

- perforator flap terminology: preliminary definitions. *Plast Reconstr Surg.* 2003;112(5):1378-1382.
9. Verega Gr. Lambourile insulare ale membrului pelvin. Chişinău: „Julian”, 2009;13, 40.
  10. Taylor Ian. The „Gent” consensus on perforator flap terminology: preliminary difinitions. *Plast Reconstr Surg.* 2003;112(5):1384-1387.
  11. Taylor GI. The blood supply of the skin. In S. J. Aston, R.W. Breasley and C.H.M. Thorne (Eds). *Grabb and Smith Plastic Surgery*, 5th edition Philadelphia:Lippincott-Raven, 1997:47-59.
  12. Taylor GI, Palmer JH, McManamny D. The vascular territories of the body (angiosomes) and their clinical application. In J. G. McCarthy (Ed). *Plastic Surgery*. Vol. I. Philadelphia: Saunders, 1990;329-378.
  13. Niranjana NS, Price RD, Govilkar P. Fascial feeder and perforator-based V-Y advancement flaps in the reconstruction of lower limb defects. *Br J Plast Surg.* 2000;53:679-689.
  14. Tolhurst DE. A comprehensive classification of flaps:The atomis system. *Plast Reconstr Surgery.* 1987;80:608.
  15. Tolhurst DE. Fasciocutaneous flaps and their use in reconstructive surgery. *Perspect Plast Surg.* 1990;4:129.
  16. Fu-chan Wei, Vivek Jain. Confusion among perforator flaps: What is a true perforator flap? *Plast Reconstr Surg.* 2001;107(3):874-876.
  17. Giunta R, Geisweid A. Defining perforator flaps: What is really perforated? *Plast Reconstr Surg.* 2002;109 (4):1460-1461.
  18. Putz R. Personal communication, Head of the Institute of Anatomy, Ludwig-Maximilians University Munich, Germany, 2001.
  19. Saint-cyr Michel, Shaverien MV, Rohrich R. Perforator flaps: History, Controversies, physiology, anatomy and use in reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 2009;123(4):132e-145e.
  20. Jeong Tae Kim. New nomenclature concept of perforator flap. *Br J Plastic Surg.* 2005;58:431-440.
  21. Sharma K. The perforator „plus” flap: a simple nomenclature for locoregional perforator-based flaps. *Plast Reconstr Surg.* 2005;116(6):1838-1839.
  22. Blondeel PN, Koenraad VL, Hamdi M, et al. Perforator flap terminology: Update 2002. *Clinic Plast Surg.* 2003;30:343.

*Corresponding author*

**Feghiu Leonid**, Doctoral Student

Department of Orthopedics and Trauma

Nicolae Testemitanu State Medical and Pharmaceutical University

190, Stefan cel Mare Avenue

Chisinau, Republic of Moldova

Telephone: 295447

Manuscript received October 21, 2010; revised manuscript

February 01, 2011

## Particularitățile formelor clinice și posibilitățile de diagnostic al bolii Wilson în Republica Moldova

N. Mocanu, V. Sacară, St. Groppa

Centrul Național de Sănătate a Reproducerii și Genetică Medicală, Chişinău

### **Peculiarity of Clinical Forms and Diagnostic Methods of Wilson's Disease in the Republic of Moldova**

Wilson's disease (WD) is an autosomal recessive disorder of copper transport caused by a defect in the ATP7B gene. The disorder manifests as chronic liver disease and/or neurological impairment due to accumulation of copper in several tissues, principally in the liver and brain. The aim of the study was to evaluate the clinical forms and diagnostic methods of WD. We analyzed 35 Moldovan patients with WD. The diagnosis was established in any patients with unexplained liver disease along with neurological or neuropsychiatric disorder, presenting of Kayser-Fleischer rings, low serum ceruloplasmin level, the amount of copper excreted in the urine in a 24-hour period. Functional hepatic tests and others date of laboratory was obtained with standard methods. Initial clinical manifestation were hepatic in 10 (28.6%) patients, 19 (54.3%) were with neurological disorder, 6 (17.1%) patients presented mix hepatic and neuropsychiatric disturbance. Only in 2 (5.7%) patients the initial clinical manifestation was with psychiatric disturbance. Of the patients with neurological and mix disorder, 10 (40%) were with moderate liver disorder and only 5 (20%) with chronic liver disease. The neurological function was categorized as severe in 11 (44%) cases and moderate in 13 (52%) patients. Of the Moldovan patients, 71% have mix hepatic and neuropsychiatric forms with predomination of neurological disturbance average of 20 years. The difficulty in family screening could be solved with access to molecular diagnosis.

**Key words:** Wilson disease, ATP7B gene, autosomal recessive, ceruloplasmin.

### **Особенности клинических форм и возможности диагностики болезни Вильсона в Республике Молдова**

Болезнь Вильсона (БВ) представляет собой аутосомно-рецессивное заболевание, связанное с нарушением транспорта меди, вызванное повреждением гена ATP7B. Клинические проявления заболевания являются результатом аккумуляции меди в различных органах и тканях, в основном в печени, головном мозге, роговице глаза и почках. Этим определяется многообразие клинических проявлений, а следовательно, и трудности ее диагностики. Мы обследовали 35 пациентов. Диагноз был поставлен всем пациентам с необъяснимыми печеночными нарушениями в комбинации с неврологическими и/или психическими изменениями, наличием кольца Кайзера-Флейшера, низким уровнем церулоплазмينا в сыворотке крови, повышенной экскрецией меди в моче в течение 24 часов. Был проведен анализ клинических форм наиболее часто встречающихся на территории Молдовы и методов диагностики, позволяющих наиболее точно и вовремя установить диагноз. Установлено, что у 71% пациентов с БВ преобладают неврологические изменения в возрасте около 20 лет, что связано с поздней диагностикой. Трудности семейного скрининга могут быть разрешены с помощью молекулярной диагностики.

**Ключевые слова:** Болезнь Вильсона, ген ATP7B, аутосомно-рецессивный тип наследования, церулоплазмин.

### Introducere

Degenerarea hepatolenticulară, cunoscută și ca boala Wilson (BW), este o maladie genetică autosomal-recisivă, care constă în dereglarea metabolismului cuprului, soldată cu acumularea acestuia în organele vitale. BW poate fi fatală dacă nu este detectată și tratată înaintea apariției unor tulburări serioase, rezultate în urma intoxicației cu cupru. Incidența bolii variază între 1/5000 și 1/30000 în funcție de grupurile etnice [1]. Se admite în general o incidență de aproximativ 1/20000 de nou-născuți, corespunzând la o frecvență de purtători heterozigoți de 1/96 în populația de origine europeană [2].

În anul 1993 a fost identificată și elucidată structura genei bolii Wilson. Gena responsabilă de această boală este localizată pe cromozomul 13 și se numește ATP7B. Până în prezent au fost stabilite aproximativ 260 de mutații individuale la pacienții cu BW, fenomen care explică heterogenitatea clinică a bolii, dar oricum a fost dificil de elaborat un screening-test pentru această maladie. Unele cazuri de BW apar ca urmare a mutației spontane în genă [3]. La 38% de pacienți cu BW din Europa, America de Nord, Suedia a fost depistată mutația His1069Glu [2, 3].

Sub aspect clinic, boala se caracterizează prin manifestări hepatice, neurologice legate de acumularea cuprului în ficat, nucleul lenticular și prin inelul Kayzer-Fleischer.

Stabilirea diagnosticului de BW este posibilă în cazul prezenței următoarelor simptome clinice și de laborator: semne tipice hepatice și/sau neurologice, inelul Kayzer-Fleischer, concentrația redusă a ceruloplasminei serice și sporirea excreției urinare a cuprului [4].

În populația Republicii Moldova, unde endemic se întâlnește frecvent hepatita, diagnosticarea timpurie a BW este foarte importantă, în special ținând cont de faptul, că primele simptome neurologice apar nu mai devreme de vârsta de 18-20 de ani și că boală afectează primordial ficatul, iar întârzierea tratamentului poate avea urmări foarte grave. Investigațiile biochimice și clinice au anumite neajunsuri și nu sunt suficiente pentru stabilirea diagnosticului BW. Metoda molecular-genetică permite determinarea alelelor mutante și localizarea mutațiilor în genă. Metoda dată contribuie la studierea nivelului de răspândire și a incidenței BW în populație și reprezintă una dintre cele mai informative și mai practice abordări ale investigării epidemiologiei genetice a bolilor ereditare [5]. În anumite familii, dacă mutația este exact identificată, diagnosticul genetic este posibil după testul haplotipic, care permite testarea urmașilor fără simptomele clinice ale bolii pentru aplicarea tratamentului la timp.

Grație succeselor geneticii moleculare, în prezent testul ADN devine una dintre cele mai importante metode ale diagnosticului de laborator, aplicată și în Republica Moldova.

**Scopul** acestui studiu a fost evaluarea particularităților formelor clinice și aprecierea posibilităților diagnostice, inclusiv și a metodei molecular-genetice în BW.

### Material și metode

În cadrul studiului au fost investigați cei 35 de pacienți cu BW și membrii familiilor lor, dintre care 16 femei (45,7%) și 19 bărbați (54,2%). Vârsta pacienților a variat de la 14 până

la 48 de ani, în medie constituind 22 de ani. Aceștia au fost înregistrați și tratați în Centrul Național de Sănătate a Reprodusei și Genetică Medicală timp de 6 ani (2004-2010).

Criteriile de bază în stabilirea diagnosticului BW au fost prezența dereglărilor hepatice și/sau neurologice, caracteristice pentru BW, prezența inelului Kayzer-Fleischer, concentrația serică micșorată a ceruloplasminei și excreția majorată a cuprului.

Toți pacienții au fost supuși următoarelor investigații: analiza generală a sângelui, analiza biochimică a sângelui, analiza generală a urinei, concentrația ceruloplasminei serice, nivelul cuprului în sânge și nivelul cuprului în urină, consultul oftalmologic pentru depistarea inelului Kayzer-Fleischer, USG organelor abdominale și tomografia computerizată sau rezonanța magnetică nucleară cerebrală.

Testele hepatice funcționale și alte date rutinare de laborator au fost obținute, folosind metodele standard.

În diagnosticul molecular-genetic noi am efectuat cercetări a doi exoni ai genei ATP7B (exonii 14 și 15) prin metoda polimorfismului conformativ al moleculei ADN (SSCP). Diagnosticul molecular-genetic a fost efectuat pe mostrele ADN, extrase din leucocitele sângelui periferic. Reacția polimerizării în lanț (PCR) s-a realizat cu ajutorul termociclului programat PHC-1A (Marea Britanie). Praimerii oligonucleotidici au fost sintetizați la Academia de Științe Medicale din Rusia, Moscova. În familiile cu mutații în gena ATP7B cercetarea s-a efectuat prin metoda analizei-SSCP. Cu scopul sporirii eficienței depistării mutațiilor, folosind modificările metodei date, a fost efectuată analiza-SSCP paralelă în aceleași fragmente, cu aplicarea denaturării bazice și regimului temperaturii, efectuarea electroforezei în GPAA în prezența sau absența glicerinei de 5%, efectuarea electroforezei în GPAA la temperatura camerei.

### Rezultate

În Centrul Național de Sănătate a Reprodusei și Genetică Medicală au fost diagnosticați 35 de pacienți cu boala Wilson. Doar la 7 (20%) dintre pacienți diagnosticul a fost stabilit în primele 6 luni de la apariția simptomelor clinice majore ale bolii. În restul cazurilor diagnosticul corect a fost stabilit tardiv: de la 1 la 5 ani - la 8 (22,9%) pacienți, de la 5 la 10 ani - la 14 (40%) pacienți, de la 10 la 15 ani - la 6 (17,1%) pacienți.

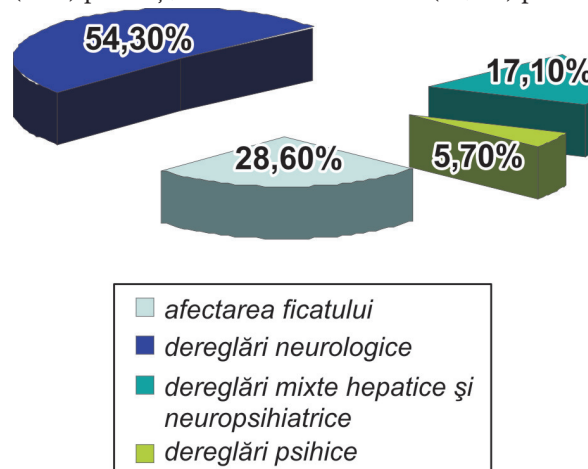
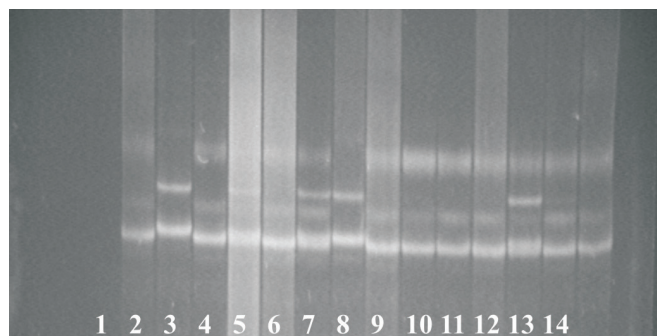


Fig. 1. Manifestări clinice inițiale.



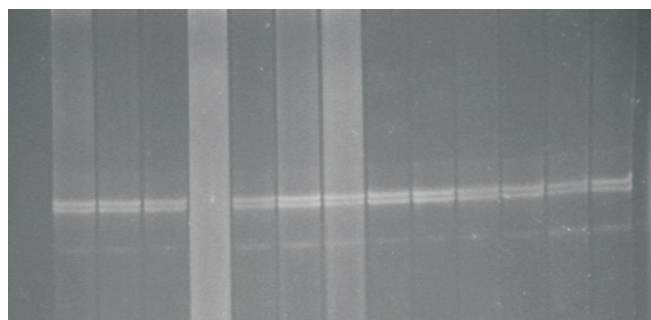
**Fig. 2. Electroforegramele exonului 14. Linia 2 și 7 – stare homozigotă, liniile 4, 6, 12 – stare heterozigotă a alelelor mutante.**

Afectarea ficatului ca manifestare clinică inițială a fost prezentă la 10 (28,6%) pacienți, 19 (54,3%) pacienți au avut dereglări neurologice, 6 (17,1%) – dereglări mixte hepatice și neuropsihiatrice (fig. 1). Numai la 2 (5,7%) pacienți boala a debutat clinic cu dereglări psihice. La 71% pacienți cu BW predomină schimbările neurologice. Dintre pacienții cu schimbări neurologice și mixte (neurologice și psihiatrice) 10 (40%) au avut dereglări hepatice moderate (schimbările rezultatelor testelor hepatice, detectate numai după apariția simptomelor neurologice) și numai 5 (20%) din grupul investigat sufereau de o boală hepatică cronică. Funcția neurologică a fost apreciată ca severă la 11 (44%) pacienți și moderată la 13 (52%) pacienți. Dereglările neurologice, cum ar fi rigiditatea, tremorul și distonia, sunt cele mai des întâlnite. Dintre schimbările psihice prevalează depresia, agresivitatea, instabilitatea emoțională.

Din cei 35 de pacienți, inelul Kayzer-Fleischer a fost depistat la 12 persoane (34,3%). Depistarea inelului Kayzer-Fleischer este un simptom patognomonic pentru BW, dar se întâlnește în stadiile tardive ale bolii și preponderent în formele mixte [6].

Nivelul ceruloplasminei a fost scăzut la 33 (94,3%) de pacienți, iar excreția urinară ridicată a cuprului în 24 de ore – la 10 (28,6%) pacienți. Schimbările nivelului ceruloplasminei se observă și în alte stări patologice, legate de conținutul redus al proteinei serice (micșorarea sintezei ca rezultat al afectărilor hepatice grave, sindromul nefrotic, enteropatia cu pierderi de proteină, malabsorbție), hipo- sau aceruloplasminemia congenitală, boala Menkes, de regulă, la copiii până la 2 ani și purtătorii sănătoși ai BW. Excreția urinară ridicată a cuprului poate fi fals pozitivă în hepatitele cronice, în ciroza hepatică forma activă, sindromul nefrotic, contaminarea cu cupru din exterior [7].

Din cei 19 pacienți cu dereglări neurologice la 10 (52,6%) li s-a efectuat examenul cu rezonanță magnetică nucleară sau tomografia computerizată, care a depistat schimbări în nucleele bazale la toți pacienții investigați. La 3 (33,3%) dintre pacienți a fost depistat aspectul imagistic al patologiei degenerativ-atrofice, tip Wilson, notificată de hiperintensitatea ganglionilor bazali și substanței nigra, în tehnicile T2W, ponderat. La ceilalți 7 (66,6%) pacienți tomografia computerizată a relevat dilatarea moderată a ventriculelor și



**Fig. 3. Electroforegramele exonului 15.**

atrofia difuză cerebrală și cerebelară. Schimbările neurologice multiple ale BW corelează cu tabloul imagistic, caracteristic pentru tomografia computerizată sau rezonanța magnetică nucleară – hipointensive în T1 și hiperintensive în T2W-tse focare în ganglionii bazali, talamus și nucleul dentatum în formă de față a unei pande gigantice, dilatarea ventriculelor, atrofia difuză cerebrală și cerebelară. Sindromul akinetiko-rigid se caracterizează prin lipsa schimbărilor sau dilatarea neînsemnată a ventriculelor, la distonie – afectarea bilaterală a corpului striatum, în prezența tremorului intențional și a dismetriei – schimbările atrofice sau de focar în cerebel [8].

În diagnosticul molecular-genetic, noi am efectuat cercetări a doi exoni ai genei ATP7B (exonii 14 și 15) prin metoda polimorfismului conformativ al moleculei ADN (SSCP). În exonul 14 s-a cercetat mutația-missens His 1069Glu a genei, care după datele lui G. Thomas a fost înregistrată la 38% din europenii cu BW [3]. În exonul 14 mutația respectivă a fost prezentă la 8 (22,9%) pacienți. La 2 (25%) bolnavi mutația a fost depistată în stare homozigotă, iar la 6 (75%) bolnavi - în stare heterozigotă (fig. 2). Prezența la bolnavii cu manifestări clinice evidente ale maladiei mutației în stare heterozigotă, sugerează la această categorie de bolnavi starea de compound genetic. În exonul 15 al genei ATP7B, nu am depistat fragmente cu activitatea electroforetică anormală. Investigarea deleției C3400delC în exonul 15 nu a dat rezultate relevante (fig. 3).

Polimorfismul formelor clinice și decurgerea asimptomatică a maladiei crează dificultăți în stabilirea diagnosticului și în corectarea medicamentoasă tardivă. Dar pronosticul maladiei depinde foarte mult de aplicarea la timp a unui tratament adecvat. Luând în considerație cele expuse, este necesar să ne bazăm, în primul rând, pe diagnosticul clinic stabilit la timp.

Criteriile principale, folosite de noi pentru stabilirea diagnosticului BW la pacienții cu schimbări clinice evidente hepatice și/sau neurologice au constat în prezența inelului Kayzer-Fleischer, concentrația micșorată a ceruloplasminei serice și excreția majorată a cuprului cu urina. Ca metode suplimentare au fost folosite ultrasonografia organelor abdominale și tomografia computerizată sau rezonanța magnetică nucleară. La pacienții cu dereglări hepatice și/sau neurologice în combinație cu inelul Kayzer-Fleischer și concentrația redusă a ceruloplasminei a fost stabilit diagnosticul exact de BW.

### Concluzii

1. În Republica Moldova în procesul diagnosticării BW, la momentul actual, prioritatea aparține diagnosticului clinic.

La 71% pacienți cu BW din Republica Moldova, cu diferite forme clinice ale maladiei, predomină schimbări neurologice în jurul vârstei de 20 de ani, ceea ce este legat de depistarea tardivă a bolii.

2. Prin cercetarea actuală a fost stabilit faptul, că frecvența mutației His1069Glu la pacienții din Moldova este mai joasă în comparație cu cei din Europa, ceea ce poate fi explicat prin faptul, că diagnosticul clinic are anumite neajunsuri și este necesară trierea mai bună a pacienților pentru testul genetic și mărirea numărului de mutații, analizate prin metode de genetică moleculară.

3. La 75% dintre bolnavi cu manifestări clinice evidente ale maladiei mutația a fost depistată în stare heterozigotă.

4. Expresia și studierea mutațiilor transferazei ATP7B și corelarea ulterioară cu formele clinice ale bolii sunt aspecte extrem de importante pentru stabilirea diagnosticului la timp și elaborarea strategiilor de corectare medicamentoasă și necesită cercetări ulterioare aprofundate.

#### Bibliografie

1. Gow PJ, Smallwood RA, Angus PW, et al. *Gut*. 2000;46:415-419.
2. Harris ED. Cellular copper transport and metabolism. *Ann. Rev. Nutr.* 2000;20:291-310.

3. Harada M. Wilson disease. *Med. Electron. Microsc.* 2002;35:61-66.
4. Langner Cord, Denk Helmut. Wilson disease. 2004.
5. Thomas GR, Forbes JR, Roberts EA, et al. The Wilson disease gene: spectrum of mutations and their consequences. *Nature Genet.* 1995;9:210-217.
6. Wilson Disease. *Arch. Ophthalmol.* 2001;119:1556-1557.
7. Chowrinootoo GFE, Scowcroft H, Seymour CA. Caeruloplasmin isofoms in Wilson's disease in neotates. *Arch. Dis. Childs. Fetal Neotatal.* 1998.
8. Залялова ЗФ, Богданов ЭИ. Клинико-мрт анализ различных вариантов болезни Коновалова-Вильсона. *Неврологический вестник.* 2002;34(1-2):5-10.
9. Sacară Victoria. Degenerescenta hepato-lenticulară. Tabloul clinic, structura genei și diagnosticul molecular-genetic. *Buletin de perinatologie.* 2006;4:34-37.

Corresponding author

**Mocanu Natalia**, Researcher

National Center of Health Reproduction and Medical Genetics

82, Burebista Street

Chisinau, MD-2062

Republic of Moldova

Telephone: 506415

E-mail gmocanud@yahoo.com

Manuscript received July 08, 2010; revised manuscript February 04, 2011

## REVIEW ARTICLES

### Sindromul Peutz-Jeghers (Hipermelanocitozele epidermice sau Lentiginosa periorificială)

N. Taran<sup>1</sup>, Iu. Lupașco<sup>1</sup>, M. Cojuhari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorul de Gastroenterologie, Departamentul Medicină Internă, USMF „Nicolae Testemițanu”

<sup>2</sup>Spitalul Clinic Republican, secția de hepatologie

#### Peutz-Jeghers syndrome (Epidermal Hipermelanocytosis or periorificial Lentiginosa)

Peutz-Jeghers syndrome (PJS) is a Hamartomatous Polyposis syndrome that is characterized by concomitant presence of gastrointestinal polyposis and melanocytic maculele at the level of the lips, mouth and fingers. It is an autosomal dominant syndrome which appears with a ratio of 1:200000 births. PJS clinical diagnosis can be suspected if two or more polyps of Peutz-Jeghers type are detected in the gastrointestinal tract or if one Peutz-Jeghers polyp is associated with the characteristic pigmentation or with case history of heredocolaterale of PJS. We present a clinical case which creates difficulties in diagnosis, being a rarely encountered nosology. The following disease requires surveillance and monitoring in dynamics due to the increased risk of malignant: gastric, colo-rectal, lung, pancreatic, ovarian and breast cancer.

**Key words:** hyperpigmentation, gastric polyposis, Peutz Jeghers syndrome, hipermelanoze.

#### Синдром Пейтца-Егерса (эпидермальные гипермеланозы или Лентигиноз периорифициальный)

Синдром Пейтца-Егерса включает гамартоматозный полипоз, который характеризуется наличием желудочно-кишечного полипоза и скоплением макул меланоцитов в области губ, слизистых оболочек полости рта и пальцев. Заболевание передается по аутосомно-доминантному типу, распространенность которого составляет 1:200000 родов. Клинический диагноз предполагается, если находят два или более полипов типа Пейтца-Егерса в желудочно-кишечном тракте, или если данный полип ассоциируется с характерной пигментацией, или наличием наследственности с данным синдромом. Описываем клинический случай, который представляет сложности в диагностике, так как данная нозология редко встречается. Болезнь нуждается в наблюдении и мониторинге в динамике, представляя повышенный риск для малигнизации: рак желудка, колоректальных новообразований, легких, поджелудочной железы, яичника и молочной железы.

**Ключевые слова:** гиперпигментация, желудка новообразования, Пейтца-Егерса синдром, полипы.