

ACADEMIA DE ȘTIINȚE MEDICALE PROGRAMUL NAȚIONAL „VIASAN”

SIMPOZION "VIASAN" 2004

București, 9 Noiembrie 2004

**Tipărit de Editura Universitară « Carol Davila » București
Redactat de R. Braga și A-M. Zăgrean**

COMITET DE ORGANIZARE

Presedinte de onoare: Prof. Dr. Mihai Zamfirescu

Presedinte Executiv: Prof. Dr. Leon Zagrean

Membri :

Dr. Galetescu Emanuel

Conf. Dr. Hinescu Mihai

Sef lucr. Dr. Zagrean Ana-Maria

Dr. Zaharescu Carmen

Dr. Braga Radu

Dr. Cretoiu Dragos

Ec. Georgescu Mariana

Jurist. Maciuceanu Zarnescu Marian

Secretariat: Fugariu Ioana Cristina, Mihaela Bura

Informatii suplimentare la telefoanele:

411.51.05, 0723 .584.722, 0723.584.055

PROGRAM

Miercuri, 3 noiembrie 2004

9.00 - 9.30 – Deschiderea lucrarilor

9.30 - 11.40 – Comunicari – Sesiunea 1

11.40 - 12.00 – Pauza de cafea

12.00 - 14.00 – Comunicari – Sesiunea 2

14.00 - 15.00 – Pauza (masa de pranz)

15.00 - 15.45 – Postere

15.45 - 16.30 – Masa rotunda: Celule stem - de la cercetare la
terapie

16.30 - 16.40 – Concluzii

PROGRAM

Miercuri, 3 noiembrie 2004

9:00 – 9:30 Deschidere lucrări

9:30 Sesiune 1

**9:30 APLICAȚII EXPERIMENTALE ȘI CLINICE ALE
TERAPIEI CELULARE ÎN DIABETUL ZAHARAT TIP I**

Sârbu Vasile

**9:40 STRATEGII DE OPTIMIZARE A UNOR SISTEME DE
CULTURA PENTRU CELULELE STEM HEMATOPOIETICE**

Chivu Mihaela

**9:50 PROTOCOL PENTRU REGENERARE MIOCARDICA
PRIN TRANSPLANT AUTOLOG DE CELULE STEM
MEDULARE**

Mut-Vitcu Bogdan

**10:00 FACTORI CELULARI DE REZISTENTA MULTIPLA
(MDR) – NOI STRATEGII DE EVALUARE**

Diaconu Carmen

**10:10 CARACTERIZAREA CELULELOR HEPATICE FETALE
UMANE IN CULTURA DE LUNGA DURATA**

Vidulescu Cristina

**10:20 STUDIUL HIPOXIEI SI DEPRIVARII DE OXIGEN SI
GLUCOZA IN CULTURI PRIMARE DE NEURONI GRANULARI
CEREBELARI**

Zăgrean Ana-Maria

**10:30 MODEL EXPERIMENTAL PENTRU DIABETUL
INSULINO-DEPENDENT**

Radu Dorel Lucian

SURSE RADIOACTIVE DEDICATE INVESTIGAȚIEI MEDICALE PRIN METODA PĒT (Positron Emission Tomography)

P.M. Racolta, D. Dudu, C. Cimpeanu, L. Craciun, O. Muresan, D. Voiculescu

Institutul National de Cercetare-Dezvoltare pentru Fizica si Inginerie Nucleara 'Horia Hulubei' (IFIN-HH)

Abstract

Scopul acestui studiu este implementarea sistemului de diagnostic prin tomografie de emisie pozitronică (PET) în România la Spitalul Militar Central de Urgență prin cercetări dedicate obținerii și caracterizării celui mai folosit radiofarmaceutic utilizat în această metodă, respectiv 2-F-deoxi-D-glucoză marcată cu ^{18}F ($2\text{-}^{18}\text{F}\text{-FDG}$) utilizat ca traser radioactiv. Este cunoscut faptul ca radioizotopii utilizați în tomografia PET au timpi de viață extrem de scurți (de ordinul minutelor) față de izotopii utilizați în mod curent în medicina nucleară. Aceștia emit un pozitron (electron cu sarcină pozitivă) în procesul de dezintegrare, iar la întâlnirea cu un electron cele două particule se anihilează reciproc rezultând 2 fotoni emiși în direcții contrare. Doi detectori poziționați pe aceste direcții vor înregistra evenimentul. Construcția imaginii tridimensionale a distribuției substanței radioactive introduse în pacient se face prin colectarea și stocarea mai multor evenimente de acest tip obținute prin plasarea unui inel de detectori în jurul pacientului și mișcarea ansamblului de-a lungul unei axe a acestuia. Această tehnică de investigație ultramodernă care este în măsură să dea informații calitative și cantitative privind dinamica proceselor metabolice și depistarea precoce a unor afecțiuni **nu este încă** aplicabila în țară deși un astfel de echipament este instalat la Spitalul Militar Central, dat fiind imposibilitatea procurării izotopilor specifici (^{18}F , ^{11}C , ^{15}O , ^{13}N) care au timpi de viață de ordinul minutelor până la cca. 2h

10:40 STRUCTURA COLAGENULUI, PROPRIETĂȚI ȘI BIOSINTEZĂ.

Sârbu Rodica

10:50 IMPLEMENTAREA METODELOR ALTERNATIVE (IN VITRO) DE TESTARE FARMACOLOGICA

Albulescu Radu

11:00 MODELE DE DIAGNOZA A SISTEMELOR BIOLOGICE

Costea Vasile

11:10 EXPRESIA ULTRASTRUCTURALA A DEFECTELOR MEMBRANEI BAZALE GLOMERULARE IN GLOMERULONEFRITELE PRIMITIVE

Gherghiceanu Mihaela

11:20 DEZVOLTAREA UNOR METODE BIOFIZICE PENTRU TESTAREA VIABILITĂȚII CELULELOR RETINIENE IZOLATE IN VEDEREA TRANSPLANTULUI RETINIAN

Kovacs Eugenia

11:30 OPTIMIZAREA BANCII DE CONSERVAT PANCREAS UMAN IN VEDEREA TRANSPLANTULUI

Simion Sorin

11:40 Pauză de cafea

12:00 Sesiune 2

12:00 IMUNODEFICIENȚA ÎN BOLILE INFLAMATORII OCULARE

Ursaciuc Cornel

12:10 SISTEM DE MONITORIZARE ȘI REGLARE AUTOMATĂ A PROCESULUI DE DIALIZĂ RENALĂ

Marin Radu

12:20 INTERELATIA DIABET ZAHARAT - BOALA PARODONTALA. EVALUAREA STATUSULUI PARODONTAL LA UN GRUP DE PACIENTI DIABETICI INSULINO-DEPENDENTI

Gherghic Doina Lucia

12:30 **MELATONINA ȘI PUBERTATEA**

Ianăș Olga

12:40 **SENSIDISCURI PENTRU ANTIBIOGRAME**

Coman Virginia

12:50 **ELEMENTE DE PROTEZARE SI IMPLANTARE IN
CHIRURGIA CRANIO-MAXILO-FACIALA**

Comșa Stanca

13:00 **COMPOZITE STOMATOLOGICE DE RESTAURARE
INDIRECTA. COMPOZITIE SI PERFORMANTE**

Prejmorean Cristina

13:10 **APARATE SPECIALIZATE PENTRU TRATAREA
AGENEZIILOR OSOASE**

Comșa Stanca

13:20 **RADIODIAGNOZA SI RADIOTERAPIA
METASTAZELOR OSOASE UTILIZAND CHELATI
ORGANOFOSFONICI**

Niculae Dana

13:30 **MED-ONLINE. BAZA DE DATE CU ALGORITMI DE
DIAGNOSTIC SI TRATAMENT IN AFECTIUNI MEDICO-
CHIRURGICALE**

Muntean Valentin

13:40 **STRATEGIA DE CERCETARE ȘI DEZVOLTARE
TEHNOLOGICĂ ÎN DOMENIILE MEDICAL ȘI FARMACEUTIC
ÎN PERSPECTIVA INTEGRĂRII ÎN SPAȚIUL DE CERCETARE
EUROPEAN**

Vasilescu Petre

13:50 **NOI SISTEME BIOCOMPATIBILE ȘI BIOACTIVE
PENTRU REZOLVAREA EDENTAȚIILOR PARȚIALE ȘI
TOTALE**

Rusu Nicolae

14:00 – 15:00 Pauză (masa de prânz)

PREPARATION AND STRUCTURAL AND BIOCHEMICAL ANALYSIS OF ELASTIN FOR MEDICAL USE

Oana Craciunescu, Lucia Moldovan, Wanda Buzgariu, Otilia Zarnescu
National Institute Research-Development for Biological Sciences

Insoluble elastin is a connective tissue protein containing several specific interchain cross-links, is high hydrophobic, and provides elasticity to organs and tissues in which it occurs (skin, lungs, blood vessels, elastic cartilage). Despite its remarkable mechanical properties, elastin has found little use as a biomaterial because there are problems concerning the purification and calcification processes. The main cause of these problems is the presence of microfibrillar glycoproteins, intimately associated to elastin and their ability to retain calcium.

In this study, we report an efficient procedure for the isolation and purification of insoluble elastin from swine auricular elastic cartilage and its structural and biochemical analysis.

Samples from the powder elastin preparations (E1 and E2) and standard elastin (Sigma) were analyzed for the presence of glycosaminoglycans, microfibrillar proteins and collagen by sensitive biochemical methods.

For structural analysis, we chose and adapted specific staining procedures for elastic cartilage elastin, collagen fibers and proteoglycans. We examined the structure of the initial tissue and made a histochemical evaluation. Together with tissue analysis at various extraction steps, these observations allowed a better purification of insoluble elastin.

In conclusion, histological and biochemical studies demonstrated that the procedure based on treatment with alkaline solutions was an optimal and efficient one and represented a procedure of choice for elastin preparation from swine auricular elastic cartilage. This elastin powder will be tested as a biomaterial with applications in burns and reconstructive surgery.

This research was supported by Project No. 179 VIASAN.

OBTINEREA SI ANALIZA STRUCTURALA SI BIOCHIMICA A ELASTINEI DE UZ MEDICAL

Oana Craciunescu, Lucia Moldovan, Wanda Buzgariu, Otilia Zarnescu

Institutul National de Cercetare-Dezvoltare pentru Stiinte Biologice

Elastina insolubila este o proteina cu numeroase legaturi covalente intermoleculare specifice, extrem de hidrofoba, care asigura elasticitate tesuturilor si organelor in care se gaseste (piele, plamani, vase de sange, cartilaj elastic, etc.). In ciuda proprietatilor ei mecanice remarcabile, elastina a fost utilizata putin ca biomaterial datorita problemelor legate de purificare si de procesul de calcifiere. Cauza principala a acestor probleme este prezenta proteinelor microfibrilare asociate intim cu elastina si care au capacitatea de a lega calciul.

Obiectivul acestei lucrari a fost elaborarea unui procedeu eficient si optim de extractie si purificare a elastinei insolubile din cartilajul elastic auricular de porc, precum si analiza structurala si biochimica a acesteia.

Probe din pulberile de elastina (E1 si E2) obtinute prin cele doua metode si din elastina standard (Sigma) au fost analizate prin metode biochimice sensibile pentru a evalua gradul de puritate al acestora din punct de vedere al contaminarii cu glicozaminoglicani, proteine microfibrilare si collagen.

Pentru analiza structurala, s-au selectat si adaptat metode de colorare specifica a elastinei, a fibrelor de collagen si a proteoglicanilor din cartilajul elastic. S-a realizat o evaluare histochimica a structurii tesutului initial care, impreuna cu analiza tesutului pe parcursul etapelor de extractie au furnizat observatii importante pentru imbunatatirea conditiilor de extractie si purificare a elastinei insolubile prin cele doua procedee.

In concluzie, studiile biochimice si histologice au demonstrat ca procedeul bazat pe tratamente cu solutii alcaline este optim si eficient, fiind cel ales pentru prepararea elastinei insolubile din cartilajul elastic auricular de porc, in vederea utilizarii ei ca biomaterial cu aplicatii in arsuri si chirurgia reparatorie.

Lucrare finantata din contractul nr. 179/2002 – VIASAN - PNCDI

15:00 Postere

15.45 - 16.30 – Masa rotunda: Celule stem - de la cercetare la terapie

16.30 - 16.40 – Concluzii

POSTERE

- 1. DIFERENTIAREA CELULELOR STEM MEZENCHIMALE DIN MADUVA OSASA UMANA IN OSTEOLASTE SI UTILIZAREA LOR IN AUTOTRANSPLANT**
Fleşeriu Irina
- 2. PROLIFERAREA LIMFOCITARA IN HIPERTENSIUNE SI INFARCT MIOCARDIC ACUT**
Botea Simona
- 3. MULTIPLE APPROACH CASE STUDY REPORT OF A PH+ CHRONIC MYELOID LEUKEMIA (CML) WITH DOUBLE MOLECULAR EXPRESSION.**
Borsaru Gabriela
- 4. MODIFICARI ALE SUBPOPULATIILOR LIMFOCITARE PERIFERICE IZOLATE DE LA PACIENTI CU INFARCT SI MIOCARDIC INFARCT NON-Q**
Neagu Monica
- 5. MODIFICARI ALE SECRETIEI NOCTURNE DE MELATONINĂ LA COPII CU PUBERTATE ÎNTĂRZIATĂ.**
Manda Dana
- 6. PROLIFERATION, P53 EXPRESSION AND APOPTOSIS IN PITUITARY ADENOMAS: RELATIONSHIP TO TUMOR BEHAVIOUR**
Tănase Cristiana
- 7. REZULTATE PRELIMINARE PRIVIND INVESTIGAREA EXPRESIEI MOLECULARE A ONCOGENEI DE FUZIUNE BCR-ABL CU FOLOSIREA MAI MULTOR VARIANTE DE EXTRACTIE A ARNM SI RT-PCR**
Borsaru Gabriela

Aplicarea unor teste enzimatic si moleculare pentru detectarea unor factori de virulenta si toxigenitate la tulpini de *V.cholerae* O1 si non O1 izolate in Rep. Moldova in perioada 1995-1999
ISRAIL ANCA-MICHAELA

48 *V. cholerae* O1 (39 from diarrhoeal cases, 7 surface waters, 2 fishes) and 42 *V. cholerae* non O1 (20 diarrhoeal cases, 22 surface waters) strains isolated during 1995-1999 in the Republic of Moldavia were tested to detect their phenotype traits, phage type, resistotype patterns, putative virulence factors and toxigenic abilities. Out of 48 *V. cholerae* O1 strains, 46 strains belonged to eltor (44 serotype Ogawa, 2 serotype Inaba) and 2 (serotype Ogawa) to classical biovar respectively. *V. cholerae* O1 strains exhibited 56% lysosensitivity the most frequent lysotypes M4 (26%) and M5 (16%), followed by b, c, d, e lysotypes (14%) being concentrated in 1995. *V. cholerae* O1 and non O1 strains were resistant to 7 of 11 antibiotics tested but all were constantly sensitive to tetracycline, doxycycline, cloramphenicol, nalidixic acid. The multiple antibiotic resistance in *V. cholerae* O1 strains isolated in aquatic medium was higher than in strains from diarrhoeal cases. Considering the resistance plasmid profiling, no resistance plasmids were found. Our results demonstrated that enzymatic production profiles exhibit some differences from *V. cholerae* O1 versus non O1 strains with respect to their source of isolation. This aspect could suggest a role of these factors in resistance and survival of *V. cholerae* strains in the environment where they may serve as a reservoir of virulence and multiple drug resistance genes. By comparative using of Kanagawa test and NAD reaction, on one side and ELISA method, on the other side, it was demonstrated that *V. cholerae* strains are also producing other ADP-ribosylating toxins different from CT (cholera toxin). By PCR it was demonstrated that 60% (23/39) of *V. cholerae* O1 strains isolated from diarrhoeal cases and 22% (2/9) from surface waters were CT positive. At the same time, the presence of *ctx* genes could not be always related with CT production, probably the respective *ctx* genes being repressed.

Aplicarea unor teste enzimaticice si moleculare pentru detectarea unor factori de virulenta si toxigenitate la tulpini de *V.cholerae* O1 si non O1 izolate in Rep. Moldova in perioada 1995-1999

ISRAIL ANCA-MICHAELA

48 de tulpini *V.cholerae* O1 (39 cazuri BDA, 7 ape, 2 pesti) si 42 *V.cholerae* non O1 (20 cazuri BDA si 22 ape), izolate intre 1995-1999 in Republica Moldova au fost testate pentru detectarea caracterelor fenotipice, fagotipului, pattern-urilor de rezistenta, eventualilor factori de rezistenta si capacitatii toxinogene. Din 48 tulpini *V. cholerae* O1, 46 au apartinut biotipului El Tor (44 serotipului Ogawa, 2 serotipului Inaba) si 2 (serotip Ogawa) biotipului clasic. Tulpinile de *V.cholerae* O1 au prezentat lizosensibilitate 56%, cele mai frecvente lizotipuri M4 (26%) si M5 (16%), urmate de b, c, d, e (14%), fiind concentrate in 1995. Tulpinile de *V.cholerae* O1 si non O1 au prezentat rezistenta la 7 din 11 antibiotice, fiind constant sensibile la TE, DOX, C si NA. La tulpinile de *V.cholerae* O1 izolate din ape, rezistenta multipla la antibiotice a fost mai inalta decat la tulpinile izolate din BDA. Nu s-au izolat plasmide de rezistenta. Rezultatele au demonstrat ca profilul enzimatic a prezentat diferente evidente atat intre tulpinile de *V.cholerae* O1 si non O1, cat si in raport cu sursa de izolare a acestora, ceea ce pledeaza pentru rolul acestor factori in rezistenta si supravietuirea tulpinilor *V.cholerae* in mediul extern, constituind rezervor de virulenta si antibiorezistenta. Rezultatele testului Kanagawa, reactiei NAD si metodei ELISA au demonstrat ca tulpinile de *V.cholerae* sunt producatoare si de alte toxine decat CT. Prin PCR s-a demonstrat ca 60% (23/39) tulpini *V.cholerae* O1 din BDA si 22% (2/9) din ape au fost CT pozitive. Prezenta genelor *ctx* nu s-a materializat totdeauna prin sinteza CT, probabil datorita represiei acestora.

8. SUBSTITUENTI DE TESUTURI DIN MEMBRANE COLAGENICE CU INSERTIE

Trandafir Viorica

9. PREDICTIA RĂSPUNSULUI INR LA TRATAMENTUL ANTICOAGULANT ORAL PRIN MODELAREA COMPUTERIZATĂ A FARMACOCINETICII SI FARMACODINAMICII DERIVATILOR CUMARINICI

Corlan Alexandru

10. ANTIINFLAMATOARE NESTEROIDIENE MODERNE DIN CLASA INHIBITORILOR SELECTIVI AI COX-2

Croitoru Maria

11. EXPRESIA MOLECULEI CD147 PE LIMFOCITELE T SI MONOCITELE PERIFERICE IZOLATE DE LA BOLNAVI CU LUPUS ERITEMATOS SISTEMIC

Stoian Răzvan

12. PROCEDEU ȘI PRODUSE NOI PENTRU TRATAREA PSORIAZISULUI

Andrei Constantin

13. INTERELATIA DIABET ZAHARAT - BOALA PARODONTALA. EVALUAREA STATUSULUI PARODONTAL LA UN GRUP DE PACIENTI DIABETICI INSULINO-DEPENDENTI

Andreescu Claudia Florina

14. CORELAȚII ÎNTRE MODIFICĂRILE STROMEI TUMORALE ȘI SISTEMUL GLEASON ÎN ADENOCARCINOMUL DE PROSTATĂ

Pleșea Emil

15. LEZIUNI ALE COLULUI UTERIN: CORELATII P16-KI 67

Lăzăroiu Anca

16. ANTIOXIDANT EFFECTS ON WALKER TUMOR GENOME

Mihalache Daria

17. SEMNIFICATIA DIAGNOSTICA A TESTELOR DE IMUNITATE CELULARA LA PACIENTI CU TUMORI VEZICALE

Ciotaru Dan

18. STUDIUL ROLULUI IMUNOHISTOCHEMIEI ȘI PCR ÎN STABILIREA DIAGNOSTICULUI POZITIV DE TUBERCULOZĂ EXTRAPULMONARĂ

Enache Dan

19. MONITORIZAREA GLOBALĂ A PROCESELOR BIOLOGICE CE AU LOC ÎN TIMPUL DIALIZEI RENALE CU SISTEME INFORMATICE DE INTELIGENȚĂ ARTIFICIALĂ ȘI INTERFEȚE SPECIALIZATE DE ACHIZIȚIE A DATELOR SEMNIFICATIVE ÎN TIMP REAL

Marin Radu

20. OBȚINEREA MEMBRANELOR DE HEMODIALIZĂ DIN DIVERȘI POLIMERI (CTR. 188/2002)

Marin Radu

21. ECHIPAMENTE PENTRU CONSERVAT CELULE SI TESUTURI UMANE IN VEDEREA TRANSPLANTULUI ALINIAȚE LA STANDARDELE EUROPENE

Supeanu Iulian

22. KIT DE ANALIZA A AMINOACIZILOR CU L-AMINOACID OXIDAZA SI PEROXIDAZA

Căpitănescu Cristian

Expression and potential immunotherapeutical role of MUC-1 antigen associated to breast cancer

Lorelei I. Brasoveanu¹, Mihaela D. Simioana¹, Dan Hotnog¹, Ileana Condrea², Marinela Bostan¹, Mariana C. Constantin¹, Maria I. Gruia²

¹Center of Immunology, Bucharest, ROMANIA

²Institute of Oncology “Prof. Dr.Alex. Trestioreanu”, Bucharest, ROMANIA

**This study was supported by National R&D Projects VIASAN 169/2002 and 235/2003.*

MUC-1 (EMA, CD227, CA15-3), a transmembrane mucin and also a counter-receptor for the cell adhesion molecule ICAM-1 (CD54), was found to be associated to several epithelial tumors like ovarian, breast and cervical cancers. Recent studies consider mucins and other tumor-associated antigens (TAA) as potential immunotherapeutical targets. The associated glycoform of MUC-1 is known to expose multiple peptide epitopes which make from it a promising tumor antigen with diagnostic as well as therapeutic role in human cancer. Complement (C)-activating monoclonal antibodies (mAb) specific for TAA may represent an effective method to prevent or reduce the dissemination of tumor cells, but these are usually resistant to C-mediated lysis, being protected from autologous C by membrane associated complement regulatory proteins (CRP) such as CD59 (protectin), CD55 (DAF) and CD46 (MCP).

Therefore, expressions of MUC-1, ICAM-1 and CRP associated to breast tumor cells isolated from patients were studied and compared to those associated to SK-BR-3 and MCF-7 breast adenocarcinoma cell lines. Since efficacy of oncological treatment often depends on the degree of tumor cell proliferation, the cell cycle phases of breast tumor cells were also investigated. In addition, functional studies of C-mediated cytotoxicity were performed by using C-activating mAbs developed against MUC-1, in the absence or presence of anti-CD59, anti-CD55 or anti-CD46 mAbs.

Our studies indicate that levels of expression of membrane-associated CRP could influence the effectiveness of immunotherapeutical strategies using mAbs directed to MUC-1, but the effect might be increased if the resistance of tumor cells is diminished by using anti-CRP mAb

Expresia si rolul potential in imunoterapie ale antigenului MUC-1 asociat cancerului de san

Lorelei I. Brasoveanu¹, Mihaela D. Simioana¹, Dan Hotnog¹, Ileana Condrea², Marinela Bostan¹, Mariana C. Constantin¹, Maria I. Gruia²

¹Centrul de Imunologie, Institutul de Virusologie "St. S. Nicolau", Bucuresti, ROMANIA

²Institutul Oncologic "Prof. Dr. Alex. Trestioreanu", Bucuresti, ROMANIA

**Studiu finantat din proiectele PNCDI - VIASAN 169/2002 and 235/2003.*

MUC-1 (EMA, CD227, CA15-3), o mucina transmembranara si totodata contrareceptor pentru molecula de adeziune celulara ICAM-1 (CD54), s-a demonstrat a fi asociata tumorilor epiteliale cum ar fi cancerle ovariene, mamare si cervicale. Studii recente considera mucinele si alte antigene asociate tumoral (TAA) drept potentiale tinte imunoterapeutice. Forma glicozilata asociata a lui MUC-1 expune epitopi peptidici multipli care fac din ea un antigen tumoral promitator cu rol diagnostic si terapeutic in cancerul uman. Anticorprii monoclonali (mAb) specifici pentru TAA si activatori ai complementului (C), pot reprezenta o metoda efectiva de a preveni sau reduce diseminarea celulelor tumorale, dar acestea sunt de obicei rezistente la liza C-mediata, fiind protejate fata de C autolog de catre proteinele reglatoare ale complementului (CRP) asociate membranei celulare cum ar fi CD59 (protectina), CD55 (DAF) si CD46 (MCP).

Astfel, expresiile MUC-1, ICAM-1 si CRP asociate celulelor tumorale mamare izolate de la paciente s-au studiat si comparat cu cele asociate liniilor celulare de adenocarcinom de san SK-BR-3 si MCF-7. Deoarece eficacitatea tratamentului oncologic adesea depinde de gradul de proliferare al celulelor tumorale, s-au investigat si fazele ciclului celular al celulelor tumorale mamare luate in studiu. In plus s-au realizat studii functionale de citotoxicitate C-mediata utilizand mAb anti-MUC-1, activatori ai C, in absenta sau prezenta mAb anti-CD59, anti-CD55 sau anti-CD46.

Studiile noastre demonstreaza faptul ca nivelurile de expresie ale CRP asociate membranelor ar putea influenta efectul strategiilor imunoterapeutice ce folosesc mAbs anti-MUC-1, dar ca acesta ar putea fi crescut daca rezistenta celulelor tumorale este diminuada prin utilizarea mAb anti-CRP.

23. POSIBILITATI DE FRACTIONARE A VENINULUI RECOLTAT DE LA VIPERA AMMODYTES UTILIZAND CROMATOGRAFIA IN FAZA LICHIDA

Drăghici Mirel

24. SURSE RADIOACTIVE DEDICATE INVESTIGAȚIEI MEDICALE PRIN METODA PET (POSITRON EMISSION TOMOGRAPHY)

Racolta Petru

25. ELABORAREA UNEI TRUSE DE DOZARE IMUNORADIOMETRICA(IRMA) A TIROTROPINEI UMANE(H-TSH)

Borza Virginia

26. VALOAREA DE DIAGNOSTIC A IGG/ IGM IN LIMFOAME CU AFECTARE ORL

Bleotu Coralia

27. EXPRESIA SI ROLUL POTENTIAL IN IMUNOTERAPIE ALE ANTIGENULUI MUC-1 ASOCIAT CANCERULUI DE SAN

Brașoveanu Lorelei

28. APLICAREA UNOR TESTE ENZIMATICE SI MOLECULARE PENTRU DETECTAREA UNOR FACTORI DE VIRULENTA SI TOXIGENITATE LA TULPINI DE V.CHOLERAE O1 SI NON O1IZOLATE IN REP. MOLDOVA IN PERIOADA 1995-1999

Israil Anca-Michaela

29. OBTINEREA SI ANALIZA STRUCTURALA SI BIOCHIMICA A ELASTINEI DE UZ MEDICAL

Crăciunescu Oana

ABSTRACTE

RAPOARTE ȘI COMUNICĂRI ORALE

APLICAȚII EXPERIMENTALE ȘI CLINICE ALE TERAPIEI CELULARE ÎN DIABETUL ZAHARAT TIP I

Sârbu Vasile

Lucrarea prezintă experiența Clinicii Chirurgie II – Spitalul Clinic de Urgență Constanța în terapia celulară a diabetului zaharat tip I. Transplantul de celule pancreatice este reprezentat fie de autotransplant (pentru prevenirea diabetului postpancreatectomie) fie de allotransplant. În România, programul de transplant de insule pancreatice a fost implementat la Constanța. Punerea la punct a Centrului de Transplant de Celule pancreatice a implicat pregătirea unei echipe de specialiști în prelevare și izolare și amenajarea a două noi laboratoare: unul pentru izolare a celulelor pancreatice umane și unul pentru izolarea celor de origine animală. Am început cu izolarea experimentală a insulelor pancreatice la porci, încercând să mărim pe cât posibil proporția de celule viabile, urmată de cultura celulară și inducția și menținerea imunosupresiei. A urmat apoi realizarea de alotransplant la șobolani cu diabet Indus de streptozotocin, injectând concentratul celular sub capsula renală; de asemenea am realizat autotransplant la câini cu pancreatectomie totală. Rezultatele au fost evaluate cu ajutorul microscopiei electronice, imunohistochimiei, monitorizării glicemiei, peptidului C și a insulinemiei. La om am început prin a crea un registru al pacienților eligibili pentru autotransplant sau alotransplant și am continuat cu realizarea a două autotransplante pentru prevenirea diabetului la pacienți pancreatectomizați. În concluzie, terapia celulară a diabetului zaharat reprezintă o alternativă terapeutică viabilă în tratamentul diabetului zaharat tip I.

EBV involvement in lymphomas with head and neck localization

Coralia Bleotu¹, Carmen C. Diaconu¹, Gabriela Anton¹, Raluca Dragusin², Oana Ciocan^{2,3}, Ileana Popa², Mihaela Chivu¹, Irina Alexiu¹, Camelia Grancea¹, Simona M. Ruta^{1,3}, C.R. Popescu^{2,3}, C.C. Cernescu^{1,3}

¹ “St. S. Nicolau” Institute of Virology, Bucharest

² “Coltea” Clinic Hospital, Bucharest

³ “Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

Considerable evidence has been accumulating in favor of a possible involvement of viral agents in pathogenesis of human lymphomas. The purpose of this study was to determine the frequency of EBV infections by examining the levels of antibodies against viral proteins.

The group inclusion criteria were the presence of lymphoma diagnostic and head and neck implications with nodal and/or extra-nodal onset: head and neck lymphadenopathy (26), base of tongue (1), anterior two thirds of tongue (1), epiglottis (1), tonsils (2), lips (1). The mean age of the group was 49.4 ± 14.7 , and male/female ratio was 18/9. Morphological analysis was performed on standard hematoxylin eosin stained sections from formalin-fixed and paraffin-embedded tissue. The presence of anti-EBV-specific antibodies was tested using the EBV EBNA IgG, or IgM ELISA kits (DIA.PRO, Diagnostic Bioprobes).

Histological types were: Hodgkin's disease (5), small B lymphocytic lymphoma (4), diffuse large B cell lymphoma (5), follicular lymphoma (3), mantle cell lymphoma (1), Burkitt-like lymphoma (1), marginal zone B-cell lymphoma of nodal type (1), lymphoplasmocytic lymphoma (2), T cell lymphoma (5). The results of this study showed high EBNA-IgG concentration (604.02 ± 591.06 , range 30.98 UI/ml-1741.48 UI/ml). One serum sample was negative. Avidity index values were high in all cases excepting negative sample. Seropositivity EBNA-IgM was correlated with DNA EBV from nodes.

Keywords: lymphomas, EBV, EBNA-IgG, EBNA IgM, avidity index

Supported by: VIASAN 223, VIASAN 277

Valoarea de diagnostic a IgG/ IgM in limfoame cu afectare ORL

Coralia Bleotu¹, Carmen C. Diaconu¹, Gabriela Anton¹, Raluca Dragusin², Oana Ciocan^{2,3}, Ileana Popa², Mihaela Chivu¹, Irina Alexiu¹, Camelia Grancea¹, Simona M. Ruta^{1,3}, C.R. Popescu^{2,3}, C.C. Cernescu^{1,3}

¹ Institutul de Virusologie "St. S. Nicolau"

² Spitalul Clinic "Coltea"

³ Universitatea de Medicina si Farmacie "Carol Davila"

Există o serie de studii care sustin implicarea agentilor virali in patogeneza limfoamelor umane. Scopul acestui studiu a fost determinarea frecventei infectiei EBV prin examinarea nivelurilor anticorpilor anti proteine virale.

Criteriul de includere in grup a fost diagnosticul de limfom si afectarea ORL. Media de varsta a grupului a fost $49,4 \pm 14,7$, iar raportul barbati / femei a fost 18 /9. Analizele morfologice s-au realizat prin coloratii histologice cu hematoxilina-eozina pe sectiuni imparafrinate. Prezenta anticorpilor specifici IgG / IgM anti EBNA1 a fost investigata cu ajutorul testelor ELISA (DIA.PRO, Diagnostic Bioprobes).

Lotul a cuprins urmatoarele tipuri histologice de limfom: boala Hodgkin (5), limfom limfocitic cu celula B mica (4), limfom difuz cu celula mare B (5), limfom folicular (3), limfom de manta (1), limfom Burkitt-like (1), limfom de zona marginala (1), limfom limfoplasmocitic (2), limfom cu celula T (5). Concentratiile IgG EBNA1 au fost crescute ($604,02 \pm 591,06$, intre 30,98 UI/ml-1741,48 UI/ml). O singura proba a fost negativa. Valorile indexului de aviditate au fost crescute in toate cazurile cu exceptia probei negative. Seropozitivitatea IgM EBNA1 a fost corelată cu prezenta ADN EBV in tumora.

Cuvinte cheie: limfoame, EBV, EBNA-1 IgG/ IgM, index de aviditate

Suportat de: VIASAN 223, VIASAN 277

EXPERIMENTAL AND CLINICAL APPLICATIONS OF CELLULAR THERAPY IN DIABETES MELLITUS TYPE I

Sârbu Vasile

The paper presents the experience of the II-nd Clinic of Surgery – Clinical Emergency Hospital of Constanta in performing cell therapy in type I diabetes. Islet cell transplantation can be either an autotransplantation (for preventing the diabetes after total pancreatectomy) or an allotransplantation, In Romania, the program of the islet cell transplantation was implemented in Constanta. The setting up of the Islet transplant Center in Constanta involved the team training in islet isolation, pancreas procurement, set up of a two new labs: one for human islet isolation, and human islet culture, and one for the experimental studies including preclinical diabetes models. We started with experimental isolation of pancreatic islets in pigs trying to maximize the viable islet yield, islet culturing and induction and maintenance of immunosuppression. Then we performed allotransplantation in R Wistar rats, with Streptozotocin induced diabetes, under the kidney capsule and autotransplantation in pancreatectomized dogs. Also the in vivo results of islet transplantation were assessed by electron microscopy, immunocytochemistry, blood glucose monitoring, C peptide levels, insulinemia. In humans we started by creating a registry of patients with diabetes eligible for autotransplantation and allotransplantation and continued by performing 2 autotransplants in patients with subtotal pancreatectomy. In conclusion, the cell therapy represents a viable treatment option for selected patients of type I diabetes mellitus.

STRATEGII DE OPTIMIZARE A UNOR SISTEME DE CULTURA PENTRU CELULELE STEM HEMATOPOIETICE

Mihaela Chivu

Institutul de Virusologie "St. S. Nicolau",

Sos. Mihai Bravu nr. 285, cod 030304, București, Romania

Celulele stem hematopoietice reprezintă o sursă auto-regeneratoare de material pentru terapia celulară. Aplicabilitatea celulelor stem în terapia clinică este însă limitată de numărul redus de celule disponibile. Principala cale de stimulare a expansiunii celulelor stem hematopoietice *in vitro* se bazează pe manipularea micromediului de cultură. Prezentul studiu a fost realizat pentru a evalua impactul a diferite condiții de cultură asupra celulelor stem hematopoietice. Sistemele propuse au avut la bază utilizarea unui substrat nutritiv de celule stromale, adăuga de citokine exogene, folosirea drept factor stimulator a mediului condiționat de placentă. Celulele obținute au fost investigate pentru diferite caracteristici celulare prin analiza antigenelor de suprafață, a ciclului celular și a abilității de a forma colonii. Cele mai bune rezultate au fost obținute atunci când pentru stimulare a fost utilizată o combinație a tuturor factorilor. Celulele au reținut abilitatea de a se auto-regenera fapt demonstrat prin creșterea numărului de progenitori CD34⁺CD71⁻ și CD34⁺HLA-DR⁻, păstrând de asemenea capacitățile replicativă și funcțională, confirmate prin activarea în faza S a ciclului celular și formarea de colonii. În concluzie, studiul a condus la rezultate promițătoare, care pot fi utile în vederea dezvoltării sistemelor de cultură pentru expansiunea celulelor stem și a progenitorilor hematopoietici. Aceste metode trebuie totuși îmbunătățite înaintea utilizării celulelor stem multiplicare în terapii celulare.

Development of an immunoradiometric assay (IRMA) kit for human thyrotropin (h-TSH)

Virginia Borza¹, Elena Neacsu¹, Maria Sahagia¹, Mariana Purice², Julieta Zaharescu³

¹ "Horia-Hulubei" National Institute for Physics and Nuclear Engineering IFIN-HH
Bucharest, Romania

² "C.I.Parhon" Institute of Endocrinology, Bucharest, Romania

³ University Hospital, Bucharest, Romania

The aim of this study was the development of an IRMA kit for direct determination of h-TSH in serum or plasma. Two high affinity monoclonal antibodies are involved in this assay system. One antibody was ¹²⁵I-radiolabeled; the radioiodination was carried out by Chloramine T method and reaction mixture was purified on a Sephadex G-150 column. The specific activity is 15-20 mCi/mg. The second antibody was immobilized on polystyrene tubes by adsorption from 0.05M phosphate buffer, pH 7.4. Standards with concentration between 0.15-50 μUI/mL were prepared in horse serum using IRP 2 human TSH 80/558. The buffer used in immune reaction was 0.05M phosphate buffer, pH 7.4, containing 0.2% BSA and 0.1% Tween 20 and a solution of 0.05M phosphate buffer, pH 7.4 was used as wash buffer.

In the assay procedure are used 0.2 mL serum sample and 0.1 mL labeled antibody.

The validation of this method was also carried out in this study. The results obtained were the following: sensitivity ≤0.035 μUI/mL, the intra and interassay coefficient of variation ≤10 %, recovery: 96-104 %, recovery in dilution test : 98-108 %. The TSH concentration measured in clinic samples by our kit and a Bayer kit correlate very well (r =0.9965, n=31)

The h-TSH IRMA kit developed in this study has been found to be sensitive and precise.

Elaborarea unei truse de dozare imunoradiometrica (IRMA) pentru tirotropina umana(h-TSH)

Virginia Borza¹, Elena Neacsu¹, Maria Sahagia¹, Mariana Purice², Julieta Zaharescu³

¹ Institutul National de C&D pentru Fizica si Inginerie Nucleara « Horia Hulubei » IFIN HH Bucuresti Romania

² Institutul de Endocrinologie « C.I.Parhon »,Bucuresti, Romania

³ Spitalul Universitar, Bucuresti, Romania

Scopul acestui studiu a fost elaborarea unei truse de dozare imunoradiometrica a h-TSH-ului direct din ser sau plasma. In acest sistem de dozare sint implicati doi anticorpi monoclonali cu afinitate ridicata. Unul din anticorpi este marcat cu ¹²⁵I ; marcarea s-a realizat prin metoda cloraminei T, iar purificarea amestecului de reactie prin cromatografie pe o coloana de Sephadex G-150. Activitatea specifica a anticorpului marcat a fost de 15-20 mCi/mg. Celalalt anticorp a fost imobilizat pe tuburi de polistiren ,prin adsorbție dintr-o solutie de tampon fosfat 0,05M, pH 7,4.

Standardele cu concentratii cuprinse intre 0,15-50 μ UI/mL au fost preparate in ser de cal utilizind standardul de referinta secundar, TSH 80/558. Tamponul utilizat in reactia imuna a fost tamponul fosfat 0,05M, pH 7,4, continind BSA 0,2% si Tween 20 ,0,1%, iar pentru spalare tamponul fosfat 0,05M, pH 7,4.

In studiile efectuate s-a realizat de asemenea si validarea acestei truse. Rezultatele obtinute au fost urmatoarele: sensibilitatea 0.035 UI/mL, coeficientul de variatie intra si interdozare \leq 10%, recuperarea : 96-104%, recuperarea in testul de dilutie : 98-108%. Valorile concentratiilor TSH-ului masurate in probe clinice cu trusa elaborata de noi si cu o trusa produsa de Bayer se coreleaza foarte bine ($r=0.9965$, $n=31$).

Trusa IRMA pentru dozarea TSH-ului elaborata de noi in urma acestui studiu s-a dovedit a fi sensibila si precisa.

STRATEGIES TO OPTIMIZE CULTURE SYSTEMS FOR

HEMATOPOIETIC STEM CELLS

Mihaela Chivu

“St. S. Nicolau” Institute of Virology,
285 Mihai Bravu, code 030304, Bucharest, Romania

ABSTRACT

Hematopoietic stem cells represent a renewable source of material for cellular therapy. However, the promise of stem cells for clinical therapy, is limited because the number of available cells is inadequate. Manipulation of the *in vitro* culture microenvironment has been the predominant approach in studies attempting to expand primary human hematopoietic stem cells *in vitro*. The present study was designed to assess several culture systems such as, stromal feeder layer, growth factors and placental conditioned medium, for *in vitro* maintenance of umbilical cord blood stem cells. The expanded cells were assessed for cellular characteristics by surface antigen analysis, cell cycling status and colony-forming cell assay. The highest activation was observed when a combination of all factors was used for stimulation. Cells retained their self-renewal ability as demonstrated by the increase in CD34⁺CD71⁻ and CD34⁺HLA-DR⁻ progenitor number, and maintained the replicative and functional capacity as showed by activation into S-phase of cell-cycle and clonogenic assay. In conclusion, promising results have been achieved by our study, which might be useful when designing culture systems for *ex vivo* expansion of stem and progenitor cells. However, these methods must be improved before using these stem cells in cellular therapies.

Protocol pentru regenerare miocardica prin transplant autolog de celule stem medulare.

Bogdan Mut-Vitcu¹, Daniela Luminita Popa¹, Milovan Slovenski¹, Virgil Paunescu², Adina Ionac¹, Simona Popa³, Stefan I. Dragulescu¹. ¹Institutul de Boli Cardiovasculare Timisoara; ²Universitatea de Medicina si Farmacie Victor Babes Timisoara; ³Euromedic Romania, Centrul de Diagnostic Imagistic Arad.

Introducere: Studii clinice si experimentale au aratat ca transplantul de celule stem medulare diminueaza procesul de remodelare ventriculara post-infarct miocardic acut (IMA) si contribuie la regenerarea si neovascularizatia miocardului ischemic. Obiectivul a fost sa evaluam daca aceasta procedura poate influenta benefic functia ventriculara stinga (VS).

Metoda: Au fost inrolati noua pacienti cu IMA sau recent (1-28 de zile), cu reperfuzie tardiva (angioplastie percutanata transluminala cu implant de stent la nivelul arterei responsabile de infarct) si fractie de ejectie a VS \leq 40%. Celulele medulare AC133⁺ recoltate din creasta iliaca posterioara si prelucrate au fost injectate prin balon-cateter in artera coronara responsabila de infarct. Determinarea perfuziei miocardice s-a efectuat scintigrafic (Tc-99m-sestamibi) initial si respectiv la 3, 6 si 12 luni.

Rezultate: Periprocedural nu au survenit complicatii majore; nu s-au inregistrat cresteri ale CK si CK-MB sau aritmii maligne. La 1 si 3 luni (la opt pacienti din lot s-a efectuat vizita de 3 luni) pacientii nu au prezentat angina, aritmii sau alte evenimente clinice adverse. La 3 luni exista o reducere semnificativa a defectului de perfuzie determinat scintigrafic (defect de perfuzie: 50.37 \pm 20.14cm² vs. 38.87 \pm 18.87cm², p<0.002; extent: 34.63 \pm 11.95% vs 26.63 \pm 13.17%, p<0.003) si o crestere semnificativa a perfuziei segmentare (29.72 \pm 12.29% vs 40.81 \pm 14.4%, p<0.005). Evaluarea seriata ecocardiografica a demonstrat imbunatatirea functiei sistolice a VS (FE: 34 \pm 6% vs 41.4 \pm 6.8%, p<0.001).

Concluzii: Rezultatele preliminare sugereaza ca transplantul autolog de celule stem medulare prin injectare intracoronariana este o metoda sigura si fezabila, cu potential de ameliorare a functiei miocardice.

Cuvinte cheie: celule stem, infarct miocardic, transplant autolog

Fractionating possibilities of the venom from *Vipera Ammodytes* using the liquid phase chromatography.

C.Capitanescu¹, A.D.Capitanescu¹, M.Draghici², A.Draghici², R. Dreptu²

¹ Ecodet Activ, str. Fizicienilor nr. 22, Bucuresti

² D.M.Tech Eco, Sos. Pantelimon nr. 119, Bucuresti

For the characterization of the venom from *Vipera Ammodytes*, two fractionating chromatographic technics based on different fundamentals were applied.

Ionic exchange chromatography. The separation was made on carboxymethyl cellulose which allowed the different elution based on isoelectrical points of the proteins. The used eluents: acetate buffer solutions with pH=5,5 . There were collected 80 fractions for which the absorbance at 278,5 nm and the specific activity were determined. Three distribution areas were emphasized: (i) the first area containing acid proteins, the most important being L-aminoacid-oxidase (maximum activity 3,321 U.I./ml); (ii) in the second area, proteins with pI around 7 were found, most of them being proteolytic activity enzymes (maximum activity 0,337 U.Tyr/ml); (iii) the third area containing alkaline proteins, most of them having phospholipasic activity (maximum activity 230U.I./ml).

Steric exclusion chromatography. **The separation was made on Sephadex, that allows** separation for proteins with masses between 5-250 kDa. The eluent was a phosphate buffer solution 0,1M with pH= 7,5 . There were collected 80 fractions for which the absorbance was determined at 278,5 nm. The analysis of the fractions **emphasized three distribution** areas: (i) the first elution **containing** proteins with high molecular masses, like phosphatase and L-aminoacid-oxidase; (ii) the second area **containing** proteins with the molecular masses 60-40 kDa, most of **them** being protheolitical enzymes; (iii) the small masse proteins area, 30-15kDa, most of **them** having phospholipazic activity..

Posibilitati de fractionare a veninului recoltat de la Vipera ammodytes utilizand cromatografia in faza lichida

C.Capitanescu¹, A.D.Capitanescu¹, M.Draghici², A.Draghici², R.Dreptu²

¹ Ecodet Activ, str. Fizicienilor nr. 22, Bucuresti

² D.M.Tech Eco, Sos. Pantelimon nr. 119, Bucuresti

Pentru caracterizarea veninului recoltat de la Vipera ammodytes s-au aplicat doua tehnici cromatografice de fractionare, functionand pe principii fundamentale diferite.

Cromatografie de schimb ionic. Separarea s-a realizat pe carboximetil celuloza care a permis elutia diferentiata in functie de punctele izoelectrice ale proteinelor. Eluentii utilizati: solutii tampon acetat cu pH = 5,5. S-au colectat 80 de fractiuni pentru care s-a determinat absorbanta la 278,5 nm si activitatea specifica. S-au evidentiat trei zone distincte: (i) prima zona de elutie continand proteinele acide dintre care ponderea majora o detine L-aminoacid-oxidaza (activitate L-aminoacid-oxidazica maxima 3,321 U.I./ml); (ii) zona a doua de elutie in care se regasesc proteine cu pI in jurul valorii 7, ponderea majora fiind detinuta de enzimele proteolitice (activitate proteolitica maxima 0,337 U.Tyr./ml); (iii) zona a treia continand proteine bazice, predominante fiind enzimele cu activitate fosfolipazica (activitate fosfolipazica A₂ maxima 230 U.I./ml).

Cromatografie de excludere sterica. S-a utilizat gel Sephadex-G200 care permite separari pentru proteine cu mase moleculare cuprinse intre 5 – 250 kDa. Eluent utilizat: solutie tampon fosfat de concentratie 0,1 M si pH = 7,5. Au fost colectate 80 de fractiuni pentru care s-a determinat absorbanta la lungimea de unda de 278,5 nm. Analiza fractiunilor a evidentiat trei zone de elutie distincte: (i) prima zona de elutie continand proteinele cu mase moleculare mari, precum fosfataza si L-aminoacid-oxidaza; (ii) zona a doua de elutie continand proteine cu masa moleculara 60 – 40 kDa dintre care ponderea majora o detin enzimele proteolitice; (iii) zona proteinelor cu mase moleculare mici, 30 – 15 kDa, predominante fiind cele cu activitate fosfolipazica.

Protocol for myocardial regeneration by autologous bone-marrow stem cell transplantation

Bogdan Mut-Vitcu¹, Daniela Luminita Popa¹, Milovan Slovenski¹, Virgil Paunescu², Adina Ionac¹, Simona Popa³, Stefan I. Dragulescu¹. ¹Institute of Cardiovascular Medicine Timisoara; ²University of Medicine and Pharmacy Victor Babes Timisoara; ³Euromedic Romania, Imagistic Diagnosis Center Arad.

Introduction: Experimental and clinical studies suggest that transplantation of bone marrow derived stem cells beneficially affect left ventricular (LV) remodeling process after acute myocardial infarction (AMI) and contribute to the regeneration of infarcted myocardium and neovascularization of ischemic myocardium. We aimed to assess whether this procedure could improve global left-ventricular function.

Method: Nine patients with successful late reperfusion (percutaneous coronary intervention with stent implantation in AMI related coronary artery) and LV ejection fraction $\leq 40\%$ after acute or recent (1 to 28 days) large myocardial infarction, were enrolled. Bone marrow AC133⁺ cells harvested from the posterior iliac crest were processed and injected by balloon-catheter into the infarct-related artery. We assessed myocardial perfusion with ECG-gated myocardial SPECT (Tc-99m-sestamibi) at baseline, 3, 6 and 12 months.

Results: No major periprocedural complications occurred; there were no increases in CK, CK-MB levels and no malignant arrhythmias. After 1 and 3 months (eight patients completed 3 months follow-up) all patients were free of angina, arrhythmias or adverse clinical events. After 3 months we noted significant decrease of perfusion defect detected by myocardial SPECT (perfusion defect: $50.37 \pm 20.14 \text{ cm}^2$ vs. $38.87 \pm 18.87 \text{ cm}^2$, $p < 0.002$; extent: $34.63 \pm 11.95\%$ vs $26.63 \pm 13.17\%$, $p < 0.003$) and significant increase in segmentary perfusion ($29.72 \pm 12.29\%$ vs $40.81 \pm 14.4\%$, $p < 0.005$). Serial cardiac ultrasound assessment demonstrated improvement of cardiac function (EF: $34 \pm 6\%$ vs $41.4 \pm 6.8\%$, $p < 0.001$).

Conclusions: These preliminary results suggest that autologous bone marrow stem cells transplantation by intracoronary infusion proves to be a safe and feasible method, with potential of myocardial function improvement.

Key Words: stem cells, myocardial infarction, autologous transplantation

FACTORI CELULARI DE REZISTENTA MULTIPLA (MDR) – NOI STRATEGII DE EVALUARE

DIACONU C.C¹, CHIVU M¹, BLEOTU C¹, ALEXIU I¹, ANTON G¹, PLESA A¹, BRASOVEANU L², AND CERNESCU C¹

¹Institutul de Virusologie, Bucuresti, ²Centrul de Imunologie, Bucuresti

Premize si obiective: Caracterizarea fenotipului MDR are potentialul de a revolutiona dezvoltarea unor medicamente noi si aplicarea unor terapii individualizate.

Scopul acestui studiu a fost dezvoltarea si standardizarea metodelor de detectie a MDR atat pentru screeningul preliminar al unor noi compusi cat si pentru identificarea profilului MDR al pacientilor in scopul personalizarii terapiei.

Metode: Sublinii rezistente au fost obtinute prin expunerea celulelor liniei MOLT-4 la concentratii crescande de diferite medicamente. Gradul lor de rezistenta (DR) a fost determinat de valorile IC50 (metoda XTT) iar functionalitatea pompelor de eflux a fost evaluata fluorimetric prin acumularea calceinei (CA). Exprimarea diferitelor proteine MDR si nivelele mRNA pentru MDR au fost determinate utilizand anticorpi anti-MDR si respectiv, metoda RT-PCR.

Rezultate: Proteinele MDR si mRNA pentru MDR au fost supraexprimate in toate subliniile rezistente in corelatie cu DR si CA. Aceste linii celulare au servit ca sursa de antigen pentru validarea unei metode de screening pentru determinarea MDR la pacienti (sensibilitatea = 80%; selectivitatea =100%).

Concluzii: DR si CA s-au corelat cu nivelele de exprimare a proteinelor si mRNA pentru MDR. Aceste metode permit un screening economic si rapid al unor potentiale noi medicamente si de asemenea pot fi utilizate in stabilirea profilului MDR al pacientilor in scopul personalizarii terapiei.

Aceasta lucrare a fost finantata prin PNCDI VIASAN 051/2001 și PNCDI VIASAN 223/2003

Kit of analysis of amino acids using L- amino acid oxidase and peroxidase

Adriana Căpitănescu *, C. Căpitănescu**, C. Bîsceanu***

*S.C. Sindan S.R.L., 11th Ion Mihalache Blvd., 78168 Bucharest 1, Romania, tel (40)-21-2601767

**National Environmental Protection Agency, 151th Lacul Morii Street, Bucharest 6, Romania, tel (40)-21-4934237

***S.C. Pichem S.R.L., 2nd Rodul Pământului Street, Bucharest 3, Romania, tel (40)-21-2433126

Because of the importance of amino acids in human metabolism, their determination was and still is a present concern of clinical analytical biochemistry.

This paper studies the possibilities of amino acids determination, using coupling of two enzymatic reaction, namely reaction with L- amino acid oxidase, LAO and peroxidase , POD. Among many varieties of methods, the one using analytical system based on spectrophotometric determination of amino acids with LAO, POD, 4-aminoantipyrine and phenol is the most suitable.

There were studied 3 variants of reaction systems for determination of total level of L- amino acids from biological fluids, using the coupling of two enzymatic reaction of LAO and POD with different chromogens .

The analyse of those methods allows us the following comments:

- the methods of L- amino acids determination with LAO by assaying H₂O₂ using peroxidase and N,N-dimethyl-p-phenylendiamine is the less suitable, because of the low stability of the chromogen solution, the intense color developed by blank solution and the toxicity of N,N-dimethyl-p-phenylendiamine;

- the methods using p-phenylendiamine is simple and sensitive, but the solutions of chromogens are not very stable (1 – 2 months in a cold place) and cancerous ;

- the method of assaying H₂O₂ using peroxidase and 4-aminoantipyrine/phenol is fit for a lab purposes and possibilities taking into account the working steps, the reaction time (2 steps – solution with combined reagents, 15 / 20 minutes/determination), the acceptable toxicity and good stability of reagents.

Kit de analiza a aminoacizilor cu L-aminoacid oxidaza si peroxidaza

*Adriana Căpitănescu **, *C. Căpitănescu***, *C. Bîsceanu****

*S.C. Sindan S.R.L., B-dul. Ion Mihalache ,nr.11, 78168 Bucuresti 1, Romania, tel (40)-21-2601767

**Agentia Nationala pentru Protectia Mediului, Lacul Morii nr. 151, Bucuresti 6, Romania, tel (40)-21-4934237

***S.C. Pichem S.R.L., Rodul Pământului nr. 2, Bucuresti 3, Romania, tel (40)-21-2433126

Datorita importantei pe care o detin in cadrul metabolismului dozarea aminoacizilor a constituit si continua sa ramina o preocupare actuala a biochimiei analitice clinice. Avind in vedere particularitatile acestui tip de investigatii colective de cercetare din intrega lume sunt interesate sa puna la punct metode de dozare a aminoacizilor care sa aiba o buna specificitate , un pret de cost rezonabil al consumabilelor si sa necesite un timp scurt de analiza si echipamente putin costisitoare.

Aceasta lucrare studiaza posibilitatile de realizare a unei metode de dozare a aminoacizilor utilizind cuplajul a doua reactii enzimactice si anume reactia cu L-aminoacidoxidaza, (LAO) si peroxidaza, (POD).

Se constata ca dintre mai multe variante metoda care utilizeaza sistemul analitic bazat pe dozarea spetrofotometrica a aminoacizilor cu LAO,POD, 4-aminoantipirina si fenol este cea mai adecvata scopurilor propuse .

Au fost studiate trei variante de sisteme de reactie pentru dozarea nivelului total de L-aminacizi din fluidele biologice utilizind cuplajul a doua reactii enzimactice LAO si POD cu diferiti agenti cromogeni .

S-a constatat ca metoda de dozare a L-aminoacizilor cu LAO prin dozarea apei oxigenate cu peroxidaza si N,N-dimetil-p-fenilendiamina este cea mai putin adecvata datorita stabilitatii reduce a solutiei de cromogen , a unei coloratii relativ mari a blank-ului precum si a toxicitatii NN-dm-pfd .

Metoda de dozare care utilizeaza p-fenilendiamina este simpla si sensibila dar solutiile de reactiv de culoare au o stabilitate 1-2 luni (la rece) si sunt si cancerigene;

CELLULAR FACTORS OF MULTIDRUG RESISTANCE (MDR) – NEW STRATEGIES OF EVALUATION

DIACONU C.C¹, CHIVU M¹, BLEOTU C¹, ALEXIU I¹, ANTON G¹, PLESA A¹, BRASOVEANU L², AND CERNESCU C¹

¹Institute of Virology, Bucharest, ²Center of Immunology, Bucharest

Background: Characterization of MDR phenotype has the potential to revolutionize the drug discovery process and provide new opportunities for individualization of therapy. The aim of this study was to develop and standardize MDR detection methods for preliminary screening of new compounds and also to identify the MDR pattern of the patients in order to individualize the therapy.

Methods: MDR sublines were developed by exposing MOLT-4 cells to stepwise increasing concentrations of various drugs. Degrees of resistance (DR) were assessed in terms of IC50 values (XTT assay) and their function was evaluated in terms of Calcein accumulation (CA) in a fluorimetric assay. The levels of MDR and *MDR* mRNA expression were estimated using the anti-MDRs antibodies and RT-PCR, respectively.

Results: MDR proteins and *MDR* mRNA were overexpressed in all MDR sublines in proportion to the DR and CA. These cell lines served as antigen source for coating microtiter plates in order to validate a high throughput procedure developed for MDR proteins detection in patients (sensitivity= 80%; selectivity =100%).

Conclusions: The DR to the different drugs was well correlated with the expressions of MDR mRNA and functional MDR. These assays permit a rapid and economical screening of prospective drugs and also may identify the MDR profile of the patients in order to individualize the therapy.

This work was supported by National Projects for R&D VIASAN 051/2001 and 223/2003

Studiul hipoxiei și deprivării de oxigen și glucoză în culturi primare de neuroni granulari cerebelari

A-M. ZĂGREAN

Laborator Neuroștiințe, Departament Fiziologie, UMF "Carol Davila" București

Expunerea la diferite grade de hipoxie și ischemie determină modificări adaptative complexe în celulele nervoase. Aceste procese sunt implicate în fenomenul de toleranță ischemică și în obținerea neuroprotecției. În studiul de față am utilizat un model de hipoxie și ischemie *in vitro*, pe culturi primare de neuroni cerebelari granulari, în care reacția neuronală la expunerea hipoxică și ischemică a fost evaluată prin testul de viabilitate celulară cu MTT și prin colorația de excludere cu albastru tripan. Neuronii cerebelari granulari *in vitro* se diferențiază morfologic și funcțional, formând o cultură omogenă. Capacitatea glicolică crescută a acestor neuroni favorizează studiul reacțiilor adaptative celulare față de expunerea hipoxică / ischemică. În modelul nostru, culturile de neuroni obținute de la șobolani Wistar (P5) sunt menținute într-un mediu de cultură complet (BME, GIBCO) suplimentat cu 25 mM KCl, într-un incubator cu 5% CO₂ la 37°C. Expunerea la hipoxie *in vitro* (5% CO₂, 95% N₂) se realizează în camere de incubare MIC-101, Billups-Rothenberg inc., la 37°C. Expunerea la ischemie *in vitro* (deprivare de oxigen și glucoză) este realizată prin plasarea culturilor într-un mediu fără glucoză. Culturile test sunt expuse la hipoxie sau ischemie *in vitro* pentru o perioadă de timp de 3 ore, iar cele control sunt păstrate în atmosferă normoxică pentru același interval de timp. Evaluarea leziunilor celulare este efectuată atât imediat după expunerea hipoxică/ischemică, cât și după 24 ore de reoxigenare. Viabilitatea celulară, apreciată prin activitatea mitocondrială, este cuantificată prin conversia 3-(4,5-dimetiltiazol)-2,5-diphenil tetrazolium bromide (MTT) în formazan și măsurată spectrofotometric ca densitate optică. Gradul de moarte celulară este apreciat prin colorația de excludere cu albastru tripan și exprimat ca procent al neuronilor granulari albastru tripan pozitivi din numărul total de neuroni. Gradul de leziune celulară determinat prin cele 2 metode este discutat comparativ. De asemenea, este estimată influența reoxigenării asupra leziunilor induse de hipoxia/ischemia *in vitro*.

Acest studiu este finanțat prin proiectul VIASAN nr 253/2003.

ECHIPAMENTE PENTRU CONSERVAT CELULE SI TESUTURI UMANE IN VEDEREA TRANSPLANTULUI ALINIATE LA STANDARDELE EUROPENE

S.C. PNEUMATIC & VACUUM TECHNOLOGY S.A

Ing. Iulian Supeanu

Echipamentele pentru conservarea celulelor si tesuturilor umane, intrate astazi in practica chirurgicala din Romania, gaseste in transplant una dintre cele mai interesante aplicatii ale sale.

Primul echipament profesional si specializat, destinat crioconservarii tegumentului uman pentru transplant din Romania, a fost conceput, proiectat si realizat sub directa indrumare a sefului clinicii de chirurgie plastica din Spitalul Clinic de Urgenta, Grigore Alexandrescu, Prof. Dr. Dan Mircea Enescu, impreuna cu colectivul de cercetatori din cadrul firmei Pneumatic & Vacuum Technology

Utilizand rezultatele cercetarii stiintifice am reusit sa realizam impreuna echipamente pentru conservat practic orice fel de tesut, pentru durata nelimitata.

**MONITORIZAREA GLOBALĂ A PROCESELOR BIOLOGICE
CE AU LOC ÎN TIMPUL DIALIZEI RENALE CU SISTEME
INFORMATICE DE INTELIGENȚĂ ARTIFICIALĂ ȘI
INTERFEȚE SPECIALIZATE DE ACHIZIȚIE A DATELOR
SEMNIFICATIVE ÎN TIMP REAL**

Marin RADU, Constantin CRISTOI, Radu IORDĂCHEL, Mircea
DINESCU,
Liliana PASĂRE, Florica RADU

S-a elaborat un sistem de monitorizare globală și de reglare automată a proceselor biologice ce au loc în cadrul operațiilor de dializă renală, utilizând sisteme informatice clasice și de inteligență artificială, cuplate astfel încât să formeze un sistem informatic complex.

Sistemul prelucrează în timp real un volum mare de informații, în coroborare cu alte informații din fișierul istoricului medical al pacientului și emite decizii privind efectuarea operației de hemodializă pentru fiecare pacient.

Hypoxia and oxygen-glucose deprivation study on cerebellar granule neurons in primary culture

A-M. ZĂGREAN

Neuroscience Laboratory, Physiology Department, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy

Exposure to different levels of hypoxia and ischemia trigger complex endogenous changes in the nervous cells. These changes are involved in ischemic tolerance phenomena and in neuroprotection. In this study we used an *in vitro* hypoxia and ischemia model on cerebellar granule neurons in primary culture. The neuronal response was assessed both by MTT viability test and by Trypan Blue exclusion staining. Cerebellar granule neurons differentiated *in vitro* both morphologically and functionally and contain a homogenous neuronal population. In addition, cerebellar granule neurons in culture have a high glycolytic capacity that suggests a higher resistance to hypoxia and enables the study of neuronal adaptive responses. Primary cultures of cerebellar granule cells obtained from rat pups on postnatal day 5 were maintained in a 25 mM KCl complete culture medium (BME) in a 5%CO₂ incubator. For hypoxia exposure the cultures were placed in an incubator chamber MIC-101, Billups-Rothenberg inc., filled with a 5%CO₂ and 95%N₂ gas mixture. *In vitro* ischemia (oxygen-glucose deprivation) was obtained by placing the cultures in a culture medium without glucose. The cultures were exposed to hypoxia and ischemia for 3 hours. Control cultures were maintained in normoxic conditions for the same period of time. Cell death assessment was done immediately after the exposure and 24 hour after. The cellular metabolic viability, appreciated by mitochondrial activity, was quantified by the conversion of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) into formazan, and measuring spectrophotometrically the optical density of samples. Cell death was quantified by use of Trypan Blue exclusion method and expressed as percent Trypan Blue positive neurons per total number of neurons. The level of cellular lesion assessed through both methods was comparatively discussed. Also, the influence of reoxygenation on cellular lesions induced by *in vitro* hypoxia and ischemia was estimated. This study is supported by VIASAN Project No. 253/2003.

Model experimental pentru diabetul insulino-dependent

D.L. Radu, Crina Stăvaru

Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Microbiologie și Imunologie
„CANTACUZINO”

Rezumat

Diabetul zaharat de tip 1 insulino-dependent (DZID) este o boală autoimună mediată prin clone de limfocite T autoreactive, ce apare în urma distrucției celulelor beta-pancreatice. Am folosit un model experimental în care sunt utilizați șoareci dublu transgenici (Ins-HA+/-, TCR-HA+/-) la care diabetul zaharat insulino-dependent apare în mod spontan.

Șoarecii dublu transgenici (dTg) au fost obținuți prin încrucișarea șoarecilor transgenici care exprimă hemaglutinina virusului gripal murin PR8 pe suprafața celulelor beta-pancreatice sub controlul promotorului de insulină al șobolanului (Ins-HA) cu șoarecii transgenici care exprimă receptorul pentru hemaglutinina aceluiși virus pe limfocitele T (TCR-HA), specific pentru epitopul imunodominant HA110-120. Prezența transgenelor la descendenți a fost detectată prin tehnica PCR folosindu-se atât reactivi din SUA cât și obținuți în INCDMI “Cantacuzino”. Au fost monitorizați următorii parametri: greutatea corporală, glicemia, glicozuria și rata de supraviețuire.

Șoarecii dTg dezvoltă o formă fulminantă de DZID demonstrată prin prezența hiperglicemiei, glicozuriei și a modificărilor somatice. La 12 săptămâni de viață, rata mortalității șoarecilor diabetici a fost mai mare de 90%.

Concluzie. Folosirea șoarecilor dublu transgenici constituie un excelent model pentru înțelegerea mecanismelor autoimune ce conduc la apariția DZID.

HAEMODIALYSIS MEMBRANES MADE OF DIFFERENT POLYMERS

(CTR. 188/2002)

Project Manager: Marin RADU

In this project we worked out the technology for the obtaining of PS and PAN hollow-fiber haemodialysis membranes and pilot installation for their manufacture.

The membranes were analysed from structural point of view and of the performance characteristics.

After the analysis was performed it could be noticed that the membranes have structural dimensions suitable to haemodialysis process (wall thickness, channel initial diameter, pore size) they have γ - radiation resistance (they can be sterilised) and they are also biocompatible.

OBȚINEREA MEMBRANELOR DE HEMODIALIZĂ DIN DIVERȘI POLIMERI

(CTR. 188/2002)

Director proiect: Marin RADU

În cadrul proiectului s-a elaborat tehnologia de obținere a membranelor hollow-fiber de hemodializă din PS și PAN, s-a realizat instalația pilot de fabricare a acestora.

Membranele au fost analizate din punct de vedere structural și al caracteristicilor performante.

După determinările efectuate s-a constatat că membranele au dimensiuni structurale adecvate pentru procesul de hemodializă (grosime perete, diametrul inițial al canalului, raza porilor) sunt rezistente la radiații γ (deci pot fi sterilizate) și sunt biocompatibile.

Experimental model of type 1 diabetes

D.L. Radu, Crina Stavaru

INCDMI 'Cantacuzino'

Abstract

Insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) is an autoimmune disease mediated by clone of autoreactive T lymphocytes involved in the destruction of beta-pancreatic cells. We have investigated somatic and metabolic disorders of this disease in an experimental model, using double transgenic mice (Ins-HA+/-, TCR-HA+/-) in which IDDM occurs spontaneously.

Double transgenic mice (dTg) were obtained by cross-mated of transgenic mice expressing the hemagglutinin (HA 110-120) of PR8 influenza virus on the surface of beta-pancreatic cells under the rat insulin-promoter (Ins-HA) with transgenic mice expressing specific T lymphocytes with receptor for the immunodominant epitope of the same virus hemagglutinin (TCR-HA). The presence of both transgenes in progeny was detected by PCR using reagents produced in USA and INCDMI "Cantacuzino". The following parameters were monitored: body-weight, glycemia, glucosuria and rate of surviving.

Double transgenic mice develop fulminate IDDM demonstrated by the presence of hyperglycemia, glucosuria and somatic changes. At 12 week-old mice, the mortality rate of diabetic mice was greater than 90%.

Conclusion. The using of TCR-HA, INS-HA double transgenic mice provide an excellent experimental model of type 1 diabetes.

STRUCTURA COLAGENULUI, PROPRIETĂȚI ȘI BIOSINTEZĂ

Rodica Sîrbu, Lavinia Mincan

*Dept. Physical Chemistry, Faculty of Dental Medicine and Pharmacy,
"Ovidius" University Constanta, e-mail sirbu@alpha.rmri.ro*

Rezumat

Colagenul este reprezentat de un grup de proteine cu o structură moleculară caracteristică, fibrilară ce contribuie la scheletul extracelular al materiei. Astfel, colagenul este elementul structural major al tuturor țesuturilor de legătură și se găsește, de asemenea, în țesutul interstițial al organelor parenchimale, unde contribuie la stabilitatea țesutului și a organelor, menținând integritatea lor structurală.

Colagenul este o familie de proteine abundentă, cu mai mult de 20 de tipuri structurale diferite, identificate de curând.

Structurile colagenice sunt în principal implicate în formarea rețelelor fibrilare și microfibrilare ale matricei extracelulare, în membranele de bază, la fel de bine ca alte structuri ale matricei extracelulare. Aceasta introduce subunitățile structurale de bază și subliniază pașii majori în procesele de biosinteză și supramoleculare ale colagenului fibrilar, ca membrii prototip ai acestei familii de proteine. În lucrare este indicată importanța diferitelor tipuri de colagen nu doar pentru a înțelege colagenul în legătură cu bolile ci pentru a fi folosite diferite tipuri colagenice ale acestei familii de proteine ca bază pentru uz terapeutic în tratarea diferitelor afecțiuni.

The study of immunohistochemical and PCR techniques role in establishing the positive diagnostic of extrapulmonary tuberculosis

* Pathology Department, County Emergency Hospital Craiova

** Pathology Department, University of Medicine and Pharmacy, Craiova

*** Surgery Department, University of Medicine and Pharmacy, Craiova

Extrapulmonary sites of tuberculosis have not to be neglected as they are not so rarely fortuitous discoverings. The morphological diagnosis of tuberculosis is generally easy to do. However, there are the atypical lesions rising diagnostic difficulties.

The authors assessed the histopathological diagnostic in 390 cases of surgical extrapulmonary granulomatous lesions, using for difficult cases new diagnostic tools.

The samples were fixed in formalin, included in paraffin wax and stained with hematoxylin-eosin, van Gieson and Ziehl-Neelsen stains.

Immunohistochemical staining with antibodies for CD3, CD20, CD68, LCA and S100 and PCR technique were used in cases with controversial diagnostic.

The diagnostic was confirmed in 363 cases, representing 93% of all investigated cases only by usual staining techniques. However, immunohistochemical stains cleared up the diagnostic in 38 cases.

In 27 cases, representing 7% of all investigated cases, granulomatous lesions revealed atypical features. PCR established the diagnostic of tuberculosis in 10 of them, excluding the other 17.

Tuberculosis in extrapulmonary sites discovered in surgery departments is more and more frequent.

In rare cases of granulomatous lesions with controversial diagnosis, immunohistochemistry and PCR techniques are required for elucidating the diagnosis.

STUDIUL ROLULUI IMUNOHISTOCHEMIEI SI PCR ÎN STABILIREA DIAGNOSTICULUI POZITIV DE TUBERCULOZĂ EXTRAPULMONARĂ

S. D. Enache*, E. Pleșea**, B. Zaharia**, A. Stoica***, Mirela Ghiluși*, Corina Gruia*, C. Sabetay***, F. Ghelase***

* Serviciul de Anatomie Patologică, Spitalul Județean de Urgență Craiova

** Disciplina de Morfopatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova

*** Catedra Chirurgie, Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova

Localizările extrapulmonare ale procesului tuberculos nu sânt de neglijat cu atât mai mult cu cât ele sunt, nu de puține ori, descoperiri întâmplătoare. Diagnosticul morfologic de tuberculoză este în general unul ușor de făcut. Există însă și leziuni atipice care ridică probleme de diagnostic.

Autorii au reevaluat diagnosticul histopatologic la 390 cazuri de leziuni granulomatoase extrapulmonare folosind pentru cazurile dificile noi metode de investigație morfologică.

Piese de exereză chirurgicală au fost fixate în soluție de formaldehidă 4%, incluse în parafină și colorate cu hematoxilina – eozină, van Gieson și Ziehl-Neelsen.

La cazurile cu diagnostic etiologic incert s-a efectuat marcarea imunohistochimică pentru diferite antigene leucocitare: CD3, CD20, CD68, LCA și pentru proteina S100 și a fost utilizată tehnica PCR.

În 363 de cazuri, reprezentând 93% din cazurile investigate, diagnosticul a fost stabilit numai pe baza colorațiilor uzuale. Totuși, la 38 de cazuri, precizarea diagnosticului a impus, suplimentar, pentru un diagnostic de certitudine, imunomarcare pentru diferite antigene leucocitare și pentru proteina S100.

În 27 de cazuri, reprezentând 7% din cazurile investigate, leziunile granulomatoase au prezentat caractere atipice. Metoda PCR a precizat diagnosticul de tuberculoză la 10 dintre ele, excluzându-le pe celelalte 17. Tuberculoza extrapulmonară descoperită pe piese de exereză chirurgicală este din ce în ce mai frecventă.

Rarele cazuri de leziuni atipice, cu diagnostic incert, pot fi elucidate cu ajutorul tehnicilor de imunohistochimie și PCR.

STRUCTURE, PROPERTIES AND BIOSYNTHESIS OF COLLAGENS

Rodica Sîrbu, Lavinia Mincan

*Dept. Physical Chemistry, Faculty of Dental Medicine and Pharmacy,
"Ovidius" University Constanta,
e-mail sirbu@alpha.rmri.ro*

Abstract

Collagens were considered to be a family of proteins with a characteristic molecular structure with their fibrillar structures contributing to the extracellular scaffolding.

Thus, collagens are the major structural element of all connective tissues and are also found in the interstitial tissue of virtually all parenchymal organs, where they contribute to the stability of tissues and organs and maintain their structural integrity. The collagen is a most abundant family with more than 20 different collagen types identified so far. Collagens are centrally involved in the formation of fibrillar and microfibrillar networks of the extracellular matrix, basement membranes as well as other structures of the extracellular matrix.

It introduces their basic structural subunits and points out major steps in the biosynthesis and supramolecular processing of fibrillar collagens as prototypical members of this protein family. In this paper it is indicated the importance of different collagen types not only for the understanding of collagen-related diseases, but also as a basis for the therapeutical use of members of this protein family discussed in other chapters of this issue.

IMPLEMENTAREA METODELOR ALTERNATIVE (IN VITRO) DE TESTARE FARMACOLOGICA

Radu Albulescu¹, Mihaela Albulescu¹, Eleonora Codorean², Ana Vacaru¹,
Eleonora Gheorghiu¹, Erno Duda³

Inst. National de C-D Chimico-Farmaceutica (ICCF)

Inst. National Victor Babes

Biological research Center of the Hungarian Academy of Sciences,
Szeged

Date fiind presiunile ce decurg din reglementarile internationale privind reducerea utilizarii testelor pe animale, precum si progresului marcant din ultimul timp in directia dezvoltarii testelor in vitro, introducerea metodologiilor de testare in vitro reprezinta o provocare pentru cercetarea farmacologica, aplicarea acesteia constituind un criteriu de acceptare in procedurile de inregistrare, atat pentru produse farmaceutice, cat si pentru o serie de alte produse ce necesita evaluarea sigurantei pentru sanatate (materiale bio-medicale, dispozitive medicale, cosmetice, substante chimice).

Abordarea presupune o riguroasa standardizare si validare a metodelor de investigare, asigurand o baterie de teste capabile sa asigure o buna predictibilitate a proprietatilor farmacotoxicologice si farmacodinamice.

Alaturi de bateriile de teste "clasice" – o atentie aparte se acorda dezvoltarii de noi teste de inalta performanta, prin utilizarea unor tinte moleculare in vederea decelarii actiunilor specifice si precizarii mecanismelor de actiune.

Un asemenea sistem de evaluare bazat pe dezvoltarea unor sisteme celulare ce exprima un sistem modificat pentru evaluarea activarii NF-kB a fost aplicat pe mai multe tipuri de celule – macrofage, fibroblaste, hepatocite, prin expresia stabila a genei luciferazei asociata cu o secventa de legare NFkB.

Modelul permite evaluari rapide si de inalta sensibilitate ale modularii celulare prin intermediul citokinelor (in cazurile studiate - TNF alfa), ori a interferentelor intre (potentiale) substante medicamentoase si acest mecanism. Raspunsul celular este rapid si usor evidentiatibil printr-o metoda chemoluminometrica de mare sensibilitate si reproductibilitate. Datele obtinute in acest mod pot fi corelate si aprofundate prin aplicarea altor sisteme in vitro, ca de exemplu testele de citotoxicitate si apoptoza.

Pe langa raspunsul la presiunea sociala si legislativa in directia reducerii testelor pe animale, metodologia in vitro permite si o accelerare a procesului de screening, asigurand o conditie de crestere a performantei cercetarii in domeniul farmaceutic.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF CELLULAR IMMUNITY TESTS IN BLADDER CANCER PATIENTS

D.Ciotaru¹, Mihaela Surcel¹, Maria Dobre¹, C.Ursaciuc¹, D. Rusu²
I.Arabagiu³

1. Immunology Department, "Victor Babeş" National Institute, Bucharest, Romania

2. University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

3. Urology Department, "Sf.Ioan" Hospital, Bucharest, Romania

Bladder cancer represents an important problem of pathology due to the high frequency registered in the last decade. The aim of this study was the evaluation of cellular immunity status in bladder cancer patients and to compare it with genito-urinary benign diseases.

We studied by quantitative analysis of lymphocyte populations and leucocyte adherence inhibition (LAI) test, 17 bladder cancer patients before the excision of the tumor, 8 bladder cancer patients with recidives and 17 genito-urinary benign diseases patients.

LAI test investigates the cell mediated immune response in the presence of a specific tumor antigen. The results were expressed as adherence deviation index (ADI). An ADI smaller than -30 was considered as positive by statistical calculation of the control values. The immune reactivity assessed by LAI assay was correlated with the lymphocyte immunophenotyping. Quantitative evaluation consisted in determination of peripheral blood lymphocyte populations and subpopulations (CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD19+, CD3-CD16+/CD56+). The peripheral blood lymphocyte distribution revealed low T-CD3+ cells in 41,2% patients, high B (CD19+) cells in 47,1%, low NK (CD16+/CD56+) cells in 58,8%. The T/CD4+/T/CD8+ ratio was high in 70,6% patients, by increase of T-CD3+CD4+ cells in 53% and decrease of T-CD3+CD8+ cells in 82,4% bladder cancer patients before surgery. The same aspect was observed in patients with recidives.

Quantitative immunophenotyping data were correlated with humoral immunological parameters in order to distinguish between a normal and damaged immune system function

SEMNIFICAȚIA DIAGNOSTICĂ A TESTELOR DE IMUNITATE CELULARĂ LA PACIENȚI CU TUMORI VEZICALE

D.Ciotaru¹, Mihaela Surcel¹, Maria Dobre¹, C.Ursaciuc¹, D. Rusu²
I.Arabagiu³

1. Secția Imunologie, Institutul Național "Victor Babeș", București
2. Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București
3. Secția Urologie, Spitalul "Sf. Ioan", București

Tumorile vezicale reprezintă o importantă problemă de patologie datorită frecvenței crescute înregistrate în ultimii ani. Scopul acestui studiu a fost evaluarea statusului imun celular al pacienților cu tumori vezicale, comparativ cu afecțiuni genito-urinare benigne.

Au fost studiați prin analiză cantitativă a populațiilor limfocitare și testul inhibiției aderenței leucocitelor (LAI test), 17 pacienți cu cancer vezical, testați preoperator, 8 pacienți cu cancer vezical recidivant și 17 pacienți cu afecțiuni genito-urinare benigne.

Testul LAI investighează răspunsul imun mediat celular în prezența unui antigen tumoral specific. Rezultatele sunt exprimate în indici de deviație a aderenței (IDA). Imunoreactivitatea determinată prin testul LAI a fost corelată cu imunofenotiparea limfocitară. Evaluarea cantitativă a constatărilor în determinarea populațiilor și subpopulațiilor limfocitare din sângele periferic (CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD19+, CD3-CD16+/CD56+). Distribuția valorilor procentuale ale limfocitelor din sângele periferic a relevat o scădere a T-CD3+ la 41,2% din pacienții cu tumori vezicale, o creștere a celulelor B (CD19+) la 47,1% și o scădere a celulelor NK (CD16+/CD56+) la 58,8% din pacienți. Raportul TCD4+/CD8+ a fost crescut la 70,6% din pacienții, prin creșterea celulelor T-CD3+CD4+ la 53 % și scăderea celulelor T-CD3+CD8+ la 82,4% din pacienții cu cancer vezical testați înainte de excizia tumorii. Același aspect a fost observat și la pacienții cu cancer vezical recidivant.

Rezultatele imunofenotipării cantitative au fost corelate cu parametrii imunologici umorali în vederea evaluării statusului imun al pacienților pentru a face distincția între o funcție normală sau alterată a sistemului lor imun

IMPLEMENTING THE ALTERNATIVE (IN VITRO) METHODS IN PHARMACOLOGICAL TESTING

Radu Albușescu¹, Mihaela Albușescu¹, Eleonora Codorean², Ana Vacaru¹,
Eleonora Gheorghiu¹, Erno Duda³
Inst. National de C-D Chimico-Farmaceutica (ICCF)
Inst. National Victor Babes
Biological research Center of the Hungarian Academy of Sciences,
Szeged

Due to regulatory pressures to reduce the use of animal test in pharmacological research, and to the substantial international progress in method development, the application of in vitro methodology in pharmacology represents an immediate task and will be a condition of acceptance in registration of pharmaceuticals, as well as in other classes of products that require evaluation of safety for consumer health (bio-medical materials, medical devices, cosmetics, potential dangerous chemicals).

The approach requires a solid standardization and validation of investigation methods, providing battery of assays that ensures good predictability of pharmacotoxicological and pharmacodynamic properties.

An important part in international methodology is represented by "classical" cell culture tests, which have been exposed to a thorough process of refinement and serious validation procedures in reference laboratories, and the take over and correct application of these methods was a major concern of the project.

Besides these, development of new tests with enhanced selectivity and sensitivity, based on the approach of "molecular targets", that may offer reliable information on effects and mechanisms of action is a major concern also for the research group within the project.

One such evaluation model is based on the development of cell systems expressing a modified NF-κB activation detector was applied in fibroblasts, macrophages and hepatocytes. The cells were stably expressing the luciferase gene associated to a NF-κB binding site, encoded in a recombinant plasmid.

Cellular response is fast and easy measurable by a highly sensitive and reproducible chemoluminescence method. The model permits fast, accurate and highly sensitive evaluation of modulation of cell activity in cytokine signalling (particularly TNF alpha), as well as modulation of these by (candidate) drug substances. Additional details may be achieved by combining the "molecular targeting" method with other in vitro assays, such as cytotoxicity/apoptosis tests.

Modele de diagnoza a sistemelor biologice

Expert, ing. Vasile COSTEA, INFO SIT S.A.

Obiectivul principal al proiectului PP6 – Contract 192/2002 „*Modele de diagnoza a sistemelor biologice*” a fost proiectarea si implementarea unui model informational de diagnoză a sistemelor biologice pentru monitorizarea unor tumori maligne, inclusiv a unui sistem informatic asociat.

La elaborarea specificațiilor sistemului informatic s-au luat în considerare legislația din domeniul medical, precum și o serie de documente internaționale elaborate de către Organizația Mondială a Sănătății (OMS).

Specificațiile pentru realizarea sistemului se bazează, în special, pe doua documente cadru: *Clasificarea Internațională a Maladiilor (CIM)*, revizia a 10-a O.M.S, și respectiv *Reglementările privind clasificarea și codificarea cauzelor de boală și deces*, revizia a 10-a O.M.S. CIM este utilizat pentru transpunerea diagnosticelor maladiilor și a altor probleme de sănătate în coduri alfanumerice, facilitând astfel stocarea, regăsirea și analizarea datelor respective.

Sistemul informatic realizat consta dintr-o aplicație, denumită *SIMODI*, care contine componentele necesare monitorizării unor pacienți, respectiv o componenta care ruleaza în mediul *Microsoft Access* și o componenta INTRANET, care poate rula cu ajutorul unor facilitati de tip Internet, respectiv *MS-Internet Explorer*, sau *Netscape*. A fost realizat, de asemenea, un site care poate fi plasat pe Internet, și care poate fi utilizat pentru instruirea utilizatorilor.

Aplicația în mediul *Microsoft Access* permite înregistrarea de informații privind pacienții trimisi de diferite unitati medicale pentru efectuarea diferitelor analize și teste efectuate asupra pacienților. Aceste informații se refera la date personale ale pacientului, buletine de analiza, diagnosticul de trimitere, analizele histopatologice și imunohistochimice; probe efectuate pe tesuturi; teste imunohistochimice (IHC); teste coloratii, efectuate pe diferite tesuturi.

Antioxidant effects on Walker tumor genome

Mihalache Daria., Preoteasa V., Barca V.,

"VICTOR BABES" Institute, Radiobiology Lab.; Bucharest, Romania

Previous studies have showed that organic Se and Vitamin E have a significant protective effect when administered in combination with cytostatics

Aims This paper reports the investigation on effects of mixed administration Orgasol 50 and Vitamin E in Wistar rat with experimentally induced Walker tumor under acute cytostatic treatment, with emphasis on two aspects: a) the influence of antioxidants upon liver DNA repair under cytostatic (Lomustin = Lom) acute aggression; b) the potential improvement of cytostatic effects by antioxidants treatment in tumor.

Material and methods Two lots of animals were used; lot 1. - Orgasol 50 and Vitamin E administered 7 days prior to initiation of tumor induction and lot 2. –the antioxidants were concomitantly administered with tumor cell inoculation. The Walker tumor (an epithelial carcinoma) cells were intradermally injected (5x10⁶ cells/0.5 ml in isotonic saline solution); the first tumor nodules appeared in 4 days reaching appropriate dimensions in 12 days. The unscheduled DNA synthesis caused by Lom in rat liver as well as the replicative DNA synthesis taking place in tumor cells was assessed radioisotopically by measuring the uptake of 3H-thymidine.

Results Our findings regarding the role of antioxidant treatment suggest: 1). A benefic effect on DNA alkilant-induced lesions, expressed by a decrease in 3H-Thymidine uptake in liver and, 2) increase in inhibitory activity of cytostatic on DNA replication biosynthesis in tumor cells, suggested by lower 3H-Thymidine incorporation in tumor cells.

Conclusion These findings clearly show the organic Se salts and Vitamin E constitute a valuable adjuvant in anticancer medication, increasing the interest for the application of these antioxidants in cancer therapy and prevention.

Lesions of the uterine cervix: correlations between p16-and Ki 67

Anca Lazaroiu¹, Alina Chefani¹, Maria Sajin¹, Gabriela Anton²
1: SUUB; 2: Institute of Virusology “Stefan Nicolau”

Invasive cervical epidermoide carcinomas are preceded by displazic lesions of the exocole wich have been named (since the 1989 NCI workshop) as Low Grade Squamous Intraepithelial Lesions (L-SIL) and as High Grade ones (H-SIL).

Proteine p16 is a tumoral suppressive protein that inhibates Cyclin Dependent Kynases (CDK - that punctually regulates G1). The inactivation of p16 protein allows the cell to enter the S phase only after a brake at G1 point.

The KI 67 antigen is a cell cycle and tumoral progression marker that appears during G1, S, G2 and M phases and misses the G0. Preceeding studies demonstrated that KI67 proliferation index is a reliable marker for paraneoplazical and neoplezical cervical lesions evaluation.

We selected at SUUB in 2003 50 representative cases of SIL and invasive carcinomas. We investigated them imunohistochemically using DAKO p16 research kit and DAKO clone M1B1 for KI67.

Results and discutions for proteine p16: The expression of nuclear and cytoplasmatic p16 is detectable in nonneoplazical epithelium; is focal or poorely evidentiated in L-SIL after HPV 6/11; intense and diffuse in all H-SIL cases, and secondary HPV invasive carcinomas.

Results and discussion for KI67: The marking was exclusively nuclear, limited at the PB layer of the exocole (normal). In L-SIL KI67 positive nuclei appear in B, PB and I layers. The density of the positive nuclei is higher in invasive cancers ihan in H-SIL and L-SIL lesions. KI67 immunomarking in usefull for differentiating between SIL and epithelial atrophy

Models for Biological Systems Diagnosis Expert, ing. Vasile COSTEA, INFO SIT S.A.

PP6 project main objective – contract 192/2002 “Models for Biological Systems Diagnosis”- was the design and the implementation of an info diagnosis model for biological systems in order to monitors certain malignant tumors, including an asocial info system.

To elaborate the info system specifications were considered the legislation in the medical field and also certain international documents elaborated by the Worldwide Organization for Health (WOH).

The specifications to accomplish / realize the system are mostly based on two frame documents: “Diseases International Classification” (DIC), revision 10 HWO and “Settlement on Disease and Death on Reasons Classification and Codification”, revision 10 HWO. DIC is used to transpose in alphanumerical codes the disease’s diagnosis and other issues on health, to facilitate the stocking, finding again and analyzing the respective data.

The info system realized means an application, named SIMODI, including the necessary component parts to monitors certain patients, a part in the Microsoft Access environment and on INTRANET part, that can roll up by the help of certain facilities as INTERNET or MS – Internet Explorer or Netscape. It was also realize / accomplished a site that can be placed on the Internet and that may be used in order to teach / train the users.

The application in the Microsoft Access environment allows registering the information on the patients sent by different health centers / units to do different tests and analyses.

These information refer to the patient personal data, tests report, sending diagnosis histopathological and imunohistochemical tests (IHC), tests on tissues, coloring tests on different tissues.

The INTRANET applications comprises a site witch was realized using the DAP (Data Access Pages) technology, elaborated by Microsoft. It allows the manipulation of the information in Databases, in the Microsoft Access work environment and it is used exclusively to visualize data.

Expresia ultrastructurala a defectelor membranei bazale glomerulare in glomerulonefritele primitive

Mihaela Gherghiceanu
Eugen Mandache

Membrana bazala glomerulara (MBG) cu o grosime sub 200 de nm este considerata anormal de subtire. In boala membranelor bazale subtiri si in sindromul Alport aceasta anormalitate este difuza si globala si este cauzata de un defect genetic la nivelul COL4A4/COL4A3. Frecvent MBG prezinta anomalii structurale distribuite focal si segmentar intr-un procent redus. Studiul nostru a urmarit sa stabileasca daca exista o corelatie intre MBG subtiri si bolile glomerulare. A fost studiat electronomicroscopic un lot de 487 de biopsii renale efectuate la adulti. Analizand minim 3 glomeruli pentru fiecare caz am putut constata ca exista o stransa corelatie intre glomerulonefritele primitive si membranele bazale subtiri cu distributie segmentara si focala, fapt care constituie o conditie predispozanta pentru aparitia GN primitive.

Correlations between Changes of tumoral stroma and Gleason system patterns in prostatic adenocarcinoma

E. Pleșea*, S. D. Enache**, B. Zaharia*, Mihaela Țenovici***, Carmen Popescu**, Mirela Ghiluşi**, Claudia Georgescu*, Camelia Foaifă*, Violeta Comănescu**

* Pathology Department, University of Medicine and Pharmacy, Craiova

** Pathology Department, County Emergency Hospital Craiova

*** Pathology Department, CF Hospital Craiova

The authors studied the correlations between morphologic changes of different tumoral stroma features and the architectural Gleason patterns of tumoral parenchyma on 221 cases diagnosed in Pathology Department of Craiova Emergency County Hospital.

The changes seem to be more attenuated in cribriform and comedomatous types, suggesting a kind of accommodation between tumoral cells and dedifferentiated smooth muscle cells.

The collagen component part is progressively increasing and replacing the smooth muscle cells form Gleason pattern I to pattern V, especially in cribriform and comedomatous patterns. However, it is also dramatically reduced in solid poorly differentiated forms.

An argyrophil, basement membrane-like material is present around architectural patterns more or less defined and even around isolate malignant cells.

Conclusions. Smooth muscle and fibrillary compounds seem to have an opposite behavior as the differentiation grade is decreasing: while the former is reducing quantitatively and dedifferentiating, the latter increases its amount, excepting solid forms.

In contrast with other cancers, tumoral cells produce their own “basement membrane” which seems to facilitate the local progression and invasion by interacting with extracellular matrix around the tumor.

There is an intimate correlation between malignant proliferating cells and the stromal environment which influences the neoplastic process progression and spread.

Correlations between Changes of tumoral stroma and Gleason system patterns in prostatic adenocarcinoma

E. Pleșea*, S. D. Enache**, B. Zaharia*, Mihaela Țenovici***, Carmen Popescu**, Mirela Ghiluşi**, Claudia Georgescu*, Camelia Foarfă*, Violeta Comănescu**

* Disciplina de Morfopatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova

** Serviciul de Anatomie Patologică, Spitalul Județean de Urgență Craiova

*** Serviciul de Anatomie Patologică, Spitalul Clinic CFR, Craiova

Autorii și-au propus să realizeze un studiu al corelației dintre modificările morfologice ale diferitelor componente ale stromei tumorale și diferitele modele arhitecturale ale parenchimului tumoral apreciate după sistemul Gleason. Lotul de studiu a cuprins 221 cazuri de adenocarcinom de prostată diagnosticate în Serviciul de Anatomie Patologică al Spitalului Clinic Județean de Urgență Nr. 1 din Craiova.

Piese de exereză chirurgicală au fost fixate în soluție de formaldehidă 4%, incluse în parafină și colorate cu hematoxilina – eozină, tricromicele van Gieson și Goldner și impregnare argentică după metoda Gömöri. S-a efectuat marcarea imunohistochimică pentru fibra musculară netedă cu anticorpi anti Actina mușchiului neted.

Componenta musculară a stromei prostatice a relevat, de la patternul I către patternul V:

- un proces de dediferențiere, cu căpătarea fenotipului miofibroblastic
- un proces de reducere cantitativă (de la trama fasciculară continuă situată în periferia glandelor tumorale până la distrugerea de către celulele maligne agresive)

Componenta musculară netedă și cea fibrilară colagenă par să sufere modificări în sensuri diferite pe măsura scăderii gradului de diferențiere tumorală: în timp ce prima se reduce cantitativ și se dediferențiază, ultima crește cantitativ, cu excepția formelor medulare. Spre deosebire de alte cancere, celulele tumorale produc propria lor “membrană bazală” care, se pare că facilitează progresia locală și invazia în urma interacțiunii cu elementele matricei extracelulare din mediul învecinat tumorii. Între celulele maligne care proliferază și mediul înconjurător stromal, există o strânsă interdependență și intercondiționare care concură la progresia și răspândirea procesului neoplazic.

Ultrastructural defects of glomerular basement membrane in primitive glomerulonephritis

Mihaela Gherghiceanu
Eugen Mandache

It is generally accepted that a glomerular basement membrane (GBM) thinner than 200 nm should be considered below normal. When this abnormality has a global and diffuse distribution, the associated clinical condition is a benign familial hematuria related to mutations of the COL4A4/COL4A3 genes, or an Alport syndrome. More often the GBM defects display a focal and segmental pattern, too small to express a thin glomerular basement membrane disease. The aim of this study is to emphasize statistical data concerning the pathogenic link between the renal glomerular diseases and the preexisting thin and very thin GBM. A series of 487 renal biopsies from adult patients has been thoroughly investigated both for nephropathologic diagnosis and the GBM ultrastructure. It has been statistically concluded that there is a close coexistence of primary glomerulonephritis and thin glomerular basement membranes with the role of a predisposing condition for immune complex deposition.

Dezvoltarea unor metode biofizice pentru testarea viabilității celulelor retiniene izolate in vederea transplantului retinian

Eugenia Kovacs, Tudor Savopol, Roxana Pologea, Mihaela Moisescu, Dorel Pietreanu

Catedra de Biofizica si Biotehnologie Celulara, UMF Carol Davila, Bucuresti

Tentativele experimentale de a pune la punct un protocol viabil de transplant retinian, ce se desfasoara in mai multe laboratoare din lume au generat problema unui test obiectiv si sigur de verificare a viabilitatii celulelor fotoreceptoare retiniene ce urmeaza a fi transplantate. Incercand sa dam un raspuns acestei probleme, am plecat de la faptul ca fotoreceptorii retinieni genereaza un curent ionic ("curentul de intuneric") de Na^+ si Ca^{+2} . Cercetarile noastre au dus la urmatoarele concluzii.

1. Polaritatea electrica a celulei fotoreceptoare retiniene constituie un indicator sensibil al integritatii aparatului energetic/metabolic celular, intrucat reflecta integritatea mecanismului de functionare al pompelor ionice, alimentate de energia metabolica celulara.
2. Testele noastre arata ca celulele fotoreceptoare in suspensie (sol Ringer), pastreaza integritatea partiala a mecanismului de pompare timp de 80 minute, timp in care viabilitatea scade progresiv. Evaluarea viabilitatii s-a facut prin procesarea imaginilor de orientare a celulelor in camp electric static (max 4/cm).
3. Fluiditatea membranei celulare, evaluata prin masurarea anizotropiei fluorescentei celulelor marcate cu TMA-DPH, reprezinta un parametru sensibil al viabilitatii celulare, reflectand variatia in sensibilitate a membranei pentru puteri diferite ale factorului de stres (radiatia de microunde, in cazul nostru). Acest rezultat indica natura interactiei factorului de stres cu sistemul celular de semnalizare, celula fiind mai sensibila pentru intensitatea stimulului similara celor cu care ea insasi opereaza.
4. Polaritatea morfologica si functionala a celulei fotoreceptoare, reflectata in polaritatea ei electrica, se regaseste si in distributia asimetrica a calciului liber celular. Marcarea celulelor cu *Ca green* a permis diferentierea clara a celulelor viabile de cele alterate prin imaginile de fluorescanta care arata o acumulare masiva a Ca liber in mitocondrii (situata la baza segmentului extern) si virtuala lui absenta (concentratie f. mica) la nivelul segmentului extern.

Metodele descrise mai sus reprezinta instrumente fidele si precise de evaluare a integritatii aparatului energetic/functional al celulelor fotoreceptoare izolate si pastrate in vederea transplantului retinian.

Contract Nr. 086/2001

INTERRELATION DIABETES MELLITUS – PERIODONTAL DISEASE. ASSESSMENT OF PERIODONTAL STATUS FOR A GROUP OF INSULIN-DEPENDENT ADULTS.

Doina Lucia GHERGIC, Claudia Florina ANDREESCU.

Diabetes is a well-documented risk factor for periodontal disease, affecting disease susceptibility, progression and severity. Diabetes and periodontal disease share some common characteristics, and one of this is the fact that both diabetes and periodontal health demand persistent daily self-care. The aim of this study is to evaluate the consciousness of oral health and oral hygiene by filling in a questionnaire, in contrast with assessment of periodontal status by recording of Community Periodontal Index of Treatment Needs (CPITN) for a group of 50 adults with tip I diabetes mellitus. The results reveal deficiencies in oral health behaviours and high scores of CPITN (code 0=0%, code 1=0%, code 2=24%, code 3=44%, code 4=32%), which prove the need of promoting of oral health in this risk group.

Key words: diabetes mellitus, oral health and oral hygiene, periodontal status.

INTERELAȚIA DIABET ZAHARAT – BOALA PARODONTALĂ.

EVALUAREA STATUSULUI PARODONTAL LA UN GRUP DE PACIENȚI DIABETICI INSULINO-DEPENDENȚI.

Doina Lucia GHERGIC, Claudia Florina ANDREESCU.

Diabetul zaharat este factor de risc bine cunoscut pentru boala parodontală, influențând susceptibilitatea la această afecțiune, evoluția și severitatea bolii. Atât diabetul zaharat cât și boala parodontală au în comun câteva caracteristici, printre care și faptul că necesită îngrijire zilnică constantă. Scopul acestui studiu este evaluarea percepției sănătății orale și a deprinderilor de igienă orală prin completarea unui chestionar, în contrast cu măsurarea statusului parodontal prin înregistrarea indicelui parodontal al nevoilor de tratament pentru colectivitate CPITN (Community Periodontal Index of Treatment Needs) la un grup de 50 de adulți cu diabet insulino-dependent. Rezultatele obținute arată deficiențe în deprinderile de igienă orală și valori mari ale indecelui (codul 0=0%, codul 1=0%, codul 2=24%, codul 3=44%, codul 4=32%), ceea ce impune necesitatea promovării sănătății orale la acest grup de risc.

Cuvinte cheie: diabet zaharat, sănătate orală și igienă orală, status parodontal.

Development of new methods for evaluation of photoreceptor cells viability in retinal transplant

Eugenia Kovacs, Tudor Savopol, Roxana Pologea, Mihaela Moisescu, Dorel Pietreanu

Department of Biophysics and cell Biotechnology , UMPH Carol Davila, Bucharest

The attempts to achieve experimentally a successful retinal transplant in several world laboratories were partially impeded by lack of fine reliable methods of testing the viability of cells to be transplanted

The living photoreceptor cell is generating a circulating current (the so called “dark current”) carried mainly by Na^+ and Ca^{2+} ions. Most probably the flow of ions is generated by asymmetrical distribution of specific pumps along the plasma membrane of the cell. Thus, the intensity of the current is reflecting the integrity of metabolic machinery of the cell which provides the energy for ion driving. We showed that electrical polarity of the cell is related to the dark current, being abolished by ouabaine which inhibits Na^+ , K^+ ATP-ase.

Here we report the observation that the cell distal end (outer segment) is positively charged. This is in agreement with positive charges which enter the outer segment, carrying the dark current. *Ca²⁺ green* experiments show that similar to electrical charge, cytosolic free Ca^{2+} is also asymmetrically distributed along the living intact cell, this asymmetry reflecting the level of cell viability. To our knowledge there is no work reporting the free Ca^{2+} distribution *along* the *living* rod photoreceptor cell. Thus these two microscopically observed, objectively measurable parameters - Ca^{2+} distribution between inner and outer segment, evaluated by *Ca²⁺ green* fluorescence and cell electrical polarity, evaluated by degree of cells orientation in DC field - may serve as fine indicators of retinal photoreceptor cell functional integrity/viability. These two phenomena may be used in checking the functional integrity of retinal cells used for retinal transplant.

OPTIMIZAREA BANCII DE CONSERVAT PANCREAS UMAN IN VEDEREA TRANSPLANTULUI

S. SIMION*, M. PETRUTESCU*, B. MASTALIER*, B. GHITA*, A.
ZARAFIN*, R. ALBULESCU**, I. SUPEANU***

* Spitalul Clinic Colentina, Clinica Chirurgie

** Institutul National de Cercetare Dezvoltare Chimico – Farmaceutica

*** Pneumatic Vacuum Technology S.A.

Proiectul a fost realizat de catre colectivul de cercetare al Clinicii Chirurgie Colentina, in colaborare cu Institutul National de Cercetare – Dezvoltare Chimico – Farmaceutica si SC Pneumatic Vacuum Technology SA in cadrul Programului National de Cercetare – Dezvoltare VIASAN in perioada 2000 - 2003.

Scopul lucrarii a fost realizarea unui echipament de conservare a pancreasului uman pentru un interval de timp de minim 18 ore, cu pastrarea vitalitatii tisulare a acestuia.

Principiul de conservare este cel al refrigerarii la + 4 °C cu spalare in baia de organ concomitent cu perfuzia intratisulara cu medii de conservare.

Modelul experimental a fost realizat pe pancreas recoltat de la porci selectionati dupa criteriile riguroase de rasa, varsta, stare de nutritie si sanatate. Au fost recoltate grefoane reprezentate de lobul stang pancreatic, impreuna cu artera si vena splenica. Grefonul a fost plasat in compartimentul de procesare, fiind irigat prin intermediul a 2 pompe peristaltice, una realizand spalarea externa, cealalta irigand artera splenica cateterizata, cu deversare libera prin vena splenica in compartimentul de procesare.

Viabilitatea celulara a fost apreciata prin testul de excluziune cu tripan si prin masurarea in efluentul pancreatic a activitatii enzimatice LDH si a concentratiei proteice si a acizilor nucleici, prin absorbtie U.V. la 260 nm si 280 nm.

Echipamentul realizeaza conservarea pancreasului in mai multe etape : refrigerarea prin scaderea controlata a temperaturii de la 22 °C, mentinerea unei temperaturi stabilizate de + 4 °C +/- 0,5 °C, timp de pana la 18 ore, revitalizarea

Rezultate :

Echipamentul a reusit sa conserve pancreasul porcilor timp de 18 ore, cu pastrarea viabilitatii tisulare.

Echipamentul este omologat de Min. Sanatatii prin SVIAM si este inregistrat la OSIM cu nr. cerere brevet de inventie 00019 / 2000.

METHOD AND New products for psoriasis treatment Dr. Eng. Diana Cristina ANDREI, Dr. Eng. Constantin ANDREI

*Institute of Chemical Technology ITEC Brazi, 107084, Brazi,
Prahova, e-mail: diritec@pbrazi.ro*

Psoriasis, a severe skin disease, is affecting at present ca. 3% of the world population, even 6-8% in the northern countries, and does not benefit as yet of a definitive cure. The cause for the rapid and uncontrolled growth of epithelial cells characteristic to psoriasis, is still unknown. Many of psoriasis treatments are oriented towards the removing of the plaques so that no suffering would appear. The treatments known up to now use corticosteroids, retinoids, methotrexate (cytostatics) and other chemicals that lower the symptoms of the disease. These treatments cause severe side effects and don't produce a long-term healing.

This paper presents the new products PSOROL and PHYTOPSOROL, obtained by the authors^{1,2}, for stopping the oxidative stress (the deterioration of the cells by the rapid, harmful free radicals in the organism). The mechanism for stopping the oxidative stress is presented in the

The active species of PSOROL is an antioxidant - a stable free radical (A - O*) and the active species of PHYTOPSOROL are especially bioflavonoids extracted from 6 – 10 Romanian plants. These products have been tested on volunteer patients, with very good results

PROCEDEU ȘI PRODUSE NOI PENTRU TRATAREA PSORIAZISULUI

Dr. ing. Diana Cristina ANDREI, Dr. ing. Constantin ANDREI

Institutul de Tehnologie Chimică Brazi, 107084 Brazi, Prahova, e-mail: diritec@pbrazi.ro

Psoriazisul este o boală de piele ce apare din cauze necunoscute până în prezent și care afectează cca. 3% din populația globului, în țările nordului ajungând până la 6-8%. Cauza care stă la baza creșterii rapide a celulelor epiteliale, caracteristică psoriazisului, este necunoscută. Multe dintre terapiile psoriazisului sunt direcționate către înlăturarea netraumatică a plăcilor în așa fel încât să se elimine orice disconfort. Tratamentele medicale cunoscute până în prezent pentru psoriazis, cu corticosteroizi, retinoizi, metotrexat (citostatice) și alte produse chimice micșorează simptomele bolii. Se subliniază o listă largă de efecte secundare, asociate acestor tratamente care au rezolvat numai temporar vindecarea.

În lucrare sunt prezentate produsele noi PSOROL și FITOPSOROL, obținute de autori^{1,2}, pentru stoparea stresului oxidativ (deteriorarea celulelor vii de către radicalii liberi rapizi și nocivi din organism). Mecanismul pentru stoparea stresului oxidativ se prezintă în următoarea schemă:

în care: R[•]-radicali liberi rapizi, inclusiv celule anormale; A–O[•]-radicali liberi cu viață lungă; LO₂[•]-radicali peroxi-lipidici; LO[•]-radicali alcoxi-lipidici; PO[•]-radicali alcoxi-proteine. Produsul PSOROL are ca specie activă un antioxidant de tipul radicalilor stabili (A–O[•]), iar produsul FITOPSOROL are ca specie activă în special bioflavonoide extrase din 6-10 plante românești. Aceste produse au fost testate pe pacienți voluntari cu psoriazis, cu rezultate foarte bune

OPTIMISATION OF HUMAN PANCREAS CONSERVATION BANK IN VUE OF TRANSPLANTATION

S. SIMION*, M. PETRUTESCU*, B. MASTALIER*, B. GHITA*, A. ZARAFIN*, R. ALBULESCU**, I. SUPEANU***

*Surgical Clinic, Colentina Clinical Hospital

** National Institute for Chemical –Pharmaceutical Research and Development

*** Pneumatic Vacuum Technology S.A.

The project has been achieved by the research team of Surgical Clinic Colentina, along with National Institute for Chemical – Pharmaceutical Research and Development and Pneumatic Vacuum Technology S.A. within the National Research and Development Program VIASAN, in the years 2000 – 2004.

The conservation principle is refrigeration at + 4 °C with both external washing and tissular perfusion with conservation solutions.

The aim of the study was to build an equipment for human pancreas conservation for at least 18 hours, with preservation of tissular vitality.

The experimental model has been performed on pancreas cropped from swine selected by rigorous criteria of age, nutritional and health state. We have cropped grafts represented by the left pancreatic lobe, along with splenic artery and vein. The grafts have been placed in the processing compartment, being perfused by 2 peristaltic pumps, one performing the external washing, the other perfusing the catheterized splenic artery, with free outflow from the splenic vein into the processing compartment.

The equipment conservates the pancreas performing several steps : refrigeration by controlled diminution of temperature from 22 °C, maintenance of stabilized temperature of + 4 °C +/- 0,5 °C for 18 hours, revitalization by temperature raising to +37,5 °C, with a rate of 6 °C / min.

During the conservation, the apparatus performs stabilization of temperature, pancreatic perfusion by its 2 peristaltic electro-pumps connected to solution recipient by tubes and oxygenation of the solution. The processes take place in sterile environment. Temperatures and timing are electronically monitored by microprocessor and displayed digitally.

Results:

The equipment performed successfully pancreas conservation for 18 hours, with tissular vitality preserved.

The equipment has been homologated by The Ministry of Health through SVIAM and registered at OSIM for patent request n° 00019 / 2000.

IMUNODEFICIENȚA ÎN BOLILE INFLAMATORII OCULARE

C. Ursaciuc, Mihaela Surcel, Adriana Munteanu, Doina Barac
Institutul Național "Victor Babeș", Secția Imunologie, București

Răspunsul imun umoral și celular a fost investigat la 134 pacienți cu boli inflamatorii oculare (BIO) induse de factori inflamatori sau alergizanți. Investigațiile umorale au inclus determinări de imunoglobuline serice și complement C3, iar investigația celulară a constat în evaluarea populațiilor limfocitare și celulelor T activate (T-CD25⁺) din sângele periferic și din culturi de transformare limfocitară.

Rezultatele au relevat prezența imunodeficienței umorale cu afectarea IgG și/sau C3 la 41% din pacienți, cu precădere în uveite și retinite. Imunodeficiența celulară a fost întâlnită la 40% din pacienți, predominant în iridociclite și uveite, și a implicat în majoritatea cazurilor limfocitele T-CD8⁺. 35% din pacienți au prezentat imunodeficiență combinată (umorală + celulară). Evaluarea funcției celulelor T a demonstrat absența creșterii exprimării moleculei CD25 pe limfocitele T-CD8⁺ stimulate cu mitogeni.

Studiul a confirmat faptul că diferite tipuri de imunodeficiențe au apărut la un procent semnificativ de pacienți cu BIO (peste 50%). Se concluzionează astfel că patogenia imună reprezintă un mecanism important în progresia inflamației oculare.

Grant VIASAN 79/2001

Expression of CD147 molecule on peripheral blood T lymphocytes and monocytes freshly isolated from Systemic Lupus Erythematosus patients

Maria Stefanescu¹, Cristiana Matache¹, Razvan Stoian¹, Ruxandra Ionescu², Eugen Popescu², Sergiu Dumitrache³, Ana Calugaru¹, Geza Szegli¹

¹"Cantacuzino" NIRDMI, Bucharest, ²„Sf. Maria" Hospital, Bucharest, ³"Carol Davila" Clinical Hospital of Nephrology, Bucharest

Systemic Lupus Erythematosus (SLE), the prototype of systemic autoimmune diseases, presents among other characteristics the features of chronic inflammatory diseases. As a support for this last observation, our recent data demonstrated that peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of SLE patients express and secrete abnormal levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), an enzyme involved in inflammation and immune dysfunctions. Recently, a potent inducer of MMPs secretion was identified as a glycoprotein, initially named EMMPRIN and subsequently CD147, well phylogenetically conserved and largely expressed on different cellular types of hemo/ and non-hemopoietic origin. The increased expression of CD147 on T lymphocytes seems to be directly correlated with disease activity. Like T lymphocytes, the monocytes from SLE patients expressed a higher level of CD147 than the monocytes from healthy subjects, especially when the patients were in inactive state of the disease. Another important observation for SLE patients consisted in a significant disproportion between the percentage of T CD147⁺ lymphocytes and the percentage of monocytes CD147⁺, suggesting the existence of some perturbations in the mechanisms involving reciprocal regulation between different cellular populations, for example the induction of expression and secretion of MMP-s mediated by CD147.

Expresia moleculei CD147 pe limfocitele T si monocitele periferice izolate de la bolnavi cu Lupus Eritematos Sistemic

Maria Stefanescu¹, Cristiana Matache¹, Razvan Stoian¹, Ruxandra Ionescu², Eugen Popescu², Sergiu Dumitrache³, Ana Calugaru¹, Geza Szegli¹

¹INCDMI „Cantacuzino”, ²Spitalul „Sf. Maria”, ³Sp Clinic de Nefrologie „Carol Davila”

Lupusul Eritematos Sistemic, prototip al bolilor autoimune sistemice, pe langa multiple alte caracteristici prezinta si pe cele ale unei boli inflamatorii cronice. In sprijinul acestei observatii vin si datele noastre recente care demonstreaza ca celulele mononucleare din sangele periferic al bolnavilor de LES exprima si secreta nivele crescute de metaloproteinaza de matrice - 9 (MMP-9), o enzima ce a fost larg implicata in inflamatie si disfunctii imune. Recent, s-a identificat ca un potent inductor al secretiei de MMPs o glicoproteina denumita initial EMMPRIN, ulterior CD147, bine conservata filogenetic si larg exprimata pe diverse tipuri celulare de origine hemato/ si non-hematopoetica. Ligandul natural al acestei glicoproteine nu a fost inca stabilit desi i s-au descris intre timp multiple alte functii biologice. Folosind citometria de flux (FACS) si tehnica dublului marcaj s-au desprins unele observatii si concluzii care confirma ipoteza acestui studiu. Astfel am observat ca limfocitele T ale bolnavilor de LES, spre deosebire de cele ale donatorilor sanatosi, au o expresie mai crescuta a moleculei CD147 ceea ce vine in sprijinul ideii ca sunt constitutiv activate. Expresia crescuta a CD147 pe limfocitele T periferice ale bolnavilor de LES pare sa fie in corelatie directa cu faza activa a bolii. Ca si limfocitele T, monocitele bolnavilor de LES au o expresie mai crescuta a moleculei CD147 comparativ cu monocitele donatorilor sanatosi. Totusi, cresterea expresiei moleculei CD147 pe monocite pare a fi o caracteristica a bolnavilor de LES in faza de remisie. Celulele mononucleare periferice ale bolnavilor de LES, comparativ cu cele ale donatorilor sanatosi, prezinta o disproportie semnificativa intre procentul de monocite CD147⁺ si cel de limfocite T CD147⁺, ceea ce sugereaza existenta unor perturbari la nivelul mecanismelor de reglare reciproca intre aceste populatii celulare, ca de exemplu inducerea prin moleculele CD147 a expresiei si secretiei de MMPs.

Specialized equipments for treat congenital anomalies of bones. Comşa Stanca

Congenital anomalies of bones encompass a large skeletal deficiency like: terminal transverse, terminal longitudinal, intercalary longitudinal. From congenital anomalies a large interest consist in those of the hand. The forms under they can appear are many. Treatments of these affections involve functional, social and psychological aspects. Medicine based on modern principles, no mater of geographical aria in witch is practiced, has, like main objective of treatment the recover of maximum functionality of that limb for offer an independence of the patient and social integration.

The esthetic part even it is not the most important one, may be very important for the patient perception.

Congenital anomalies of the hand are some of the most difficult problems confronting the hand surgeon. Parents usually have considerable anxiety concerning the appearance of the hand, the future function of the hand and the possibility of subsequent siblings being similarly affected; they may also have personal quilt feelings.

Congenital malformations of the hand encompass a myriad of deformities, all of which carry different functional and cosmetic implications for the patient and parents.

The most commonly encountered anomalies of the hand are syndactyly, polydactyly, congenital amputations, camptodactyly, clinodactyly, and radial clubhand.

The clinical method and the equipments for endodactyly hand are personalized and are used to distraction of metacarpal and thumb. Surgical intervention is made under total anesthesia.

The equipment is easy to be surgical applied and permits to obtain very good results. The equipment consists in threaded wire, screws, and personalized elements for each clinical situation.

SISTEM DE MONITORIZARE ȘI REGLARE AUTOMATĂ A PROCESULUI DE DIALIZĂ RENALĂ

Marin RADU, Constantin CRISTOI, Radu IORDĂCHEL, Mircea DINESCU, Liliana PASĂRE, Florica RADU

Lucrarea se referă la un sistem de monitorizare globală și de reglare automată a proceselor biologice ce au loc în cadrul operațiilor de dializă renală, utilizând sisteme informatice clasice și de inteligență artificială, cuplate astfel încât formează un sistem informatic complex.

Noul sistem de monitorizare și reglare automată a procesului de dializă renală se caracterizează prin următoarele funcții:

- a) integrează procedeele actuale uzitate în operația de dializă renală, respectiv filtrarea sângelui pacientului în vederea eliminării din organism a acelor substanțe care ar fi trebuit, să fie eliminate prin funcțiile renale normale;
- b) preia, în timp real și prelucrează un volum mare de informații de la pacient cât și din circuitul de dializă (compoziția sângelui, parametrii homeostazici, compoziția dializantului ș.a.);
- c) consultă fișierul istoricului medical al pacientului;
- d) prelucrează în coroborare cu datele și informațiile de la punctele a și b aplicând pentru **fiecare pacient toate competențele de specialități medicale ce au incidență** atât cu operația de dializă cât și **cu starea generală de sănătate a acestuia**;
- e) în urma prelucrării datelor și informațiilor preluate cât și pe baza unor date și informații preventive elaborate de SISTEM prin tehnici și proceduri de simulare cât și a inferențelor aplicate pe **baza de cunoștințe** a subsistemului de inteligență artificială, propune decizii și recomandări de intervenție și/sau de compensare;
- f) asigură compensarea pacientului chiar în timpul operației de dializă fie direct prin sistemul de compensare fie prin mijloacele medicale convenționale;
- g) emite recomandări și programe pentru perioada postoperatorie.

SELECTIVE COX-2 INHIBITORS - MODERN NONSTEROIDAL ANTIINFLAMMATORY DRUGS

MARIA CROITORU¹, FLOREA COCU¹, LUCIA PINTILIE¹,
CONSTANTIN TANASE¹, ALEXANDRINA STUPARU¹, CATALINA
CIOATES¹, MIRON TEODOR CAPROIU², CONSTANTIN
DRAGHICI²

¹*National Institute for Chemical-Farmaceutical Research and Development, 112, Vitan Av., 74373, Bucharest, Romania*

²*Romanian Academy, Center of Organic Chemistry "C.D.Nenitzescu", Splaiul Independenței, Nr. 202B, 060023, Bucharest, Romania*

Selective inhibitors of cyclooxygenase-2 enzyme (COX-2) (coxibs) are a new class of modern nonsteroidal antiinflammatory drugs, which have much reduced secondary effects, especially on the gastrointestinal and renal tract, maintaining the clinical efficiency of the traditional NSAID's.

The first two compounds, celecoxib and rofecoxib, were recently (1999) introduced in therapeutic, then, other three coxibs: valdecoxib, parecoxib and etoricoxib, with increased selectivity in COX-2 inhibition and diminished adverse effects were marketed. Parecoxib is the only coxib parenteral administrated.

Our researches were focused to obtain selective COX-2 inhibitors, having 3,4-diaryl-isoxazole structure, of the second generation: valdecoxib and its N-acyl derivative, parecoxib. Starting from desoxybenzoine, synthesis of these compounds was realized in a sequence of 3, respectively 4 steps, the resulted intermediates and the final products being fully characterized.

Another objective of our studies in the field was obtaining of new coxib analogues, N-substituted at the sulfonamide group.

ANTIINFLAMATOARE NESTEROIDIENE MODERNE DIN CLASA INHIBITORILOR SELECTIVI AI COX-2

MARIA CROITORU¹, FLOREA COCU¹, LUCIA PINTILIE¹,
CONSTANTIN TANASE¹, ALEXANDRINA STUPARU¹, CATALINA
CIOATES¹, MIRON TEODOR CAPROIU², CONSTANTIN
DRAGHICI²

¹ *Institutul National de Cercetare-Dezvoltare Chimico-Farmaceutica,
Calea Vitan 112, 74373, Bucuresti, Romania*

² *Academia Romana, Institutul de Chimie Organica "C.D.Nenitescu",
Splaiul Independentei, Nr. 202B, 060023, Bucuresti, Romania*

Inhibitorii selectivi ai enzimei ciclooxygenaza-2 (COX-2),(coxibi) sunt o noua clasa de medicamente antiinflamatoare nesteroidiene moderne, care, pastrand eficacitatea clinica a AINS "clasice", au efecte secundare mult reduse, in special asupra tractului gastro-intestinal si renal.

Primii doi compusi din aceasta clasa, celecoxib si rofecoxib, au fost introdusi recent (1999) in terapeutica, dupa care au mai fost lansati alti trei coxibi: valdecoxib, parecoxib, etoricoxib, ce prezinta o selectivitate marita in inhibarea COX-2 si efecte secundare mult diminuate. Dintre acesti compusi, parecoxibul este singurul coxib utilizat sub forma injectabila.

Cercetarile noastre au fost orientate catre obtinerea inhibitorilor COX-2 selectivi cu structura 3,4-diaril-izoxazolica, din a doua generatie, valdecoxib si derivatul sau N-acilat, parecoxib. Sinteza acestor compusi a fost realizata printr-o secventa de 3, respectiv 4 etape, pornind de la dezoxibenzoina, caracterizand structural atat intermediarii rezultati in fiecare etapa, cat si produsii finali.

Un alt obiectiv al lucrarilor efectuate a fost obtinerea de noi compusi, analogi structurali ai coxibilor, substituiti la atomul de azot sulfamidic.

DIALYSIS MONITORING AND SELF-REGULATING SYSTEM

Marin RADU, Constantin CRISTOI, Radu IORDĂCHEL, Mircea
DINESCU,
Liliana PASĂRE, Florica RADU

This paper refers to a global monitoring and self-regulating system of biologic processes that take place during the dialysis, using classic informatic and artificial intelligence systems, coupled for making a complex informatic system.

The new dialysis monitoring and self-regulating system has the following functions:

- a) includes recent proceedings used in dialysis for patient's blood filtration for the removal of substances to be eliminated from the human body by normal body functions;
- b) takes, in short time and proceeds a wide amount of information from both the patient and dialysis circuit (blood composition, homaostatic parameters, dialyser composition, etc);
- c) verifies patient's medical history folder;
- d) simultaneously proceeds the data and the information from the points a and b applying for **each patient all the medical abilities regarding the dialysis and general health state of the patient**;
- e) after taken data and information proceeding based on some preventive data and information worked out by the SYSTEM by simulative techniques and proceedings and the inferences applied on the basis of the artificial intelligence subsystem acknowledges, makes intervention decisions and / or compensation recommendations;
- f) ensures patient compensation even during the dialysis or directly by the compensation system or by medical conventional means; sends recommendations and programmes for postsurgical period

MELATONINA ȘI PUBERTATEA

Olga Ianăș, Dana Manda, Camelia Procopiuc, Suzana Vlădoiu, Roxana Călărașu, Mircea Popa
Institutul de Endocrinologie “C.I.Parhon”

Glanda pineală, prin biosinteza hormonului melatonină, este un traductor fotoperiodic care mediază funcția de reproducere la mamiferele cu reproducere sezonieră. La speciile nesezoniere, cum este omul, este mai puțin clar dacă melatonina are un rol în axa hipotalamo-hipofizogonadică. Sunt date care sugerează că nivelele crescute ale melatoninei mențin o secreție scăzută de gonadotropi în perioada prepubertară, în timp ce o scădere a producției melatoninei cu creșterea vârstei activează axa hipotalamo-hipofizogonadală care culminează cu menarha. În studiul prezent s-a evaluat această ipoteză prin măsurarea temporală a hormonilor gonadotropi pubertari și a 6-sulfatoximelatoninei (aMT6s) la un grup martor cu dezvoltare sexuală normală și altul cu pubertate precoce. Rezultatele au arătat că la grupul de copii cu dezvoltare sexuală normală excreția 6-sulfatoximelatoninei este – ritmică cu niveluri maxime spre dimineață, decalate cu 3-4 ore față de sânge și cu niveluri minime după amiază și seara, și – este semnificativ scăzută după menarhă comparativ cu vârsta prepubertară. La grupul cu pubertate precoce excreția nocturnă de 6-sulfatoximelatonină a scăzut semnificativ comparativ cu grupul martor (38.35 ± 4.33 vs. 88.6 ± 6.21 ; $p=0.0009$). Apariția prematură a caracterelor sexuale secundare a fost însoțită de maturarea gonadelor și a mecanismelor de reglare hipotalamo-hipofizare, la un grup mic de copii, prezentând nivele crescute de LH, FSH și un raport supraunitar de LH/FSH asociate cu valori mici de 6-sulfatoximelatonină. Secreția scăzută a melatoninei în pubertatea precoce, înainte ca modificările gonadotropilor/steroidilor să apară, sugerează rolul acesteia în maturarea sexuală și în declanșarea pubertății și sprijină ideea că melatonina reprezintă un prim semnal neurohormonal în fiziopatologia pubertății.

Prediction of INR response to oral anticoagulant treatment using a computer model of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of coumarinic derivatives.

Alexandru Corlan(1), Octavian Pârvu(2), Ileana Corlan(2), Cristina Constantinescu(3).

(1) Academy of Medical Sciences, Cardiology Research Unit, University Emergency Hospital of Bucharest (2) Carol Davila University, 3-rd Internal Medicine Department (3) Carol Davila University, Pharmacology Department

The high incidence of major (6% per year) and lethal (0.8% per year) haemorrhagic complications of oral anticoagulant therapy can be halved by improving control of the therapy, for example in an anticoagulation center. A potentially less expensive alternative is the optimisation of treatment effect prediction using a computer model.

METHODS. We developed a simulator of oral anticoagulation, which is publically usable at <http://warfarissimo.corlan.net>.

The numerical model describes: the absorption and distribution of (S) and (R) enantiomers of warfarin and acenocoumarol; the kinetics of their hepatic clearance, given the CYP-2C9 enzyme genotype; their reaction with vitamin-K-2,3-epoxide-reductase; its turnover; the slowing of the vitamin-K reduction reaction and of the gamma-carboxylation of the precursors of coagulation factors II, VII, IX and X; reduction of their active form activity and their influence on the INR.

RESULTS. DISCUSSION.

Warfarissimo reproduces the published results of an experimental study on healthy volunteers with an accuracy of 5.6-7.6% for the coagulation factors and 0.15 for the INR.

We simulated the INR evolution in inpatients at initiation of the treatment, with simultaneous identification of the CYP2C9 activity level. Drug administration at random instants during the day, or administration of drug regimens with variable daily dose led to an increase of the range of variation of the INR of up to 200%, which explains the difficulties of controlling this treatment in clinical practice.

Predicția răspunsului INR la tratamentul anticoagulant oral prin modelarea computerizată a farmacocineticii și farmacodinamicii derivaților cumarinici.

Alexandru Corlan(1), Octavian Pârvu(2), Ileana Corlan(2), Cristina Constantinescu(3).

(1) Academia de Științe Medicale, Unitate de cercetare Cardiologie, Spitalul Universitar de Urgență București (2) UMF Carol Davila, Catedra de Medicină Internă III, (3) UMF Carol Davila, Catedra de Farmacologie

Incidența mare a complicațiilor hemoragice majore (6% pe an) și letale (0.8% pe an) care grevează tratamentul anticoagulant oral cronic poate fi redusă la jumătate numai prin îmbunătățirea controlului tratamentului, de exemplu prin urmărirea pacienților în centre de anticoagulare specializate. O alternativă potențial mai ieftină este optimizarea predicției răspunsului la tratamentul prin modelarea computerizată a acestuia.

METODE. Am elaborat un astfel de simulator, accesibil public sub forma unui sit de web (<http://warfarissimo.corlan.net>).

Modelul numeric se bazează pe modelarea: absorbției și distribuției enantiomerilor (S) și (R) de warfarină sau acenocumarol; cineticii eliminării acestora în funcție de genotipul enzimei CYP2C9; reacției cu vitamin-K 2,3-epoxid-reductaza; turnover-ului acesteia; scăderii vitezei reacției de reducere a vitaminei K și de gama-carboxilare a precursorilor factorilor de coagulare II, VII, IX și X; scăderii concentrației formelor active (gama-carboxilate) ale acestora în sânge și efectul lor asupra INR. Modelul Warfarissimo reproduce rezultatele unui studiu experimental la pacienți sănătoși, din literatură, cu o acuratețe de 5.6-7.5% pentru factorii de coagulare și de 0.15 pentru INR.

S-a obținut reproducerea evoluției INR la pacienți internați la care se inițiază tratamentul anticoagulant oral în monoterapie și identificarea indirectă a nivelului de activitate al CYP-2C9.

Administrarea la momente aleatorii ale zilei, sau administrarea de scheme de tratament cu doze variabile de la o zi la alta s-au însoțit de o creștere de până la 200% a plajei de variație a INR, ceea ce explică dificultățile de control al tratamentului în aceste cazuri.

MELATONIN AND PUBERTY

Olga Ianăș, Dana Manda, Camelia Procopiuc, Suzana Vlădoiu, Roxana Călărașu, Mircea Popa

“C.I. Parhon” Institute of Endocrinology, Bucharest, Romania

In photoperiodic mammals the light regulated gonadotropin secretion and timing of puberty are mediated by the pineal. In human, a role for the onset of puberty is unclear. Several investigations suggest that the neuroendocrine system of reproductive function use the melatonin signal in the development of gonadal function. The elevated melatonin content during childhood seems to be a critical parameter for the juvenile pause of the hypothalamic-pituitary-gonadal system whereas the decrease in melatonin production at puberty may remove this suppression, thus determining the onset of puberty. The present study evaluated this hypothesis by the timed measurements of 6-sulphatoxymelatonin (aMT6s) and hormonal markers of puberty in children either with normal sexual development or precocious puberty. The results showed that in group with normal sexual development the excretion of sulphatoxymelatonin exhibits (1) a circadian pattern synchronised with the day-night cycle, with high levels during the night and low levels during the day with reproducibility from day to day in the same subject but a very large interindividual variability and (2) a significant decrease in menarcheal age compared with prepubertal age ($p=0.0004$). In the group with precocious puberty the nocturnal aMT6s levels were significantly decreased (38.35 ± 4.33 vs 88.6 ± 6.21 ; $p=0.0009$). Most of children with precocious puberty showed distinct diurnal rhythms in the gonadotropin profiles with a clear wake-sleep difference however, FSH levels were higher than LH. Cross-correlation between LH and FSH was evident in precocious puberty. The high levels of gonadotropin/gonadal steroids were associated with the lowest concentrations of aMT6s. These data in conjunction with physiological studies suggest that melatonin by its secretion regulates the oscillation and temporal organization of maturity of hypothalamic-pituitary-gonadal axis, acting as an endocrine signal in resetting of the gonadostat.

Acknowledgement:

This study was supported by Academy of Medical Sciences-National Research Program-VIASAN No 152.

SENSIDISURI PENTRU ANTIBIOGRAME

Virginia COMAN¹⁾, Veronica AVRAM¹⁾, Miuța FILIP¹⁾ și Petru BODOGA²⁾

¹⁾Institutul de cercetări în chimie "Raluca Ripan", Str. Fântânele 30, C.P. 702, 400294, Cluj-Napoca, E-mail: v.coman@icrr.itim-cj.ro

²⁾S.C. REMED PRODIMPEX SRL, București, Bd. Basarabia 208A/32, Sector 2.

Sensidiscurile pentru antibiogramme sunt destinate stabilirii sensibilității microorganismelor cu creștere rapidă la antibiotice, având drept scop alegerea și conducerea tratamentului în unele infecții bacteriene.

Realizări obținute în cadrul proiectului:

1. *Linia tehnologică de obținere a sensidiscurilor* parcurge mai multe operații, dintre care cele mai importante sunt: decuparea discurilor cu ajutorul unei ștanțe de decupare acționată de o presă hidraulică și așezarea lor în navete; sterilizarea discurilor în navete într-o incintă cu UV și impregnarea acestora cu cantitățile corespunzătoare de antibiotic, cu ajutorul unui aparat de dozare-impregnare cu control computerizat.

2. *Metode, tehnologii și mijloace elaborate pentru efectuarea unor operații din linia tehnologică:* ștanța de decupare a discurilor la dimensiunile stabilite (diametru de 6,35 mm); naveta pentru discuri; incinta UV cu lampă germicidală VL-330G; metoda de aplicare strict controlată a unei cantități minime de antibiotic/sensidisc; aparatul de dozare/impregnare cu control computerizat; dispozitivul cu vacuum pentru extragerea sensidiscurilor din navetă și introducerea lor în flacoane; ambalajul special, tip cartuș pentru sensidiscuri.

3. *Experimentarea tehnologiei în fază de micropilot și testarea microbiologică a sensidiscurilor pe tulpini standard.*

4. *Amenajarea laboratorului de obținere a sensidiscurilor conform Normelor în vigoare*

5. *Transferul tehnologic către beneficiar.*

6. *Realizarea documentației pentru autorizația de obținere a sensidiscurilor.*

TISSUE SUBSTITUTES MADE UP OF INSERTED COLLAGEN MEMBRANES

V Trandafir¹, M D Enescu², R Albu³, T Popescu Negreanu⁴, M G Albu¹, M Albu²

INCDTP – Division Leather and Footwear Research Institute, Bucharest
University of Medicine and Pharmacy „Carol Davila”, Bucharest
INCDCF – Chemical and Pharmaceutical Research Institute, Bucharest
S.C. Glass and Ceramic PONETI ltd., Bucharest

Tissue substitutes (skin and periosteum) are new collagen bioactive composite obtained as experimental patterns, under the National R&D and Innovation Programme VIASAN, project no. 57/2001.

➤ Tissue substitutes are various structures related to the type and function of the temporary or permanently substituted tissues.

Temporary bioresorbable SCG substitutes are made up of collagen membrane and collagen fiber insertion.

SCG III – periosteum substitute has a structure similar to the SCG II - skin substitute but with PAW biovitroceramics particles distributed between collagen fibres which are bone formation nuclei. It also contain 3% Gentamicin in view of slower healing of bone system.

Permanently, biodegradable substitutes SCP are made up of transparent collagen membrane insert with polyester fiber mesh.

PLASCOL® - is a SCP substitute for abdominal wall (photo 3)

For chemical and physical-mechanical characterization of the experimental tissue substitute patterns (EP) standard methods specific for collagen products for medical, pharmaceutical and cosmetic use made in ICPI – Collagen Department were applied. For structure characterization spectrophotometry, thermal, rheology, microscopy and porosimetry investigation methods were applied

Experimental SCG and SCP tissue substitutes are biomaterials collagen based of the last generation similar to those studied and implemented into the implant and tissue graft surgery.

COMPOZITE STOMATOLOGICE DE RESTAURARE INDIRECTA. COMPOZITIE SI PERFORMANTE

C. Prejmerean¹, M. Moldovan¹, L. Vezensyi¹, A. Colceriu¹, G. Furtos¹, D. Prodan¹, M. Filip¹, L. Silaghi¹, D. Borzea², C. Nicola², S. Sava²

¹*Institutul de Cercetari in Chimie "Raluca Ripan", Strada Fantanele Nr. 30, 400294, Cluj-Napoca, Romania*

²*Universitatea de Medicina si Farmacie "Iuliu Hatieganu", Facultatea de Stomatologie, Catedra de Propedeutica si Materiale Dentare, Cluj-Napoca, Romania*

Utilizarea compozitelor de restaurare directa s-a dovedit eficienta numai in cazul aplicarii acestora in cavitati de clasa I si II, datorita rezistentei la uzura inadecvate in zona laterala pe care o prezinta compozitele comerciale actuale. Utilizarea inlay-urilor si onlay-urilor polimerizate initial cu ajutorul luminii vizibile, iar ulterior supuse caldurii si presiunii in laboratorul de tehnica dentara, este considerata o alternativa de succes pentru restaurarea cavitatilor dentare din zona laterala. Aceste restaurari indirecte sunt cimentate in cavitatea dentara cu ajutorul cimenturilor compozite (restaurari indirecte).

Performantele clinice ale restaurarilor indirecte cu rasini compozite depind de compozitia chimica a materialului. *Scopul prezentei lucrari* il constituie obtinerea unei serii de rasini compozite de restaurare indirecta experimentale bazate pe oligomeri superiori de tip Bis-GMA₀₋₂ si sticla radioopaca pe baza de SrO si pe investigarea proprietatilor fizico-chimice si mecanice, a biocompatibilitatii si performantelor clinice ale acestora. In lucrare se discuta relatia dintre compozitia matricii organice, conversia monomerilor si respectiv performantele compozitelor de restaurare indirecta elaborate.

PROLIFERATION, p53 EXPRESSION AND APOPTOSIS IN PITUITARY ADENOMAS: RELATIONSHIP TO TUMOR BEHAVIOUR

Cristiana Tanase*, E. Codorean*, C. Ardeleanu*, D. Terzea*, G. Butur*, D.I. Popescu*, E. Raducan*, V. Ciubotaru**, I. OGREZEAN**

* "Victor Babes" National Institute of Pathology, Bucharest, Romania

** "D. Bagdasar" Hospital, Neurosurgery Dept., Bucharest, Romania

Pituitary adenomas are known to considerably vary from the stand point of their intrinsic aggressiveness that might imply a different therapeutic approach. The balance between proliferating and apoptotic cells an important role in the growth rate of the pituitary tumor and might be a target of antitumor therapy.

The aim was to estimate the relationship between proliferative activity (Ki67), p53 expression, apoptosis and pituitary tumor behaviour.

Immunohistochemical analysis of Ki67 and p53 expression were performed in paraffin-embedded pituitary adenomas: functioning, non-functioning, some of them invasive adenomas. Apoptotic index (AI) was determined by the in situ end-labeling technique (TUNEL).

Results: Ki67 expression in total adenomas was 3,68% (significantly higher in functioning comparatively with non-functioning pituitary adenomas - 4.45±0.5% versus 2.62±0.47%). We noticed a positive correlation between the proliferative activity and the tumoral invasiveness (Ki67 labeling index 4.82±0.4% in invasive and 1.25±0.3% in non-invasive adenoma). The case distribution of Ki67 expression in invasive and non-invasive adenomas using as labeling index 3% threshold discriminating value showed that invasive adenomas are related with Ki67 expression higher than 3%. p53 nuclear positivity was identified in 50% of the invasive adenomas and only 5% in non-invasive adenomas, with a positive correlation between p53 and proliferative activity (Ki67: 5.58±0.4 in p53 positive versus 2.60±0.47% in p53 negative tumors).

In conclusion the investigated proliferative markers can be considered useful in predicting the invasive behaviour and recurrence. The data suggest that the assessment of cell proliferation and apoptosis might be used to evaluate the susceptibility of adenomas to therapy.

PROLIFERAREA LIMFOCITARA IN HIPERTENSIUNE SI INFARCT MIOCARDIC ACUT

*Simona Botea, *Georgeta Tarnita, *Iulia Gherasim*, C.Filipescu*,
Mihaela Andreea Mocanu, **Gina Manda

*Laboratorul de Biologie Celulara si ** Laboratorul de Imunobiologie
Institutul National Victor Babes, Bucuresti

Capacitatea proliferativa a limfocitelor periferice, recoltate de la pacienti cu hiper- tensiune arteriala si/sau infarct miocardic acut a fost studiata folosind metoda radioactiva de marcare cu uridina tritiata. Celulele au fost activate policlonal *in vitro* cu mitogeni lectinici specifici pentru limfocitele B si T (PHA pentru limfocitele T CD4+ CD8+, respectiv PWM pentru limfocitele B si subpopulatia de limfocite T helper).

Rezultatele noastre au aratat ca limfocitele apartinand pacientilor hipertensivi dezvolta o proliferare bazala intensa si au un raspuns normal la activarea cu mitogen. In cazul infarctului miocardic acut, atat limfocitele B, cat si limfocitele T manifesta o proliferare policlona semnificativ scazuta la activarea mitogenica *in vitro*.

Aceste rezultate semnaleaza faptul ca proliferarea limfocitelor periferice imbraca aspecte diferite in cazul hipertensiunii arteriale si al infarctului miocardic acut: hipertensiunea este asociata cu activarea proliferarii limfocitare, in timp ce infarctul miocardic induce supresia functionala a acestor celule. Modificarile survenite in proliferarea limfocitara pot avea consecinte nedorite atat asupra statusului imun al pacientilor, cat si asupra evolutiei bolii.

Cercetari ulterioare implicand investigatii asupra mecanismelor celulare si moleculare ale procesului inflamator ce insoteste afectiunile cardiovasculare ar putea contribui la redirectionarea abordarii terapeutice si a strategiilor de preventie in cazul acestor maladii.

DENTAL INDIRECT RESIN COMPOSITES. COMPOSITION VERSUS PERFORMANCES

C. Prejmerian¹, M. Moldovan¹, L. Vezensyi¹, A. Colceriu¹, G. Furto¹, D. Prodan¹, M. Filip¹, L. Silaghi¹, D. Borzea², C. Nicola², S. Sava²

¹“Raluca Ripan” Chemistry Research Institute, No. 30 Fantanele Street,
400294, Cluj-Napoca, Romania

²“Iuliu Hatieganu” University of Medicine and Pharmacy,
Faculty of Dentistry, Department of Propaedeutics and Dental
Materials, Cluj-Napoca, Romania

The use of direct composite restorations seems to be very efficiently only if they applied as class I and II cavities, due to the inadequate resistance to wear under masticatory attrition of commercial materials. The use of prefabricated tooth-colored inserts which are subjected to additional polymerization by extra-oral post-cure involving heat and pressure, which are cemented with composites cements (indirect restorations), are a good alternative for the restoration of posterior dental cavities. The clinical performances of the indirect resin composites depend on the chemical composition of the material. *The purpose* of the present work was focused on obtaining a series of indirect resin composites based on (Bis-GMA)₀₋₂ superior oligomers and SrO glass and on investigating the physico-chemical, mechanical properties, the biocompatibility and clinical performances of the experimental indirect composites. The paper discusses the relationship between the composition of the resin matrix, the quantity of remaining double bonds and the properties of the cured indirect composites.

RADIODIAGNOZA SI RADIOTERAPIA METASTAZELOR OSOASE UTILIZAND CHELATI ORGANOFOSFONICI

Dana Niculae¹, Valeria Lungu¹, Penelope Bouziotis²,
Ioannis Pirmettis², Adina Chirita³

¹ Institutul Național de C-D pentru Fizică și Inginerie Nucleară "Horia Hulubei" str Atomistilor 407, Măgurele, PO Box MG6, București, România

² Institute of Radioisotopes - Radiodiagnostic Products, NCSR "Demokritos", PO Box 60228, 153 10 Aghia Paraskevi, Athens, Greece

³ Spitalul Universitar de Urgenta, Bucuresti, Splaiul Independentei169, Bucuresti, Romania

Majoritatea tumorilor maligne dezvoltate la nivelul sânului sau prostatei metastazează în os, pacienții în stadiile avansate ale bolii suferind dureri puternice care cauzează adesea stres patologic. O strategie eficientă, bazată pe utilizarea liganzilor organofosfonici marcați cu radioizotopi β , γ emițători, cu energii medii ale radiației β și energii ale radiației γ utile pentru imagistică a dus la dezvoltarea unei game de agenți terapeutici, paleativi ai metastazelor osoase, prezentând avantaje multiple față de analgezice și radioterapia externă.

Afinitatea chelaților fosfonici față de calciu în zonele active osteogenice este considerată responsabilă de localizarea preferențială în siturile metastatice unde radiometalul atașat depozitează energia ionizantă β , rezultând inhibarea, regresia sau necrozarea tumorii.

Doi liganzi organofosfonici cu structuri diferite, HEDP (acid 1hidroxietilidendifosfonat) și TTHMP (acid trietilentetraminohexametilfosfonic) au fost complexați cu ^{188}Re ($T_{1/2}=17$ h, $E_{\beta\text{max}}=2,12$ MeV, $E_{\gamma}=155$ keV). Au fost optimizate procesele de radiomarcare (pH, temperatură, mediu de reacție, raport ligand/agent reducător) obținându-se compuși stabili *in vitro* (până la 48 ore), cu purități radiochimice mai mari de 95%. Evaluarea chimică și biologică comparativă a evidențiat relația structura/captare osoasă a chelaților.

Studiile de biodistribuție, efectuate pe șobolani Wistar au demonstrat captarea osoasă specifică a chelaților, un clearance sanguin rapid și captare minimă în țesuturile moi. ^{188}Re -HEDP este regăsit în os (tibia) în proporție de 71.3%–88.08% din doza injectată în timp ce numai 59.8% din doza injectată de ^{188}Re -TTHMP se acumulează în os în intervalul 4h-24h post injectare, captarea crescând până la 75.14% la 48h post injectare datorită formării de metaboliți metilfosfonici cu specificitate ridicată față de țesutul osos. Captarea osoasă specifică și stabilă a ^{188}Re -HEDP recomandă acest agent pentru radioterapia metastazelor osoase.

ALTERATIONS OF THE NOCTURNAL MELATONIN SECRETION IN HUMAN DELAYED PUBERTY

Dana Manda, Olga Ianăș, Roxana Călărășu Suzana Vlădoiu, Camelia Procopiuc, Mircea Popa

"C.I.Parhon" Institute of Endocrinology, Bucharest, ROMANIA

OBJECTIVE : The developmental decline in melatonin (MT) levels with the pubertal activation in hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis has been suggested that MT regulates the timing of puberty. The study evaluated this hypothesis in children either with normal sexual development or delayed puberty.

DESIGN AND METHODS: MT secretion was studied by the timed measurements of its main metabolite, 6-sulfatoxymelatonin (aMT6s). Pubertal changes in gonadotropin and sexual steroid secretion were followed by the measurements of hormone concentrations.

RESULTS AND THE MAIN FINDINGS: In subjects with constitutional delay of growth and pubertal maturation, MT secretion was greater than to control group (97.96 ± 7.24 vs. 49.93 ± 5.15 ng/ml, $p<0.0001$), being comparable with those during prepubertal age (89.69 ± 7.29). Unexpectedly, in the group of 12 subjects either with permanent hypogonadotropic hypogonadism or with Turner syndrome, MT secretion was very low (9.58 ± 2.74 vs. 49.93 ± 5.15 ng/ml); in 4 of them the rhythm was absent. In 10 children the etiology of delayed puberty was not classifiable; nocturnal aMT6s was close to control group (34.89 ± 5.25 vs. 49.93 ± 5.15 ng/ml) but there was considerable interindividual variation (17.93 - 70.79). Gonadotropins also varied considerably and were negative correlated to MT.

CONCLUSIONS: These data in conjunction with physiological studies suggest that MT by its secretion regulates the oscillation and temporal organization of maturity of HPG axis acting as an endocrine signal in resetting of the gonadostat and in physiological terms, aMT6s can be seen as a marker in differential diagnosis of delayed puberty. particularly in concert with the evaluation of pubertal hormones.

MODIFICARI ALE SECRETIEI NOCTURNE DE MELATONINĂ LA COPII CU PUBERTATE ÎNTÂRZIATĂ.

Dana Manda, Olga Ianăș, Roxana Călărășu Suzana Vlădoiu,
Camelia Procopiuc, Mircea Popa

Institutul de Endocrinologie "C.I. Parhon", București

Studii clinice anterioare privind pubertatea la copii au sugerat implicarea melatoninei (MT) în inhibarea generatorului pulsator de LHRH. Lucrarea prezintă evaluează această ipoteză prin dozarea temporală a 6-sulfatoximelatoninei (aMT6s), un indice al secreției melatoninei și a markerilor pubertari la copiii cu pubertate întârziată.

Excreția nocturnă a 6-sulfatoximelatoninei a fost corelată cu etiologia pubertății întârziate. În grupa cu pubertate întârziată constituțională secreția MT a arătat valori semnificativ crescute ($97,96 \pm 7,24$ vs $49,93 \pm 5,15$ ng/ml; $p < 0.0001$) față de lotul martor, comparabile cu nivelurile din perioada prepubertară ($89,69 \pm 7,29$). Neașteptat, în grupa cu hipogonadism hipogonadotrop și hipogonadism hipergonadotrop secreția MT a fost scăzută ($9,58 \pm 2,74$ vs $49,93 \pm 5,15$ ng/ml); la patru pacienți, ritmul a fost absent. La 10 copii cu pubertate întârziată, de etiologii diferite, valorile 6-sulfatoximelatoninei s-au situat la limita inferioară a grupului martor, dar a existat o mare variabilitate interindividuală ($17,93-70,79$ ng/ml). O mare variabilitate s-a înregistrat și la nivelul gonadotropilor, secreția lor fiind corelată negativ cu a melatoninei. Rezultatele susțin implicarea glandei pineale prin secreția MT în procesul de creștere și maturare sexuală. Dozarea temporală a 6-sulfatoximelatoninei urinare poate să furnizeze date privind diferențierea etiologiei pubertății întârziate.

RADIODIAGNOSIS AND RADIOTHERAPY OF BONE METASTASES USING ORGANOPHOSPHORIC SUBSTANCES

Dana Niculae¹, Valeria Lungu¹, Penelope Bouziotis²,
Ioannis Pirmettis², Adina Chirita³

The majority of malignant tumors expressed by breast and prostate leads to bone metastases, patients in advanced stages of disease develop considerable pain which often conduct to pathological stress. An efficient strategy based on phosphonates radiolabeled with β , γ emitters (medium β energy, high LET and presence of a γ emission suitable for diagnosis and therapy follow up purposes) allows the design of new palliative and therapeutic agents for bone metastases, as a better alternative to analgesic and external therapy.

The high bone uptake of phosphonates, due to their affinity for calcium in osteogenic areas, allows the delivery of ionizing radiation in metastatic sites which results in tumor inhibition, regression or necrosis.

Two phosphonates ligands with different structures HEDP (1-hydroxy-ethylidenediphosphonic acid) and TTHMP (triethylene-tetramino-hexamethylenephosphonic acid) were labeled with ^{188}Re ($T_{1/2}=17$ h, $E_{\beta\text{max}}=2,12$ MeV, $E_{\gamma}=155$ keV). The radiolabelling processes were optimized; the followed up parameters were: pH, temperature, ligand to reducing agent ratio and reaction medium. High radiochemical purity (RCP > 95%) and stable compounds were obtained (*in vitro* stability was tested up to 48 h). The chemical and biological comparative evaluation of radiolabeled phosphonates highlights the relation between chelates structure and their bone uptake.

The biodistribution studies of radiolabeled phosphonates showed a rapid blood clearance and minimum uptake in soft tissues. The specific bone uptake of ^{188}Re -HEDP (71.3%–88.08%) is better than that obtained for ^{188}Re -TTHMP (59.8% at 4h-24h post injection; 75.14% at 48h post injection) and recommends ^{188}Re -HEDP as a radiotherapeutic and palliative agent for bone metastases.

Med-Online. Baza de date cu algoritmi de diagnostic si tratament in afectiuni medico-chirurgicale.

Dr.Valentin Muntean, Clinica Chirurgie IV, UMF Cluj-Napoca.

Prin proiectul intitulat "Baza de date cu algoritmi de diagnostic si tratament in afectiuni medico-chirurgicale" ne-am propus dezvoltarea si intretinerea unei baze de date medicale pe Internet, Med-Online, pusa la dispozitia practicienilor, invatamantului medical, cercetarii, managerilor din sanatate, Caselor de Asigurari de Sanatate, Colegiului Medicilor si publicului. Coordonatorul proiectului este Universitatea de Medicina si Farmacie "Iuliu Hatieganu" Cluj-Napoca, Romania si partenerii ASTRAL TELECOM, Colegiul Medicilor Cluj-Napoca, Casa de Asigurari de Sanatate Cluj-Napoca si Spitalul Universitar CF Cluj-Napoca. Proiectul este finantat prin Programul National VIASAN al Academiei Romane de Stiinte Medicale.

Algoritmii de diagnostic si tratament sunt modalitati optime, aliniate la standardele europene si internationale si elaborate prin colaborare multidisciplinara, de rezolvare a unor situatii clinice concrete, recomandate de catre expertii din diferite domenii din universitatea noastra in baza rezultatelor cercetarilor clinice publicate n literatura de specialitate, experientei personale, a practicilor colectivului si a scolii medicale pe care o reprezinta si a posibilitatilor umane, tehnico-materiale si financiare aflate la dispozitie.

"Baza de date cu algoritmi de diagnostic si tratament in afectiuni medico-chirurgicale" este structurata pe trei nivele de complexitate: medic generalist (Simptome, semne si sindroame), specialist (Boli) si expert (Cazuri clinice), primele doua continand algoritmi de diagnostic si tratament si ultimul cazuri clinice exemplare. Baza de date este construita in doua versiuni "in oglinda", Romana si Engleza.

Informatiile continute in baza de date Med-Online sunt adresate in primul rand tinerei generatii de medici, studenti in medicina, rezidenti si practicieni, angajati in procesul atat de dificil al educatiei medicale. Generatia actuala de studenti si rezidenti in medicina a crescut odata cu Internetul, resursa ubiquitara, cuprinzatoare si -in general- gratuita de informatie.

UNBALANCE OF PERIPHERAL LYMPHOCYTES SUBPOPULATIONS IN NON-Q AND MYOCARDIAL INFARCTUS

Monica Neagu¹, Gina Manda¹, Carolina Constantin¹, Isabela Tamsula², Alina Cojan², Cristina Tanaseanu²

1."Victor Babes" National Institute, Bucharest, Romania

2."Sf.Pantelimon" Emergency Hospital, Bucharest, Romania

As the second cause of world mortality is the cardiovascular disease the search for markers that can predict the disease's outcome is of highest priority.

The purpose of the study was the investigation of some immune parameters in non-Q and myocardial infarctus.

Materials and Methods.

Patients diagnosed with non-Q (non-Q) or myocardial infarctus (IM) were subjected immediately for blood draw prior to any medication.

Cells. Lymphocytes were separated from peripheral blood at maximum 6h after hospital admittance.

Immunophenotyping was assessed in whole peripheral blood with Simulates IMK-Lymphocyte kit (Becton Dickinson).

Cell proliferation was assessed as the ³H-Thymidine incorporation test.

Results. Although the peripheral mononuclear cells count and the total CD3+ peripheral cell population are in normal ranges in both the investigated groups we obtained abnormal percentage of CD4+ and CD8+ subpopulations. Thus IM patients presented a statistically significant raise of CD4+ subpopulation while non-Q patients a marked decrease in CD8+ ones. Accordingly CD8+ in IM patients and CD4+ in non-Q patients were in normal ranges. The proliferating index of separated non-stimulated lymphocytes was high in non-Q patients and statistically unchanged in IM ones. The proliferation index of in vitro PHA/PWM-stimulated lymphocytes is altered in both investigated groups compared to normal values, alteration mainly due to the modification of basal proliferation of the separated lymphocytes. As one of the used anticoagulant therapy of the patients are the low molecular weight heparines (LMWH) we investigated also effect of some usual LMWH's on the immune parameters of the patients. As some of the LMWH's induce a raise in the proliferating index it is mandatory to carefully choose the LMWH type in order not to enhance the basically activated lymphocytes. Taken together our results proved that the investigated patients present some immune parameters modifications that can indicate the outcome of the cardiovascular diseases.

The work is supported by the Romanian National Research Grants Viasan 090/2001

MODIFICARI ALE SUBPOPULATIILOR LIMFOCITARE PERIFERICE IZOLATE DE LA PACIENTI CU INFARCT SI MIOCARDIC INFARCT NON-Q

Monica Neagu¹, Gina Manda¹, Carolina Constantin¹, Isabela Tamsula², Alina Cojan², Cristina Tanaseanu²

1. Institutul National "Victor Babes", Bucuresti, Romania

2. Spitalul de Urgenta "Sf. Pantelimon", Bucuresti, Romania

Determinarea markerilor celulari care pot prevedea evolutia maladiilor cardiovasculare este una din preocuparile sustinute ale cercetarii medicale internationale.

Scopul studiului prezentat este investigarea unor parametrii imuni celulari la pacientii cu infarct miocardic si infarct non-Q.

Materiale si Metode

Pacientii diagnosticati cu infarct miocardic (IM) si infarct non-Q (non-Q) au fost supusi imediat recoltarii de sange venos pe anticoagulant inainte de instituirea unei medicatii

Celule. Din sangele periferic au fost separate populatiile de celule mononucleare dupa maximum 6 ore de la recoltare

Imunofenotipare. Sangele periferic integral a fost supus fenotiparii cu utilizandu-se kitul Simultest IMK-Lymphocyte (Becton Dickinson).

Proliferarea celulara a fost determinata cu ajutorul testului de incorporare a ³H-timidinei.

Rezultate. Desi la ambele grupe de pacienti investigati numarul de celule mononucleare periferice si procentul de limfocite CD3+ se gaseste in limitele valorilor normale s-a constatat ca procentele de CD4+ si CD8+ sunt modificate fata de normal. Astfel, pacientii IM au prezentat o crestere semnificativ statistica a subpopulatiei CD4+ in timp ce pacientii non-Q o scadere marcanta a subpopulatiei CD8+. Indicele de proliferare al limfocitelor periferice nestimulate este crescut la pacientii si in limite normale la pacientii IM. In urma stimularii in vitro cu PHA/PWM a limfocitelor periferice capacitatea proliferativa se incadreaza in limita valorilor normale. Datorita faptului ca terapia maladiilor cardiovasculare are in componenta si anticoagulante din clasa heparinelor cu masa moleculara mica (HMMM) a fost investigat si efectul unor HMMM terapeutice asupra unor parametrii imuni celulari la pacientii non-Q si IM.

Concluzii. Rezultatele prezentate aduc dovezi privind modificarea unor parametrii imuni celulari la pacientii cu maladii cardiovasculare asociate cu evolutia clinica a pacientului.

Lucrarea a fost finantata de Proiectul Viasan 090/2001

Med-Online. Medical Algorithms – Diagnosis and Treatment.

Dr. Valentin Muntean, Clinica Chirurgie IV, UMF Cluj-Napoca.

With the project "Medical Algorithms - Diagnosis and Treatment" we developed and maintain of a web-based online database Med-Online for the use of practitioners, medical teachers, researchers, health-care managers, Health Insurance Companies, the College of Physicians and the general public. The coordinator of the project is the "Iuliu Hatieganu" University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca, Romania, partners being ASTRAL TELECOM, the College of Physicians, the Health Insurance House, and the CF University Hospital, all from Cluj-Napoca. The project is financed by the National Program VIASAN of the Romanian Academy of Medical Sciences.

Diagnosis and treatment algorithms are best practice methods for solving concrete clinical problems, aligned to the European and international standards and developed by multidisciplinary teams, recommended by the experts in the various medical specialties of our university based on clinical evidence, personal experience, professional practices of the medical school they represent, as well as the human, technical and financial resources available.

The Med-Online database is structured by three levels of complexity: practitioner, specialist and expert, the first two levels including algorithms of diagnosis and treatment and the third significant clinical cases. The database is developed as two mirror versions, Romanian and English.

The Med-Online database is primarily addressing the needs of young physicians, medical students, residents and practitioners, actively involved in the difficult process of medical education. The current generation of students and residents has grown together with the Internet, the worldwide encompassing and (largely) free resource. It is only natural that medical schools should develop into this direction and make use of the overflowing resources provided by the Internet and the electronic environment.

Strategia de cercetare și dezvoltare tehnologică în domeniile medical și farmaceutic în perspectiva integrării în spațiul de cercetare european

Cp1. ing. Petre VASILESCU, INFO SIT S.A.

Plecând de la analiza generală a domeniilor medical și farmaceutic în prezent în România și făcând o comparație detaliată a acestora cu situația lor în țările Uniunii Europene, lucrarea stabilește principalele deficiențe existente în țara noastră în aceste domenii și măsurile mai importante prin care o activitate de cercetare-dezvoltare bine orientată, cât mai mult integrată în spațiul de cercetare european, ar putea permite atingerea nivelului țărilor mediu dezvoltate din Uniunea Europeană în următorii 8-10 ani, în respectivele domenii.

În acest scop, cele două unități coordonatoare ale lucrării (INFO SIT S.A. și INCDS), împreună cu un număr mare de specialiști din țară, din cele mai semnificative unități de cercetare-dezvoltare din România din cele două domenii, au stabilit un Program/ Strategie de cercetare-dezvoltare pentru următorii 8-10 ani, conținând un număr de două domenii prioritare, divizate în 10 domenii, în care ar trebui efectuate un număr de 41 de teme de cercetare-dezvoltare (având în primul rând în vedere rezolvarea unor probleme care afectează în mod special starea de sănătate a populației).

Pentru fiecare din cele 41 de teme se dă o fișă detaliată în care se prezintă: titlul temei, obiectivele principale urmărite, rezultatele și beneficiile așteptate, unitățile/ specialiștii care ar putea realiza tema, durata lucrării și resursele necesare, modul de integrare în spațiul de cercetare european (în primul rând în Programul PC6), etc.

„Strategia” propusă în lucrare, elaborată în 8 luni, în perioada noiembrie 2003 – iunie 2004, conține și o serie de concluzii/ propuneri importante, care ar permite realizarea ei în condiții mai bune.

Multiple Approach Case Study Report of a Ph+ Chronic Myeloid Leukemia (CML) with Double Molecular Expression.

Borsaru G*^; Lungeanu A.*; Arghir A.*; Barca V.*; Filipescu C.*; Botea S.* Barbu D.^; Angelescu S.^; Lupu A.^; Popescu D.^

* INCDC “Victor Babes” Bucuresti

^ Spitalul Clinic Coltea, Clinica. de Hematologie

The Philadelphia chromosome is an abnormal chromosome resulting from a 9-22 balanced translocation. The breakpoint on the chromosome 9 is situated within the ABL gene and that on chromosome 22 corresponds to BCR gene.

This translocation determines the fusion of the 5' end of the BCR gene with the 3' end of the ABL gene and the formation of the BCR-ABL fusion gene transcribed and translated into a hybrid protein.

The aberrant expression of the fusion gene which has a tyrosinekinase-like action, is associated with several malignant conditions, amongst which the most frequent and specific is the Chronic Myeloid Leukaemia (CML).

In CML, the fusion gene resulted following the translocation is expressed in several transcriptional variants of which a2b2 and a2b3 are the most frequent. Very rare cases of CML express both variants simultaneously.

We report hereby several clinical, paraclinical and molecular aspects of a CML Ph+ case with double molecular expression discussing potential aetiology of the double molecular expression of the BCR-ABL oncogene.

Multiple Approach Case Study Report of a Ph+ Chronic Myeloid Leukemia (CML) with Double Molecular Expression.

Borsaru G*[^]; Lungeanu A.*; Arghir A.*; Barca V.*; Filipescu C.*; Botea S.* Barbu D.[^]; Angelescu S.[^]; Lupu A.[^]; Popescu D.[^]

* INCD “Victor Babes” Bucharest

[^] Coltea Clinical Hospital, Dept. of Haematology

Cromozomul Philadelphia (Ph) este un cromozom anormal rezultat al unei translocatii echilibrate 9-22. Punctul de ruptura de pe cromozomul 9 se afla pe gena ABL iar cel de pe cromozomul 22 corespunde genei BCR.

Translocatia determina fuziunea fragmentului 5'-terminal al genei BCR cu cel 3'-terminal al genei ABL cu aparitia unei gene de fuziune BCR-ABL transcrise si translate intr-o proteina hibrida. Expresia aberanta a genei de fuziune care are actiune tirozinkinazica, se asociaza cu mai multe afectiuni maligne, dintre care leucemie granulocitara cronica (LGC) este cea mai frecventa si specifica.

In LGC, gena de fuziune rezultata in urma translocatiei se exprima in mai multe variante transcriptionale dintre care a2b2 si a2b3 sunt cele mai frecvente. Foarte rare cazuri de LGC exprima ambele variante simultan. In aceasta lucrare raportam aspecte clinice, paraclinice si moleculare ale unui caz de LGC Ph+ cu dubla expresie moleculara discutind etiologia potentiala a dublei expresii moleculare a oncogenei BCR-ABL.

Research and Technological Development Strategy in the Medical and Pharmaceutical Domains in the Perspective of Integration in the European Research Space

Cp1. ing. Petre VASILESCU, INFO SIT S.A.

Considering a general analysis of the medical and pharmaceutical domains in Romania at present and making a detailat comparison of these domains with those similar from the European Union, our research work establishes the main existing deficiencies in our country and proposes some important measures for a well orientated research and development activity, as much as possible integrated in the European research space. In this way our country could reach the medium level developed countries from European Union in the next 8-10 years in the above mentioned domains.

The two research units (INFO SIT S.A and INCDS) that co-ordinated this work, together with an important number of specialists from the most significant research units from Romania of the specified domains, established finally a “PROGRAM /STRATEGY OF RESEARCH AND DEVELOPMENT” for the next 8-10 years, containing two main priority domains, divided in 10 subdomains, with 41 research and development themes (representing the main problems that affects actually the health of the Romanian population).

For each of the 41 themes is given a detailat content with the following chapters:

extended title, main objectives, expected results and benefits, units /specialists that could achieve the theme, duration and necessary resources, possible integration in the European research space (especially in PC6 Program).

The proposed “Strategy” (elaborated in 8 months, from november 2003 to june 2004) contains also some important conclusions/ proposals that could allow its achievement in better conditions.

Noi sisteme biocompatibile și bioactive pentru rezolvarea edentațiilor parțiale și totale

Dr. ing. Nicolae RUSU, INFO SIT S.A.

Implantologia vine astăzi să completeze, cu bune rezultate și foarte promițătoare în timp, arsenalul terapeutic al stomatologiei contemporane, în ceea ce privește rezolvarea protetică a edentațiilor.

În ultima perioadă, datorită rezultatelor obținute prin fenomenul de osteointegrare și durabilitate în timp implantele endosoase, osteointegrate, de diferite tipuri și forme, își fac tot mai mult loc în rezolvarea edentațiilor.

Prin proiectul realizat s-a urmărit: “**Dezvoltarea unor noi sisteme biocompatibile și bioactive pt rezolvarea edentațiilor parțiale și totale**”, problematica abordată incluzând:

- Studiul, evaluarea și dinamica aparatului masticator;
- Aspecte de protezare și biomecanică în implantologie;
- Biologia osteointegrării;
- Aspecte privind calitatea suprafețelor și straturile de acoperire ale elementelor protetice/implanturi;
Ca activități mai importante realizate menționăm:
- Evaluare metode / instrumentar / elemente protetice și de reconstrucție osoasă dirijată cunoscute pe plan național și internațional;
- Aspecte legate de evaluarea edentațiilor după întindere și localizare;
- Elaborarea unor noi tipuri funcționale de elemente protetice, implanturi, membrane pt reconstrucție osoasă dirijată;
- Considerații anatomico-chimice asupra oaselor maxilare și mandibulare corelate cu procedurile de reconstrucție osoasă dirijată, implantologie și distracție;
- Evaluarea aspectelor legate de histologia osteointegrării și a raportului implant / țesut osos și gingival;

Differentiation of mesenchymal stem cells from human bone marrow into osteoblasts and their use as autograft

Irina Fleseriu, Cezar Ciohodaru*, Elena Constantinescu, Anca Gafencu, Ioana Manolescu, Victor V. Jinga, Corneliu Zaharia*, Maya Simionescu

Institute of Cellular Biology and Pathology "Nicolae Simionescu", Bucharest, Romania,
*Clinical Institute "Colentina"- Department of Orthopedics and Traumatology II, Bucharest, Romania

Objective: Production of pure human osteoprogenitor cells populations and their use as autograft in bone healing deficiencies.

Materials and methods: Human mesenchymal stem cells were isolated from hematogen bone marrow aspirate. Nucleated cells were separated on a density gradient and were cultured in modified DMEM supplemented with 10% fetal calf serum. Ultrastructural aspects of osteoprogenitor cells (OP) were monitored by transmission electron microscopy. OP were histochemically tested for the presence of alkaline phosphatase, deposition of extracellular calcium, and the expression of specific markers: osteocalcin (Ost), respective bone sialoglycoprotein (BSP) and osteonectin (Osn) using immunofluorescence microscopy (monoclonal antibodies) and molecular biology techniques (PCR). OP were cultivated on different putative biocompatible supports: Pancoll, compozit matrix, MG matrix, as well as on decellularized spongy human bone.

Results: Ultrastructural examination shows the presence of a well developed rough endoplasmatic reticulum (RER) and Golgi apparatus, as well as an extracellular matrix with osmiofil and electrono-opaque elements. The demonstration of alkaline phosphatase was made before and after the supplementation of culture medium with 10mM β glycerophosphate and 10^{-7} M dexamethasone, witch induced the differentiation of OP into osteoblasts. The activity enzymes was observed in both conditions. The presence of calcium deposits in extracellular matrix was demonstrated after 2 weeks of treatment with β glycerophosphate and dexamethasone as mineralized nodules with high mechanical resistance. Osteoprogenitor cells markers were tested before the exposure at β glycerophosphate and dexamethasone, as well as one, 2 and 4 weeks of treatment.

Concluzions: Osteoblasts differentiation was demonstrated by morphological, histoenzymological, immunohistochemical aspects and by molecular biology techniques. Human osteoblasts will be used in allografts as cellular suspension or cultured on biocompatible implant materials.

DIFERENTIAREA CELULELOR STEM MEZENCHIMALE DIN MADUVA OSASA UMANA IN OSTEOLASTE SI UTILIZAREA LOR IN AUTOTRANSPLANT

Irina Fleseriu, Cezar Ciohodaru*, Elena Constantinescu, Anca Gafencu, Ioana Manolescu, Victor V. Jinga, Corneliu Zaharia*, Maya Simionescu
Institutul de Biologie si Patologie Celulara "N. Simionescu", Bucuresti

**Institutul Clinic Colentina - Clinica de Ortopedie si Traumatologie II, Bucuresti*

Scop : Obținerea, multiplicarea și diferențierea *in vitro* a osteoblastilor umani în vederea utilizării lor ca transplant autolog în tratamentul deficiențelor de refacere osoasă.

Materiale și metode: Din maduva osoasă hematogenă recoltată prin puncție din creasta iliacă postero-superioară a unor subiecți umani au fost separate celule nucleate pe un gradient de densitate. Celulele au fost crescute în DMEM 4,5 % modificat, completat și suplimentat cu 10% ser fetal. Celulele osteoprogenitoare (CO) obținute au fost caracterizate din punct de vedere ultrastructural, testate pentru prezența fosfatazei alcaline, pentru depunerea de calciu extracelular și pentru exprimarea markerilor specifici: osteocalcina (Ost), osteonectina (Osn), sialoglicoproteina osoasă (BPS I și BSP II). Au fost folosite tehnici de imunofluorescență (anticorpi monoclonali) și biologie moleculară (RT-PCR). CO au putut fi cultivate pe diferite suporturi biocompatibile: (pancol-P ; matrice MG-MG ; matrice compozit-MC), precum și pe os uman spongios decelularizat.

Rezultate : Examinarea ultrastructurală a celulelor evidențiază prezența unui reticul endoplasmatic rugos și a unui aparat Golgi bine dezvoltat, precum și a unei matrici extracelulare bogate conținând formațiuni osmiofile, electrono-opace. Determinarea fosfatazei alcaline a fost făcută înainte și după suplimentarea mediului cu 10mM β- glicerofosfat de sodiu și 10⁻⁷M dexametazonă care induce diferențierea CO în osteoblaste. A fost constatată prezența enzimelor în ambele cazuri. Demonstrarea calciului în matricea extracelulară a fost posibilă după 2 săptămâni de tratament cu β glicerofosfat de sodiu și dexametazonă. Se evidențiază noduli densi cu rezistență mecanică mare, vizibili la microscopia optică, ceea ce sugerează edificarea unor nuclee de substanță osoasă.

Concluzii: Diferențierea *in vitro* a osteoblastilor a fost demonstrată morfologic, histoenzimologic, imunochimic și prin tehnici de biologie moleculară. Materialul celular uman va fi utilizat în autotransplante sub formă de suspensie celulară sau cultivat pe suporturi de implantare.

Proiect finanțat de Academia Română și de grant-ul nr. 022/2001 al programului Viasan.

New Biocompatible and Bioefficient Methods to Solve Partial and Total Toothless

Dr. ing. Nicolae RUSU, INFO SIT S.A.

Implantology comes to complete, with good results and very promising in the future, the therapeutically arsenal of the contemporary stomatology, in order to solve prosthetic toothless.

The last decades do to: the results obtained by the osteointegration phenomenon and durability the osteointegrated endobony implants, of different kinds and forms are used in order to solve toothless.

By the materialized project we achieved: “**Development of New Compatible and Bioactive Methods to Solve Partial and Total Toothless**”, including the following issues:

- Masticator apparatus study and evolution;
- Prosthetic appearances and biomechanics in implantology;
- Osteointegration biology;
- Issues on surfaces quality and cover layer of the prosthetic / implants elements.

The most important materialized activities are:

- Assessment / tools / prosthetic elements and for controlled bony reconstruction known at the national and international level;
- Appearance on toothless assessment according to surface/aria and location/ localization elaboration of new functional types / kinds of prosthetic elements, implants, membrane for controlled bony reconstruction;
- Anatomical-chemical considerations / appreciation on jaw and mandible bones correlated with controlled bony reconstruction procedures;
- Assessment on osteointegration histology appearances and implant / bony and gingival tissue;
- Appearances on solving prosthetic toothless by the new biocompatible and bioactive systems;

IMPLANTS AND PROSTHESIS ELEMENTS IN CRANIO-MAXILO-FACIAL SURGERY

*Dr. ing. Comsa Stanca, sing. Ștefan Maria
INCDMF Bucharest*

The particularly part of cranio-maxilo-facial surgery reflect the intense study of dentoparodontial, facial parts and visceral cranium.

Some methods of approaching the trauma were adapted from related discipline, such as: ORL, ophthalmology and neurosurgery.

The conditions of immobilization through axial compression are assured from mini-plates and screw of compression. Its offers a tridimension stability to place of fracture. The screws are put in bicorticaly. This action imprint an enough force and possibility to lead the move of blunt bones in front of mini-plates and between blunt-bones.

The application of its is pretentiously and is necessary to have known some biomechanic principles; without this principles is possible to appear complications and failures.

An important clinic observation: in case of close contact (compression) result a primary healing followed by effect at bone structure level. For those results matrix array of titanium elements it is very important. Also, it is very important for physician to understand the biomechanical principle.

These new developed elements became an integrated part into a large project for developing and improve the quality of surgery at the level cranio-maxilo-facial.

This project should resolve one of important problem of medicine field, and this is to realize a specialize equipment for rehabilitating cranio-maxilo-facial surgery. In this way, this branch of surgery will be help.

Promoting the results of this project it is wanted to implement in practice this results and to minimizing technological discrepancy in realizing prosthesis and implant elements and getting know-how for these products.

POSTERE