

16. **E.F. Morgan et al.** Micro-computed tomography assessment of fracture healing: Relationships among callus structure, composition and mechanical function. *Bone* (2009) 44(2):335-334
17. **C. Faure et al.** Mechanical signals modulated vascular endothelial growth factor – A (VEGF-A) alternative splicing in osteoblastic cells through actin polymerization. *Bone* (2008) 42:1092-1101
18. **N.M. Rawool et al.** Power Doppler assessment of vascular changes during fracture treatment with low-intensity ultrasound. *J Ultrasound Med* (2003) 22:145-153
19. **B.D. Browner, J.B. Jupiter, A.M. Levine, P.G. Trafton, C. Krettek** *Skeletal trauma*. 2008.

TRANSPLANTUL DE MEMBRU SUPERIOR

Alexandru Cebanu

(Conducător științific: Tatiana Globa, asistent universitar)

Catedra de Histologie, Citologie și Embriologie

Summary

Transplant of the upper limb

Making an analysis of specialized literature on the limb's transplantation, it can be ascertained that the satisfactory results in this area have been obtained in 20th century, following the discovery of suturing vessels techniques and techniques of immunosuppression. Microsurgical techniques offered the possibility to enlarge the functional capacity of transplanted limb. Increasing the survivability and preventing severe graft rejection can be ensured by the administration of corticosteroid hormones, polyclonal antibodies, calcineurin inhibitors, antiproliferatives coupled with vascularized bone marrow transplantation, which increases the chimerism. Analysis of data from literature concludes that the main directions of development in limb transplantation technique are: tissue printing, elaboration and development of new products, methods and techniques of immunosuppression.

Rezumat

Făcând o analiză a literaturii de specialitate asupra transplantului de membru, se poate concluziona că rezultatele satisfăcătoare în acest domeniu au fost obținute în secolul XX, în urma descoperirii tehnicii suturării vaselor și tehnicii de imunosupresie. Tehnicile microchirurgicale au oferit posibilitatea de a mări capacitatea funcțională a membrului transplantat. Sporirea surviabilității și prevenirea respingerii severe poate fi asigurată prin administrarea hormonilor corticosteroizi, anticorpilor policlonali, inhibitorilor calcineurini, antiproliferativelor cuplați cu transplantul de măduvă osoasă vascularizată, ce mărește chimerismul. Analiza datelor din literatura de specialitate concludă că principalele direcții de dezvoltare a tehnicii de transplant de membru sunt: printingul tisular, elaborarea și dezvoltarea noilor produse, metode, tehnici de imunosupresie.

Transplantul de membru - visul umanității din antichitate - a fost expus în diverse legende și mituri. Despre primul transplant de membru în literatură se menționează tranplantarea membrului inferior efectuată în secolul III e. n. Această operație nu poate fi considerată un alotransplant de succes, pentru că la momentul acela nu se cunoșteau despre mecanismele răspunsului imun și tehnicile microchirurgicale de suturare a vaselor.[1,2] În secolul XVIII a fost efectuat primul alotransplant de tendonul lui Achilles la găini. În secolul XIX se practica tot mai des transplantarea țesuturilor: piele, tendoane, nervi, cartilaj, cornee. In secolul XX, după descoperirea tehnicii suturării vaselor în anul 1902 Alexis Carrel (chirurg francez), definește problema răspunsului imun al organismului, la corpul străin asociat. O mare însemnătate a avut

descoperirea de patologul vienez K. Landsteiner a sistemului sanguin ABO. În anul 1914 se descoperă că cauza respingerii sunt limfocitele ce infiltrează organul transplantat, însă a fost nevoie de mult timp pentru a demonstra mecanismul molecular al interacțiunii celulare. Descoperirile în imunologie au permis în anul 1954 să fie efectuat primul alotransplant de rinichi între gemeni monovitelini efectuat în Boston de Joseph Murray. Primul transplant de rinichi de la cadavru a fost efectuat cu succes în anul 1962, iar de plămân în anul 1963. În anul 1972 Ciclosporina introdusă de Francois Borel a mărit considerabil surviabilitatea organului transplantat, prin supresia sistemului imun a recipientului.[2]

Actualitatea temei

Alotransplantul de membru este o metodă efectivă de restabilire funcțională a bolnavului în cazurile în care replantarea membrului amputat este imposibilă. Fiind o soluție adecvată pentru o integrare socială și în câmpul de muncă a pacienților cu amputarea bilaterală a membrilor, alotransplantul de membru este important atât pentru medicină ca știință cât și în mărirea calității vieții pacienților cu amputații uni- sau bilaterale. După datele lui Marco Lanzetta [2] primul transplant de membru superior a fost efectuat în anul 1964 în America de Sud cu agenți imunosupresivi primitivi. Transplantul a fost respins după 2 luni. Următoarea încercare de alotransplant a fost efectuată în Franța, Lyon (28 septembrie, 1997), transplantul fiind ulterior amputat în Statele Unite ale Americii în Februarie 2001. Amputarea fiind cauzată de ignorarea de către pacient a terapiei imunosupresive și a fizioterapie. În ianuarie, anului 1999 echipa de microchirurgi din Louseville (SUA) a reușit să transplanteze cu succes membrul superior stâng. În Septembrie 1999 au fost raportate două cazuri de transplant reușit de membru superior în China.[2]

Azi, obiectivul principal al transplantării complexe este prelungirea duratei de supraviețuire a alogrefei evitând complicațiile legate de terapia imunosupresiva de lungă durată (infecții, intoxicații, efecte metabolice adverse). Astfel, efectuarea alotransplantului fără utilizarea terapiei imunosupresive de lungă durată, după cum remarcă Keiichi Muramatsu, va da posibilitatea de a mări considerabil indicațiile pentru transplantul țesuturilor compuse și va revoluționa chirurgia reconstructivă. [6,9,10]

Complexitatea transplantului alogenic a țesuturilor complexe este mai mare față de transplantul doar a unui singur organ, deoarece grefa este compusă dintr-un spectru larg de țesuturi (pielea și derivații ei, țesutul conjunctiv subcutanat, mușchi, nervi, fascii, oase, măduvă osoasă, ganglioni limfatici, vase sanguine), multe dintre care sunt înalt antigenice și sunt capabile să respingă transplantul. În plus țesuturile sunt cu o activitate antigenică diferită, din care cauză răspunsul autoimun este asincron și variabil după intensitate. O mare problemă la transplantarea unei mari părți de membru reprezintă măduva osoasă hematogenă, transplantarea căreia înainte se efectua prin tehnica transplantului celulelor măduvei osoase, însă acum se practica transplantarea măduvei osoase vascularizate cu microambianța păstrată. Aplicarea tehnicii permite evitarea respingerii în cazul încetării administrării medicamentelor imunosupresive, acest efect se datorează unui chimerism înalt (aproximativ 10%), ceea ce a și cauzat supraviețuirea membrului transplantat. Chimerismul este fenomenul de migrare (răspândire) a celulelor de la organul transplantat la organismul recipientului. Acest fenomen este foarte important, pentru că reprezintă o metodă de a mări probabilitatea supraviețuirii transplantului, independenta de medicamente. Chimerismul cuprinde două fenomene: macrochimerismul și microchimerismul. Microchimerismul constă în implantarea măduvei osoase vascularizate direct în osul recipientului, precursorii limfocitelor în stroma măduvei osoase a donorului se maturizează, astfel țesuturile transplantate nu prezintă antigenitate față de celulele imunocompetente. Macrochimerismul se caracterizează prin ceea ce limfocitele donorului nu se infiltrează în țesutul conjunctiv subcutanat al recipientului, însă limfocitele recipientului sunt des întâlnite în țesutul conjunctiv al donorului, anume acest fenomen și explica respingeri severe. Deseori macrochimerismul apare pe un timp scurt postoperator și de obicei fiind prevenit prin imunosupresie, alteleori, îndeosebi atunci când grefa este mică, chimerismul

periferic are un caracter durabil și persistent. [7, 8, 9, 10, 11, 12]

Cu toate că au fost făcute multe studii în domeniul terapiei imunosupresive și au fost depășite multe etape în acest domeniu (ca de exemplu folosirea ciclosporinei sau analogilor ce reduceau mult imunitatea pacientului), o metodă de maximă eficiență în a supresa imunitatea nu a fost elaborată. Actualmente, terapia imunosupresivă constă în utilizarea combinată a antibioticilor și a anticorpilor poli- sau monoclonali, în scopul de a diminua reacției de respingere celulară.[6,12]

Anticorpii policlonali sunt direcționați spre distrugerea prin citoliza anticorp-antigen complementara a unei varietăți mari de limfocite, deseori se folosește globulina antitimocitara, complementara cu majoritatea antigenelor limfocitelor-T. Anticorpii monoclonali au o specificitate mai îngustă și se utilizează în scopuri speciale, mai ales în cazul unor respingeri majore. De exemplu Baziliximabul folosit pentru inhibiția receptorului pentru IL-2 aflat pe membrana leucocitului, legându-se de acest receptor el împiedica legarea IL-2 cu receptorul, astfel prevenind activarea proliferării limfocitelor T și prin urmare împiedicând manifestarea funcțiilor imunologice. Forma nouă a acestui medicament este daclizumabul, prezintă o specificitate mai mare pentru receptorul limfocitelor - T.[6]

În marea majoritate a cazurilor terapia imunosupresivă durează toată viața. Medicamentele imunosupresive se combină deseori cu corticosteroizii și inhibitorii calcineurini, dozajul se stabilește individual. Scopul acestor combinații este de a menține o balanță între hiposupresie, în cazul căreia va începe respingerea, și hipersupresie, care poate să producă îmbolnăvire cu boli infecțioase la bolnav.[6]

Corticosteroizii sunt indispensabili în terapia menținerii grefei, pentru rolul lor anti-inflamator și imunosupresiv. Ei acționează prin inhibarea producerii citokinelor; și circulația în sânge a limfocitelor, producerea acizilor metabolici și scad permeabilitatea microvasculară. Blochează activarea limfocitelor-T. Prednisonul și metilprednizolonul sunt principalele medicamente utilizate în terapia de menținere a transplantului de organ. Efectele secundare a corticosteroizilor sunt blocarea IL-2, TNF- α , IFN- γ . Ele acționează într-un mod general, inhibând activitatea întregului sistem imun.[6]

Inhibitorii calcineurini sunt utilizați în scopul distrugerii celulelor blaste și astfel oprind expansiunea clonară. Reacționând cu IL-2, ei împiedica legarea IL-2 la receptorul ce mediază proliferarea limfocitară, mărinnd considerabil probabilitatea de supraviețuire a grefei. Ciclosporina și tacrolimusul, metaboliții ciupercilor *Tolypocladium infatum* Gams și *Streptomyces Tsukubaensis*, acționează în mod similar inhibând IL-2, efectul secundar este nefrotoxicitațiile și un efect imunosupresiv violent.[6]

Antiproliferativele micofenolat mofetilul, azatioprina și sirolimul inhibă sinteza de ADN în limfocitele-T, acționând doar asupra celulelor ce proliferază, ele prezintă specificitate înaltă, sunt ușor absorbite în sânge, hidrolizându-se, se transformă în forma activă și împiedică sinteza de novo a bazelor azotate, astfel opresc celulele în faza G1 a ciclului celular.[6]

Terapia imunosupresiva este într-o dependență și de gradul de respingere ce se controlează după nivelul de granulocite și limfocite în piele (derm). Conform datelor publicate de Jean Kaniakis în scopuri practice, au fost stabilite 4 grade de respingere. Primul grad se caracterizează printr-un număr normal de celule imunocompetente în derm, ce nu provoacă edemă și este considerată o stare normală a grefei. Al doilea grad se caracterizează prin sinteza normală a keratinei, însă și prin prezența numeroaselor focare perivasculare de limfocite ce pot fi identificate numai cu ajutorul biopsiei și analize ulterioare histologice, această etapă este foarte importantă în prevenirea acutizării răspunsului imun, și este indispensabilă în perioada postoperatorie timpurie. Gradul trei se caracterizează prin edeme multiple la nivelul grefei, prezența iritațiilor pe piele și prin prezența unor aglomerări perivasculare masive de granulocite și limfocite situate difuz în derm. Gradul patru este asociat cu respingerea acută de grefă și este caracterizat printr-un edem general acut și un început al necrotizării epiteliale, odată ce se ajunge la gradul 4, grefa este urgent amputată.

Tehnica transplantării membrului constă din următoarele etape: pregătirea pacientului de

operație, incizia pielii în zig-zag și etichetarea vaselor și nervilor, repararea structurilor, îngrijirea postoperatorie a pacientului. [3, 4]

Pregătirea pacientului pentru operație constă în estimarea nivelului de amputare și identificarea gradului de dificultate a intervenției chirurgicale, ce este proporțională cu proximalitatea traumatizării și modul în care a fost pierdut membrul, în cazul unei pierderi accidentale sau evulsii, regenerarea țesuturilor și repararea lor va necesita mai mult timp și iscusință. De asemenea în această etapă se vor forma echipele medicale, iar numărul lor este în strânsă corelație cu gradul de dificultate a cazului, precum și de numărul de membre ce sunt transplantate. [3, 4]

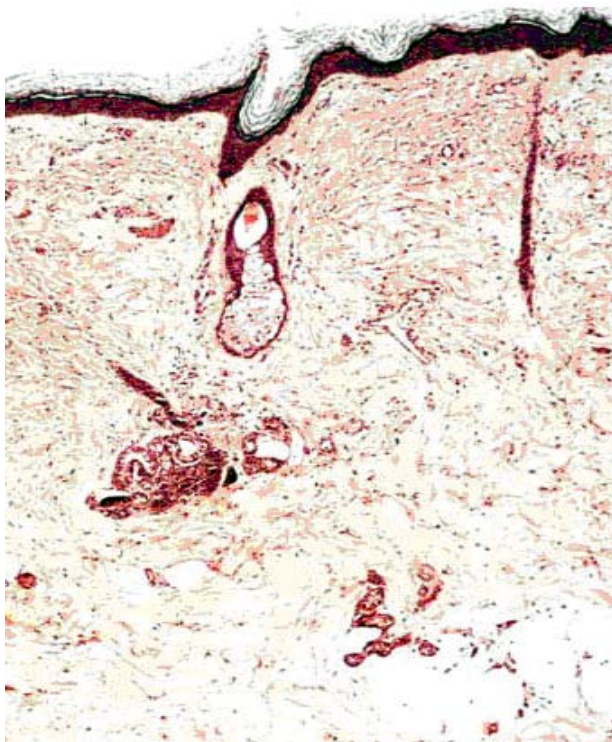


Fig. 1. Gradul I de respingere

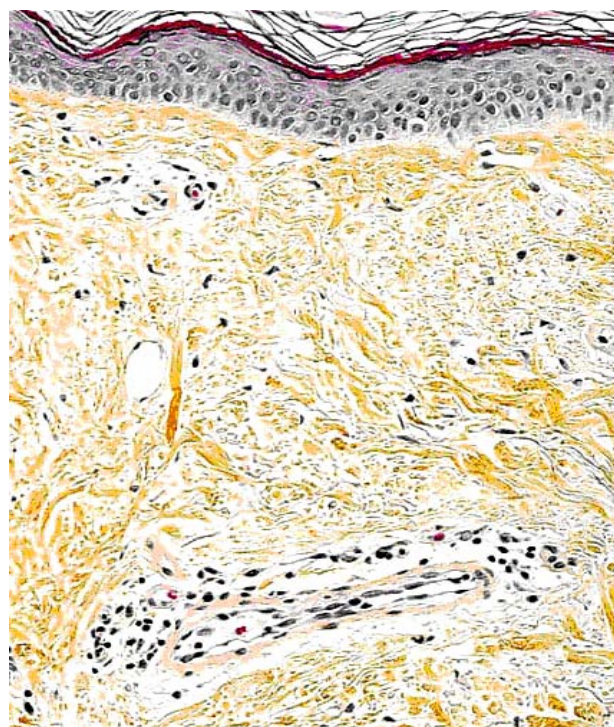


Fig. 2. Gradul II de respingere

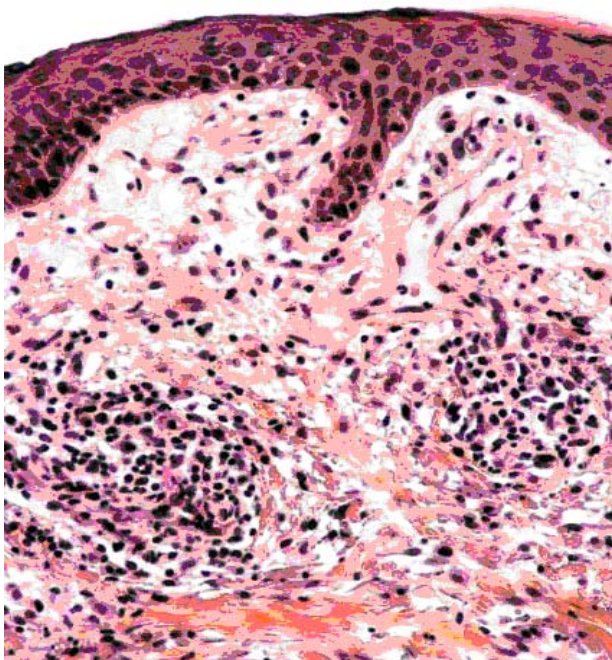


Fig. 3. Gradul III de respingere

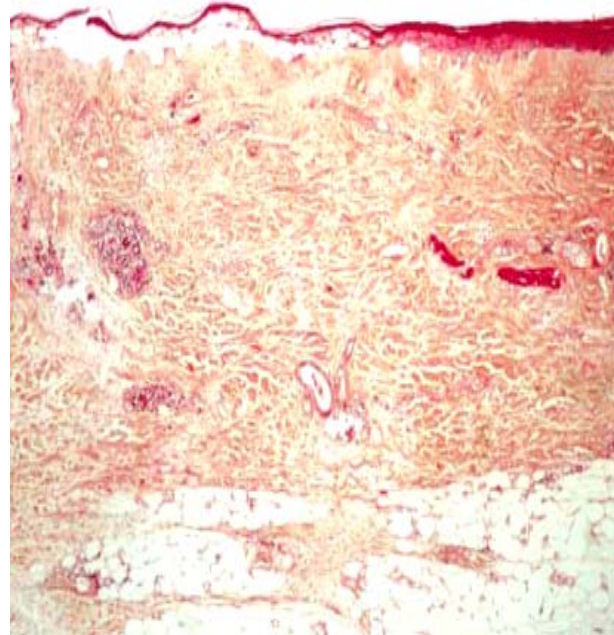


Fig. 4. Gradul IV de respingere

Inciziile în zig-zag atât la recipient cât și la donator se efectuează astfel ca să fie

complementare. Forma de zig-zag a inciziilor este un factor ce micșorează probabilitatea ruperii grefei în cazul apariției edemului considerabil, totodată acest tip de incizii mărește suprafața de contact a pielii la nivelul suturii și împiedică concentrarea edemului, astfel această tehnică confirmându-și eficacitatea înaltă față de incizia circulară. [3, 4]

Inciziile se vor efectua, încercând să fie păstrată integritatea vaselor mari și mușchilor, pentru un mediu de operare mai puțin sângeros. Mediul hipohemoragic este necesar pentru etichetarea corectă a vaselor nervilor și mușchilor. Pentru fiecare țesut se aplică tehnica de etichetare diferită. Etichetarea permite economisirea timpului și organizarea mai bună a lucrului în timpul operației. [3, 4]

În cazul în care donorul este mort, timpul scurs de la deces joacă un rol enorm, din care cauză prelevarea organului se va efectua cât mai operativ și cât mai rapid posibil. Dacă se impune transportarea grefei această se congelează, iar ulterior se asigură drenarea și perfuzia ei. [3, 4]

Ulterior efectuării inciziilor și etichetării vaselor, nervilor, mușchilor sau tendoanelor, începe repararea țesuturilor, precum urmează:

1. Osteosinteza prin fixarea internă a osului - este necesară estimarea cât mai precisă a lungimii osului și unghiului implantării, pentru păstrarea funcționalității membrului. Este necesar ca periostul să rămână cât mai puțin afectat, pentru o regenerare rapidă. Articulațiile nu se imobilizează.

2. Repararea primară a vaselor - primul vas reparat va fi artera ulnară căreia i se lasă un reziduu de lungime pentru o eventuală corecție ulterioară. Pentru a preveni o hemoragie mare se suturează vena bazilică. Pentru a preveni acidoza, se face perfuzie cu bicarbonat de sodiu.

3. Suturarea tendoanelor se va efectua la înălțimi diferite. Tehnica efectivă este suturare în zig-zag cu interval de 1.5-2cm. Aceasta va micșora forța de frecare între porțiunile cicatrizate a tendoanelor. O atenție sporită necesită suturarea pronatorului pătrat situat profund. La sfârșitul suturării tendoanelor și mușchilor se efectuează testarea echilibrului flexorilor și extensorilor, se observă unghiul articulației în stare relaxată, care trebuie să fie în flexie ușoară.

4. Repararea vasculară definitivă - se realizează cu estimarea cât mai precisă a lungimii vaselor, pentru prevenirea atârării sau tensionării lor excesive. După ce se anastomizează a doua arteră mare, se face corecția de lungime a primei artere. Se efectuează anastomozarea a cel puțin unei vene satelit pentru fiecare arteră mare. Pentru asigurarea unui drenaj cât mai bun a alogrefei se anastomizează cel puțin o venă profundă și cât mai multe artere subcutanate. O drenare bună poate fi considerată în cazul suturării a 2-3 vene pentru fiecare arteră anastomozată. Numărul de vene anastomozate este direct proporțional cu probabilitatea supraviețuirii transplantului.

5. Pentru repararea nervului este necesară înlăturarea neuromei pacientului ce se formează la cicatrizarea nervului după amputare. Metoda fasciculară de suturare este mult mai efectivă decât cea epineurală. Fasciculele se suturează atent ca să nu se distorsioneze și să nu se stranguleze. Aplicarea un număr cât mai mic de noduri previne strangularea nervului.

6. În timpul suturării pielii se va ține cont de complementaritatea inciziilor și se va atrage atenție la colarea pielii lojii unghiale. În cazul unei înălțiri excesive pielea se relaxează. [3, 4]

Îngrijirea postoperatorie include observarea culorii, temperaturii, și reîntoarcerii sângelui prin capilarele grefei (prin apăsarea timp de 1-2 secunde asupra lojii unghiale); monitorizarea permanentă a temperaturii corpului și a pulsului. Timp de o săptămână postoperator se administrează heparină ce ulterior se substituie cu aspirină, pentru a preveni coagularea și formarea trombelor. Postoperator principala etapă o constituie terapia imunosupresivă, din cauză că anume ea asigură toleranța recipientului față de greafă. [3, 4]

În concluzie putem menționa că cea mai mare dificultate în transplantul țesuturilor complexe prezintă nu tehnica chirurgicală, ci îngrijirea postoperatorie, din cauza implicării unui număr mare de mecanisme imunologice, ce se desfășoară în diferite țesuturi la diferite intervale de timp postoperator, în dependență de gradul de imunogenitate a țesutului. Elaborarea și implementarea tehnicii de transplant de măduvă osoasă hematogenă vascularizată, în urma

rezultatelor studiilor experimentale efectuate pe șobolani și pe primate, a permis prelungirea termenului de imunotoleranță a recipientului față de greșă și micșorarea dozelor medicamentelor imunosupresive. Alotransplantarea țesuturilor compuse prezintă un potențial de dezvoltare în chirurgia reconstructivă, principalele direcții de dezvoltare fiind: elaborarea metodelor noi de imunosupresie, aprofundarea cercetărilor în direcția sintezei in vitro a organelor și țesuturilor.

Bibliografie

1. **Mario Benanzio** Cosmas and Damian Revisited Bruce Benanzio, Hand Transplantation, Springer Milan, 2007
2. **Marco Lanzetta** Hand Transplantation as an Evolution of Microsurgery: A Logical Step towards Better Reconstructive Options, Hand Transplantation, Springer Milan, 2007.
3. **Milomir Ninkovic** Technical and Surgical Details of Hand Transplantation, Hand Transplantation, Springer Milan, 2007
4. **Marco Lanzetta, Roberta Nolli** Hand Replantation and Transplantation: More Differences than Similarities, Hand Transplantation, Springer Milan, 2007
5. **Jean Kanitakis** Skin Rejection in Human Hand Allografts: Histological Findings and Grading System, Hand Transplantation, Springer Milan, 2007
6. **Palmina Petruzzo** Pharmacological Treatment of Rejection, Hand Transplantation, Springer Milan, 2007
7. **Selahattin Ozmen, MD, Betul G. Ulusal, MD, Ali E. Ulusal, MD, Dariusz Izycki, MD, PhD, Maria Siemionow, MD, PhD, DSc** Composite Vascularized Skin/Bone Transplantation Models for Bone Marrow-Based Tolerance Studies Annals of Plastic Surgery, Annals of Plastic Surgery, Vol. 56, Nr.3, Lippincott Williams & Wilkins, Inc. 2006
8. **Alexander Kubitskiy, Jian Li, Marco Lanzetta, Earle Owen, Geoffrey W. Mc Gaughan, G. Alex Bishop** Simultaneous Vascularized Bone Marrow Transplantation to Promote Acceptance of Hind Limb Allografts and Its Effects on Central and Peripheral Chimerism, Transplantation, Vol. 83, Nr. 9, Lippincott Williams & Wilkins, Inc. 2007.
9. **Marina Noris, Giuseppe Remuzzi** Induction of Tolerance in Alotransplantation, Hand Transplantation, Springer Milan, 2007
10. **Keiichi Muramatsu, Kazuteru Doi, Hiroshi Tanaka Toshihiko Taguchi** - Induction of High-Level Chimerism in Composite Tissue Transplants Hand Transplantation, Springer Milan, 2007
11. **Rollin K. Daniel, Kevin A. Brenner** The History of Experimental Hand Transplantation in Primates Hand Transplantation, Springer Milan, 2007
12. **M. Semionow, A. Klimczak, S. Unal, G. Agaoglu, K.Carnevale** Hematopoietic Stem Cell Engraftment and Seeding Permits Multi-Lymphoid Chimerism in Vascularized Bone Marrow Transplants, American Journal of Transplantation, Vol. 8, Nr.6, Blackwell Munksgaard, 2008.

TUMORI OVARIENE MALIGNE

Daniela Efremova

(Conducator științific – asistent universitar Elena Reuțchi)

Catedra Morfopatologie USMF “Nicolae Testemițanu”

Summary

Ovarian cancer is the most frequent cause of death among malignant tumors, especially in the well-developed countries, the main reason of it being late diagnosis (70-75 per cent). Because of the difficulty of its early diagnosis, it is also called a "silent killer".