

Ion Mereuță
Victor Cernat
Ion Vozian

**TUMORILE LA COPII.
MANAGEMENTUL CLINIC
AL CANCERELOR EREDITARE**



Chișinău, 2012

Universitatea de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”
Institutul Oncologic din Moldova

Ion Mereuță
Victor Cernat
Ion Vozian

**Tumorile la copii.
Managementul clinic
al cancerelor ereditare**

Chișinău - 2012

CZU: 616-006-053.2

M 59

Autorii:

Ion Mereuță – doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, Catedra Hematologie și Oncologie a USMF „N. Testemițanu”, șef Laborator Oncologie Generală, IMSP IO

Victor Cernat – doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, Director IMSP IO

Ion Vozian – medic oncolog-chirurg

Recenziții:

Nicodim Belev – doctor habilitat în științe medicale, conferențiar cercetător

Larisa Rusu – doctor în științe medicale, medic oncopediatru, IMSP IO

Descrierea CIP a Camerei Naționale a Cărții

Mereuță, Ion.

Tumorile la copii. Managementul clinic al cancerelor ereditare / Ion Mereuță, Victor Cernat, Ion Vozian ; Univ. de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”, Inst. Oncologic din Rep. Moldova. – Ch. : S. n., 2012 (Tipogr. “Print-Caro”). – 72 p.

Bibliogr.: p. 71-72 (53 tit.). – 100 ex.

ISBN 978-9975-56-073-3.

616-006-053.2

CUPRINS

PREFAȚĂ	5
CUVÂNT ÎNAINTE A AUTORILOR	9
CAPITOLUL I.	
FRECVENȚA ABERAȚIILOR CROMOZOMIALE ÎN NEOPLAZII	12
1.1. Clasificarea aberațiilor cromozomiale din neoplazii	13
1.2. Clonalitate și recurență	14
1.3. Instabilitatea cromozomială	15
1.4. Aspecte moleculare ale geneticii bolii neoplazice	20
CAPITOLUL II.	
PATOLOGIA ÎN ONCOLOGIA PEDIATRICĂ	21
2.1. Perspective istorice	21
CAPITOLUL III.	
MORBIDITATEA ȘI MORTALITATEA PRIN BOLI MALIGNE	
LA COPII	23
3.1. Incidența bolilor maligne	23
CAPITOLUL IV.	
ASPECTE GENETICE ASUPRA TUMORILOR LA COPII	27
4.1. Considerații genetice asupra tumorii Wilms	27
4.2. Contribuții și cercetări clinico-genetice în tumora Wilms la copil	32
CAPITOLUL V.	
LIMFOAMELE MALIGNE	33
5.1. Limfomul giganto-folicular	33
5.2. Limfosarcoame	34
5.3. Reticulosarcoame	36
5.4. Boala Hodgkin	39
5.5. Limfoame de origine extraganglionară	42
5.6. Limfomul Burkitt	42
CAPITOLUL VI.	
TUMORI MALIGNE	45
6.1. Vezica urinară	45
6.2. Sistemul nervos	46
6.3. Gliomele cerebrale	46
6.4. Meningioamele	47
6.5. Glandele endocrine	49
6.6. Tumori oculare. Retinoblastomul.	49
6.7. Pielea	50
6.8. Alte tumori	51

CAPITOLUL VII.

LEUCEMIILE	53
7.1. Leucemia limfocitară cronică	53
7.2. Leucemiile acute	54
7.3. Cariotipul în leucemiile acute	54

CAPITOLUL VIII.

PROBLEME DE EVALUARE CLINICĂ ȘI DE DIAGNOSTIC

DIFERENȚIAL LA COPIII SUSPECTAȚI DE CANCER	57
8.1. Semne și simptome la copilul cu cancer	57
8.2. Stabilirea diagnosticului	58
8.3. Diagnostic diferențial	59
8.4. Durerea osoasă	63
8.5. Tumori abdominale	64
8.6. Indurații mediastinale	66
8.7. Pancitopenia	68
ÎNCHEIERE	69
BIBLIOGRAFIE	71

PREFAȚĂ

Informațiile obținute prin metodele convenționale de diagnostic histologic al bolii neoplazice sunt adesea incomplete. Interpretarea trăsăturilor fenotipice este inerent subiectivă, iar erorile de eșantionare generează riscuri adiționale de formulare a unor rezultate fals negative. Tehnicile imunohistochemice permit evaluări mai detaliate ale fenotipului, dar și acestea au un caracter strict descriptiv și sunt, la rândul lor, susceptibile de erorile care decurg din alegerea neadecvată a probelor.

Pe lângă dezavantajul major al lipsei de sensibilitate, metodele histologice, prin însăși natura lor, au o capacitate foarte limitată de a contribui cu elemente semnificative la predicția comportamentului clinic al tumorilor.

Dezvoltarea, ca o alternativă la histologie, a unor metodologii capabile să furnizeze date mai precise, mai obiective și mai informative reprezintă una dintre cerințele cele mai stringente ale oncologiei. Astfel de metode există. Ele aparțin geneticii. Unele dintre ele au devenit operaționale și figurează în inventarul tehnicilor de uz curent al laboratoarelor clinice; altele, încă în curs de calibrare și standardizare, sunt utilizate în prezent numai în scopuri de cercetare. Momentul omologării lor ca tehnici de rutină se anunță, însă, a fi unul foarte apropiat.

Premisele teoretice ale dezvoltării acestor metodologii sunt reprezentate de două dintre trăsăturile definitorii ale bolii

canceroase: cancerul este o boală genetică; evoluția procesului malign se realizează multistadial.

Natura genetică a cancerului rezultă din faptul că leziunile răspunzătoare de apariția și dezvoltarea tumorilor își au sediul la nivelul moleculelor informaționale ADN; ele sunt reprezentate de alterări permanente și transmisibile în succesiunea generațiilor celulare ale unor secvențe nucleotidice specifice. Astfel de alterări sunt denumite mutații.

Caracterul multistadial al evoluției cancerului decurge din faptul că realizarea plinară a fenotipului malign comportă acumularea succesivă de mutații care, dotând secvențial celulele cu diferitele atribute ale malignității, sfârșesc prin a le conferi potențialul invaziv și metastazant.

Mutațiile prezente în celulele canceroase pot fi identificate și caracterizate prin tehnici ale geneticii. Rezultă, așadar, că: spre deosebire de toate celelalte metode de diagnostic al cancerului, limitate la a surprinde, exclusiv, trăsăturile fenotipice ale celulelor și țesuturilor tumorale, - metodele geneticii, adresându-se nemijlocit genotipului, sunt singurele în măsură să obiectiveze alterările primare, direct răspunzătoare de inițierea și progresiunea procesului malign.

Informând asupra acestor alterări, metodele geneticii permit atât abordarea rațională a etiopatogeniei cancerului, cât și: optimizarea diagnosticului, evaluare corectă a prognosticului, stabilirea celor mai precise criterii de clasificare și stadializare și, deosebit de important, diagnosticul predispoziției ereditare la dezvoltarea acestei boli.

Numărul genelor ale căror modificări mutaționale sunt implicate în etiopatogenia cancerului este de ordinul sutelor. Deoarece nu sunt întâlnite practic niciodată în celulele normale, mutațiile oricăreia dintre aceste gene au, virtual, valoarea de

biomarkeri ai bolii canceroase. Unele mutații sunt detectabile încă din stadiile cele mai timpurii, marcând chiar momentul transformării neoplazice. Semnificația lor este, neîndoielnic, una etiologică, iar evidențierea lor face posibil diagnosticul precoce. Altele apar mai târziu, asociindu-se cauzal cu progresiunea bolii. Se impune însă precizarea că ordinea producerii mutațiilor nu este aceeași la fiecare din cele 150-200 de morfotipuri tumorale, descrise la om; mai mult decât atât, paternul combinațiilor de alterări genice poate să difere între tumorile aparținând aceluiași tip morfoclinic. Altfel spus, specificitatea asocierilor între modificările genice, pe de o parte, și stadiul sau chiar tipul tumorii, pe de altă parte, nu este absolută, fapt care — pentru moment — se opune elaborării unui sistem riguros de grading genetic. Totuși, mutațiile anumitor gene sunt puternic corelate cu creșterea agresivității tumorii și cu dobândirea capacității invazive și metastazante. Detectarea lor este importantă pentru estimarea duratei de supraviețuire și pentru stabilirea strategiilor terapeutice.

Unul dintre mecanismele generatoare de alterări ale structurii și funcției genelor implicate în tumorigeneză îl constituie formarea aberațiilor cromozomiale. Acest mecanism operează în majoritatea neoplaziilor și poate interveni atât în inițierea, cât și în progresiunea tumorilor. Tumorile avansate exhibă aproape invariabil un spectru larg de anomalii cromozomiale complexe, numerice și structurale. Detectarea în celulele tumorale a unor astfel de anomalii nu lasă nici un dubiu asupra caracterului malign al proliferării. În stadiile timpurii, anomaliile cromozomiale, dacă există, sunt de regulă solitare și, de cele mai multe ori, se asociază specific cu un anumit tip histologic. În plus, unele aberații solitare par a fi strâns corelate cu rata progresiunii tumorilor, și cu răspunsul la tratament. Ele reprezintă, astfel, nu numai markeri ai malignității, ci și parametri independenți de diagnostic și prognostic.

Privite ca echivalenți citologici ai alterărilor moleculare pe care le produc, anomaliile cariotipice pot îndeplini funcția de markeri ai localizării genelor cu rol în determinismul malignizării. Utilizarea markerilor citogenetici în scopul identificării acestor gene s-a dovedit deosebit de productivă: multe dintre oncogenele și antioncogenele cunoscute în prezent au fost caracterizate prin donarea regiunilor cromozomiale participante la rearanjările genomice din tumori.

Interpretarea corectă a semnificației modificărilor care se constituie în biomarkeri citogenetici și moleculari ai bolii neoplazice este condiționată de cunoașterea evenimentelor etiopatogenice pe care aceste modificări le exprimă la nivelul celulelor tumorale.

În această ordine de idei medicii de familie, medicii generaliști, pediatri specialiști și oncologii trebuie să cunoască cancererele ereditare. Mai mult decât atât, cunoașterea lor, sperăm, va ridica vigilența lor oncologică și desigur depistarea precoce a acestor maladii.

Sper că monografia prof. univ. Ion Mereuță, prof. univ. Victor Cernat și medicului oncolog-chirurg Ion Voizian își va realiza scopul binedeterminat.

*Gheorhe Țâbârnă,
prof. univ., Acad. al AȘ RM*

CUVÂNT ÎNAINTE A AUTORILOR

Datele obținute prin analiza profilurilor cariotipice ale celor peste 15.000 de neoplasme supuse, până în prezent, investigațiilor citogenetice au demonstrat ca:

(1) Tumorile maligne se caracterizează, în marea lor majoritate, prin existența de anomalii cromozomiale care nu sunt niciodată prezente în țesuturile normale ale organismului purtător al tumorii;

(2) Într-o tumoră, toate celulele neoplazice sunt, obișnuit, purtătoare ale unei aceleiași modificări citogenetice, căreia – în timp – i se pot adăuga și alte modificări, mai complexe și mai ample;

(3) Anomaliile sunt cu atât mai extinse cu cât tumora se află într-un stadiu evolutiv mai avansat;

(4) Aberațiile cromozomiale pot fi diferite chiar în tumori aparținând aceluiași tip histologic, dar ele sunt întotdeauna rezultatul unor rearanjări genomice cert neîntâmplatoare.

Primele două constatări sunt de natură să demonstreze rolul mutațiilor somatice în tumorigeneză. În plus, faptul că toate celulele tumorale conțin, cel puțin în fazele inițiale, modificări cromozomiale identice reprezintă un argument puternic în sprijinul teoretic originii monoclonale a cancerului. Observațiile care dovedesc că tumorile avansate sunt alcătuite din celule prezentând, alături de modificarea

citogenetică primară și alte anomalii cromozomiale sunt relevante pentru modul în care se realizează progresiunea biologică și clinică a cancerului. Potrivit acestor observații, din clona neoplazică inițială emerg continuu subpopulații celulare cu alterări genetice adiționale. Unele dintre aceste subpopulații, dotate cu avantaj selectiv, vor deveni prevalente în masa tumorală, determinând creșterea agresivității și accelerând, astfel, evoluția bolii. Demonstrarea coexistenței în țesutul tumoral a mai multor subpopulații citogenetic diferite oferă explicația pertinentă a fenomenului heterogenității biologice și clinice, care caracterizează neoplasmale aflate în fazele terminale ale dezvoltării. Caracterul neîntâmplător al anomaliilor cariotipice din cancere este rezultatul participării preferențiale la formarea rearanjărilor genomice a anumitor cromozomi sau chiar numai a unor regiuni ale acestora. Constatarea că alterările citogenetice sunt neîntâmplătoare a sugerat că, la nivelul regiunilor implicate în rearanjări, s-ar afla gene cu rol important în tumorigeneză. Prezumția s-a dovedit întemeiată, investigațiile moleculare demonstrând că, în aceste regiuni, își au sediul diferite oncogene și anționcogene.

Sinteza de mai sus a fost operată în scopul evidențierii cât mai pregnante a contribuției pe care citogenetica a avut-o și continuă să o aibă — la elucidarea aspectelor fundamentale ale biologiei cancerului. Caracterul aplicativ al citogeneticii va rezulta din prezentarea biomarkerilor cromozomiali. Înainte de această prezentare, se cer a fi descrise și comentate unele dintre noțiunile de bază ale citogeneticii bolii neoplazice.

Abrevieri folosite în lucrare:

ARN – acid ribonucleic

ADN – acid dezoxiribonucleic

EB – Epstein-Barr

XP – xeroderm pigmentosum

SF – situsurile fragile

GST – gene specifice tumorale

CT – tomografia computerizată

MRI – imaginile rezonanței magnetice

Considerăm oportună necesitatea apariției unei lucrări în această direcție, dat fiind importanța cancerelor ereditare din toate punctele de vedere.

Autorii, 2012

CAPITOLUL I.

FRECVENȚA ABERAȚIILOR CROMOZOMIALE ÎN NEOPLAZII

Informațiile referitoare la aspectele citogenetice ale cancerelor provin în proporție de 80% din investigarea hemopatiilor maligne. Volumul redus al datelor privind tumorile solide se explică atât prin dificultățile de ordin tehnic pe care le întâmpină obținerea preparatelor cromozomiale (rata redusă a proliferării celulelor canceroase, calitatea necorespunzătoare a imaginii celulelor în metafază), cât și prin gradul înalt de complexitate a anomaliilor, datorită căreia stabilirea corectă a cariotipului este adesea imposibilă.

Între profilurile cariotipice ale hemopatiilor maligne și cele ale tumorilor solide nu există, însă, diferențe fundamentale: aceleași categorii de aberații sunt prezente în ambele tipuri de proliferări, deosebirea constând numai în frecvența cu care acestea pot fi evidențiate prin tehnicile curențe, în timp ce examenul citogenetic evidențiază anomalii cromozomiale în 70-90% din leucemii și limfoame, în tumorile solide, proporția rezultatelor pozitive este de numai 50%.

Se consideră că, de fapt, proliferările maligne se asociază, invariabil, cu modificări cromozomiale; o parte dintre acestea scapă observației citologice.

Una dintre cauze o constituie valorile mici ale indicelui mitotic în tumori — consecință a dimensiunilor reduse ale populației proliferante și a duratei lungi a ciclului de diviziune. Indicele mitotic scăzut exclude, de cele mai multe ori, posibilitatea examinării citogenetice directe a tumorilor. Pentru obținerea metafazelor, se recurge la cultivarea țesutului tumoral, dar selecția in vitro a

celulelor stromale normale poate conduce la rezultate fals negative.

O altă cauză este aceea că unele alterări cromozomiale se situează sub limita puterii de rezoluție a tehnicilor microscopice. Metodele uzuale de evidențiere a diferențierii longitudinale a cromozomilor induc, în complementul haploid uman, aproximativ 330 de benzi. Fiecare bandă conține între 0,5 și 1×10^7 perechi de nucleotide, adică între 50 și 100 de gene. Alterările unor segmente ADN cu o lungime inferioară unei benzi, deși extensive în termenii geneticii moleculare, sunt prea mici pentru a putea fi vizualizate la microscopul optic și, ca atare, celula care le poartă apare ca fiind citogenetic normală.

1.1. Clasificarea aberațiilor cromozomiale din neoplazii

În celulele neoplazice, pot fi prezente anomalii cromozomiale numerice și/sau structurale.

Anomaliile numerice sunt rezultatul pierderii sau adăției unor cromozomi.

Devierile în plus sau în minus de la numărul modal de cromozomi (46 la om) Definesc aneuploidia și se datorează de cele mai multe ori nondisjuncției mitotice. Fenomenul nondisjuncției conduce la apariția unei celule monosomice (absența unui cromozom din una dintre cele 23 de perechi) și a unei celule trisomice (prezența unui cromozom suplimentar în perechea respectivă). Nondisjuncția este frecventă în celulele canceroase, deoarece transformarea malignă se asociază cu disfuncționalități ale aparatului mitotic și cu perturbări ale procesului de clivare a centromerilor.

Prezența cromozomilor supranumerari — hiperdiploidia — este caracteristică unor forme de leucemii, iar numere modale mai mici de 46 — hipodiploidia — se întâlnesc mai ales în meningioame. Nondisjuncția nu este singurul mecanism al aneuploidizării: unii

cromozomi supranumerari, a căror origine nu poate fi întotdeauna stabilită, denumiți cromozomi markeri, rezultă, probabil, prin endoreduplicări izolate. Termenul de heteroploidie definește deviațiile numerice în celule cu grade înalte de ploidie (triptoidie, tetraploidie). Manifestă îndeosebi, în cursul evoluției clonale, heteroploidia este rar observată în faza de debut a bolii canceroase.

Aberațiile structurale sunt consecința producerii unor rupturi ale filamentelor cromozomiale, urmata de reunirea capetelor rupte într-o ordine diferită de cea inițială. Există posibilitatea ca reuniunea să nu aibă loc, situație în care fragmentele acentrice se pierd, rezultând deleții terminale. Evenimentul primar în formarea oricărei aberații structurale este, așadar, ruperea cromozomilor. Reunirea ilegală a capetelor rupte conduce la apariția unor configurații cromozomiale aberante, denumite rearanjări sau schimburi. Când cele două rupturi se află pe același cromozom, reunirea aberantă se soldează cu rearanjări numite intracromozomiale. Acestea sunt frecvent întâlnite în celulele canceroase și sunt reprezentate de deleții interstițiale, inversiuni, cromozomi inelari. Rearanjările intercromozomiale rezultă prin interacțiunea rupturilor aflate pe cromozomi diferiți. Cele mai frecvent observate în neoplazii sunt translocațiile.

1.2. Clonalitate și recurență

Caracterul clonal al unei aberații cromozomiale poate fi afirmat în cazul prezenței în eșantionul analizat a cel puțin două celule cu aceeași aberație structurală sau cu aceeași trisomie, sau a cel puțin trei celule cu aceeași monosomie. În funcție de semnificația lor etiopatogenică, anomaliile clonale din neoplazii se clasifică în primare și secundare.

Anomaliile primare sunt reprezentate de alterări structurale sau numerice solitare, detectabile din cele mai timpurii faze ale

bolii neoplazice. Unele dintre acestea se asociază specific cu un anumit tip de proliferare, având, așadar, caracter recurent. Este unanim acceptat ca anomaliile primare au un rol esențial în inițierea procesului neoplazic.

Anomaliile secundare apar în cursul dezvoltării tumorilor, ca o consecință a instabilității genomice care caracterizează celulele neoplazice. Aceste anomalii generează variabilitatea genetică și fenotipică specifică populațiilor celulare tumorale și creează substratul pentru acțiunea selecției naturale. Prin definiție, anomaliile secundare nu pot fi solitare. Totuși, în eventualitatea în care modificarea primară este submicroscopică, aberația secundară poate fi eronat interpretată ca fiind una solitară și, ca urmare, poate fi asociată, de asemenea eronat, unei forme histologice specifice. O astfel de anomalie are o probabilitate redusă de repetare, dar nu este complet lipsită de semnificație biologică și clinică.

Celulele tumorilor aflate în stadii evolutive avansate se caracterizează prin tablouri cariotipice bizare, haotice, necoerente și nerepetabile. Aberațiile sunt multiple și foarte complexe; ele reprezintă „zgomotul citogenetic” și constituie atât expresia instabilității genomice, cât și una dintre cauzele care contribuie la accentuarea acestui fenomen.

1.3. Instabilitatea cromozomială

Menținerea integrității morfofuncționale a cromozomilor reprezintă una dintre condițiile obligatorii pentru desfășurarea normală a activităților celulare. Cromozomii sunt structuri fragile, susceptibile de a fi lezate de o multitudine de agenți exogeni — fizici, chimici și biologici —, precum și de unii produși ai metabolismelor celulare (radicali liberi, monoxid de azot). Agenții clastogeni, acționând asupra materialului cromatinian, provoacă

rupturi ale filamentelor cromozomiale, dar — prin intervenția promptă a unor mecanisme reparatorii integritatea fizică a cromozomilor este, de cele mai multe ori, restabilită rapid și complet (*restitutio ad integrum*). Mecanismele de reparare se află sub controlul unor sisteme genice complexe. Mutația unei singure gene aparținând acestor sisteme poate compromite reușita procesului de reparare. Se instalează, în acest caz, starea de instabilitate, cu acumularea consecutivă a unei mari cantități de leziuni cromozomiale, dintre care unele potențial capabile să se implice în etiopatogenia procesului malign.

Instabilitatea cromozomială poate să se instaleze și ca o consecință a modificărilor mutaționale ale genelor ce guvernează activitatea aparatului mitotic, a cărui funcție este aceea de a asigura segregarea riguros exactă a cromatidelor surori în anafază. Disfuncționalitățile aparatului mitotic au drept urmare generarea continuă de celule cu anomalii ale numărului de cromozomi.

Mutațiile genelor implicate în menținerea stabilității cromozomiale pot fi constituționale sau dobândite.

Mutațiile constituționale (moștenite) se fac răspunzătoare de producerea unor boli — generic numite sindroame de fragilitate cromozomială — care au în comun: tabloul citogenetic dominat de prezența unor leziuni cromozomiale (rupturi, rearanjări), de regulă nesistematizate, repararea defectuoasă a leziunilor ADN și predispoziția la dezvoltarea neoplaziilor maligne. Aceste boli sunt: sindromul Bloom, ataxia-telangiectazia, anemia Fanconi, sindroamele Werner, Nijmegen, Chediak-Higashi, Rothmund-Thomson. Toate sunt condiționate monogenic și se transmit recesiv autosomal.

O altă entitate nosologică - Xeroderma pigmentosum (XP) — se caracterizează, de asemenea, prin defecte ale reparării ADN și predispoziție la cancere (cutanate), dar rata ruperii

cromozomiale spontane apare a fi normală. Instabilitatea cromozomială poate fi însă relevată prin iradierea cu ultraviolete a celulelor XP, cultivate in vitro: răspunsul citogenetic la iradiere al celulelor XP se dovedește a fi mult mai amplu decât cel al celulelor normale.

Instabilității cromozomiale constituționale i s-a atribuit valoare de marker al predispoziției genetice la cancer. Instabilitatea latentă poate fi evidențiată prin expunerea la agenți clastogeni a celulelor cultivate in vitro (limfocite periferice, fibroblaști). Analiza comparativă a răspunsurilor citogenetice ale celulelor prelevate de la subiecții predispuși și de la martori permite, cel puțin în unele situații, diagnosticul susceptibilității. Astfel, în polipoza adenomatoasă familială, afecțiune cu transmitere autozomal dominantă și cu risc total de malignizare, susceptibilitatea poate fi detectată înaintea debutului clinic al bolii. Rezultate pozitive se notează și în alte boli monogenice, autozomal dominante, asociate cu predispoziție la cancer: sindromul neoplaziilor endocrine multiple tipul 2, sindromul nervilor displazici, porokeratoza Minelli.

Instabilitatea cromozomială dobândită caracterizează tumorile aflate în stadii evolutive avansate și se datorează atât mutațiilor care se produc la nivelul genelor de „stabilitate”, cât și scurtării telomerelor.

Regiunile terminale ale cromozomilor — telomerele — sunt alcătuite din secvențe ADN simple, repetate în tandem de 800-3000 de ori, realizând o lungime de 5-15 kb. Fiecare replicare ADN din genomul celulelor somatice se soldează cu pierderea a 50-200 perechi nucleotidice de la nivelul telomerelor, deoarece ADN polimeraza nu reușește să realizeze sinteza integrală a uneia dintre catenele dublului helix. Lungimea telomerelor se reduce progresiv, pe măsura înaintării în vârstă (scurtarea telomerelor devine astfel un marker al senescenței),

iar când este atinsă o anumită limită (aproximativ 1,5 kb), celulele își sistează definitiv proliferarea, după care mor prin apoptoză.

Prin scurtarea telomerelor, capetele cromozomilor devin instabile, coezive, capabile să fuzioneze cu regiunile terminale sau interne ale altor cromozomi. Se formează, astfel, configurații cariotipice aberante, incompatibile cu viața celulei (cromozomi dicentrici, inelari). În cancere, prezența acestor aberații nu conduce obligatoriu la apoptoză ci, dimpotrivă, se poate asocia chiar cu o creștere a potențialului malign.

În succesiunea generațiilor de celule ale liniei germinale, lungimea telomerelor rămâne nemodificată ca urmare a activității unei enzime — telomeraza — care, suplinește incapacitatea ADN polimerazei de a efectua replicarea completa a capetelor cromozomiale.

În marea majoritate a celulelor somatice, expresia genei telomerazei este suprimată încă din stadiile timpurii ale embriogenezei. Momentul are semnificația începerii unei numărători inverse: după 50-80 de dublări, celulele devenite senescente, ca urmare a scurtării telomerelor, părăsesc ireversibil ciclul de diviziune și mor.

De o remarcabilă importanță sunt rezultatele unor cercetări recente, care demonstrează că, în 90% din cancerele avansate, — și doar excepțional în tumori benigne — se produce o reactivare a telomerazei, fapt a cărui consecință o reprezintă dobândirea de către celulele maligne a capacității de a prolifera nelimitat (imortalizare). Descoperirea unui inhibitor al telomerazei sau al genei care o codifica ar putea oferi o soluție terapeutică ideală: indicându-li-se senescența, celulele tumorale ar fi forțate să se autoelimine prin apoptoză.

SITUSURILE FRAGILE (SF) ȘI PREDISPOZIȚIA LA CANCERE. SF transmisibile ereditar sunt zone cromozomiale

care apar citologic sub forma unor lacune necolorabile sau a unor discontinuități ale filamentelor cromozomiale. Amplasarea pe cromozomi a SF este specifică și invariabilă, iar transmiterea la descendenți se face după modul mendelian codominant. Există peste 30 de SF transmisibile ereditar; frecvența acestora este însă redusă (doar 0,2-0,5% din indivizi sunt purtători ai unuia sau mai multor SF). Pe lângă aceste SF rare, pe cromozomi există și alte zone cu fragilitate crescută și care constituie ținta preferențială a agenților clastogeni mezotogici. Numărul acestor zone este mare (peste 100) și, întrucât frecvența lor în populație este înaltă, sunt denumite SF comune.

Argumentele care susțin aserțiunea că SF generează predispoziție la dezvoltarea cancerelor sunt următoarele: (1) localizarea pe cromozomi a unora dintre punctele de rupere implicate în formarea rearanjărilor neîntâmplătoare din cancer coincide cu sediul unor SF; (2) la nivelul unor SF sau în imediata lor vecinătate, se află protooncogene sau antioncogene; (3) la bolnavii cu forme ereditare de cancer, precum și la rudele acestora, frecvența exprimării unor SF rare este mai mare decât în populația generală. Favorizând producerea rearanjărilor cromozomiale, SF pot contribui atât la inițierea, cât și la progresiunea tumorilor, împreună cu instabilitatea genomică, SF asigură emergența neîncetată de noi clone cu diferite variante cariotipice. Asupra acestora va acționa selecția naturală, reținându-le pe cele mai apte să se confrunte cu ostilitatea mediului intern și să depășească constrângerile impuse de mecanismele de supresie a creșterii tumorale.

1.4. Aspecte moleculare ale geneticii bolii neoplazice

NATURA GENETICĂ A CANCERULUI. Cancerul este boala genetică cu cel mai complex mecanism patogenic. Răspunzătoare de dezvoltarea cancerului sunt alertările permanente și transmisibile în succesiunea generațiilor (mutații) ale unor secvențe nucleotidice (gene) din structura moleculelor informaționale ADN.

Faptul că tumorigeneza este consecința unor alterări genetice este cunoscut de multă vreme și a fost sugerat de date morfologice, clinice și experimentale, care au arătat că: (a) în celulele maligne, sunt prezente anomalii numerice și structurale, neîntâmplătoare, ale cromozomilor; (b) unele forme de cancere se transmit ereditar, iar unele sindroame ereditare se asociază cu risc înalt de apariție a cancerului; (c) celulele normale pot fi transformate malign, ca urmare a expunerii la agenți care lezează ADN; (d) numeroase tipuri de viruși pot induce tumori, interferând cu aparatul genetic al celulei gazdă; (e) unele mutații genice sunt inițiatoare ale procesului neoplazic.

Realizarea plenară a fenotipului malign este condiționată de acumularea, într-o aceeași celulă, a mai multor mutații ale unor gene diferite. Acestea, acționând concertat, conduc la dereglări din ce în ce mai profunde ale programelor celulare fundamentale de proliferare și diferențiere.

Cancerul este o boala a celulelor proliferante. Este, deci, firesc ca genele ale căror mutații se dovedesc a fi implicate în tumorigeneză să facă parte din sistemele care, în populațiile celulare normale, asigură menținerea echilibrului dinamic dintre multiplicare și specializarea funcțională. Atât protooncogenele, cât și antioncogenele sunt componente esențiale ale acestor sisteme.

CAPITOLUL II. PATOLOGIA ÎN ONCOLOGIA PEDIATRICĂ

2.1. Perspective istorice

Înainte de apariția terapiei combinate, diagnosticele precise ale cancerelor la copil nu erau în general, nici revelante, nici solicitate. Tumora Wilms era tumora Wilms; nu erau cunoscute subtipuri prognostice, în special, deoarece, efectiv, toți copiii cu aceasta boală mureau. Cu apariția chimioterapiei și iradierii, însă, toate s-au schimbat. Primul grup de studiu național al tumorii Wilms a prezentat anumite tipuri histopatologice nefavorabile; bolnavii cu boală localizată (stadiul I) a căror tumori prezintă caracterele anaplaziei au avut o supraviețuire mai scurtă (cca 5%), decât cei ale căror tumori aveau o înfățișare histologică convențională (supraviețuire mai bine de 90%). Astfel, în primul moment, analiza histopatologică era direct legată de prognosticul în cadrul unui tip de tumoră. Trebuie accentuat că semnificația prognosticului devine evidentă numai cu terapia efectivă; acele tipuri de tumori care prezentau rezistență la tratament erau toate conserate „cu prognostic rău”, iar deosebirile histopatologice rămâneau nerelevante.

Cum regimuri de tratament eficiente s-au dezvoltat pentru o varietate de alte tumori ale copiilor, au reieșit deosebiri de prognostic similare. Rbdomiosarcomul embrional pare a fi mai puțin agresiv și mai docil la tratament decât rbdomiosarcomul alveolar, de exemplu. Osteosarcomul telangiectazic pare mai letal decât formele convenționale. Limfomul limfoblastic pare mai rezistent la tratament decât limfomul Burkitt. Chiar neuroblastomul, pentru care poate fi oferită puțină terapie eficientă dincolo de

operație, pare a fi divizibil, cel puțin, în grupe prognostice „mai bune” și „mai rele”, bazate pe caractere ca indexul mitoză/cariochineză, prezența de focare ale celulelor neuroblastice primitive și model trabecular și fibrilar față de cel difuz.

Dincolo de recunoașterea subtipurilor de tumori pediatrice convenționale, mai mult sau mai puțin agresive, dezvoltarea răspândită a protocoalelor eficiente de tratament, stabilite după tipurile tumorale specifice au necesitat un diagnostic precis chiar și a celei mai primitive forme de cancer al copiilor, așa-numitele tumori ale celulelor albastre rotunde. Răspunsul fiecărei tumori este în general mai bun când bolnavul este tratat potrivit protocolului specific, dezvoltat pentru acea tumoră; pot fi așteptate rezultate dezastruoase în multe cazuri când diagnosticul eronat duce la terapie nepotrivită. Este necesar să se ia în considerare răspunsul diferențiat la tratamentul sarcomului Ewing, neuroblastomului metastatic, limfomului primar al oaselor, pentru a aprecia diferențierea unuia de altul.

CAPITOLUL III.

MORBIDITATEA ȘI MORTALITATEA PRIN BOLI MALIGNE LA COPII

Mortalitatea prin boli maligne la sugar și copil constituie, încă pentru oncopediatri, o mare provocare. Deși se manifestă o tendință îmbucurătoare de scădere a ei, mortalitatea prin boli maligne la copil ocupă un loc important după cea prin accidente, prematuritate și malformații. Pentru o mai bună înțelegere a problemei este strict necesară cunoașterea incidenței bolilor maligne, prognosticului lor sub tratamentul complex aplicat, precum și particularitățile bolii la vârsta sugarului.

3.1. Incidența bolilor maligne

Incidența bolilor maligne la copil în Europa Centrală nu a crescut în ultimele decenii. Aceasta se constată în toate regiunile cu excepția celor învecinate reactoarelor nucleare, care au prezentat accidente, ca de exemplu Cernobâl, unde se semnalează o creștere semnificativă a tumorilor tiroidiene și limfoamelor non-Hodgkiniene.

În Europa de vest și în SUA incidența bolilor maligne până la vârsta de 15 ani este de 12-14 bolnavi la 100.000 de copii pe an. Aceasta corespunde unei rate de noi boli maligne de 1.800 de copii în Germania și de 150-180 de copii în Austria (Kaatsch et. al. 1994, Pizzo u. Poplack 1989, Gutjahr 1993). Dacă se iau în considerație și adolescenții până la 18 ani ca aparținând pediatriei, în Austria apar anual circa 200 de noi cazuri de boli maligne pe an.

Incidența mică se atestă în China — 10,4% pentru băieți și 8,9% pentru fete. În Cuba incidența prin tumori maligne la copii

ajunge 10,9‰ pentru băieți și 8,1‰ pentru fete, pentru populația de până la 15 ani.

În Moscova Cancer-Registrul pentru copii funcționează din anul 1977. după datele Cancer-Registrului incidența prin cancer la copii era în parametrii 12,0—16,7‰, însă datele literaturii atestau 6,8—8,0‰.

În structura morbidității hemoblastozele alcătuiau 47,8%, tumorile SNC — 19,9%, rinichiului 8,0%, tumorile țesuturilor moi și oaselor 7,2%, ochiului — 3,5% etc.

În anul 1992 indicele mortalității la băieți a alcătuit 13,4, la fete 9,2. În anul 1980 a fost fondat și Cancer-Registrul pentru copii în Sanct-Peterburg. Indicele mortalității era atestat la 13,9—22,9‰ pentru băieți și 12,3—15,5‰ pentru fetițe.

Asistența oncologică specializată la copii în ex-URSS a fost organizată în anul 1960 (Moscova, Sanct-Petersburg). În aceste secții specializate la nivel unional, se acordă asistență medicală oncologică specializată la copii din toate republicile sovietice inclusiv și RM.

În Republica Moldova incidența tumorilor maligne la copii este 8,7 la 100.000 populație prematură (incidența tumorilor benigne și maligne este 23,4 la 100.000 populație) (autorii L. Rusu, E. Druguș).

În structura morbidității prin tumori maligne la copii în Rusia hemoblastozele ocupă 48,46%, tumorile solide — 51,46%. În Republica Moldova respectiv hemoblastozele — 34,1%, tumorile solide — 65,9%.

În Moldova în structura cauzelor mortalității prin tumori maligne la populația prematură locul I îl ocupă tumorile organelor hemopoetice și sistemului limfoid (53,5%), apoi tumorile creierului și oaselor (14,0%), neuroblastome (7,4—8,0%) (autorii I. Mereuță, E. Tcacenco, 2000).

Secția de oncopediatrie în cadrul IOM a fost constituită prin ordinul Ministerului Sănătății din XII 1989, iar în februarie 1991 s-a deschis secția de hematologie pentru copii.

În policlinica oncologică a IOM cu cabinetul consultativ oncopediatic activează medicul oncopediatru-hematolog (în secția de hematologie de copii sunt în funcție 40 paturi, colaborează 5 medici – șeful secției, colaborator științific și 3 medici hematologi).

Secția de oncopediatrie activează cu 40 paturi, colaborează 5 medici – șeful secției, 3 medici chirurghi, și un medic pediatru.

Organizarea serviciului oncopediatic a creat condiții pentru precizarea indicilor morbidității și dinamicii ei.

Nici spectrul bolilor maligne nu s-a modificat în ultimele decenii, în raportul anual al registrului german de boli maligne la copii (Kaatsch et. al. 1994, Mainz) se evidențiază că leucemiile reprezintă 34,3% din cazuri, fiind urmate de tumorile de SNC (16,5%), limfoame (11,4%), tumorile sistemului nervos simpatic (neuroblastoame - 7,6%), tumori de țesuturi moi (mai ales rhabdomyosarcoame - 6,6%), nefroblastoame (6,4%), tumori osoase (5,1%), tumori de celule germinale (3,9%), neopiazii reticuloendoteliale (3,4%) și alte boli maligne (4,3%). Interesant este de semnalat faptul că incidența bolilor maligne la copil are o specificitate semnificativa legată de vârstă și sex. Băieții se îmbolnăvesc în toate categoriile de boli maligne mai des decât fetele (în medie 56,7% față de 43,3%). Cea mai mare rată de noi cazuri se întâlnește la sugar și scade constant în primii 5 ani până la un nivel ulterior relativ constant (Kaatsch et. al., 1994). La aceasta se adaugă faptul că aproape jumătate din toate bolile maligne de la copil se diagnostichează înaintea sfârșitului celui de-al 5-lea an de viață. Aceasta corespunde unei incidențe de 22 de cazuri noi la 100.000 de copii pe an la sugar, față de 18,5

la vârsta 1-4 ani, 9,9 la vârsta de 5-9 ani și 9,5 la grupa de vârstă 10-14 ani (Gutjahr, 1993).

REZUMAT ȘI PERSPECTIVE

Diagnosticul de cancer și-a pierdut în ultimele decenii din frica ce o inspira, datorita posibilităților terapeutice moderne. Majoritatea copiilor bolnavi de cancer sunt astăzi vindecabili. Totuși conceptele terapeutice intensive, frecvent multimodale determină o morbiditate înaltă ce poate conduce la deces. De aceea o condiție esențială a activității noastre o constituie cunoașterea temeinică a posibilelor reacții adverse precum și a consecințelor lor, determinate de tratamentul instituit. Numai în cazul cunoașterii efectelor secundare asociat unui anumit concept terapeutic se poate practica o prevenție efectivă.

Aceasta presupune de la început a avea resursele disponibile pentru o profilaxie eficientă. Terapia de susținere (cu produse din sânge, antibiotice, medicamente antimicotice, antibacteriene și antivirale, imunoglobuline, eventual decontaminare orală, susținere psihosocială) constituie în oncologia pediatrică o componentă esențială a terapiei (și profilaxiei), fiind asociată cu posibilitățile spațiale adecvate și cu păstrarea strictă a standardelor igienice. O rată de succes acceptabilă este de așteptat numai atunci, când se reușește ca personalul de îngrijire și părinții, care sunt implicați din ce în ce mai mult în îngrijirea copilului să fie instruiți rapid și corespunzător. Dacă aceste condiții se introduc și mențin cu consecvență, se va reuși în curând să se alcătuiască o echipă structurată armonios (în domeniul oncologic), care poate susține bolnavul și aparținătorii pe căi multiple. Acest lucru este cerut de șansele de supraviețuire și calitatea vieții pacientului și dă echipei ce îngrijește copilul puterea necesară și motivarea de a merge înainte pe acest drum atât de dificil dar și plin de satisfacție.

CAPITOLUL IV

ASPECTE GENETICE

ASUPRA TUMORILOR LA COPII

În ultimii ani, au fost descoperite peste 10 gene specifice, ce pot fi încadrate în categoria GST și care pot fi implicate în etiologia unui mare număr de cancere epiteliale și limfohematopoetice care pot apare fie ereditar, fie sporadic.

Mai jos, se vor prezenta unele gene care, fiind alterate, structural și funcțional, fie prin defecte moștenite (mutații sau deleții în celulele germinale) fie prin acțiunea agenților oncogeni exogeni, sunt responsabile la predispoziția și inițierea procesului de cancerogeneză, ce poate apare într-un tip celular specific din orice țesut sau organ. Deoarece, în cele mai dese cazuri, s-a observat că predispoziția la cancer are la bază o alterare genetică la nivelul genelor supresoare (anti-oncogene), care prin celule germinale pot fi transmise la urmași.

4.1. Considerații genetice asupra tumorii Wilms

Tumora Wilms, numită și nefroblastom își are originea în țesutul renal ce se dezvoltă din blastemul metanefrogen.

La naștere, blastemul este dispărut în cea mai mare parte. La mulți pacienți însă cu tumoră Wilms, el poate fi găsit. Existența acestui blastem proliferativ poate fi apreciată ca un posibil substrat pentru o dezvoltare ulterioară a tumorii.

Beckwith (1978) aprecia tumora Wilms ca neoplasm renal embrionar în care sunt prezente celule de tip blastic, stromal și epitelial. După Machin (1980), elementele blastice sau nefroblastomatoza ar constitui precursorii tumorii Wilms.

Pochedly (1981) apreciază că dezvoltarea oncogenezei ar avea loc prin hamartoame care ar da naștere unor tumori blastemice și care, prin îngrămădire și unire ar forma o tumoră Wilms ce ar conține, în proporții variate, cele trei tipuri celulare. În 1985, același Beckwith arată că tumora Wilms se dezvoltă din elemente blastice, în timp ce nefroamele mezoblastice se dezvoltă din celule de tip stromal, iar celulele renale carcinomatoase ar rezulta din celulele epiteliale.

Tumora Wilms este, în numeroase cazuri, găsită împreună cu alte malformații congenitale, element semnalat de foarte mulți autori și confirmat prin studii recente și semnificative. Nakissa și colaboratorii (1985, Japonia) arată că anomaliile congenitale apar în 58% din cazurile cu tumoră Wilms, iar un studiu olandez a raportat 38,1% anomalii ale tractului genito-urinar la un număr de 133 pacienți cu tumoră Wilms, făcându-se o comparație între incidența fiecărei malformații detectate la grupuri de pacienți și populația normală. O parte a acestor anomalii pare a fi legată în mod specific de nefroblastom. Altă explicație: s-a sugerat faptul că aceste defecte prezintă aceleași afecțiuni embriologice (Smeets și colaboratorii, 1989). Această ipoteză este sprijinită de faptul că, în tumora Wilms, s-a observat o incidență mult crescută a unor malformații ca aniridia, hemihipertrofia și o serie de malformații renale genito-urinare. Sunt prezentate astfel statistici ale lui Lemerle (1976), Pendergrass (1976), Pastore (1989), cu o incidență de 0,97% pentru aniridie, 2,40% pentru hemihipertrofie și 4,70% pentru anomaliile genito-urinare.

Există cazuri de tumori Wilms care au apărut la gemeni monoziгоți (Maurer și colaboratorii, 1979); uneori tumora Wilms a fost găsită numai la unul dintre copiii, acesta neavând nici una din malformațiile prezentate. În alte cazuri, aniridia împreună cu retardarea psihomotorie au apărut la ambii copii dar tumora Wilms

a fost găsită numai la unul dintre ei. Aceste observații au fost corelate cu modelul celor două mutații propus de Knudson și Strong (1972), presupunându-se că gemenii au amândoi o genă predispozantă pentru tumora Wilms. Al doilea eveniment mutațional necesar pentru dezvoltarea tumorii a apărut doar la unul dintre ei. Observația că anumite malformații sunt asociate cu tumora Wilms indică faptul că există forme ereditare și sporadice ale tumorii.

Creșterea ratei supraviețuitorilor va crește și nivelul posibilității observațiilor în ceea ce privește modelele genetice de moștenire a tumorii Wilms și a malformațiilor asociate. Brodeur (1984) arată că, în aniridia sporadică, 33% din pacienți vor dezvolta tumora Wilms și, dintre acestea, doar 5% sunt bilaterale. Combinația între o frecvență înaltă a bilateralității și apariția tumorii Wilms la o vârstă mai fragedă la pacienții cu o aniridie sporadică, dezvoltă ipoteza că aniridia și tumora Wilms sunt legate printr-o mutație genetică transmisibilă (Mesrobian, 1988). Asocierea aniridie - tumora Wilms a devenit un sindrom clinic bine cunoscut cu un număr de peste 50 de pacienți raportați până în 1978, când o mică deleție interstițială abenzii 11 p13 a fost demonstrată ca fiind cauza genetică a malformațiilor (Riccardi 1978). Faptul că nu toți copiii cu deleție a perechii 11 p13 dezvoltă o tumoră Wilms, demonstrează că mai sunt necesare și alte mutații genetice adiționale pentru ajungerea la un fenotip malign (Mannens 1988) sau că există diferențe infimize în mărimea deleției (Slater 1986). În general, etiologia dezvoltării tumorii Wilms rămâne încă neclară.

Despre asocierea aniridiei cu heinhipertrofia și tumora Wilms, încă din 1964 Miller arată că fracția care cauzează o mutație moștenită este mică, iar Breslow (1982) preciza că aniridia și tumora Wilms constituie o asociere de tip sporadic și nu de tip

ereditar. Traumeni puna în discuție evidența citogenetică a înlăturării brațului scurt al cromozomului 11. Riccardi și Evers arătau că nimeni nu a evidențiat o asocierie permanentă între tumoră și un antigen HLA. Se pare că acei copii cu tumoră Wilms și aniridie prezintă o incidență crescută a formelor bilaterale dacă tumora se dezvoltă la o vârstă cât mai mică. În ceea ce privește copiii cu tumoră Wilms asociată cu hemihipertrofie, nu ar exista o incidență crescută a bilateralității în legătură cu vârsta apariției tumorii.

Pendergrass presupunea că și alte malformații asociate pot duce la o creștere a apariției tumorii Wilms la copil. Referitor la modul de apariție al unei tumori Wilms, Matsunaga (1981) considera că există două posibilități, și anume una ereditară și una non-ereditară. Față de Knudson, în legătură cu teoria sa și considerentele că pot apare tumori în două trepte, Bolande (1983) amintește și de existența în organism a unui sistem de rezistență vis-a-vis de tumora Wilms. Cercetările lui Kocs, ca și cele ale lui Maurer și colaboratorii, ale lui Riccardi care s-au ocupat de rolul factori lor genetici în etiologia tumorii Wilms, s-au concentrat asupra cariotipurilor copiilor cu această tumoră. Kocs ajunge la concluzia că majoritatea acestor copii ar avea numai cariotipuri hiploide sau hiperploide. Legat de aspectul că tumora Wilms poate apare fie printr-o linie ereditară, fie pe una neereditară sporadică, prima fiind legată de o mutație germinală legată de o mutație somatică, iar cea de a doua ca rezultat al mutațiilor somatice succesive, în literatura de specialitate se spune că formele ereditare (familiale) ar reprezenta cel puțin 1/3 din totalul cazurilor acestei tumori și că ele ar fi caracteristice unei perioade mai precoce de viață în care se pune diagnosticul și într-o frecvență mai mare a formelor bilaterale ale tumorii. Au existat păreri ca ale lui Durand-Reynolds care au sugerat acțiunea

unui virus nefritogen în apariția tumorii, considerații care necesită în continuare studii amănunțite.

Unele modificări particulare din genomul uman sunt corelate cu dezvoltarea unor tipuri de cancer la copii. Cercetările din ultimii ani s-au concentrat în special asupra elucidării evenimentelor genetice din retinoblastom, neuroblastom și tumora Wilms (D.A. Haber și D.E. Housman 1991, J. Henry și colab. 1993, I.S. Bogan și D.C. Page 1994).

Genetica moleculară a demonstrat că tumorile maligne sunt condiționate de gene specifice, definite oncogene (gr. oncos = tumoră) care au fost găsite în genomul uman și al altor specii. O parte dintre oncogene (V-ONC) au fost izolate de la retrovirusuri, sugerând capacitatea acestora de a induce tumori. Componentele celulare din genomul uman (C-ONC) ale oncogenelor virale sunt definite protooncogene (gr. protos = precursor + oncos = tumoră).

Produceții acestor gene sunt sintetizați în cantități reduse și controlează etape esențiale ale metabolismului celular și ale diviziunii celulare. Aceștia constau din factori de creștere, proteine receptoare, protein-kinaze, proteine implicate în transferul informațiilor din mediul extracelular în mediul intracelular și factori de transcripție.

A doua clasă de gene canceroase sunt definite gene supresoare (engl. TSG = tumor suppresor gene), sau antioncogene datorită efectului lor antioncogenic în prezența unei alele normale.

Genele supresoare codifică proteine cu rol esențial în creșterea și proliferarea celulară, în reglarea ciclului celular și factori transcripționali. Aceste gene sunt implicate în mai multe tipuri de tumori: retinoblastom, tumora Wilms, osteosarcom, neuroblastom, carcinom colo-rectal, neoplazii endocrine etc.

4.2. Contribuții și cercetări clinico-genetice în tumora Wilms la copil

Din cele 104 cazuri de tumoră Wilms existente în cadrul studiului multicentric la Institutul Oncologic din Moldova, noi am întâlnit următoarele malformații asociate:

- hemihipertrofie corporeală - 1 caz,
 - aniridie - 1 caz,
 - glaucom congenital - 1 caz,
 - ptoză palpebrală - 2 cazuri,
 - malformații reno-ureterale - 6 cazuri,
- constând în:

- „rinichi în potcoavă“ - 5 cazuri,
- rinichi dublu - 2 cazuri,
- bazinet dublu - 1 caz,
- ureter dublu - 1 caz.
- Alte malformații întâlnite au fost - 8 cazuri:
 - criptorhidie - 2 cazuri,
 - ectopie testiculară - 3 cazuri,
 - hipospadias - 3 cazuri.

Total = 16 cazuri

Menționăm faptul că, într-un caz, am întâlnit asocierea de rinichi „în potcoavă“ cu hidrocefalia, consecință a unei cranio-stenoze, iar, într-un alt caz, o asociere între hipospadias cu un rinichi stâng dublu.

Glaucomul congenital se asociază frecvent și cu alte malformații ca: „buza de iepure“ sau „gura de lup“, surdomutitate, ihtioza, polidactilia, hidrocefalia, arahno-dactilia etc.

Asocierea glaucomului congenital cu malformațiile renale este mai puțin frecventă, cunoscând faptul că aniridia este cea care se asociază mai frecvent, dintre afecțiunile oftalmologice, cu tumora Wilms.

CAPITOLUL V.

LIMFOAMELE MALIGNNE

Deși primele studii referitoare la constituția cromozomială a limfoamelor maligne au apărut cu 13 ani în urmă, numărul cazurilor examinate este încă redus, din cauza unor dificultăți tehnice considerabile, încadrarea histopatologică a cazurilor este de asemenea dificilă. Publicațiile recente asupra limfoamelor maligne utilizează clasificarea lui Rappaport. Majoritatea lucrărilor mai vechi se bazează însă pe alte clasificări și intrucât detaliile histopatologice sînt adesea insuficiente pentru a permite reclasificarea cazurilor, vom încadra datele existente în următoarele categorii: limfoame giganto-foliculare (boala Brill-Symmers); limfosarcoame; reticulosarcoame; boala Hodgkin; limfoame de origine extraganglionară (micoza fungoidă, sindromul Sezary); limfomul african (tumora Burkitt).

5.1. Limfomul giganto-folicular

Spiers și Baikie au studiat 6 cazuri. În primul caz au fost evidențiate două linii celulare, una cu 47 de cromozomi (supranumerarul fiind un acrocentric mic) și una cu 48 de cromozomi și doi supranumerari (un acrocentric mic și un cromozom din grupa C). Majoritatea celulelor din cel de al doilea caz aveau 47 de cromozomi; supranumerarul era un acrocentric care a fost interpretat ca un cromozom nr. 17—18 cu brațele scurte deletate. Aproape toate mitozele cazului 3 erau tetraploide, fără să se evidențieze cromozomi anormali, în cazul 4 au fost observate două linii celulare: una minoră cu 46 de cromozomi și una majoră cu 48 de cromozomi, supranumerarii aparținînd grupei C. Cazul 5 a fost caracterizat printr-o distribuție largă a numărului

de cromozomi. În cazul al 6-lea s-a putut număra o singură mitoză cu 91 de cromozomi; cariotipul nu era însă cel a unei celule tetraploide adevărate.

Într-un caz de limfom giganto-folicular, Miles a observat o mitoză cu 48 de cromozomi.

5.2. *Limfosarcoamele*

Tjio și colab. au observat existența unor celule pseudodiploide în măduva osoasă și ganglionii unui pacient cu limfosarcom: lipsea câte un cromozom din grupele C și D, care erau înlocuiți cu doi markeri (un acrocentric lung și un metacentric de talia cromozomilor A3).

Spiers și Baikie au studiat 5 cazuri. În primul caz, majoritatea celulelor au fost diploide; 15% din celule au prezentat un fragment centric adițional, în cazul 2 s-a evidențiat un submetacentric lung și un metacentric de talia cromozomilor din grupa C, alături de prezența unor modificări numerice, în cazul 3, o mare parte a celulelor au fost hipodiploide, cu pierderi mai ales în grupele F și G. Cazul 4 a prezentat variații numerice între hipodiploidie și hiperdiploidie, iar în cazul al 5-lea, metafazele au fost diploide sau hipodiploide, fără anomalii semnificative.

Berger și Parmentier au examinat două cazuri. În primul caz, remanierele cromozomiale interesau un cromozom din grupa D (Dq+ și Dq-). În al doilea caz s-a evidențiat o clonă anormală cu 47 de cromozomi; supranumerarul a fost interpretat ca un E16, dar s-a menționat și posibilitatea ca el să fie un cromozom C anormal.

Adam și colab. au constatat un număr modal de 48, supranumerarii fiind încadrați în grupa C; unul din cromozomii grupei G era deletat, fiind asemănător cu un cromozom Ph1.

Examinînd o linie celulară derivată in vitro dintr-un limfosarcom, Suarez și colab. observă o poliploidie înaltă. Doi

markeri rețin atenția: un acrocentric lung și un cromozom nr. 10 cu constricții secundare terminale pe brațele lungi.

Un număr mai mare de cazuri — 11 — au fost publicate de Coutinho și colab. Două cazuri au fost alcătuite din celule normale sau hipodiploide, ultimele reprezentând probabil artefacte tehnice. În celelalte cazuri au fost evidențiate clone maligne (peridiploide sau pseudodiploide), pe lângă un număr variabil de celule cu cariotip normal. Deși fiecare tumoare prezenta o linie celulară specifică, au fost observate câteva anomalii comune mai multor cazuri: monosomia cromozomului nr. 1 (3 cazuri), trisomia cromozomului nr. 3 (4 cazuri), cromozomi suplimentari în grupa E (6 cazuri). Morfologia cromozomilor markeri a fost variabilă, dar cromozomii acrocentrici lungi au fost observați ceva mai frecvent decât cromozomii submetacentrici și subtelo-centrici lungi.

Numărul cercetărilor care au utilizat tehnici de bandare a cromozomilor este încă redus. Fleischmann și colab. au publicat un caz care prezenta următoarele particularități referitoare la proporția cromozomilor normali: creșterea numerică a cromozomilor nr. 3 și nr. 7; scăderea numerică a cromozomilor nr. 4, 6, 9, 17, 18, 19 și deleția unui cromozom nr. 1. Originea unor cromozomi markeri nu o putut fi stabilită.

Reeves a analizat 4 cazuri. Anomaliile comune tuturor celulelor examinate în primul caz au constat în pierderea unui cromozom nr. 1, translocația de material pe brațul lung al unui cromozom nr. 3, deleția brațului lung al unui cromozom nr. 9 și trisomia cromozomilor nr. 14 și 17. În cazul 2 a fost observată prezența unui cromozom suplimentar nr. 1, ale cărui brațe scurte și lungi erau deletate; unul din cromozomii nr. 14 prezenta o bandă suplimentară pe brațul lung (14q+). În cazul 3 predomina o populație celulară hipotetraploidă. În plus față de modificările numerice, au fost observate anomalii structurale, a căror origine

a fost parțial stabilită. În cazul 4 au fost prezente doua sublinii înrudite. Linia minoră a fosî caracterizată prin deleția terminală a unui cromozom nr. 1 și prezența a 4 markeri. În celulele celei de a doua sublinii s-au observat deleția terminală a unui cromozom nr. 9 și prezența a doi cromozomi markeri.

5.3. *Reticulosarcoame*

Sasaki și colab. au studiat doua cazuri. Primul caz prezenta o constituție pseudodiploidă, un cromozom din perechea A2 și unul din grupa C fiind înlocuiți prin doi markeri submetacentrici lungi. Al doilea caz a fost caracterizat prin prezența unui număr remarcabil de markeri: un submetacentric de mărimea cromozomilor C8-10, doi acrocentrici lungi, un metacentric de dimensiuni mai mari decât cromozomii grupei F și un metacentric ceva mai mic decât cromozomii grupei C. O particularitate interesantă o constituie faptul ca anomaliile descrise au fost înfîlnite, în primul caz, atât în celulele din exsudatul ascitic, cit și în culturile de sânge, iar în al doilea caz au fost prezente în măduva osoasa și în culturile de sânge periferic. Tjio și colab., care au observat modificări cromozomiale identice în măduva osoasă și în ganglionii limfatici ai unui pacient, presupun că procesul neoplazic ar interesa simultan celulele din seria limfocitară și mieloidă. După Sandberg și colab., celulele cu anomalii cromozomiale provenite din măduva osoasă a pacienților ar reprezenta celule metastatice originale din țesutul tumoral ganglionar. O interpretare similară i se datorește lui Obara și colab., care au evidențiat prezența a 4 linii celulare în 3 țesuturi hematopoietice diferite ale unui pacient cu reticulosarcom (o linie în ganglioni, una în sângele periferic și două în măduva osoasă). Originea monaclonală a celor patru linii a fost recunoscută pe baza unor anomalii cromozomiale comune (trisomia cromozomilor E 16, E 17 și E 18, pierderea unui cromozom A1,

a doi cromozomi F și a 2—4 cromozomi C). Cei patru cromozomi markeri (doi submetacentrici lungi de tipuri diferite, un acrocentric lung și doi cromozomi inelari) au apărut însă în combinații caracteristice pentru fiecare linie. Autorii au sugerat că linia originală a apărut în ganglionul limfatic. Descendentele acestor celule au dat naștere unei linii care s-a adaptat mediului sanguin. Apariția unor mutații consecutive ar fi permis constituirea liniilor medulare.

Spiers și Baikie prezintă rezultatele unui studiu referitor la 5 cazuri. În primul caz, aproape toate metafazele erau hipotetraploide, cu un număr modal de 88. Se observă pierderi cromozomiale semnificative în grupa 17—18 și în grupele D și G. În cazul 2, aproape toate mitozele erau peritetraploide. În cazul 3, toate mitozele au fost hipadiploide, fără interesarea constantă a anumitor cromozomi. În cazul 4 au fost numărate trei celule, având 46, 51 și 58 cromozomi; s-au observat mai multe mitoze poliploide cu microcromozomi. Cazul 5 a prezentat un număr modal de 44; au fost observate, constant, constricții secundare accentuate ale cromozomilor 1, 9, și 17.

Alte 5 cazuri au fost examinate de Miles. Într-un caz au fost observate numai celule diploide; prezența unor celule diploide a mai fost notată în alte trei cazuri, alături de celule anormale, în două cazuri, câte un cromozom din perechea nr. 1 era înlocuit cu un marker submetacentric lung. Unul din cazuri prezenta constricții secundare accentuate ale cromozomilor nr. 9; această anomalie fusese remarcată într-o publicație anterioară a aceluiași autor.

Într-un caz de reticulosarcom, Kajii și colab. constată înlocuirea unui cromozom nr. 3 cu un marker lung submetacentric, celulele având astfel un aspect pseudodiploid; mai puțin constantă a fost deleția brațelor scurte ale unui cromozom nr. 17—18, o creștere a dimensiunii brațului lung al unui cromozom B și pierderea

cromozomului Y. În splina unui pacient cu reticuloendoteliioză leucemică, Yam și Castoldi (61) observă un cromozom anormal în grupa A, cromozomi suplimentari în grupa C și monosomie G.

Ponti și colab. și Wisniewski și Korsak nu observă prezența unor anomalii în măduva osoasă și în culturile de sânge periferic ale unor pacienți cu reticulosarcom. Bauke și Schoffling constată un număr modal de 104—106 și prezența a doi cromozomi markeri în celulele medulare ale unui pacient cu reticuloză malignă.

În toate cazurile studiate de Coutinho și colab. a fost observată prezența unor linii constituite din celule cu cariotip normal, alături de clone cu modificări cromozomiale. În cazul 1 au fost evidențiate două clone anormale: una pseudodiploidă (în care doi cromozomi din grupa G erau înlocuiți cu doi markeri) și una hiperdiploidă, cu 51 de cromozomi. Celulele cazului 2 au avut ca element comun prezența unui cromozom suplimentar în grupa C, celelalte variații fiind inconstante. În cazul 3, clona dominantă prezenta un cromozom Y suplimentar.

Wisniewski și colab. au aplicat o tehnică de bandare Giemsa în 4 cazuri. În primul caz a fost evidențiată o clonă hiperdiploidă cu 47 de cromozomi, datorită prezenței unui cromozom suplimentar C8. Clona anormală evidențiată în cazul 2 prezenta 47—50 de cromozomi, cu cromozomi suplimentari în grupele C, E și G și doi cromozomi markeri (un submetacentric mare și un cromozom inelar). În cazul 3 au fost observate numai celule normale. În sfârșit, în cazul 4 a fost observată o clonă pseudodiploidă cu doi cromozomi markeri metacentrici.

5.4. *Boala Hodgkin*

Spriggs și Boddington au observat hipotetraploidie (număr modal: 83 de cromozomi) și un marker lung telocentric în celulele obținute dintr-un ganglion limfatic. Baker și Atkin au studiat două cazuri: primul prezenta o linie diploidă și una triploidă (70—75 de cromozomi); în al doilea caz s-a evidențiat o linie diploidă și una hiperdiploidă cu 48-49 de cromozomi. Ricci și colab. au individualizat două linii celulare deosebite și au observat un izocromozom pentru brațele lungi ale unui cromozom 17—18.

Spiers și Baikie au examinat 6 cazuri, în două dintre ele nu s-au observat anomalii cromozomiale. În toate celelalte cazuri exista o proporție variabilă (57—76%) de celule normale. În două cazuri s-a observat deleția brațelor scurte ale cromozomilor 17—18. Procentul de celule aneuploide a fost variabil, dar în general nu prea ridicat; două cazuri au prezentat 12 și respectiv 8% celule hiperdiploide; în al treilea caz, 11% din mitoze au fost hipertriploide, iar în al patrulea caz 6% din mitoze prezentau 51—100 de cromozomi.

Miles și colab. au studiat 5 cazuri. Într-un caz s-au obținut numai celule normale, iar în alt caz numai celule heteroploide. În celelalte trei cazuri au coexistat două linii celulare, una diploidă și una peritriploidă sau hipotetraploidă. În patru din aceste cazuri s-au observat constricții secundare accentuate ale cromozomilor C9. Frecvența crescută a constricțiilor secundare pe cromozomul nr. 9, precum și exagerarea acestor constricții a fost notată și de Lawler în culturile de sânge periferic de la bolnavii cu boala Hodgkin.

Seif și Spriggs au studiat 7 cazuri. Un caz a prezentat numai celule diploide, iar în altul s-a numărat o singură celulă care avea 48 de cromozomi. În celelalte cazuri s-au individualizat două linii celulare, una normală, iar cealaltă triploidă — hipotetraploidă.

Două cazuri au prezentat cromozomi markeri, iar într-un caz s-a notat deleția probabilă a brațelor scurte ale unui cromozom nr. 18.

Coutinho și colab. au examinat 14 cazuri. În 5 cazuri au fost observate numai celule normale. Ceilalți pacienți au prezentat, alături de celulele normale, clone anormale ale căror celule aveau numere de cromozomi situate în regiunea hipotriploidă — hipotetraploidă și prezentau diferiți cromozomi markeri (submetacentrici, subtelocentrici și acrocentrici lungi, dicentrici și cromozomi inelari, cromozomi „minute”).

În unul din cazurile pe care le-am examinat am constatat prezența a trei linii celulare: o linie hipotriploidă care prezenta doi cromozomi markeri (un submetacentric și un acrocentric lung), o linie diploidă și o linie pseudodiploidă (46, XX, —C, +D). Prima clasă este reprezentată probabil de celulele Hodgkin, iar a doua de celulele limfoide normale. Am sugerat că metafazele pseudodiploide (care prezintă o constituție cromozomială sugerînd o origine clonală) ar putea deriva dintr-o populație de limfocite neoplazice. Este posibil ca și celule aparent diploide să fie neopiazice. În acest caz, celulele pseudodiploide sau hiperdiploide ar putea reprezenta rezultatul unei evoluții clonale, similare procesului observat frecvent în leucemia granulocitară cronică. Unul din cazurile examinate recent de Wisniewski și colab., care prezenta 4 linii celulare (diploidă, pseudodiploidă, hiperdiploidă și hipotetraploidă), pare să confirme această ipoteză.

În studiul lui Reeves au fost incluși 3 pacienți. În primul caz, majoritatea celulelor aveau 81 de cromozomi. Anomaliile structurale comune mai multor celule au constat în prezența unui cromozom 14q+ și a doi metacentrici mici, reprezentînd izocromozomi pentru brațele lungi și respectiv scurte ale unui cromozom nr. 18; unul din cromozomii perechii nr. 6 prezenta o deleție a brațului lung (6q—). În cazul 2 a fost observat un

cromozom anormal, interpretat ca rezultatul unei translocății între cromozomii 3 și 11. În cazul 3, majoritatea mitozelor aparțineau unei populații celulare anormale cu 61—80 de cromozomi.

Deși datele referitoare la limfoamele maligne sînt fragmentare, iar multe din rezultatele obținute cu ajutorul tehnicilor clasice de colorație vor trebui reconsiderate, se pot face totuși cîteva generalizări:

a) Există o diferență netă între distribuția numerelor de cromozomi în boala Hodgkin și în celelalte limfoame maligne. Majoritatea cazurilor de boala Hodgkin prezintă numere modale peritriploide (57—90 de cromozomi), în timp ce limfosarcoamele și majoritatea reticulosarcoamelor au de obicei numere modale hipodiploide-hiperdiploide (44-55 de cromozomi). Numai o treime din cazurile de reticulosarcoame incluse în statistica lui Reeves au prezentat numere modale poliploide.

b) În limfo- și reticulosarcoame, dar mai ales în boala Hodgkin, a fost observată prezența unui număr semnificativ de metafaze diploide. Majoritatea lor ar putea aparține celulelor limfoide sau plasmatic, reprezentînd o reacție imună. Este însă posibil ca o parte din ele să reprezinte limfocite neoplazice. Din această populație de limfocite neoplazice ar rezulta, printr-un proces de evoluție clonală, celulele pseudo- și peridiploide, precum și celulele penteraploide în cazul bolii Hodgkin.

c) Există dovezi care sugerează originea unifocală și monoclonală a tuturor leziunilor ganglionare, precum și a celor din teritoriul extraganglionar.

d) Cromozomii E17-18 sînt adesea implicați în rearanjamente structurale sau sînt pierduți din celule. Statistica lui Reeves menționează 14 cazuri în care unul din cromozomii nr. 17 sau 18 prezenta o deleție a brațelor scurte sau lungi. Fleischmann și colab., care au analizat distribuția cromozomilor

in grupe, constată că din 36 de tumori asupra cărora se publicaseră suficiente detalii, cromozomii 17—18 au făcut obiectul unor pierderi în 12 cazuri, un singur caz prezentînd cromozomi suplimentari în această grupă.

e) Un număr mare de cazuri au prezentat constricții accentuate ale cromozomilor C9 (24, 29, 31). Uneori ele se asociază cu modificări sugestive pentru o origine virală.

5.5. Limfoame de origine extraganglionară

Micoza fungoidă este o varietate de limfom malign care afectează cu precădere pielea. Individualitatea sa este discutabilă și mulți autori o consideră drept o manifestare secundară în cadrul unui limfosarcom sau al bolii Hodgkin. Publicațiile referitoare la micoza fungoidă semnalează prezența unor modificări cromozomiale similare în mai multe țesuturi ale acelorași pacienți. Pe baza acestor observații, Erkman-Balis și Rappaport au sugerat că micoza fungoidă ar constitui o proliferare neoplazică cutanată, care s-ar extinde în țesuturile extracutanate pe cale limfatică și hematogenă.

5.6. Limfomul Burkitt

Tumoarea Burkitt este un limfom al copiilor, care survine cu o frecvență înaltă în anumite zone ale Africii și ale Noii Guinee. Atenția acordată acestei afecțiuni a fost stimulată de faptul că Epstein și colab. au evidențiat prezența virusului Epstein-Barr (EB) într-o linie celulară derivată in vitro dintr-un caz de limfom Burkitt.

Asocierea dintre limfomul Burkitt și virusul EB este demonstrată de doua categorii de argumente:

a) Dovezi serologice. Pacienții cu limfom african au prezentat reacții serologice anti-virus EB la titruri înalte.

b) Experiențe de hibridare a aciziilor nucleici. Atît hibridarea ADN-ADN, cît și hibridarea ADN-ARN a relevat prezența ADN-ului virat EB în tumorile pacienților.

Majoritatea cercetărilor referitoare la constituția citogenetică a tumorilor Burkitt au fost efectuate pe linii celulare menținute perioade variabile de timp in vitro. Recent, Ikeuchi și colab. au stabilit in vitro o nouă linie celulară de limfom Burkitt, desemnată B46M, și au derivat din ea 10 sublinii clonate. Examenul citogenetic al acestor sublinii a relevat cariotipuri diferite de cele ale liniei parentale, deși linia parentală prezenta o omogenitate cariologică remarcabilă. Este posibil ca unele celule variante să fi existat, cu o frecvență joasă, și în populația parentală unde însă nu au putut fi detectate, dar au proliferat selectiv în populațiile clonate. Nu poate fi exclusă însă nici eventualitatea ca ele să fi luat naștere in vitro, fie din cauza dezechilibrului inerent cauzat de condițiile de cultură, fie datorită prezenței continue a virusului EB. Rabson și colab., care au izolat o linie aderentă la suprafața sticlei dintr-o cultură în suspensie de limfom Burkitt, constată o creștere importantă a ploidiei. Aceste date ridică posibilitatea ca unele rezultate să nu reflecte constituția reală, existentă in vivo, a tumorilor.

O excepție remarcabilă o constituie cazul examinat de Gripenberg și colab. Pacientul prezenta tumori faciale bilaterale cu metastaze în ganglionii cervicali. Constituția citogenetică a celor două tumori era deosebită, iar celulele metastatice reproduceau tabloul cnomozomial al tumorilor primare homolaterale. Este posibil ca tumorile să fi avut o origine comună, diferențele observate fiind rezultatul unui proces de evoluție care a avut loc după constituirea tumorii contralaterale. Nu se poate exclude însă nici posibilitatea ca una din tumori să fi fost rezultatul unei noi inducții, cu atît mai mult cu cît tumorile și-au păstrat individualitatea cariologică.

Apariția tehnicilor de bandare a demonstrat însă că multe din rezultatele menționate vor trebui reevaluate. Astfel, Steel a arătat că markeri aparent identici din punct de vedere morfologic erau rezultatul unor procese translocaționale diferite și conțineau deci un material genetic propriu. Utilizînd o tehnică de bandare, Manolov și Manolova au demonstrat, în 5 din 6 biopsii tumorale și în 7 din 9 linii celulare examinate, prezența unei benzi suplimentare pe unui din cromozomii nr. 14. Dacă această descoperire va fi confirmată, limfomul Burkitt ar constitui o nouă afecțiune în care se individualizează o modificare cromozomială specifică.

CAPITOLUL VI. TUMORI MALIGNE

6.1. *Veziica urinară*

În cazul vezicii urinare a fost evidențiată o corelație interesantă între gradul de diferențiere histologică a tumorilor și caracteristicile lor citogenetice. Carcinoamele bine diferențiate ale vezicii, care nu prezintă semne de invazie, au în general numere modale peridiploide. În tumorile cu o diferențiere moderată au fost observate cifre modale peritetraploide și peridiploide. Există o relație între nivelul ploidiei și capacitatea invazivă: în tumorile cu cifre modale peridiploide nu a fost observată invazia mucoasei, în timp ce tumorile care au invadat mucoasa ou prezentat cifre modale peritetraploide. Carcinoamele nediferențiate sînt adesea hipotetraploide, dar prezintă o dispersie mai mare a numerelor de cromozomi față de valoarea modală decât carcinoamele bine și moderat diferențiate.

Prezența cromozomilor markeri a fost notată în mai multe publicații, însă originea și semnificația lor nu sînt cunoscute.

Într-o tumoare de un tip histologic special — un rabdiosarcom al vezicii urinare la o fetiță în vîrstă de 3 luni - Cox a observat un număr modal de 46 și o constituție diploidă în 9 din 12 cariotipuri examinate.

Rezultatele cercetărilor citogenetice au fost confirmate de studiile microspectrofotometrice, care au arătat că progresiunea de la stadiul de tumoare papiliferă bine diferențiată la stadiul de carcinom invaziv nediferențiat este însoțită de o modificare a conținutului de ADN din nucleii de la valori modale diploide la valori poliploide. Predominanța celulelor diploide și tetraploide semnifică o evoluție clinică mai „benignă”, în timp ce tumorile mai „maligne” prezintă celule cu valori triploide și hexaploide ale ADN

nuclear. Supraviețuirea medie după intervenția chirurgicală a fost de 33,6 luni la pacienții cu tumori diploide și tetraploide și de numai 18,1 luni la pacienții cu tumori triploide și hexaploide.

6.2. Sistemul nervos

Există astăzi date referitoare la constituția citogenetică a 250 de tumori ale sistemului nervos, dintre care aproape jumătate sînt meningioame. Studiul acestor tumori este important datorită unor particularități citogenetice care oferă posibilitatea de a investiga tabloul cromozomia l în tumori cu aspecte histopatologice benigne, evoluția modificărilor cromozomiale și rolul lor posibil în carcinogeneză.

6.3. Gliomele cerebrale

Mark a analizat serii mari de gliome la copii și adulți. Date asupra unor cazuri izolate au fost publicate și de alți autori. Rezultatele acestor cercetări au permis o apreciere destul de completă a modificărilor cromozomiale din diferitele tipuri de gliome.

Majoritatea astrocitoamelor prezintă numere modale diploide sau peridiploide. Analiza cariotipică a demonstrat însă în toate cazurile, deviații ale repartizării cromozomilor în grupele sistemului Denver, manifestate prin scăderea proporției cromozomilor din grupele D și C și, mai puțin frecvent, a cromozomilor A1.

Au fost observate diferite tipuri de cromozomi markeri, corpusculii cromatinieni dubli fiind cei mai caracteristici. Aspectul corpusculilor cromatinieni dubli variază de la o tumoare la alta și de la o celulă la alta, în cadrul aceleiași tumori. De obicei au aspectul unor structuri alcătuite din două puncte alăturate. Anomalia apare destul de frecvent în tumorile nervoase, dar a fost semnalată în mod excepțional și în alte tipuri de tumori.

În oligodendrogliomele bine diferențiate au fost observate anomalii cromozomiale minime. În tumorile mai imature, deviațiile cromozomiale sînt mai importante.

Unele ependimoame sînt alcătuite numai din celule anormale. Altele, prezintă și o proporție variabilă de celule diploide.

Mark a publicat detalii asupra constituției citogenetice a 7 neurinoame. Trei tumori au prezentat numere modale și cariotipuri diploide. Celelalte patru au fost formate din celule diploide sau hipodiploide. În trei cazuri au fost evidențiați cromozomi markeri. Un neurosarcom a prezentat deviații extinse (celule hipotetraploide, conținînd 12-14 markeri).

6.4. Meningioamele

În anul 1967, Zang și Singer au atras atenția asupra faptului că în meningioame — tumori cu un aspect histopatologic și un comportament clinic benign - există o anomalie cromozomială destul de constantă: lipsa unui cromozom din grupa G. Studii recente, efectuate cu ajutorul tehnicilor de bandare, au demonstrat afectarea selectivă a perechii G22.

Mark a discutat recent rezultatele cercetărilor efectuate asupra 105 meningioame (dintre care 50 provenite din laboratorul autorului), subliniind următoarele aspecte:

a) Numărul modal. Din cele 105 meningioame, 33% au prezentat numere modale diploide, iar 60% au fost hipodiploide. Restul tumorilor au fost hiperdiploide, o singură tumoare fiind hipotriploidă. Tendința spre hipodiploidie reprezintă trăsătura cea mai caracteristică a meningioamelor și ea demonstrează că o scădere a numărului de cromozomi poate fi bine tolerată.

b) Analiza celulelor modale. Cele mai multe tumori au fost caracterizate printr-o monosomie G (datorită pierderii unui cromozom nr. 22). Tumorile cu cariotip normal sînt, de asemenea,

destul de frecvent întâlnite. Zankl și colab. au remarcat că unele tumori prezintă o pierdere preferențială a cromozomilor sexuali.

c) Cromozomii markeri. Benedict și colab., care au observat prezența unor cromozomi markeri într-un meningiom care ulterior a recidivat, presupun că prezența unei aneuploidii accentuate și/sau a cromozomilor markeri ar indica malignitatea, chiar dacă tabloul histologic este benign. Ulterior, s-a demonstrat însă că frecvența cazurilor de meningioame care prezintă cromozomi markeri este destul de ridicată (28,8%), în absența unor semne clinice sau histopatologice de malignitate.

Un interes deosebit îl prezintă evidențierea unui cromozom de „tip Ph1”, rezultat din deleția unui cromozom din grupa G. Mark și colab. presupun ca deleția unui cromozom nr. 22 ar putea reprezenta modificarea inițială în toate meningioamele. În unele meningioame, cromozomul 22 anormal ar fi menținut ca atare, în timp ce în altele, cromozomul marker este pierdut. Au fost observați și alți cromozomi markeri, inclusiv cromozomi dicentrici și inelari.

În unele culturi de celule umane transformate de virusul simian 40 (SV40) au fost observate modificări cromozomiale asemănătoare cu cele din meningioame, constând îndeosebi în lipsa unui cromozom acrocentric mic. Pornind de la aceste constatări, Weiss și colab. au investigat prezența antigenelor induse de virusul SV40 în 7 meningioame. În cele 3 meningioame în care au fost evidențiate antigene virale, a fost observată lipsa unui cromozom G (însoțită în două cazuri de lipsa altor cromozomi). Meningioamele în care nu au putut fi detectate antigene virale, au prezentat cariotipuri diploide. Pe baza acestor rezultate s-a sugerat existența unei corelații între meningioame și virusul SV40. Sînt însă necesare studii suplimentare pentru a stabili dacă virusul este un agent cauzator al meningioamelor umane.

6.5. Glandele endocrine

Adenoamele hipofizare sînt tumori benigne, dar care pot prezenta uneori un caracter invaziv local. În contradicție cu aspectul histopatologic benign, 5 din cele 7 tumori examinate de Mark au prezentat anomalii cromozomiaie. Celulele modale au fost dispuse în regiunea diploidă în 3 cazuri și în regiunea triploidă în 2 cazuri. Într-o tumoare a fost observat un cromozom marker. Într-o cultură de carcinom metastatic tiroidian au fost obținute numai metafaze diploide (derivate probabil din celulele reactive ale gazdei). Sokolow și colab. au examinat un carcinom și 5 tumori benigne ale glandei tiroide. Celulele adenocarcinomului au prezentat 55—58 de cromozomi. În adenoamele tiroidiene a fost evidențiat un număr modal de 46 de cromozomi; un procent variabil de celule prezenta însă anomalii numerice.

6.6. Tumori oculare. Retinoblastomul.

Singurele tumori oculare studiate din punct de vedere citogenetic sînt retinoblastoamele. Lele și colab. au remarcat deleția brațului lung al unui cromozom din grupa D; această anomalie a fost observată nu numai în țesutul tumoral, ci și în culturile de țesut conjunctiv și în celulele sanguine. Cazul analizat de Mark prezenta un număr modal de 47 de cromozomi, dintre care 3 cromozomi markeri, și un număr variabil de corpusculi cromatinieni dubli. Kobayashi și colab. au studiat 7 retinoblastoame; în 5 cazuri a fost remarcată o incidență mare a celulelor poliploide. Reid și colab. au examinat caracteristicile unei linii de retinoblastom menținute in vitro timp de 36 de luni; studiul citogenetic a relevat un număr modal hipertriploid și prezența unor corpusculi cromatinieni dubli.

Un fenomen extrem de interesant îl constituie frecvența mare a retinoblastoamelor la bolnavii care prezintă o deleție congenitală

a brațului lung al unui cromozom din grupa D. Cercetările recente ale lui Wilson și colab. au stabilit că cromozomul implicat este un membru al perechii 13, iar deleția este de tip interstițial. Alături de retinoblastom, pacienții prezintă întârziere mintală, defecte scheletice (micrognație, anomalii ale degetelor), boli cardiace congenitale, asimetrie facială cu urechi jos implantate și anus imperforat, simptome care, în totalitate alcătuiesc sindromul de deleție 13q-. Retinoblastoamele au mai fost observate la pacienți cu trisomie 21. Există însă și cazuri de retinoblastoame apărute la indivizi fără anomalii cromozomiale. Czeizel și colab. au observat o incidență înaltă a aberațiilor cromozomiale (lacune și rupturi de tip cromatidic și cromozomial, deleții) în limfocitele unor pacienți cu retinoblastom. Aceste date sugerează existența a două tipuri de retinoblastoame: tumori apărute în cadrul sindromului de deleție 13q- și tumori apărute pe un teren de instabilitate cromozomială, al cărui rol predispozant pentru apariția neoplaziilor a fost discutat.

6.7. Pielea

Într-un carcinom spinocelular, Makino și colab. au observat existența aneuploidiei. La pacienții cu carcinoame bazocelulare multiple, Happle și colab. au observat, în țesutul tumoral, aberații cromozomiale nesistematizate (cromozomi markeri, fragmente acentrice, rupturi izocromatice, cromozomi dicentrice). Uneori, au apărut anomalii asemănătoare în culturile de fibroblaste derivate din pielea sănătoasă din jurul tumorilor și în culturile de limfocite. Într-o singură tumoare au fost observate mai multe celule având anomalii identice, constituind o clonă caracterizată prin prezența unui cromozom adițional în grupa E și absența unui cromozom G.

Un număr mai mare de tumori au fost studiate cu metode microspectrofotometrice. Carcinoamele bazocelulare au un conținut

diploid de ADN sau prezintă o distribuție bimodală, cu celule diploide și tetraploide. Tumorile care pătrund adânc în corion tind să prezinte însă un conținut heterogen de ADN. Carcinoamele spinocelulare au linii celulare hiperdiploide, triploide sau peritetraploide.

În dermatozele precanceroase (keratoza senilă, leucoplazia vegetantă, boala Bowen, eritroplazia Queyrat) a fost observată o distribuție largă a valorilor de ADN din celule, cuprinsă între tetraploidie și octoploidie.

Au fost publicate date asupra constituției citogenetice a 40 de melanoame maligne. Majoritatea observațiilor se referă la celulele metastatice din ganglionii limfatici sau din exsudate. Numerele modale sînt de obicei triploide, dar au fost observate variații largi, între hiperdiploidie și tetraploidie. Existența cromozomilor markeri a fost descrisă în mai multe publicații. Chen și Shaw, utilizînd tehnici de bandare, au reușit să stabilească originea cromozomilor markeri din celulele unor linii de melanom menținute in vitro. Numărul cazurilor este însă prea mic pentru a evidenția eventuale modificări structurale comune.

6.8. Alte tumori

În 8 cazuri de tumori osoase giganto-celulare Ishii observă numere modale normale, diploide; seria de 6 sarcoame osoase prezenta aneuploidie.

Într-un timom malign, Kristoffersson evidențiază un număr modal de 46; unul din cromozomii grupei E lipsea, în timp ce în grupa C a fost observat un cromozom supranumerar. Într-un alt timom, probabil benign, au fost observate numai celule diploide.

Mezotelioamele sînt aneuploide și prezintă diferiți cromozomi markeri.

Într-o serie de 7 sarcoame embrionare, Nezeloff și colab. au observat prezența aneuploidiei, cu cromozomi suplimentari în

grupele C, E și F. În 5 cazuri a apărut un cromozom marker lung, cu centromerul distal. Într-un teratom sacro-coccigian benign, 6 metafaze au fost diploide, o celulă avea 47 de cromozomi (supranumerarul aparținând grupei D), iar o altă celulă avea 48 de cromozomi, cu doi cromozomi suplimentari în grupa E.

O serie mai mare, cuprinzând 20 de tumori embrionare, a fost studiată de Rousseau, după o prealabilă cultivare in vitro. Numai 7 cazuri au prezentat aneuploidie, celelalte cazuri fiind diploide. Este însă posibil ca aceste rezultate să fi fost influențate de condițiile de cultură, care au putut determina selecționarea elementelor stromale normale.

Într-un rhabdomyosarcom embrionar metastatic, numărul modal a fost de 60; în toate metafazele a fost remarcată prezența unor corpusculi cromatinieni dubli.

Un sarcom nediferențiat a prezentat un număr modal de 47 de cromozomi și un cromozom marker lung. Un sarcom abdominal fibroblastic avea o linie sușă hipodiploidă (42—43 de cromozomi).

White și Cox au examinat două recidive succesive ale unui rhabdomyosarcom, constatând scăderea numărului modal de la 70 la 67—68 de cromozomi și apariția unor cromozomi markeri noi.

CAPITOLUL VII.

LEUCEMIILE

7.1. Leucemia limfocitară cronică

Există destul de puține date referitoare la constituția citogenetică a leucemiilor limfocitare cronice. Acest fapt se datorește rarității mitozelor obținute prin examenul direct al măduvei precum și indicelui mitotic scăzut din culturile de sânge periferic. În plus, la examenul direct al măduvei se analizează mai ales celule din seriile mieloid, limfocitele din leucemia limfocitară cronică neavând tendința de a intra în mitoză. Prelungirea duratei de cultivare a limfocitelor din sângele periferic de la 3 zile la 6 zile crește indicele mitotic și permite obținerea unui număr apreciabil de metafaze analizabile.

Majoritatea bolnavilor studiați nu au prezentat anomalii cromozomiale. Deleția brațelor scurte ale unui cromozom nr. 21, anomalie denumită „Christchurch” sau „Ch1”, după localitatea în care s-a făcut descoperirea, pare să reprezinte un defect constituțional. Ea a fost observată și la membrii sănătoși ai familiei, iar prezența sa nu se limita la limfocite, ci apărea și în fibroblaști.

Studiind suma lungimilor cromozomilor G, Fitzgerald constată că ea este semnificativ mai mică la bărbații leucemici decât la bărbații sănătoși; o diferență similară, dar ne semnificativă statistic, a fost întâlnită și la femei. Diferența de lungime este probabil determinată de un grad mai mare de condensare și spiralizare a tuturor sau a unora din cromozomii acrocentrici mici. Semnificația leziunii nu este cunoscută, dar condensarea cromozomilor ar putea modifica sau reprimă acțiunea unor gene.

Modificările numerice ale cromozomilor, mai ales în sensul hiperdiploidiei, sînt destul de comune. A fost descrisă și prezența unor cromozomi markeri, dar ei par a fi lipsiți de specificitate.

Aplicarea tehnicilor de bandare ar putea releva date noi, dar dificultățile tehnice fac ca progresele în această direcție să fie destul de lente.

7.2. Leucemiile acute

Studiul comparativ al măduvei și singelui periferic la bolnavii cu leucemii acute a arătat că în numeroase cazuri examenul direct al măduvei poate releva prezența unor anomalii cromozomiale, în timp ce în culturile de sânge periferic stimulate cu fitonemaglutinină (P.H.A.) se observă numai celule diploide. Aceasta sugerează că numai limfocitele normale din sângele periferic sînt stimulate și intră în mitoză sub acțiunea PHA. Chiar dacă în limfocitele periferice stimulate apar anomalii, ele sînt de obicei nesistematizate și reprezintă, probabil, consecința terapiei. Din acest motiv, examenul direct al măduvei osoase constituie metoda de elecție în studiul hemopatiilor maligne.

7.3. Cariotipul în leucemiile acute

La 50—70% din pacienții cu leucemii acute nu se întîlnesc modificări cromozomiale. Cifrele reale sînt probabil ceva mai mici, deoarece toate aceste statistici se bazează pe studii efectuate cu ajutorul tehnicilor clasice de colorație, iar aplicarea tehnicilor de bandare a detectat în unele cazuri prezența unor anomalii care nu fuseseră evidențiate cu metodele convenționale. Semnificația cazurilor de leucemie acută cu cariotip diploid nu este cunoscută. După Mitelman și Brandt, toate leucemiile acute ar începe cu un cariotip diploid, care ar progresa apoi spre aneuploidie printr-un proces de evoluție clonală secvențială. Pacienții cu o predominanță a metafazelor anormale s-ar găsi, astfel, într-un stadiu mai avansat al bolii decât pacienții care prezintă celule diploide.

O problemă de o importanță deosebită este dacă la pacienții care prezintă anomalii cromozomiale, aceste modificări au loc la împlinire sau interesează în mod preferențial anumiți cromozomi. Cercetările efectuate cu ajutorul tehnicilor clasice au dus la rezultate contradictorii. Sandberg și colab. nu au observat modificări cromozomiale preferențiale, în timp ce în alte statistici a fost semnalată interesarea mai frecventă a cromozomilor din grupele C, G, D și E.

Uneori se observă apariția de rupturi de tip cromatidic și cromozomic, cromozomi dicentrici, acentrici sau inelari. Prezența cromozomilor markeri a fost semnalată în mai multe publicații, dar ei nu sînt des întîlniți și nu par a fi caracteristici. Aspectul cromozomilor din celulele leucemice este adesea estompat cu cromatidele prost delimitate; între cromozomi se pot observa punți de cromatină. Aceste aspecte ar putea fi consecința unor dezordini în sinteza de ADN sau a proteinelor asociate.

Cercetările efectuate cu ajutorul tehnicilor moderne de bandaje, deși limitate la un număr redus de pacienți, au relevat date extrem de interesante. Cea mai frecventă anomalie cromozomială se referă la cromozomii nr. 8. În majoritatea cazurilor este vorba de o trisomie a acestor cromozomi; alteori, unul din cromozomii perechii 8 este absent sau implicat în translocatii. Anomaliile cromozomilor nr. 7 și 9 (trisomii, monosomii, deleții), 17 (izocromozom 17q) și 21 sînt mai rar întilnite. În mod inconstant este pierdut un cromozom sexual (unul din cromozomii X la femeie sau cromozomul Y la bărbat).

Motivul afectării preferențiale a cromozomilor nr. 8 rămîne neexplicat. Este posibil ca această anomalie să fie determinată de prezența anumitor gene pe acest cromozom, după cum este posibil ca el să reprezinte sediul inserției sau activării unui virus specific sau a altui agent oncogen. Întrucît trisomia 8 a fost

observată și în stări preleucemice, ea ar putea reprezenta prima etapă din lanțul de evenimente mutaționale al căror rezultat final este apariția cancerului. Pe de altă parte, este greu de explicat de ce nu toate cazurile de leucemie acută prezintă aceleași modificări cromozomiale. Prin analogie cu tumorile experimentale, se poate presupune ca apariția unor aspecte cariotipice particulare este consecința acțiunii unor agenți etiologici diferiți, chiar dacă tabloul patologic final este identic (sau, cel puțin, în aparență identic).

Una din metodele utilizate pentru inducerea remisiunilor în leucemiile acute constă în iradierea cu doze supraletale a pacienților, urmată de transplantare de măduvă. Dacă pacientul și donorul au sexe diferite, soarta celulelor grefate poate fi urmărită prin examenul citogenetic al măduvei pacientului. Studiind un asemenea caz, Fialkow și coiaab. au constatat că recăderea survenită la 2 luni după grefare era datorită transformării leucemice a celulelor medulare grefate. Cea mai plauzibilă explicație este reprezentată de transferul unui agent etiologic, probabil viral, din celulele gazdă (afectate de acțiunea iradierii) în celulele donorului.

Exista puține date referitoare la tipurile de celule care prezintă anomalii. Din datele lui Krogh Jensen și Killman reiese că în leucemiile acute, cariotipurile anormale nu sînt limitate la celulele din seria granulocitară, ci sînt prezente și în precursorii eritroizi.

Faptul că în lichidul meningial al unui bolnav cu leucemie acută au fost evidențiate aceleași modificări cromozomiale ca și în măduvă pledează pentru originea unicentrică și monoclonală a leziunilor din leucemia acută.

CAPITOLUL VIII.

PROBLEME DE EVALUARE CLINICĂ ȘI DE DIAGNOSTIC DIFERENȚIAL LA COPIII SUSPECTAȚI DE CANCER

8.1. Semne și simptome la copilul cu cancer

Diagnosticul cancerului la copii începe cu istoricul și examinarea fizică. Pentru un oncolog pediatru, indicele de suspiciune pentru cancer este, desigur, foarte mare, dar nu și pentru medicul practician.

Există o rezistență generală în a considera un asemenea diagnostic, deoarece cancerul se asociază cu frica de moarte. Trebuie reamintit că, părinții sunt adesea îngrijorați dacă o febră sau o excrescență nu este, cumva cancer. Iată o suspiciune și o spaimă aproape înrădăcinate, care pot determina însuși întârzierea diagnosticului!

Istoricul se consideră primul pas în procesul de diagnostic, suferința principală fiind cheia cea mai importantă. Care sunt suferințele principale care cresc indicele de suspiciune a unui cancer la copii? Cele mai obișnuite, le găsim în tabelul 1, ca semne și simptome pe care publicul le asociază cu cancerul fiind, de fapt, foarte rare la copii. Acestea includ hemoragiile nazale, răni care nu se vindecă, hemoragiile rectale, modificări în comportamentul intestinal, tușea cronică. Majoritatea semnelor și simptomelor cancerului sunt datorate fie unei mase și efectelor ei asupra structurilor normale din jur, sau invadării tumorii de substanțe care tulbură funcția normală. De departe, primul mecanism este cel mai obișnuit. Progrese semnificative recente constau în identificarea markerilor tumorali și extracelulari, care pot fi responsabili ai unora dintre semnele și simptomele unei

malignități. Deși mulți dintre acești markeri celulari nu au direct aplicație clinică, ei vor putea, în viitor, să ofere o cheie importantă pentru detectarea unui cancer.

Un alt domeniu important este istoricul medical al familiei. Deci, al părinților, fraților cât și al verilor primari.

Bolile trebuie notate în arborele genealogic al familiei, astfel încât să evidențieze situația fiecărui grup. Datele minime vor include lista maladiilor importante, vârsta, cauza morții. Prezența oricărei situații maligne solicită, în plus, și cât mai multe date demografice, utilizabile pentru diagnostic. Trebuie dovedite/analizate anumite boli familiale și genetice, precum neurofibromatoza, sindromul Down, maladiile autoimune.

Atât factorii de mediu, cât și cei genetici au fost asociați unui risc crescut al cancerului la copii. Dintre factorii de mediu cunoscuți, radiațiile ionizante și agenții alchilanți sunt cel mai adesea incriminate, iar pentru majoritatea tumorilor pediatrice, se invocă factorii genetici.

Categoriile principale de boală cu un risc crescut pentru cancer: tulburările deficienței imune, tulburările metabolice, instabilități cromozomiale și facomatozele. De asemenea, trebuie să se țină seamă că, adesea, pentru copiii, care au avut un cancer probabilitatea unui al doilea cancer este crescută. Asocierea osteosarcomului și retinoblastomului bilateral sau a unei leucemii limfocitice acute cu tumorile cerebrale sunt exemple concludente.

8.2. Stabilirea diagnosticului

Tratamentul trebuie să înceapă numai după ce tumora a fost diagnosticată. Tehnici radiologice recente au îmbunătățit posibilitățile de evaluare a cancerului și, în prezent, ne aflăm în era tehnicilor neinvazive, cum sunt tomografia computerizată (CT), diagnosticul cu ultrasunete sau imaginile rezonanței magnetice

(MRI). Trebuie amintit, totuși, că, și cu aceste progrese, calea sigură pentru stabilirea diagnosticului rămâne confirmarea anatomopatologică.

Când se examinează un suspect de cancer, este util să se discute planul general atât cu părinții, cât și cu copilul (dacă are vârstă potrivită). Cei mai mulți aparținători trăiesc ca pe o suplimentară traumă perioada prelungită, necesară testelor diagnostice: de exemplu, numai pregătirea și examinarea probei de țesut ia, de obicei, 2-3 zile. Aceasta se accentuează, dacă semnele și simptomele persistă luni de zile. Este de asemenea utilă prevenirea părinților că trebuie să înțeleagă că este nevoie de timp pentru un diagnostic corect și determinarea exactă a întinderii tumorii. O asemenea răbdare previne viitoare erori, care vor necesita repetarea examinărilor și a biopsiei, după ce tratamentul deja a început.

8.3. Diagnostic diferențial

În cele ce urmează, vom aborda unele dintre cele mai obișnuite semne și simptome observate în cancer la copil, sugerând 91 metode specifice de investigare.

Cefaleea rămâne unul dintre cele mai obișnuite simptome întâlnite în practica pediatrică. Deși puține dintre aceste dureri sunt cauzate de o tumoră intracraniană, este întotdeauna important să se excludă tumora, dacă simptomele se repetă.

Diagnosticul unei tumori cerebrale este suspectat, inițial, pe baza unui complex de simptome majoritatea depinzând, adesea, de localizare. Deoarece situarea majorității tumorilor cerebrale se interferează cu circulația lichidului cefalorahidian, creșterea presiunii intracraniene este prezentă, în mod obișnuit. O analiză a simptomelor timpurii proeminente la un grup de copii cu tumori cerebrale, a arătat că, în localizările supratentoriale, voma apare

în 46% din cazuri, iar cefaleea în 43%, în timp ce la tumori infratentoriale, 59% dintre bolnavi au dificultăți de coordonare, 76% - vomă, și 56 - cefalee.

CT și MRI, reprezintă mijloace neinvazive pentru a exclude o tumoră cerebrală. Totuși, aceste investigații nu pot intra în recomandările de rutină pentru toți copiii cu dureri de cap sau vomă. Honig și Charney au analizat istoricul, datele examinării fizice și radioterapiile craniene a 72 de copii cu cefalee, datorată unei tumori cerebrale. Constatările lor sugerează că cea mai bună metodă de screening, în această situație este examinarea neurologică amănunțită, aproape 5-6% din copii cu cefalee și 3 cu tumori cerebrale, din lotul cercetat, prezentând manifestări neurologice anormale, la examinarea clinică.

Stabilirea istoricului clinic este extrem de importantă. Ce date trebuie obținute? Durata manifestării simptomelor, localizare lor, sincronizarea, întâmplări care se precipită și modul de debut. Studiile lui Honig și Charney au arătat următoarele simptome sugestive ale tumorilor cerebrale: cefalee matinală recentă, cefalee care trezește copilul din somn; cefalee intensă care micșorează capacitatea și modifică frecvența și tipul acestei dureri, stările ce impun examinări radiologice. Cum s-a arătat mai sus, aceste examinări trebuie să fie combinate cu o examinare oncologică amănunțită.

Limfadenopatia este o stare obișnuită prezentă atât la copiii cu tumori maligne, dar și nemaligne. Un ganglion limfatic se consideră mărit, dacă depășește cu 10 mm diametrul lui maxim; excepție fac ganglionii epitrohleari, la care 5 mm sunt aprenați anormali, și ganglionii inghinali, care nu sunt etichetați astfel, dacă nu depășesc 15 mm. Cei mai mulți copii au ganglioni cervicali mici, palpabili, exilări, inghinali adenopatia în poziția auricular-posterioară epitrohlear sau supraclavicular, fiind, categoric anormală.

Desigur, o examinare fizică completă și istoricul rămân esențiale. Una dintre primele examinări ce trebuie făcută este necesitatea verificării dacă mărimea ganglionilor este izolată, sau se înscrie unei adenopatii generalizate. Majoritatea bolilor maligne - de pildă, leucemia limfoblastică acută și leucemia nelimfocitică acută - prezintă o limfadenopatie mai curând generalizată decât localizată, în leucemie limfadenopatia regională predominantă în regiunile necervicale, sugerează mai degrabă un proces malign, în comparație cu mărimea ganglionilor din zona capului și a gâtului. Dintre stările maligne obișnuite care prezintă limfadenopatie, limfonul non Hodgkin și neuroblastomul sunt, de obicei, asociate cu alte boli sistematice, de exemplu, formațiuni toracice, abdominale sau modificări ale sângelui periferic. De obicei, nu este o problemă diagnosticarea rapidă a limfadenopatiei, după un istoric bun o examinare fizică amănunțită și câteva teste ale sângelui și radiografiei

Probleme de mai mare dificultate le ridică extinderile localizate în special în regiunile capului și gâtului. Infecția este cauza cea mai obișnuită a adenopatiei cervicale cu *Staphylococcus aureus* și *Streptococul beta hemolitic*, cei mai obișnuiți agenți patogeni bacterieni. Alte cauze de infecții locale sunt: micobacterii netuberculoase, toxoplasmoza, virusul Epstein-Barr, citomegalovirusul și virusul HIV.

Un diagnostic mai probabil de malignitate îl sugerează limfadenopatia localizată la cap și gât.

Deși nu se poate generaliza, tumorile maligne sunt, de obicei, duse precum guma și mate; iar după mai multe examinări, se observă creșterea lor. Tumorile maligne primare, situate la cap și gât, sunt de cele mai multe ori la copii, limfoame. La subiecții, sub 6 ani, cancerurile cele mai obișnuite sunt neuroblastomul, limfomul non Hodgkin, rhabdomyosarcomul și limfomul Hodgkin.

La grupa de vârstă 7-13 ani, limfomul Hodgkin și limfosarcomul sunt cele mai des întâlnite, înregistrând frecvențe egale. Urmează cancerul tiroidian și rhabdomiosarcomul.

Limfadenopatia mediastinală ridică probleme dificile de diagnostic, într-un raport al lui Bower și colab., din 173 cazuri de tumori mediastinale, 41% au fost neoplasme. La Universitatea din Minnesota, din 68 de tumori mediastinale anterioare sau mijlocii, 42% erau limfoame Hodgkin, 25% - limfoame non Hodgkin și 17% - leucemii, 9% s-au dovedit histoplasmoze (vezi discuții despre tumorile mediastinale, mai jos). Studiul diagnostic al limfadenopatiei trebuie să includă ca un ghid, reperele importante din prezentarea clinică. În general, dacă o limfadenopatie cronică crește în mărime, este necesară biopsia. Copii cu noduli mediu crescuți, la prima vizită, pot fi urmăriți prin examinări seriale, timp de 2-3 săptămâni, ganglionii necanceroși revin la normal, în cazul adenitei cervical localizate, cu inflamație moderată și febră, copilul poate primi empiric, antibioterapie orală, în vizor trebuie să fie și Streptococcus și Staphilococcus, iar dacă se suspectează o sușă denaturată, va fi necesară stoparea unei infecții cu anaerobi. În aceste situații, sunt indicate un examen complet al sângelui și un exsudat faringian.

Dacă un copil, nu răspunde la antibiotice, sau are un ganglion limfatic fluctuant sau un ganglion de peste 3 cm, devine necesar, extinderea investigațiilor. Acestea trebuie să includă un test PPD al pielii, radiografia toracelui, examen complet al sângelui, cu o măsurătoare diferențială și a plachetelor plus culturi din alte locuri suspectate ca surse de infecție.

Serologiile virale, bacteriene și fungice sunt utile numai dacă istoricul bolii și examinarea fizică le sugerează. Biopsia măduvei osoase și aspirația sunt indicate dacă radiografia toracelui este anormală sau examenul sângelui indică trombocitopenie ori anemie și există o hepatosplenomegalie semnificativă.

Biopsia ganglionilor limfatici este necesară când apar următoarele semne și simptome: (1) creșterea ganglionilor sau ganglioni care au rămas mari după 2-3 săptămâni; (2) ganglioni care nu s-au micșorat după 5-6 săptămâni sau nu au revenit la mărimea normală în 10-12 săptămâni (în special dacă există și febra inexplicabilă, o scădere în greutate sau hepatosplenomegalie); ganglioni supraclaviculari măriți; (3) anomalii în zona toracelui, detectate radiografic. În momentul biopsiei, trebuie selectați cei mai mari și mai duri ganglioni. Materialul trebuie pus în cultură pentru bacterii aerobe, anaerobe și pentru micobacterii. În regiuni endemice, vor fi făcute și culturi fungice (de exemplu *Histoplasma Cryptococcus*). În plus, ganglionul trebuie examinat la microscop optic și electronic, lamele fiind transmise și pentru analiza cromozomială și stabilirea markerilor celulari. De asemenea, ar trebui să existe și material pentru congelat, spre a fi oricând disponibil altor teste.

8.4. Durerea osoasă

Cele mai multe dureri asociate cancerului sunt datorate implicării oaselor, nervilor sau cavității viscerale. Aspectele timpurii ale cancerului la copii includ rar durerea, cu excepția cancerului osos și a leucemiei. La două din cele mai obișnuite tumori maligne localizate la oase (sarcom osteogenic, sarcom Ewing), durerea osoasă este obișnuită. Dintr-o serie de 229 de bolnavi cu sarcom Ewing pentru 89% durerile erau simptomul obișnuit - preciza un studiu întreprins în SUA. Durerea tinde să fie, la început, intermitentă, și crește în severitate cu timpul. O particularitate a durerii, asociată sarcomului Ewing, este că ea dispare, spontan, săptămâni sau luni. O situație similară se întâlnește în sarcomul osteogenic, cu dureri în 79% din cazuri.

Și la sarcomul Ewing și la sarcomul osteogenic, perioada dintre începutul simptomelor și diagnostic poate fi de 6-12 luni.

Artrita poate fi caracteristica predominantă a leucemiei acute, iar artrita leucemică poate fi confundată cu diferite boli reumatice.

Prezența anemiei sau a leucopeniei ori rezultate contradictorii, la explorările osoase la un copil cu artrită, trebuie să determine medicul să examineze măduva osoasă. Constatările clinice și durerea structurală nu ajută la diferențierea cauzelor acesteia. Durerea osoasă, ca o semnalizare a leucemiei, a fost raportată la 27 din 33 de cazuri. Majoritatea cazurilor sunt legate de leucemia limfocitică acută și mai puțin de leucemia nonlimfocitară acută.

La o serie de 107 copii cu leucemie limfoblastică acută, 21% prezentau dureri osoase, care la 44% erau însoțite de modificări osoase, detectabile radiologic.

A fost găsită o corelație semnificativă între severitatea durerii osoase și numărul de oase implicate, prezente radiografic, dar nu s-a stabilit o corelație semnificativă între prezența sau absența durerii osoase și prognosticul bolii.

Dacă un copil se plânge de algi persistente, în special când boala se asociază cu edeme, tumoră sau limitarea mișcării, trebuie întreprinse imediat o radiografie și un examen din partea unui specialist experimentat. Deși radiografia este foarte importantă în aprecierea extinderii anomaliei și comportarea leziunii scheletului, ea nu are valoare patognomonică pentru leziunile osoase maligne. Biopsia și investigațiile anatomo-patologice sunt indispensabile în stabilirea diagnosticului.

8.5. Tumori abdominale

O masă abdominală palpabilă este cel mai obișnuit semn care trebuie să sugereze o tumoră malignă solidă deși, statistic, respectiva indurație este cel mai probabil, fie o pseudotumoră,

sau o tumora benignă: cum ar fi fecala, aorta abdominală, o extensie a vezicii urinare sau rinichi hidronefrotic. De exemplu, într-un raport al lui Mellicow și Uson (SUA), la 653 indurații abdominale palpabile, întâlnite la copii, între 1934 - 1956, 293 (45,6%) nu aveau o cauză malignă. Vârsta copiilor este o cheie folositoare. Indurația abdominală la un nou-născut., în mod obișnuit, are o cauză renală, iar dacă această indurație devine malignă, cel mai probabil va fi vorba de o tumoră Wilms sau un neuroblastom. La o categorie mai mare de vârstă, indurația este, probabil, secundară leucemiei sau semnul implicării limfomatoase a ficatului și splinei, în ciuda statisticilor, toate indurațiile abdominale suspecte necesită investigații pentru precizarea unui diagnostic corect. Este necesară, întotdeauna, și o confirmare histologică. Deși s-a scris foarte mult despre importanța mărimii, mobilității și consistenței unei indurații, asemenea informații sunt fără recompensă în determinarea naturii acesteia.

Istoricul bolii contribuie la determinarea faptului dacă au existat simptome care să se poată referi la indurația abdominală, iar dacă este așa, tipul și durata ei. Datorită incidenței mari a unei cauze renale a indurației abdominale, este importantă o anamneză atentă referitoare la tractul urinar.

Pasul principal în investigarea unei indurații abdominale este un examen abdominal atent și complet. Un demers deloc ușor, deoarece copilul trebuie să fie relaxat, înaintea palpării abdomenului, încercarea de a-i distra atenția este poate cea mai bună metodă. La un copil mai mic, poate fi folositor chiar un biberon. Mai trebuie amintit și că unele structuri sunt palpabile la copii normali (marginile ficatului, splina, rinichii, aorta, colonul sigmoid, fecalele și splina).

Dacă indurata andominată se suspectează a fi de origine fecală, se face o clismă și, apoi, se reexaminează copilul. Dacă

este suspectată o cauză vezicală, poate fi necesară cateterizarea bolnavului și repetarea examinării; de asemenea, o examinare rectală este absolut necesară. Examinările vaginale și pelvice sunt importante la adolescente, examinările bimanuale abdominale și rectale fiind preferabile examinărilor vaginale la copii mici. Examinările pelvice trebuie efectuate de un medic experimentat.

După examinarea fizică urmează examinarea radiologică vizualizarea anteroposterioară sau laterală a abdomenului și a toracelui o tomografie computerizată a abdomenului cu sau fără contrast. Este utilă analiza urinei și a scaunului (pentru reacția pozitivă la guiac). Rezultatele pot sugera necesitatea unor investigații suplimentare, ca ultrasonografia, urografia intravenoasă, cercetarea markerilor tumorali, examinarea măduvei osoase.

8.6. Indurații mediastinale

Un număr de tumori maligne și benigne se găsesc în torace, iar mediastinul este locul de predilecție la copii. Localizarea indurațiilor, într-una dintre cele 3 regiuni anatomice ale mediastinului sugerează și natura lor.

Leziunile obișnuite din mediastinul anterior sunt tumorile limfoide, chisturile bronhogenice anevrismele limfoamele, tumorile tiroidiene. La mediastinul din mijloc, se găsesc leziuni ale ganglionilor limfatici, angioame, chisturi pericardiale, teratoame, chisturi bronhogene, leziuni esofagiene, hernii prin fenomenul Morgagni. La mediastinul posterior unele dintre cele mai obișnuite tumori sunt cele neurogene aproximativ 20% din toate tumorile mediastinale primare sunt chisturi. Aceste leziuni provin din rădăcinile nervoase și ganglionii simpatici în „sulcus” paravertebral. Tipurile întâlnite neuroblastomul, ganglioneuroblastomul, neurilenomul, neurofibromul, ganglioneuromul. Celelalte indurații,

întâlnite la mediastinul posterior sunt chisturi bronhogenice și enterogenice, meningocel toracic și tumori maligne, ca sarcomul Ewing, limfomul și rhabdomiosarcomul.

Bolnavii cu tumori mediastinale pot fi asimptomatici sau să prezinte simptome secundare compresiunii, ca de exemplu tuse, suier strident și hemoptizii. De obicei, indurația este descoperită prin radiografia de rutină a toracelui, tomografie, înghițire de bariu, fluoroscopie, ultrasunete, iar investigarea poate fi utilă și la identificarea tumorilor mediastinale.

În toate cazurile totuși, diagnosticul definitiv are nevoie de examen histologic.

Dacă prin mijloacele uzuale de investigare ale adenopatiei hiliare, masele mediastinale au fost excluse, este necesară o tomografie computerizată a toracelui și un procedeu de diagnostic invaziv. O aspirație de măduvă osoasă și biopsie pentru evaluarea tumorii și a infecției este indicată. Dacă sunt negative, atunci sunt indicate mediastinotomia sau biopsia deschisă pentru a obține țesut pentru studii histologice.

Unul din diagnosticile maligne obișnuite pe țesuturile din mediastin este clasificată ca tumoră a celulelor rotunde mici albastre. Aceasta include sarcomul Ewing, sarcomul Ewing al țesuturilor moi, rhabdomiosarcomul, limfomul și mase leucemice. Evaluarea histologică la microscopul electronic și studiile asupra membranelor celulare pot fi necesare pentru stabilirea diagnosticului definitiv. Dacă este dubiu și este implicată o porțiune de coastă este justificată rezecția coastei deasupra și sub leziune ca și a mușchiului de-a lungul tumorii. Acest procedeu oferă criterii pentru tratamentul sarcomului Ewing, rhabdomiosarcomului și tumorilor celulelor rotunde albastre mici de origine pulmonară.

8.7. Pancitopenia

Pancitopenia, anemia, leucopenia și trombocitopenia apar singure sau în combinație ca un semn de alarmă în leucemiile acute la copii, limfocitare și nelimfocitare.

La copiii cu leucemie limfocitară diagnosticați și netratați, 51% au hemoglobina sub 7,5%, 73% au un număr de trombocite sub 150 000/mm³ și 30% leucocite sub 5000/mm³.

Pancitopenia poate fi dată de înlocuirea măduvei osoase prin tumoră sau poate fi de natură imunologică.

ÎNCHEIERE

Evidențierea “noilor” boli ereditare a devenit posibilă de asemenea datorită performanțelor geneticii medicinei generale și disciplinelor care intercondiționează. În ultimii 10 ani numărul crescând a primelor boli ereditare se dezvoltă intens și la fel de intens se studiază natura biochimică a acestor boli. Grație succesului geneticii biochimice au devenit evidente mecanismele dezvoltării bolilor ereditare, și în multe cazuri aceasta a constituit cheia cercetătorilor spre descoperirea terapiei patogenice, a metodelor diagnozei prenatale, apariția multor purtători heterozigoți a multor gene mutante.

Nu avem dubii că apariția noilor boli ereditare va continua cu aceeași pași rapizi; paralel, chiar poate și cu pași mai rapizi se va efectua descifrarea defectelor ereditare la nivel biochimic și biologic-molecular.

La om sunt descrise multe vicii ereditare a dezvoltării, ceea ce poate fi folosit pentru analiza problemei de reglare genetică a proceselor dezvoltării. În afară de aceasta, sunt prelucrate abordările experimentale și există un număr mare de defecte ereditare a dezvoltării în laboratoarele de animale, ceea ce permite apropierea de patogeneza bolilor ereditare din diferite părți. Probabil că în ultimul timp se va diversifica gama studierii tipurilor și particularităților extinderii bolilor ereditare, ce va contribui într-o mare măsură la rezolvarea problemelor conflictuale din medicină și genetica populară.

Recunoașterea limitelor moștenirii numeroaselor feluri de îmbolnăviri joacă un rol important în determinarea diagnosticului stabilit în timpul maladiei în desfășurare. Numeroasele cercetări demonstrează importanța cunoașterii situației sănătății în familie

cu scopul de a putea mai ușor determina maladia fiecărui membru în parte, în limitele familiei în cauză.

Rezultatele studierii situației genetice trebuie să devină instrumentul real în mâinile medicului practician în timpul consultației medico-genetice de stabilire a diagnosticului precum și în alegerea de către acesta a metodelor specifice de a distinge și de a stabili o terapie.

Studierea maladii ereditare creează un șir de întrebări pentru teoria medicinei. Transmiterea bolii prin ereditate este mai întâi de toate o problemă axată asupra bolii nozologice. Existența variantelor clinice multiple în limitele fiecăreia din nenumăratele maladii în diapazonul de la cele mai mici devieri de la normă, până la cele mai acute și grave forme de patologii, reflectă diferite etape în acumularea factorilor de inhibare, de interacțiune cu numeroși factori ai mediului, diferiți după puterea și direcția de acțiune (stres, condiții climaterice, infecții, etc.). Multitudinea caracteristicilor acestor interacțiuni, dintr-un punct de vedere, demonstrează numărul preponderent al heterogenității clinice a acestui grup de maladii din alt punct de vedere - împiedică diferențierea a două noțiuni cea de “maladie” și cea de “sănătate”. Rezolvarea practică și teoretică a acestor întrebări privind genetica clinică este posibilă doar prin reunirea forțelor clinicienilor, geneticienilor și pato-fiziologilor.

* * *

Ridicarea cunoștințelor medicilor de familie, medicilor specialiști, chirurgilor, oncologilor și vigilentei lor oncologice a fost esența acestei lucrări. Dacă întrucâtva acest țel va fi atins, autorii vor fi bucuroși. Acceptăm toate propunerile și sugestiile Dvs.

BIBLIOGRAFIE

1. Adams L.R., Dahlgren S.E. *Acta path microbiol scand.*, 1968, 72, 561.
2. Ahearn M.J., Trujillo J.M., Freireich E.F. *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.*, 1971, 12, 58.
3. Altman A.A., Palmer C.G., Baehner R.L. *Blood*, 1974, 43, 341.
4. Anday C.J., Tischokoff G. *Cancer*, 1969, 1, 97.
5. Atkin N.B., Richards B.M. *Brit. J. Cancer*, 1956, 10, 769.
6. Awano I., Tuda F. *Jap. J. Genet.*, 1959, 34, 220.
7. Bauke J., Neubauer A., Schoffing K. *Dtsch. Med. Wschr.*, 1967, 92, 301.
8. Berger R. *Rev. Europ. Etud. Clin biol.*, 1970, 15, 1000.
9. Bodor F., Hakanson C.H., Norgren A. *Acta path. Microbiol. Scand.*, 1974, 82A, 386.
10. Brandao H.J.S. *Acta cytol.*, 1969, 13, 232.
11. Cardini R., Clemebte R., Bersi M. *Arch. Sc. Med.*, 1968, 125, 433.
12. Cellier K.M., Kirkland J.A., Stanley M.A.J. *Nat. Cancer Inst.*, 1970, 44, 1221.
13. Curcio S. *Arch. Ostet. Ginec.*, 1966, 71, 450.
14. De Grouchy J., Turleau C. In: *Cromosomes and Cancer* (ed. G. German). J. Wiley and Sons. — New York — Londra — Sidney — Toronto, 1974, p.287.
15. Ducos J., Colombies P. *Lancet*, 1968, 1, 1038.
16. Elves M.W., Israels M.C. *Acta haemat.*, 1967, 38, 129.
17. Fadel L. et al. *Morfocytogenetical stages of malignant progression in vegetant ovarian tumors*, 1975.
18. Fitzgerald P.H., Pickering A.F., Eiby J.R. *Brit. J. Haemat.*, 1971, 21, 473.
19. Gahrton G., Zech L., Lindsten J. *Exp. Cell Res.*, 1974, 86, 214.
20. Hansen-Melander E., Kullander S., Melander Y.J. *Nat Cancer Inst.*, 1956, 16, 1067.
21. Happle R., Hoehn H. *Clin Genet.*, 1973, 4, 17.
22. Hossfeld D.K. *Nature (Lond.)*, 1974, 249, 864.
23. Hsu L.Y.F., Papenhausen P. Et al. *Acta haemat.*, 1974, 52, 61.
24. Ishuhara T., Moore G.E., Sandberg A.A. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1961, 27, 893.

25. Jonasson J., Gahrton G., Lindsten J. Et al. *Blood*, 1974, 43, 557.
26. Katayama K.P., Jones H.W., jr. *Amer. J. Obstetr. Cyneec.*, 1967, 97, 978.
27. Kirkland J.A., Stanley M.A., Cellier K.M. *Cancer*, 1967, 20, 1934.
28. Lampert F. *Klin. Wschr.*, 1967, 45, 763.
29. Levan A. *Hereditas*, 1956, 42, 366.
30. Lubs H.A., Kotler S. *Ann. int. Med.*, 1967, 67, 328.
31. Mark J. *Acta path. Microbiol. Scand.*, 1973, 81A, 588.
32. Mark G. *Hereditas*, 1973, 75, 213.
33. Maruszczar A.J., Olkowski Z.L. et al. *Strahlentherapie*, 1975, 149, 310.
34. Mitelman F. *Hereditas*, 1974, 76, 315.
35. Nowell P.C., Hungerford D.A.J. *Nat. Cancer Inst.*, 1962, 29, 911.
36. O'Grady R.B., Rothstein T.B., Romano P.E. *Amer. J. Ophtal.*, 1974, 77, 40.
37. Okagaki T. Meyer A.A., Sciarra J.J. *Cancer*, 1974, 33, 647.
38. Paul B., Porter I.H., Benedict W.F. *Humangenetik*, 1973, 18, 185.
39. Paulette-Vandrell J. *Oncology*, 1970, 24, 48.
40. Pedersen B. *Acta path. microbiol. Scand.*, 1967, 69, 451.
41. Rask-Madsen J., Philip J. *Cytogenetics*, 1970, 9, 347.
42. Reid T.W., Albert D.M. et al. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1974, 53, 347.
43. Richart R.M., Ludwig A.S. jr. *Amer. J. Obstet. Cyneec.*, 1969, 104, 483.
44. Roussea M.F. *Biomed.*, 1973, 19, 275.
45. Ruffie J., Lejeune J., Mourland D. *Trois cas de leucoses myeloblastiques aigues a clone haplo 21. Proc. Congr. Hemat. — Mexico*, 1962.
46. Sandritter W., IObel B.L., Kiefer G. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1964, 32, 1221.
47. Sofuni T., Okada H. *Cancer*, 1975, 35, 378.
48. Urbanitz D. Fechner I., Gross R. *Klin. Wschr.*, 1975, 53, 431.
49. Weinstein A.W., Weinstein E.D. *New Engl. J. Med.*, 1963, 268, 253.
50. Wilson M.G., Towner J.W., Fujimoto A. *Amer. J. Human Genet.*, 1973, 25, 57.
51. Xavier R.G., Prolla J.C. et al. *Obstet. Gynec.*, 1969, 33, 609.
52. Zang K.D., Singer H. *Nature (Lond.)*, 1967, , 84.
53. Zankl H., Zang K.D. *Humangenetik*, 1972, 14, 167.