilizează un set de metode semi-empirice.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Substanțe sintetizate de noi par să fie puternic hidrofobe după cum rezultă din calculele efectuate după metoda lui REKKER, folosind pachetul de programe KOWWIN -în comparație cu acridina (1) și acridona(5).

Modul de calcul, arătat în următoarele două exemple, este redat sub formă originală (fișierele text de ieșire ale programului), păstrând notațiile din limba engleză pentru autenticitate. CAS Num reprezintă numărul de înregistrare al substanței în Indexul de formule al revistei Chemical Abstracts, Exp LogP valoarea experimentală a logaritmului coeficientului de partiție, Log Kow valoarea calculată a logaritmului coeficientului de partiție, SMILES un descriptor liniar al structurii substanțelor studiate.

Experimental Database Structure Match:

Name : *Acridine* (1)

CAS Num : 000260-94-6

Exp Log P: 3.40

Exp Ref : Hansch & Leo, 1985

SMILES : c3c2c(ccc3)nc1ccccc1c2

MOL FOR: C13 H9 N1

MOL WT : 179.22

Tabelul I.

Type	Num	LOGKOW FRAGMENT DESCRIPTION	COEFF.	VALUE
Frag	13	Aromatic Carbon	0.2940	3.8220
Frag	1	Aromatic Nitrogen	-0.7324	-0.7324
Const		Ecuatia Constant		0.2290
		LogKow (estimated)		3.3186

Name : *Acridone* (5)

SMILES : o=c1c3c(cccc3)nc2c1cccc2

MOL FOR: C13 H9 N1 O1

MOL WT : 195.22

Tabelul II.

Type	Num	Logkow fragment description	Coeff.	Value
Frag	12	Aromatic Carbon	0.2940	3.5280
Frag	1	-N- [aliphatic N, two aromatic attach]	-0.4657	-0.4657
Frag	1	-C(=O)- [two aromatic attach, in ring]	-0.2063	-0.2063
Factor	2	Ring rx -> amino / cyclic C(=O)->aromatic	1.1000	2.2000
Const		Equation Constant		0.2290
		LogKow (estimated)		5.2850

Name: 1, 2, 3- și 4-(*p*-aminobenzensulfonilamino)-acridine (5a...d)

SMILES: Nc4ccc(cc4)S(=O)(=O)Nc1ccc2cc3c(nc2c1)cccc3

MOL FOR: C19 H15 N3 O2 S1

MOL WT : 349.41

Tabelul III.

Type	Num	Logkow fragment description	Coeff.	Value
Frag	19	Aromatic Carbon	0.2940	5.5860
Frag	1	Aromatic Nitrogen	-0.7324	-0.7324
Frag	2	-N [aliphatic N, one aromatic attach]	-0.9170	-1.8340
Frag	1	-SO2-N [aromatic attach]	-0.2079	-0.2079
Const		Equation Constant		0.2290
		LogKow (estimated)		3.0407

Name: 1, 2, 3- și 4-(*p*-aminobenzensulfonilamino)-acridone (4a...d)

SMILES : O=C3c4c(cccc4)Nc2cc(ccc32)NS(=O)(=O)c1ccc(cc1)N

MOL FOR: C19 H15 N3 O3 S1

MOL WT : 365.41

Tabelul IV.

Type	Num	Logkow fragment description	Coeff	Value
Frag	18	Aromatic Carbon	0.2940	5.2920
Frag	2	-N [aliphatic N, one aromatic attach]	-0.9170	-1.8340
Frag	1	-SO2-N [aromatic attach]	-0.2079	-0.2079
Frag	1	-N- [aliphatic N, two aromatic attach]	-0.4657	-0.4657
Frag	1	-C(=O)- [two aromatic attach, in ring]	-0.2063	-0.2063
Factor	2	Ring rx -> amino/ cyclic C(=O)->aromatic	1.1000	2.2000
Const		Equation Constant		0.2290
		LogKow (estimated)		5.0071

Modelarea moleculară a substanțelor sintetizate am efectuat-o în vedere obținerii de noi informații în legătură cu structura moleculelor.

O parte din rezultatele calculelor, efectuate pe un PC echipat cu chipset Intel® 815, procesor Intel Celeron® 1,2 GHz și 320 Mb SDRAM PC133, sunt prezentate în figura 1.

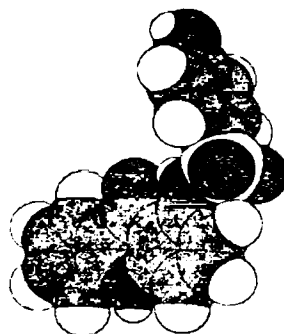
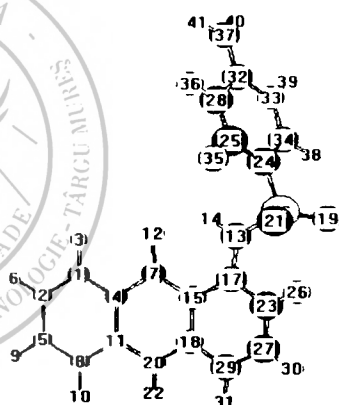


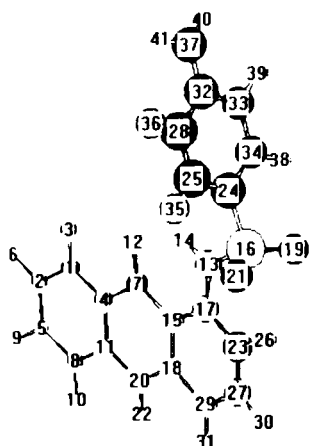
Figura 1. 1-(*p*-aminobenzensulfonilamino)-acridona. Modelul calotă (5a)

Din Figura 2 se observă formarea legăturii de hidrogen intramoleculare în cazul compusului 5a.



18 measurements		
Atoms		Actual
C(1),C(8)		2.799
C(1),O(12)		2.777
C(2),C(11)		2.807
C(4),C(5)		2.802
C(4),C(18)		2.829
C(11),C(15)		2.870
O(12),H(14)		1.980
C(15),C(27)		2.831
S(16),C(23)		3.042
S(16),H(26)		2.614
S(16),H(35)		2.831
S(16),H(38)		2.830
C(17),C(29)		2.830
C(18),C(23)		2.797
C(24),C(32)		2.837
C(25),C(33)		2.789
C(28),C(34)		2.789
H(3),O(12)		2.434

Figura 2. 1-(*p*-aminobenzensulfonilamino)-acridona(5a) - distanțe interatomice



Atoms	Actual	Optimal
C(7)-C(15)-C(18)	118.807	117.600
C(17)-C(15)-C(18)	118.195	120.000
N(13)-S(16)-O(19)	110.273	-
N(13)-S(16)-O(21)	110.250	-
N(13)-S(16)-C(24)	99.895	-
O(19)-S(16)-O(21)	115.158	116.600
O(19)-S(16)-C(24)	110.098	-
O(21)-S(16)-C(24)	110.105	-
N(13)-C(17)-C(15)	122.477	120.000
N(13)-C(17)-C(23)	118.244	120.000
C(15)-C(17)-C(23)	119.278	120.000
C(15)-C(18)-N(20)	121.213	120.000
C(15)-C(18)-C(29)	120.949	120.000
N(20)-C(18)-C(29)	117.837	120.000
C(11)-N(20)-C(18)	122.303	124.000
C(11)-N(20)-H(22)	119.028	118.000
C(18)-N(20)-H(22)	118.669	118.000
C(17)-C(23)-C(27)	121.026	120.000
C(17)-C(23)-H(26)	120.509	120.000
H(26)-C(23)-C(27)	118.465	120.000
S(16)-C(24)-C(25)	121.084	-

Figura 3. 1-(p-aminobenzensulfonilamino)-acridona (5a) – câteva unghiuri de legătură

În figura 4 am prezentat aria suprafeței accesibile Connolly (Connolly Surface Area), aria suprafeței moleculare Connolly (Connolly Molecular Surface Area) și volumul exclus de solvent Connolly (Connolly Solvent-Excluded Volume).² Aceste proprietăți reprezintă după cum urmează: suprafața descrisă de centrul unei sfere cu diametrul egal cu al solventului (în cazul nostru 1,4 Å), în timp ce se rulează pe suprafața

moleculii; suprafața de contact creată în timp ce o sferă cu diametrul egal cu al solventului se rulează pe moleculă; volumul conținut între suprafața de contact moleculară. Ovalitatea (Ovality) este raportul dintre aria suprafeței moleculare și aria suprafeței minime (aria suprafeței minime reprezentând aria suprafeței unei sfere având volumul egal cu volumul exclus de solvent).



Connolly Accessible Area: 558.686 Angstroms Squared

Connolly Molecular Area: 303.516 Angstroms Squared

Connolly Solvent-Excluded Volume: 258.295 Angstroms Cubed

Exact Mass: 365.083 Grams / Mole

Formal Charge: 0.

Molecular Formula: C19H15N3O3S

Molecular Weight: 365.415 Atomic Mass Units

Ovality: 1.54746

Principal Moment of Inertia - X: 1551.74 Grams / Mole * Angstroms Squared

Principal Moment of Inertia - Y: 4534.72 Grams / Mole * Angstroms Squared

Principal Moment of Inertia - Z: 5814.34 Grams / Mole * Angstroms Squared

Figura 4. Proprietăți fizice calculate pentru 1-(p-aminobenzensulfonilamino)-acridona (5a)

Momentele de inerție sunt elementele diagonale ale matricei tensor de inerție, în cazul în care, axele coordonatelor carteziene sunt axele principale ale moleculei, cu originea în centrul de greutate a moleculei.

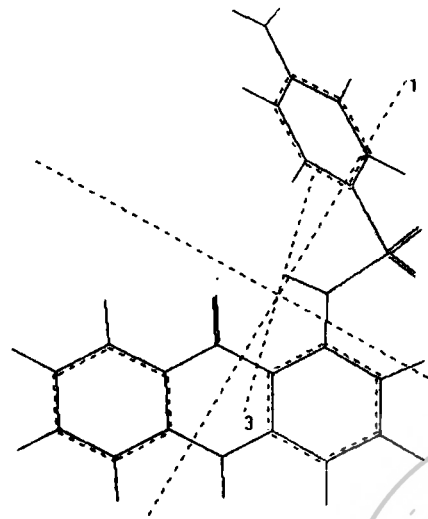


Figura 5. Axele de inerție pentru 1-(p-aminobenzensulfonilamino)-acridonă (5a)

Densitățile de sarcină în cazul izomerului 5a sunt redată în figurile 6 și 7.

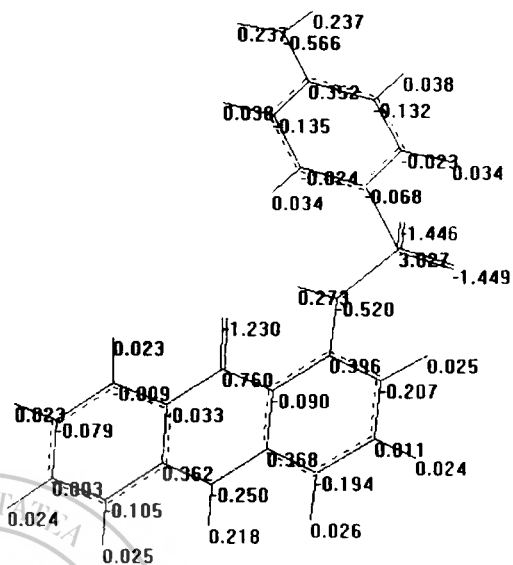


Figura 6. Densitățile de sarcină în 1-(p-aminobenzensulfonilamino)-acridonă (5a)

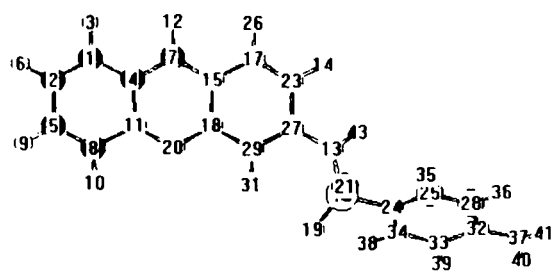


Figura 7. 3-(p-aminobenzensulfonilamino)-acridina (6c) – câteva unghiuri diedre

104 measurements		
Atoms	Actual	
H(6)-C(2)-C(5)-H(9)	0.000	
C(1)-C(4)-C(7)-C(15)	-179.000	
C(1)-C(4)-C(7)-H(12)	0.000	
C(11)-C(4)-C(7)-C(15)	0.000	
C(11)-C(4)-C(7)-H(12)	-179.000	
C(1)-C(4)-C(11)-C(8)	-0.633	
C(1)-C(4)-C(11)-N(20)	-179.000	
C(7)-C(4)-C(11)-C(8)	179.368	
C(7)-C(4)-C(11)-N(20)	0.000	
C(2)-C(5)-C(8)-C(11)	-0.316	
C(2)-C(5)-C(8)-H(10)	180.000	
H(9)-C(5)-C(8)-C(11)	179.684	
H(9)-C(5)-C(8)-H(10)	0.000	
C(4)-C(7)-C(15)-C(17)	180.000	
C(4)-C(7)-C(15)-C(18)	0.000	
H(12)-C(7)-C(15)-C(17)	0.000	
H(12)-C(7)-C(15)-C(18)	-179.000	
C(5)-C(8)-C(11)-C(4)	0.706	
C(5)-C(8)-C(11)-N(20)	-179.000	
H(10)-C(8)-C(11)-C(4)	-179.684	
H(10)-C(8)-C(11)-N(20)	0.000	

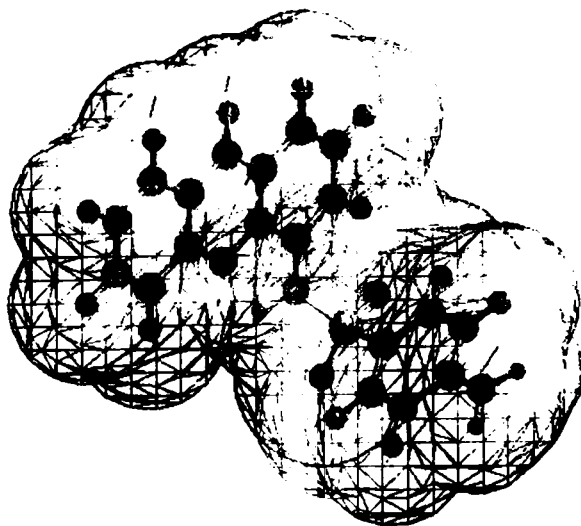


Figura 8 4-(p-aminobenzensulfonilamino)-acridina (6d) - suprafața accesibilă unui solvent cu diametrul de 1,4 Å (apă)

În figura 8 am reprezentat suprafața accesibilă apei în cazul 4-(p-aminobenzensulfonilamino)-acridinei, adică porțiunea moleculei, care poate fi accesată de moleculele de solvent de un anumit diametru. Acest diametru pentru apă este de 1,4 Å, iar pentru alți câțiva solvenți, după cum urmează: eter-2,4 Å; metanol-1,9 Å; piridină-2,4 Å; etanol-2,2 Å; DMSO-2,5 Å; acetonitril-2,3 Å; benzen-2,6 Å; acetonă-2,4 Å; cloroform-2,7 Å.

CONCLUZII

Valorile calculate arată că substanțele sunt puternic hidrofobe, deci vor funcționa probabil ca sulfonamide depozit (retard). Pentru a obține substanțe mai solubile în apă, este nevoie de introducerea unor grupe polare în nucleele acridinice (de preferință în nucleul benzenic nesubstituit).

Modelele moleculare și datele fizico-chimice calculate cu ajutorul programelor Hyperchem și Chem 3D, aduc o serie de informații inedite în legătură cu aceste noi sulfonamide.

BIBLIOGRAFIE

1. CIORĂNESCU ECATERINA - *Medicamente de sinteză*, Editura Tehnică, București, 1966, 585.
2. CONNOLLY ML - *The molecular surface package*, J Mol Graphics, 1993, 11.
3. FERENCZ L - *Teză de doctorat*, Universitatea "Babeș-Bolyai", Cluj-Napoca, 2002.
4. FERENCZ L - *Calculăm sau măsurăm? Posibilitățile și limitele evaluării asistate de calculator a hidrofobității medicamentelor*, Revista de medicină și Farmacie Târgu-Mureș, 1998, 44:34-37.
5. FERENCZ L, TÖKES B - *A hidrofobitás szerepe a gyógyszertervezésben*, Az EME Műz Füv, 1998, 4:49-55.
6. SZÁSZ GY - *Gyógyszerészi kémia*, Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1983, 1087.
7. *** - KOWWIN, *Octanol-Water Partition Coefficient Program MS Windows 3.1*, Syracuse Research Corporation, Merrill Lane, Syracuse.

Studiul posibilelor interacțiuni între derivații benzodiazepinici și substanțe auxiliare.

I. Termostabilitatea nitrazepamului în prezența ciclodextrinelor și a polietilenglicolului

Hajnal Kelemen

Nitrazepamul este frecvent folosit în psihoterapie ca tranchilizant minor cu acțiune hipnotică și anticonvulsivantă. Totuși, caracteristicile de solubilitate sunt nefavorabile. S-au preparat produse cu diferite derivate de ciclodextrine și macromolecule hidrofile în combinații diferite și cu mai multe metode de preparare. Pentru justificarea formării complexelor de incluziune s-a efectuat un studiu termooanalitic. Măsurătorile au fost efectuate pe un DERIVATOGRAPH-C (MOM-Budapest). S-au obținut termogramele TG, DTA, și DTG. Printr-o nouă metodă de calcul s-au calculat diferiții parametri cinetici: ordinul de reacție virtuală, energia de activare, factorul pre-exponențial, după ecuația lui Arrhenius. Determinând parametrii cinetici și termodinamici s-a constatat o corelare între rezultatele testului de dizolvare și ordinul de stabilitate al sistemelor studiate. Cercetările termooanalitice demonstrează, că formarea complexelor de incluziune și a altor complexe măresc termostabilitatea nitrazepamului.

Cuvinte cheie: nitrazepam, analiza termică

Nitrazepam being one of the often used minor tranquilizers in psychotherapy with hypnotic, anticonvulsive effects. However, its solubility characteristics are very unfavourable. Products were prepared with different cyclodextrin derivatives and hydrophilic macromolecules in different combinations and by several methods.

They conducted thermo analytical studies to demonstrate the fact of formation complexes. The measurements have been carried out on a DERIVATOGRAPH-C machine (MOM-Budapest). We've obtained the TG, DTA and DTG thermograms. Using a new method we have counted the different various kinetic parameters, as activation energy, virtual reaction order, pre-exponential factor, after Arrhenius equation. On the basis of kinetic parameters and thermo dynamics parameters, the solubility results are in correlation with the stability order of binary systems.

The thermo analytical investigation demonstrate that the thermic stability of nitrazepam is increased by the formed complex inclusions and the other complexes.

Key words: nitrazepam, thermoanalytic

Analiza termică reprezintă un grup de metode eficiente în rezolvarea unor probleme complexe din diverse domenii ale științelor chimice, farmaceutice și anexe. Cu ajutorul ei pot fi elaborate nu numai metode analitice calitative și cantitative specifice, dar poate fi studiată și desfășurarea unor transformări chimice, atât sub aspectul mecanismului, cât și al cineticii lor: ordin de reacție, energie de activare etc.

Tradițional se studiază descompunerea substanțelor pure, iar curbele înregistrate se evaluează din punctul de vedere al scopului urmărit (analiză, mecanism, cinetică), dar metoda generală și aparatura modernă permit și cercetarea interacțiunilor chimice dintre componentele unor sisteme complexe, procese deosebit de importante în elucidarea caracteristicilor

preparatelor farmaceutice ca stabilitate, incompatibilități, etc.^{1,5,6}

Analiza termică (TG, DTG, DTA) poate avea rol important în studiul complexelor de incluziune, aducând date cantitative. Pe baza datelor termooanalitice se poate

- caracteriza procesul de formare al complexelor în stare solidă, putem dovedi incluziunea moleculară, determina rata inclusă/absorbită de substanța oaspete în complex;

- realiza în mod dinamic testul de stabilitate prin încălzire accelerată.

Diagramele termice obținute servesc drept buletin de analiză pe care se pot citi câteva date uzuale (temperatura de topire, temperatura transformărilor de fază, caracterul endo- sau exoterm al transformărilor), dar pe baza lor pot fi determinați și parametrii cinetici și termodinamici ai proceselor.

Pot fi studiate sisteme mono- și policomponente, în stare solidă; în cazul celor din urmă, este însă necesară

cunoașterea proprietăților termice a fiecărui component în parte, care se stabilesc prin înregistrarea curbelor termice ale componentelor implicați, menținând constante condițiile de lucru. Înregistrarea curbelor în condiții similare (temperatura inițială, viteza de încălzire, masa probei, gradul de tasare etc.) este un criteriu obligatoriu pentru a putea efectua comparațiile necesare pentru depistarea modificărilor datorate interacțiunilor dintre constituenții sistemului cercetat.

Din cele prezentate se poate deduce că metodele termice de analiză pot avea aplicabilitate generală în toate etapele formulării unui medicament. Utilizarea lor este posibilă atât în analizele preliminare ale substanțelor active sau ale combinațiilor medicamentoase, cât și în ultima fază de analiză a preparatelor farmaceutice (controlul de stabilitate, determinarea termenului de valabilitate).^{3,4,5}

MATERIAL SI METODĂ

Materiale

Nitrazepam (F.R.X.) - *Armedica Târgu-Mureș*

α -ciclodextrină (α -CD) - *Cyclolab Ltd. Budapesta*

β -ciclodextrină (β -CD) - *Cyclolab Ltd. Budapesta*

γ -ciclodextrină (γ -CD) - *Cyclolab Ltd. Budapesta*

Random-metil- β -ciclodextrină (RAMEB)- β -*Cyclolab*

Ltd. Budapesta

Polietilenglicol 4000 PEG - *Rohm Pharma*

Germany

Alcool etilic-reactiv pentru analiză - *Reactivul*

București

Apă distilată (F.R.X.)

Compoziția complexelor de incluziune studiate este prezentată în tabelul I.

Tabelul I. Compoziția amestecurilor binare formulate cu ciclodextrine

Substanța activă [% m/m]	Ciclo- dextrine	Raport molar
19,86	β	1:1
12,63	γ	2:3
30,40	RAMEB	2:1

Metodă

Pentru prepararea complexelor s-a folosit metoda amestecului fizic, metoda malaxării și metoda coprecipitării.

Determinările s-au efectuat pe un Derivatograph Q-1500D, (MOM, Budapesta).

Derivatograful este un aparat complex termooanalitic, care măsoară în interiorul unei probe temperatura (T), schimbarea masei (TG), viteza schimbării masei (DTG) și schimbarea căldurii (proces exo- sau endoterm) în funcție de timp.

Măsurătorile au fost efectuate în mod dinamic. Viteza de creștere a temperaturii a fost 5°C/min, iar intervalul de temperatură 25,0°C - 500,0°C. La înregistrarea curbelor DTA, ca substanță de referință s-a utilizat Al₂O₃ anhidru, care este inert din punct de vedere termic.

REZULTATE SI DISCUȚII

În figurile nr. 1, 2, 3 și 4 sunt redată termogramele obținute la analiza termică a nitrazepamului în amestecuri binare.

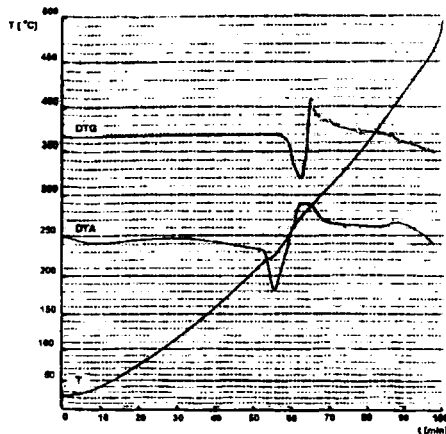


Figura 1. Termograma nitrazepamului

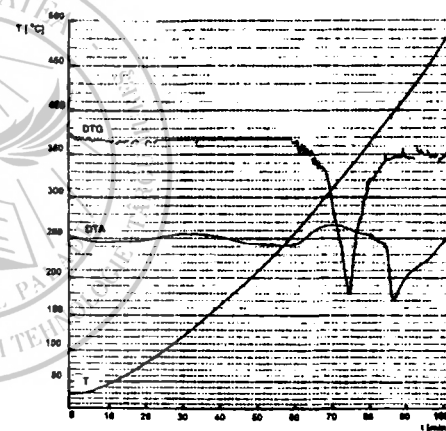


Figura 2. Termograma nitrazepam:RAMEB 2:1 amestec fizic

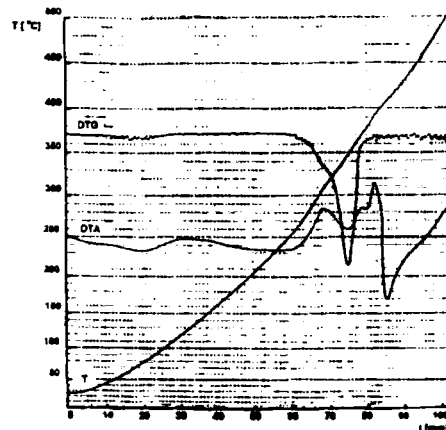


Figura 3. Termograma a nitrazepam:RAMEB 2:1 produs malaxat

Tabelul II. Rezultatele analizei termice a nitrazepamului în prezența ciclodextrinelor și în prezența polietilenglicolului 4000 în condiții standard

Sistemul studiat	Energia de activare [J/mol]	Ordinul de reacție virtual	Factor preexponențial lg A	ΔH^* [J/mol]	ΔS^* [J/mol.K]	ΔG^* [J/mol]	K [1/s]
Nitrazepam N RAMEB	55971,12	1,5888	4,044	53493,30	-175,91	53545,72	1,7119E-06
2:1 am. fizic N RAMEB	79820,36	1,4564	5,920	77342,70	-139,98	77384,41	8,4779E-09
2:1 p malaxat N RAMEB	167858,40	1,8540	13,710	165380,34	9,24	162626,22	1,9182E-16
2:1 p pulverzat N BETA	97697,32	1,3791	7,243	95219,34	-114,64	95253,50	1,3142E-10
1:1 am. fizic N BETA	75735,47	1,0912	5,264	73.257,81	-152,62	73303,29	9,7379E-09
1:1 p malaxat N GAMMA	145537,20	1,1725	11,910	143059,54	-25,24	143067,06	2,4877E-14
2:3 p malaxat N GAMMA	63597,31	1,1752	4,320	61119,65	-170,63	61170,50	1,4888E-07
2:3 am. fizic N: PEG	50275,04	1,0594	2,975	47797,38	-196,30	47855,88	1,4544E-06
3:7 coprecipitat RAMEB	355367,00	1,7904	27,140	352889,34	266,50	352809,92	7,0687E-36
	14808,30	1,4471	1,273	12330,64	-228,99	12398,85	0,04761314

Tabelul III. Parametrii termodinamici determinați la temperatura de DTA_{max}

Sistemul studiat	Factor preexponențial lg A	ΔH^* [J/mol]	ΔS^* [J/mol.K]	ΔG^* [J/mol]	T [K]
Nitrazepam N RAMEB	4,044	51830,48	-175,91	51918,08	498
2:1 am Fizic N RAMEB	5,920	74208,21	-139,98	74302,70	675
2:1 p malaxat N RAMEB	13,710	162179,33	9,24	162173,02	683
2:1 p pulverzat N BETA	7,243	91976,76	-114,64	92055,63	688
1:1 am Fizic N: BETA	5,264	69973,66	-152,62	70079,43	693
1:1 p malaxat N GAMMA	11,910	139525,96	-25,24	139544,21	723
2:3 p malaxat N GAMMA	4,320	577918,64	-170,63	58035,18	683
2:3 am. fizic N: PEG	2,975	44346,94	-196,30	44486,90	713
3:7 coprecipitat RAMEB	27,140	349605,20	266,50	349420,52	693
	1,273	9374,06	-228,99	9523,53	653

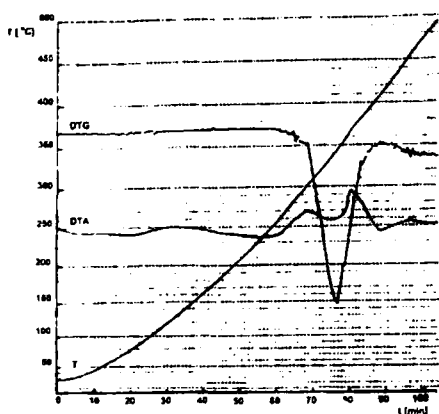


Figura 4. Termograma nitrazepam:RAMEB 2:1 podus pulverizat

Analizând comparativ curbele termice ale nitrazepamului, a ciclodextrinelor, a polietilenglicolului, s-a constatat existența unor interacțiuni între principiul activ și molecula gazdă. Forma curbelor termice a dovedit formarea complexelor de incluziune. În cazul complexelor de incluziune simetria curbei DTA este puternic modificată, datorită suprapunerii a mai multor procese endoterme.

Stabilitatea complexelor de incluziune a fost caracterizată cu parametrii cinetici după ecuația lui Arrhenius:

În continuare s-a calculat ordinul de reacție virtuală, energia de activare, factorul pre-exponențial. Din datele cinetice s-au calculat și parametrii termodinamici: entropia, entalpia și energia de activare a procesului. Datele sunt prezentate în tabelele II și III.

CONCLUZII

Pe baza rezultatelor s-a constatat că stabilitatea termică a complexelor este mai mare decât a substanțelor neincorporate. Stabilitatea nitrazepamului crește considerabil prin complexare, temperaturile de descompunere fiind plasate spre valori superioare celor obținute la substanțele pure, observând totodată lărgirea

domeniului de descompunere. Pe baza energiilor de activare și a constantelor de viteză de descompunere pentru stabilitatea nitrazepamului în prezența ciclodextrinelor se impune următoarea ierarhizare:

N:RAMEB p. malaxat > N:β p. malaxat > N:RAMEB p. pulverizat > N:RAMEB am. fizic > N:β am. fizic > N:γ p. malaxat > N:γ am. fizic > N > RAMEB.

S-a remarcat coprecipitatul N:PEG, cu o stabilitate termică superioară produselor cu ciclodextrine.

Ordinul de stabilitate al sistemelor studiate este în concordanță cu rezultatele obținute la testul de dizolvare. S-a constatat că stabilitatea complexelor este cu un ordin de mărime mai mare decât a substanțelor pure. Valorile entalpiei sunt apropiate de valorile energiei de activare.

Pe baza celor prezentate se afirmă că metodele termice permit cercetarea sistemelor policomponente, fiind aplicabile în domeniul farmaceutic în toate fazele formulării unui medicament. Un avantaj deosebit al acestor metode constă în aceea că rezultatele pot fi corelate cu cele obținute cu alte metode de analiză, de exemplu testul de dizolvare.

BIBLIOGRAFIE

1. ABDEL RA, ABOUTALEB AE, MULLEY BA et al - *Interaction of temazepam with hydrophilic macromolecules: VIII - Effect of polyethylene glycols molecular weight and polysorbate 80 on temazepam dissolution from solid dispersions*, J Pharm Belg, 1992, 47:141-149
2. ARNOLD M et al - *Derivatograph-C, a microcomputer-controlled simultaneous TG, DTG, DTA, TD and EGA apparatus. Part II. A simple method of estimating kinetic parameters*, Journal of Thermal Analysis, 1987, 32:679-683
3. KATA M, AIGNER Z, ERŐS I - *Optimization of bioavailability of pharmacons*, Acta Pharm Hung, 1998, 68:107-111
4. MASSE J, TEROL A, CHAUVET A - *Contrôle de qualité et optimisation de l'activité thérapeutique à l'aide de méthodes thermoanalytiques*, Ann pharmaceutiques françaises, 1999, 48(2):57-69
5. SZENTE L et al - *Examples of use of Thermo analysis in Cyclodextrin-drug complexes*, Eurostar Symp and Workshops on Pharmacy and Thermal Analysis, Freiburg, 1993
6. UEKAMA K et al - *Improvement of dissolution and absorption characteristics of benzodiazepines by cyclodextrin complexation*, International Journal of Pharmaceutics, 1983, 16:327-338

Valoarea predictivă a modificărilor tensiunii arteriale în cursul testului tilt pentru sincopa vasovagală

C. Podoleanu, A. Frigy, D. Dobreanu, S. Micu, Doina Podoleanu, E. Carașca

În faza inițială a testului tilt (TT) pot apărea modificări asimptomatice ale tensiunii arteriale (TA) și frecvenței cardiace (FC). Prezentul studiu își propune să urmărească corelația dintre modificarea valorilor parametrilor hemodinamici și rezultatul TT.

În acest scop am luat în studiu un lot de 16 pacienți trimisi în serviciul nostru pentru sincopă de etiologie neprecizată. Fiecare pacient prezenta în antecedente cel puțin un episod de sincopă și episoade lipotimice în cursul ultimelor 6 luni. Toți pacienții au fost supuși unui examen clinic amănunțit și examinărilor paraclinice de rutină (care au inclus și ECG în 12 derivații), respectiv examinării ecocardiografice. La nici un pacient din lotul studiat nu s-au evidențiat modificări patologice în cursul acestor examinări, respectiv prezența ca patologie asociată a diabetului sau a afecțiunilor neurologice. Nici un pacient nu urma tratament cu droguri cardioactive.

Pe baza TT am pus diagnosticul de sincopă vasovagală la 8 dintre pacienți. În cursul TT am efectuat monitorizarea automată a TA, pe baza căreia s-au calculat valorile medii ale TA sistolice, TA diastolice, presiunii pulsului (PP) și frecvenței cardiace. Pentru analiza statistică s-au luat în calcul doar determinările efectuate înaintea pozitivării TT. Comparând aceste valori pentru cele două grupe de pacienți, am constatat o scădere statistic semnificativă a TA sistolice și PP în faza asimptomatică la pacienții cu TT pozitiv.

Concluzie: la lotul studiat, scăderea asimptomatică a TA sistolice și FC în cursul TT a fost corelată cu rezultatul pozitiv al TT.

Cuvinte cheie: sincopă vasovagală, mecanism, test tilt

During the initial phase of the tilt testing asymptomatic changes of blood pressure and heart rate may occur. The aim of this study is to assess the correlation between the variation of this hemodynamic changes and the outcome of the tilt test.

We performed our study on 16 patients referred to our clinic for syncope of unknown origin. Each patient had at least one episode of syncope and more presyncope in the last 6 months. All the patients had normal ECG and no history of known heart disease or neurological pathology. Positive tilt test was recorded in 8 of the patients.

During tilt table testing, automatic blood pressure monitoring was performed and we recorded following mean values: systolic blood pressure, diastolic blood pressure, pulse pressure and heart rate. For statistical analysis only the values recorded before the onset of syncope were considered. The systolic blood pressure and the pulse pressure showed a significant drop in the asymptomatic phase of the patients with positive tilt test.

Conclusion: In healthy subjects with unexplained syncope, the evaluation of systolic blood pressure reductions during the asymptomatic phase of tilt is a marker of systolic pressure instability preceding syncope and constitutes a simple and good predictor of tilt outcome.

Key words: vasovagal syncope, mechanism, tilt test

Testul tilt (TT) sau testul mesei înclinată a devenit un instrument cu utilitate unanim acceptată în evaluarea pacienților cu sincopă, devenind un "standard de aur", datorită eficienței dovedite clinic în diagnosticarea sincopei vasovagale. Acesta se realizează cu ajutorul unei mese prevăzută cu un suport, de care pacientul își poate sprijini picioarele atunci când masa este înclinată. În cursul testului este obligatorie monitorizarea

permanentă a ECG și a tensiunii arteriale (TA), preferabil cu dispozitive care să permită înregistrarea acesteia bătaie cu bătaie.

Există numeroase protocoale propuse pentru efectuarea TT, care cuprind în general următoarele faze: o perioadă de adaptare în clinostatism, urmată de înclinarea mesei la un unghi între 60°-80° și menținerea acestei poziții pentru 20-60 minute. Dacă răspunsul este negativ, se poate utiliza potențarea farmacologică cu diferite substanțe: isoproterenolul este folosit datorită acțiunii sale de creștere a nivelului catecolaminelor, adenzina pentru efectul său vasodilatator și probabil

de activator direct a aferențelor simpatice, nitroglicerina pentru efectul vasodilatator direct sau endofoniul pentru acțiunea sa colinergică.^{14,22,25,27,30} Dintre agenții farmacologici, cea mai frecventă utilizare în practica clinică o are nitroglicerina administrată sublingual, sub forma de spray, aceasta fiind de altfel și opțiunea colectivului nostru datorită ușurinței în administrare (nefiind necesară abordarea instrumentală a bolnavului, ca în cazul isoproterenolului) respectiv a sensibilității și specificității.⁶

În funcție de modificările hemodinamice care survin în cursul testului mesei înclinată și de secvența temporală a acestora, răspunsul pozitiv poate fi clasificat după cum urmează:⁵

Tip 1 mixt:

- Frecvența cardiacă inițial crește și apoi scade în momentul producerii sincopei, însă nu sub 40/minute sau sub 40/minute pentru mai puțin de 10 secunde, cu sau fără asistolă sub 3 secunde

- TA scade înaintea scăderii frecvenței cardiace.

Tip 2A cardiomhibitor fără asistolă:

- Frecvența cardiacă scade la o frecvență ventriculară <40/minute pentru mai mult de 10 secunde dar fără asistolă >3 secunde

- TA crește inițial și apoi scade înaintea scăderii frecvenței cardiace.

Tip 2B cardiomhibitor cu asistolă:

- Asistolă >3 secunde

- TA crește inițial și scade înainte sau concomitent cu scăderea frecvenței cardiace.

Tip 3 vasodresor:

- Frecvența cardiacă crește progresiv și nu scade >10% din frecvența maximă.

- TA scade cauzând sincopă.

În experiența colectivului nostru, testul tilt s-a dovedit a fi un instrument eficient în diagnosticul sincopei vasovagale în peste o sută de cazuri, având sensibilitate variabilă în funcție de protocolul utilizat, de contextul clinic în care a fost efectuat și specificitate crescută.^{6,23,24}

MATERIAL ȘI METODĂ

Au fost luați în studiu un număr de 16 pacienți cu vârste cuprinse între 22 și 44 ani (vârsta medie 29 ± 7 ani) care au fost trimiși în serviciul nostru pentru clarificarea diagnosticului. Toți pacienții au prezentat cel puțin un episod de sincopă în ultimele 6 luni și unul sau mai multe episoade lipotimice asociate frecvent cu fenomene prodromale.

La toți pacienții s-a efectuat un examen complet al aparatului cardiovascular (care a inclus ECG de repaus, ecocardiografie și compresie de sinus carotidian) care nu a evidențiat prezența vreunei afecțiuni cardiace organice. Nici unul dintre pacienți nu prezenta în antecedente elemente sugestive pentru o patologie neurologică.

Testul mesei înclinată a fost efectuat conform unui protocol care prevede o perioadă de adaptare în clinostatism de 15 minute urmată de înclinarea mesei la 70° pentru 30 minute. S-a efectuat monitorizarea permanentă a tensiunii arteriale cu ajutorul unui aparat pentru monitorizarea ambulatorie a TA tip Meditech ABPM 04, respectiv a electrocardiogramei cu un sistem computerizat tip CARDIAX. Software-ul de analiză și control al acestora permite determinarea și analiza statistică a mai multor parametri, cei urmăriți de noi fiind cei din tabelul I.

Tabelul I. Parametri urmăriți

Frecvența cardiacă
TA sistolică
TA diastolică
Presiunea pulsului = TA sistolică - TA diastolică
TA medie = TA diastolică + (TA sistolică - TA diastolică) / 3

Dacă după cele 30 de minute rezultatul a fost negativ, s-au administrat 0,4 mg nitroglicerină sublingual și s-a continuat testul pentru încă 15 minute.

Testul a fost considerat pozitiv atunci când răspunsul hemodinamic s-a încadrat în unul din tipurile enumerate.

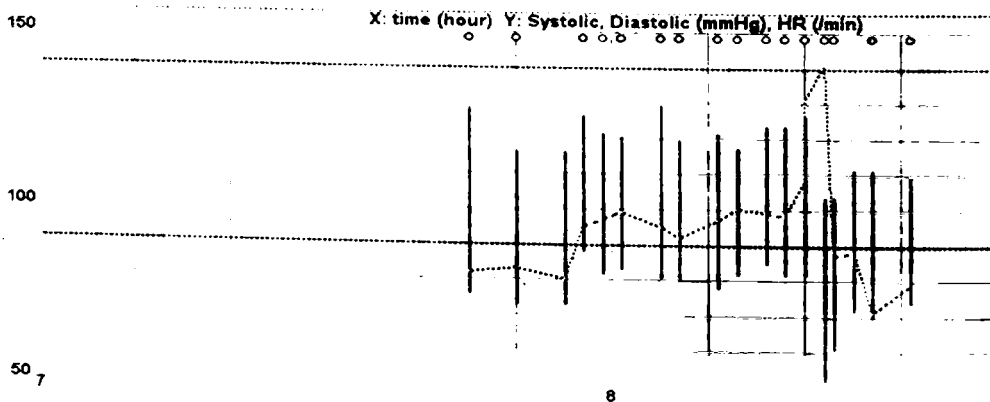


Figura 1. Răspuns de tip vasodresor (X :ore, Y : TA sistolică și diastolica, frecvența cardiacă marcată cu linie punctată)

REZULTATE

Testul tilt a fost pozitiv la 8 pacienți din lotul luat în studiu, din care 5 femei (Tabelul II). În 3 cazuri răspunsul pozitiv a fost de tip vasodepresor, caracterizat prin scăderea marcată a TA fără a fi însoțită de scăderea frecvenței cardiace (Figura 1). Într-un singur caz s-a înregistrat un răspuns cardioinhibitor, caracterizat prin

Acestea se asociază cu scăderea semnificativă și a frecvenței cardiace (62 ± 11 bătăi/minut față de 74 ± 10 bătăi/minut, $p < 0,05$) respectiv a presiunii pulsului ($36,7 \pm 4,1$ mmHg față de $57,6 \pm 6,7$ mmHg, $p < 0,05$) la pacienții cu tilt test pozitiv.

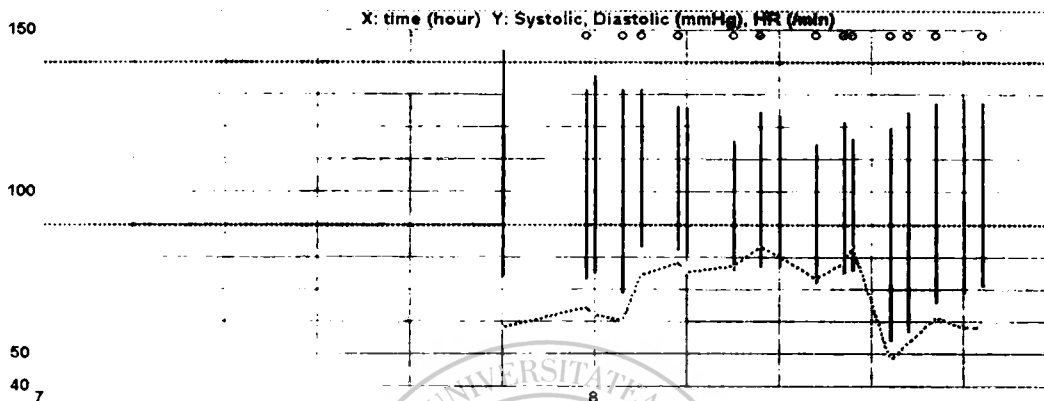


Figura 2. Răspuns de tip cardioinhibitor (X: ore, Y: TA sistolică și diastolică, frecvența cardiacă marcată cu linie punctată)

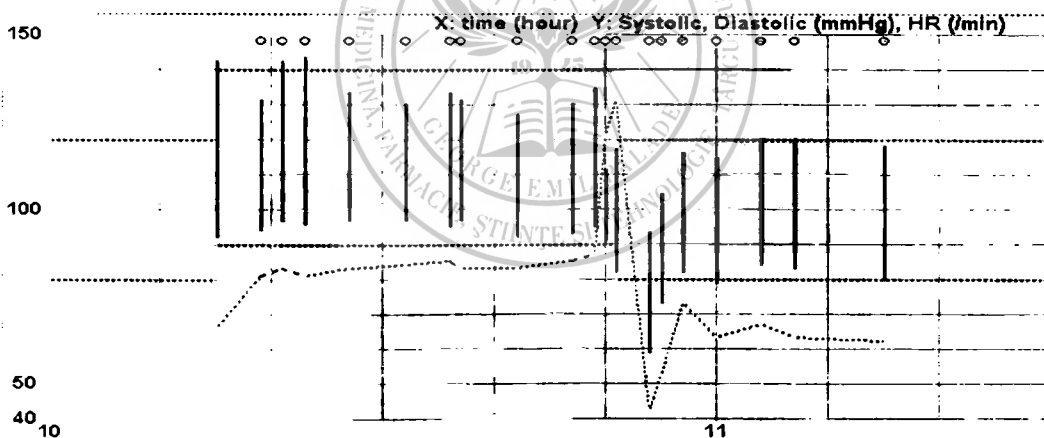


Figura 3. Răspuns de tip mixt (X: ore, Y: TA sistolică și diastolică, frecvența cardiacă marcată cu linie punctată)

scăderea izolată a frecvenței cardiace (Figura 2), iar în 4 cazuri s-a înregistrat răspuns de tip mixt caracterizat prin scăderea tensiunii arteriale asociată cu scăderea frecvenței cardiace (Figura 3).

Analiza statistică a parametrilor determinați a fost efectuată cu testul t din pachetul de statistică al programului Microsoft Excel. Analizând valorile determinate la 15 minute de la inițierea testului mesei înclinate (reprezentate în tabelul III) am constatat că la pacienții cu rezultat pozitiv la testul tilt, valorile tensiunii arteriale sistolice sunt semnificativ mai scăzute decât la pacienții cu răspuns negativ: 114 ± 15 mmHg față de 133 ± 11 mmHg, $p < 0,05$.

DISCUȚII ȘI CONCLUZII

Deși testul mesei înclinate este un instrument frecvent folosit în diagnosticul sincopei vasovagale, cu utilitate dovedită, nu există la ora actuală un consens referitor la durata acestuia, fapt care constituie un dezavantaj. În acest sens există numeroase preocupări legate de identificarea precoce a unor modificări hemodinamice cu valoare predictivă asupra rezultatului TT.

Substratul fiziopatologic este legat activitatea baroreceptorilor arteriali. În condiții normale, reglarea momentană (bătăie cu bătăie) a tensiunii arteriale este controlată predominant de către baroreceptorii stimulați de întindere (TA crescute) de la nivelul crosiei

Tabelul II. Caracteristicile lotului studiat

	Total	TT pozitiv	TT negativ
Număr	16	8	8
Vârstă (ani, $\pm$ DS)	29 $\pm$ 7	27 $\pm$ 5	31 $\pm$ 5
Sex (bărbați/ femei)	7/9	3/5	4/4
Nr episoade sincopale	3,5 $\pm$ 5,8	3,2 $\pm$ 5,1	4,2 $\pm$ 6,9
Lipotimie/fenom.prodrom.	9/16	5/8	4/8
Frecvența cardiacă ($\pm$ DS)	71 $\pm$ 10	72 $\pm$ 12	70 $\pm$ 11
TA sistolică (mmHg $\pm$ DS)	132 $\pm$ 11	131 $\pm$ 25	135 $\pm$ 14
TA diastolică (mmHg $\pm$ DS)	76 $\pm$ 12	75 $\pm$ 15	78 $\pm$ 14

Tabelul III. Caracteristicile lotului studiat la 15 minute de la înclinarea mesei

	TT pozitiv	TT negativ
Frecvența cardiacă ($\pm$ DS)	62 $\pm$ 11	74 $\pm$ 10 (*)
TA sistolică (mmHg $\pm$ DS)	114 $\pm$ 15	133 $\pm$ 11 (*)
TA diastolică (mmHg $\pm$ DS)	72 $\pm$ 13	77 $\pm$ 15
TA medie (mmHg $\pm$ DS)	97 $\pm$ 14	108 $\pm$ 12
Presiunea pulsului (mmHg $\pm$ DS)	36,7 $\pm$ 4,1	57,6 $\pm$ 7,1 (*)

(*) p<0,05

aortice și sinusului carotidian. Semnalele aferente sunt transmise de la nivelul crosei aortice pe calea nervului vag, iar de la nivelul sinusului carotidian pe calea nervului glosotaringian. Distensia fizică a acestor teritorii vasculare în cursul ciclului cardiac generează descărcarea periodică de stimuli nervoși, care pe căile aferente menționate ajung la nivelul nucleului tractului solitar. De la acest nivel, fluxul de stimuli eferenți pe cale simpatică sau vagală este modulată în funcție de faza corespunzătoare a ciclului cardiac. Scăderea TA duce la creșterea eferențelor simpatică și diminuarea stimulării parasimpatică, iar creșterea TA are efect invers, de inhibare simpatică și stimulare parasimpatică.⁸

Trecerea din clinostatism în ortostatism determină solicitarea mecanismelor de reglare a TA, datorită acumulării a 300-700 ml sânge în sistemul vascular situat sub nivelul diafragmului, cu scăderea consecutivă a volumului sângvin intracardiac și la nivelul crosei aortice și sinusului carotidian, cu scăderea consecutivă a intensității impulsurilor aferente de la nivelul baroreceptorilor.

Acumularea excesivă a sângelui la nivelul membrilor inferioare declanșează o reacție în lanț, care duce în mod paradoxal la vasodilatație și bradicardie în locul răspunsului fiziologic adecvat - vasoconstricție și tahicardizare. Studii efectuate la om au demonstrat că nivelul catecolaminelor serice crește în cursul testului tilt, în faza premergătoare sincopiei, iar înregistrarea activității nervoase simpatică de la nivelul nervului peronean cu ajutorul unor microelectrozi în cursul aceleiași test a demonstrat intensificarea acesteia în faza prodromală, urmată de scăderea bruscă a "traficului" simpatic, imediat după declanșarea sincopiei.

Consecutiv acestor mecanisme, la pacienții cu susceptibilitate crescută pentru sincopă vasovagală pare verosimilă o scădere asimptomatică a tensiunii arteriale sistolice respectiv a frecvenței cardiace în cursul testului tilt.

La lotul studiat, scăderea asimptomatică a TA sistolice și a frecvenței cardiace este corelată cu rezultatul pozitiv al testului mesei înclinate, iar modificările asimptomatice ale TA și frecvenței cardiace reflectă instabilitatea vasomotorie care precede sincopa și pot fi utilizate la aprecierea duratei testului mesei înclinate.

BIBLIOGRAFIE

1. BRIGNOLE M, MENOZZI C, DEL ROSSO A et al - *New classification of haemodynamics of vasovagal syncope: beyond the VASIS classification. Analysis of the pre-syncope phase of the tilt test without and with nitroglycerin challenge*, Vasovagal Syncope International Study, Europace, 2000, 2:66-76.
2. CARASCA E, FRIGY A, PODOLEANU C et al - *The value of tilt protocol with sublingual Nitroglycerin challenge in diagnosing syncope of unknown origin*, Ann Noninvasive Electrocardiol, 2000, V:35-36.
3. DAN D, HOAG JB, ELLENBOGEN KA et al - *Cerebral blood flow velocity declines before arterial pressure in patients with orthostatic vasovagal presyncope*, J Am Coll Cardiol, 2002, 39:1039-45.
4. JARDINE DL, MELTON IC, CROZIER IG et al - *Decrease in cardiac output and muscle sympathetic activity during vasovagal syncope*, Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002, 282:H1804-H1809.
5. PITZALIS M, MASSARI F, GUIDA P et al - *Shortened head-up tilting test guided by systolic pressure reductions in neurocardiogenic syncope*, Circulation, 2002, 105:146-48.
6. PODOLEANU C, FRIGY A, CARASCA E et al - *Valoarea prognostică a unor factori clinici asupra rezultatului testului mesei înclinate - Tilt test (TT) - la pacienții cu sincopă neurocardiogenă*, Revista Romana de Cardiologie, 2001, XIV:145-146.
7. PODOLEANU C, FRIGY A, DOBREANU D et al - *Testul tilt la pacienții cu risc crescut de sincopă neurocardiogenă*, Revista Romana de Cardiologie, 2002, XVII:104-105.
8. RAVIELE A - *Tilt-induced asystole: a useful prognostic marker or clinically irrelevant finding?*, Eur Heart J, 2002, 23:433-437.
9. RAVIELE A, GIADA F, SUTTON R et al - *The vasovagal Syncope and pacing (Synpace) trial: rationale and study design*, Europace, 2001, 3:336-341.
10. SAGRISTA-SAULEDA J, ROMERO-FERRER B, MOYA A et al - *Variations in diagnostic yield of head-up tilt test and electrophysiology in groups of patients with syncope of unknown origin*, Eur Heart J, 2001, 22:857-865.
11. SHELDON R, KOSHMAN ML - *A randomized study of tilt test angle in patients with undiagnosed syncope*, Can J Cardiol, 2001, 17:1051-1057.
12. THEOPISTOU A, GATZOULIS K, ECONOMOU E et al - *Biochemical changes involved in the mechanism of vasovagal syncope*, Am J Cardiol, 2001, 88:376-381.
13. VINCENT S, ROBERTSON D - *The broader view: catecholamine abnormalities*, Clin Auton Res, 2002, 12:144-149.

Polarografia nitronelor III.

Acțiunea structurii chimice asupra procesului de electrod și separarea efectelor substituenților

Gabriela Suciu, B. Tőkés

Pornind de la faptul că reactivitatea electrochimică a unei substanțe organice este condiționată de structura sa chimică s-au urmărit modificările parametrilor polarografici ($E_{1/2}$, i) ai nitronelor obținute din fenilhidroxilamină și aldehide aromatice sau alifatice atunci când se schimbă natura și poziția substituenților grefați pe nucleu. Aceste modificări s-au evaluat prin dependența $E_{1/2}$ - σ (σ fiind constantele de substituent calculate de Hammett) pentru diferite serii de nitrone, obținându-se relațiile liniare de energie liberă cu coeficienți de corelație mai mari ca 0,95.

Efectul unui substituent însă, se poate separa în componentii de bază: componentul de câmp F și cel de rezonanță R . În acest scop s-a utilizat metoda lui Taft și cea a lui Swain și Lupton calculându-se prin ambele procedee contribuția efectului polar și a celui de rezonanță deplasarea potențialului de semiundă. Valorile obținute sunt apropiate, uneori chiar identice. Diferențele care apar se datoresc probabil mecanismelor diferite de propagare ale efectelor prin sistemul conjugat de la substituent la centrul de reacție, constantele de reacție ρ ale seriilor de nitrone fiind diferite.

Cuvinte cheie Nitrone, polarografie, structură, efect de câmp și mezomer

Starting off from the fact that the electrochemical activity of the organic compounds depends on their chemical structure, the authors have investigated the modifications of the polarographic parameters ($E_{1/2}$, i) of nitrones obtained from phenylhydroxylamines and aromatic or aliphatic aldehydes when were modified the nature and the position of substituents introduced in the cycle. These changes were evaluated by analysing the $E_{1/2}$ - σ dependence (where σ is the Hammett substituent constant) for different nitrone reactions series and obtaining the proper linear free energie relations with correlation coefficients greater than 0.95.

The substituent effect can be separated in two basic components, a field term F and a resonance one R . For this purpose were utilized the Taft's and the Swain-Lupton's methods and were calculated by them the field and resonance effect contributions to the shifts of the half-wave potential. The obtained values are closed or sometimes just identical. Differences appeared are attributed to different propagation mechanisms of the effects from the substituent to the reactions center via conjugated system. The reaction constants ρ of the diverse reaction series are different.

Key-words: nitrone, polarography, structure, field and resonance effect

Ractivitatea electrochimică a unei substanțe organice este condiționată de structura sa chimică, legătura dintre ele fiind redată de așa numitele "relații liniare de energie liberă".

Modificările structurale afectează curbele polarografice în sensul variației potențialului de semiundă sau a intensității curentului limită, dar pot cauza și schimbări în mecanismul procesului de electrod.

În cazul unei serii de depolarizanți care diferă numai prin natura substituentului⁷, centrul de reacție rămânând neschimbat, procesele de electrod se pot compara numai în condiții identice și dacă mecanismul reacției studiate este același pentru toate reacțiile (serie de reacție).

Ecuția lui Hammett:

$$\lg \frac{k}{k_1} = \rho \sigma \quad (1)$$

se traduce în polarografie⁵ prin relația:

$$\Delta E_{1/2} = \rho \sigma \quad (2)$$

dat fiind faptul că $\Delta E_{1/2} \sim \lg K$, ($\Delta E_{1/2}$ fiind diferența între potențialele de semiundă a combinației substituite și a celei nesubstituite) σ este constanta de substituent iar ρ - constanta de reacție.⁵

Efectul substituentului se manifestă⁵ prin variația totală a incrementului energiei potențiale legate de efectul polar (P), mezomer (M) și steric (S) care corespund variațiilor de forțe polare ce au loc la trecerea de la starea inițială la starea de tranziție. Pentru polarografie se folosește relația:

$$\Delta E_{1/2} = P + M + S$$

în care efectele polar, mezomer și steric sunt adesea variabile independente, dar uneori se pot aprecia contribuțiile lor pe baza datelor experimentale.

Efectul unui anumit substituent se exprimă cel mai frecvent prin constantele de substituent ale lui Hammett notate cu σ_m și σ_p în funcție de poziția meta sau para a substituentului respectiv.¹

Separarea efectelor în componenții de bază – componentul de câmp F și cel de rezonanță R se poate face numai dacă se neglijează orice alte contribuții la valoarea oricărei constante de substituent, afară de cele de câmp și de rezonanță – condiție care se realizează dacă substituentul este despărțit de centrul de reacție prin trei sau mai mulți intermediari⁶ adică:

$$\sigma = fF + rR \quad (4)$$

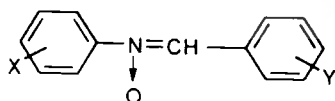
în care f și r sunt ponderile specifice ale factorilor F și R, independente de substituent, caracteristice pentru fiecare grup de constante σ . Termenul de constantă de câmp se referă la ansamblul efectelor de rezonanță înglobând efectele de câmp pure și efectele inductive.

MATERIALE ȘI METODĂ

S-a folosit un polarograf RADIOMETER POL 110 asistat de un calculator Intel Pentium II. S-a lucrat cu un electrod picător de mercur ca electrod de lucru și un electrod de mercur ca electrod de referință. Soluția de bază a fost apă-etanol 20% în H_2SO_4 1M. Temperatura s-a menținut constantă cu un ultratermostat U10. Determinările s-au efectuat după tehnica utilizată într-o lucrare anterioară.²

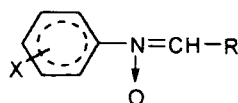
REZULTATE ȘI DISCUȚII

Substanțele studiate de noi au fost nitronele obținute din fenilhidroxilamină substituită la inelul aromatic și aldehide aromatice¹ cu diverse grupări grefate pe nucleu. Structura nitronei va fi de forma:



Centrul polarografic activ este gruparea azoximetinică, iar substituenții x și y respectă condiția de a fi plasați la o distanță de cel puțin trei atomi față de acesta, atunci când ei sunt în pozițiile meta sau para. Substituenții din inelele aromatice⁶ au fost astfel aleși încât să cuprindă tot domeniul de variație a constantelor de substituent σ – utilizându-le pe cele ale lui Hammett – și s-a urmărit influența lor (dependența $E_{1/2} - \sigma$) asupra reducerii polarografice a grupeii nitronice atunci când ei se găsesc în nucleul aromatic de partea azotului – provenind deci de la nitroderivat – sau de partea carbonului azometinic, provenind de la benzaldehidă.

S-au obținut mai multe serii de nitrone în care atunci când x se menține constant, variază y sau invers y este constant și se modifică substituentul x. La acestea se adaugă seria nitronelor care au în moleculă o parte alifatică, adică sunt de tipul:



Efectuând calculele de corelație necesare, Swain și Lupton⁴ au determinat valorile F și R corespunzătoare substituenților celor mai uzuali și coeficienții f și r caracteristici pentru toate constantele de substituent din literatură obținând relațiile:

$$\sigma_m = (0,27 \pm 0,00)R + (0,60 \pm 0,00)F \quad (5)$$

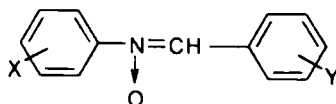
$$c = 1,00 \quad E\sigma = 0,00$$

$$\sigma_p = (1,00 \pm 0,00)R + (0,56 \pm 0,00)F \quad (6)$$

$$c = 1,00 \quad E\sigma = 0,00$$

unde c este coeficientul de corelație compusă și $E\sigma$ – deviația standard a valorilor σ . Ținând seama de relațiile calculate după Hammett⁶ se obțin următoarele ecuații:

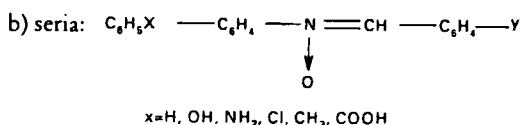
a) seria nitronelor de tipul:



y = H, NH₂, OH, Cl, N(CH₃)₂, NHCOCH₃

Taboul I. Seria nitronelor de tipul a)

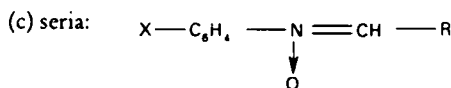
x	H	mOH	pOH	mNH ₂	pNH ₂	mCOOH	pCOOH	mCHO	pCHO
m	0,026	-0,018	0,025	0,025	0,032	-0,144	0,040	0,016	0,042
p	0,098	-0,068	0,091	0,094	0,118	-0,534	0,152	0,059	0,154
m	0,059	-0,041	0,055	0,056	0,071	-0,322	0,091	-0,035	-0,092
p	0,055	-0,038	-0,051	0,053	0,066	-0,299	0,085	-0,033	-0,086
(V.E.S.H)	0,925	-0,892	0,956	0,946	0,970	0,817	0,812	0,918	0,930
p	0,098	-0,068	0,090	0,094	0,118	-0,534	0,151	0,059	0,154



$x=H, OH, NH_2, Cl, CH_3, COOH$

Tabelul II. Seria nitronelor de tipul b).

y	H	mOH	pOH	mNH ₂	pNH ₂	mCl	pCl	mCH ₃	pNHCOCH ₃	pN(CH ₃) ₂
m	0,035	0,045	0,520	0,039	0,026	0,015	-0,118	0,005	0,052	0,016
r p	0,128	0,165	1,927	0,146	0,098	0,056	-0,402	0,017	0,193	0,058
m	0,077	0,099	1,156	0,088	0,059	-0,034	-0,201	0,010	-0,116	-0,035
f p	0,072	0,092	1,079	0,082	0,055	-0,031	-0,225	0,010	-0,108	-0,032
-(E _{1/2}) _H	0,854	0,879	0,928	0,906	0,920	0,954	0,957	0,809	1,035	0,972
p	0,127	0,165	0,192	0,145	0,098	0,0557	0,401	0,017	-0,058	0,192



$x=H, OH, NH_2, Cl, CH_3, COOH$

Tabelul III. Seria nitronelor de tipul c).

	R	H	CH ₃	CH ₃ -CH ₂	C ₆ H ₅ -CH ₂	C ₆ H ₅ -CH=CH-	CH ₃ -CH=CH-
m		0,028	0,034	0,079	0,054	0,072	0,059
r p		0,104	0,126	0,292	0,200	0,266	0,229
m		0,062	0,076	0,175	0,120	0,060	0,137
f p		0,058	0,071	0,163	0,112	0,149	0,128
(E _{1/2}) _H (V,ESH)		0,870	1,124	1,110	1,132	1,088	1,015
p		0,104	0,090	0,156	0,200	0,266	0,229

Pentru că relațiile (5) și (6) sunt funcții exacte ($c = 1, E_0 = 0,00$) urmează că erorile relative și coeficientul de corelație ai relațiilor prezentate rămân identici cu aceștia.

Din relațiile obținute se pot trage câteva concluzii.

1. Deoarece constantele σ_m și σ_p sunt mărimi "hibride" compuse din F și R în diferite proporții este greșit să se presupună că σ_m este total lipsită de rezonanță și σ_p nu reflectă nici un efect de câmp. Aceasta înseamnă că deplasările potențialului de semiundă datorate înlocuirii unui atom de hidrogen cu derivați substituenți în pozițiile meta sau para sunt cauzate pentru ambele poziții atât de efectele de câmp cât și cele de rezonanță. Din tabelele prezentate se vede că reacția de electroreducere a nitronelor cu substituenți în poziția meta este influențată mai mult de efectul de câmp decât de cel de rezonanță, pe când în seria nitronelor cu substituenți în poziția para contribuția efectului de rezonanță crește comparativ cu cea din meta. Pondere relativă a efectelor de câmp și de rezonanță; în cadrul seriei studiate se poate exprima prin așa numita "contribuție procentuală" utilizând relația:

$$\%R = \frac{100\Psi|r|}{\varphi|f| + \Psi|r|} \quad (7)$$

unde φ și Ψ sunt factorii de corecție calculați din ansamblul de date prelucrate statistic ($\varphi=0,365$ și $\Psi=0,228$). S-a constatat că în cazul derivaților meta,

contribuția procentuală a efectelor de rezonanță la deplasarea potențialului de semiundă este de 41%, iar a efectelor de câmp de 59%. Pentru combinațiile p-substituente aceste efecte sunt de 73% și respectiv 27%.

2. În general, sensibilitatea reacției studiate față de efectul de câmp nu este aceeași în pozițiile meta și para.⁵ Diferența relativă între valorile f pentru substituentul în cele două poziții poate atinge 50%. Deci aproximația frecvent întâlnită după care efectul de câmp al unui substituent este același în pozițiile meta și para în general nu este justă, iar încercările de separare din efectul global al substituenților, a componentului polar și a celui de rezonanță se bazează pe această premiză. Pentru derivații benzenului se acceptă în general că:

a) reactivitatea derivaților substituiți în pozițiile meta și para este determinată numai de efectele polare și de rezonanță:

$$\lg(k_m/k_o) = P_m + M_m \quad (8)$$

b) efectul inductiv al unui substituent în poziție meta este același cu efectul inductiv al aceluiași substituent în poziția para

$$P_m = P_p = P$$

c) raportul efectelor de rezonanță ale unui substituent dat în poziția meta și în poziția para este o valoare constantă și independentă de substituent.

$$M_m/M_p = \alpha$$

Taft presupune că $\alpha = 1/3$ pentru cazul seriilor de reacție "normale" și $\alpha = 1/10$ dacă seria este electrofilă.

Am comparat această metodă cu cea a lui Swain și Lupton⁴ și am calculat prin ambele procedee contribuțiile efectului polar și al efectului de rezonanță de deplasarea potențialului de semiundă în seria nitronelor. Pe baza metodei lui Taft⁵ și acceptând $\alpha=1/3$ (seria se poate considera normală pentru că corelația $-E_{1/2}$, σ° este liniară) am obținut pentru calcularea efectelor pure, următoarele relații:

$$\begin{aligned}(\Delta E_{1/2})_m &= P + M_m \\ (\Delta E_{1/2})_p &= P + 3M_m\end{aligned}$$

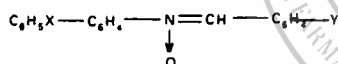
deci:

$$M_m = \frac{1}{2}[(\Delta E_{1/2})_p - (\Delta E_{1/2})_m]$$

$$P = \frac{1}{2}[3(\Delta E_{1/2})_m - (\Delta E_{1/2})_p]$$

Valorile obținute prin cele două metode sunt redată în tabelele IV-V și se constată că ele sunt apropiate, uneori chiar identice. Raportul efectelor polare în cele două poziții calculate după acești autori este $P/P_p = 1,07$ valoare apropiată de 1,00 și în concordanță cu ipoteza lui Taft, iar raportul $\alpha = M_m/M_p$ este de 0,27¹, valoare de asemenea apropiată de raportul propus de Taft pentru seriile "normale".

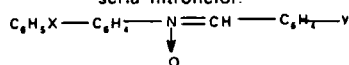
Tabelul IV. Separarea efectelor polar și de rezonanță în seria nitronelor:



Solvent: apă-etanol 20%

X	Y	Poziția	Efect	Metoda	
				Taft (mV)	Swain-Lupton (mV)
H	Cl	meta	P	43	41
			M	-7	-4
		para	P	43	38
			M	-21	-15
mNH ₂	OH	meta	P	34	27
		para	M	-23	-16
			P	34	26
	NH ₂	meta	M	-69	-60
			P	8	2
		para	M	-23	-17
pCOOH	NH ₂	para	P	8	3
			M	-69	-64
		meta	P	14	3
			M	-33	-27
	OH	para	P	14	4
			M	-99	-103
	OH	meta	P	55	44
			M	-37	-26
		para	P	55	42
			M	-111	-97

5. Tabelul V. Separarea efectelor polar și de rezonanță în seria nitronelor:



Solvent apă-etanol 20%

Y	X	Poziția	Efect	Metoda	
				Taft (mV)	Swain-Lupton (mV)
mOH	OH	meta	P	60	21
			M	-21	-28
		para	P	60	45
			M	-63	-106
	NH ₂	meta	P	8	5
			M	1	1
		para	P	8	3
			M	3	3
	COOH	meta	P	54	54
			M	7	6
		para	P	54	50
			M	21	21
	OH	meta	P	54	43
			M	-36	-25
		para	P	54	42
			M	-108	-71
mNH ₂	COOH	meta	P	48	48
			M	6	5
		para	P	48	46
			M	18	15
	mCH ₃	meta	P	8	1
			M	1	1
		para	P	8	6
			M	3	3
	OH	meta	P	21	17
			M	-14	-10
		para	P	21	15
			M	-42	-36
	mCl	meta	P	5	1
			M	-14	-10
		para	P	5	1
			M	-42	-38
COOH	NH ₂	meta	P	19	18
			M	2	2
		para	P	19	6
			M	6	8

Diferențele care apar între valorile obținute în cazul celor două serii sunt datorate probabil mecanismelor diferite de propagare ale efectelor prin sistemul conjugat de la substituent la centrul de reacție, constantele p ale acestora fiind diferite.

CONCLUZII

Din rezultatele prezentate se constată că potențialul de semiundă al unei combinații organice este puternic influențat de structura ei chimică, adică de acțiunea substituentului asupra centrului polarografic activ și de poziție (meta sau para) pe care el o ocupă în nucleul aromatic.

Influența unei grupări poate fi redată prin constantele de substituent σ (valorile Hammett) iar valoarea oricărei astfel de constante este dependentă de efectul polar și de rezonanță al acesteia.

S-au separat componenții de câmp (polar) și de rezonanță din efectul global al substituentului asupra potențialului de semiundă.

BIBLIOGRAFIE

1. SUCIU G – Teză de doctorat: *Studiul polarografic al reacției unor nitroderivați aromatici ai aldehidei prin formare de nitroni*, 1979, Universitatea Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca.
2. SUCIU G, TÖKES B – *Polarografia nitronelor I, Stabilirea condițiilor optime de lucru, Analiza polarografică a nitronelor*, 2002, Revista de Medicină și Farmacie – Orvosi és Gyógyszerészeti Szemle, 48:
3. SUCIU G, TÖKES G – *Polarografia nitronelor II, Dependența de temperatură și influența stratului dublu electric în polarografia nitronelor*, 2002, Revista de Medicină și Farmacie – Orvosi és Gyógyszerészeti Szemle, 48:
4. SWAIN CG, LUPTON EC jr – *Field and rezonance components of the substituent Effects*, J Amer Chem Soc, 1968, 90:4328-37
5. TAFT RW – *Steric effect in organic chemistry*, ed Newmon, John Willey and sons, INC New-York, 1956, 587/615
6. TÖKES B, SUCIU G, NAGY G – *Interdependent chemical-electrochemical steps in retrometabolism-based drug and safer chemical design*, Pharmazie, 2002, 57:122-126.
7. Zuman P – *Substituent effects in organic Polarography*, Plenum Press, New-York, 1967.



Modelarea computerizată a unor interneuroni din hipocampusul de șobolan

T. Szilágyi¹, Z. Lőrinczi²

Prin modele computerizate bazate pe determinări experimentale se poate studia comportamentul sistemelor complexe, se pot măsura parametrii care sunt inaccesibili metodelor experimentale directe. În lucrarea de față sunt prezentate rezultatele modelării proprietăților intrinsece ale interneuronilor din stratul piramidal al regiunii CA1 al hipocampusului de șobolan și analiza intrării excitatoare unitare primite de aceste celule de la neuronii piramidali din regiunea CA3.

Cuvinte cheie: sistem nervos central, electrofiziologie, modele, simulare pe calculator

Computer models based on experimental results can be used to study the behavior of complex systems and to estimate parameters which are inaccessible for direct experimental measurements. In this article, there are presented results of the modelling of intrinsic properties of pyramidal layer interneurons from CA1 region of the rat hippocampus and the analysis of unitary excitatory input received by these cells from CA3 pyramidal cells.

Key words: central nervous system, electrophysiology, models, computer simulation

Înregistrarea intracelulară dublă, prin inserarea unor microelectrozi în două celule, permite înregistrarea proprietăților intrinsece ale neuronilor precum și evaluarea interacțiunii sinaptice dintre cele două celule. Dacă celulele sunt marcate cu o substanță care ulterior poate fi evidențiat imunohistochimic, joncțiunile sinaptice pot fi identificate prin microscopie optică și electronică combinată.

Utilizând metoda "in computo"¹, prin modele computerizate bazate pe determinări experimentale se poate studia comportamentul sistemelor complexe, se pot măsura parametrii care sunt inaccesibili metodelor experimentale directe. În lucrarea de față vor fi prezentate rezultatele modelării proprietăților intrinsece ale interneuronilor din stratul piramidal al regiunii CA1 al hipocampusului de șobolan și analiza intrării excitatoare unitare primite de aceste celule de la neuronii piramidali din regiunea CA3.

MATERIAL ȘI METODĂ

Conducerea laboratorului MRC Anatomical Neuropharmacology Unit, Oxford a permis utilizarea datelor fiziologice și morfologice obținute prin înregistrări duble *in vitro* cu microelectrozi ascuțiți umpluți cu biocitină din felii horizontale din hipocampus de șobolan² în scopul modelării computerizate a fenomenelor studiate experimental. Prelucrarea histologică și vizualizarea celulelor încărcate cu biocitină s-a făcut conform metodelor descrise în literatură.^{3,15} Arborizația dendritică a interneuronilor lisodendritici a fost reconstruită cu sistemul microscopic computerizat Neurolucida (Microbrightfield, USA). Datele folosite provin din experimente la care un electrod a fost inserat într-un interneuron din stratul piramidal al regiunii CA1, iar electrodul celălalt într-o celulă piramidală din regiunea CA3.

În acest studiu au fost incluse numai acele perechi de celule la care s-a demonstrat existența contactului sinaptic excitator de la celula piramidală la interneuron și la care caracterizarea morfologică și fiziologică a celulelor a fost completă.

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

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

Adresa pentru corespondență: Dr. Szilágyi Tibor, Disciplina de Fiziologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș, Str. Gh. Marinescu nr. 38, 4300 Tg. Mureș, email: szilagyi@umftgm.ro

Descrierea tridimensională detaliată a morfologiei dendritice și somatice a celulelor înregistrate a fost înglobată în modele compartimentale implementate în GENESIS (GEneral NEural SIMulation System).¹ Membrana celulară a fost considerată pasivă. Axonul, care într-un model pasiv reprezintă doar o scurgere minoră de curent, a fost omis. Matricea care cuprinde ecuațiile diferențiale pentru fiecare compartiment a fost implementată cu ajutorul obiectului *hsolve* din GENESIS, pe baza metodei introduse de Michael Hines în programul de simulare Neuron.¹

Intrarea sinaptică a fost modelată printr-o schimbare de conductanță (g_{sin}) descrisă de două funcții exponențiale, prima (τ_1) determinând rata ascensiunii, iar a doua (τ_2), rata descreșterii:

$$g_{\text{sin}}(t) = \frac{Ag_{\text{max}}}{\tau_1 - \tau_2} (e^{-t/\tau_1} - e^{-t/\tau_2})$$

unde A este o constantă de normalizare care asigură ca g_{sin} să atingă valoarea maximă g_{max} .¹ Din punct de vedere electrofiziologic, potențialul de inversare a potențialelor postsinaptice excitatoare a fost luat 0 mV dar deoarece în simulări potențialul de repaus a fost considerat zero, potențialul de inversare al EPSPurilor a fost valoarea opusă a potențialului de repaus ($-V_m$).

S-a efectuat căutare sistematică de parametri pentru: rezistența specifică a membranei dendritice și somatice (RM_d respectiv RM_s), capacitatea specifică a membranei celulare (CM) și rezistența specifică a citoplasmei (RA, rezistența axială). Simulările au fost repetate pentru toate combinațiile dintre RM_d , CM și RA într-un domeniu fiziologic plauzibil. Rezistența membranei somatice a fost reglată așa încât rezistența de intrare a celulei simulate să fie egală cu valoarea măsurată experimental. Acceptarea sau neacceptarea fiecărei combinații de parametri s-a făcut pe baza calității cu care traseul simulat s-a racordat la faza de descreștere a răspunsului celulei la un impuls de curent hiperpolarizant. Pe baza tuturor încercărilor, în fiecare moment al traseului experimental digitizat, s-a calculat eroarea standard. Pe linia de bază, înaintea impulsului de curent, s-a determinat banda de confidență care a cuprins 95% din încercări. Prin aceasta s-a estimat zgomotul (tehnic și biologic) de înregistrare, care de obicei a fost între 3 - 5 erori standard (Figura 2). Același nivel de eroare acceptată s-a utilizat și la faza de descreștere. Dacă traseul simulat a deviat mai mult de la traseul mediu experimental decât acest nivel, atunci deviația este neverosimil să fi apărut întâmplător (<5%); probabil că parametrii testați au fost incompatibili cu datele experimentale, deci au fost respinși.¹¹ Au fost utilizate două variante ale acestei metode: (i) parametrii au fost acceptați dacă traseul simulat s-a situat în întregime în banda de confidență (nici un punct nu a ieșit), (ii) valorile au fost acceptate dacă într-o perioadă de 20 sau 40 ms suma deviațiilor a

fost sub suma erorii acceptate pentru fiecare punct. Pentru evitarea erorilor legate de artefactul capacitiv de la sfârșitul impulsului de curent, racordarea a fost efectuată începând cu 1 ms după terminarea impulsului.

REZULTATE

Trei perechi de celule au avut caracterizare fiziologică și anatomică completă. În fiecare caz efectul sinaptic a fost mediat printr-o singură joncțiune sinaptică, verificată prin microscopie electronică. După profilul eferent al țintelor sinaptice, celulele au fost clasificate ca: o celulă axo-axonică (CAA)¹³ și două celule cu coșulețe (CC1 și CC2). Umplerea dendritelor cu biocitină a fost completă la cei trei interneuroni, făcând posibilă reconstrucția lor anatomică satisfăcătoare (Figura 1).

Potențialul de repaus al celulelor CAA, CC1 respectiv CC2 a fost de -59, -64, respectiv -65 mV. Rezistența de intrare a fost: 63.5, 47.6, respectiv 30.9 MΩ. Constanta de timp a membranei a fost de 5.9, 9.0, respectiv 9.8 ms. La celula axo-axonică, funcția exponențială simplă nu a descris satisfăcător descreșterea potențialului de membrană după impulsul de curent hiperpolarizant. Partea finală a descreșterii a avut constanta de timp de 14.2 ms, iar partea inițială de 3.5 ms; ponderea celor două componente a fost 1.9 : 6.1.

Datele experimentale nu au putut fi reproduse, nici măcar aproximativ, de modelele cu rezistență specifică membranală uniformă pe toată suprafața somato-dendritică. Dacă s-a luat în considerare un șunt somatic (explicabil prin leziunea cauzată de microelectrod), calitatea racordărilor s-a îmbunătățit semnificativ. Șuntul somatic a fost simulat prin rezistența specifică mai scăzută a membranei în corpul celular decât în dendrite. Pentru acomodarea rezultatelor experimentale, conductanța specifică a membranei celulare somatice a trebuit să fie crescută de 20 - 100 ori față de dendrite. Valoarea absolută a conductanței de scurgere somatică a fost calculată pe baza suprafeței corpului celular. În pofida variabilității mari a restului parametrilor, aici am găsit valori deosebit de stabile, scurgerea somatică variind între 10 - 25 nS pentru cele trei celule.

Raportul semnal / zgomot foarte bun și descreșterea potențialului de membrană caracterizată prin două funcții exponențiale la celula axo-axonică, au permis constrângerea setului de parametri în limite relativ restrânse. La această celulă fost posibil ca spațiul parametrilor acceptabili să fie complet delimitat. Limitele parametrilor individuali nu sunt relevante, fiindcă numai anumite combinații au fost acceptate. Tendința generală a fost ca valorile scăzute ale capacității specifice ale membranei să fie asociate cu valori mai mari ale rezistenței specifice ale membranei și/sau ale citoplasmei. Interrelația exactă dintre parametrii compatibili cu datele experimentale se poate citi din figura 3.

La celelalte două celule raportul semnal/zgomot a fost mai slab. Datele experimentale au putut fi reproduse cu ajutorul modelelor bazate pe reconstrucția detaliată a celulelor, dar analiza deviațiilor traseelor simulate de cele experimentale nu a permis delimitarea completă a spațiului de parametri. Căutarea sistematică a fost abandonată la limitele care au părut imposibile pe baza rezultatelor din literatură. La celula cu coșulețe CC1 rezistența specifică axială acceptată a fost 200-500 Ωcm (testat 50-500 Ωcm), capacitatea specifică a membranei 0.4-0.9 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ (testat 0.4-1.4 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$), rezistența specifică a membranei dendritice a trebuit să fie acceptată în tot domeniul testat (20-180 $\text{k}\Omega\text{cm}^2$). La celula CC2 rezistența specifică axială acceptată a fost 240-400 Ωcm (testat 50-400 Ωcm), capacitatea specifică a membranei 0.8-1.1 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$ (testat 0.5-1.1 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$), rezistența specifică a membranei dendritice 30-110 $\text{k}\Omega\text{cm}^2$ (testat 10-110 $\text{k}\Omega\text{cm}^2$).

După identificarea parametrilor compatibili cu datele experimentale, fiecare din aceștia a fost studiat pentru determinarea sensibilității modelului. Rezistența de intrare a fost foarte sensibilă la conductanța de scurgere din corpul celular și la modificarea diametrului dendritic. Modificarea diametrului fiecărui segment dendritic cu o valoare egală cu rezoluția sistemului de reconstrucție morfologică Neurolucida a cauzat o modificare comparabilă cu dublarea sau înjumătățirea rezistenței specifice a citoplasmei sau a membranei dendritice.

În cadrul experimentelor din Oxford, în celula piramidală presinaptică din regiunea CA3 a hipocampului au fost declanșate potențiale de acțiune prin injectare de curent depolarizant. La rândul lor, acestea au provocat potențiale postsinaptice excitatoare în interneuronii înregistrați în stratul piramidal al regiunii CA1. Datele experimentale au arătat un raport semnal /zgomot suficient de bun ca să fie folosite în scopuri de modelare computerizată numai la celula axo-axonice. Amplitudinea medie a potențialelor postsinaptice a fost de 0.48 mV, timpul de ascensiune 10-90% a fost de 0.93 ms; durata la jumătate din amplitudinea maximă: 4.21 ms; constanta de timp a descreșterii: 3.5 ms; distanța tridimensională de-a lungul dendritelor până la joncțiunea sinaptică identificată prin microscopie optică și electronică combinată a fost de 32.3 μm .

Faza de descreștere a potențialului postsinaptic și a răspunsului celulei la impuls de curent hiperpolarizant a avut constantă de timp foarte apropiată, sugerând că această fază a fost determinată în ambele situații experimentale de proprietățile intrinseci ale celulei.

Simulările au arătat că faza inițială a potențialului postsinaptic excitator este foarte mult afectată de proprietățile cinetice ale conductanței sinaptice. Deși căutarea de parametri și optimizarea racordării s-a efectuat manual, combinat cu inspecția vizuală a traseelor, rezultatele simulate cele mai apropiate de cele experimentale au fost obținute utilizând curent sinaptic

cu $\tau_{\text{ascensiune}}$ între 400 - 500 μs și $\tau_{\text{descreștere}}$ între 600-800 μs . Simulările au confirmat că faza tardivă a descreșterii potențialului postsinaptic nu a fost influențată de caracteristicile curentului sinaptic, ci de proprietățile intrinsece ale celulei postsinaptice. În faza tardivă a potențialului postsinaptic înregistrat experimental s-a găsit o ușoară depolarizare, care nu a putut fi reprodusă de modelul pasiv care a conținut doar un singur tip de curent sinaptic (Figura 4). Nu au fost efectuate simulări cu mai mulți curenți sinaptici, fiindcă aceasta ar fi mărit gradul de libertate al sistemului și ar fi făcut imposibilă restrângerea spațiului de parametri la un domeniu limitat.

Amplitudinea potențialului postsinaptic simulat a fost proporțională cu sarcina electrică injectată. Conductanța sinaptică maximă (de vârf) a fost estimată la aproximativ 0.5 nS.

Deși sinapsa a fost aproape de corpul celular (32.3 μm), deflexiunea de voltaj în somă a fost doar de 62% din potențialul postsinaptic găsit la locul sinapsei. Repetând simulările cu rezistență specifică membranară somato-dendritică uniformă (fără șunt somatic), deflexiunea de voltaj din corpul celular a crescut la 75%.

DISCUȚII ȘI CONCLUZII

În această lucrare au fost căutate criterii obiective pe baza cărora parametrii modelelor neuronale au putut fi restrânși la intervale cât mai înguste. Studiul a fost efectuat pe interneuronii din stratul piramidal al regiunii CA1 a hipocampului de șobolan, care primesc aferență excitatoare printr-un singur contact sinaptic de la o celulă piramidală din regiunea CA3.

La tipul de celulă nervoasă studiată cei mai importanți parametri estimați au fost: capacitatea specifică a membranei (CM) între 0.68 - 0.72 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$, rezistența specifică a membranei (RM) între 40 - 60 $\text{k}\Omega\text{cm}^2$, rezistența specifică a citoplasmei (RA) între 300 - 400 Ωcm .

Măsurarea directă a capacității specifice a membranei în terminații nervoase hipofizare sferice izolate¹² indică $0.76 \pm 0.05 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, valoare deosebit de apropiată de estimările noastre. Un studiu mai nou⁶ utilizând petec nucleat și "voltage-clamp" la membrana somatică a neuronilor piramidali din neocortex, neuroni din măduva spinării și hipocamp, a determinat CM de 0.9 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$. În contrast, la unele celule din cornul anterior al măduvei spinării la șobolan, CM a fost estimat la $2.4 \pm 0.5 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, ceea ce ar impune o atenuare accentuată a potențialelor postsinaptice rapide și o alterare marcată a capacității de integrare a acestor celule.¹⁷

Rezistența specifică a membranei celulare a fost estimată la¹⁶ 7-66 $\text{k}\Omega\text{cm}^2$, respectiv⁴ $61.9 \pm 34.2 \text{k}\Omega\text{cm}^2$. În contrast, experimentele lui Thurbon pe măduva spinării¹⁷ indică valori diferite și la acest parametru: $5.3 \pm 0.9 \text{k}\Omega\text{cm}^2$. Activitatea de fond poate modifica semnificativ rezistența specifică a membranei.⁹

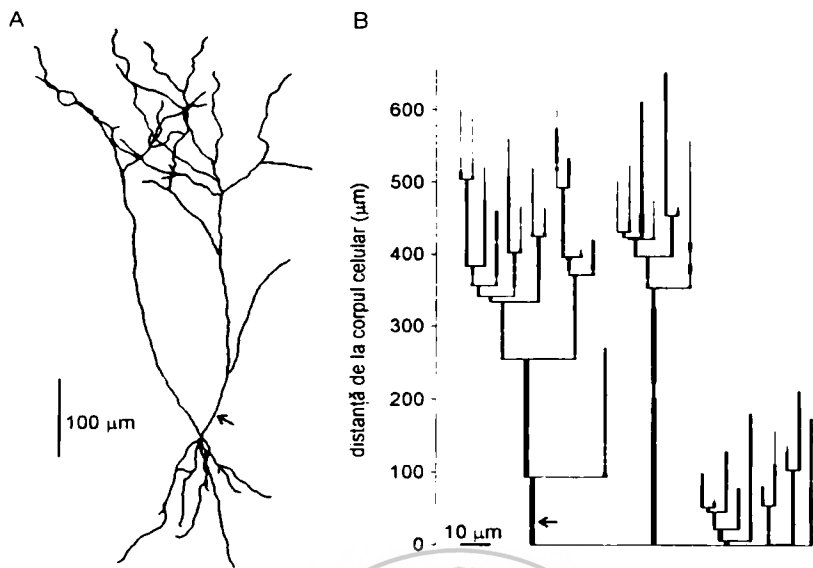


Figura 1 Reconstrucția morfologică a celulei axo-axonice (CAA). A: proiecția în plan x-y a structurii tridimensionale. Corpul celular nu a fost reprezentat. Diametrul dendritelor nu a fost redat, acestea fiind desenate cu linie cu grosime uniformă. B: dendrograma celulei, bara orizontală de calibrare se referă la diametrul dendritelor. Pe ambele părți (A și B), sageata indică locul contactului sinaptic dintre interneuron și axonul celulei piramidale. Aceasta s-a aflat la 32 μm de la corpul celular.

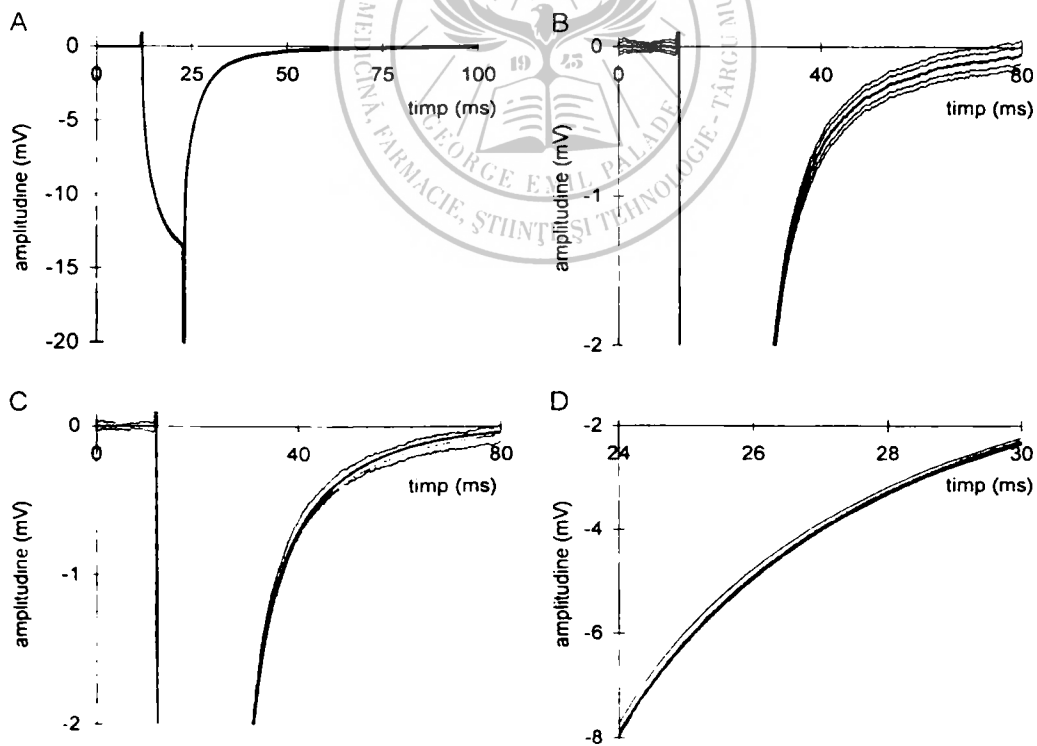


Figura 2. Determinarea setului de parametri ai modelului compatibili cu datele experimentale. A: răspunsul celulei la un impuls de curent hiperpolarizant de 0.2 nA. Media calculată în fiecare moment este redată cu gri, liniile negre reprezintă media ± 3 și 5 erori standard. B: benzile de confidentă sunt sub rezoluția imprimantei în A; din acest motiv, o parte a figurii este redată încă o dată, cu rezoluția mai mare a modificărilor potențialului de membrană. C și D: două trasee simulate care se încadrează în limitele de confidentă de trei erori standard. În C se vede partea finală a descreșterii, în D partea inițială. Gri închis: $CM=0.72 \mu F/cm^2$, $RA=300 \Omega cm$, $RM_s=40 k\Omega cm^2$, $RM_p=0.94 k\Omega cm^2$, gri deschis: $CM=0.68 \mu F/cm^2$, $RA=350 \Omega cm$, $RM_s=60 k\Omega cm^2$, $RM_p=0.9 k\Omega cm^2$. Conductanța de scurgere somatică a fost de 10.6 respectiv 11.1 nS.

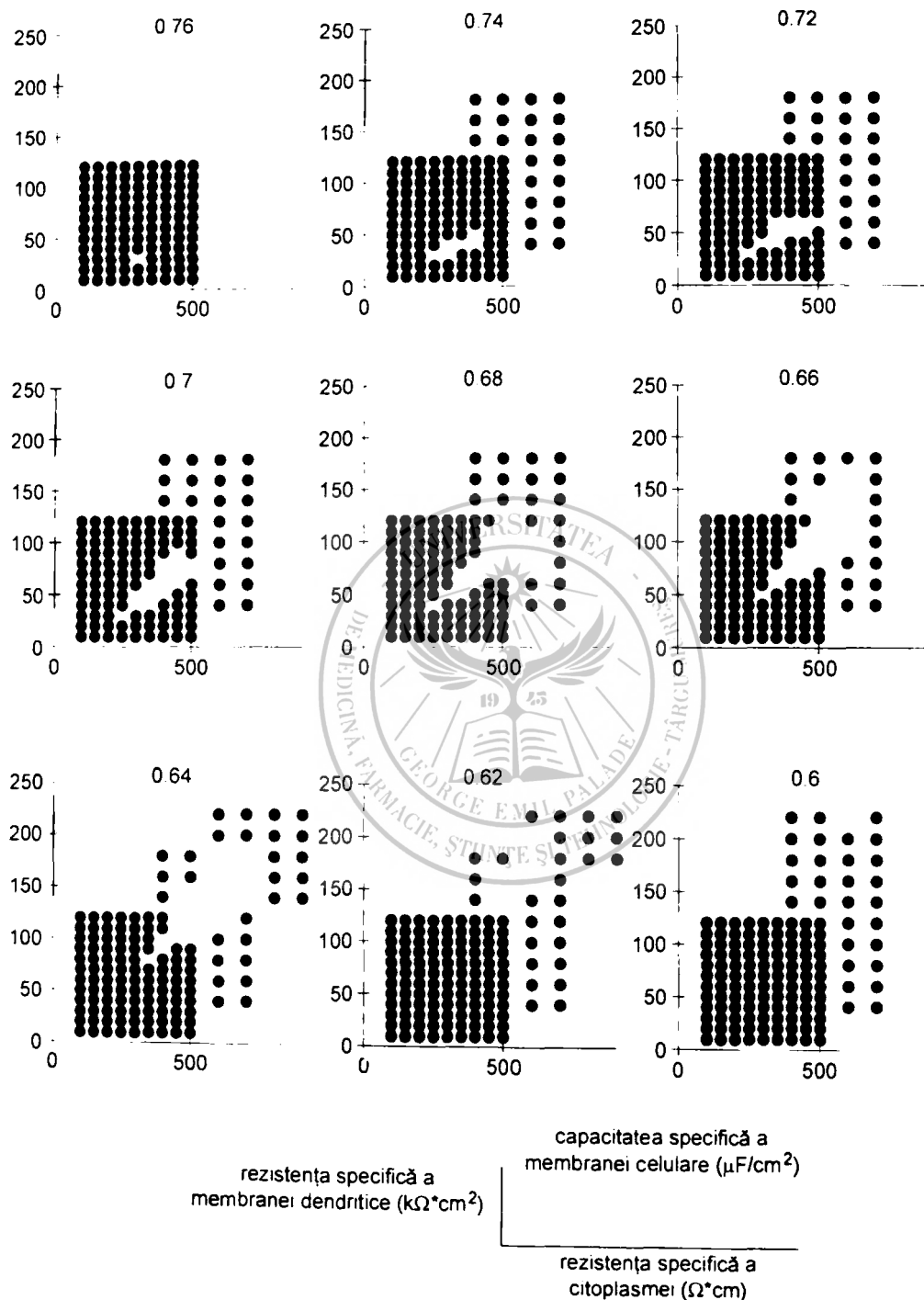


Figura 3 Rezultatele căutării sistematice de parametri compatibili cu datele experimentale. Fiecare punct reprezintă o simulare cu setul de parametri indicați conform desenului din partea inferioară a figurii. Punctele negre arată încercări cu set de parametri incompatibil cu rezultatele experimentale, la nivel de încredință de 5 erori standard. Acestea înconjoară o "gaură" albă, care reprezintă simulările cu parametri acceptați. Acest spațiu alb este înconjurat complet de puncte negre, deci nu există alte soluții acceptabile, dar netestate. Spațiul de parametri cercetați a fost tridimensional. Fiecare panou reprezintă o secțiune a acestui spațiu la nivelul capacității specifice a membranei indicate deasupra panoului

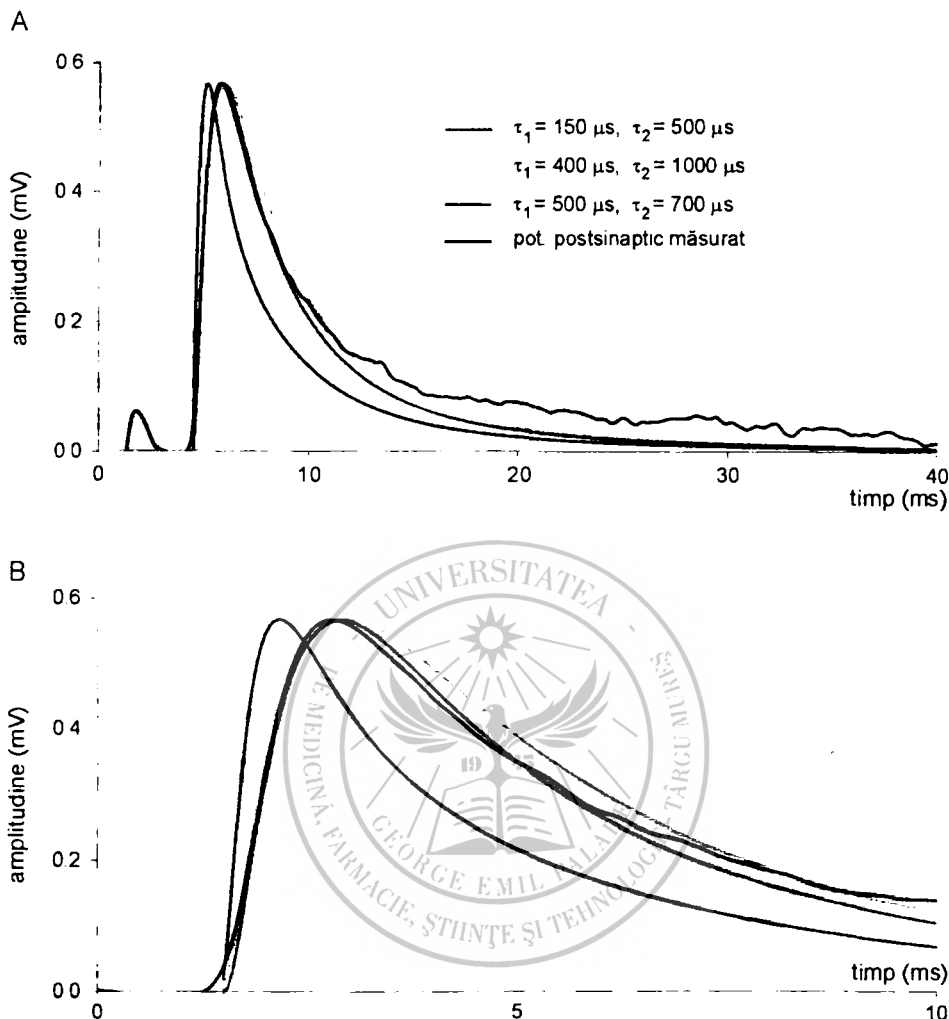


Figura 4. Modelarea răspunsului sinaptic. Traseul experimental este redat cu negru. Intrarea sinaptică a fost simulată (traseele gri) printr-o modificare de conductanță descrisă prin suma a două funcții exponențiale (τ_1 , determină faza de ascensiune, τ_2 , faza de descreștere). A: faza ascendentă și vârful potențialului postsinaptic au putut fi racordate numai folosind τ_1 de aproximativ 400 – 500 ms. Depolarizarea mică tardivă (>15 ms) nu a putut fi reproducă cu nici o combinație de constante de timp. B: aceleași trasee ca în A, dar cu rezoluție temporală mai mare.

Rezistența specifică a citoplasmei a fost estimată de diferiți autori la: 52–484 Ωcm la interneuronii din stratul piramidal al regiunii CA1 al hipocampusului, înregistrarea fiind realizată prin metoda "whole-cell".¹⁶ În cornul anterior al măduvei spinării la șobolan, prin înregistrare cu doi electrozi și modele compartimentale, RA a fost estimat la $87 \pm 22 \Omega\text{cm}$.¹⁷ Determinarea cea mai corectă până în prezent a fost efectuată de Stuart și Spruston, utilizând doi electrozi "whole-cell patch" înserați pe aceeași celulă. La celulele piramidale din stratul V din neocortex acești autori au estimat RA la 70–100 Ωcm .¹⁴ În comparație, valorile estimate de noi

sunt mai mari sau se situează la limita superioară a celor indicate în literatură.

La toate cele trei celule rezistența specifică a membranei corpului celular a trebuit să fie mai mică de 20–100 ori decât cea a membranei dendritice. Probabil că această diferență nu se explică prin caracteristici diferite ale membranei la cele două locuri, ci prin scurgerea de curent prin leziunea creată de microelectrod. Această ipoteză este suportată și de observațiile lui Thurbon și colab.¹⁶ Acceptând presupunerea de mai sus, simulările noastre arată că în condițiile utilizate de rutină în experimentele

intracelulare *in vitro* cu microelectrozi ascuțiți, la penetrarea electrodului în corpul celular se produce o leziune cu conductanța aproximativă de 10 – 25 nS.

Modelul a fost foarte sensibil la diametrul segmentelor dendritice. Rezoluția sistemului de reconstrucție morfologică Neurolucida 3.0 este de 0.44 μm. Imposibilitatea măsurării cu precizie mai mare a diametrelor, introduce o eroare comparabilă cu dublarea sau înjumătățirea rezistenței specifice a citoplasmei sau a membranei dendritice. Din acest motiv, la implementarea modelelor realiste de mare fidelitate, ar fi recomandabil ca reconstrucția morfologică prin microscopie optică computerizată să fie completată cu verificarea electronmicroscopică a diametrului dendritelor.

Măsurarea experimentală directă a conductanței sinaptice este extrem de dificilă din cauza filtrării dendritice și a asincronismului dintre terminațiile sinaptice, chiar dacă acestea provin de la un singur neuron presinaptic. Datele experimentale disponibile sunt unice deci în sensul că efectul sinaptic este mediat printr-o singură joncțiune sinaptică și reconstrucția morfologică completă a celulei postsinaptice permite evaluarea filtrării dendritice. Conductanța sinaptică maximă estimată prin simulările noastre a fost de 0.5 nS. Constanta de timp a fazei ascendente a fost evaluată la 0.4–0.5 ms, iar constanta de timp a descreșterii la 0.6–0.8 ms. Date obținute prin măsurarea curenților postsinaptici excitatori spontani în neuroni nepiramidali corticali de șobolan în cultură de celule indică constanta de timp a fazei ascendente de 0.2–0.8 ms și constanta de timp a fazei de descreștere de 1.3–2 ms.¹⁰ Aceste experimente au fost conduse la 23–25 °C, experimentele noastre însă la 32–35 °C, ceea ce ar putea explica faza de descreștere puțin mai rapidă găsită de noi.

Deși contactul sinaptic la celula axo-axonică studiată a fost aproape de corpul celular (32.3 μm), simulările arată că în corpul celular s-a măsurat numai 62% din amplitudinea potențialului postsinaptic produs la locul sinapsei. S-a mai încercat modelarea situației naturale, când nu există leziunea microelectrodului în corpul celular, potențialul postsinaptic a fost atenuat la 75% din valoarea originală. Aceste rezultate sugerează că interneuronii studiați, excitați prin modificări rapide ale conductanței sinaptice, în contrast cu celulele piramidale, nu sunt electrotonic compacți.

BIBLIOGRAFIE

1. BOWER J M, BEEMAN D - *The Book of GENESIS - exploring realistic neural models with the General Neural Simulation System*, Springer - TELOS, 1998.
2. BUHL EH, COBB SR, HALASY K et al. - *Properties of unitary IPSPs evoked by anatomically identified basket cells in the rat hippocampus*, Eur J Neurosci, 1995, 7:1989-2004.
3. BUHL EH, HALASY K, SOMOGYI P - *Diverse sources of hippocampal unitary inhibitory postsynaptic potentials and the number of synaptic release sites*, Nature, 1994, 368:823-828.
4. CHITWOOD RA, HUBBARD A, JAFFE DB - *Passive electrotonic properties of rat hippocampal CA3 interneurons*, J Physiol (Lond), 1999, 515:743-56.
5. DE SCHUTTER E - *Modelling the cerebellar Purkinje cell: experiments in computo*, Prog Brain Res, 1994, 102:427-41.
6. GENTET LJ, STUART GJ, CLEMENTS JD - *Direct measurement of specific membrane capacitance in neurons*, Biophys J, 2000, 79:314-20.
7. HAUSER M, ROTH A - *Dendritic and somatic glutamate receptor channels in rat cerebellar Purkinje cells*, J Physiol (Lond), 1997, 501:77-95.
8. HINES ML, CARNEVALE NT - *The NEURON simulation environment*, Neural Comput, 1997, 9:1179-209.
9. HO N, DESTEXHE A - *Synaptic background activity enhances the responsiveness of neocortical pyramidal neurons*, J Neurophysiol, 2000, 84:1488-96.
10. KLEPPE IC, ROBINSON HP - *Determining the activation time course of synaptic AMPA receptors from openings of colocalized NMDA receptors*, Biophys J, 1999, 77:1418-27.
11. MAJOR G, LARKMAN AU, JONAS P et al. - *Detailed passive cable models of whole-cell recorded CA3 pyramidal neurons in rat hippocampal slices*, J Neurosci, 1994, 14:4613-4638.
12. ROSENBOOM H, LINDAU M - *Exo-endocytosis and closing of the fission pore during endocytosis in single pituitary nerve terminals internally perfused with high calcium concentrations*, Proc Natl Acad Sci U S A, 1994, 91:5267-71.
13. SOMOGYI P, NUNZI M G, GORIO A et al. - *A new type of specific interneuron in the monkey hippocampus forming synapses exclusively with the axon initial segments of pyramidal cells*, Brain Res, 1983, 259:137-142.
14. STUART G, SPRUSTON N - *Determinants of voltage attenuation in neocortical pyramidal neuron dendrites*, J Neurosci, 1998, 18:3501-10.
15. TAMÁS G, BUHL EH, SOMOGYI P - *Fast IPSPs elicited via multiple synaptic release sites by different types of GABAergic neurone in the cat visual cortex*, J Physiol, 1997, 500:715-38.
16. THURBON D, FIELD A, REDMAN S - *Electrotonic profiles of interneurons in stratum pyramidale of the CA1 region of rat hippocampus*, J Neurophysiol, 1994, 71:1948-58.
17. THURBON D, LUSCHER HR, HOFSTETTER T et al. - *Passive electrical properties of ventral horn neurons in rat spinal cord slices [corrected and republished with original paging, article originally printed in J Neurophysiol, 1998, 79:2485-502]*, J Neurophysiol, 1998, 80:2485-502.

Recomandări pentru autori

Revista de Medicină și Farmacie – Orvosi és Gyógyszertészeti 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, 4300 Târgu-Mureș, "pentru Revista de Medicină și Farmacie".

Un articol poate fi acceptat pentru publicare cu condiția ca acesta (sau părți din acesta) să nu fi fost anterior publicat decât în revizuit.

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 revizuit, 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 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 tabelor, 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 dintre cuvinte), fiind interzisă folosirea abrevierilor.

REZUMATUL va cuprinde maximum 200 cuvinte și se redactează în mod obligatoriu în limbile română și engleză. Rezumatul nu va conține tabele, figuri sau referințe bibliografice. Pe aceeași pagină vor fi menționate cel mult 4 cuvinte cheie sugestive pentru tematica articolului.

TEXTUL ARTICOLULUI va începe pe pagină separată, fără a fi precedat de titlu, fiind structurat în cazul articolelor originale sub următoarea formă: introducere, material și metodă, rezultate, concluzii și discuții.

Lungimea articolului va fi cuprinsă între 1000-2000 cuvinte pentru editoriale, 2500-4000 cuvinte pentru referate

generale, 1500-2500 cuvinte pentru articole originale și 1000-1500 cuvinte în cazul prezentărilor de caz.

Cu excepția unităților de măsură se recomandă evitarea abrevierilor; în situația în care acestea nu pot fi evitate, explicarea acestora se va face la prima mențiune în text.

TABELELE se redactează pe pagină separată și se numerotează cu cifre romane.

FIGURILE se redactează pe pagină separată și se numerotează cu cifre arabe; graficele vor fi executate fără fundal, în nuanțe alb/negru/gri.

Se acceptă o figură și un tabel la fiecare 400 cuvinte. Figurile și tabelele se citează în text în paranteze rotunde conform modelului: (Figura 1, Tabelul I), fiind specificată poziția acestora în text printr-un chenar în interiorul căruia se va înscrie numărul figurii sau al tabelului. Legenda figurilor sau tabelor 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 tabelor 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.

Editarea bibliografiei se va face respectând întotdeauna (tip de caractere, ordinea citărilor, semne de punctuație) următorul model:

-pentru articole se menționează: numele autorilor, titlul articolului, numele revistei, anul apariției, volumul, prima și ultima pagină.

Exemplu:

Chung DR, Yang WS, Kim SB et al – Treatment of hepatitis B virus associated glomerulonephritis with recombinant human alpha-interferon, Am J Nephrol, 1997, 17: 112-117

-pentru cărți se menționează: autorul capitolului, numele capitolului, editorul cărții, editura, anul apariției, prima și ultima pagină.

Exemplu:

Franz M – Monophasic action potential mapping, în 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). Fotografiile sunt acceptate în format *.jpg, *.tif, versiune grayscale. Graficele se vor efectua în Word for Windows 97, nu vor conține fundal, vor fi realizate în nuanțe de gri și se vor salva sub formă de document (*.doc). Tabelele vor fi redactate și salvate în formatul Word 97 (*.doc).

CONTROLUL MANUSCRISELOR

Nu mai manuscrisele care vor respecta indicațiile de mai sus vor fi examinate de Colegiul de redacție și Consiliul științific și trimise la referenți. Numai după includerea articolului într-un număr al revistei autorii vor primi o scrisoare prin care se certifică acceptarea articolului.

