

Bibliografie selectivă

1. Kalra M., Gloviczki P., *Endoscopic subfascial ligation of perforating veins*. In: Ascher E, editor-in-chief. *Haimovici's vascular surgery*, 5th ed., New York: Blackwell Publishing; 2004; p. 1115 - 30.
2. Franjic B. D., Lovricevic I., Kuna T., Puljiz Z., Hudorovic N., De Syo D. et al., *Subfascial endoscopic perforating vein surgery (SEPS): The technique and our views*, Acta Clin Croat, 2003; 42(4), p. 327-32.
3. Baron H. C., Wayne M. G., Santiago C. A., Grossi R., *Endoscopic subfascial perforator vein surgery for patients with severe, chronic venous insufficiency*. Vasc. Endovasc. Surg., 2004; 38(5), p. 439-42.
4. Bergan J. J., *Advances in venous surgery: SEPS and phlebectomy for chronic venous insufficiency*. Dermatol. Surg., 2002; 28(1), p. 26-8.
5. Baron H. C., Wayne M. G., Santiago C., Lown I., Castellano M., Cioroiu M., Grossi R., *Treatment of severe chronic venous insufficiency using the subfascial endoscopic perforator vein procedure*. Surg. Endosc., 2005; 19, p. 126-9.
6. O'Donnell T. F., *Lessons from the past guide the future: Is history truly circular?* J. Vasc. Surg., 1999; 30(5), p. 775-86.
7. Nicolini P., Perrin M., *Chirurgie des veines perforantes jambieres par abord direct. Techniques et resultats*. Phlébologie 1997; 50(4), p. 693-8.
8. Григорян Р. А., Богачев В. Ю., Золотухин И. А., *Варикозная болезнь*. В: *Флебология*. Под ред. Савельева В. С., М.: Медицина, 2001, стр. 438-89.
9. Linton R. R., *The communicating veins of the lower leg and the operative technique for their ligation*. Ann. Surg., 1938; 107, p. 582-93.
10. Qeral L. A., Criado J. C., *Miniincisional ligation of incompetent perforating veins of the legs*. J. Vasc. Surg., 1997; 25, p. 437-41.
11. Bassi G., *Traitement de l'insuffisance des veines perforantes*. Phlébologie 1965; 156, p. 69-74.
12. Cockett F. B., *The pathology and treatment of venous ulcers of the leg*. Br. J. Surg. 1956; 44, p. 260-78.
13. Felder D. A., Murphy T. O., Ring D. M., *A posterior subfascial approach to the communicating veins of the leg*. Surg. Gyn. Obst., 1955; 74, p. 730-4.
14. Mungoli L. E., *Le traitement chirurgical du syndrome post-phlébitique*. Phlébologie, 1974; 27, 509-19.
15. Enrici E. A., Caldevilla H. S., *Insuffisance veineuse chronique des membres inférieurs. Bilan des interventions de Linton et de Cockett modifiées en 1974 et 1976*. Phlébologie, 1996; 49, p. 69-80.
16. Edwards J. M., *Shearing operation for incompetent perforating veins*. Br. J. Surg., 1976; 63, p. 885-6.
17. Homans J., *The etiology and treatment of varicose ulcer of the leg*. Surg Gynecol Obstet, 1917; 24, p. 300-11.
18. DePalma R., *Surgical therapy for venous stasis: results of a modified Linton operation*. Am. J. Surg., 1979; 137, p. 810.

Summary

The review of contemporary literature concerning evolution of surgical approach to the incompetent perforating veins of the calf is presented. The various aspects of surgical interruption of pathologic venous reflux at this level in patients with chronic venous insufficiency of lower limbs are discussed.

STUDIUL POLIMORFISMULUI CLINIC ȘI GENOTIPIC LA PACIENȚII CU MUCOVISCIDOZĂ DIN REPUBLICA MOLDOVA

Natalia Barbova, dr. în medicină, conf. univ., **Vladimir Egorov**, dr. în medicină, cercet. șt., Centrul Național de Sănătate a Reproducerii și Genetică Medicală

Introducere. Mucoviscidoza (MV, CF, *cystic fibrosis*) survine la indivizii care au moștenit două gene *CFTR* (*cystic fibrosis transmembran conductance regulator*) mutante. Maladia se caracterizează prin afectarea tuturor glandelor exocrine cu viscozitatea crescută a acestora. MV este cea mai frecventă dintre bolile severe transmise în modul autosomal-recesiv. Se admite în general o incidență ce variază de la 1:1800 până la 1:5000 nou-născuți de rasă albă [6, 13].

Gena MV a fost izolată în 1989, conține 27 de exoni despărțiți prin introni. Locusul genei este nivelul brațului lung al cromosomului 7 [1]. *CFTR* conține 1480 de aminoacizi, având o masă moleculară în jur de 170.000. Proteina conține două jumătați simetrice, fiecare din ele având un domeniu separat [1, 2].

Mutațiile genetice specifice MV și implicit proteina patologică, prin intermediul celor 6 clase de mecanisme patogenice (defect în producerea proteinei; defect în prelucrarea-procesarea proteinei; defect de reglare; defect de conducere/dirijare; sinteză redusă a proteinei; mutații la capătul C-terminal) au ca rezultat final transportul, în special alterarea clorului, la nivel transepitelial, de la nivelul diverselor organe (glande sudoripare, tractul respirator, tractul gastrointestinal, pancreas, tractul genital masculin) [5, 8, 11, 13].

Studiile mutațiilor *CFTR* au evidențiat peste 1200 de mutații noi și mult mai multe vor fi identificate în

anii următori. Conform datelor Consorțiului Internațional, numai 10 mutații sunt cele mai frecvente în lume: F508del – 66%; G542X – 2,2%; G551D – 1,6%; N1303K – 1,3%; W1282X – 1,2%; R553X – 0,7%; 621+1G-T - 0,7%. Celelalte mutații sunt rare, frecvența lor este dificil de estimat, dar posibil că este sub 1% [3], de aceea este necesar de a studia spectrul mutațiilor genei CFTR și în Republica Moldova.

Scopul investigațiilor de față l-a constituit studiul particularităților clinice ale MV în paralel cu studierea mutațiilor genei CFTR la pacienți cu diagnostic clinic de MV.

Materiale și metode. A fost efectuată investigația complexă a 78 de pacienți cu MV cu vârsta cuprinsă între 2 luni și 24 de ani, printre care 32 de sex feminin și 48 de sex masculin. La pacienții incluși în studiu diagnosticul de MV s-a confirmat prin anamneză, analiză clinico-genealogică, tabloul fenotipic și valori mărite (peste 60 mmol/l) ale cloridelor sudorii. Dintre pacienții cu MV predominau copiii cu vârstă de la 7 până la 15 ani (37,1%), numărul pacienților cu vârstă mai mare de 18 ani a fost minimal (4,3%).

Extragerea ADN-ului din limfocitele sângelui venos a fost efectuată prin metoda standard de extracție fenol-chloroform. Analiza polimorfismului alelelor genei CFTR a fost efectuată prin metoda reacției de polimerizare în lanț, după tehnica Ivaschenko T. E., descrisă în 1991. Probele ADN-ului de la bolnavii investigați și părinții acestora au fost analizate pentru identificarea mutațiilor F508del, N1303K (defect în prelucrarea-procesarea proteinei); R334W, R347P, R117H (defect de conducere/dirijare), R553X, W1282X, G542X (defect în producerea proteinei), G551D (defect de reglare). Datele obținute au fost prelucrate cu aplicarea metodelor statistice standarde.

Rezultate. Studiind variantele mutațiilor la pacienți cu MV în fiecare caz examinat, s-a analizat corelația dintre genotipul și fenotipul pacientului.

S-a constatat frecvența înaltă a identificării genotipurilor F508del/F508del și F508del/X (corespunzător 15,4% și 42,3%), ce oferă posibilitatea analizei detaliate a manifestărilor fenotipice mutației date (*tabelul 1*).

Tabelul 1

Tabloul clinic și spectrul mutațiilor genei CFTR

<i>Genotipul</i>	<i>Frecvența</i>	<i>Forma MV</i>			<i>Evoluția MV</i>	
		<i>mixtă</i>	<i>pulmonară</i>	<i>intestinală</i>	<i>gravă</i>	<i>grav-medie</i>
F508del/ F508del	15,4%	15,4%	-	-	15,4%	-
F508del/X	42,3%	37,1%	2,6%	2,6%	27,9%	14,4%
R334W/X (7ex)	3,8%	3,8%	-	-	2,5%	1,3%
N1303K/X	1,3%	1,3%	-	-	1,3%	-
Mutația n-a fost identificată	37,2%	26,0%	7,8%	3,4%	13,8%	23,4%
Total mutații identificate:	62,8%	57,6%	2,6%	2,6%	47,1%	15,7%
homozigote	15,4%	15,4%	-	-	15,4%	-
heterozigote	47,4%	42,2%	2,6%	2,6%	31,7%	15,7%

La pacienții în stare de homozigot și în 88% de cazuri în stare de heterozigot mutația F508del (în prelucrarea-procesarea proteinei) a fost legată de insuficiența pancreatică. La bolnavii cu genotipul F508del/ F508del a predominat forma mixtă a MV cu evoluție gravă a bolii (15,4%); starea heterozigotă cu forma mixtă s-a manifestat în 37,1% cazuri, cota formelor pulmonare și intestinale a constituit 2,6% cazuri; cu evoluție gravă – 27,9% și de gravitate medie – 14,4% cazuri.

Din 8 bolnavi decedați (10,3%), în 5 (62,5%) cazuri studiate s-a apreciat starea de homozigot, în 3 (37,5%) cazuri era prezentă în stare de heterozigot mutația F508del. În 94,3% cazuri de MV cu mutația F508del debutul bolii a avut loc la vârsta de până la 1 an.

Din 11 copii ale unei familii cu MV, 2 copii cu formă mixtă, evoluție gravă (genotipul F508del/F508del) au decedat la vârsta de până la 1 an, a rămas o fetiță în vârstă de 12 ani (genotipul F508del/X), care suportă o colonizare cronică a *Stafilococcus aureus* și *Pseudomonas aeroginosa* în spută, are insuficiență respiratorie cronică de gradul II (bronșiectazii multiple), insuficiență pancreatică, hepatită cronică de etiologie neinfecțioasă (*fig. 1*).

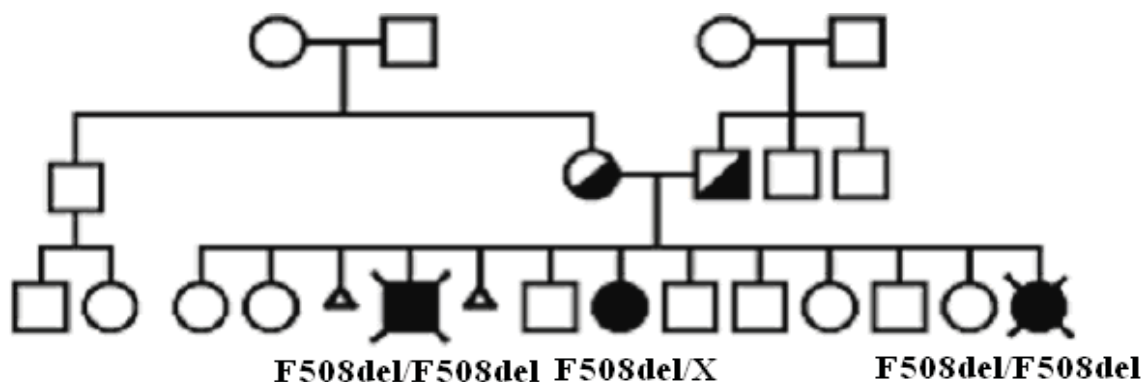


Fig.1. Arborele genealogic al unei familii cu mutația F508del

Rezultatele cercetărilor efectuate au constatat frecvența mutației F508del în 57,7% cazuri, ceea ce coincide cu datele cercetătorilor din Rusia (55%) [11], Ucraina (50-70%) [10, 11], România (60%) [7, 8].

Mutația exonului 7 R334W (defect de conducere/dirijare) s-a întâlnit în 3,8% cazuri în compund în stare heterozigotă (tabelul 1). După gravitatea manifestărilor fenotipice, această mutație este considerată ca mutație cu caracter “variat” [5]. La 3 pacienți evoluția MV a fost relativ ușoară cu debut tardiv al semnelor clinice, fără insuficiență pancreatică și cu afectarea lent progresivă a tractului bronhopulmonar. Deși în literatura studiată de noi nu am întâlnit descrierea complicațiilor tractului gastrointestinal la bolnavi cu MV cu mutația R334W, la pacientul investigat a fost determinată prezența sindromului celiac, întâlnit în MV cu frecvența 1:220 bolnavi [11]. La o pacientă s-a constatat debutul bolii în perioada neonatală cu evoluție gravă, insuficiență pancreatică și acutizări ale procesului cronic bronhopulmonar.

Mutația N1303K (defect în prelucrarea-procesarea proteinei) s-a întâlnit în 1,3% cazuri în compund în stare heterozigotă (tabelul 1). Ea este considerată mutație cu caracter “grav” [5]. La o pacientă în vârstă de 9 ani s-a constatat evoluția gravă a maladiei cu debutul bolii în primul an de viață și cu insuficiență pancreatică asociată cu un proces cronic bronhopulmonar, determinat de colonizarea cronică în spută a *Stafilococcus aureus* și *Pseudomonas aeruginosa*.

Analiza genei CFTR cu markeri polimorfi ai ADN-ului a decelat un homozigot după metH polimorfism. Deși la debutul MV a fost precoce, la vârsta de 3 luni, evoluția bolii a fost lent progresivă și la momentul actual vârsta pacientului este de 18 ani, starea lui fiind stabilă.

În 62,8% cazuri la bolnavi cu MV investigați tipul mutației a fost identificat, din ele numai în 15,4% cazuri au fost identificate două mutații ale genei CFTR.

Tipul mutației nu a fost identificat în 37,2% cazuri; majoritatea pacienților (26,0%) suportă forma mixtă MV, 7,8% – forma pulmonară, iar 3,4% – forma intestinală. Evoluția gravă a maladiei s-a depistat în 13,8% cazuri, însă la majoritatea bolnavilor, în 23,4% cazuri, evoluția MV a fost de gravitate medie.

Discuții. Evoluția și manifestările clinice ale MV sunt determinate de defectul primar al mutației genei MV și corelează cu tipul mutației; mutația F508del și alte mutații responsabile pentru prelucrarea-procesarea proteinei (N1303K la pacienții investigați) nu împiedică translarea, dereglează transportul proteinei CFTR, așa că această proteină nu atinge suprafața apicală a membranei celulare și, prin urmare, fluxul ionilor de clor prin canal este absent. Acest mecanism explică în mare parte evoluția și manifestările clinice grave ale MV, mai ales la homozigotele mutației F508del.

Identificarea tipului mutației permite alegerea tacticii terapeutice adecvate, mărește durata și îmbunătățește calitatea vieții bolnavilor, la fel descoperă posibilități noi pentru diagnosticul prenatal al MV în familiile informative (două gene CFTR sunt identificate) din Republica Moldova.

Concluzii

1. Mutația F508del, întâlnită în 57,7% cazuri la pacienții investigați, determină evoluția, forma clinică a MV și durata vieții pacienților cu această maladie ereditară.

2. La momentul actual, în Republica Moldova prioritatea aparține diagnosticului clinic al MV: în 62,8% cazuri la bolnavii investigați tipul mutației a fost identificat, din ele numai în 15,4% cazuri au fost identificate două mutații ale genei CFTR, în 37,2% cazuri de MV mutații nu au fost identificate. Este necesară trierea mai bună a pacienților pentru testul genetic, conform recomandărilor Uniunii Europene, și mărirea numărului de mutații analizate prin metode de genetică moleculară.

3. În scopul îmbunătățirii diagnosticului precoce, profilaxiei primare și a terapiei adecvate a MV este

indispensabilă estimarea spectrului mutațiilor majore ale genei CFTR caracteristice populației Republicii Moldova.

Bibliografie selectivă

1. Riordan J.M., Rommens J.M., Kerem B., *Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characteriyation of complementary DNA*. *Sciens*, 1989; 245:1066-1073.
2. Tsiu I.C., *The spectrum of cystic fibrosis mutations*. *Trends in Genetics*, 1992, 8:392-398.
3. *The Cystic Fibrosis Analysis Consortium Population Variation of common cystic fibrosis mutations*. *Hum. Mutat.* 1994; 4:167-177.
4. Goosens M., Ghanem N., Girodon E., Costes B., Fanen P., *La mucoviscidoze: la gene CFTR, ses mutations, le conseil genetic*. *Rev. Pneumol. clin.*, 1995; 53:130-136.
5. Kerem B., Harel-Nave N., Augarten A., *Clinical prezentation of patients carryng the 5 thymidine tract in intron 8 from healthy individuals to typical CF*. *Pediatric Pulmonology*, 1995; 12:2003.
6. Claustres M., *Genetigue, depistage et epidemiologie de la mucoviscidose*. *MT pediatrie*, 1998, 1(3):261-268.
7. Frentescu I., *Studiul mutațiilor în fibroza cistică a pancreasului la populația din România*. Teza de doctorat, Cluj-Napoca, 2002:12-46.
8. Moșescu S.: *Corelația genotipului cu manifestările de fenotip, evoluția și pronosticul în fibroza chistică*. Teza de doctorat, București, 2007:13-62.
9. Barbova N.I., *Studierea corelației fenotipului și genotipului la pacienți cu mucoviscidoză în Republica Moldova*. *Analele Științifice ale USMF*, 2005; 5:339-343.
10. Лившиц Л.А., Кравченко С.А., Нечипоренко М.В. и соавт., *Молекулярно-генетический анализ муковисцидоза в Украине*. Матер. научн.-практ. конф. по мед. генетике, Киев, 1999; 99-100.
11. Запорожан В.Н., Аряев Н.Л., Старец Е.А., *Муковисцидоз*, Киев; 2001: 175.
12. Петрова Н.В., Гинтер Е.К., *Десятилетний опыт молекулярно-генетической диагностики муковисцидоза в МГНЦ РАМН*. Пульмонология, 2001; 11(3):17-20.
13. *Муковисцидоз (современные достижения и актуальные проблемы)*: Метод. реком. под ред. Капранова Н.И. и Каширской Н.Ю., М., 2005:5-39.

Summary

We carried out the molecular diagnosis of 78 Cystic Fibrosis patients aged from 2 month to 24 years (32 female and 46 male) and their parents. Were identified the following mutations – F508del – in 57,7%, R334W (ex.7) – în 3,8% and N1303K – în 1,3% of cases. Connection was determined between F508del mutation and the severity of clinical manifestation in CF. It is shown that mutation remain unidentified in 37,2% of cases in RM. Advisability of the improvement of CF molecular diagnosis metods is well – founded in Republic of Moldova.

UNELE ASPECTE ALE METABOLISMULUI AMINOACIZILOR ÎN FENILCETONURIE

Natalia Ușurelu, cercet. șt. stagiar, Centrul Național de Sănătate a Reproduserii și Genetică Medicală

Actualitatea. În ultimul timp devine tot mai actual rolul aminoacizilor în dezvoltarea sistemului nervos central. Aminoacizii sunt mediatorii de bază atât excitatori (glutamat, aspartat), cât și inhibitori (GABA, glicina) ai sistemului nervos. Ei sunt precursorii grupelor NO (arginina); ai neuropeptidelor și ai aminelor biogene (tirozina – pentru catecolamine, triptofanul – pentru serotonină, histidina – pentru histamină, serina – pentru acetilcolină). Prin urmare, aminoacizii reglează direct sau intermediar toate procesele neurologice de bază: excitarea și inhibiția, somnul și starea de veghe, agresivitatea și anxietatea, emoțiile, comportamentul, memoria și învățarea. Dereglarea componentei aminoacizilor și a derivaților lor în organism este una din cauzele apariției stărilor patologice, manifestate prin disfuncții ale sistemului nervos, mai ales, la copii. Este înaintată ipoteza privind efectul distructiv al dezechilibrului aminoacizilor asupra creierului în dezvoltare [2].

Fenilcetonuria (PKU) este o patologie genetic determinată a metabolismului aminoacidului Fenilalanina (Phe), generată de deficitul fermentului fenilalaninhidroxilaza (PAH, EC 1.14.16.1), care, de regulă, asigură transformarea Phe în tirozină (Tyr). În consecință, este afectată grav dezvoltarea sistemului nervos, prin riscul instalării unui retard mental avansat [12]. Retardul mental și simptomatologia neurologică severă sunt prevenite prin dieta hipofenilalaninică strictă, inițiată odată cu nașterea copilului, suplimentată cu preparate sintetice de aminoacizi, lipsite de Phe [6,7,8,9]. În literatură nu au fost elucidate cauzele ineficienței dietoterapiei, începute chiar de la nașterea copilului [3, 8], nici cauza taliei scunde și densității reduse a țesutului osos la copiii cu PKU [6]. La fel, rămâne neelucidat mecanismul deficitului cognitiv în PKU, nu există o viziune unică asupra necesarului de proteine ingerate de către copilul cu PKU [9,11]. Activitatea sistemului enzimatic