

**UNIVERSITATEA “OVIDIUS” CONSTANȚA
FACULTATEA DE ȘTIINȚE ALE NATURII ȘI ȘTIINȚE AGRICOLE**

**STUDII BIOCHIMICE ASUPRA POTENȚIALULUI
TERAPEUTIC AL NĂMOLULUI SAPROPELIC DE
TECHIRGHIOL ÎN SPONDILITA ANCHILOZANTĂ**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC
PROF. UNIV. DR. NATALIA ROȘOIU**

**DOCTORAND
DANIELA PROFIR**

**CONSTANȚA
2012**

CUPRINS

STUDII BIOCHIMICE ASUPRA POTENȚIALULUI TERAPEUTIC AL NĂMOLULUI SAPROPELIC DE TECHIRGHIOL ÎN SPONDILITA ANCHILOZANTĂ

Pag.

OBIECTIVELE ȘI SCOPUL LUCRĂRII.....	7
PARTEA I STADIUL CUNOAȘTERII.....	11-84
CAPITOLUL 1. SPONDILITA ANCHILOZANTĂ.....	11-37
1.1. Definiție.....	11
1.2. Istoric.....	14
1.3. Epidemiologie și genetică.....	15
1.4. Etiologie și patogeneză.....	16
1.4.1. Rolul mecanismului imun în patogeniza spondilitei anchilozante.....	17
1.4.2. Citokinele în afecțiunile autoimune.....	18
1.5. Caracteristici clinice și diagnostic.....	28
1.5.1. Moduri de debut.....	28
1.5.2. Examenul fizic și evoluția bolii.....	30
1.5.3. Examen de laborator.....	30
1.6. Tratament.....	31
1.6.1. Tratament farmacologic.....	31
1.6.2. Terapia fizică.....	34
1.6.3. Abordare chirurgicală.....	34
1.6.4. Evaluarea rezultatelor în urma terapiei aplicate.....	35
1.7. Prognostic.....	36
1.8. Concluzii.....	36
CAPITOLUL 2. NĂMOLUL SAPROPELIC DE TECHIRGHIOL.....	38-51
2.1. Definiția și clasificarea nămolurilor.....	38
2.2. Peloidogeneza.....	39
2.3. Fizica și biochimica nămolurilor.....	41
2.3.1. Proprietăți fizice.....	41
2.3.2. Compoziția chimică.....	43
2.4. Mecanisme de acțiune ale nămolurilor.....	45
2.4.1. Consecințele fiziologice și terapeutice ale acțiunii factorilor fizici.....	45
2.4.2. Consecințele fiziologice și terapeutice ale acțiunii factorilor chimici.....	48
CAPITOLUL 3. STRESUL OXIDATIV.....	52-84
3.1. Biogeneza radicalilor liberi.....	52
3.1.1. Considerații generale.....	52
3.1.2. Radicali liberi în sisteme biologice.....	54
3.2. Producerea de specii reactive ale oxigenului (SRO).....	56
3.3. Toxicitatea SRO la nivel celular, subcelular și molecular.....	60
3.4. Sisteme antioxidante.....	65
3.4.1. Enzime antioxidante.....	66
3.4.2. Antioxidanți neenzimatici.....	70
3.5. Concluzii.....	83
PARTEA a II-a CONTRIBUȚII PERSONALE.....	85-209
CAPITOLUL 4. INTRODUCERE.....	85-89
CAPITOLUL 5. MATERIAL ȘI METODĂ.....	90-114
5.1. Materiale.....	90
5.2 Tehnici de aplicare a tratamentului cu apă sărată și nămol din lacul Techirghiol.....	90

5.3. Metode de determinare a parametrilor stresului oxidativ.....	92
5.4. Metode de determinare a parametrilor hematologici.....	103
5.5. Analiza statistică.....	110
CAPITOLUL 6. REZULTATE ȘI DISCUȚII.....	115-209
6.1. Experimentul 1 Evaluarea unor markeri ai stresului oxidativ.....	115
6.2. Experimentul 2 Studiul citokinelor plasmaticice și evaluarea unor markeri biochimici și enzimatici.....	137
6.2.1. Studiul citokinelor plasmaticice.....	137
6.2.2. Evaluarea unor markeri biochimici și enzimatici.....	151
6.3. Experimentul 3 Evaluarea statusului hormonal.....	161
6.3.1. Căile imune nervoase și conexiunea lor cu bolile inflamatorii.....	161
6.4. Experimentul 4 Evaluarea parametrilor schimburilor gazoase din sângele periferic și a echilibrului acido-bazic.....	172
6.4.1. Reglarea oxigenării tisulare.....	172
6.4.2. Schimburile gazoase la nivelul mușchiului scheletic.....	173
6.4.3. Eliberarea convectivă.....	174
6.4.4. Difuzia oxigenului.....	175
CONCLUZII.....	210
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....	213
LUCRĂRI ELABORATE DE DOCTORAND.....	231

OBIECTIVELE ȘI SCOPUL LUCRĂRII

Spondilita anchilozantă este o afecțiune complexă, potențial debilitantă, cu debut insidios și progresie radiologică a sacroileitei după mai mulți ani, consecințele fiind pierderea capacității de muncă prin invaliditate, afectarea resurselor de sănătate și afectarea calității vieții. Patogeneza acestei afecțiuni este incomplet elucidată. Totuși mecanismele mediate imun implicând antigenul leucocitar uman HLA-B27, infiltratele inflamatorii celulare, citokinele proinflamatorii, cum ar fi factorul de necroză tumorală TNF- α și interleukina 10, precum și factorii genetici și de mediu joacă un rol important.

Până de curând, opțiunile terapeutice pentru pacienții cu SA puteau cel mult să amelioreze câteva dintre simptomele bolii. Mulți pacienți cu SA au o formă severă sau progresivă a bolii, care este responsabilă pentru costurile semnificative socio-economice directe și indirecte. Terapiile tradiționale, precum AINS și medicamentele antireumatice modificatoare de boală (DMARDs), ca metotrexatul și sulfasalazina, asigură o ameliorare ușoară a simptomelor. Există în prezent dovezi care demonstrează că tratamentul cu anti-factor de necroză tumorală (anti-TNF) este foarte eficient în SA, îmbunătățește semnele și simptomele bolii, precum și calitatea vieții, efecte care consecutiv pot scădea costurile socio-economice asociate cu boala. Totuși, sunt necesare în continuare și alte studii de cercetare pentru a demonstra dacă pacienții au beneficii după terapia pe termen lung și dacă progresia radiologică și anchiloza pot fi încetinite sau oprite.

Terapia anti-TNF este însă foarte costisitoare (până la 13.000\$/an). Altă preocupare majoră este faptul că, fiind medicamente relativ noi, este necesară analiza pe termen lung a posibilelor reacții adverse. TNF joacă un rol cheie în apărarea organismului împotriva infecțiilor prin inițierea inflamației și prin ajutorul dat celulelor de a se autorepara.

De aceea asistăm în prezent la o întoarcere spre factorii terapeutici naturali de cură, ca tratament adjuvant în multe dintre afecțiunile la care medicina modernă nu are încă un remediu. Balneoterapia, indiferent de proveniența și compoziția factorilor naturali utilizați, are un impact holistic asupra organismului în ansamblu; organismul este "bulversat", toate aparatele și sistemele "lucrează tranzitoriu" într-un regim care solicită toate mijloacele de reglare antientropică pentru menținerea homeostaziei mediului intern.

Tratamentul cu nămol este o metodă terapeutică foarte veche utilizată în ameliorarea durerilor articulare încă din antichitate. Utilizarea nămolului în tratamentul afecțiunilor reumatismale cronice s-a făcut empiric de-a lungul anilor. Singurele studii științifice datează din anii 1950-1970, când s-au elaborat în România aproximativ 50 de lucrări care fundamentează întreaga activitate cu factori balnari de cură din țara noastră și a fost scrisă o monografie despre biocenoza lacului Techirghiol (ȚUCULESCU, 1965).

În țara noastră s-au făcut numeroase studii în ultimii ani, în care s-a încercat aplicarea metodelor moderne de cercetare din medicină în demonstrarea efectelor factorilor naturali de cură din

balneologie. Astfel, la Sanatoriul Balnear și de Recuperare Techirghiol, în cadrul nucleului de cercetare, s-au efectuat studii histologice privind impactul peloidoterapiei asupra tegumentului (SURDU, 2006), studii biochimice privind efectele fizio-terapeutice ale nămolului în afecțiunile reumatismale degenerative cronice (MARIN, 2011) și sunt în derulare alte studii referitoare la efectele tratamentului cu nămol și la obținerea unor produse biologic active extrase din nămol.

În acest context am ales o temă de cercetare aflată la răspântia mai multor domenii – biochimie, imunologie, reumatologie – și am încercat să demonstrez substratul efectelor terapeutice (antiinflamator, de ameliorare a stresului oxidativ, de reechilibrare hormonală, de ameliorare a schimburilor gazoase în sângele periferic) ale nămolului sapropelic de Techirghiol la pacienții cu spondilită anchilozantă. Din practica medicală zilnică am observat o ameliorarea marcată a evoluției bolii la acești pacienți după cura balneară, efect persistent un timp variabil între 6 și 12 luni. Prognosticul funcțional al pacienților cu SA s-a îmbunătățit semnificativ în condițiile repetării periodice (la aproximativ 6 luni) a curei balneare la Techirghiol, a scăzut și consumul de medicamente simptomatice. Nu este de mirare procentul mare de pacienți cu SA care revin periodic în stațiune pentru tratament complex de recuperare ce include și factorii specifici de cură (nămol sapropelic și apă salină).

Prin acest studiu biochimic, imunologic și reumatologic doresc să aduc o modestă contribuție la elucidarea mecanismelor complexe de acțiune a nămolului în spondilita anchilozantă, respectând criteriile medicinei bazate pe dovezi, evidențiind încă o dată potențialul terapeutic inestimabil al nămolului sapropelic de Techirghiol, ca terapie adjuvantă valoroasă în reumatismele inflamatorii cronice.

Obiectivele urmărite în cadrul studiului prezent au fost:

1. Evaluarea efectului antiinflamator al nămolului sapropelic de Techirghiol la pacienții cu spondilită anchilozantă. Pentru aceasta am determinat la diferite momente valorile serice ale unor markeri ai stresului oxidativ la pacienți cu SA tratați cu nămol, știut fiind faptul că există o strânsă corelație între inițierea inflamației și speciile reactive de oxigen. Au fost analizați următorii markeri: statusul antioxidant total (TAS), superoxid dismutaza (SOD), glutatión reductaza (GR), glutatiónul redus (G-SH).

2. Evaluarea efectului antiinflamator al nămolului sapropelic de Techirghiol la pacienții cu spondilită anchilozantă. Pasul cel mai important pentru evaluarea potențialului antiinflamator al nămolului a fost determinarea citokinelor proinflamatorii, fiind demonstrat rolul acestora în patogeneza bolilor reumatismale inflamatorii cronice și implicit a spondilitei anchilozante. Am determinat astfel în dinamică: factorul de necroză tumorală α (TNF- α), interleukina 1 β (IL-1 β), interleukina 6 (IL-6). Pentru a completa studiul efectelor terapiei cu nămol asupra tabloului inflamator din SA am determinat anumiți parametri biochimici hematologici: numărul de leucocite, viteza de sedimentare a hematiilor la 1 oră și la 2 ore, fosfataza alcalină.

3. Evaluarea efectelor nămolului sapropelic de Techirghiol asupra statusului hormonal la pacienții cu SA, pentru a încerca o recunoaștere a efectelor sale complexe asupra balanței endocrine. Am determinat în acest scop cortizolul și hormonul tireostimulant (TSH) plasmatic.

4. Evaluarea impactului terapiei cu nămol asupra schimburilor gazoase și echilibrului acido-bazic la pacienții cu spondilită anchilozantă. Pentru aceasta am determinat în dinamică următorii parametri din sângele periferic: capacitatea de legare a oxigenului (O_2CAP), conținutul în oxigen al hemoglobinei (O_2CT), presiunile parțiale ale oxigenului și dioxidului de carbon în sânge (pO_2 , pCO_2), saturația în oxigen a sângelui periferic ($SO_2\%$), dioxidul de carbon total sangvin (TCO_2), pH-ul, ionul bicarbonat, lactatul seric.

CAPITOLUL 5

MATERIAL ȘI METODE

Am efectuat un studiu amplu pe un număr total de 111 pacienți cu spondilită anchilozantă, împărțiți în mai multe loturi, internați și tratați în sanatoriu în perioada 2006 - 2007.

1. Pentru studiul markerilor stresului oxidativ la pacienții cu spondilită anchilozantă s-au alcătuit grupuri diferite, în funcție de numărul de pacienți cu această patologie la momentele determinărilor enzimaticice.

Determinarea superoxid dismutazei s-a făcut pe un lot de 18 pacienți, la care s-au făcut recoltări din sângele periferic înainte de inițierea tratamentului, după prima aplicație terapeutică cu nămol (în prima zi), în a doua zi de tratament și la finalul perioadei de cură balneară, după 12 zile.

Determinarea statusului antioxidant total și a glutation reductazei s-a făcut pe un lot de 20 pacienți, la care s-au recoltat probe din sângele periferic înainte de inițierea tratamentului, la 24 ore după prima aplicație de nămol, după 5 zile de tratament și la finalul perioadei de cură balneară (după 12 zile). Probele recoltate în a doua zi s-au coagulat în mare parte și nu au putut fi folosite pentru determinări biochimice sau statistice.

În cazul celor trei enzime s-a determinat pentru fiecare recoltare și nivelul hemoglobinei în sângele fiecărui pacient și s-au calculat atât valorile enzimelor în unități internaționale pe mililitru, cât și valorile enzimelor calculate în unități raportate per gram de hemoglobină, conform standardelor internaționale. Probele au fost recoltate în ambele cazuri la Sanatoriul Balnear și de Recuperare Techirghiol și prelucrate la Spitalul Militar Constanța. S-au folosit kituri Randox Laboratories, Crumlin, U.K.

Glutationul redus a fost determinat la 10 pacienți cu SA înainte și după cura balneară de 12 zile efectuată în sanatoriu.

2. Studiul citokinelor proinflamatorii TNF- α , IL-1 β și IL-6 s-a efectuat pe un lot de 18 de pacienți. Recoltările probelor s-au făcut înainte și după tratamentul balnear, pentru a evalua efectul antiinflamator al nămolului la pacienții cu spondilită anchilozantă. Pentru determinări s-a utilizat tehnica ELISA, iar probele au fost prelucrate la laboratorul Tody din București.

Tot la acest grup de pacienți au fost recoltate și probe biologice generale (reactanți de fază acută, markeri ai hoemostaziei osoase), pentru o evaluare mai completă a tratamentului, cum ar fi: numărul de leucocite, viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) la 1h și la 2h, fosfatază alcalină. Toate aceste probe au fost recoltate la inițierea și la finalul tratamentului cu nămol.

3. Determinările hormonale s-au făcut pe un lot de 20 de pacienți. A fost urmărită variația cortizolului plasmatic și a hormonului tireostimulant (TSH) prin tehnica ELISA, recoltările făcându-se înainte de începerea tratamentului, la 24 de ore după prima aplicație de nămol și la sfârșitul perioadei de tratament. Deoarece acești pacienți au fost internați în cursul verii, tratamentul prescris a variat între aplicații calde de nămol (băi de nămol sau împachetări de nămol) și oncțiuni cu nămol rece pe

malul lacului Techirghiol, în funcție de perioada de activitate a bolii și de alți factori asociați, iar analiza rezultatelor s-a făcut comparativ între cele două subloturi.

4. Determinarea markerilor schimburilor gazoase în sângele periferic s-a efectuat pe un lot de 25 de pacienți. Pentru că răspunsurile adaptative imediate pot fi diferite de cele din finalul tratamentului, la acest lot am recoltat probe înainte de începerea tratamentului, imediat după prima aplicație caldă (baie de nămol sau baie de sare), la 24 de ore după prima aplicație și la sfârșitul curei de 12 zile.

Pentru respectarea principiului medicinei bazate pe dovezi (evidence-based medicine), datele obținute au fost înregistrate în tabele, din care am calculat parametrii de tendință centrală (media, modul, mediană) și parametrii de dispersie (deviația standard). Validarea ipotezelor studiate a fost efectuată prin metodele Student (t-test) și analiza de variantă unifactorială (ANOVA), la care a fost considerată o relevanță statistică $p(t) < 0,05$ semnificativă în vederea rejectării ipotezei nule formulate pentru fiecare situație în parte. Rezultatele le-am reprezentat în grafice.

Pacienților le-a fost cerut consimțământul și au fost informați asupra utilizării datelor în scop de cercetare.

Materialele utilizate în realizarea studiului au fost:

- nămol sapropelic din zăcămintul de pe fundul lacului Techirghiol, apă minerală salină din lacul Techirghiol;
- dotările din baza de tratament a Sanatoriului Balnear și de Recuperare Techirghiol, unde pacienții din loturile studiate au efectuat tratamentul balnear: bunkerul de depozitare și încălzire a nămolului, mese pentru împachetare și căzi de baie, lenjerie (cearceafuri, păături, prosoape), termometre pentru apă, dușuri cu apă dulce, plaja special amenajată pe malul lacului cu vane pentru nămol și dușuri cu apă dulce.
- aparatura de laborator folosită: pentru determinările biochimice s-a utilizat analizorul automat Beckman Coulter Synchron CX7, pentru cele hematologice analizorul automat de hematologie Diagon D-Cell 60, iar pentru determinarea parametrilor schimburilor gazoase aparatul CCEX 6 Nova Biomedical.

TEHNICI DE APLICARE A TRATAMENTULUI CU APĂ SĂRATĂ ȘI NĂMOL DIN LACUL TECHIRGHIOL

Baia salină rece sau imersia în apa lacului se face progresiv, atât ca durată (5-10 minute în primele zile până la 20-30 minute la sfârșitul curei), cât și ca număr (o singură baie în primele 3-4 zile, până la 3-4 imersii la sfârșitul curei). Temperatura apei lacului de la care imersia poate fi efectuată este de peste 20°C. Între 16° C și 20°C senzația produsă la imersie este de apă „rece ca gheața”, între 20°C și 24°C apa este rece, dar plăcută, iar peste 24°C este răcoroasă. Baia în apa lacului este o parte a complexului terapeutic alcătuit din helioterapie generală progresivă, oncțiune cu nămol rece și imersie

în apa lacului, acest mod de aplicație fiind cunoscut sub denumirea de „metoda egipteană” (SURDU, 2006).

Baia salină caldă poate fi prescrisă și efectuată zilnic ca unică procedură de hidroterapie majoră sau la două zile, alternând cu o aplicație de nămol sau cu baie generală caldă cu extract de plante. Temperatura la care se prescrie baia salină este din domeniul termoneutralității, respectiv în jurul valorii de 37,5°-38°C. Pentru hidrokinetoterapie în bazin apa se încălzește la aproximativ 35°C, dând senzația de călduț (LUPU, 1956; SURDU, 2006).

Nămolul se folosește sub formă de onțiuni reci, băi calde de nămol și împachetări calde.

Onțiunea cu nămol rece este un complex terapeutic alcătuit din contrastul succesiv cald - rece. Onțiunea cu nămol rece se practică în sezonul estival, pe plaja special amenajată, unde este adus zilnic sau la 2 zile nămol extras din zăcământ. După expunerea la soare timp de 15-20 de minute, pacientul își aplică pe toată suprafața corpului un strat de nămol de 1-1,5 cm. În raport cu temperatura mediului ambiant uscarea nămolului se produce în 15-30 de minute. Urmează imersia completă în apa lacului pentru îndepărtarea nămolului, care se asociază cu mișcări active ale tuturor segmentelor corpului. La sfârșitul aplicației pacientul face un duș cu apă dulce. Durata expunerii la soare crește zilnic (de la 5-10 minute în prima zi, până la 30-40 minute la sfârșitul curei), ca și numărul imersiilor în lac. Numărul de aplicații de nămol pe zi rămâne constant. Pe toată durata curei nu se face decât o aplicație de nămol pe zi (TELEKI și col., 1984).

Baia generală caldă de nămol se face folosind 10 kg de nămol diluat în 120-150 l apă cloruro-sodică din lac. Temperatura de aplicare este de 37°C -39°C, termoneutralitatea pentru nămol fiind situată la 38°C. Durează 20-25 de minute și temperatura este menținută cvasiconstantă prin adăugarea unei cantități de apă caldă la jumătatea duratei băii. După expirarea timpului prescris de medic, pacientul face un duș cald pentru îndepărtarea nămolului și apoi unul rece scurt pentru împiedicarea vasodilatației sistemice. Baia generală de nămol se practică o dată la două zile, alternativ cu o baie salină (în piscina de hidrokinetoterapie sau în cadă) sau cu baie cu extract de plante (ONOSE, 2000).

Împachetarea generală caldă se face folosind 10-15 kg de nămol încălzit la 42°C-45°C. Nămolul este întins pe toată suprafața corpului, de la regiunea cervicală până la picioare. Pacientul este învelit cu un cearceaf și o pătură, i se aplică o compresă rece pe frunte pentru a preveni o vasodilatație marcată a vaselor cerebrale și se efectuează procedura timp de 30 minute. După expirarea timpului, nămolul este îndepărtat la dușul cu apă caldă. Procedura se încheie cu o aplicație rece scurtă, pentru prevenirea vasoplegiei produse de căldură. Împachetarea se face o dată la două zile, alternativ cu baia generală caldă cu apă din lac sau cu baia cu extract de plante (SURDU, 2006; ONOSE, 2000).

Tratamentul aplicat zilnic pacienților internați în Sanatoriul Balnear și de Recuperare Techirghiol constă în hidrotermoterapie (aplicații calde de nămol alternativ cu aplicații saline la bazin sau la cadă) și un număr variabil de proceduri adjuvante (electroterapie, kinetoterapie, masaj). Nu am efectuat nici o modificare acestui tratament, întrucât am urmărit evaluarea efectelor obținute în

condițiile reale de tratament. Durata tratamentului aplicat este de 12, 18, uneori 21 zile, în funcție de afecțiunea pacientului și tipul curei. Pentru realizarea grupelor studiate în teză am selectat pacienți care au efectuat o cură balneară de 12 zile.

Pentru analiza statistică s-a utilizat SPSS 12.0. S-au efectuat testele Student pentru eșantioane dependente, independente, testul Student pentru compararea mediei cu o valoare specificată, precum și analizele de corelație.

CAPITOLUL 6

REZULTATE ȘI DISCUȚII

6.1. EXPERIMENTUL 1

EVALUAREA UNOR MARKERI AI STRESULUI OXIDATIV

SA este o boală inflamatorie cronică, progresivă, de etiologie necunoscută. Inflamația afectează în principal scheletul axial, articulațiile periferice și structurile extra-articulare. Bazele fiziopatologice ale SA nu au fost bine identificate, dar sunt implicate mecanisme imunologice. S-a demonstrat că în SA numeroase funcții ale neutrofilelor sunt accentuate; aceste funcții stimulate ale neutrofilelor mediază stresul oxidativ, care are un rol important în patogeneza SA (WENDLING și col., 1991; YAZICI și col., 2004).

Stresul oxidativ descrie situațiile în care producția de oxidanți dăunători depășește capacitatea organismului de a-i neutraliza. Un rol decisiv al stresului oxidativ în bolile inflamatorii precum SA nu a fost încă pe deplin elucidat. Totuși, speciile reactive de oxigen produse de neutrofilele activate în cursul reacțiilor inflamatorii joacă un rol important în patogeneza multor boli inflamatorii (KARAKOC și col., 2007; OZGOCMEN și col., 2003). Reacțiile inflamatorii declanșează stresul oxidativ, ceea ce duce la creșterea nivelului oxidanților, care consecutiv determină scăderea nivelului de antioxidanți. Sistemul de apărare antioxidant este responsabil de protecția celulelor față de efectele potențial dăunătoare ale agenților oxidanți (WEISS, 1989).

În plus, un număr limitat de studii au investigat asocierea dintre patogeneza SA și stresul oxidativ. De exemplu, OZGOCMEN și col. (2004) au raportat că stresul oxidativ și peroxidarea lipidelor au fost crescute la pacienții cu SA fără tratament, în perioadă activă, dar nu au găsit corelații semnificative între nivelurile oxidanți/antioxidanți și activitatea bolii. În alt studiu, KARAKOC și col. (2007) au arătat că accelerarea capacității oxidante și scăderea capacității antioxidante pot fi corelate cu patogeneza SA, dar din nou nu au fost găsite corelații semnificative între parametrii antioxidanți/oxidanți și gradul de activitate a bolii. Scopul studiului a fost de a evalua statusul antioxidant total (TAS), statusul oxidativ total (TOS) și indexul de stres oxidativ (OSI) la pacienții cu SA. Nivelul plasmatic al TOS și valorile OSI au fost semnificativ crescute, iar nivelul plasmatic al TAS a scăzut la pacienți față de grupul de control.

Creșterea metabolismului oxidativ al sistemului fagocitar în SA a fost mai evidentă la testul cu luminol, sugerând activarea sistemului mieloperoxidazei (WENDLING și col., 1991).

Din moment ce diverse funcții ale neutrofilelor sunt crescute în SA, stresul oxidativ mediat de activarea neutrofilelor ar putea avea un rol important în patogeneza SA. Într-un studiu efectuat de YAZICI și col. (2004) au fost măsurate activitatea mieloperoxidazei plasmatice (MPO), reprezentând activarea neutrofilelor și biomarkerii stresului oxidativ, ca produșii de oxidare avansată a proteinelor (AOPP) și nivelul de tiol. Acesta este primul studiu care sugerează formarea de AOPP mediată de

neutrofile-MPO-acid hipocloros. Prin urmare, neutrofilele active și oxidanții clorinați proveniți din neutrofile pot fi considerați factori importanți în patogeneza SA, fiind corelați cu stresul oxidativ, în special cu oxidarea proteică.

Radicalii de tipul anioni superoxid din corpul uman sunt considerați o cauză majoră de inflamație. Totuși, rolul lor în patogeneza SA nu a fost bine identificat. Într-un studiu efectuat de HO și col. (2000), autorii își propun să stabilească relația dintre SA și metabolismul oxidativ al fagocitelor din sângele integral. Predominanța fagocitelor în curentul sangvin poate fi un factor determinant al debutului în SA.

Scăderea statusului antioxidant, care duce la generarea stresului oxidativ, poate juca un rol important în patogeneza SA (STANEK și col., 2010).

Rezultatele studiului efectuat de OZGOCMEN și col. (2004) indică faptul că stresul oxidativ și peroxidarea lipidelor sunt accelerate la pacienții netratați cu SA activă. Activitatea catalazei serice poate fi legată strâns de activitatea bolii. Consecutiv trebuie subliniat posibilul beneficiu al unor intervenții terapeutice care includ antioxidanți cu potențial înalt, care vor potența mecanismul de apărare antioxidant și vor scădea peroxidarea.

Se pare că anumiți mediatori, precum factorul inhibitor al migrării macrofagelor (MIF) și interleukina 10 (IL-10), sunt implicați în patogeneza unor afecțiuni inflamatorii, inclusiv SA. Citokinele proinflamatorii reglează producerea markerilor stresului oxidativ, precum oxidul nitric (NO) și malondialdehida (MDA). Deși au fost raportate la pacienții cu SA existența stresului oxidativ și a peroxidării lipidice, asocierea SA cu markerii cunoscuți ai stresului oxidativ și cu citokinele rămâne o incertitudine. Pe baza rezultatelor studiului condus de KOZACI și col. (2010), MIF poate fi implicat în patogeneza inflamației cronice din SA și, consecutiv, țintirea terapeutică a MIF poate fi benefică în prevenirea complicațiilor sau în inițierea tratamentului precoce al bolii.

Obiectivul unui studiu efectuat de TÚNEZ și col. (2007) a fost de a evalua efectul infliximabului asupra stresului oxidativ în boala articulară inflamatorie cronică activă (AR, SA și psoriazis). Efectele terapeutice au fost evaluate după 6 săptămâni de tratament, ca modificări în cantitatea produșilor de peroxidare a lipidelor, în grupările carbonil proteice, în conținutul glutatationului redus, al glutatationperoxidazei, catalazei și superoxid dismutazei. Rezultatele studiului relevă că: (i) infliximabul are proprietăți antioxidante, (ii) pacienții cu boală inflamatorie cronică prezintă niveluri crescute ale stresului oxidativ și (iii) stresul oxidativ este mai intens la pacienții cu boală activă decât la cei în perioadă de inactivitate a bolii.

Material și metodă

Pentru evaluarea stresului oxidativ la pacienții cu spondilită anchilozantă, tratați cu nămol, am determinat superoxid dismutaza (SOD), glutatation reductaza (GR), glutatationul redus (G-SH) și statusul antioxidant total (TAS), folosind kituri Randox Laboratories, Crumlin, U.K. și analizorul automat

Beckman Coulter Synchron CX7. Probele au fost recoltate la Sanatoriul Balnear și de Recuperare Techirghiol și prelucrate la Spitalul Militar Constanța.

Determinarea superoxid dismutazei s-a făcut pe un lot de 18 pacienți la care s-au făcut recoltări din sângele periferic la inițierea tratamentului, în prima zi după prima aplicație terapeutică, a doua zi de tratament și în finalul tratamentului, după 12 zile.

Determinarea statusului antioxidant total și a glutation reductazei s-a făcut pe un lot de 20 de pacienți la care s-au recoltat probe din sângele periferic la inițierea tratamentului, la 24 ore de tratament, la 5 zile de tratament și la finalul tratamentului. Probele recoltate în a doua zi s-au coagulat în mare parte și nu au putut fi folosite pentru determinări sau statistică.

În cazul celor trei enzime s-a determinat pentru fiecare recoltare și nivelul hemoglobinei în sângele fiecărui pacient și s-au calculat atât valorile enzimelor în unități internaționale pe mililitru cât și valorile enzimelor calculate în unități raportate la grame de hemoglobină, conform standardelor internaționale.

Glutitionul redus a fost determinat la 10 pacienți înainte și după tratamentul efectuat în sanatoriu. Datele obținute au fost prelucrate statistic și prezentate în grafice.

Criteriile de includere în lot au fost: pacienți corect diagnosticați cu SA (după criteriile New York modificate), cu boală inactivă sau activă, fără tratament medicamentos de fond sau simptomatic, internați în Sanatoriul Balnear și de Recuperare Techirghiol, cărora le-a fost cerut consimțământul și le-a fost asigurată confidențialitatea.

Criteriile de excludere din lot au fost: pacienți cu infecții intercurrente respiratorii, renale sau dermatologice, cu afecțiuni cardiovasculare decompensate, pacienții cu afecțiuni cronice renale, cardiovasculare sau hepatice, ce ar putea influența stresul oxidativ.

Superoxid dismutaza SOD (U/ml)

Superoxid dismutaza (SOD), (E.C.1.15.1.1.) este adesea denumită prima linie de apărare în fața stresului oxidativ, fiind principalul epurator din celule. Enzima există în toate celulele cu metabolism predominant aerob și în bacteriile facultativ aerobe.

SOD controlează nivelul anionilor superoxid, împiedicând inițierea reacțiilor de formare a radicalilor nocivi hidroxil și peroxinitrit (format în urma reacției dintre anionii superoxid și oxidul nitric).

Deoarece testul Levene a confirmat omogenitatea variantei ($p = 0,059 > 0,05$), se citesc valorile date de testul Bonferroni. Din rezultatele analizei post-hoc (Bonferroni) constatăm că:

1. Exista o creștere semnificativă statistic între valoarea mediei superoxid dismutazei înainte de inițierea tratamentului (ziua 0) și valoarea mediei superoxid dismutazei după prima aplicație terapeutică (ziua 1), pe când între momentul inițial și a doua zi de tratament valoarea SOD nu crește semnificativ.

2. Valoarea mediei superoxid dismutazei este semnificativ crescută în finalul tratamentului comparativ cu oricare din primele zile de tratament.

Aceste concluzii sunt ilustrate grafic în figura 1.

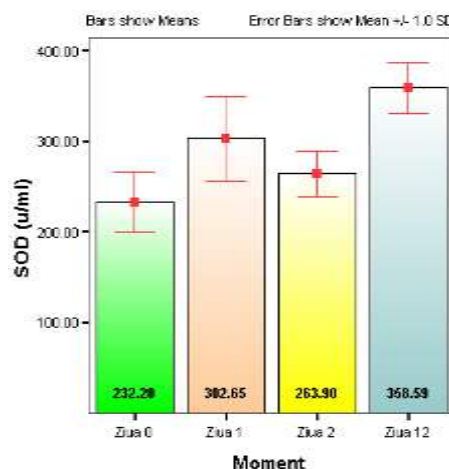


Fig. 1 Variația SOD (U/ml)

Superoxid dismutaza SOD (U/gHb)

Pentru a respecta rigorile de cercetare la nivel internațional am determinat la toți pacienții nivelul hemoglobinei la momentul determinării superoxid dismutazei și am calculat nivelul superoxid dismutazei și în unități raportate la nivelul hemoglobinei.

Deoarece testul Levene a confirmat neomogenitatea variantei ($p = 0,002 < 0,05$), se citesc valorile date de testul Tamhane. Astfel nivelul SOD (U/gHb) are o variație similară cu variația superoxid dismutazei SOD (U/ml):

1. Există o creștere semnificativă statistic între valoarea mediei SOD înainte de inițierea tratamentului (ziua 0) și valoarea mediei SOD după prima aplicație terapeutică (ziua 1).

2. Valoarea mediei SOD este semnificativ crescută în finalul tratamentului comparativ cu oricare din primele zile de tratament.

Această concluzie este ilustrată grafic în fig. 2.

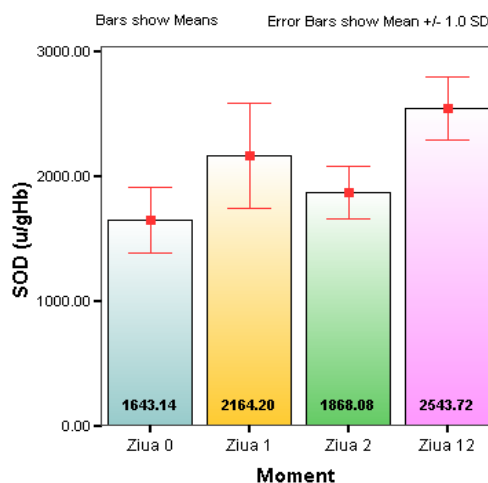


Fig. 2 Variația SOD (u/gHb)

Nivelul superoxid dismutazei crește semnificativ statistic după prima aplicație terapeutică și foarte accentuat în finalul tratamentului. Creșterea nivelului SOD în cazul tratamentului cu nămol la pacienții cu SA demonstrează ameliorarea capacității antioxidante a organismului, având în vedere rolul pozitiv al enzimei în neutralizarea ROS și inactivarea NO.

Statusul total antioxidant TAS (U/l)

Deoarece testul Levene a confirmat neomogenitatea variantei ($p = 0,001 < 0,05$), se citesc valorile date de testul Tamhane. Din rezultatele analizei post-hoc (testul Tamhane) putem concluziona astfel:

1. Nivelul statusului total antioxidant scade semnificativ statistic în ziua a cincea comparativ cu prima determinare (ziua 1).
2. Nivelul statusului total antioxidant continuă să scadă pe parcursul tratamentului, fiind semnificativ statistic mai mic în finalul tratamentului comparativ cu prima zi de tratament.
3. Nivelul statusului total antioxidant a scăzut mai accentuat în prima parte a tratamentului, astfel nu există o scădere semnificativă statistic între ziua a cincea de tratament și sfârșitul tratamentului.

Aceste concluzii sunt ilustrate de graficul din fig. 3.

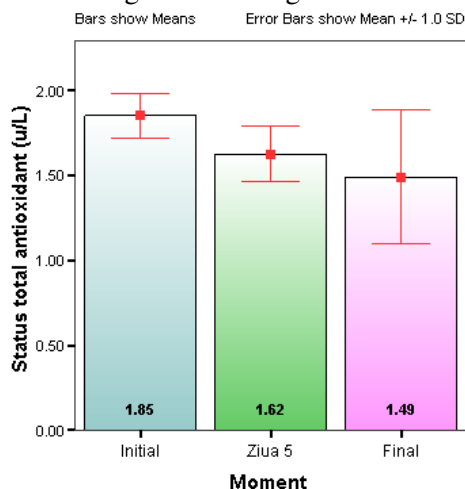


Fig. 3 Variația statusului total antioxidant (U/l)

Scăderea nivelului statusului antioxidant total, mai accentuată în prima parte a tratamentului, ar putea fi determinată de impactul inițial pe care îl determină stresul generat de transferul într-o unitate medicală, consultul medical și inițierea tratamentului. Bineînțeles, impactul curei balneare generează de asemenea un stres la nivel metabolic, urmat de un consum al factorilor antioxidanți. Ar fi interesant de evaluat în viitor nivelul TAS la două săptămâni sau chiar la o lună de la terminarea tratamentului, pentru o evaluare mai corectă a impactului curei balneare asupra organismului.

Glutation reductaza GR (U/l)

Glutation reductaza (GR) este esențială pentru ciclul redox al glutationului, care menține niveluri adecvate ale glutationului celular redus. Glutacionul oxidat este redus într-o succesiune de reacții (GOLDBERG și SPOONER, 1983). GR din citoplasma celulelor detoxifică lipoperoxizii toxici rezultați sub influența ionilor superoxid.

Deoarece testul Levene a confirmat omogenitatea variantei ($p = 0,192 > 0,05$), se citesc valorile date de testul Bonferroni. În aceste condiții se acceptă ipoteza că nu există diferențe semnificative între valorile medii ale glutacion reductazei corespunzătoare celor trei grupe analizate.

Nivelul GR scade pe parcursul tratamentului, dar în limite fiziologice și nesemnificativ statistic. Această concluzie subliniază caracterul protector al terapiei cu nămol asupra stresului oxidativ, enzimele cu rol pozitiv în cadrul acestui metabolism crescând, cum este cazul superoxid dismutazei (SOD), sau menținându-se în limite normale, cazul glutacion reductazei (GR).

Această concluzie este ilustrată grafic în fig. 4.

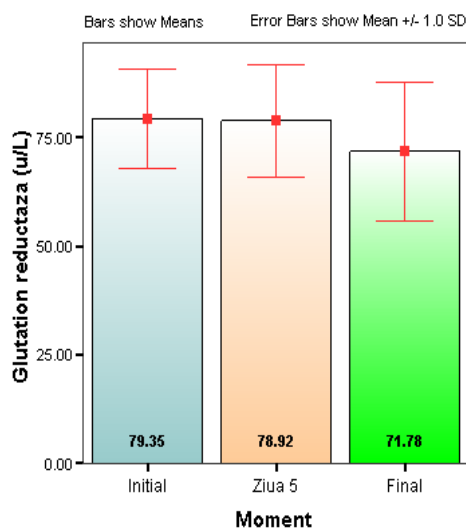


Fig. 4 Variația glutacion reductazei (U/l)

Glutation reductază (U/gHb)

Deoarece testul Levene a confirmat omogenitatea variantei ($p = 0,136 > 0,05$), se citesc valorile date de testul Bonferroni. În aceste condiții se acceptă ipoteza că nu există diferențe semnificative între valorile medii ale glutacion reductazei corespunzătoare celor trei grupe analizate.

Această concluzie este ilustrată grafic în fig. 5.

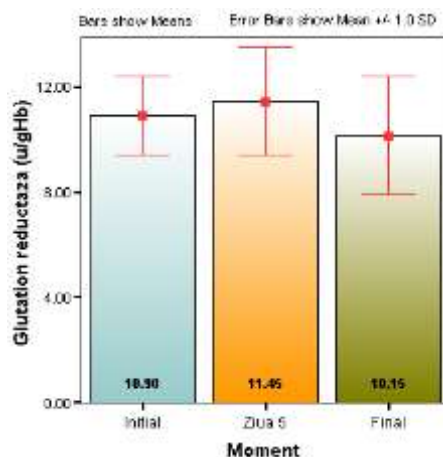


Fig. 5 Variația glutathione reductazei (U/gHb)

Nivelul glutathione reductazei nu este influențat semnificativ de tratamentul cu nămol. Această concluzie subliniază caracterul protector al terapiei cu nămol asupra stresului oxidativ, enzimele cu rol pozitiv în cadrul acestui metabolism crescând, cum este cazul SOD, sau menținându-se în limite normale, în cazul GR.

Glutathionul redus G-SH (mg/dl)

Glutathionul (G-SH) reprezintă unul dintre cei mai importanți antioxidanți prezenți în toate celulele, un constituent central al sistemului adaptativ, sofisticat, de apărare antioxidantă (KIDD, 1997).

Pentru a afla dacă sunt diferențe semnificative sau nu între valorile medii ale glutathionului redus (mg/dl) măsurate înainte și după tratament la pacienții din eșantionul considerat, se apelează la testul t-Test pentru eșantioane dependente (perechi).

Deoarece $p = 0,001 < 0,05$, se acceptă ipoteza că există diferențe semnificative între valorile medii ale glutathionului redus la cele două momente de timp. Valoarea medie a G-SH scade semnificativ statistic la finalul tratamentului.

Această concluzie este ilustrată în fig. 6.

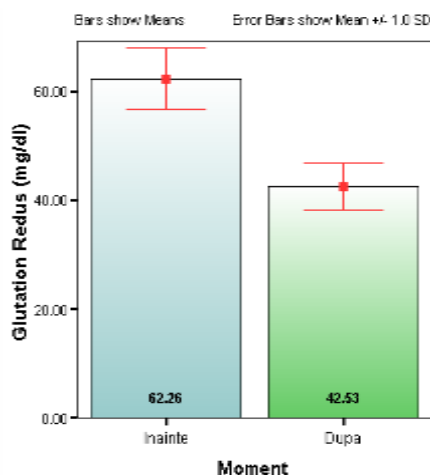


Fig. 6 Variația glutathionului redus (mg/dl)

Scăderea semnificativă statistic a glutationului redus la pacienții tratați cu nămol sugerează un consum crescut al glutationului redus în reacțiile de neutralizare a ROS și indică un răspuns normal al metabolismului celular la stresul oxidativ declanșat de impactul generat de cura balneară. Ar fi interesant de evaluat în viitor, într-un studiu comparativ, evoluția glutationului redus și a glutation peroxidazei, întrucât primul constituie substrat pentru activitatea enzimei de reducere a hidrogenului și peroxidizilor.

Discuții

Determinările efectuate evidențiază un efect benefic al terapiei cu nămol asupra stresului oxidativ, sugerat de creșterea semnificativă a nivelului superoxid dismutazei (SOD) și menținerea constantă a nivelului glutation reductazei (GR), enzime cu rol protector în stresul oxidativ. Pe de altă parte, scăderea semnificativă a nivelului glutationului redus la sfârșitul tratamentului și a nivelului statusului antioxidant total (TAS), mai ales în prima parte a acestuia, dar susținut până la finalul curei terapeutice, arată consumul acestor factori indus de un stres suplimentar, determinat cel mai probabil de impactul factorului balnear asupra organismului și de sindromul important de reperfuzie tisulară prin deschiderea șunturilor arterio-venoase sub acțiunea factorului termic și chimic al nămolului.

Ar fi interesant de studiat în viitor evoluția pe termen lung a statusului antioxidant la pacienții cu SA tratați cu nămol, respectiv urmărirea parametrilor stresului oxidativ la 3, 6 respectiv 12 luni de la inițierea tratamentului.

6.2. EXPERIMENTUL 2

STUDIUL CITOKINELOR PLASMATICE ȘI EVALUAREA UNOR MARKERI BIOCHIMICI ȘI ENZIMATICI

6.2.1 Studiul citokinelor plasmatiche

Este evident faptul că în bolile inflamatorii cronice nivelurile multor citokine sunt crescute. Unele limfokine sunt exprimate sistemic într-o varietate de țesuturi, iar altele sunt localizate la țesutul afectat. În AR există o creștere a citokinelor proinflamatorii, precum factorul de necroză tumorală TNF- α , interleukina-1 (IL-1) și 6 (IL-6), factorul de stimulare a coloniilor de granulocite macrofage (GM-CSF) și IL-8. În plus, citokinele inhibitorii IL-12 și IL-10 sunt, de asemenea, exprimate în spațiile sinoviale, semnificația acestui dezechilibru constituind un intens subiect de studiu. În lupusul eritematos sistemic (LES) există o exprimare anormală a limfokinelor, cu scăderea nivelurilor de IL-2 și interferon- γ (IFN- γ) și creșterea nivelurilor de IL-10 și IL-6.

Citokinele joacă un rol important în perpetuarea și propagarea inflamației cronice din bolile reumatice. Profilul mediatorilor inflamatori poate fi diferit în funcție de boală, dar câteva citokine comune par să stea la baza inflamației, care duce la anomalii clinice. Inflamația a fost caracterizată de creșterea evidentă a TNF- α și a IL-1.

Material și metodă

Lotul studiat a fost alcătuit din 18 pacienți internați în Sanatoriul Balnear și de Recuperare Techirghiol în perioada iulie – august 2006, diagnosticați cu spondilită anchilozantă.

Pentru evaluarea impactului tratamentului cu nămol asupra SA s-a efectuat determinarea citokinelor proinflamatorii TNF- α , IL-1 β , IL-6 folosind metoda Elisa. Recoltarea probelor sanguine pentru aceste determinări s-a făcut înainte de inițierea tratamentului și la finalul curei, iar probele au fost lucrate la laboratorul Tody din București.

La același lot s-au determinat, de asemenea, anumiți parametri biochimici din sângele periferic, pentru a completa evaluarea efectelor peloidoterapiei asupra tabloului inflamator specific SA și asupra homeostaziei osoase. Parametrii biochimici sangvini urmăriți au fost: VSH prin metoda Wintrobe, numărul de leucocite prin metoda Coulter – principiul impedanței electrice volumetrice, fosfataza alcalină prin metoda cinetică colorimetrică.

Recoltarea probelor sanguine pentru aceste determinări a fost efectuată înainte de începerea tratamentului, la prezentarea pacienților în stațiune și la sfârșitul curei de douăsprezece zile, respectiv zece aplicații peloide. De asemenea, pentru interleukina 1 β s-a încercat o comparare a efectelor aplicațiilor de nămol cald (baie sau împachetare de nămol) și metodei de aplicație a nămolului rece, oncțiunea cu nămol. Din cei 18 pacienți, 14 au efectuat oncțiuni cu nămol rece, iar restul (4) aplicații calde de nămol.

Având în vedere valorile mari ale factorului de necroză tumorală α și ale interleukinei-6 la o mică parte dintre pacienți, am fost obligați de analiza statistică să tratăm diferit cele două grupuri de pacienți. S-au făcut astfel două grupuri de analiză statistică, unul pentru pacienții cu valori în limite normale – Lot 1 (13 pacienți) și un grup pentru pacienții cu valori mult crescute, aflați în perioada activă a bolii – Lot 2 (5 pacienți).

Factorul de necroză tumorală α (pg/ml) - Lot 1

Din analiza rezultatelor t-Test pentru eșantioane perechi, deoarece $p = 0,295 > \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că nu există diferențe semnificative între valorile medii ale factorului de necroză tumorală α (pg/ml) la cele două momente de timp pentru lotul 1.

Această concluzie este ilustrată grafic în fig. 7.

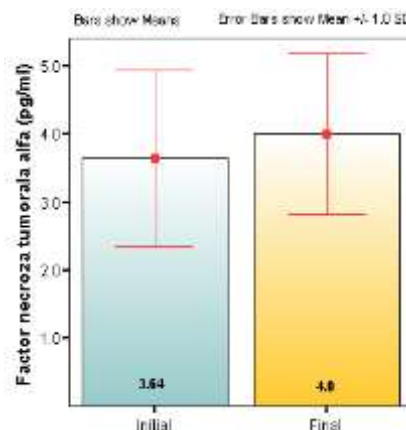


Fig. 7 Variația factorului de necroză tumorală alfa lot 1 (pg/ml)

După cum se poate vedea în fig. 7, factorul de necroză tumorală alfa nu prezintă variații semnificative în lotul 1 de pacienți tratați cu nămol.

Factorul de necroză tumorală α (pg/ml) - Lot 2

Deoarece $p = 0,001 < \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că există diferențe semnificative între valorile medii ale factorului de necroză tumorală α (pg/ml) la cele două momente de timp la pacienții din lotul 2.

Această concluzie este ilustrată grafic în fig. 8.

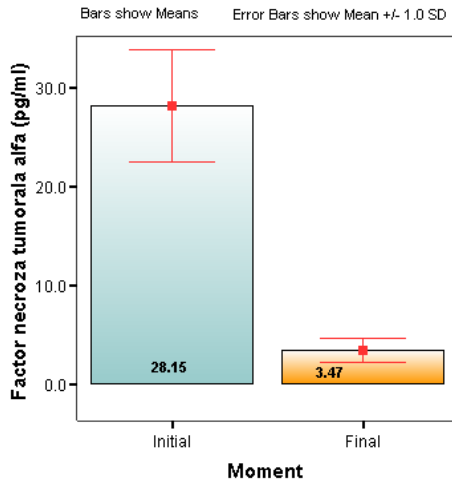


Fig. 8 Variația factorului de necroză tumorală alfa lot 2 (pg/ml)

În cazul TNF- α valorile obținute nu au permis o statistică unitară. Cazurile au fost grupate astfel: în primul lot pacienții cu valori în limite fiziologice, deci în perioadă de inactivitate a bolii, iar în cel de-al doilea grup pacienții care au avut valori crescute ale TNF- α , în perioadă activă a bolii. Evoluția TNF- α la pacienții tratați cu nămol a fost diferită. Pacienții cu valori în limite fiziologice nu au prezentat modificări ale valorilor TNF- α după aplicarea tratamentului. În schimb, la pacienții cu SA activă evoluția valorilor TNF- α a prezentat o scădere semnificativă statistic după tratamentul cu nămol, până la valori fiziologice. De aici se poate concluziona că scăderea TNF- α (un pregnant factor

proinflamator) la pacienții cu SA activă antrenează o ameliorarea a procesului inflamator specific bolii, fapt resimțit de pacienți ca o ameliorare marcată a sindromului algic și, respectiv, o îmbunătățire a mobilității articulare.

Interleukina 6 (pg/mL) - Lot 1

Deoarece $p = 0,301 > \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că nu există diferențe semnificative între valorile medii ale interleukinei 6 (pg/ml) la cele două momente de timp pentru lotul 1. Nivelul interleukinei 6 prezintă creșteri nesemnificative statistic pe parcursul tratamentului în cazul lotului 1, după cum se poate vedea în fig. 9.

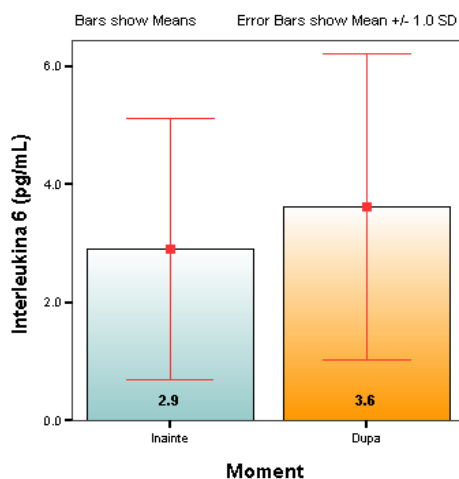


Fig. 9 Variația interleukinei-6 lot 1 (pg/ml)

Interleukina 6 (pg/ml) - Lot 2

Deoarece $p = 0,016 < \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că există diferențe semnificative între valorile medii ale interleukinei 6 (pg/ml) la cele două momente de timp.

Această concluzie este ilustrată grafic în fig. 10.

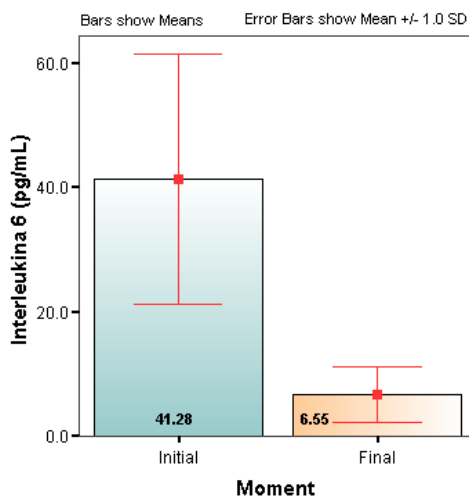


Fig. 10 Variația interleukinei-6 lot 2 (pg/ml)

În cazul IL-6, valorile neomogene ale pacienților ne-au obligat la o abordare statistică diferită, similar cu TNF- α . Astfel, pacienții cu valori în limite fiziologice nu au prezentat modificări după aplicarea tratamentului. În schimb, grupul pacienților cu valori crescute ale IL-6 a prezentat sub acțiunea tratamentului cu nămol o scădere semnificativă statistic a acestor valori până la valori fiziologice, ceea ce susține încă o dată ameliorarea sindromului inflamator la pacienții cu SA activă.

Interleukina-1 β (pg/ml)

Interleukina 1 β (IL-1 β) are rolul de a stimula producerea de specii reactive de oxigen, dar în anumite condiții poate stimula activitatea glucozo-6-fosfat dehidrogenazei, cu producerea de NADPH + H⁺, cu rol în regenerarea glutatoniului redus. De asemenea, IL-1 β este un factor activator al osteoclastelor, stimulând distrucția osoasă în articulațiile inflamate.

Pentru acest parametru s-a făcut comparație între grupul pacienților (4) care au efectuat băi calde de nămol (BN) și grupul pacienților (14) care au efectuat oncțiuni cu nămol rece pe malul lacului (ON).

Pentru BN: deoarece $p = 0,225 > \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că nu există diferențe semnificative între valorile medii ale interleukinei 1 β (pg/ml) la cele două momente de timp.

Pentru ON: deoarece $p = 0,878 > \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că nu există diferențe semnificative între valorile medii ale interleukinei 1 β (pg/ml) la cele două momente de timp.

Interleukina-1 beta, citokină proinflamatorie, nu prezintă variații semnificative la pacienții cu SA tratați cu nămol, indiferent de modul de aplicare a acestuia. Totuși, după aplicațiile calde de nămol se poate observa o ușoară scădere a valorilor IL-1 β , pe când la sfârșitul curei prin metoda „egipteană” valorile IL-1 β rămân constante.

Această concluzie este ilustrată grafic în fig. 11.

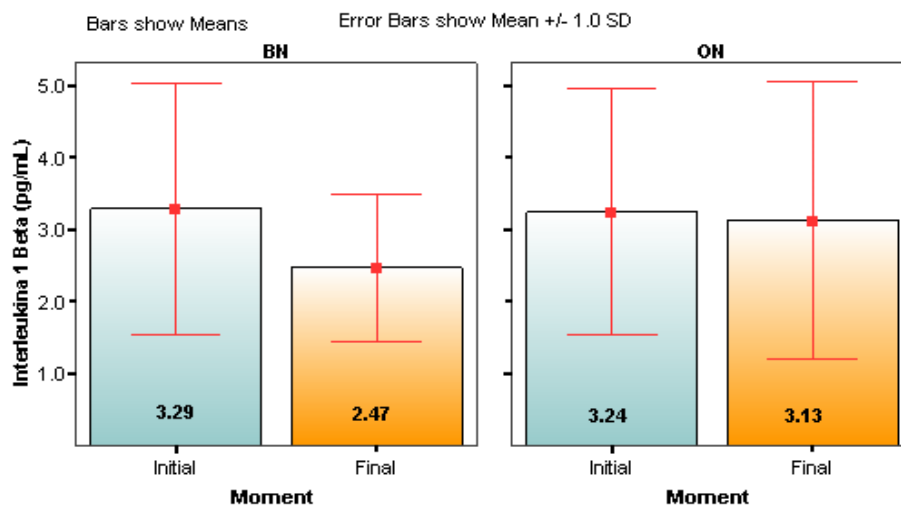


Fig. 11 Variația interleukinei-1 β (pg/ml)

Discuții

Evoluția TNF- α la pacienții tratați cu nămol a fost diferită. Pacienții cu valori în limite fiziologice nu au prezentat modificări ale valorilor TNF- α după aplicarea tratamentului. În schimb, la pacienții cu SA activă evoluția valorilor TNF- α a prezentat o scădere semnificativă statistic după tratamentul cu nămol, până la valori fiziologice. De aici se poate concluziona că scăderea TNF- α (un pregnant factor proinflamator) la pacienții cu SA activă antrenează o ameliorarea a procesului inflamator specific bolii.

În cazul IL-6, valorile neomogene ale pacienților ne-au obligat la o abordare statistică diferită, similar cu TNF- α . Astfel, pacienții cu valori în limite fiziologice nu au prezentat modificări după aplicarea tratamentului. În schimb, grupul pacienților cu valori crescute ale IL-6 a prezentat sub acțiunea tratamentului cu nămol o scădere semnificativă statistic a acestor valori până la valori fiziologice, ceea ce susține încă o dată ameliorarea sindromului inflamator la pacienții cu SA activă.

Interleukina-1 beta, citokină proinflamatorie, nu prezintă variații semnificative la pacienții cu SA tratați cu nămol, indiferent de modul de aplicare a acestuia. Totuși, după aplicațiile calde de nămol se poate observa o ușoară scădere a valorilor IL-1 β , pe când la sfârșitul curei prin metoda „egipteană” valorile IL-1 β rămân constante (PROFIR și col., 2011).

6.2.2. Evaluarea unor markeri biochimici și enzimatici

Tot la acest lot de pacienți am determinat și anumiți markeri biochimici și enzime pentru o evaluare mai amplă a efectelor peloidoterapiei. Au fost determinați înainte și după tratament următorii parametri: viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) la 1 oră și la 2 ore, numărul de leucocite, fosfataza alcalină. Componenta subloturilor în funcție de tipul de aplicație de nămol prescrisă s-a menținut.

Viteza de sedimentare a hematiilor la 1 oră VSH (mm/1h)

Pentru BN: deoarece $p = 0,483 > \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că nu există diferențe semnificative între valorile medii ale VSH la 1 oră la cele două momente de timp.

Pentru ON: deoarece $p = 0,399 > \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că nu există diferențe semnificative între valorile medii ale VSH la 1 oră la cele două momente de timp.

Nivelul vitezei de sedimentare a hematiilor la 1 oră nu este modificat semnificativ la pacienții cu aplicații terapeutice de nămol rece sau cald. Este de luat în considerație faptul că valoarea medie inițială a VSH la 1 oră se află în limita valorilor fiziologice.

Această concluzie este ilustrată grafic în fig. 12.

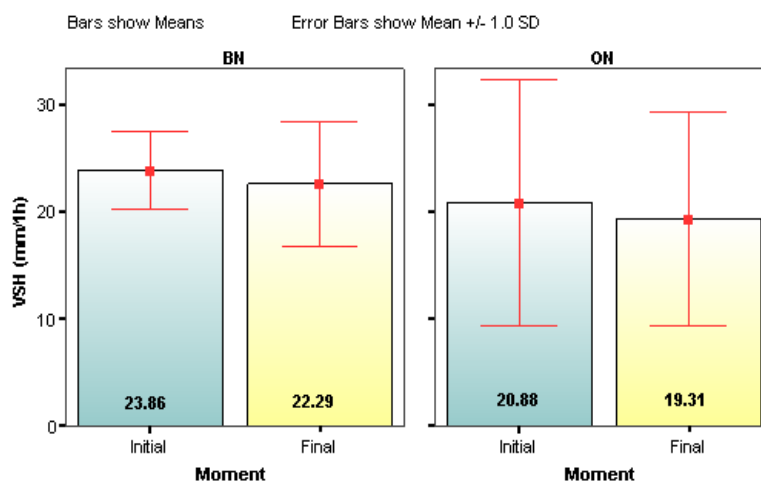


Fig. 12 Variația VSH (mm/h)

Viteza de sedimentare a hematiilor la 2 ore VSH (mm/2h)

Pentru BN: deoarece $p = 1,00 > \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că nu există diferențe semnificative între valorile medii ale VSH la 2 ore la cele două momente de timp.

Pentru ON: deoarece $p = 0,760 > \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că nu există diferențe semnificative între valorile medii ale VSH la 2 ore la cele două momente de timp.

Variația vitezei de sedimentare a hematiilor la 2 ore la pacienții cu SA nu este nici ea influențată de aplicațiile terapeutice cu nămol cald sau rece, iar valorile medii ale VSH rămân în limite fiziologice la sfârșitul tratamentului.

Această concluzie este ilustrată grafic în fig. 13.

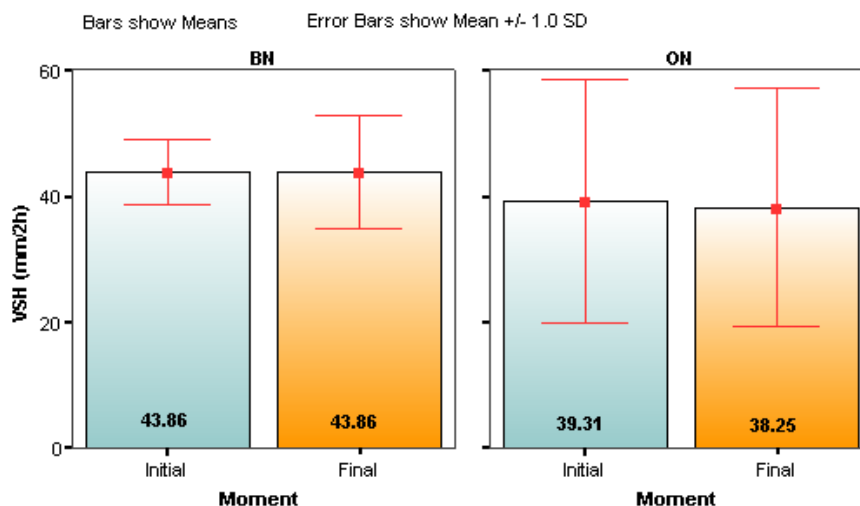


Fig. 13 Variația VSH (mm/2h)

Numărul de leucocite (WBC)

Pentru BN: deoarece $p = 0,229 > \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că nu există diferențe semnificative între valorile medii ale leucocitelor la cele două momente de timp.

Pentru ON: deoarece $p = 0,04 < \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că există diferențe semnificative între valorile medii ale leucocitelor la cele două momente de timp.

Nivelul leucocitelor sangvine scade semnificativ statistic după aplicația tratamentului cu nămol rece și expunere solară, valorile rămânând în limite fiziologice. Scăderea numărului de leucocite poate fi privită ca un consum în cazul unui proces accentuat de ameliorarea a inflamației petrecut în cadrul acestei terapii, în urma mecanismelor imunologice complexe declanșate de terapia cu factori contrastanți.

Această concluzie este ilustrată grafic în fig. 14.

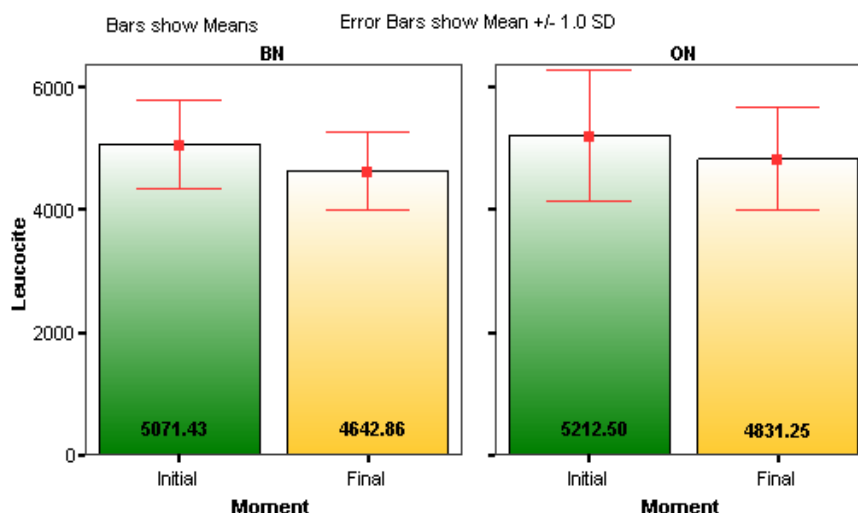


Fig. 14 Variația numărului de leucocite

Fosfataza alcalină FA (U/l)

Pentru BN: deoarece $p = 0,269 > \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că nu există diferențe semnificative între valorile medii ale fosfatazei alcaline (U/l) la cele două momente de timp.

Pentru ON: deoarece $p = 0,043 < \alpha = 0,05$ (nivelul de semnificație ales) se acceptă ipoteza că există diferențe semnificative între valorile medii ale fosfatazei alcaline (U/l) la cele două momente de timp.

Nivelul fosfatazei alcaline scade semnificativ statistic în cazul aplicațiilor de nămol rece (fig. 15). Având în vedere rolul important al FA în metabolismul osos și faptul că pacienții cu aplicații de nămol la rece beneficiază și de expunere solară este explicabilă influența pozitivă a oncțiunilor de nămol comparativ cu baia de nămol. Scăderea valorilor FA poate fi un semn de încetinire a procesului de distrucție osoasă la nivelul articulațiilor afectate, astfel terapia cu nămol la rece contribuind pe termen lung la o încetinire a progresiei bolii.

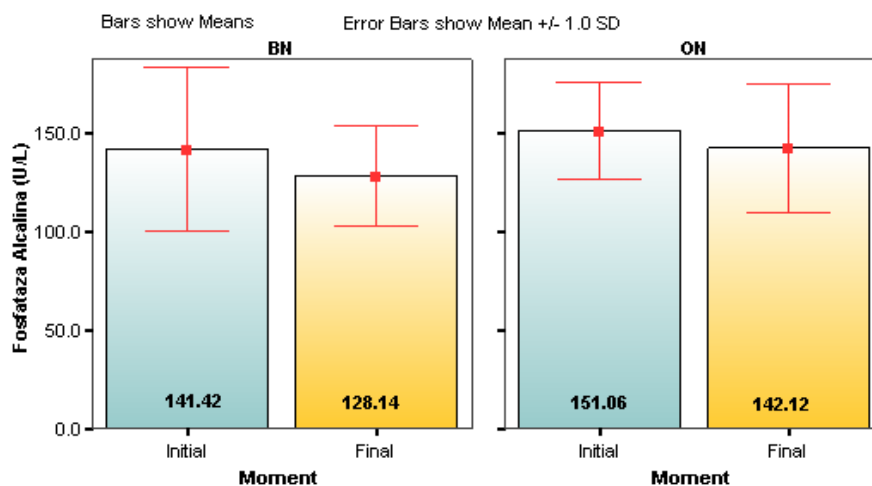


Fig. 15 Variația nivelului fosfatazei alcaline (U/l)

Discuții

Nivelul vitezei de sedimentare a hematiilor la 1 oră nu este modificat semnificativ la pacienții cu aplicații terapeutice de nămol rece sau cald. Este de luat în considerație faptul că valorile medii inițiale ale VSH la 1 oră se aflau în limita valorilor fiziologice.

Variația vitezei de sedimentare a hematiilor la 2 ore la pacienții cu SA nu este nici ea influențată de aplicațiile terapeutice cu nămol cald sau rece, iar valorile medii ale VSH rămân în limite fiziologice la sfârșitul tratamentului.

Nivelul leucocitelor sangvine scade semnificativ statistic după aplicația tratamentului cu nămol rece și expunere solară, valorile rămânând în limite fiziologice. Scăderea numărului de leucocite poate fi privită ca un consum în cazul unui proces accentuat de ameliorarea a inflamației petrecut în cadrul acestei terapii, în urma mecanismelor imunologice complexe declanșate de terapia cu factori contrastanți.

Nivelul fosfatazei alcaline scade semnificativ statistic în cazul aplicațiilor de nămol rece. Având în vedere rolul important al FA în metabolismul osos și faptul că pacienții cu aplicații de nămol la rece beneficiază și de expunere solară este explicabilă influența pozitivă a oncțiunilor de nămol comparativ cu baia de nămol. Scăderea valorilor FA poate fi un semn de încetinire a procesului de distrucție osoasă la nivelul articulațiilor afectate, astfel terapia cu nămol la rece contribuind pe termen lung la o încetinire a progresiei bolii.

6.3. EXPERIMENTUL 3

EVALUAREA STATUSULUI HORMONAL

Răspunsul inflamator este modulată parțial de o comunicare bidirecțională între creier și sistemele imune. Aceasta implică mecanisme hormonale și nervoase prin care creierul reglează funcția sistemului imun și, ca răspuns, citokinele, care permit sistemului imun să regleze creierul. La indivizii sănătoși acest sistem reglator bidirecțional reprezintă o buclă de feedback negativ, care menține un

echilibru între sistemul imun și SNC. Perturbările acestui sistem reglator pot duce fie la activarea exagerată a răspunsului imun și consecutiv a bolii inflamatorii, fie la supresia sistemului imun și creșterea susceptibilității la infecții.

Multe studii de cercetare au stabilit recent căile numeroase prin care comunică sistemul imun și SNC. Dovezi privitoare la implicarea acestor sisteme reglatoare în RA și în alte boli inflamatorii aduc studiile lui EJSBOUTS și MURPHY (1999), CROFFORD (2002) și IMRICH (2002).

Există două mecanisme majore prin care SNC reglează sistemul imun: primul este răspunsul hormonal, în principal prin axul hipotalamo-hipofizo-suprarenalian (HPA), dar și prin axele hipotalamo-hipofizo-gonadal (HPG), hipotalamo-hipofizo-tiroidian (HPT), hipotalamus-hormoni de creștere; al doilea este sistemul nervos autonom, prin eliberarea de norepinefrină (noradrenalină) și acetilcolină prin nervii simpatici și parasimpatici. Ca răspuns, sistemul imun poate regla SNC prin intermediul citokinelor.

Din studiul efectuat de KIRNAP și col. (2008), care au stimulat axul HPA la pacienții cu SA prin testul ACTH cu doză mică (LDT), testul ACTH cu doză standard (SDT) și testul de toleranță la insulină (ITT), reiese că atât valorile bazale ale cortizolului, cât și activitatea de vârf în cursul stimulării au fost comparabile cu cele ale grupului de control. În contrast cu modificările observate în alte boli inflamatorii, ca PR sau polimialgia reumatică, nu există anomalii aparente ale activității axului HPA la pacienții cu SA. În concluzie, deși SA este o boală inflamatorie, funcția axului HPA la acești pacienți nu este afectată.

Material și metodă

Determinările hormonale s-au făcut pe un lot de 20 de pacienți cu SA. A fost urmărită variația cortizolului plasmatic și a hormonului tireostimulant (TSH) prin tehnica ELISA, recoltările făcându-se înainte de începerea tratamentului, la 24 de ore după prima aplicație de nămol și la sfârșitul perioadei de tratament. În acest lot pacienților le-au fost prescrise aplicații calde de nămol (băi de nămol sau împachetări de nămol) sau oncțiuni cu nămol rece pe malul lacului Techirghiol, în funcție de perioada de activitate a bolii și de alți factori asociați, iar analiza rezultatelor s-a făcut comparativ între cele două subloturi. Astfel pacienții au fost divizați în 2 subloturi: lotul 1, cel al pacienților cu aplicații calde de nămol (10) și lotul 2, cel al pacienților cu oncțiuni reci de nămol (10).

Cortizolul (nmoli/l)

Valoarea lui p calculată în urma aplicării testului Levene este $p = 0,329$ pentru tratamentul BN și $p = 0,069$ pentru tratamentul ON. Deoarece acestea sunt mai mari decât 0,05, se consideră că dispersiile în interiorul celor trei grupe sunt omogene pentru fiecare tratament în parte. Astfel, pentru ambele variante terapeutice se citesc valorile date de testul Bonferroni.

În aceste condiții se acceptă ipoteza că nu există diferențe semnificative între valorile medii ale cortizolului corespunzătoare celor trei grupe analizate, pentru nici unul din tipurile de tratament aplicat.

Cortizolul prezintă variații diferite în cazul aplicațiilor reci comparativ cu cele calde, scăzând în cursul aplicațiilor reci (ON) și crescând în cursul aplicațiilor calde (BN), ambele variații fiind în limite fiziologice și ne semnificative statistic.

Această concluzie este ilustrată grafic în fig. 16.

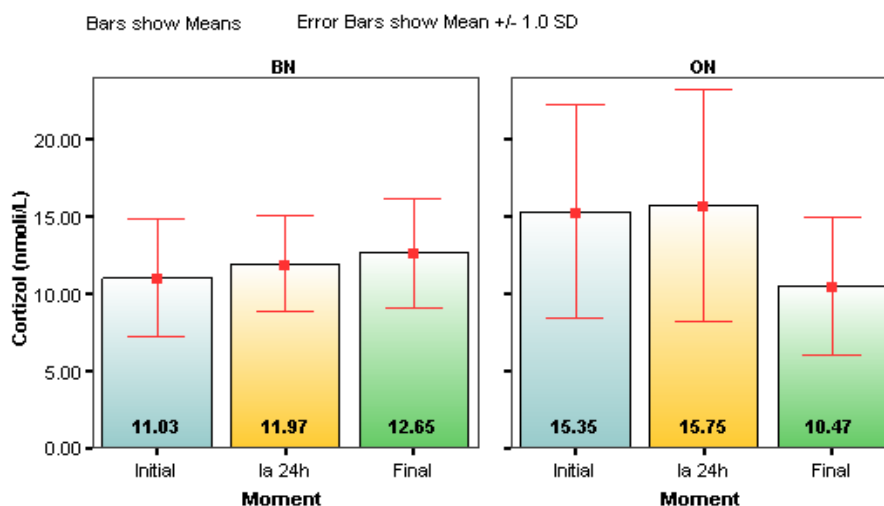


Fig. 16 Variația cortizolului plasmatic (nmol/l)

Hormonul tireostimulant TSH (U/ml)

Pentru investigarea modulării secreției de hormoni tropi hipofizari încă din primele 24 de ore am determinat, după aceeași schemă ca în cazul cortizolemiei, variația TSH-ului plasmatic.

Reactivitatea neuro-endocrină, modificările enzimatice și metabolice apărute în glandele endocrine după peloidoterapie diferă după specificul secretor al glandei, după stadiul funcțional în care se găsește glanda și sunt legate de tipul aplicației terapeutice. Sub acțiunea nămolului se produce o stimulare armonică la nivelul tuturor glandelor, în sensul creșterii activității enzimatice și de sinteză cu păstrarea specificității fiecăreia (ZIRRA și col., 1964).

Valoarea lui p calculată în urma aplicării testului Levene este $p = 0,079$ pentru tratamentul BN și $p = 0,247$ pentru tratamentul ON. Deoarece acestea sunt mai mari decât 0,05, se consideră că dispersiile în interiorul celor trei grupe sunt omogene pentru fiecare tratament în parte. Deoarece testul Levene a confirmat omogenitatea variantei, se citesc valorile date de testul Bonferroni.

În cazul aplicațiilor calde de nămol, au loc creșteri semnificativ statistice ale TSH la finalul tratamentului, comparativ cu valorile inițiale. Oncțiunea cu nămol relevă creșteri ale TSH în final, creșteri semnificative statistic comparativ atât cu prima zi, cât și cu a doua zi de tratament. Creșterea nivelului TSH atât pentru aplicațiile calde, cât și pentru cele reci relevă o stimulare a axului hipotalamo-hipofizar sub acțiunea nămolului.

Această concluzie este ilustrată grafic în fig. 17.

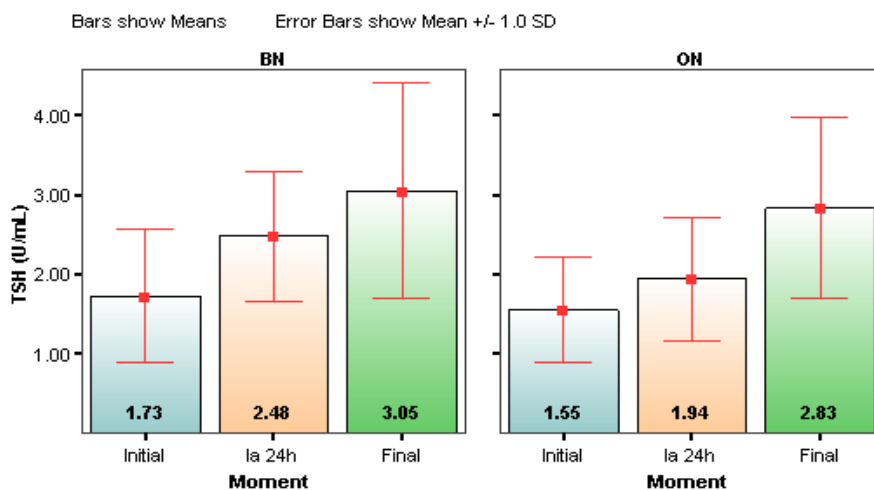


Fig. 17 Variația TSH (U/ml)

Discuții

Ca rezultat al armonizării funcției axului HPA sub acțiunea peloidoterapiei se observă o optimizarea a concentrațiilor bazale de cortizol la pacienții cu SA, dar fără creșteri semnificative statistice ale acestora, rezultate concordante cu cele din literatura de specialitate.

Creșterile semnificative statistice ale nivelurilor TSH după aplicațiile cu nămol la pacienții cu SA, indiferent de tipul aplicației, pot fi explicate prin scăderea inflamației și stimularea consecutivă a axului HPT (PROFIR și col., sub tipar 2013).

6.4. EXPERIMENTUL 4

EVALUAREA PARAMETRILOR SCHIMBURILOR GAZOASE DIN SÂNGELE PERIFERIC ȘI A ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC

Material și metodă

S-au determinat parametrii echilibrului acido-bazic și ai schimburilor gazoase în sângele periferic la un lot de 25 de pacienți cu SA aflați la tratament în Sanatoriul Balnear și de Recuperare Techirghiol în lunile noiembrie și decembrie, deci în extrasezon. La acest lot recoltarea sângelui am efectuat-o înainte de începerea tratamentului balnear, imediat după prima aplicație caldă (nămol sau sare), la 24 de ore după prima aplicație și la sfârșitul curei de 12 zile. Am folosit aparatul CCEX 6 NOVA BIOMEDICAL. Am determinat variațiile următorilor parametri: capacitatea de legare a oxigenului (O_2CAP), conținutul în oxigen al hemoglobinei (O_2CT), presiunile parțiale ale oxigenului și dioxidului de carbon în sânge (pO_2 , pCO_2), saturația în oxigen a sângelui periferic ($SO_2\%$), dioxidul de carbon total sangvin (TCO_2), pH-ul sanguin, concentrația de ioni bicarbonat (HCO_3^-), lactatul seric.

Pacienții au fost divizați în 2 subloturi astfel: 15 pacienți au efectuat o aplicație de nămol cald (baie de nămol) ca procedură inițială, iar restul de 10 pacienți au primit ca procedură inițială de

termoterapie baie caldă salină. Tratamentul tuturor pacienților a mai inclus electroterapie, masaj și kinetoterapie individual timp de 20-30 minute. Pacienților le-a fost cerut consimțământul și le-a fost asigurată confidențialitatea.

Capacitatea de legare a oxigenului O₂CAP

Valoarea lui p calculată în urma aplicării testului Levene este $p = 0,874$ pentru tratamentul BN și $p = 0,086$ pentru tratamentul BS. Deoarece acestea sunt mai mari decât 0,05, se consideră că dispersiile în interiorul celor patru grupe sunt omogene pentru fiecare tratament în parte.

Rezultatul testului ANOVA este: $F = 3,296$; $p = 0,027 < \alpha = 0,05$ pentru tratamentul BN și $F = 0,841$; $p = 0,477 > \alpha = 0,05$ pentru tratamentul BS.

În aceste condiții se acceptă ipoteza că valorile medii de O₂CAP diferă între ele semnificativ pentru cel puțin două dintre grupele studiate doar pentru tratamentul BN.

Deoarece testul Levene a confirmat omogenitatea variantei, în cazul BN se citesc valorile date de testul Bonferroni. Din analiza rezultatelor testului Post Hoc, în cazul băii de nămol constatăm o variație semnificativă statistic ($p = 0,02 < 0,05$) a mediei O₂CAP în finalul tratamentului, comparativ cu momentul inițial.

Pentru BS testul ANOVA a confirmat neomogenitatea variantei și, în consecință, se citesc valorile date de testul Tamhane. În acest caz constatăm că nu sunt diferențe semnificative între grupele studiate.

Această concluzie este ilustrată și de reprezentarea grafică (fig. 18).

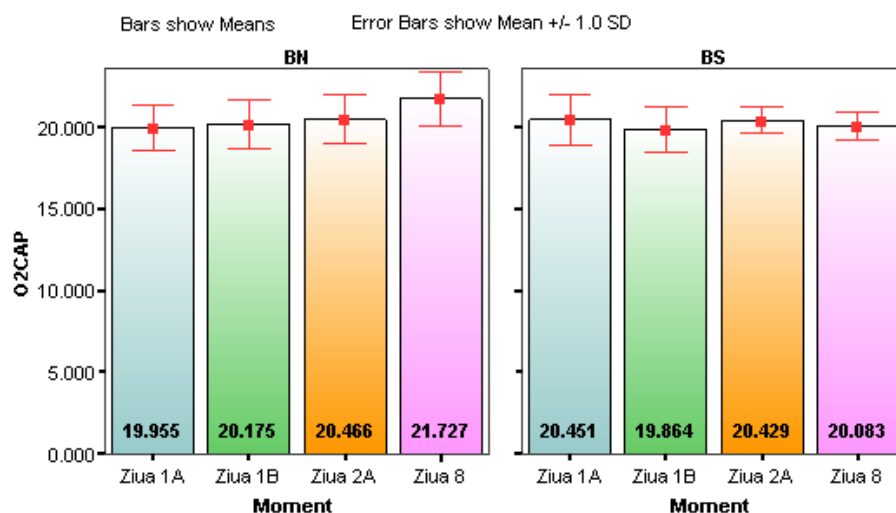


Fig. 18 Variația comparativă a O₂CAP

Se poate constata din graficele de mai sus creșterea semnificativă a valorilor capacității de legare a O₂ în finalul tratamentului cu băi calde de nămol, care ar putea explica ameliorarea metabolismului muscular prin creșterea perfuziei locale și, consecutiv, creșterea rezistenței la efort. De asemenea, se poate observa o ușoară creștere a valorii O₂CAP la sfârșitul tratamentului, comparativ cu prima zi după aplicația de nămol, dar aceasta nu este semnificativă statistic. În cazul băilor saline nu există variații semnificative în cursul perioadei de tratament, ceea ce duce la concluzia că nu numai

factorul termic are un rol în mecanismele de reglare a schimburilor gazoase, ci probabil anumiți constituenți din compoziția chimică a nămolului.

Conținutul în oxigen al hemoglobinei O₂CT

Valoarea lui p calculată în urma aplicării testului Levene este $p = 0,004$ pentru BN și $p = 0,020$ pentru BS. Deoarece acestea sunt mai mici decât 0,05, se consideră că dispersiile în interiorul celor patru grupe sunt neomogene.

Deoarece testul Levene a confirmat neomogenitatea variantei pentru ambele tipuri de aplicații calde, se citesc valorile date de testul Tamhane. În cazul aplicațiilor de nămol, din analiza rezultatelor testului Post Hoc se poate observa o variație semnificativă statistic a mediei O₂CT chiar în prima zi, după prima aplicație peloidă, dar între momentul inițial și momentul final nu există variații semnificative.

În cazul aplicațiilor saline, nu există variații semnificative statistic ale valorilor medii ale O₂CT în cursul perioadei de tratament.

Această concluzie este ilustrată și de reprezentarea grafică (fig. 19).

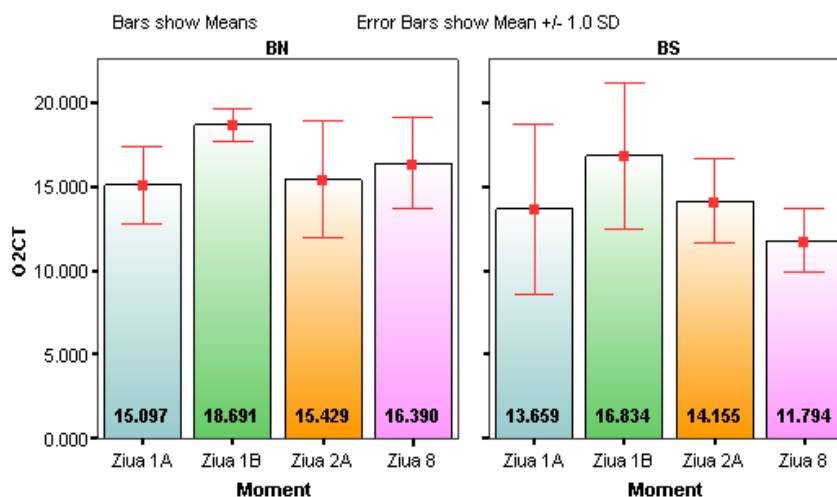


Fig. 19 Variația comparativă a O₂CT

În cazul BN se poate observa o creștere semnificativă statistic a conținutului în O₂ al hemoglobinei chiar în prima zi, după prima aplicație peloidă, dar această creștere nu se menține până la sfârșit, când valorile revin aproape de valoarea inițială. În cazul BS se observă o creștere a mediei valorilor O₂CT imediat după prima baie salină, însă nesemnificativă statistic, iar valorile finale scad față de valoarea inițială, dar tot nesemnificativ. În schimb, comparativ cu prima zi după aplicația salină, are loc o scădere aproape semnificativă ($p = 0,051$) a valorilor O₂CT la finalul tratamentului.

Presiunea parțială a dioxidului de carbon pCO₂ (mmHg)

Valoarea lui p calculată în urma aplicării testului Levene este $p = 0,286$ pentru tratamentul BN și $p = 0,004$ pentru tratamentul BS. Deoarece aceasta este mai mare decât 0,05 în cazul BN, se

consideră că dispersiile în interiorul celor patru grupe sunt omogene pentru acest tip de aplicație. În cazul BS, unde valoarea lui $p < 0,05$, dispersiile în interiorul celor patru grupe sunt neomogene.

Deoarece testul Levene a confirmat omogenitatea variantei pentru BN, se citesc în acest caz valorile date de testul Bonferoni. După cum se poate concluziona din tabelul Post Hoc, nu există variații semnificative statistic ale pCO_2 pe parcursul tratamentului cu băi de nămol.

În cazul BS testul Levene a confirmat neomogenitatea variantei, de aceea se citesc valorile date de testul Tamhane. Constatăm că nici în acest context nu există diferențe semnificative între grupele studiate.

Această concluzie este ilustrată și de reprezentarea grafică (fig. 20).

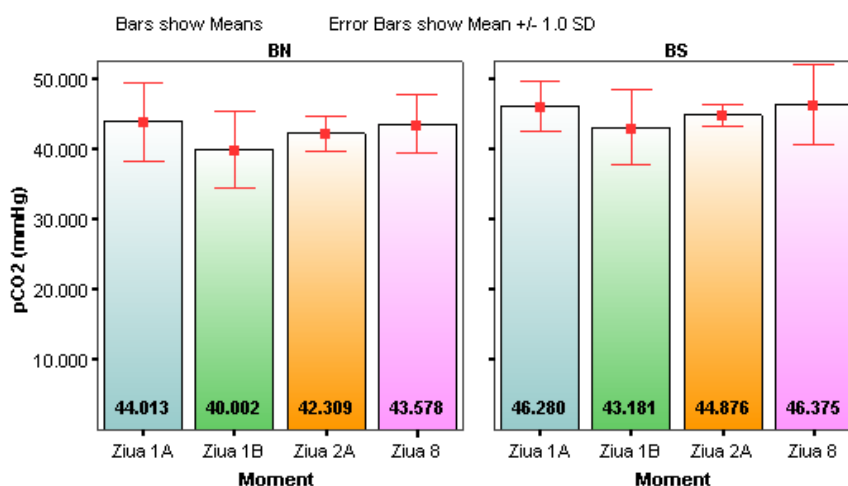


Fig. 20 Variația pCO_2 (mmHg)

După cum se poate observa din graficele de mai sus, există o scădere mai marcată a pCO_2 imediat după prima aplicație de nămol, dar nesemnificativă statistic, după care nivelul începe să crească ușor până aproape de valoarea inițială la finalul tratamentului. În cazul băilor saline, valorile pCO_2 prezintă variații nesemnificative pe tot parcursul tratamentului, menținându-se aproape constante pe toată durata curei balneare.

Presiunea parțială a oxigenului pO_2 (mmHg)

Valoarea lui p calculată în urma aplicării testului Levene este $p = 0,327$ pentru tratamentul BN și $p = 0,001$ pentru tratamentul BS. Deoarece aceasta este mai mare decât 0,05 în cazul BN, se consideră că dispersiile în interiorul celor patru grupe sunt omogene pentru această procedură și neomogene pentru BS, unde valoarea lui $p < 0,05$.

Deoarece testul Levene a confirmat omogenitatea variantei pentru BN, se citesc valorile date de testul Bonferoni. Din analiza rezultatelor testului Post Hoc se poate observa că există variații semnificative între valorile medii ale pO_2 atât după prima aplicație de nămol, cât și între prima și a doua zi de tratament. De asemenea, există o scădere semnificativă a valorilor pO_2 la finalul tratamentului, comparativ cu prima zi după aplicația de nămol.

În cazul BS testul Levene a confirmat neomogenitatea variantei, de aceea se citesc valorile date de testul Tamhane. După cum rezultă din analiza rezultatelor, nu există variații semnificative ale valorilor medii ale pO_2 în cursul tratamentului cu băi saline.

Această concluzie este ilustrată și de reprezentarea grafică (fig. 21).

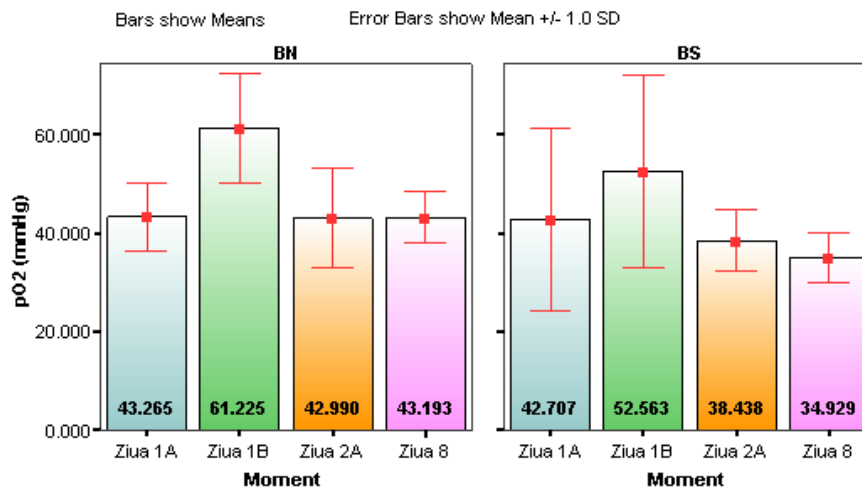


Fig. 21 Variația pO_2 (mmHg)

Există o creștere semnificativă a valorilor medii ale pO_2 după prima aplicație caldă de nămol, ca și scăderea semnificativă a presiunii parțiale a O_2 în a doua zi de tratament, până la valori comparative cu cele inițiale, care se mențin și în finalul curei. Se poate trage concluzia că prima aplicație caldă de nămol este un moment critic ca verigă a mecanismelor complexe de acțiune ale nămolului, resimțit de altfel și de pacient sub forma unei ușoare accentuări a simptomatologiei algice în primele zile de tratament.

Saturația în oxigen a sângelui periferic SO_2 (%)

Valoarea lui p calculată în urma aplicării testului Levene este $p = 0,026$ pentru tratamentul BN și $p = 0,084$ pentru tratamentul BS. Deoarece pentru BS valoarea este mai mare decât 0,05 se consideră că dispersiile în interiorul celor patru grupe sunt omogene. Pentru BN valoarea testului Levene este mai mică decât 0,05, deci se consideră că dispersiile în interiorul celor patru grupe sunt neomogene.

Deoarece testul Levene a confirmat neomogenitatea variantei pentru BN se citesc valorile date de testul Tamhane. Din analiza rezultatelor acestui test se poate observa că există variații semnificative ale valorilor medii SO_2 după prima aplicație caldă de nămol, care nu se mențin însă și la finalul tratamentului.

Deoarece testul Levene a confirmat omogenitatea variantei pentru BS, se citesc valorile date de testul Bonferroni. În concordanță cu rezultatele obținute în cazul aplicațiilor calde de nămol, se pot observa variații semnificative statistic ale SO_2 doar după prima baie salină.

Această concluzie este ilustrată și de reprezentarea grafică (fig. 22).

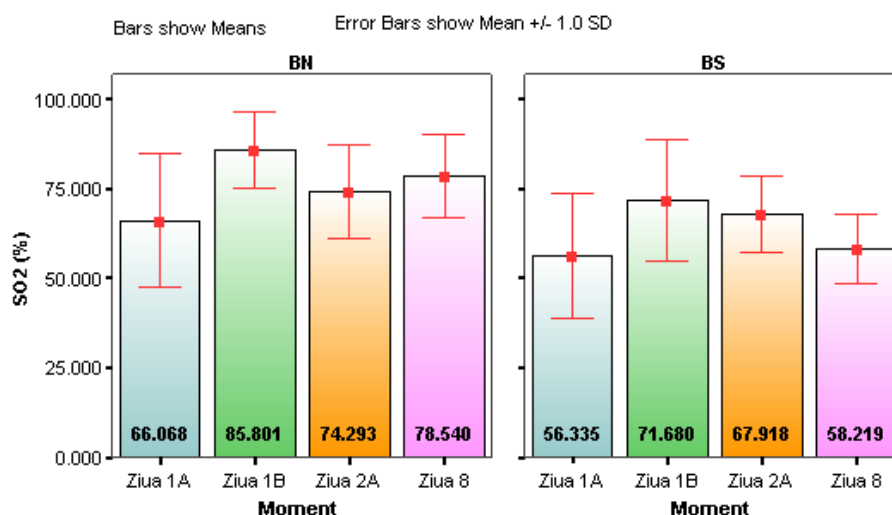


Fig. 22 Variația SO₂ (%)

În cazul aplicațiilor calde de nămol există o creștere semnificativă statistic a valorii medii a saturației în O₂ a sângelui periferic în prima zi după procedură, după care aceasta scade puțin a doua zi și crește ușor în finalul tratamentului. În cazul băilor saline există, de asemenea, o creștere semnificativă statistic a mediei SO₂ după prima procedură, după care are loc o scădere lentă spre sfârșitul tratamentului, aproape la valoarea inițială. Din nou se înregistrează modificări semnificative ale parametrului numai după prima aplicație termică.

Dioxidul de carbon total sangvin TCO₂

Valoarea lui p calculată în urma aplicării testului Levene este $p = 0,866$ pentru tratamentul BN și $p = 0,600$ pentru tratamentul BS. Deoarece pentru ambele tipuri de aplicații terapeutice valoarea este mai mare decât 0,05, se consideră că dispersiile în interiorul celor patru grupe sunt omogene.

Deoarece testul Levene a confirmat omogenitatea variantei pentru ambele tipuri de aplicații terapeutice, se citesc valorile date de testul Bonferroni. În acest context constatăm că nu există diferențe semnificative între grupele studiate pentru nici una din procedeele termoterapice.

Această concluzie este ilustrată și de reprezentarea grafică (fig. 23).

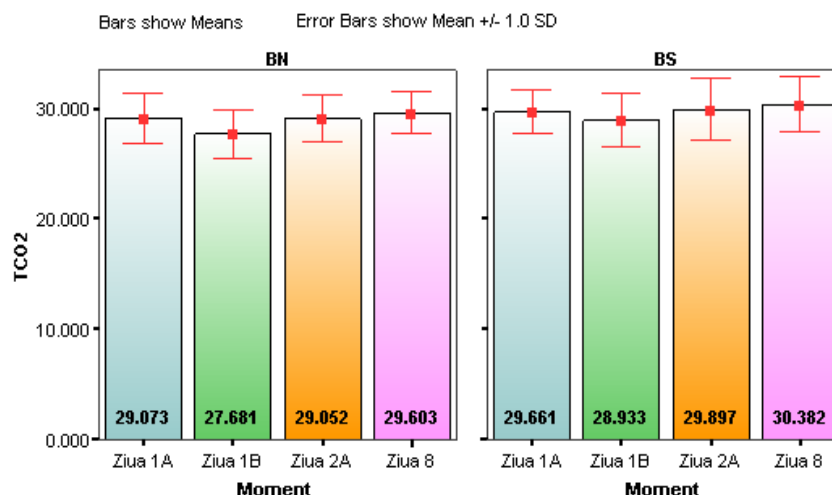


Fig. 23 Variația TCO₂

După cum se poate vedea din graficele de mai sus, atât în cazul BN, cât și în cazul BS, nu există variații semnificative ale valorii medii a dioxidului de carbon total. Se poate observa o ușoară scădere a valorilor după prima aplicație caldă, după care valorile cresc lent spre valoarea inițială.

pH-ul sangvin (7,35-7,45)

pH-ul sangvin este o constantă de cea mai mare importanță pentru activitatea unor sisteme enzimatice. Valoarea pH-ului sangvin este menținută în limite normale (7,35 – 7,45) prin mecanisme complexe fizico-chimice realizate de sistemele tampon și prin mecanisme fiziologice realizate de sistemul respirator și renal. Scăderea pH-ului sub 7,35 determină acidoza metabolică, iar creșterea peste 7,45 alcaloza metabolică.

Sistemul tampon plasmatic $\text{CO}_3\text{HNa}/\text{CO}_3\text{H}_2$ are o valoare biologică deosebită pentru că anionul bicarbonat (CO_3H^-) este cel mai bun acceptor de H^+ , iar acidul CO_3H_2 poate fi rapid eliminat prin plămâni sub formă de H_2O și CO_2 .

Valoarea lui p calculată în urma aplicării testului Levene este $p = 0,024$ pentru tratamentul BN și $p = 0,851$ pentru tratamentul BS. Deoarece aceasta este mai mare decât 0,05 în cazul BS, se consideră că dispersiile în interiorul celor patru grupe sunt omogene pentru acesta procedură. În cazul BN, unde valoarea lui $p < 0,05$, dispersia în interiorul celor patru grupe este neomogenă.

Pentru BN testul Levene a confirmat neomogenitatea variantei, de aceea în acest caz se citesc valorile date de testul Tamhane. În acest context constatăm că nu există diferențe semnificative ale mediei pH-ului între aceste grupuri.

Deoarece testul Levene a confirmat omogenitatea variantei pentru BS, se citesc în acest caz valorile date de testul Bonferroni. După analiza rezultatelor testului Post Hoc, nu există variații semnificative ale mediei pH-ului pe parcursul tratamentului cu băi saline.

Această concluzie este ilustrată și de reprezentarea grafică (fig. 24).

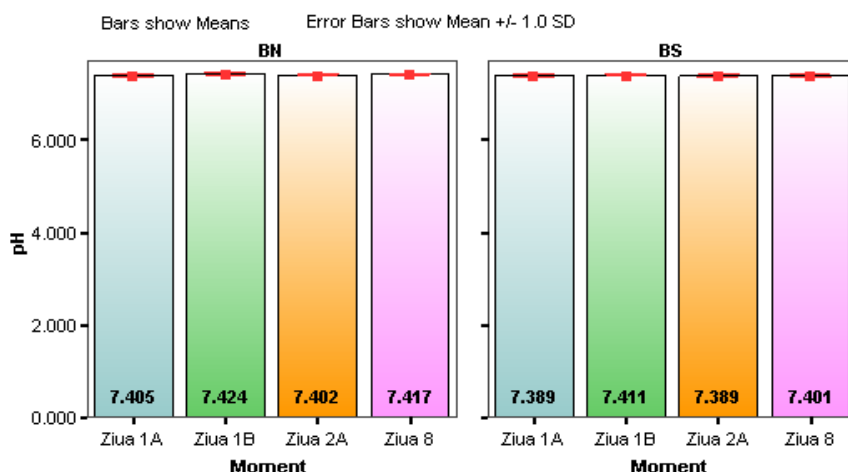


Fig. 24 Variația pH-ului

După cum se poate observa din graficele de mai sus, pH-ul rămâne aproape constant în cursul aplicațiilor calde, atât de nămol, cât și de apă salină, probabil prin intervenția sistemelor tampon ale organismului.

Lactatul seric LAC (mmol/l)

Valoarea lui p calculată în urma aplicării testului Levene este $p = 0,005$ pentru tratamentul BN și $p = 0,221$ pentru tratamentul BS. Deoarece aceasta este mai mare ca $0,05$ în cazul tratamentului cu BS, se consideră că dispersiile în interiorul celor patru grupe sunt omogene pentru acest tip de aplicație și neomogene pentru tratamentul BN, unde valoarea este mai mică de $0,05$.

În cazul BN testul Levene a arătat neomogenitatea variantei, așa încât se citesc valorile date de testul Tamhane. După analiza rezultatelor acestui test, se poate observa o variație semnificativă statistic a valorilor medii ale lactatului seric între prima aplicație de nămol și finalul tratamentului.

Deoarece testul Levene a confirmat omogenitatea variantei în cazul BS, se citesc valorile date de testul Bonferroni. Se observă variația semnificativă statistic a valorilor medii ale lactatului seric între momentele inițial și final ale tratamentului cu băi saline. De asemenea, există variații semnificative statistic între toate momentele intermediare (după prima baie salină, a doua zi de tratament) și ultima aplicație caldă.

Această concluzie este ilustrată și de reprezentarea grafică (fig. 25).

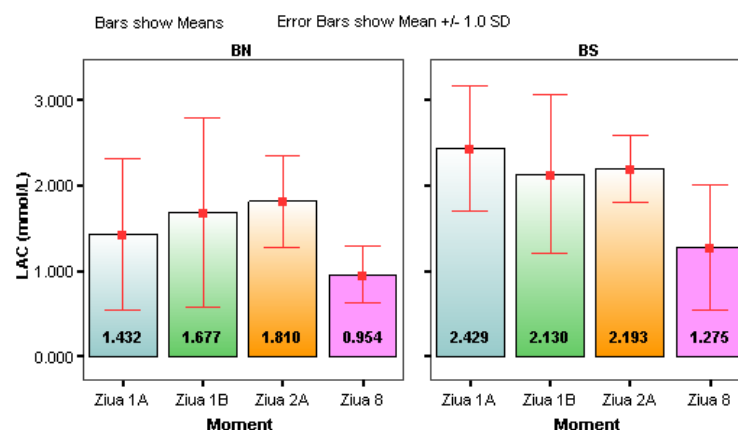


Fig. 25 Variația lactatului seric (mmol/l)

În cazul BN se observă o creștere ușoară a valorilor medii ale lactatului seric după prima aplicație de nămol, urmată de o scădere semnificativă până la finalul tratamentului. Variația valorilor medii ale lactatului în cursul aplicațiilor saline este diferită, acestea prezintă o scădere semnificativă la finalul perioadei de tratament comparativ cu oricare dintre momentele intermediare.

Ionul bicarbonat HCO_3^- (mmol/l)

Valoarea lui p calculată în urma aplicării testului Levene este $p = 0,872$ pentru tratamentul BN și $p = 0,580$ pentru tratamentul BS. Deoarece acestea sunt mai mari ca $0,05$, se consideră că dispersiile în interiorul celor patru grupe sunt omogene pentru fiecare tratament în parte.

Deoarece testul Levene a confirmat omogenitatea variantei, se citesc valorile date de testul Bonferroni. Din analiza rezultatelor testului Post Hoc, nu se observă variații semnificative ale valorilor medii ale HCO_3^- în cursul aplicațiilor peloidice.

În cazul aplicației inițiale saline nu se observă pe parcursul curei balneare variații semnificative statistic ale ionului bicarbonat.

Această concluzie este ilustrată și de reprezentarea grafică (fig. 26).

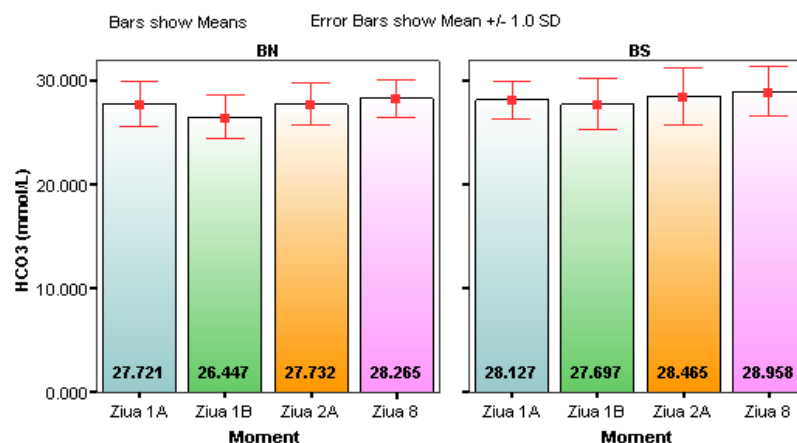


Fig. 26 Variația ionului bicarbonic seric (mmol/l)

După cum se poate observa din graficele de mai sus, nu există variații semnificative ale valorilor ionului bicarbonat la pacienții cu SA tratați cu nămol și apă salină, acestea menținându-se relative constante, după o ușoară scădere în prima zi de tratament, până la finalul curei balneare. Această evoluție este concordantă cu variația pH, accentuând încă o dată eficiența sistemelor tampon în reglarea echilibrului acido-bazic în cursul unei situații solicitante metabolic, așa cum poate fi considerate peloidoterapia.

Discuții

În urma analizei rezultatelor obținute prin măsurarea parametrilor schimburilor gazoase în sângele periferic la pacienții cu SA, se poate constata că au crescut semnificativ statistic valorile presiunii parțiale a oxigenului pO_2 și ale saturației în oxigen SO_2 , dar numai în prima zi, după aplicația peloidă, revenind lent spre sfârșitul tratamentului la valoarea inițială. Saturația în oxigen a sângelui periferic evidențiază aceeași creștere semnificativă statistic după prima baie caldă salină, similar aplicației peloidale inițiale, probabil prin vasodilatația produsă de factorul termic al mediului de imersie. Se poate concluziona că prima aplicație peloidă reprezintă un moment critic în reglarea balanței neuro-vegetative și endocrine a organismului. Datorită creșterii pO_2 se ameliorează eliberarea de oxigen în țesuturi, ceea ce duce la creșterea capacității de efort a pacienților, ameliorarea circulației periferice a membrelor, a insomniei. Consecința este posibilitatea inițierii precoce a programului de gimnastică medicală, veriga principală a programului de recuperare, pentru prevenirea deformărilor produse de boală.

Cât despre presiunea parțială a dioxidului de carbon și cantitatea totală de CO_2 din sânge, valorile acestor parametri nu prezintă variații semnificative după aplicația peloidă. Se observă totuși discrete scăderi ale valorilor în prima zi de tratament, după baia de nămol, variații concordante cu cele ale oxigenului, după care valorile revin lent spre valoarea inițială.

Se observă că valorile pH-ului sangvin și ale ionului bicarbonat seric rămân nemodificate după tratamentul cu nămol, probabil prin intervenția sistemelor tampon ale organismului mobilizate în urma stresului produs de inițierea curei balneare.

În schimb, valorile lactatului seric cresc după prima aplicație de nămol și scad semnificativ statistic în finalul tratamentului. Aceeași evoluție o prezintă lactatul seric și în cazul aplicațiilor saline, cu scăderea marcată a valorilor în finalul curei terapeutice (MARIN, PROFIR și col., 2011).

CONCLUZII

1. **Potențialul antiinflamator** al nămolului sapropelic de Techirghiol la pacienții cu spondilită anchilozantă prin evaluarea **markerilor stresului oxidativ** a fost confirmat de creșterea semnificativă statistic a nivelului superoxid dismutazei și de scăderea nivelului glutatationului redus și a statusului antioxidant total sub acțiunea tratamentului cu nămol.

SOD controlează nivelul anionilor superoxid, împiedicând inițierea reacțiilor de formare a radicalilor nocivi hidroxil și peroxinitrit (format în urma reacției dintre anionii superoxid și oxidul nitric). Creșterea nivelului SOD în cazul tratamentului cu nămol se asociază cu ameliorarea inflamației și reprezintă un răspuns pozitiv al organismului, având în vedere rolul enzimei în neutralizarea ROS și inactivarea NO.

G-SH constituie un detoxifiant eficient al SRO (radicali peroxil lipidici, peroxinitritul și peroxidul de hidrogen) atât pe cale directă, cât și indirect prin intermediul reacțiilor enzimatice. G-SH poate conjuga NO formându-se S-nitroso-glutation, care este clivat de sistemul tioredoxinei eliberând G-SH și NO. Prin interacțiunea sa cu glutaredoxina și tioredoxina (tiol-proteine) joacă un rol important în reglarea homeostaziei redox celulare. În cadrul mecanismului protector antioxidant, G-SH constituie substratul pentru glutatation peroxidază (GSH este folosit pentru a reduce hidrogenul și peroxizii organici la apă și alcool). Scăderea semnificativă statistic a glutatationului redus la pacienții tratați cu nămol sugerează un consum crescut al glutatationului redus în reacțiile de neutralizare a ROS și probabil în reacțiile de peroxidare catalizate de glutatation peroxidază. Această variație a glutatationului redus indică un răspuns normal al metabolismului celular la stresul oxidativ declanșat de impactul generat de cura balneară. Ar fi interesant de văzut în viitor, prin studii prospective, dacă există corelații între variația glutatationului redus și a glutatation peroxidazei la pacienții cu SA tratați cu nămol, precum și urmărirea în timp a efectelor obținute.

Scăderea nivelului statusului antioxidant total, mai accentuată în prima parte a tratamentului, ar putea fi determinată de impactul inițial pe care îl determină stresul generat de transferul într-o unitate medicală, consultul medical și inițierea tratamentului. Bineînțeles impactul curei balneare generează de asemenea un stres la nivel metabolic, urmat de un consum al factorilor antioxidanți. Ar fi interesant de determinat în viitor nivelul TAS la două săptămâni sau chiar la o lună de la terminarea tratamentului, pentru o evaluare mai corectă a impactului curei balneare asupra organismului.

Nivelul glutatation reductazei, enzimă esențială pentru ciclul redox al glutatationului și factor protector în balanța stresului oxidativ, nu a fost influențat de tratamentul cu nămol. Această concluzie subliniază caracterul protector al terapiei cu nămol asupra stresului oxidativ, enzimele cu rol pozitiv în cadrul acestui metabolism crescând, cum este cazul SOD, sau menținându-se în limite normale (GR).

2. **Potențialul antiinflamator** al nămolului sapropelic de Techirghiol la pacienții cu spondilită anchilozantă prin evaluarea citokinelor proinflamatorii a fost confirmat prin **scăderea semnificativă statistic a valorilor factorului de necroză tumorală TNF- α și ale interleukinei 6** la

pacienții care au prezentat inițial valori crescute ale acestora, posibil aflați în perioadă activă a bolii. Valorile IL-1 β (un puternic factor proinflamator), deși nu prezintă variații semnificative statistic după peloidoterapie, arată o creștere ușoară în cazul aplicațiilor de nămol cald (băi sau împachetări). Rezultatele pe care le-am obținut confirmă acțiunea antiinflamatorie și recomandă nămolul ca una din soluțiile terapeutice adjuvante în tratamentul SA.

Studiul **parametrilor biochimici sanguini și a unor enzime** după tratamentul cu nămol a evidențiat faptul că:

- **nivelul leucocitelor scade** semnificativ statistic după tratamentul cu nămol rece și expunere solară pe malul lacului, valorile rămânând în limite fiziologice. Scăderea numărului de leucocite poate fi privită ca un consum în cazul unui proces accentuat de ameliorare a inflamației petrecut în cadrul acestei terapii, în urma mecanismelor imunologice complexe declanșate de terapia cu factori contrastanți.

- **nivelul fosfatazei alcaline scade** semnificativ statistic în cazul aplicațiilor de nămol rece. Având în vedere rolul important al FA în metabolismul osos și faptul ca pacienții cu aplicații de nămol la rece beneficiază și de expunere solară este explicabilă influența pozitivă a oncțiunilor de nămol comparativ cu baia de nămol. Scăderea valorilor FA poate fi un semn de încetinire a procesului de distrucție osoasă la nivelul articulațiilor afectate, astfel terapia cu nămol la rece poate contribui pe termen lung la o încetinire a progresiei bolii.

3. Evaluarea **statusului hormonal** la pacienții cu SA supuși peloidoterapiei a arătat o optimizare a nivelurilor plasmatiche a cortizolului și a relevat, de asemenea, o stimulare a activității axului hipotalamo-hipofizo-suprarenalian susținută de **creșterea semnificativă statistic a nivelului hormonului tireostimulant (TSH)**. Creșterea nivelului TSH atât pentru aplicațiile calde, cât și pentru cele reci poate fi explicată prin scăderea inflamației și stimularea consecutivă a axului hipotalamo-hipofizo-tiroidian. Mecanismul endocrin este astfel implicat și în inducerea efectelor antiinflamatorii ale peloidoterapiei prin modularea activității axului hipotalamo-hipofizo-suprarenalian și prin echilibrarea generală a balanței endocrine, efecte persistente probabil și post cură.

4. Evaluarea **parametrilor schimburilor gazoase** în sângele periferic la pacienților cu SA tratați cu nămol a evidențiat **creșterea semnificativă statistic a valorilor presiunii parțiale a oxigenului pO₂ și ale saturației în oxigen SO₂**, dar numai după prima aplicație peloidă, revenind lent spre sfârșitul tratamentului la valoarea inițială. Saturația în oxigen a sângelui periferic evidențiază aceeași creștere semnificativă statistic după prima baie caldă salină, similar aplicației peloide inițiale. Se poate concluziona că prima aplicație peloidă reprezintă un moment critic în reglarea balanței neuro-vegetative și endocrine a organismului. Datorită creșterii pO₂ se ameliorează eliberarea de oxigen în țesuturi, ceea ce duce la creșterea capacității de efort a pacienților, ameliorarea circulației periferice a membrelor, a insomniei. Consecința este posibilitatea inițierii precoce a programului de gimnastică medicală, veriga principală a programului de recuperare, pentru prevenirea deformărilor produse de boală.

Cât despre presiunea parțială a dioxidului de carbon și cantitatea totală de CO₂ din sânge, valorile acestor parametri nu prezintă variații semnificative după aplicația peloidă. Se observă totuși discrete scăderi ale valorilor în prima zi de tratament, după baia de nămol, variații concordante cu cele ale oxigenului, după care valorile revin lent spre valoarea inițială.

Se observă că valorile pH-ului sangvin și ale ionului bicarbonat seric rămân nemodificate după tratamentul cu nămol, probabil prin intervenția sistemelor tampon ale organismului mobilizate în urma stresului produs de inițierea curei balneare.

În schimb, **valorile lactatului seric** cresc după prima aplicație de nămol și **scad semnificativ statistic** în finalul tratamentului. Aceeași evoluție o prezintă lactatul seric și în cazul aplicațiilor saline, cu scăderea marcată a valorilor în finalul curei terapeutice.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. **Adcock I.M., Ito K.**, 2000, Molecular mechanisms of corticosteroid actions, Monaldi Arch Chest Dis, 55, 256-266.
2. **Akira S., Taga T., Kishimoto T.**, 1993, Interleukin-6 in biology and medicine, Adv. Immunol, 54, 1.
3. **Andrieș V.**, 1994, Note de curs, Medicina Fizică, Balneoclimatică și Kinetoterapie, Universitatea „Carol Davila” București, Ed. Medicală, Partea I, 37-38, 65-66, 72, 75-77.
4. **Aranda A., Pascual A.**, 2001, Nuclear hormone receptors and gene expression, Physiol. Rev, 81, 1269-1304.
5. **Baciu O., Trica V., Dumitrescu V., de Mayo B.**, 1958, Contribution a l'étude des bacteries sulfureuses de l'eaux et du liman de Techirghiol, Archives Roumaines De Pathologie Experimentale et de Microbiologie, Experim, 3,4,17.
6. **Badiu G., Ceamitru N., Petru A.**, 1997, Fiziologie și fiziopatologie hiperbară, Ed. Fundației “Andrei Șaguna”, Constanța.
7. **Banciu Mioara**, 1996, Balneofizioterapie generală și concepte moderne de recuperare, Editura Mirton, Timișoara.
8. **Bandyopadhyay U., Das D., Banerjee R.K.**, 1999, Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis, Review article Current Science, vol 77, Nr.5.
9. **Barnes P.J.**, 1998, Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms, Clin Sci (Lond), 94, 557-572.
10. **Bellometti Simona, Galzigna L.**, 2002, Both serum receptors of tumor necrosis factor are influenced by mud-pack treatment in osteoarthritic patients, International Journal of Tissue Reactions, 24(2), 57-64.
11. **Berlescu E.**, 1996, Mică enciclopedie de balneo-climatologie a României, Editura All, București, 210.
12. **Bianchi G., Marchesini G., Zoli M., Falasconi M.C., Iervese T., Vecchi F., Magalotti D., Ferri S.**, 1993, Thyroid involvement in chronic inflammatory rheumatological disorders, Clin Rheumatol, Volume 12, Number 4, 479-484.
13. **Brennan F.M., Maini R.N., Feldmann M.**, 1998, Role of proinflammatory cytokines in rheumatoid arthritis, Springer Semin. Immunopathol, 20, 133.
14. **Bunescu R.**, 1967, Studii și cercetări de balneologie și fizioterapie, Ed. Medicală, București, Vol. IX, 1, 485-486.
15. **Chapple I.L.**, 1997, Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases, J Clin Periodontol, 24(5), 287-296.
16. **Chrousos G.P.**, 1995, The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation, N Engl J Med, 332, 1351-1362.

17. **Crofford L.J.**, 2002, The hypothalamic–pituitary–adrenal axis in the pathogenesis of rheumatic diseases, Endocrinol Metab Clin North Am, 31, 1-13.
18. **Cutolo M., Wilder R.L.**, 2000, Different roles for androgens and estrogens in the susceptibility to autoimmune rheumatic diseases, Rheum Dis Clin North Am, 26, 825-839.
19. **DeMayo Bina, Ionescu C., Ionescu V., Petrescu I.**, 1973, Studiul fizico-chimic al apei și nămolului din lacul Techirghiol, în Apele minerale și nămolurile terapeutice din Republica Socialistă România, Ed. Medicală, București, 10, 506-516.
20. **Demir H., Keleştimur F., Tunç M., Kırnap M., Özugul Y.**, 1999, Hypothalamo-pituitary-adrenal axis and growth hormone axis in patients with rheumatoid arthritis, Scand J Rheumatol, 28, 41-46.
21. **Diaconescu L.E.**, 1973, Apele minerale și nămolurile din România, Editura Medicală, București, 9, 517-526.
22. **Dinarello C.A., Moldawer L.L.**, 2002, Proinflammatory and Anti-inflammatory Cytokines in Rheumatoid Arthritis, 4, 10, 16-18, 21-22, 49, 58-60, 97, 101.
23. **Dorshkind K., Horseman N.D.**, 2001, Anterior pituitary hormones, stress, and immune system homeostasis, BioEssays, 23, 288-294.
24. **Eijsbouts A.M., Murphy E.P.**, 1999, The role of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in rheumatoid arthritis, Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol, 13, 599-613.
25. **Enwemeka C., Allen C., Avila P., Bina J., Konrade J., Munns S.**, 2002, Soft tissue thermodynamics before, during, and after cold pack therapy, Medicine & Science in Sports & Exercise, 34(1), 45-50.
26. **Eskandari F., Webster J.I., Sternberg E.M.**, 2003, Neural immune pathways and their connection with inflammatory diseases, Arthritis Res Ther, 5, 251-265.
27. **Falagas M.E., Zarkadoulia E., Rafailidis P.I.**, 2009, The therapeutic effect of balneotherapy: evaluation of the evidence from randomised controlled trials, Int J Clin Pract, 63(7), 1068-84.
28. **Françon A., Forestier R.**, 2009, Spa therapy in rheumatology. Indications based on the clinical guidelines of the French National Authority for health and the European League Against Rheumatism, and the results of 19 randomized clinical trials, Bull Acad Natl Med, 193(6), 1345-56, discussion 1356-8.
29. **Gaillard R.C.**, 1994, Neuroendocrine-immune system interactions. The immune-hypothalamo-pituitary-adrenal axis, Trends Endocrinol Metab, 5, 303-309.
30. **Gârban Z.**, 1997, Noțiuni de biologie moleculară, Vol I-II, Ed. Mirton, Timișoara.
31. **Gârban Z.**, 1999, Biochimie, Vol I, Ed. Didactică și Pedagogică, București.
32. **Goldberg D.M., Spooner R.J.**, 1983, Glutathione reductase, in Bergmeyer H.U., ed. Methods in enzymology, Vol. 3 Basel, Verlag Chemie, 258-265.

33. **Gratacos J., Collado A., Filella X.,** 1994, Serum cytokines (IL-6, TNF- α , IL-1 β and INF- γ) in ankylosing spondylitis: a close correlation between serum IL-6 and disease activity and severity, Br J Rheumatol, 10, 927- 931.
34. **Halliwell B., Gutteridge J.M.C.,** 1989, Free Radicals in Biology and Medicine, Clarendon, Oxford.
35. **Halliwell B.,** 1994, Free radicals, antioxidants and human disease: Cause or consequence?, Lancet, 344, 721-724.
36. **Halliwell B.,** 1997, Antioxidants: the basics--what they are and how to evaluate them, Adv Pharmacol, 38, 3-20.
37. **Ho K.J., Chen P.Q., Chang C.Y., Lu F.J.,** 2000, The oxidative metabolism of circulating phagocytes in ankylosing spondylitis: determination by whole blood chemiluminescence, Ann Rheum Dis, 59, 338-41.
38. **Imrich R.,** 2002, The role of neuroendocrine system in the pathogenesis of rheumatic diseases (minireview), Endocr Regul, 36, 95-106.
39. **Jaba E., Grama A.,** 2004, Analiza statistică cu SPSS sub Windows, Editura Polirom.
40. **Johnson R.W., Arkins S., Dantzer R., Kelley K.W.,** 1997, Hormones, lymphohemopoietic cytokines and the neuroimmune axis, Comp Biochem Physiol A Physiol, 116, 183-201.
41. **Karakoc M., Altindag O., Keles H., Soran N., Selek S.,** 2007, Serum oxidative-antioxidative status in patients with ankylosing spondylitis, Rheumatol Int, 27, 1131-4.
42. **Kidd M.P.,** 1997, Glutathione: Systemic Protectant Against Oxidative And Free Radical Damage, Alternative Medicine Review, Vol.2, nr.3.
43. **Kirnap M., Atmaca H., Tanriverdi F., Ozsoy O., Unluhizarci K., Kelestimur F.,** 2008, Hypothalamic-pituitary-adrenal axis in patients with ankylosing spondylitis, HORMONES, 7(3), 255-258.
44. **Klecha A.J., Genaro A.M., Lysionek A.E., Caro R.A., Coluccia A.G., Cremaschi G.A.,** 2000, Experimental evidence pointing to the bidirectional interaction between the immune system and the thyroid axis, Int J Immunopharmacol, 22, 491-500.
45. **Kozaci L.D., Sari I., Alacacioglu A., Akar S., Akkoc N.,** 2010, Evaluation of inflammation and oxidative stress in ankylosing spondylitis: a role for macrophage migration inhibitory factor, Mod Rheumatol, 20(1), 34-9.
46. **Lightman S.L., Windle R.J., Ma X.M., Harbuz M.S., Shanks N.M., Julian M.D., Wood S.A., Kershaw Y.M., Ingram C.D.,** 2002, Hypothalamic-pituitary-adrenal function, Arch Physiol Biochem, 110, 90-93.
47. **Lupu N.G.,** 1956, Medicină internă, volumul I, Semiologie și terapeutică generală, Editura Medicală București, Capitolul balneologie - prof. Dr. E. Moraru, 378.

48. **Marin V., Profir D., Roşoiu N., Petcu L.**, 2011, Evaluation of Blood Gases Pressure in Patients Treated with Sapropelic Mud of Techirghiol, Archives of the Balkan Medical Union, 45, 1, 69-74.
49. **Olinescu R.**, 1982, Peroxidarea în chimie, biologie, medicină, Ed. Ştiinţifică, Bucureşti.
50. **Olinescu R., Greabu M.**, 1990, Mecanisme de apărare ale organismului împotriva poluării chimice, Ed. Tehnică, Bucureşti.
51. **Olinescu R.**, 1994, Radicali liberi în fiziopatologia umană, Ed. Tehnică, Bucureşti.
52. **Onose G.**, 2000, Aspecte conceptuale actuale ale prescripţiilor balneare hidro-termo-terapeutice la vârstnici, Raport la Conferinţa Naţională cu Participare Internaţională Actualităţi şi Perspective în Gerontologie şi Geriatrie la cumpăna dintre milenii, 31 mai-2 iunie, Otopeni, Bucureşti.
53. **Ozgocmen S., Sogut S., Fadilloğlu E., Ardicoglu A., Ardicoglu O.**, 2003, Antioxidant status and lipid peroxidation in seminal plasma and spermatozoa of patients with ankylosing spondylitis, Rheumatology, 42, 805-7.
54. **Pawlikowski M., Stepień H., Komorowski J.**, 1994, Hypothalamic–pituitary–thyroid axis and the immune system, Neuroimmunomodulation, 1, 149-152.
55. **Petcu L.**, 2005, Informatică medicală şi biostatistică, Editura Ovidius University Press.
56. **Profir D., Marin V., Surdu T.V., Roşoiu N.**, 2011, Variation of Serum Level of Proinflammatory Cytokines after Mud Therapy in Patients with Osteoarthritis, Archives of the Balkan Medical Union, 46, 2, 114-119.
57. **Profir D., Marin V., Surdu O., Roşoiu N.**, Changes of Hormonal Status after Peloidotherapy in Patients with Ankylosing Spondylitis, Archives of the Balkan Medical Union, sub tipar 2013.
58. **Qian Chen**, 2012, Osteoarthritis - Diagnosis, Treatment and Surgery, capitolul intitulat "Peloidotherapy in Osteoarthritis - Modulation of Oxidative Stress", în colaborare cu dr. Marin Viorica, Surdu Olga, Demirgian Sibel, InTech - Open Access Publisher, ISBN 978-953-51-0168-0, pg. 143-156.
59. **Roşoiu N., Şerban M.**, 2005, Biochimie medicală, Vol. II: Metabolismul intermediar cu corelaţii clinice, Editura Muntenia & Leda, Constanţa, România.
60. **Roşoiu N., Şerban M., Badiu G.**, 2005, Biochimie clinică, Metode şi tehnici de laborator, Valoare diagnostica, Editura Muntenia & Leda, Constanţa, România.
61. **Roşoiu Natalia, Verman Georgeta Irinel**, 2008, Biochimie clinică, Editura Muntenia & Leda, Constanţa, România.
62. **Sorokina E.I., Ali O.**, 1998, The effect of contrast baths on the hemostatic function of patients with ischemic heart disease, Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult, May-Jun, 3, 26-8.

63. **Stanek A., Cieřlar G., Romuk E., Kasperczyk S., Sieroń-Stoltny K., Birkner E., Sieroń A.**, 2010, Decrease in antioxidant status of plasma and erythrocytes from patients with ankylosing spondylitis, Clin Biochem, 43(6), 566-70.
64. **Straub R.H., Struhárová S., Schölmerich J., Härle P.**, 2002, No alterations of serum levels of adrenal and gonadal hormones in patients with ankylosing spondylitis, Clin Exp Rheumatol, 20 (Suppl. 28), S52-S59.
65. **Surdu O., Țebrencu C., Marin V., Profir D.**, 2005, Studiul variației în timp a compoziției chimice a nămolului sapropelic de Techirghiol de la extracție până la finalul aplicației terapeutice, Revista de Recuperare, Medicină Fizică și Balneologie, nr. 3-4, 52.
66. **Surdu O.**, 2006, Evaluarea factorului chimic de acțiune a nămolului sapropelic de Techirghiol, Ed Gramar.
67. **Șerban M.G., Roșoiu N.**, 2003, Biochimie medicală, Vol. I: Principii de organizare moleculară, Editura Muntenia & Leda, Constanța, România.
68. **Șerban M.G.**, 2004, Patologie moleculară, aspecte biochimice și clinice, Ed. Printech, București.
69. **Teleki N., Munteanu L., Stoicescu C., Teodoreanu E., Grigore L.**, 1984, Cura balneoclimatică în România, Editura Sport-Turism, București, 50-52, 76-82.
70. **Tsokos G.C.**, 2000, Principles of Molecular Rheumatology, Humana Press Totowa, New Jersey.
71. **Túnez I., Feijóo M., Huerta G., Montilla P., Muñoz E., Ruíz A., Collantes E.**, 2007, The effect of infliximab on oxidative stress in chronic inflammatory joint disease, Curr Med Res Opin, 23(6), 1259-67.
72. **Țuculescu I.**, 1965, Biodinamica lacului Techirghiol, Biocenozele și Geneza nămolului, Ed. Academiei Republicii Socialiste România, 120.
73. **Ushakova O.E., Davydova O.B., Iarustovskaia O.V., Filina L.F., Lebedeva O.D., Iazykova T.A.**, 1997, The effect of contrast baths on central nervous system function in patients with a disordered menstrual function, Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult, Jul-Aug, 4, 25-7.
74. **Zirra A., Voicu A., Comnoiu M., Stratulat L.**, 1964, Modificări histochimice în glandele endocrine sub acțiunea nămolului sapropelic de Techirghiol și a extractelor sale, Studii și Cercetări de Balneologie, Vol VII, Ed. Medicală București, 147-153.
75. **Weiss S.J.**, 1989, Tissue destruction by neutrophils, N Engl J Med, 320, 365-76.
76. **Wendling D., Didier J.M., Vuitton D.A.**, 1991, The phagocyte oxidative metabolism function in ankylosing spondylitis, Rheumatol Int, 11, 187-9.
77. **Yazici C., Köse K., Calis M., Kuzugüden S., Kirnap M.**, 2004, Protein oxidation status in patients with ankylosing spondylitis (concise report), Rheumatology, 43, 1235-9.

LUCRĂRI ELABORATE DE DOCTORAND

I. LUCRĂRI PUBLICATE ÎN EXTENSO ÎN REVISTE RECUNOSCUTE C.N.C.S.I.S.

1. Roșoiu N., Profir D., Marin V., Belc I., (2006), Certain experimental clinical data about the value of therapy with ALFLUTOP jelly in osteoarthritis, Archives of the Balkan Medical Union, 41, 1, 10-15. Revista B⁺ indexata BDI, in EMBASE/Excerpta Medica, Chemical Abstracts, SCOPUS, www.umbalk.org
2. Marin V., Profir D., Ionescu E., Bașa M., Roșoiu N., (2009), Effects of Techirghiol mud in oxidative stress at patients with osteoarthritis, Archives of the Balkan Medical Union, 44, 3, 196-200, Revista B⁺ indexata BDI, in EMBASE/Excerpta Medica, Chemical Abstracts, SCOPUS, www.umbalk.org
3. Marin V., Profir D., Surdu O., Demirgian S., Roșoiu N., (2010), Dynamic variation of blood ions during treatment with therapeutic mud, Archives of the Balkan Medical Union, 45, 1, 69-74. Revista B⁺ indexata BDI, in EMBASE/Excerpta Medica, Chemical Abstracts, SCOPUS, www.umbalk.org
4. Marin V., Profir D., Roșoiu N., Petcu L., (2011), Evaluation of Blood Gases Pressure in Patients Treated with Sapropelic Mud of Techirghiol, Archives of the Balkan Medical Union, 45, 1, 69-74. Revista B⁺ indexata BDI, in EMBASE/Excerpta Medica, Chemical Abstracts, SCOPUS, www.umbalk.org
5. Profir D., Marin V., Surdu T.V., Roșoiu N., (2011), Variation of Serum Level of Proinflammatory Cytokines after Mud Therapy in Patients with Osteoarthritis, Archives of the Balkan Medical Union, 46, 2, 114-119. Revista B⁺ indexata BDI, in EMBASE/Excerpta Medica, Chemical Abstracts, SCOPUS, www.umbalk.org
6. Profir D., Marin V., Surdu O., Roșoiu N., Changes of Hormonal Status after Peloidotherapy in Patients with Ankylosing Spondylitis, Archives of the Balkan Medical Union, sub tipar 2013. Revista B⁺ indexata BDI, in EMBASE/Excerpta Medica, Chemical Abstracts, SCOPUS, www.umbalk.org

II. LUCRĂRI PUBLICATE SUB FORMĂ DE REZUMAT ÎN VOLUMELE UNOR MANIFESTĂRI ȘTIINȚIFICE NAȚIONALE ȘI INTERNAȚIONALE

1. Profir D., Marin V., Belc L., Roșoiu N., (2005), Studiu experimental privind valoarea terapiei cu ALFLUTOP gel în boala artrozică - Date preliminare, Sesiunea a XV-a de Comunicări Științifice, Facultatea de Medicină, Univ. "Ovidius" 14-16 aprilie 2005, Cartea de Rezumate, Ovidius University Press, pag. 66-67.
2. Profir D., Marin V., Belc L., Roșoiu N., (2005), Experimental clinical study about the value of therapy with Alflutop jelly in osteoarthritis - preliminary data, 27th International Conference on Science & Technology, Prague, Czech Republic, Ed. Alena Chemicals of Canada, pag. 26.
3. Marin V., Profir D., (2005), Elemente de ecologie acvatică și terestră a lacului Techirghiol – prezentare la simpozionul cu tema: "Implicarea fondului acvatic dobrogean în menținerea echilibrului ecologic al populației umane", Sanatoriul Balnear și de Recuperare Techirghiol, organizat de: E.C.O.M., Academia oamenilor de știință din România, Universitatea Ovidius Constanța, Vest Energo S.A.- București, ISBN 973-7895-00-2, pag. 67.
4. Surdu O., Tebrenu C., Marin V., Profir D., (2005), Studiul variației în timp a compoziției chimice a nămolului sapropelic de Techirghiol de la extracție până la finalul aplicației terapeutice, Revista de Recuperare, Medicină Fizică și Balneologie nr. 3-4, pag. 52.
5. Marin V., Profir D., Belc I., Surdu O., Roșoiu N., (2006), The Techirghiol Sapropelic Mud - Peloidogenesis, chemical composition, therapeutical effects, RSBMB International Meeting, Constanța, Romania, Book of Abstracts, pag. 55.
6. Marin V., Profir D., Roșoiu N., (2006), Therapeutically effects of Techirghiol Sapropelic Mud in oxidative stress at patients with osteoarthritis, 29th Balkan Medical Week, Ecology, Man, Health, Golden Sands, Varna, Bulgaria, Book of Abstracts, P93, pag. 67.

7. **Profir D., Marin V., Belc I., Roşoiu N., (2006)**, Experimental clinical study about the value therapy with *Alflutop* jelly in osteoarthritis, **RSBMB International Meeting**, Constanţa, Romania, **Book of Abstracts**, pag. 89.
8. **Profir D., Marin V., Roşoiu N., (2006)**, Clinical data about the value of therapy with ALFLUTOP inject solution in patients with osteoarthritis, **29th Balkan Medical Week, Ecology, Man, Health**, Golden Sands, Varna, Bulgaria, **Book of Abstracts**, P94, pag. 68.
9. **Profir D., Marin V., Surdu O., Roşoiu N., (2006)**, Studiu clinic privind variaţia hormonilor de stres şi a unor markeri proinflamatori sub acţiunea peloidoterapiei la pacienţii cu osteoartrită., **Al 29-lea Congres Naţional de Medicină Fizică şi de Recuperare, Poiana Braşov, Book of Abstracts**, pag. 108.
10. **Surdu O., Marin V., Profir D., Vasile M., (2006)**, Nivelul plasmatic al citokinelor proinflamatorii la pacienţii cu S.A. după onctiunea cu nămol rece de Techirghiol, **Al 29-lea Congres Naţional de Medicină Fizică şi de Recuperare, Poiana Braşov, Book of Abstracts**, pag. 63.
11. **Marin V., Profir D., Surdu O., Roşoiu N., (2007)**, Therapeutically effects of Techirghiol sapropelic mud in oxidative stress at patients with osteoarthritis, **FEBS Journal, Volume 274, Supplement 1, July 2007, pp.1-378, 32nd FEBS Congress, "Molecular Machines", Vienna, Austria**, C4-76, 213. **Revistă cotate ISI cu factor de impact 4, 220, pag. 213.**
12. **Marin V., Profir D., Surdu O., Başa M., Roşoiu N., (2007)**, Evaluation of oxidative stress at patients with osteoarthritis after therapeutically Techirghiol mud bath, **La 17-eme Session des Journees Medicales Balkaniques, Craiova, Roumanie, Volume de resumes**, pag. 62.
13. **Profir D., Marin V., Surdu O., Roşoiu N., (2007)**, Variation of serum level of proinflammatory cytokines after mud therapy in patients with ankylosing spondylitis, **FEBS Journal, Volume 274, Supplement 1, July 2007, pp.1-378, 32nd FEBS Congress, "Molecular Machines", Vienna, Austria**, F1-76, 283. **Revistă cotate ISI cu factor de impact 4, 220, pag. 283.**
14. **Profir D., Marin V., Surdu O., Roşoiu N., (2007)**, Variation of serum level of proinflammatory cytokines after mud therapy in patients with ankylosing spondylitis, **La 17-eme Session des Journees Medicales Balkaniques, Craiova, Roumanie, Volume de resumes**, pag. 61.
15. **Marin V., Profir D., Demirgian S., Teren O., (2008)**, Dynamic variation of blood ions during treatment with Techirghiol therapeutic mud, **OP21-36th Congress of the International Society of Medical Hidrology & Climatology, Porto, Abstract Book**, pag. 35.
16. **Profir D., Marin V., Surdu O., Preda M., (2008)**, The Influence of Mud Therapy on Hormonal Status in Patients with Chronic Inflammatory Rheumatism, Poster - **36th Congress of the International Society of Medical Hidrology & Climatology, Porto, Abstract Book**, pag. 49.
17. **Surdu O., Marin V., Profir D., Ionescu E.V., Preda M., Surdu T.V., Nechifor M., (2008)**, Histological and Biohistometrical Study of Human Skin Melanine Production After Mud Exposure, **OP21-36th Congress of the International Society of Medical Hidrology & Climatology, Porto, Abstract Book**, pag. 34.
18. **Marin V., Profir D., Surdu O., Ionescu E., Oprea C., Bratu M., (2008)**, Therapeutical effects of galvanization with salty lake water in patients with osteoarthritis, **OP-The 61st International Scientific Congress of the World Federation of Hydrotherapy and Climatotherapy, Guandong (Zhuhai) China, Book of Abstract**, pag. 228.
19. **Marin V., Profir D., Surdu O., Minea M., Başa M., Livanov V., (2008)**, Mud bath therapy influences the serum levels of reduced glutathione, superoxid dismutase and glutathione reductase in patients with rheumatic diseases, **OP-The 61st International Scientific Congress of the World Federation of Hydrotherapy and Climatotherapy, Guandong (Zhuhai) China, Book of Abstract**, pag. 227.
20. **Profir D., Marin V., Demirgian S., Muja L.I., Bratu M., (2008)**, Evaluation of serum level of some ions in patients undergoing galvanic bath with salted lake water, **OP-The 61st International Scientific Congress of the World Federation of Hydrotherapy and Climatotherapy, Guandong (Zhuhai) China, Book of Abstract**, pag. 230.
21. **Marin V., Profir D., Surdu O., Demirgian S., (2009)**, Oxidative stress after mud applications, **OP-62nd International Scientific Congress of the World Federation of Hydrotherapy and Climatotherapy, Yokohama, Japan, , Book of Abstract**, pag. 82.

22. **Profir D., Marin V., Surdu T.V., Demirgian S., Ionescu E.V., (2009), Serum Level of Proinflammatory Cytokines in Patients with Ankylosing Spondylitis after Cold Mud Ointement, OP-62nd International Scientific Congress of the World Federation of Hydrotherapy and Climatotherapy, Yokohama, Japan, Book of Abstract, pag. 80.**
23. **Surdu O., Surdu T.V., Profir D., Demirgian S., Marin V., Minea M., Ionescu E.V., Nechifor M., (2009), Balneology - where to? History and current trends in Romania, OP-62nd International Scientific Congress of the World Federation of Hydrotherapy and Climatotherapy, Yokohama, Japan, Book of Abstract, pag. 78.**
24. **Minea M., Ionescu E.V., Livanov A., Petrescu M., Moraru I., Profir D., Marin V., Surdu O., Suța M., (2009), Aspecte Socio-Geografice La Pacienții cu Factor de Risc Pentru Osteoporoză, Congresul OsArt, Sinaia, Cartea de abstracte, pag. 16.**
25. **Profir D., Marin V., Demirgian S., Moraru I., (2009), Conservative management versus surgical intervention for two rare cases of spinal malformation occasionally discovered and treated in Balneal and Rehabilitation Sanatorium Techirghiol, OP-1er Congreso Internacional de Cirugía Raquimedular, La Habana, Cuba, Book of Abstracts, pag. 38.**
26. **Profir D., Surdu O., Marin V., Surdu T.V., (2009), The appropriate moment for neuro-rehabilitation after surgical intervention on spinal cord, OP-1er Congreso Internacional de Cirugía Raquimedular, La Habana, Cuba, Book of Abstracts, pag. 52.**
27. **Marin V., Profir D., Surdu O., Demirgian S., (2010), Oxidative stress evaluation after mud bath, OP-37th World Congress of the International Society of Medical Hydrology and Climatology, Paris, France, Book of Abstracts, pag. 54.**
28. **Ionescu E. V., Minea M., Surdu O., Muja L.I., Marin V., Demirgian S., Profir D., (2010), Does peloidotherapy improve the quality of life of the patients with osteoarthritis?, OP-37th World Congress of the International Society of Medical Hydrology and Climatology, Paris, France, Book of Abstracts, pag. 136.**
29. **Profir D., Marin V., Surdu O., Muja L.I., (2010), Variation of inflammatory cytokines levels after mud therapy in patients with ankylosing spondylitis, OP-37th World Congress of the International Society of Medical Hydrology and Climatology, Paris, France, Book of Abstracts, pag. 123.**
30. **Profir D., Marin V., Surdu O., Demirgian S., Ionescu E.V., (2012), Techirghiol Balneal and Rehabilitation Sanatorium – statistical analysis of pathology types on addmitted patients, OP-The 38th World Congress of the International Society of Medical Hydrology and Climatology, Granada, Spain, Book of Abstracts, pag. 40.**
31. **Marin V., Surdu O., Profir D., Ionescu E.V., Demirgian S., (2012), Impact of Mud Therapy in Pathogenesis of Osteoarthritis, OP-The 38th World Congress of the International Society of Medical Hydrology and Climatology, Granada, Spain, Book of Abstracts, pag. 7.**
32. **Ionescu E.V., Profir D., Surdu O., Marin V., Demirgian S., (2012), Techirghiol Balneal and Rehabilitation Sanatorium – analysis of epidemiological data, OP-The 38th World Congress of the International Society of Medical Hydrology and Climatology, Granada, Spain, Book of Abstracts, pag. 48.**

III. CAPITOLE DE CĂRȚI PUBLICATE ÎN STRĂINĂȚATE

Qian Chen, Osteoarthritis - Diagnosis, Treatment and Surgery, 2012, capitolul intitulat "Peloidotherapy in Osteoarthritis - Modulation of Oxidative Stress", în colaborare cu Marin Viorica, Surdu Olga, Demirgian Sibel, InTech - Open Access Publisher, ISBN 978-953-51-0168-0, pag. 143-156. <http://www.intechopen.com/articles/show/title/peloidotherapy-in-osteoarthritis-modulation-of-oxidative-stress>