

Dr. Dogaru Gabriela

**CERCETĂRI LA NIVEL CELULAR PRIVIND
TRATAMENTUL CU UNDE SCURTE PULSATILE**

**Editura Balneară
București
-2015-**

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României

DOGARU, GABRIELA

**Cercetări la nivel celular privind tratamentul cu unde scurte
pulsatile** / Gabriela Dogaru. - București : Editura Balneară, 2015

Bibliogr.

Index

ISBN 978-606-8705-00-2

576.3

Cuvânt înainte

Reabilitarea medicală, inclusiv componenta sa de terapie fizică, este o specialitate medicală într-o dinamică și dezvoltare continuă în contextul evoluției generale a științelor dar mai ales a dezvoltării tehnologiei în domeniul electronicii medicale, care caută și găsește mereu soluții terapeutice pentru o patologie tot mai complexă, menită să ofere posibilități noi de tratament pentru cazuri care nu demult erau considerate nerecuperabile.

În contextul actual al medicinei bazate pe dovezi se impun noi date privind efectele terapeutice și modalități de producere a lor pentru multe din mijloacele de tratament.

În acest context se înscrie lucrarea de față care face lăudabil efortul doamnei Dr. Dogaru Gabriela, care din preocupările pentru teza de doctorat a completat-o cu o monografie cu cercetări aprofundate la nivel celular care să susțină efectele terapeutice ale unei metode de tratament în reabilitarea medicală, a undelor scurte pulsatile (Diapulse), o metodă cu bune efecte terapeutice, dar care mai are multe necunoscute care trebuie elucidate.

Lucrarea are patru capitole în care se face o trecere în revistă foarte bine documentată la nivelul timpurilor actuale despre undele scurte continue și discontinue, caracteristici, tehnici, modalități de producere, indicații și contraindicații de tratament, urmate de studii structurale, ultrastructurale și histoenzimologice la nivelul suprarenalei, ca indicator și reactor rapid la stimulii externi, dar și modificări histologice la nivelul mai multor organe și țesuturi interesate în cadrul tratamentului cu diapulse.

Monografia are o sintetizare a noutăților descrise în partea de concluzii, care permite o punctualizare a celor mai importante modificări.

Prin această monografie se îmbogățesc datele științifice despre diapulse și se oferă noi informații privind eficiența și modalitățile de producere a efectelor terapeutice ale acestei metode de tratament importantă.

Conf. Dr. Onac Ioan

Șeful Disciplinei de Reabilitare Medicală a UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj Napoca

Prefață

Curenții de înaltă frecvență sunt curenți alternativi, sinusoidali, a căror frecvență utilizată în terapie este de peste 100.000 Hz (100 KHz), ajungând până la limita superioară de 300 GHz.

Dacă undele scurte continue își datorează efectele favorabile în cea mai mare parte producerii endotismulare de căldură (endotermia), în cazul undelor scurte pulsatile, mecanismul de acțiune este mai complex, acesta din urmă fiind „aterme”.

În cazul undelor scurte pulsatile, generate de aparatul Diapulse, încălzirea țesutului se produce parțial sau aproape deloc, iar efectele terapeutice ale acestor unde scurte pulsatile par să depindă mai degrabă de interacțiunile dintre câmpul electromagnetic și țesutul biologic. Aceste procese nu sunt încă foarte bine înțelese, deși s-au realizat până în prezent numeroase studii experimentale și clinice.

Prin multitudinea de efecte produse de undele scurte pulsatile asupra structurilor biologice sugerează mecanisme de acțiune complexe mergând până la nivel infrastructural cu modificări în metabolismul celular.

Deși numărul studiilor care susțin eficacitatea undelor scurte pulsatile a crescut semnificativ, mai există multe de studiat. De asemenea, mecanismele responsabile pentru acțiunea acestor unde scurte pulsatile asupra materiei vii, nu au fost încă complet elucidate. Existența unor rezultate favorabile într-o serie de afecțiuni presupun în mod obligatoriu modificări morfologice și histologice la nivelul țesuturilor tratate.

Pornind de la aspectele mai sus menționate am încercat a înțelege prin cercetări și studii experimentale efectele biologice ale acestor unde scurte pulsatile la nivelul unor organe și țesuturi, la nivel celular și subcelular.

Doresc să mulțumesc pentru realizarea acestor studii de microscopie optică și electronică Prof. Dr. Crăciun Constantin pentru tot sprijinul acordat în realizarea unor cercetări de înaltă calitate și dr. Toader Septimiu pentru toată susținerea și atenta îndrumare pe tot parcursul acestor studii.

Mulumirile mele se îndreaptă și către Prof. Dr. Pop Liviu și Conf. Dr. Onac Ioan pentru sfaturile și încrederea acordată.

CUPRINS

PREFAȚĂ	3
1. Curenții de înaltă frecvență-undele scurte continue	7
1.1. Caracteristici ale undelor electromagnetice hertziene scurte	7
1.2. Mecanismul de producere a curenților de înaltă frecvență în scop terapeutic	8
1.3. Proprietățile fizice ale undelor scurte continue	8
1.3.1. Efectul de endotermie tisulară	9
1.4. Efectele biologice ale undelor scurte continue	10
2. Curenții de înaltă frecvență-undele scurte pulsatile	12
2.1. Definiție	12
2.2. Istoric-cercetări experimentale și clinice	13
2.3. Mecanismul de acțiune a undelor scurte pulsatile	15
2.4. Efectele biologice ale undelor scurte pulsatile	17
2.5. Efecte ale undelor scurte pulsatile pe verigi fiziopatologice	18
2.6. Metodologia de aplicație cu aparatul Diapulse	21
2.7. Avantaje ale utilizării terapeutice ale undelor scurte pulsatile(Diapulse)	22
2.8. Indicații și contraindicații terapeutice	23
3. Studii structurale, ultrastructurale și histoenzimologice efectuate asupra glandelor suprarenale- studiu experimental	25
3.1. Introducere	25
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	25
3.3. Material și metodă	26
3.4. Rezultate	28
3.4.1. Aspecte macroscopice	28
3.4.2. Modificări structurale la nivelul glandei suprarenale	28
3.4.3. Modificări ultrastructurale la nivelul corticosuprarenalei	34
3.4.4. Modificări ultrastructurale la nivelul zonei medulare a glandei suprarenale	40
3.4.5. Rezultate histochimice și histoenzimologice	44
3.5. Discuții	47
3.6. Concluzii	48
4. Studii histologice la nivel de organe și țesuturi	50
4.1. Cercetări structurale la nivelul tegumentului	50
4.2. Cercetări structurale la nivelul măduvei oasoase hematogene	50
4.3. Modificări structurale de țesut muscular striat	51
4.4. Modificări celulare la nivelul ficatului	51
4.5. Modificări celulare la nivelul splinei.	54
4.6. Studii structurale asupra creierului	55
4.7. Studii ultrastructurale (microscopie electronică) efectuate asupra creierului	57
4.8. Concluzii	60
Referințe	62

1. Curenții de înaltă frecvență-undele scurte continue

1.1. Caracteristici ale undelor electromagnetice hertziene scurte

Undele electromagnetice sunt fenomene fizice în general naturale, care constau dintr-un câmp electric și unul magnetic în același spațiu, și care se generează unul pe altul pe măsură ce se propagă.

În funcție de frecvența sau lungimea de undă cu care radiația se repetă în timp, respectiv în spațiu, undele electromagnetice se pot manifesta în diverse forme.

Spectrul undelor electromagnetice este împărțit după criteriul lungimii de undă, de la frecvențe joase spre cele înalte în câteva domenii astfel: undele hertziene lungi, medii, scurte ; ultrascurte; microunde; infraroșii; radiații luminoase; radiații vizibile; radiații X (Röntgen); radiații γ .

În cartea “Electricitatea și magnetismul” publicată în 1873, James Clerk Maxwell a prevăzut drept consecință a ecuațiilor de câmp posibilitatea de a genera/detecta undele electromagnetice. Ulterior în anul 1883, George Francis Fitzgerald a observat că teoria Maxwell sugerează faptul că acest tip de unde poate fi obținut prin modificări (variații) ale curentului electric. Dacă aceste unde electromagnetice au fost prezise teoretic de “ecuațiile lui Maxwell” au fost însă descoperite experimental de Henrich Hertz în 1887 când a detectat primele unde radio (numite inițial, din această cauză, unde hertziene). Variația unui câmp electric produce un câmp magnetic variabil, căruia îi transferă în același timp și energia. La rândul lui, câmpul magnetic variabil generează un câmp electric care preia această energie. În acest fel energia este transformată alternativ și permanent dintr-o formă în cealaltă, iar procesul se repetă ducând la propagarea acestui cuplu de câmpuri.

Aplicarea terapeutică a câmpului electric și magnetic de înaltă frecvență și a undelor electromagnetice (undele decimetrice/ultrascurte de 69 cm și microundele de 12, 25 cm) cu frecvențe de peste 300 KHz (pragul lui Nernst) reprezintă terapia cu înaltă frecvență¹.

Curenții de înaltă frecvență sunt curenți alternativi, sinusoidali, a căror frecvență utilizată în terapie este de peste 100.000 Hz (100 KHz), ajungând până la limita superioară de 300 GHz. În cadrul acestui larg spectru, domeniul “undelor scurte” este cuprins între 3-30 MHz. Aparatura modernă de terapie cu unde scurte este realizată în zilele noastre pe frecvența normată de 27, 12 MHz și lungimea de undă de 11, 06m^{2,3}.

Pentru aparatura de terapie cu unde scurte au fost statuate conform Convenției de la Atlantic City din 1947 lungimile de undă de 22, 12m (13,56 MHz) ; 11, 06 m (27, 12 MHz) utilizându-se anumite culoare stricte de frecvență, pentru a nu interfera cu undele folosite în telecomunicații ^{1,4}.

Curenții de înaltă frecvență au fost descoperiți la sfârșitul secolului al-XIX-lea, de către fizicianul iugoslav Nicola Tesla, iar un an mai târziu în 1881 a fost construit primul aparat ce putea genera astfel de curenți cu lungimi de undă mai mare, de către cercetătorul francez Jacques D’Arsonval, de aceea inițial, aplicația de curent de înaltă frecvență s-a numit “ d’arsonvalizare”, termen care nu mai este folosit în prezent ⁵.

În prezent se folosesc curenți de înaltă frecvență cu unde scurte continue, și unde scurte pulsatile (Diapulse) cu frecvențe de 27, 12 MHz și lungimea de undă de 11,06 m, microundele (unde centimetrice) și undele decimetrice cu frecvența 424-2000 MHz și lungimea de undă între 12, 5-6, 9 cm)⁶.

1.2. Mecanismul de producere a curenților de înaltă frecvență în scop terapeutic

Emisia de unde scurte/ultracurte presupune un circuit electric oscilator primar, care transformă curentul electric de la rețea în oscilații de înaltă frecvență. Inițial, circuitele oscilante primare funcționau prin fenomenul de descărcare a unui condensator, la care tensiunea dintre armături devenea suficientă, pentru a străpunge stratul de aer dintre acestea. Străpungerea dielectricului, produsă fulgerător, atât ca bruscă, cât și ca durată, în ambele direcții, determină oscilații de înaltă frecvență cu amortizare însă foarte rapidă. Oscilații cu adevărat întreținute, cu intensități și amplitudini egale, la frecvențe semnificativ superioare s-au obținut odată cu apariția triodelor.

Componentele principale ale circuitului sunt : o bobină, un condensator și inițial au fost un scânteietor (eclator), apoi s-a ajuns la un număr de 20 de eclatori la aparatele care furnizau curenți de înaltă frecvență cu unde medii (diatermia)¹.

Introducerea și utilizarea ulterioară a magnetronului în locul triodelor au dus la obținerea de aparate care generau oscilații, cu fenomene de autoexcitație, la frecvențe de peste 10 ori mai mari (unde decimetrice), circa 100 de ori (microunde), până la peste 1000 de ori mai mare (unde milimetrice), a prezentat elementul de progres tehnic permisiv pentru generarea și introducerea în practica fizioterapeutică a curenților de înaltă frecvență/undelor ultracurte ^{5,7}.

1.3. Proprietățile fizice ale undelor scurte continue

- În mediu omogen undele hertziene se propagă în linie dreaptă cu o viteză de aproape 30.000 km/sec.
- Ele nu sunt deviate de către câmpurile electrice sau magnetice.
- Dau naștere la fenomene de reflexie și absorbție, de interferență și difracție.

Undele scurte traversează corpurile solide, cum este organismul uman sau diferitele sale segmente foarte ușor și o mică fracțiune (însă nu neglijabilă) din energia lor va fi cedată țesuturilor traversate. Acestea vor genera în interiorul conductorilor pe care îi străbat, curenți oscilanți induși de aceeași frecvență, denumiți curenți Foucault, care vor emite la rândul lor, unde similare în aceeași direcție și în direcții învecinate cu unda incidentă, creând fenomenul de difracție. O parte din energia absorbită la trecerea curenților va fi transformată în căldură (efect Joule), iar o alta va fi transformată în efecte fizico-chimice^{4,5,8}. Deci acești curenți produc fenomene capacitive (putând străbate cu ușurință rezistențe capacitive) și

fenomene inductive, pot fi generați/reprodusi într-o structură, inclusiv biologică, aflată în interiorul sau în vecinătatea unei bobine (solenoid).

În concluzie diverse segmente ale corpului amplasate în zona de acțiune fie sunt străpunse, asemeni unui condensator, între electrozi, fie se va induce în segmentul de tratat un curent de înaltă frecvență, în funcție de modalitatea de aplicare ⁵.

- Nu produc fenomene electro-chimice (electroliză, disociație și migrare ionică), nu produc fenomene de polarizare.
- Datorită frecvențelor ridicate, respectiv a duratei extrem de mici a fiecărui impuls electric alternativ, sub 0, 01ms, nu realizează excitabilitate neuro-musculară (pragul inexcitabilității neuro-musculare a lui Nernst, situat la 300.000-500.000 Hz) ⁵.
- Efectul pelicular, în mediile metalice omogene, cu rezistență mică, cum ar fi conductorii metalici, curentul de înaltă frecvență se propagă la suprafață rezultând efectul pelicular ⁶.
- Curenții de înaltă frecvență transmit în mediul înconjurător la distanțe foarte mari, unde electromagnetice de aceeași frecvență cu a curentului care le-a generat. Fenomenul stă la baza radiofoniei și televiziunii ¹.

1.3.1. Efectul de endotermie tisulară

- Efectul de endotermie tisulară prin transformarea energiei electromagnetice în energie termică, care va produce în acest mod încălzirea în profunzime a țesuturilor.

Datorită acestei caracteristici principale, curenții de înaltă frecvență sunt utilizați în procedurile de termoterapie cu acțiune profundă (căldura se formează în interiorul țesuturilor organismului). Aplicațiile terapeutice cu înaltă frecvență au un efect remanent, temperatura corpului rămânând ridicată timp de 48-72 de ore după procedură ^{1, 5}. Cu toate acestea tegumentul nu se încălzește semnificativ, iar circulația sangvină cutanată, cu rol în procesul de termoreglare nu se adaptează prin vasodilatație pentru a prelua excesul de căldură produsă local. Așadar, zona profundă se încălzește puternic, ca o enclavă, termoreceptorii cutanați fiind "păcăliți" de energia convertibilă caloric a curenților de înaltă frecvență, care nu îi excită ⁵.

Penetrația lor tisulară și efectul caloric depind în primul rând de frecvența curenților (ea crește odată cu creșterea frecvenței), de constantele electrice și particularitățile histobiochimice ale structurilor tisulare străbătute, de metodologia de aplicație și distanțele electrozilor față de suprafața corporală tratată.

Datorită penetrației lor extrem de facile la nivelul tegumentului, în directă relație cu frecvența foarte mare, curenții de înaltă frecvență pot realiza un efect de încălzire profundă a țesuturilor pe o adâncime relativ corelată cu capacitatea de penetrare, în general între 2-5 cm profunzime, astfel :

Pentru undele scurte emise în câmp condensator, profunzimea maximă este de 2-2,5 cm, dintre care în mușchi maximum 1 cm. Pentru unde scurte emise în câmp inductor continuu, profunzimea maximă este de 3- 3,5 cm dintre care în mușchi

maximum 1,5-2 cm. Pentru undele ultrascurte profunzimea maximă este de 5 cm dintre care în mușchi maximum 1,5-2 cm. Pentru microunde, profunzimea maximă de 3-3,5 cm dintre care în mușchi maximum 1 cm ⁵.

Penetrația undelor scurte scurte pulsatile (Diapulse) maximum 20 de cm (8 inch).

Explicația acestui fapt ar rezida în însăși particularitatea fundamentală a aplicațiilor tip Diapulse. Aici se anulează efectul termic al undelor scurte continue. Consumându-și într-o proporție semnificativ mai mică energia electromagnetică în conversie termică, este posibil ca aceste unde fiind mai puțin absorbite în țesuturi, să aibă o transmisie/parcurs superior spre profunzime ^{1, 5}.

A fost măsurat prin numeroase experimente gradul de încălzire pentru diverse Țesături superficiale și profunde în funcție de lungimea de undă, intensitate, mod de aplicare. S-a constatat că dozele slabe de unde scurte cresc temperatura cutanată cu 1 grad, dozele medii cu 1-3 grade, și dozele puternice cu peste 3 grade. Mucoasele (vaginală, de exemplu) suportă o doză mai crescută datorită vascularizației abundente ^{5, 9}.

1.4. Efectele biologice ale undelor scurte continue

În urma aplicării undelor scurte au fost semnalate efecte biologice multiple. Majoritatea acestora fiind puse pe seama efectului termic ca decurgând din el, altele, mult mai puține ca număr fiind rezultatul acțiunii specifice a energiei electromagnetice.

Un efect biologic major, care are multiple consecințe terapeutice este reacția de vasodilație, în special în teritoriul arteriolar, cu hiperemie locală. Extinsă la teritorii mai mari, vasodilația arteriolară va determina scăderea rezistenței periferice, cu scăderea consecutivă a tensiunii arteriale, în special a celei diastolice. Efectul vasodilatator, a cărui țintă este aparatul circulator, are la bază două efecte :

- efectul miorelaxant/antispastic direct al căldurii, inclusiv asupra fibrelor musculare netede din peretele vascular.
- efectul vasodilatator al factorilor autocoizi, în special de tip histaminic, prostaglandinic și kininic: încălzirea puternică duce la descărcarea de factori antacoizi care, la rândul lor , augmentează procesul de vasodilație ⁵.

Efecte imunobiologice datorate endotermiei, sunt reprezentate de creșterea puterii fagocitare. Aceasta se sprijină atât pe elementele calitative, prin creșterea metabolismului oxidativ, dar și pe elemente cantitative prin sporirea numerică, în zonă, a unităților celulare prin afluxul leucocitar de căldură locală ⁵.

Acțiunea antibacteriană care s-ar putea explica prin doua mecanisme. Prin creșterea puternică a temperaturii locale 41°-42 ° C poate produce distrugerea unor microbi sensibili la asemenea temperaturi, iar afluxul de substanțe imunobiologice active poate stimula verigile reactivității imune a organismului și a facilita evoluția unui proces supurativ local ⁵.

Efectul biotrofico-metabolic, resorbtiv, de ameliorare a clearance-ului tisular (creșterea aportului de sânge arterial, oxigenat și cu substanțe nutritive, cu virarea metabolismului spre aerobioză, cu îndepărtarea cataboliților acizi în sângele venos, combatându-se astfel acidoza locală) și de deplasare a activității echipamentelor protein-enzimatice în palierul termic de optim funcțional $39^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ⁵.

Efecte asupra sistemului nervos, unii autori descriu efecte analgezice și sedative. Totodată se constată, la nivelul sistemului nervos periferic, creșterea în zonele supuse endotermiei a vitezei de conducere a nervilor periferici⁵.

Efecte proteolitice (inclusiv fibro și fibrinolitice) de rupere a aderențelor post lezionale/inflamatorii, ca rezultat al hipertermizării tisulare (implicând probabil și atingerea unor paliere termice de activare proteazică). Prin cercetări mai recente se poate vedea că efectul antifibrotic s-ar putea să se bazeze și pe alte mecanisme de modulare celulară ^{5, 10}.

Un efect mai complex de stimulare selectivă a funcției mesenchimale elementare a țesutului conjunctiv. Acest efect nu este neapărat legat de entotermizarea tisulară, întrucât se întâlnește cu pregnanță și la undele scurte pulsatile (ce nu au efecte termice). Probabil acest efect are la baza acțiunea câmpurilor electromagnetice de "forțare" a sistemelor de transfer ionic transmembranar, favorizând astfel deplasări/fluxuri ionice și de substanțe, datorită orientării lor polare în câmpul creat de curenții de înaltă frecvență ⁵.

Efectul biotrofic, efect mai accentuat pentru undele scurte pulsatile decât în cadrul undelor scurte/ultracurte în regim de emisie continuă ⁵.

Asupra glandelor endocrine, în special asupra gonadelor unde se obțin efecte de stimulare sau de inhibiție în funcționalitatea acestora în funcție de doză. Funcțiile gonadice, în special cele feminine sunt sanogen influențate prin efectele terapeutice importante de tip biotrofic și antibacterian, exercitate de endotermie la nivelul unor structuri ale aparatului genital (de exemplu în dismenoree, metroanexite, diatermia favorizând resorbția exudatelor cronice și îmbunătățirea troficității) ⁵.

Efectele biologice multiple descrise mai sus au fost puse pe seama efectului termic important al undelor scurte, efectele specifice ale acestor unde electromagnetice trecând de cele mai multe ori neobservate. Cu toate acestea, unele date experimentale au sugerat posibilitatea existenței unei acțiuni proprii energiei electromagnetice de înaltă frecvență. Astfel, acțiunea asupra centrilor termoreglării, demonstrată de experiențele lui Rajewsky, pare să nu fie determinată doar de endotermie, ci să reprezinte o acțiune specifică, cu atât mai mult cu cât hipotalamusul este în același timp un centru nervos, vegetativ și endocrin. Nu este exclusă nici acțiunea directă asupra țesutului renal, care posedă multiple sisteme hormonale de autoreglare ^{4, 11}.

În urma cercetărilor din domeniul utilizării biomedicale a undelor scurte pulsatile (Diapulse), la care endotermia este practic suprimată, se pare că o parte a acestor efecte, respectiv efectele analgetice, de stimulare a funcțiilor mezenchimale, efectul biotrofic, asupra metabolismului, asupra ritmului cardiac s-ar datora mai ales energiei proprii acestor unde scurte ⁴.

2. Curenții de înaltă frecvență-undele scurte pulsatile

2.1. Definiție

Undele scurte pulsatile nu sunt altceva decât unde electromagnetice scurte, emise sub formă de trenuri intermitente cu durată fixă, separate între ele de intervale libere cu durată variabilă⁴.

Primele cercetări asupra undelor electromagnetice scurte pulsatile au fost efectuate începând din anul 1930, de către fizicianul american Arthur Milinowski, iar doctorul Abraham Ginsberg din New York, în anul 1934 a prezentat la Academia de Medicină din New York articolul "Ultrashort Radio Waves as a Therapeutic Agent", fiind primul publicat asupra acestui subiect în SUA și în lume. În 1954, col. dr. George M. Knauf, a obținut aparate de unde scurte pulsatile denumite Diapulse și a început cercetări la câteva din bazele aeriene din zona New York.

Aparatul Diapulse furnizează curenți de înaltă frecvență de 27,12 MHz, și cu o lungime de undă de 11,6m, furnizând „trenuri” de impulsuri cu anvelopă dreptunghiulară, cu durată de 65 microsecunde¹.

Deci durata unui impuls este de 65 microsecunde; impulsurile fiind separate de pauze ce variază în trepte, de la o durată de 25 de ori mai mare decât durata impulsului, la o frecvență de 80 de impulsuri/secundă.

Frecvența impulsurilor este dozată în șase trepte, între 80 -600 impulsuri/secundă, respectiv 80-160-300-400-500-600; penetrația este împărțită în șase trepte de la 1-6.

Intensitatea energiei de lucru a aparatului este cuprinsă între 293-975 W. La puterea maximă de 975W corespunde o putere medie a câmpului electromagnetic generat, de 38 W. Aceasta crește odată cu creșterea frecvenței impulsurilor.

Durata mare a pauzei în raport cu durata impulsurilor face ca efectele calorice ale acestei înalte energii să se disperseze până la dispariție (fenomen mai evident la frecvențele mai rare), astfel încât efectele biologice au o durată mai lungă și o estompare mai lentă. Frecvența impulsurilor a fost calculată astfel încât fiecare impuls care urmează, să cadă pe un efect biologic persistent, produs de impulsul precedent, iar efectele biologice persistente, obținute spațiat, să se însumeze pentru o perioadă de timp. S-a mai constatat că pentru stimularea unor mecanisme fiziologice mai fine, nu trebuie depășită frecvența de 300-400 impulsuri/secundă^{2, 3, 4, 5}.

Diapulse este o marcă înregistrată Diapulse Corporation of America.

Penetrația câmpului realizat de Diapulse este în funcție de intensitate, prezentând un maximum de 20 cm (8 inch) care corespunde intensității maxime de lucru de 975 W.

Această funcționare în regim „iterativ” datorită valorii mici a coeficientului de umplere $K_u = t_i/T$ (0,5%-4%), permite ca efectele termice ale energiei de radio frecvență să se disperseze rapid, până la anulare (fenomen mai evident la frecvențele mici (80Hz))¹.

Disiparea efectului caloric face ca această procedură să fie lipsită de efecte hipertermice locale.

2.2. Istoric-cercetări experimentale și clinice

Există numeroase studii și cercetări experimentale pe animale de laborator, culturi de celule și țesuturi care au urmărit evidențierea efectelor biologice și a elucidarea mecanismele de acțiune ale undelor scurte pulsatile.

Au fost studiate experimental efectele undelor scurte pulsatile asupra regenerării și remielinizării nervilor periferici prin leziuni, secționări la nivelul nervilor peronieri comun la șobolanii masculi ^{12, 13}, pe nervul sciatic ^{14, 15, 16, 17}, la pisici ¹⁸.

Cercetări întreprinse pe culturi de fragmente tisulare asupra țesutului palatal la embrionii de șoareci, pe lambouri de piele recoltate de șobolanii albi, însă rezultatele au fost inconstante, sugerând o accelerare a diferențierilor celulare și un efect sistemic al undelor scurte pulsatile¹⁹.

Sub acțiunea undelor scurte pulsatile s-a observat prin măsurători fotografice accelerarea semnificativă a resorbției hematoamelor experimentale ²⁰.

Studii umane și pe animale indică faptul că tratamentul cu unde scurte pulsatile la scurt timp după leziuni la nivelul măduvei spinării protejează neuronii, promovează regenerarea și minimizează funcția pierdută.

Dr. W. Erdman (Philadelphia, 1960) a demonstrat că undele scurte pulsatile cresc fluxul de sânge sistemic fără a modifica pulsul sau tensiunea arterială. Acest fapt s-ar datora cel mai probabil capacității generate de câmpurile Diapulse pentru a induce celulelor albe și roșii din sânge un anumit aliniament asemănându-se șiragului de perle, o astfel de aliniere face ca celulele sangvine să treacă mai eficient printr-un spațiu vascular dat ²¹.

Dr. H. Crock (Londra) a subliniat faptul că fluxul de sânge este factorul principal care trebuie abordat după leziunii ale măduvei spinării. Având în vedere capacitatea undelor scurte pulsatile de a crește fluxul de sânge, studiile indică efecte favorabile asupra vindecării leziunilor la nivelul măduvei spinării ^{22, 23}.

Dr. Wise Young (New York, 1984) a arătat prin studii de laborator, pe pisici, că aplicarea terapiei Diapulse pe măduva spinării, la scurt timp după leziune se reduce acumularea de calciu în apropierea zonei afectate. Aceasta este asociată cu o recuperare mai bună a funcțiilor motorii și senzitive ale măduvei spinării ²⁴. S-a ajuns la concluzia că undele scurte pulsatile pot exercita influențe regenerative și neuroprotectoare dacă sunt administrate la scurt timp după leziunea măduvei spinării.

Prin studii experimentale, pe șobolani a fost remarcată accelerarea vindecării rănilor ^{25, 26}.

De asemenea s-a constatat că acțiunea acestor unde nu promovează orice creștere a populației de celule, indicând siguranța acestui tip de terapie pentru procesul de vindecare a plăgilor, însă un posibil mecanism molecular pentru aceste efecte este discutat ²⁷.

Prin cercetări experimentale pe șobolani, s-a studiat capacitatea undelor scurte pulsatile de a antagoniza aritmiile cardiace centrogene, după injectarea unui agent aritmogen (glutamat de Na) în sistemul nervos central și după stimularea

electrică a unei zone din hipotalamus, observându-se că aceste unde scurte au proprietatea de a antagoniza, până la eliminare, efectele aritmogene ale glutamatului de Na, împiedicarea eliberării sau scăderea sintezei de acetilcolină pot să ofere cea mai bună explicație pentru aceste efecte ⁴.

Studii histologice pe fragmente de organ și țesuturi (ficat, creier, suprarenală) s-au întreprins pe animale de experiență (șobolani rasa Albino Wistar), care au fost supuși acțiunii undelor scurte pulsatile la diferiți parametrii, urmărindu-se și efectele regenerative ale acestor unde asupra unor structuri biologice supuse anterior acțiunii unor substanțe nocive (alcool etilic). S-au făcut cercetări asupra ultrastructurii hepatice, a mitocondriilor hepatice, s-a dozat activitatea unor enzime „marker” mitocondriale din țesutul hepatic fiind remarcat faptul că undele scurte pulsatile determină la animalele de experiență, indiferent de parametrii utilizați, modificări în desfășurarea metabolismului energetic celular ⁴.

Un studiul experimental a constatat în expunerea unor animale de laborator, respectiv șobolani albi Wistar, la acțiunea undelor scurte pulsatile la parametrii diferiți (1/80, 4/400, 6/600 impulsuri/sec.) 10 min/zi, 15 zile și urmărirea modificărilor de structură celulară și subcelulară care ar putea apărea în diferite organe și țesuturi. S-a constatat că cele mai sensibile organe la acțiunea acestor unde au fost ficatul, splina, suprarenala, creierul, modificările produse la nivelul acestora fiind în funcție de parametrii folosiți ²⁸.

Există cercetări clinice privind efectele terapeutice ale undelor scurte pulsatile într-o gamă largă de afecțiuni din diferite domenii :

În tratamentul tinitusului cronic, fără a avea rezultate semnificative ²⁹;

În domeniul ortopediei și traumatologiei fiind influențate în mod favorabil edemul, durerea, hematomul, redoarea, durata de vindecare, în numeroase afecțiuni (contuzii, luxații, entorse, fracturi, hematoame, algoneurodistrofii) ^{30, 31, 32, 33, 34} ;

În domeniul ginecologiei (în boala inflamatorie pelviană) ³⁵;

În resorbția hematoamelor după rinoseptoplastie ³⁶;

În accelerarea vindecării ulcerelor de decubit, plăgi postoperatorii, ulcere arteriale, ulcere venoase de stază, ulcere diabetice ^{37, 38, 39, 40}. Unii au observat că la pacienții tratați postoperator pentru ulcere de decubit cu aceste unde, începând cu a treia zi a crescut sinteza de fibronectină cu rol în procesul de vindecare. De asemenea tratamentul cu unde scurte pulsatile restabilește imediat potențialul electric al celulei, reducând și edemul. Sunt polarizate și celulele din sânge care le determină forma și reagulul de perle, acest lucru permițând celulelor de a intra în vasele de sânge, care primind fluxul de sânge necesar determină vindecarea țesuturilor ischemiate ⁴¹.

Un studiu al enzimelor în cazul rănilor provocate de arsuri a demonstrat că activitatea proteinazelor, LDL (low density lipoprotein) și fosfataza alcalică sunt reduse după terapia cu Diapulse. Cu cât Diapulse este folosit mai rapid pe țesuturile afectate, cu atât activitatea naturală enzimatică este restabilită ⁴². Au existat aplicații în dermatologie a undelor scurte pulsatile: eczeme, ulcere, escare ⁴³.

Pe studii clinice mari, dr. .M. Sambasivan (India, 1993) a arătat că Diapulso-terapia reduce edemul cerebral după traumatisme craniene ⁴⁴.

Utilizarea undelor scurte pulsatile după mamoplastie pentru reducerea contracturii capsulare ⁴⁵;

Există studii și în cazul migrenelor, cu efecte favorabile ^{46, 47};

În domeniul cancerologiei există mai puține studii ^{43, 48};

S-au urmărit modificări a unor parametrii bioumoralii sub influența undelor scurte pulsatile (hematii, leucocite, trombocite, bilirubina totală, fosfataza alcalină, transaminaze, cortizolul plasmatic). Nu s-au constatat modificări decât la nivelul leucocitelor și fosfatazei alcaline cu ușoare creșteri ⁴⁹.

S-au urmărit de asemenea modificările unor parametrii ai metabolismului proteic, metabolismul lipidic, sistemului coagulare fibrinoliză, observându-se o ameliorare a fibrinolizei și a adezivității plachetare la majoritatea pacienților, o tendință de scădere a HDL (high density lipoprotein) colesterol ⁴.

Rezultate bune s-au obținut cu undele scurte pulsatile și în bolile reumatismale de natură inflamatorie ⁴³.

În ceea ce privește reumatismele degenerative (artroze, spondilartroze) rezultatele cercetărilor sunt diferite, existând păreri contradictorii. Unii autori publică rezultate bune în artrozele cervicale ⁵⁰, în artrozele articulației temporomandibulare ⁵¹, în durerii cronice la nivelul coloanei lombare ⁵², există studii și în boala Paget ⁴³, și în coxartroze ⁴³.

S-a încercat a se evalua eficacitatea undelor scurte pulsatile prin scintigrafie cu leucocite marcate în tratamentul artrozei de genunchi, însă nu s-au observat modificări semnificative a simptomatologiei ^{53, 54}. Studiile lui Quirk, (1985) au arătat că exercițiile fizice împreună cu undele scurte pulsatile au avut rezultate bune asupra durerii și mobilității articulare în artroze.

Svarcova în 1988 observa la pacienții coxartroză și gonartroză că după 10 zile de tratament undele scurte pulsatile au avut efecte favorabile asupra durerii.

Klabber Moffat (1991) pe un studiu randomizat controlat a urmărit efectele undelor scurte pulsatile la parametrii diferiți în artroza de genunchi, a monitorizat durerea, abilitatea funcțională și mobilitatea articulară de la 3 săptămâni de tratament pe o perioadă de 3 luni. Nu a constatat modificări semnificative între grupurile de pacienți ⁵⁵.

2.3. Mecanismul de acțiune a undelor scurte pulsatile

Cercetările experimentale cât și multitudinea efectelor terapeutice observate prin studiile clinice descrise sugerează mecanisme de acțiune complexe, mergând până la nivel infrastructural, cu implicații profunde în metabolismul intim celular. Dacă undele scurte continue își datorează efectele favorabile în cea mai mare parte producerii endotusulare de căldură (endotermia), în cazul undelor scurte pulsatile, mecanismul de acțiune este mai complex, acesta din urmă fiind „aterme”. Însă D'Arsonval și Schliephake au presupus existența unor acțiuni și efecte biologice proprii energiei electromagnetice de înaltă frecvență. Consumându-și într-o proporție semnificativ mai mică energia electromagnetică în conversie termică, este posibil ca undele scurte în regim pulsant să fie mai puțin absorbite în țesuturi, și să aibă o transmisie/parcurs superior spre profunzime ^{4, 5}.

Lucrările lui Bassett din 1954, au dovedit comportamentul piezoelectric al structurilor osoase. În 1957 Fukada și Yasuda arată că acest fenomen piezoelectric

se datorează proprietăților collagenului și nu cum se credea, structurilor minerale din compoziția osului ⁴.

Toți biopolimerii (complexe proteice organizate) au proprietăți piezo, piro, și fero electrice (deci sunt transductori), adică orice energie fizică, mecanică, termică sau electromagnetică pe care le-o aplicăm se traduce prin modificarea stărilor electrice. Aceasta nu este altceva decât proprietatea de electret ⁴.

În 1935, Dennier a descris „fenomenul șiragului de perle”, adică prin aplicarea unei energii electromagnetice pe un lambou de țesut, celulele au tendința de a se orienta în formă de mici șiraguri. Biopolimerii și în special collagenul având proprietăți piezo, piro și feroelectrice, orice șoc, orice energie electromagnetică sau termică aplicată asupra lor antrenează producerea de sarcini electrice negative care se acumulează în interiorul acestor structuri ⁴.

Deci unul din mecanismele de acțiune ar fi producerea de sarcini electrice negative în țesuturi prin efecte piezoelectrice, în special la nivelul proteinelor care se comportă ca și cristale lichide. Aceste sarcini se înmagazinează pe loc în electreți biologici, care sunt rezervoare de sarcini negative ⁴.

Studii electronomerice au relevat că substanțele de bază ca acidul hialuronic și diferite mucopolizaharide au o încărcătură electrică coloido-negativă. Durata conservării sarcinilor negative în interiorul electreților biologici este diferită în funcție de țesut: creierul nu conservă practic deloc sarcinile negative, inima aproximativ 3 zile, iar oasele și mușchii 7-8 zile. Aportul sarcinilor negative reprezintă elementul fundamental care permite diferitele reacții enzimatice, celulele, în general, neputând să trăiască decât într-o „ambianță” negativă (transferul de electroni stă la baza oricărei reacții metabolice). Această acțiune a undelor scurte pulsatile se produce în deosebi la nivelul țesutului conjunctiv datorită proprietății acestora, a collagenului din structura sa ⁴.

Ludwig și Constantinescu susțin modificarea potențialului electric membranar și a stocului celular de ATP (adenozintrifosfat) (creșterea lui, sub influența undelor scurte pulsatile)⁴.

Organismul este un excelent emițător-receptor, fiind sensibil la diverse semnale pe care le primește, mai ales semnale repetate, regulate, descriind fenomenul de rezonanță. Se știe că molecula vie are o structură spațială helicoidală, în special acizii aminați fundamental. Această structură a moleculei îi permite să se comporte ca o antenă capabilă, să capteze unele semnale cum ar fi undele hertziene, și de a intra în rezonanță cu ele ⁴.

Romero Siera și Tanner ⁵⁶ au descris în modul următor efectele atermice: modificarea potențialelor electrice (intercelulare, membranare, intracelulare), inducție a curenților electrice acționând asupra conducției nervoase, efectul Hall, piezoelectricitate, rezonanță biochimică, efecte electrochimice, efecte chimice, modificarea forțelor fizice în biosistem, modificarea circulației lichidelor biologice în aparatul circulator.

Efectele biologice și terapeutice ale undelor scurte pulsatile s-ar explica după cei mai mulți autori printr-o activare a reacțiilor enzimatice celulare, și printr-o stimulare a funcției hepatice, suprarenaliene și a sistemului conjunctivo-vascular. Însă toate acestea necesită un consum crescut de energie din partea celulelor și a țesuturilor.

Având în vedere că mitocondria reprezintă sediul principal al respirației celulare și rezervorul de energie al celulei, s-au făcut cercetări experimentale pe șobolani supuși iradierii cu parametri diferiți, cercetări asupra metabolismului energetic celular prin determinarea activității unor enzime mitocondriale adenzin trifosfataza magneziu dependentă (ATP-aza), citocrom oxidaza, monoamin oxidaza, succinat dehidrogenaza, hidroxibutirat dehidrogenaza, malat dehidrogenaza, glutamat dehidrogenaza și dozarea ATP (adenozin trifosfat), ADP (adenozin difosfat), AMP (adenozin monofosfat). Concluziile care s-au desprins au fost că undele scurte pulsatile au determinat la animalele de experiență, indiferent de parametri utilizați modificări în desfășurarea metabolismului energetic și cele mai afectate enzime mitocondriale au fost ATP-aza și citocrom oxidaza. Efectele aplicării acestor unde este benefică pentru celule, stimulând eliberarea unor cantități sporite de energie, necesare proceselor reparatorii ^{4, 57}.

2.4. Efectele biologice ale undelor scurte pulsatile

Un efect biotrofic important este ameliorarea mobilității ionice intra/extra și transmembranar celular, având ca rezultat reechilibrarea pompei de Na⁺ și K⁺, a activității ATP-azice conexe și implicit, a ansamblului sistemelor de transport activ, având drept consecință combaterea /eliminarea stărilor de depolarizare reziduală, cu refacerea polarității membranare fiziologice de repaus. Acest efect crează premise sanogene consistente prin reconstituirea disponibilității excitatorii ce stă la baza activității funcționale celulare, în special la SBPE (structuri biologice preformat excitabile) ⁵, care determină în special o acțiune anti edematoasă, antihemoragică.

Crește afluxul sangvin periferic prin amplificarea vascularizației locale, efect urmărit și prin aplicarea succesivă a localizatorului-emitor pe regiunile suprahepatică, epigastrică sau suprarenaliană (pe lângă aplicația pe regiunea afectată). Mărirea și redistribuția fluxului sangvin cu creșterea consecutivă a oxigenării la nivelul celulelor în general și a celulelor nervoase în special contribuie evident a procesul de vindecare ¹.

Stimulează procesele anabolice celulare din țesuturile tratate ¹.

Determină o activare a funcției hepatice, suprarenaliene și a sistemului reticulo-endotelial antrenând o acțiune antiinflamatoare și antiinfecțioasă foarte importantă ⁴.

Un efect mai complex este cel de stimulare selectivă a funcției mezenchimale elementare a țesutului conjunctiv, efect care are la bază probabil acțiunea câmpurilor electromagnetice de „forțare” a sistemelor de transfer ionic transmembranar, favorizând astfel deplasări/fluxuri ionice și de substanțe ⁵.

Influențează favorabil procesele de regenerare a țesutului nervos ^{1, 17}.

Au o acțiune de repolarizare negativă având un efect antialgic, antispasmodic și sedativ ⁴.

Însă există studii experimentale recente, pe animale, șobolani, care arată efectele fiziologice ale radiofrecvenței, atât în regim de emisie pulsant, cât și continuu,

la doze atermice, de modulare în sens analgetic a activității neuronale la nivelul cornului medular posterior, efecte deci nelegate de diatermie, dar nici de pulsilitatea câmpului ⁵⁸.

Ar stimula structurile celulare în menținerea și creșterea capacităților histofuncționale naturale de apărare și regenerare prin ¹:

- stimularea activității sistemului reticulo-histiocitar;
- creșterea nivelului sangvin al gamaglobulinelor ⁴;
- creșterea infiltrației leucocitare ⁴⁹;
- stimularea hematopoezei;
- favorizează formarea collagenului în procesele reparatorii tisulare ⁵⁵.

2.5. Efecte ale undelor scurte pulsatile pe verigi fiziopatologice

Ameliorează evident osteoporozele, în special cele posttraumatice, în algoneurodistrofii ^{4,33}. Referitor la efectele undelor scurte pulsatile în algoneurodistrofie s-au constatat următoarele:

a) Este foarte posibilă o normalizare a transmiterii influxului nervos prin Fibrele respective periferice, ceea ce ar duce la întreruperea cercului vicios al algoneurodistrofiei. Se influențează nu numai transmiterea influxului nervos prin fibrele somatice, ci și prin cele vegetative simpatice.

b) Tulburările vasculare caracterizate prin hipovascularizație și stază, pot fi în Egală măsură combătute prin acțiunea undelor scurte pulsatile.

c) Aplicarea locală (pe zona afectată) a tratamentului este justificată de Acțiunea locală a undelor scurte pulsatile, care produc microșocuri pe structurile cristaline ale osului (în special collagenul), cu producerea de sarcini electrice negative ce vor avea drept consecință creșterea activității osteoblastice și depunerea de săruri calcice în os. Nu este exclusă nici intervenția în metabolismul energetic al osteoblastului ⁴.

Accelerează substanțial procesul de calusare a fracturilor ^{59,60}.

Accelerează evident resorbția hematoamelor experimentale ²⁰ și clinice postoperatorii după rinoseptoplastie, un studiu clinic pe 38 de pacienți ³⁶, și rezolvă spectacular inflamațiile infecțioase și neinfecțioase.

În ceea ce privește combaterea hematoamelor fenomenele s-ar produce în felul următor: datorită lezării vaselor sangvine, mastocitele din zona respectivă produc histamină, care inhibă reacția leucocitară. În momentul în care apare o reacție trombocitară, protrombinică suficientă, aceleași mastocite vor produce heparină, care stimulează activitatea leucocitelor în fagocitarea hematomului.

Se pare că tratamentul cu unde scurte pulsatile (Diapulse) crește producția trombocitară și reacția protrombinică. Acestea vor face ca mastocitele să sară treapta de histaminosecreție și heparina va apărea imediat pentru a accelera activitatea fagocitară a leucocitelor în resorbția hematomului ^{4,20}.

Reduce până la dispariție edemul tisular și deteriorările celulare produse experimental, scurtând remacabil timpul de vindecare ^{61,62,31,63,41,64}.

A fost avansată o explicație plauzibilă asupra efectelor favorabile ale undelor scurte pulsatile în ceea ce privește edemul. Când celulele unui țesut sunt lezate (arsuri, etc.) se produce o depolarizare a țesutului; aceasta duce la o scădere a sintezei de ARN (acid ribonucleic) și ADN, precum și o încetinire a funcționării pompei de sodiu. Datorită acestor procese crește permeabilitatea celulară, iar apa și Na^+ intră în celulă formând edemul, în timp ce membrana celulară își schimbă polarizarea. Scopul acestei reacții este refacerea sarcinilor negative indispensabile. Apa și Na^+ sunt conductori electrici excelenți, iar prin formarea edemului se produce o compresiune asupra pereților celulelor sănătoase. Acest fenomen induce un răspuns piezoelectric și permite celulelor sănătoase să transfere ioni negativi, ducând la o creștere a sarcinilor negative a celulelor lezate. Odată ce se restabilește potențialul negativ al celulei lezate, ionul de Na^+ și apa ies din celulă, K^+ trece liber prin membrana celulară și polarizarea normală a țesutului se reface. Undele scurte pulsatile contribuie la eliminarea edemului prin următorul proces: prin plasarea țesuturilor lezate în câmpul electromagnetic, prin fenomene piezoelectrice și feroelectrice, se restabilește rapid încărcătura tisulară de sarcini negative ce vor fi transferate celulelor lezate, urmând apoi refacerea potențialului celular prin ieșirea Na^+ și a apei și intrarea K^+ în celulă (aceste fenomene sunt foarte evidente în zonele de lezare traumatică acută) ^{4,40,41,64}.

Accelerează cicatrizarea diverselor plăgi accidentale sau postoperatorii prin reepitelizări bune și rapide ¹², vindecarea unor escoriații prin expunerea la unde scurte pulsatile de $4x / zi$, 30 de minute sedința, 7 zile ^{36,65} vindecarea și cicatrizarea unor incizii chirurgicale prin aplicații și asupra ficatului pentru a crește nivelul activității hematopoetice ⁶⁵.

Accelerează vindecarea ulcerelor de decubit (în leziuni ale măduvei spinării) ⁴⁰, ulcere arteriale, ulcere varicoase de stază, ulcere diabetice ^{25,26,37,38,39,41}.

Grăbește vindecarea arsurilor prin stimularea țesutului de neoformație ^{42,43}.

Previne și reduce suprafețele cheloide ¹.

Realizează o topire a calcificărilor organizate din structura părților moi din bursite și tendinite ¹.

Diminuă și combate spasmele musculaturii netede ¹.

S-a arătat că terapia cu unde scurte pulsatile ar crește fluxul sangvin, atât la persoanele bolnave, cât și la cele sănătoase fără a crește semnificativ temperatura țesuturilor și fără vreo senzație neplăcută pentru pacient ^{4,21}. Însă nu există în prezent explicații satisfăcătoare privind mecanismul de producere a creșterii fluxului sangvin.

Favorizează procesele de regenerare ale țesutului nervos periferic, în prezent existând doar studii experimentale pe șobolani, pisici ^{12, 13, 14, 15, 65}. S-a demonstrat într-un studiu experimental pe șobolani rasa Wistar și Brown Norway capacitatea câmpului electromagnetic pulsatile de a stimula regenerarea sistemului nervos periferic, respectiv a nervului sciatic. S-a făcut tratament timp de patru săptămâni. Evaluarea rezultatelor a fost efectuată prin analiza cantitativă morfometrică, demonstrând o creștere semnificativă statistic a indicilor de regenerare la grupul stimulat comparativ cu grupul de control. S-a observat o creștere a activității izocitrat dehidrogenazei și acetilcolinesterazei la nivelul plăcii motorii. Studiul de față ar putea duce la căutarea de noi alternative în stimularea proceselor de

regenerare axonală și a unor aplicații clinice posibile ¹⁶. În prezent nu există studii clinice privind efectele undelor scurte pulsatile în regenerarea sistemului nervos periferic.

Rolul undelor scurte pulsatile și în ameliorarea durerii acute și cronice ^{31,62, 65}. Studiile au aratat că pot reduce durerea în tulburări vasculare, postoperatorii, luxații, entorse ale gleznei, leziuni ale mâinii. Unele studii nu au reușit să demonstreze acest lucru, în cazul durerii postoperatorii pentru hernie neraportându-se nicio diferență între grupul tratat și cel controlat ⁶⁵.

Există studii clinice (clinica din Tacoma, Washington) pentru folosirea undelor scurte pulsatile în tratamentul migrenelor, durerii de cap (sunt excluse cele din urma unor traumatisme craniene). Au fost finalizate două studii (unul deschis și unul controlat placebo, dublu orb pe 42 de subiecți). Tratamentul a fost pe o perioadă de 5 zile pe săptămână, timp de 3 săptămâni, iar expunerea la undele scurte pulsatile s-a făcut pe coapse. Autorii explică faptul că urmare a acestor expuneri fluxul de sânge crește la nivelul membrelor inferioare și probabil scade în arterele cerebrale ^{36, 37}.

Favorizează vindecarea ulcerului peptic¹.

Din numărul mare de studii experimentale și clinice reiese faptul că undele scurte pulsatile (Diapulse) au un rol important în terapia de înaltă frecvență, ajutând în procesul de consolidare osoasă după fracturi, în resorbția hematoamelor, reduce durerea, edemul și inflamația, sporește circulația sângelui, stimulează sistemele imunitare și endocrine, favorizează procesele de regenerare a țesuturilor nervoase periferice.

Majoritatea studiilor leziunilor implică ulcerul de decubit, ulcere arteriale sau venoase, ulcere diabetice, precum și leziuni chirurgicale și arsurile.

Din moment ce celulele implicate în refacerea leziunilor sunt încărcate electric, unele semnale electromagnetice endogene pot facilita migrarea celulară spre suprafața rănită, restabilind condițiile normale electrostatice și metabolice ^{67, 68, 69, 70, 71}.

Câmpul electromagnetic pulsatile s-a demonstrat a fi benefic în tratarea durerii asociate leziunilor țesuturilor moi, conective articulațiilor (cartilagiu, tendon, ligamente) ⁶⁷.

O meta-analiză realizată pe studiile clinice folosind undele scurte pulsatile asupra țesuturilor moi și articulațiilor a demonstrat faptul că aceste unde scurte pulsatile au fost eficiente în accelerarea vindecării rănilor pe piele, în arsuri, de asemenea la pacienții cu artroze unele studii au demonstrat o ușoară scădere a durerii și o ușoară creștere a mobilității articulare, fiind indicate mai ales în artrozele reactivate și hidartroză ^{1,55}.

2.6. Metodologia de aplicație cu aparatul Diapulse

Alegerea treptei de penetrație (valori între 1 și 6) se face în funcție de localizarea procesului patologic, de tipul constituțional somatic și de grosimea stratului celulo-adipos subcutanat. Valorile mai mari sunt utilizate în aplicațiile pe persoanele robuste și cu țesut celulo-adipos mai bogat ¹.

Pe plan biologic, penetrația este cu atât mai redusă, cu cât progresăm mai mult în profunzimea țesuturilor. S-a constatat că la o profunzime de 5 cm valoarea iradierii este de aproximativ 80% din radiația incidentă, iar la 10 cm nu mai ajunge decât la aproximativ 35% din energia radiației ⁴.

Frecvența este în general aleasă la valorile de 400-600 impulsuri/secundă.

Aplicarea energiei electromagnetice, este de tip monopolar, fiind realizată de un electrod de tip „monodă” (localizator), montat pe un braț mobil, prin intermediul unei articulații sferice ².

Emițătorul- localizator al aparatului se aplică la distanță foarte mică de corpul uman (de la contactul intim, până la maximum 2-3 cm), deoarece în condițiile unui strat de aer interpus cât mai mic se evită pierderea energiei electromagnetice (aerul constituind un mediu de dispersie al acesteia).

Emițătorul-localizator se poate aplica deasupra regiunilor și porțiunilor acoperite de îmbrăcăminte (lenjerie, haine), aparate gipsate, materiale sintetice, pansamente, inclusiv asupra regiunilor ce conțin elementele metalice de conținție și osteosinteză ¹.

Ritmul aplicațiilor este de o ședință pe zi. În unele studii, în cazuri acute, dar numai în mod excepțional se aplică două ședințe zilnice, înainte și după masă. (exemplu, în abcese dentare). Pentru cazurile subacute și cronice se pare că trei ședințe pe săptămână dau cele mai bune rezultate.

Numărul ședințelor necesare se apreciază după evoluția procesului de ameliorare-vindecare și după stadiul evolutiv al afecțiunii tratate, în general fiind suficiente 4-8 aplicații în suferințele acute-subacute, și 10-15 ședințe în suferințele cronice.

Pentru o afecțiune reumatismală, de exemplu, vom aplica în medie un număr de 15 ședințe, dar numărul de ședințe fiind în funcție de boală și de bolnav. Pentru o entorsă recentă, sunt în general suficiente 5-10 ședințe, în timp ce pentru o periartrită scapulo-humerală sunt necesare uneori 20-30 de ședințe ⁴.

Durata procedurii este de regulă de 15 minute pentru aplicarea localizatorului emițător pe regiunea afectată.

Tehnica de lucru recomandă că, indiferent de regiunea somatică de aplicare, inițial va fi o aplicație de obicei de 10 minute pe una din regiunile: prehepatică (pentru activarea bogatei vascularizații hepatice), epigastrul (probabil prin acțiune reflexogenă), sau lombar (pentru acțiuni asupra glandelor suprarenale), utilizând valori ale frecvenței și penetrației cu 1,2 trepte mai mici decât pentru aplicarea pe regiunea somatică de tratat ¹. Are loc astfel o modulare receptorială la nivelul pereților vasculari și consecutiv ameliorarea reglajului vegetativ circulator segmentar ⁵.

Există în literatură și alte modalități terapeutice cu Diapulse, de exemplu prin aplicația inițială pe:

- splina (efect antihemoragic și de stimulare a mecanismelor de apărare)
- pe plexul solar (acțiune neurovegetativă, ameliorarea circulației periferice);
- pe sinusul carotidian (ameliorarea circulației cerebrale);
- pe zona cerebrală ce controlează segmentul afectat în accidente vasculare cerebrale ³.

Pentru utilizarea aparatului Diapulse trebuie respectate unele norme de lucru:

Aparatul trebuie așezat pe o suprafață stabilă și orizontală într-o încăpere izolată în care nu se efectuează și alte proceduri de electroterapie.

Dezinfecția electrodului nu se realizează prin sterilizare caldă, ci vor fi utilizați dezinfectanți speciali (la rece).

Cablul de rețea trebuie să fie în afara locurilor unde ar putea fi călcat sau obstrucționat.

Este recomandată folosirea mobilierului din lemn.

Aparatura va fi racordată la rețelele de alimentare pe circuite separate față de restul aparaturii medicale, și vor fi obligatoriu legate la pământ.

Pacientul va fi supravegheat la începutul aplicației ³.

2.7. Avantaje ale utilizării terapeutice ale undelor scurte pulsatile (Diapulse)

Nu produc efecte calorice locale, hipertermie sau arsuri putând fi aplicați și în inflamațiile și congestiile existente în procesele infecțioase sau neinfecțioase.

Pot fi aplicați la orice vârstă, fără riscuri de a provoca tulburări trofice.

Sunt indicați în foarte multe afecțiuni.

Scurtează timpul de vindecare în multe dintre afecțiunile tratate, implică a duratei de spitalizare, producând scăderi semnificative de costuri pentru pacient.

Se reduce necesitatea utilizării și consumul diferitelor medicamente: antialgice, antiinflamatoare, antibiotice.

Combat destul de rapid durerea, ca simptom subiectiv secundar al variatelor mecanisme fiziopatologice și al variatelor afecțiuni .

Poate fi tratată orice regiune a corpului .

Pacientul nu trebuie dezbrăcat.

Nu produce nicio stare de disconfort.

Pacientul nu trebuie supravegheat decât la începutul aplicației.

Tratamentul poate fi aplicat de un cadru mediu.

Aparatul Diapulse poate funcționa 16 ore din 24 de ore.

Datorită avantajelor terapeutice oferite de utilizarea generatoarelor de înaltă frecvență pulsatilă, s-a trecut la fabricarea de aparate asemănătoare și în alte țări, de exemplu Terapuls GS 200- Polonia ¹.

2.8. Indicații și contraindicații terapeutice

În reumatologie, în practica curentă actuală este indicația cea mai frecventă.

a) În afecțiuni de natură inflamatorie:

-periartite, epicondilita, tendinite, tenosinovite, bursite, artrite cu diferite localizări, inclusiv poliartita reumatoidă ^{1,43}, dureri la nivelul călcâielor ⁷².

b) În reumatismele degenerative (artroze, spondilartroze) rezultatele cercetărilor

sunt contradictorii, unde scurte pulsatile fiind eficiente în artrozele reactivitate și hidartroze ^{1,55}.

În traumatologie:

- calusarea fracturilor este net favorizată, scurtând procesul de consolidare oasosă peste 50% din timpul obișnuit necesar ^{59,60};

- în algoneurodistrofie ^{4,33};

- în stări posttraumatice ale părților moi (contuzii, entorse, luxații, hematoame); vindecarea este accelerată cu 30%-50% din timp și se reduce consumul de medicație postoperatorie cu 50%-100% ^{1,20};

- în osteomielite ^{1,40}.

În afecțiuni vasculare:

- indicația majoră o reprezintă ulcerele varicoase ale gambelor;

- arteriopatii periferice, artereopatii aterosclerotice ^{25,37,38,39,40};

În afecțiuni ale tegumentului:

- eczeme, escare ²⁷;

-arsuri- unde scurte pulstile contribuind efectiv și decisiv la calitatea reepitelizărilor și reducerea timpului de vindecare, cu reducerea cheloidelor ^{27,28};

-Herpes Zoster ⁴.

Afecțiuni urogenitale :

-pielonefrite acute, cistite acute hemoragice ¹, inflamații pelviene : anexite, metroanexite, parametrite, mase aderențiale ³⁵.

Afecțiunii O.R.L.:

-sinuzite acute, cronice ^{1,4}, mastoidite, otite, otoreea cronică ⁴.

Afecțiuni respiratorii:

- bronșite- cu rezultate spectaculoase mai ales în cele acute, faringite ¹.

Afecțiuni digestive;

- boala ulceroasă, ulcerul peptic, colite acute, diverticulite intestinale ¹.

Afecțiuni neurologice

- există studii în migrene ^{46,47}, însă rezultatele sunt contradictorii;

- în accidente vasculare cerebrale ^{2,3,4}.

Afecțiuni endocrinologice

- s-au obținut ameliorări evidente în dereglări de tip preclimacterian, atât în ceea ce privește tulburările funcționale, cât și normalizarea, adesea, a ciclurilor menstruale;

- rezultate bune au fost și în celulite la femei aplicând tratamentul pe zonele ovariene ⁴;

În imunologie

- s-au observat creșteri ale gamaglobulinelor, în special în cazurile de

hipogamaglobulinemii ⁴;

În chirurgie:

-în chirurgia dentară pentru ameliorarea simptomatologiei postoperatorii⁷³;

-în cicatrizarea mai rapidă a plăgilor.

În chirurgie aplicarea undelor scurte pulsatile ar trebui să înceapă cu 7-8 zile înainte de intervenția chirurgicală, pentru a pregăti starea locală și generală a pacientului, și să se continue imediat după intervenție pentru a scurta timpul de vindecare, a scădea inflamația și edemul, a accelera resorbția hematoamelor postoperatorii ⁴.

Endotermia cu unde scurte continue este recunoscută pentru efectele sale terapeutice, prin încălzirea în profunzime a țesuturilor pacientului, mai multă energie pătrunzând în țesuturi, aceasta ajungând la o temperatură de 40° C -50° C.

În cazul undelor scurte pulsatile, generate de aparatul Diapulse, încălzirea țesutului se produce parțial sau aproape deloc, iar efectele terapeutice ale acestor unde scurte pulsatile par să depindă mai degrabă de interacțiunile dintre câmpul electromagnetic și țesutul biologic. Aceste procese nu sunt încă foarte bine înțelese, deși s-au realizat până în prezent numeroase studii experimentale și clinice.

Unii autori au sugerat faptul că undele scurte pulsatile cauzează o redistribuire a ionilor de-a lungul membranei celulare, astfel încât este modificat potențialul de membrană și anumite procese metabolice celulare, mai ales cele activate în timpul inflamării ⁷⁴. Neuronii pot fi depolarizați direct, sau ca rezultat al neurotransmițătorilor ce se mișcă în câmpul electromagnetic ⁷⁵.

Alții au observat că ATP-azele sunt capabile să absoarbă energie de la câmpurile electrice oscilatorii la frecvențe definite și le folosesc pentru a realiza munca chimică. Vasele sangvine pot acționa ca și conductori în câmpul magnetic variat în timp, în acest mod inducând un slab curent electric.

Un efect direct al undelor scurte pulsatile asupra vaselor de sange s-a observat în mod experimental atunci când mușchiul supus acțiunii acestor unde pulsatile, a arătat o creștere de 308% a coeficientului fluxului sangvin, în absența căldurii măsurabile. Acesta poate fi un mecanism reflex ⁷⁶.

De asemenea tratamentul cu unde scurte pulsatile prin aplicația pe epigastru folosind o unitate Diapuls a determinat o creștere a fluxului sangvin în membrul inferior, neînregistrându-se nicio creștere a temperaturii rectale, autorul propunând ca acest mecanism să fie utilizat în tratarea afecțiunilor vasculare periferice ²¹.

Deși numărul studiilor care susțin eficacitatea undelor scurte pulsatile a crescut semnificativ, mai există multe de studiat. De asemenea, mecanismele responsabile pentru acțiunea acestor unde scurte pulsatile asupra materiei vii, nu au fost încă complet elucidate, de asemenea nici rolul aplicației pe regiunea lombară sau pe alte regiuni.

Singura contraindicație se menționează numai la bolnavii purtători ai unui pace-maker cardiac ¹, ⁴. Există un studiu în care s-a observat că undele scurte pulsatile ar determina tulburări în funcționarea acestui aparat, însă măsurile de precauție clinice pe baza acestor observații sunt discutate ⁷⁷.

3. Studii structurale, ultrastructurale și histoenzimologice efectuate asupra glandelor suprarenale-studiu experimental

3.1. Introducere

Cercetările experimentale cât și multitudinea efectelor terapeutice observate prin studiile clinice descrie sugerează mecanisme de acțiune complexe ale undelor scurte pulsatile, mergând până la nivel infrastructural, cu implicații profunde în metabolismul intim celular ⁴.

Dacă undele scurte continue își datorează efectele favorabile în cea mai mare parte producerii endotisirare de căldură (endotermia), în cazul undelor scurte pulsatile, mecanismul de acțiune este mai complex, acesta din urmă fiind „aterme” ⁵.

Efectele biologice ale undelor scurte pulsatile s-ar explica după cei mai mulți autori printr-o activare a reacțiilor enzimaticice celulare, o stimulare a metabolismului energetic, printr-o stimulare a funcției hepatice, a funcției glandelor suprarenale și a sistemului reticulo-histiocitar, modificări în permeabilitatea celulară, prin creșterea fluxului sangvin periferic prin amplificarea vascularizației locale. Însă toate acestea necesită un consum crescut de energie din partea celulelor și a țesuturilor ⁴.

Undele scurte pulsatile sunt furnizate de aparatul Diapulse.

Având în vedere că tehnica de lucru recomandă că, indiferent de afecțiunea tratată, inițial este nevoie de amplasarea emițătorului aparatului pe una din mai multe regiuni, respectiv ficat, sau pe epigastru, sau pe regiunea lombară (pentru acțiune asupra glandelor suprarenale) ¹.

Există puține studii care să arate modificările la nivel celular și subcelular la nivelul glandelor suprarenale și în ce fel este afectată funcția de sinteză și secreție hormonală a acestei glande după expunerea la acțiunea undelor scurte pulsatile la parametrii diferiți.

Existența unor rezultate favorabile într-o serie de afecțiuni (accelerarea proceselor de cicatrizare a plăgilor și arsurilor, reducerea edemelor posttraumatice, efecte antiinflamatorii, accelerarea regenerării nervilor periferici și a măduvei spinării) presupun în mod obligatoriu modificări morfologice și histologice la nivelul țesuturilor iradiate.

3.2. Ipoteza de lucru/Obiective

Cercetarea de față a avut următoarele obiective:

1. A se studia efectele biologice, prin studii structurale și ultrastructurale asupra glandelor suprarenale la animale de experiență după expunerea lor la unde scurte pulsatile aplicate la diferite doze.

2. Evidențierea modificărilor apărute la nivel celular și subcelular asupra suprarenalelor recoltate de la șobolani care au fost supuși unor tratamente cu unde scurte pulsatile la diferite doze, comparativ cu animalele martor netratate.

3. Urmărirea unor modificări histochimice și histoenzimologice prin determinarea activității calitative a unor enzime mitocondriale, cu rol în metabolismul energetic.

4. Se încearcă o mai bună înțelegere a mecanismelor de acțiune a acestor curenți de înaltă frecvență pulsati, evoluția și manifestarea proceselor care însoțesc terapia recuperatorie în cadrul anumitor boli, utilitatea aplicatiei pe regiunea lombara.

3.3. Material și metodă

Animale de experiență. Pentru experiment au fost utilizați șobolani albi, rasa Wistar, femele, în greutate de 180-280 gr. (Fig. 1)



Fig. 1 Loturile de șobolani necesare experimentului

Echipament. A fost utilizat aparatul Diapulse care furnizează curenți de înaltă frecvență de 27,12 Mhz, cu o lungime de undă de 11 m¹.

Model experimental. Animalele în număr de 35 au fost împărțite în 4 loturi . Lotul I a fost format din 10 animale de experiență supuse iradierii cu doza de 1/80 impulsuri/sec., 10 min/zi., lotul II din 10 animale iradiate la parametrii de 4/400 impulsuri/sec, 10 min/zi, lotul III format din 10 animale iradiate la doza de 6/600 impulsuri/sec, 10 min/zi și lotul martor, format din 5 animale nu au fost iradiate, dar au fost ținute în aceleași condiții de viață ca și animalele din cele trei loturi iradiate.

Durata experimentului a fost de 15 zile. Expunerea la unde scurte pulsatile s-a făcut pe întreg corpul animalelor.

În timpul experimentului nu au existat restricții de alimente și lichide.

Toate procedurile executate pe animale s-au realizat conform Normelor de Etică impuse de U.E. privind creșterea și sacrificarea animalelor de experiență. Înainte de începerea experimentului s-a obținut avizul Comisiei de Etica nr. 39/23.04.2009.

Imediat după sacrificarea animalelor au fost recoltate rapid glandele suprarenale și procesate corespunzător metodologiilor și tehnicilor de microscopie electronică.

Fragmentele din suprarenale recoltate, au fost imediat imersate într-o soluție de glutaraldehidă 2,7% în tampon fosfat 0,1 M, pH 7,2, în vederea prefixării lor timp de 90 minute la temperatura de +4°C. În continuare, probele au fost spălate în 4 băi succesive cu tampon fosfat 0,15 M, pH 7,2, timp de 4 ore la + 4°C. A urmat o postfixare într-o soluție de acid osmic 2% în tampon fosfat 0,15 M, pH 7,2, timp de 75 minute la + 4°C.

Deshidratarea pieselor recoltate s-a făcut cu acetonă, în soluții apoase de concentrații crescătoare, iar în final în acetonă absolută. Infiltrarea și includerea fragmentelor de țesut, s-au efectuat într-o rășină epoxidică numită Epon 812, incluse apoi în capsule speciale din material plastic și introduse într-un termostat la temperatura de 50 – 60°C pentru o perioadă de 72 ore, în vederea polimerizării rășinii sintetice.

Din blocurile obținute și modelate corespunzător, s-au efectuat într-o primă fază secțiuni semifine de 500 nm grosime, pentru studiile de microscopie optică. Aceste secțiuni au fost supuse unei colorații specifice pentru rășini sintetice, cu ajutorul colorantului Epoxy tissue stain (colorant Epoxy).

Examinarea secțiunilor s-a efectuat la un microscop de tip Olympus BX 51, captura imaginilor fiind realizată cu o cameră de tip CCD Media Cybernetics, utilizând software-ul Image Pro Plus.

Ulterior, din zonele selectate ale aceluiași blocuri, s-au efectuat secțiuni ultrafine de 40 – 60 nm grosime, pentru studiile de microscopie electronică. Secțiunile au fost realizate la un ultramicrotom de tip Leica UC 6, cu ajutorul unor cutite de diamant de tip DDK, culese pe grile electrolitice, iar în continuare au fost dublu contrastate cu acetat de uraniu și citrat de plumb, pentru ca în final să fie examinate la un microscop electronic de transmisie (TEM) de tip Jeol JEM 1010. Captura imaginilor s-a realizat cu o camera de tip Megaview III și apoi stocate în baza de date utilizând softwarul Soft Imaging Analysis ^{78,79,80,81,82,83,84,85}.

Pentru studiile histoenzimologice au fost recoltate rapid glandele suprarenale, care s-au congelat în azot lichid la -196°C. Au fost introduse apoi în criotom tipul AS Shandon-London, unde s-a procedat la secționarea glandelor suprarenale în cupe cu o grosime de 7 microni. Secționarea s-a făcut la o temperatură de -20°C.

Aceste secțiuni au servit apoi pentru studii histochimice și histoenzimologice, adică determinarea activității unor enzime: monoaminooxidaza (MAO), succinatdehidrogenaza (SDH), citocromoxidaza (CyOX), adenozintrifosfatazama magneziu dependentă (ATP-aza). MAO cu metoda Glenner-Butner-Brown, cu clorhidrat de triptamină în tampon fosfat pH 7,6, timp de incubare două ore, la 37°C. SDH cu metoda Nachlas-Tsou-Souja-Chang-Seligman cu succinat de sodiu și nitro BT, în tampon fosfat la pH 7,6, timp de incubare o oră la 37°C. CyOX cu metoda Burstone, cu alfa naftol în tampon Tris-HCl, cu pH 7,4, incubare o oră, 37°C. ATP-aza cu metoda Wachstein-Meisel, cu ATP sare de sodiu în tampon Tris maleat, pH 7,4, timp de incubare o oră la 37°C ^{86, 87}.

3.4. Rezultate

3.4.1. Aspecte macroscopice

Nu s-au evidențiat modificări la niciunul din cele trei loturi supuse tratamentului cu unde scurte pulsatile. (Fig. 2)

Nu au existat modificări nici la lotul martor.



Fig. 2 Aspect macroscopic glanda suprarenală, fără modificări

3.4.2. Rezultate structurale la nivelul glandei suprarenale

Examinarea suprarenalelor șobolanilor din lotul martor, la microscopia optică (100 X) , nu a evidențiat modificări. (Fig. 3, 4, 5)

Suprarenala este învelită la exterior de o capsulă conjunctivă, iar stroma glandei este împărțită în trei zone, glomerulară, fasciculată și reticulară, iar în centru se află zona medulară.

Capsula este constituită dintr-un țesut colagenic, care se extinde în zona corticală prin trabecule conjunctive ce pătrund până la diferite adâncimi. Structura de suport a celulelor suprarenalei este constituită dintr-o rețea de fibre reticuline interpusă printre capilarele și cordoanele celulare ale întregii glande, inclusiv la nivelul zonei medulare. Dealungul venulelor se găsesc și relativ puține fibre de collagen.

Zona glomerulară se află imediat sub capsulă, fiind relativ subțire. Este constituită din celule aranjate în aglomerări de formă arcuată. În mod caracteristic la șobolan, celulele sale apar aproximativ sferice, cu nucleul dispus central și citoplasma încărcată cu picături lipidice hormonale.

Între zona glomerulară și zona fasciculată, există o zona intermediară, formată din celule ușor alungite, care posedă în citoplasmă numeroase mitocondrii și doar puține picături lipidice.

Zona fasciculată , cuprinsă între zona intermediară și zona reticulară, însă fără o demarcație netă către aceste zone.

Conține celule de forma poliedrică, care sunt ceva mai mari decât cele din zona glomerulară. Este specific faptul că celulele sunt aranjate în cordoane unicelulare separate între ele de capilar sanguine sinusoidale. Cordoanele pornesc din vecinătatea zonei glomerulare și se extind până la zona reticulară. Nucleii celulelor sunt sferici, cu câte un nucleol și mai rar doi. În citoplasmă se găsesc numeroase picături lipidice și mitocondrii de formă sferică.

Zona fasciculată este cea mai dezvoltată, ea extinzându-se pe aproximativ 70% din corticala suprarenalei. La nivelul celulelor sale se sintetizează și se secretă hormoni glucocorticoizi: cortizol, cortizon și corticosteron, hormoni cu rol major în metabolismul carbohidraților, proteinelor și lipidelor. Zona reticulară celulele sunt anastomozate ca într-o rețea, separate fiind de numeroase capilare sanguine sinusoidale. Nucleii celulelor sunt sferici. În citoplasmă se găsesc mitocondrii și relativ numeroase picături lipidice. Caracteristic este faptul că celulele acestei zone, mai ales cele aflate spre zona medulară, se prezintă sub două aspecte: celule așa-zise „întunecate”, deci mai intens colorate și celule așa-zise „luminoase”, deci mai puțin colorate. S-a dovedit că celulele „întunecate” sunt celule îmbătrânite care conțin în citoplasmă multe granule de lipofuscină.

Celulele zonei reticulare sintetizează și elaborează hormoni steroidici sexuali: estrogen, androgen și progesteron.



Fig. 3 Lot martor. Glanda suprarenală capsulă, zona glomerulară, încărcată cu picături lipidice hormonale 100x

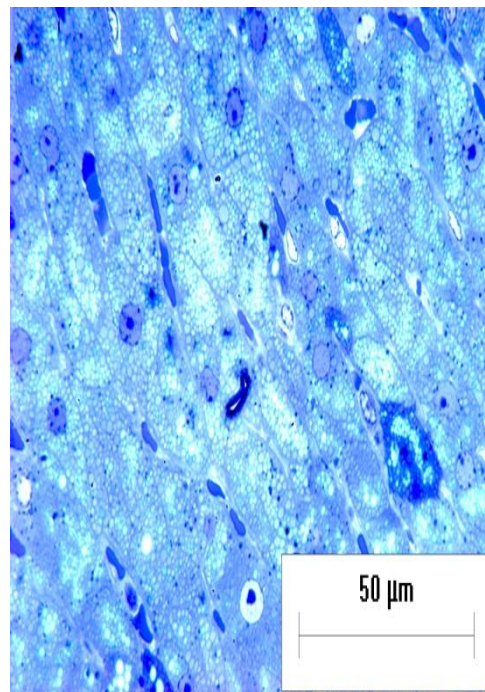


Fig. 4 Lot martor. Glanda suprarenală zona intermediară cu mai puține picături lipidice hormonale 100x

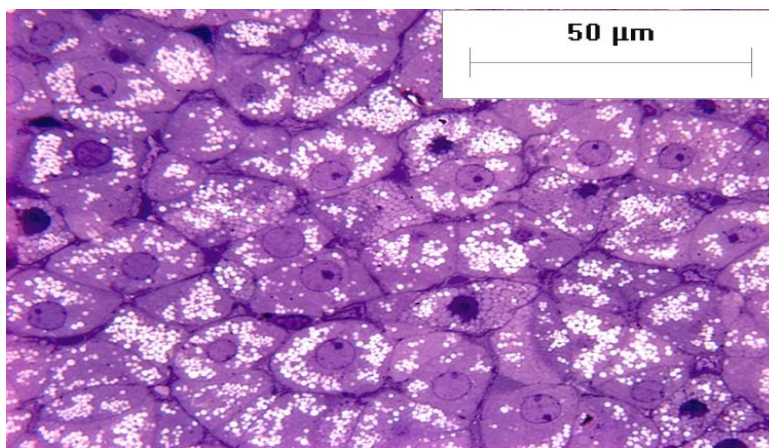


Fig. 5 Lot martor. Glanda suprarenală zona fasciculată, intensificare a secreției hormonale 100x

Comparativ cu suprarenalele provenite de la animalele lotului martor, imaginile obținute de la animalele din lotul I, iradiat cu doza de 1/80 impulsuri /sec., ne indică faptul că iradierea a indus o ușoară intensificare a proceselor metabolice la nivelul zonelor corticosuprarenaliene, mai puțin însă la nivelul zonei glomerulare . Nu sunt modificări la nivelul capsulei observabile la microscopul optic. (Fig. 6)

Abundența granulelor de secreție hormonală de la nivelul celulelor zonelor fasciculate și reticulare (Fig. 7, 8), confirmă influența benefică a iradierii la șobolani, în doza de 1/80 impulsuri/sec., asupra procesului de sinteză și secreție hormonală.

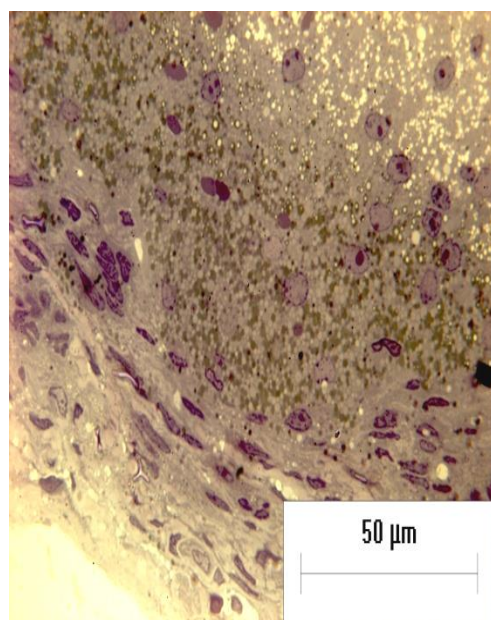


Fig. 6 Lot I. Glanda suprarenală, Capsulă zonă glomerulară 100x

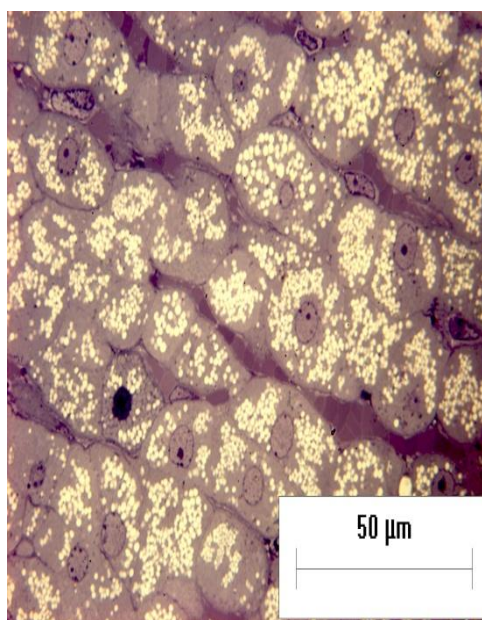


Fig. 7 Lot I. Glanda suprarenală, zonă fasciculată, abundența picăturilor de secreție hormonală 100x

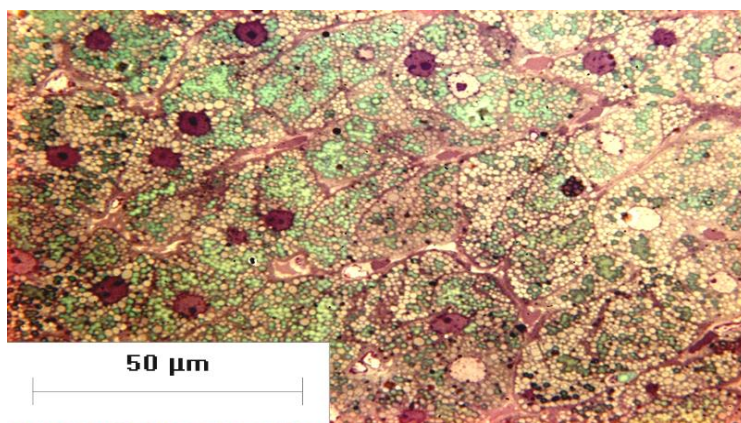


Fig. 8 Lot I. Glanda suprarenală, zonă reticulară
abundența picăturilor de secreție hormonal 100x

La lotul II, iradiat cu doza de 4/400 impulsuri/ sec. la nivelul capsulei se remarcă o mai mare abundență a fasciculelor cu fibre de colagen și o densitate mai mare a vaselor capilare, sugerând o mai intensă alimentare cu sânge, în primul rând a zonei glomerulare.

Comparativ cu imaginile obținute de la suprarenalele animalelor martor, precum și cu cele ale lotului iradiat cu doza de 1/80 impulsuri/sec., se constată acum la acest lot efecte benefice deosebite, mai mari decât în cazul lotului anterior. În toate imaginile, la nivelul tuturor celor trei zone ale corticosuprarenalei, se constată o intensificare a proceselor de sinteză și secreție hormonală, remarcată prin abundența deosebită a granulelor de secreție hormonală (Fig. 9-11) și prin lipsa oricărui aspect morfo-structural degenerativ. La nivelul zonei reticulare, spre zona medulară, apar distinct relativ puține celule îmbătrânite, respectiv celule „întunecate”.

Acest tablou care ne înfățișează o stare de intensă activitate a glandelor suprarenale, poate sugera faptul că există o stare de activitate metabolică optimă și la nivelul întregului organism.

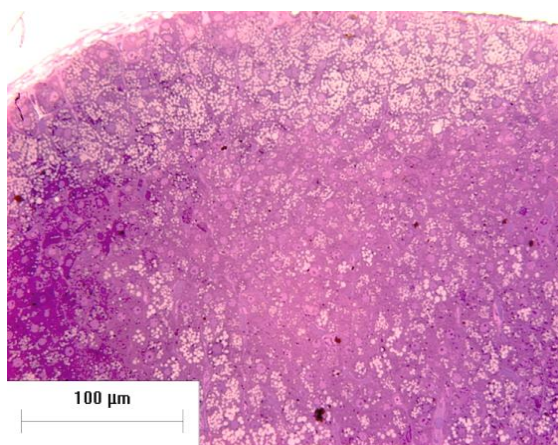


Fig. 9. Lot II Glanda suprarenală, capsulă, zona glomerulară. Abundența de fibre de colagen 40x

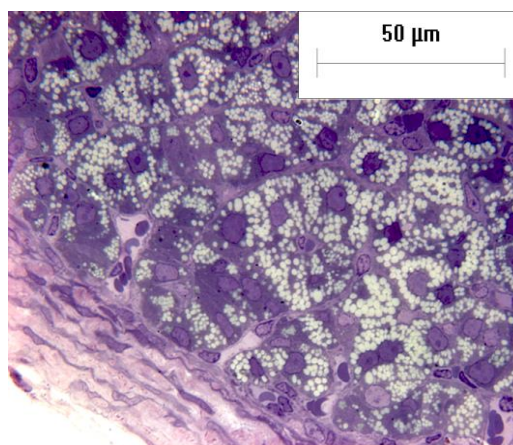


Fig. 10. Lot II Glanda suprarenală, zona fasciculată. Abundența deosebită a granulelor de secreție hormonală. 100x

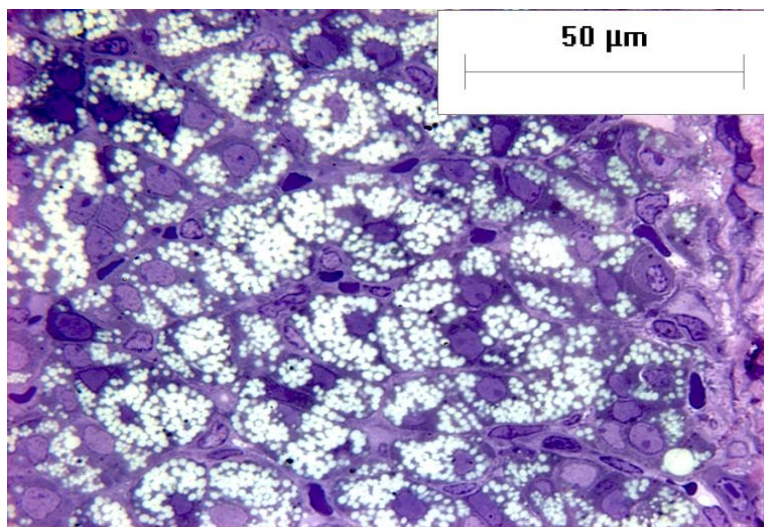


Fig. 11. Lot II Glanda suprarenală, zona reticulară .
Abundența deosebită a granulelor de secreție hormonală.100x

La lotul III, iradiat cu doza de 6/600 impulsuri/sec.tabloul de ansamblu al imaginilor obtinute de la nivelul tuturor zonelor corticosuprarenalei acestui lot, comparativ atât cu cele prezentate la lotul I, dar mai ales la lotul II, ne indică o oarecare „deranjare” a activității de sinteză și secreție hormonală, în sensul unei ușoare diminuări a acesteia, dar nu sub limitele existente la lotul martor.

La nivelul zonei glomerulare (Fig. 12), se remarcă o reducere a numărului picăturilor lipidice, fapt nesemnlat la loturile precedente.

La nivelul zonei fasciculate, există porțiuni cu celule prezentând o activitate glanurală normală, altele cu activitate ușor stimulată, în care izolat apar semne de stocare a picăturilor lipidice, ceea ce sugerează o mai slabă secreție a lor în afara celulelor, în timp ce în unele porțiuni, la un mic număr de celule, granulele hormonale sunt mai puține la număr. Se mai remarcă la nivelul acestei zone apariția de nuclei picnotici (în curs de degenerare), deci cu tendința de diminuare a activității metabolice a acelor celule (Fig. 13).

La nivelul zonei reticulare, pe fondul unei rarefieri a granulelor hormonale (Fig. 14) se observă prezența unui mare număr de celule îmbătrânite (întunecate), care cu siguranță au o activitate metabolică mai scăzută, vizibilă și prin numărul scăzut de picături lipidice existente în citoplasma lor.

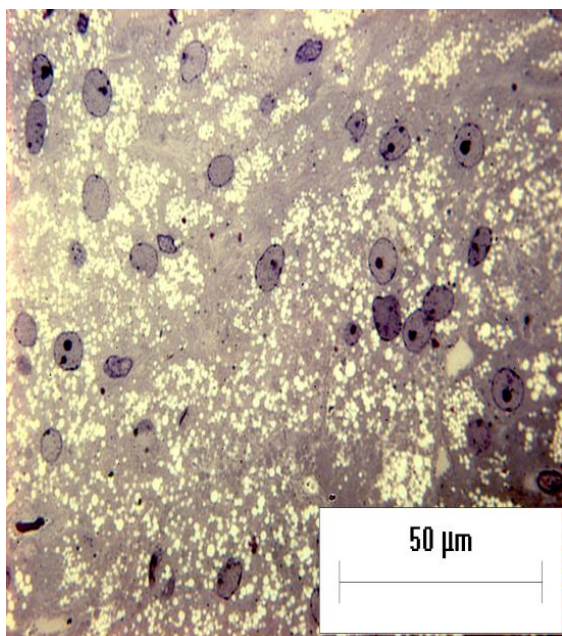


Fig. 12. Lot III. Glanda suprarenală, zona glomerulară. Reducere a picăturilor lipidice. 100x

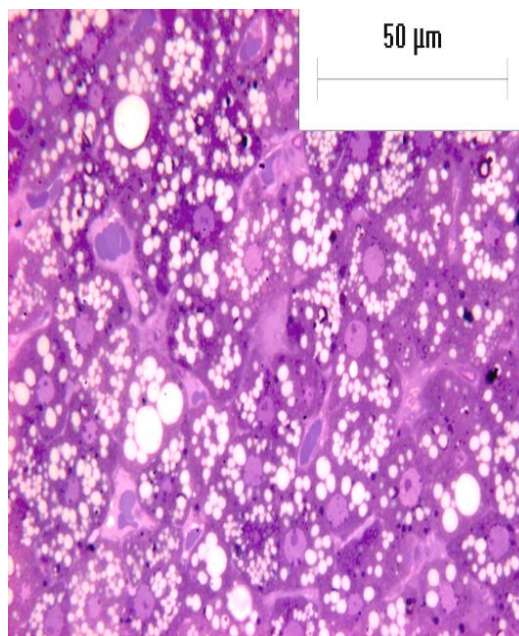


Fig. 13. Lot III. Glanda suprarenală, zona fasciculată. Stocare a picăturilor lipidice 100x

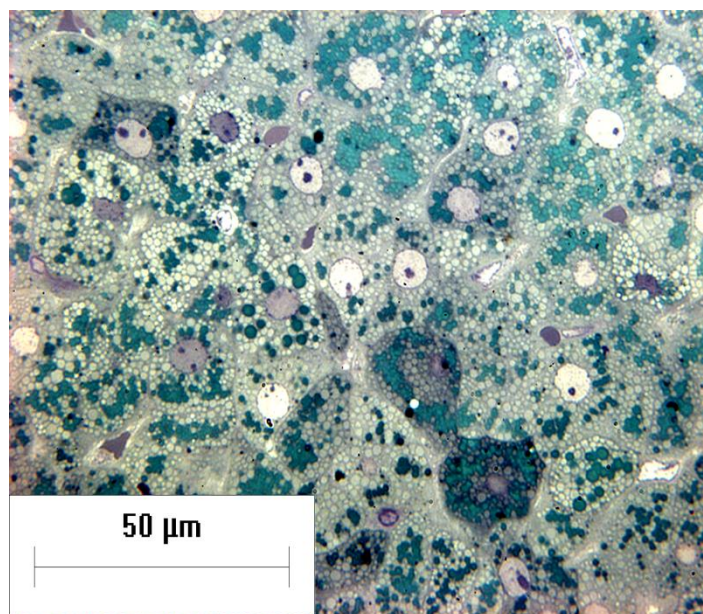


Fig. 14. Lot III. Glanda suprarenală, zona reticulară . apar celule îmbătrânite, mai puține granule hormonale. 100x

3.4.3. Rezultate ultrastructurale la nivelul corticosuprarenalei

Studiile ultrastructurale confirmă rezultatele obținute prin analiza secțiunilor semifine efectuate la microscopul optic, cu precizarea ca imaginile de microscopie electronică obținute au adus precizări și au evidențiat detalii la nivel subcelular.

La lotul martor, zona glomerulară este alcătuită din celule care apar grupate câte 3 – 5 celule în pachete delimitate de trabecule conjunctive derivate din capsulă, formând un strat continuu, subcapsular, nu prea gros. În fiecare celulă nucleul este dispus de regulă central, este aproximativ ovalar-poliedric, iar citoplasma este încărcată cu granule hormonale cu aspect de picături lipidice globular-sferice și având fiecare diametrul cuprins între 0,5 - 1 μ m. Printre grupările de celule se găsesc dispuse capilare sanguine. (Fig. 15)

La nivelul zonei fasciculate fiecare celulă are aproximativ în centrul sau câte un nucleu de regulă cu câte un nucleol și mai rar doi. În citoplasmă se găsesc într-un procent aproximativ egal numeroase mitocondrii și granule cu diametrul cuprins între 0,5 – 1,2 μ m, și în mod caracteristic pentru această zonă cristele lor sunt tubulare, apărând ca mici vezicule în secțiune transversală.

Printre mitocondrii se remarcă prezența a numeroase mici vezicule care alcătuiesc reticulul edoplasmic neted (REN), bine reprezentat la nivelul celulelor glandei suprarenalei, datorită participării sale la procesele de sinteză a steroizilor. Reticulul endoplasmic granular (REG) sau rugos (RER), implicat în sintezele proteice, este discret reprezentat, prin scurte profile înguste dispuse de regulă de-a lungul membranelor mitocondriale.

În fiecare celulă se găsește și câte un complex Golgi dispus într-o zonă de citoplasmă din imediata vecinătate a nucleului. Din loc în loc, apar în citoplasma fiecărei celule și câțiva lizosomi, sub formă de granule intens electrodense, cu diametrul de 0,5 μ m (Fig. 16 și 17).

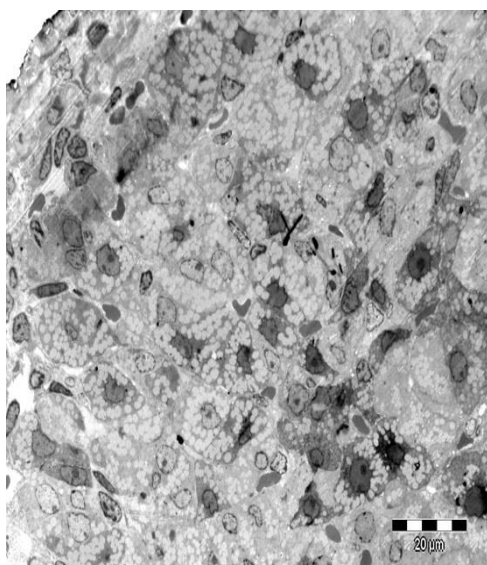


Fig. 15. Lot martor.
Glanda suprarenală, zona glomerulară

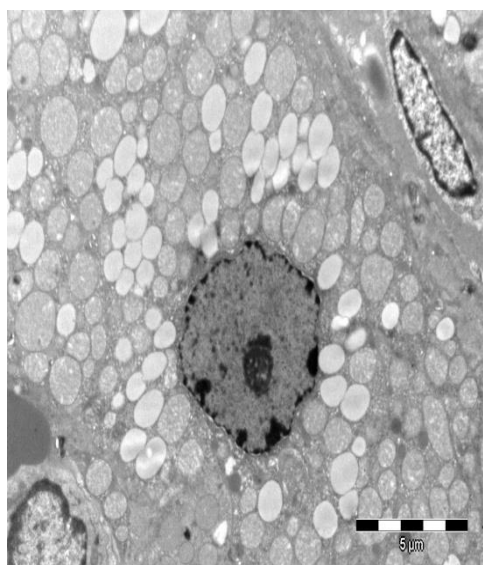


Fig. 16. Lot martor.
Glandă suprarenală, zona fasciculată

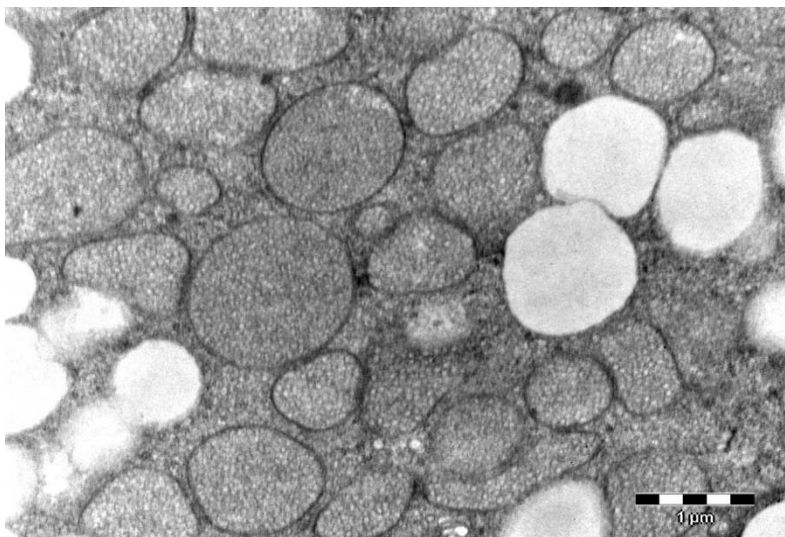


Fig. 17. Lot martor. Glanda suprarenală, zona fasciculată

La lotul I iradiat cu doza de 1/80 impulsuri /sec. comparativ cu imaginile obținute la lotul martor, remarcăm faptul că zona capsulară este mai consistentă în fascicule de collagen, alcătuind un strat mai dens (Fig. 18), sugerând o mai bună protecție a glandei.

La nivelul zonei glomerurale, citoplasma celulelor sale conține numeroase granule hormonale, sugerând o susținută activitate metabolică, ușor crescută față de martor. Nucleii celulelor au forme diferite, ei fiind sferici, ovalari sau popiedrici. Printre celule se găsesc capilare sanguine sinusoidale. Granulele hormonale au diametrul puțin mai mare, multe din ele atingând de 1,5 μm în diametru, comparativ cu cele de la martor unde aveau 1 μm .

În zona fasciculată citoplasma este ocupată de numeroase mitocondrii și numeroase granule hormonale, ambele de formă sferică și aflate într-un raport aproximativ egal, cu mici variații între ale celor două componente. Printre mitocondrii se află numeroase microvezicule ale REN, precum și complexe Golgi bine dezvoltate și aflate într-o stare de intensă activitate. Deasemenea, sunt prezente formațiuni lizosomale sub formă de granule intens electron-dense, evident mai numeroase decât în celulele lotului martor.

Mitocondriile sunt normal structurate, și prin numărul lor mare prezintă o activitate optimă a metabolismului energetic. (Fig. 19, 20)

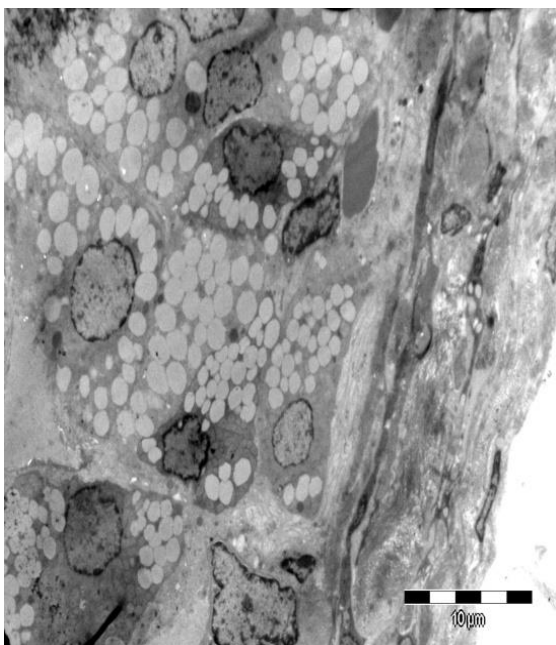


Fig. 18. Lot I. Glanda suprarenală, capsulă, zona glomerulară

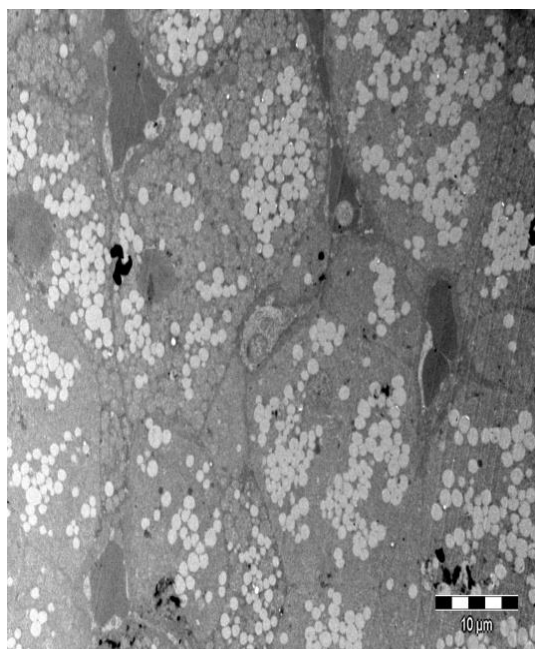


Fig. 19. Lot I. Glanda suprarenală, zona fasciculată

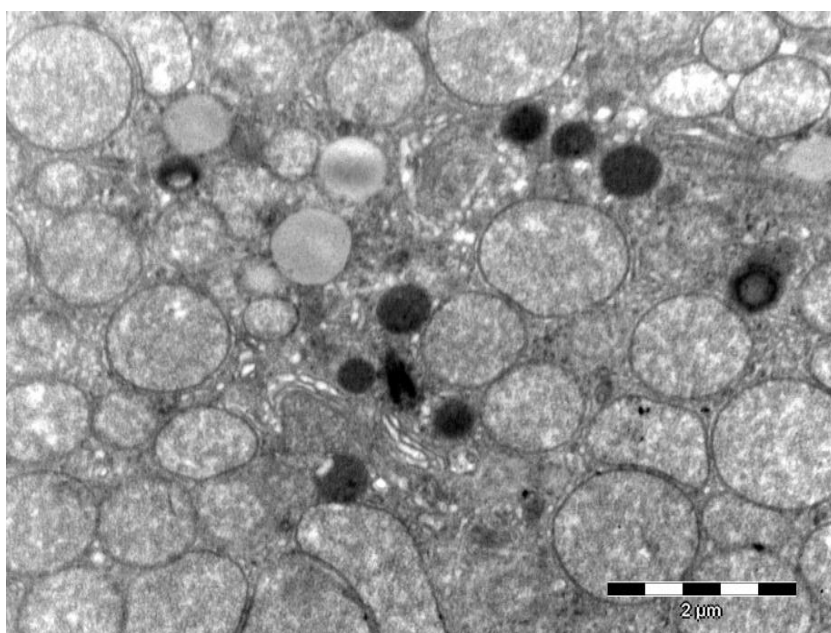


Fig. 20. Lot I. Glanda suprarenală, zona fasciculată

La lotul II, iradiat doza 4/400 impulsuri/sec., analiza imaginilor ultrastructurale obținute este în deplin acord cu rezultatele prezentate în urma analizei secțiunilor semifine.

În capsulă se remarcă o abundență cu fascicule de colagen normal structurate, cu relativ numeroase fibroците intercalate, ceea ce sugerează o intensificare a

proceselor de sinteză proteică la acest nivel. Subcapsular sunt prezente capilare sanguine și venule. (Fig. 21)

La nivelul zonei glomerulare, celulele acestei zone prezintă o activitate metabolică deosebită. Citoplasma lor este supraîncărcată cu granule hormonale, indicând cu claritate faptul că iradierea în doză de 4/400 impulsuri/sec. a stimulat metabolismul acestor celule pentru o producție hormonală crescută. (Fig. 21)

Zona intermediară are o extindere mai mare decât la lotul martor, iar celulele sale sunt supraîncărcate cu mitocondrii normal conformate, respectiv cu numeroase cristele tubulare, sugerând o intensă activitate a metabolismului energetic, în furnizarea energiei necesare producției crescute de hormoni, la nivelul tuturor celor trei zone ale corticosuprarenalei. Printre mitocondrii se află numeroase vezicule ale REN, precum și complexa Golgi cu activitate intensă. (Fig. 22)

Ca și în cazul zonei glomerulare, în zona fasciculată, celulele acestei zone sunt supraîncărcate cu granule hormonale, sugerând intensă lor activitate în producerea hormonilor glucocorticoizi, datorită stimulării celulelor acestei zone prin iradierea în doză de 4/400 impulsuri/sec. (Fig. 23)

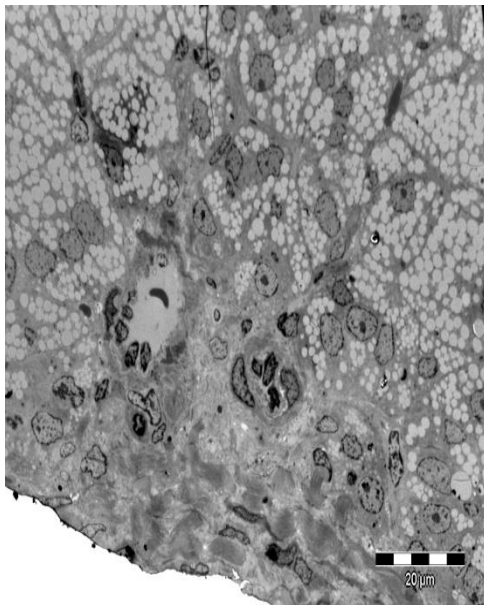


Fig. 21. Lot II. Glanda suprarenală, capsula, zona glomerulară

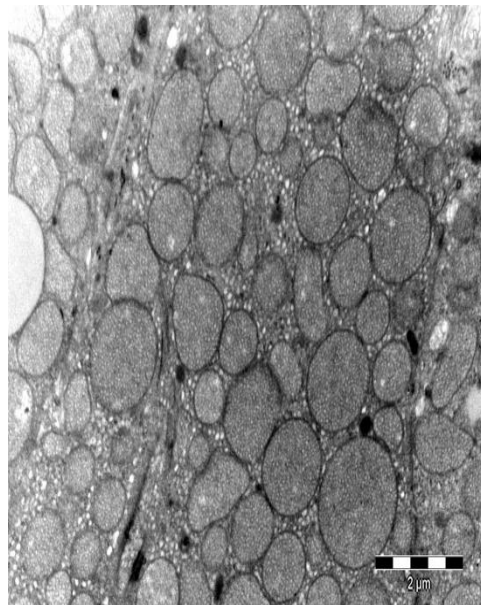


Fig. 22. Lot II, glanda suprarenală, zona intermediară

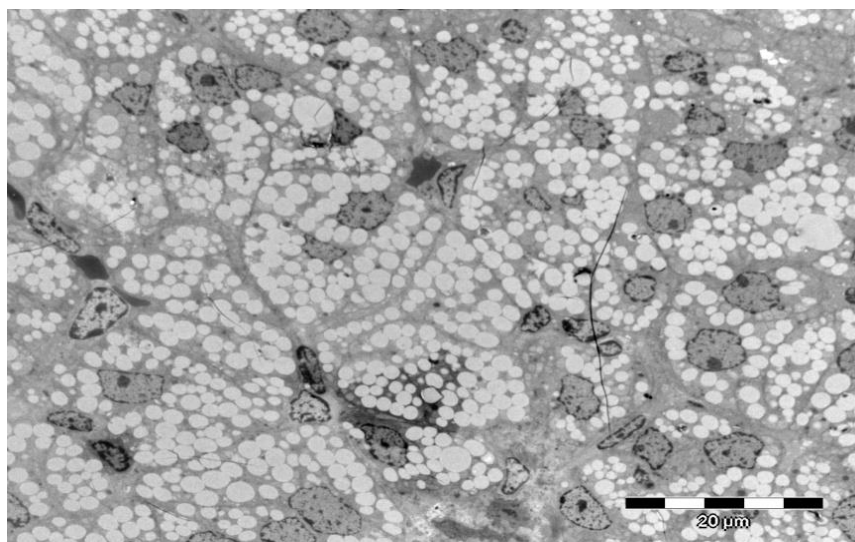


Fig. 23. Lot II. Glanda suprarenală, zona fasciculată

La lotul III, iradiat cu doza de 6/600 impulsuri/sec., capsula prezintă o structură asemănătoare cu cea de la lotul precedent, deci are o bună dezvoltare, cu deosebirea ca la nivelul ei sunt prezente mai multe venule.

La nivelul zonei glomerulare există o oarecare deranjare a grupării celulelor în formațiuni arcuate, precum și prin faptul că atât celulele, cât și nucleii lor au un aspect polimorf și dimensiuni diferite. Numărul granulelor hormonale din citoplasma este diminuat comparativ cu lotul II și chiar față și de lotul I.

De remarcat faptul că apar chiar în această zonă celule îmbătrânite, cu aspect întunecat, de dimensiuni mici, cu foarte puține granule hormonale, indicând slaba lor activitate metabolică. La nivelurile capilarelor apare o ușoară stază cu hematii. (Fig. 24)

Zona intermediară este constituită din celule poliedrice, cu numeroase mitocondrii în citoplasmă și foarte puține granule hormonale. Se remarcă faptul că mitocondriile unor celule au matricea mitocondrială ușor rarefiată, ceea ce indică scăderea capacității metabolismului lor energetic. În asemenea celule nucleii sunt ușor hipercromi și spațiul lor intermembranar este dilatat. În alte celule mitocondriile și-au pierdut forma sferică, fiind polimorfe și cu matricea mitocondrială rarefiată. (Fig. 25)

Zona fasciculată cuprinde celule cu activitate hormonală diminuată, dar o parte din ele au activitate aproape ca cele de la lotul martor. La alte celule nucleii își pierd forma sferică, devin hipercromi, semne clare de picnozare și diminuare a activităților metabolice, evidentă prin scăderea numărului de granule hormonale. Există și celule cu doi nuclei, ambii însă cu tendințe de picnozare, iar mitocondriile acestor celule au matricea și criste rarefiate.

Din cele expuse mai sus rezultă că în special în zona fasciculată celule prezintă un aspect mozaicat.

Zona reticulară prezintă un număr relativ mare a celulelor îmbătrânite. Toate celulele cât și nucleii lor, au un aspect polimorf, unele din ele cu tendințe de picnozare. Toate celulele conțin un număr foarte redus de granule hormonale. Se

remarcă apariția printre celule a unor mici focare de liză și necroză celulară. (Fig. 26)

În zona medulară există o depletie a granulelor hormonale și considerăm că mai mult a celor ce conțin epinefrină, proces realizat prin degradarea și vacuolizarea treptată a granulelor. Suferința se manifestă la nivelul tuturor celulelor, printr-un proces de alterare- degenerare a nucleilor, care devin hipercromi și cu forme aberante. De asemenea, în citoplasmă, aproape toate organelle, în special mitocondriile, complexul Golgi și profilele REG, suferă un proces de dilatare și vacuolizare.

Se pare că doza respectivă de tratament a constituit un stres puternic pentru organism la care capacitatea hormonală specifică de răspuns în stările de stres a medularei a fost depășită.

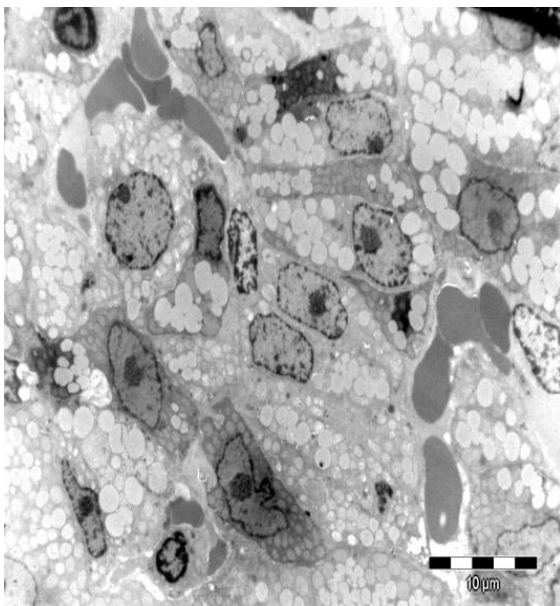


Fig. 24. Lot III. Glanda suprarenală, zona glomerulară

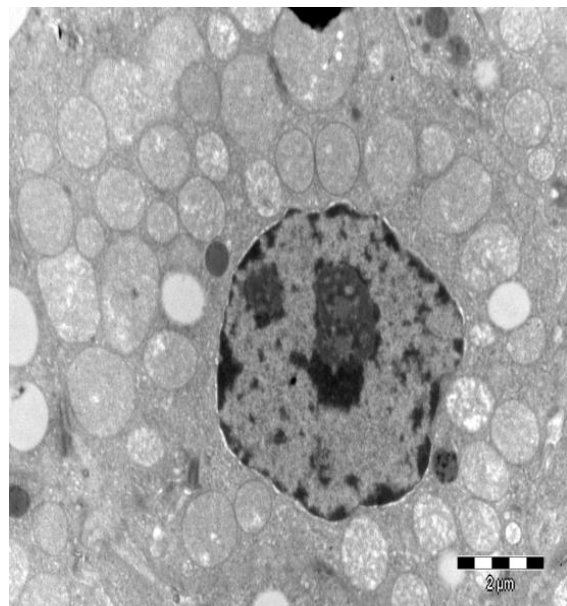


Fig. 25. Lot III. Glanda suprarenală, zona intermediară

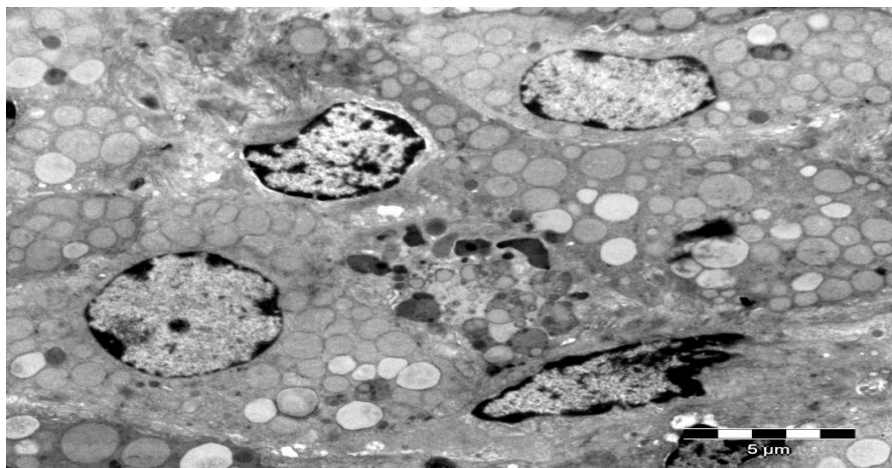


Fig. 26. Lot III. Glanda suprarenală, zona reticulară

3.4.4 Modificări ultrastructurale la nivelul zonei medulare a suprarenalei

Lotul martor

La șobolani nu există o limită distinctă între zona reticulară și cea medulară, celulele celor doua zone întrepătrunzându-se.

Medulara este compusă din celule epiteloide aranjate în grupuri circulare sau în scurte cordoane, aflate în relație intimă cu capilare sanguine sau cu venule (Fig. 27).

Nucleii sunt sferici, eucromatici și posedă câte un nucleol, mai rar doi nuceoli (Fig. 28). În citoplasmă se găsesc numeroase granule electrodense, cu diametrul cuprins între 100 și 300 nm. Aceste granule conțin hormonii catecolamine, epinefrină (adrenalină) și norepinefrină (noradrenalină). Granulele mai intens electrodense conțin norepinefrină iar cele mai puțin electrodense conțin epinefrină (Fig. 29). Mitocondriile sunt slab dezvoltate. REG este prezent prin scurte profile cu dispunere paralele (Fig. 30).

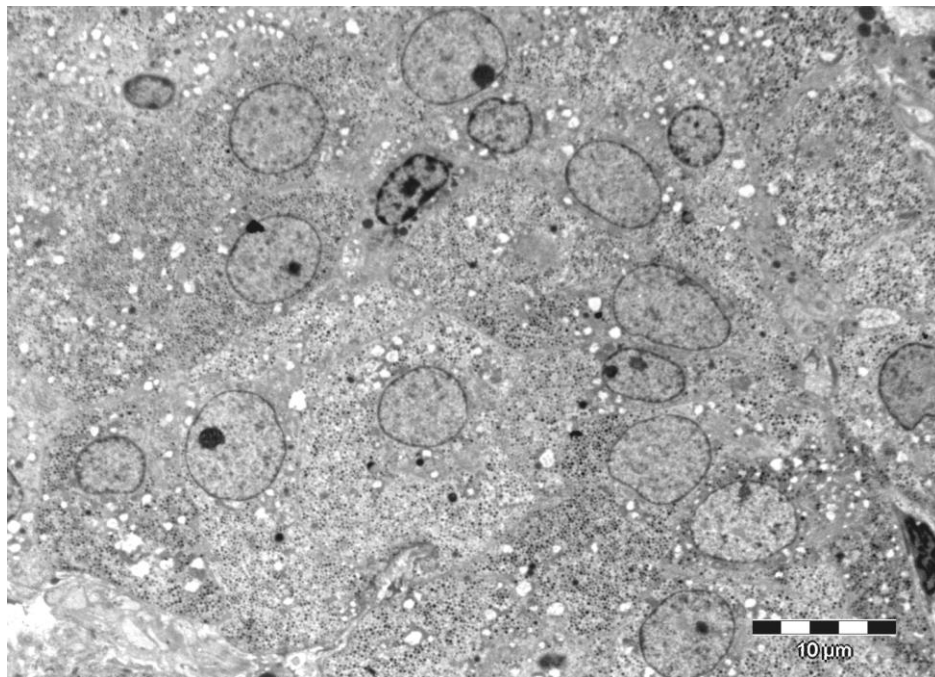


Fig. 27. Zona medulară- glanda suprarenală

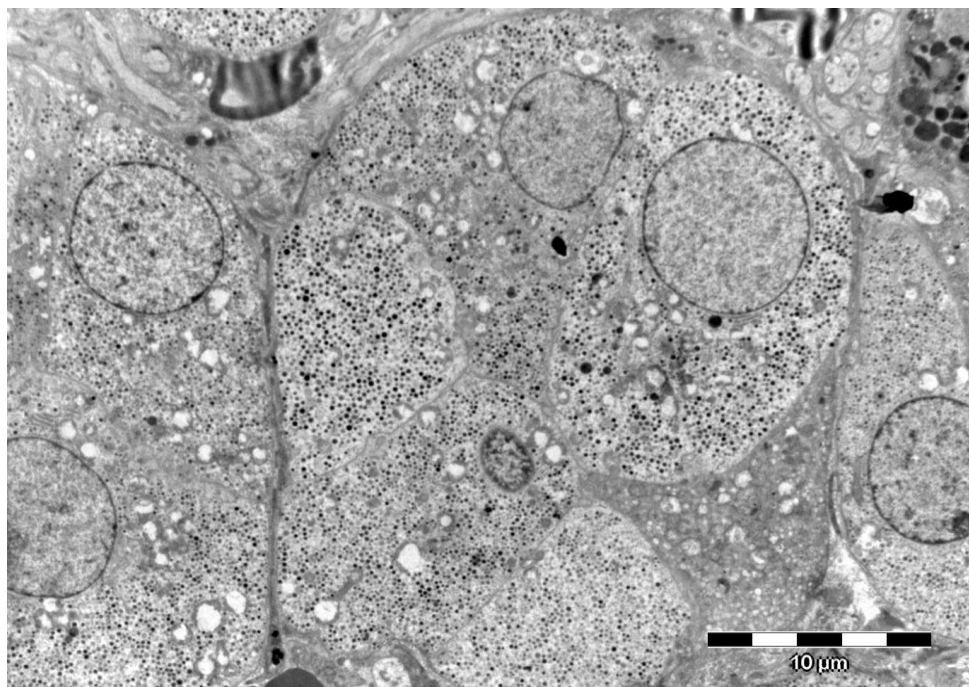


Fig. 28. Zona medulară- glanda suprarenală

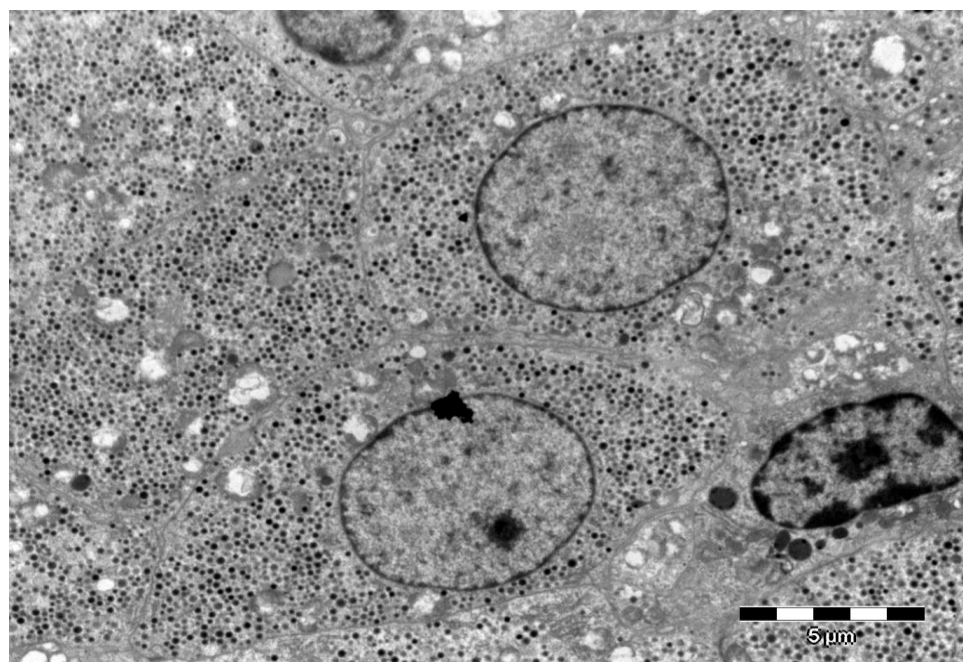


Fig. 29. Zona medulară- glanda suprarenală.
Granule încărcate cu hormoni catecolaminici

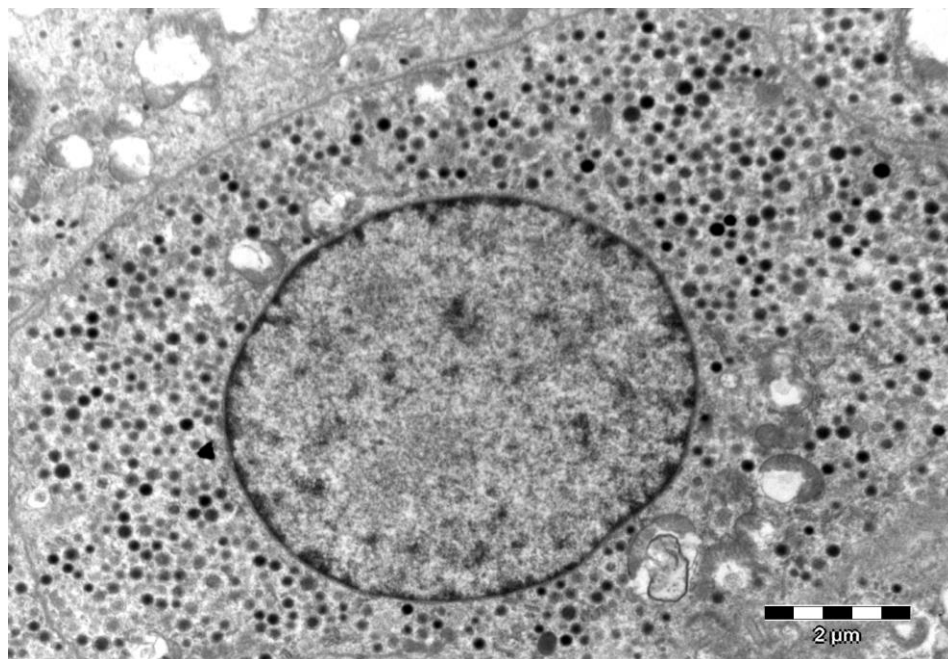


Fig. 30. Zona medulară- glanda suprarenală.
Granule încărcate cu hormoni catecolaminici

Lotul tratat cu doza de 6/600 impulsuri/secundă

Imaginile obținute sugerează faptul că iradierea la această doză mare, a indus o depleție a granulelor hormonale și considerăm că mai mult a celor ce conțin epinefrină, proces realizat prin degradarea și vacuolizarea treptată a granulelor. Suferința se manifestă la nivelul tuturor celulelor, printr-un proces de alterare-degenerare a nucleilor, care devin hipercromi și cu forme aberante. De asemenea, în citoplasmă, aproape toate organitele, în special mitocondriile, complexul Golgi și profilele REG, suferă un proces de dilatare și vacuolizare.

Se pare că această doză de tratament a constituit un stres puternic pentru organism la care capacitatea hormonală specifică de răspuns în stările de stres a medularei a fost depășită.

Trebuie ținut cont în acest caz că a fost iradiată întreaga suprafață a corpului cu o doză relativ mare, care în mod normal se aplică la om. Totuși, aceste rezultate ar putea constitui un semnal de alarmă asupra iradierii cu doze mari în zona lombară a oamenilor, la care, probabil că medulara este afectată mai puțin și reversibil. (Fig. 31, 32, 33)

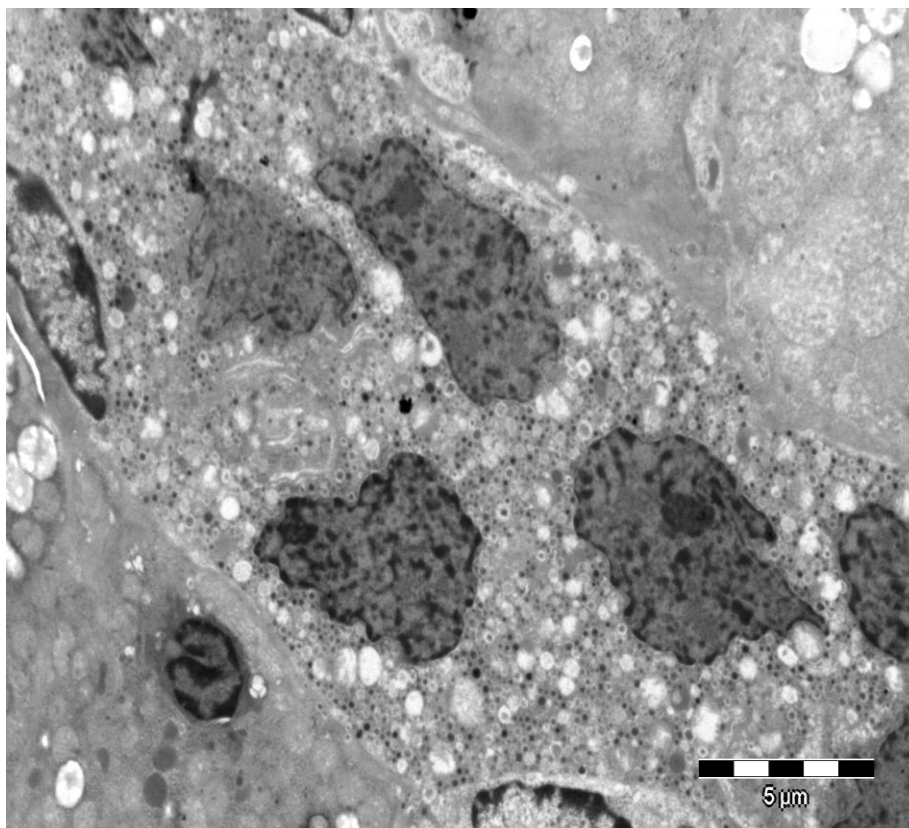


Fig. 31. Lot III. Glanda suprarenală. Zona medulară

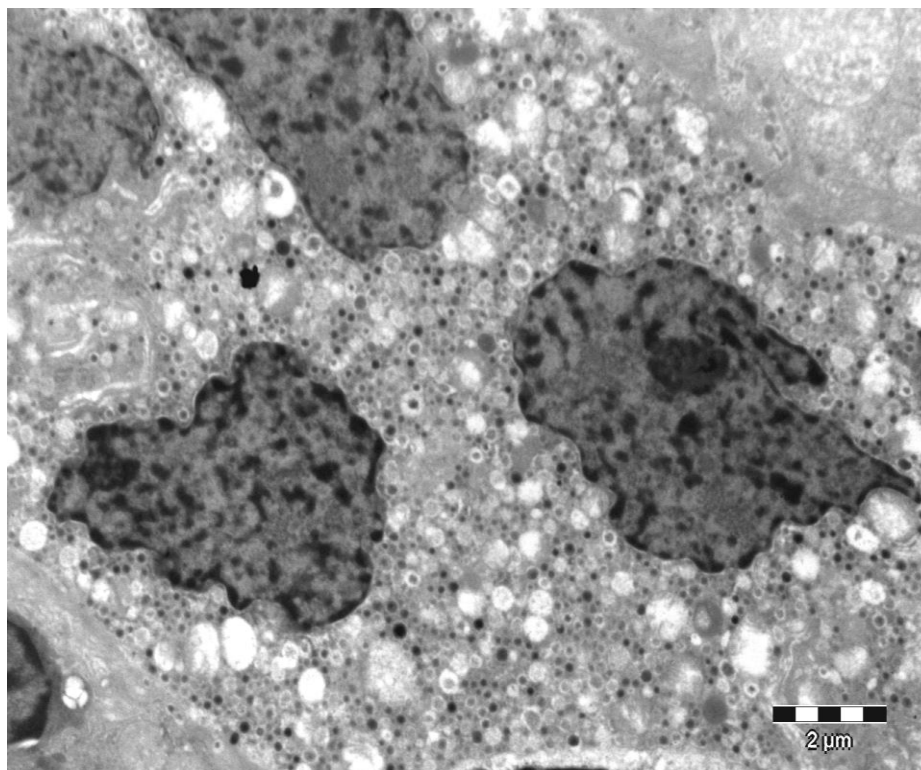


Fig. 32. Lot III. Glanda suprarenală. Zona medulară
Proces de alterare- degenerare a nucleilor

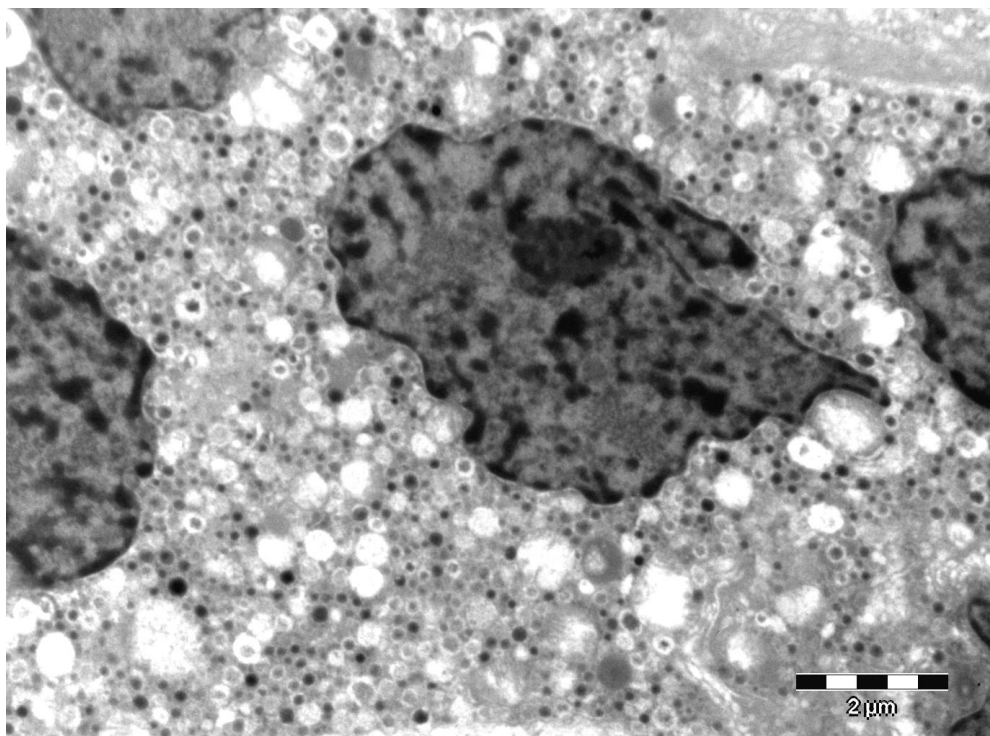


Fig. 33. Lot III. Glanda suprarenală. Zona medulară
Proces de alterare- degenerare a nucleilor

3.4.5. Rezultate histochimice și histoenzimologice asupra glandelor suprarenale

Adenozintrifosfataza Mg dependentă (ATP-aza): enzimă mitocondrială și membranară exprimată printr-o colorație maro.

La lotul II tratați la parametrii de 4/400 impulsuri/sec. se observă cea mai intensă activitate enzimatică. Este foarte intensă în zona glomerulară și foarte bine exprimată în zona fasciculată și reticulară. Reacția pentru ATP-ază este intensă și în zona medulară.

La lotul martor I și III activitatea enzimatică este mai redusă comparativ cu lotul II fiind la fel la toate cele trei loturi. (Fig. 34)

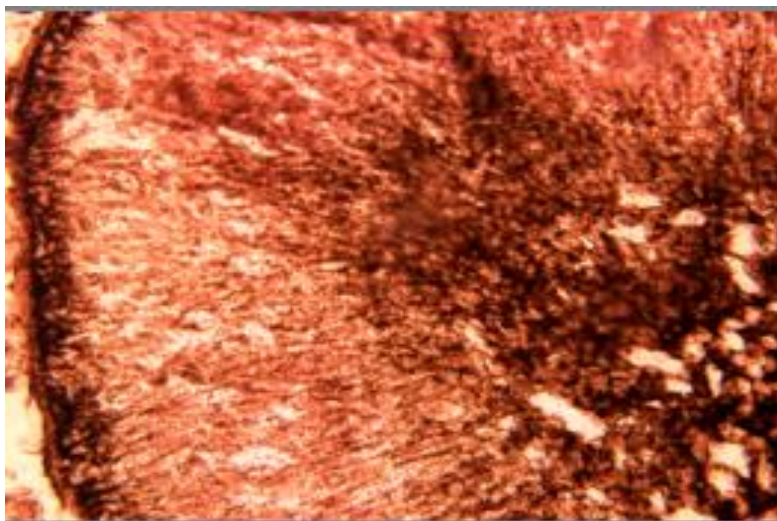


Fig. 34. Glandă suprarenală, lot II
(4/400 impulsuri/sec.). ATP-ază 10x.

Citocromooxidaza (CyOx) este o enzimă mitocondrială evidențiată printr-o colorație verzuie, intensă în zona corticală, mai ales în straturile glomerulare și fasciculare. În zona medulară activitatea CyOx este mai redusă.

La lotul II se observă cea mai intensă activitate enzimatică comparativ cu loturile martor, I și III, unde activitatea CyOx este la fel. (Fig. 35)

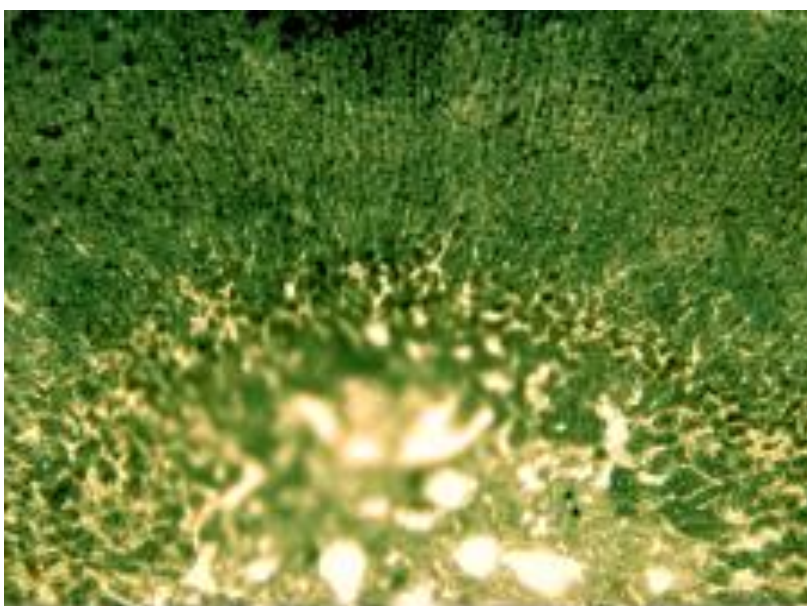


Fig. 35- Glandă suprarenală lot II
(4/400 impulsuri/sec.). CyOx 10x.

Succinatdehidrogenaza (SDH) este o enzimă mitocondrială, se pune în evidență sub forma unei colorații albastră-violacee, distribuită în toate straturile

zonei corticale fiind mai intensă în zona reticulară. Activitatea SDH este foarte redusă în zona medulară.

Cea mai intensă activitate enzimatică este la lotul II. La lotul I și III activitatea SDH este la nivelul lotului martor. (Fig. 36).

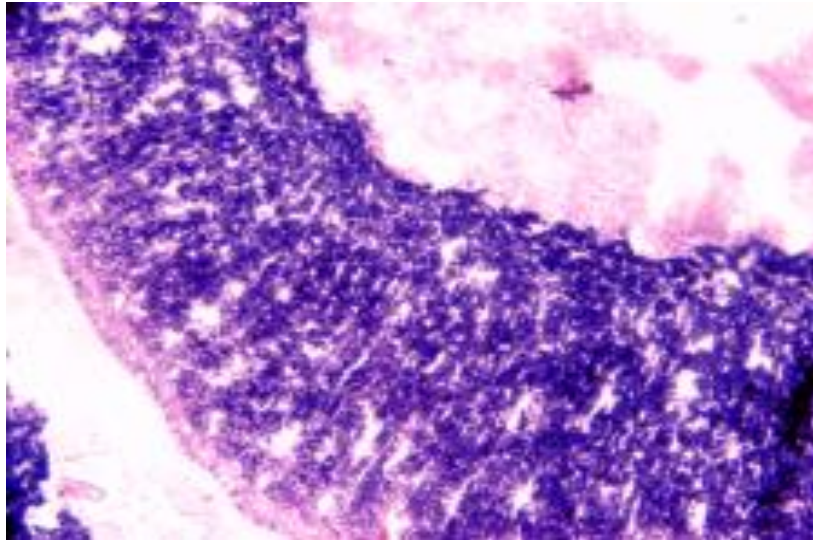


Fig. 36- Glandă suprenală lot II
(4 /400 impulsuri/sec.). SDH 10x

Monoaminoxidaza (MAO). Activitatea enzimatică se evidențiază sub forma unei colorații roșii în toate straturile corticale. În zona medulară activitatea MAO este mult redusă.

Lotul II (4/400 impulsuri/secundă) prezintă cea mai intensă activitate enzimatică în comparație cu lotul martor și loturile I (1/80 impulsuri/secundă) și III (6/600 impulsuri/secundă). (Fig. 37)

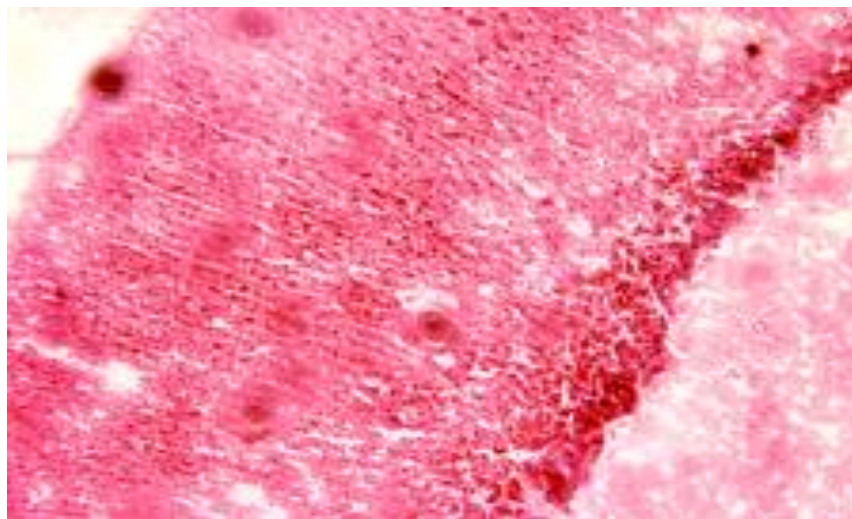


Fig. 37- Glandă suprarenală lot II
(4/400 impulsuri/sec.). MAO 10x

3.5. Discuții

Analizând rezultatele obținute de la microscopia optică și microscopia electronică, reiese faptul că aplicarea tratamentului cu unde scurte pulsatile (Diapulse) la animalele de experiență a indus anumite modificări histologice.

Cele mai extinse modificări s-au observat la loturile II și III comparativ cu lotul I.

Abundența granulelor de secreție hormonală de la nivelul celulelor zonelor fasciculate și reticulară confirmă influența benefică a iradierii în doza de 1/80 impulsuri/sec. asupra procesului de sinteză și secreție hormonală. Considerăm însă faptul că această doză, care este aplicabilă la om pe zone mai restrânse și având o putere de penetrare relativ mică, la șobolan iradierea a avut loc pe tot corpul, iar datorită dimensiunilor mai mici ale animalului, probabil că penetrarea iradierii a fost mai puternică.

La doza de 4/400 impulsuri/sec., la nivelul tuturor celor trei zone ale corticosuprarenalei s-a observat o abundență mai mare a granulelor de secreție hormonală. Nu au fost observate modificări morfologice și structurale.

Prin modificările structurale și ultrastructurale la nivelul glandelor suprarenale apărute la lotul II (4/400 impulsuri/sec.) comparativ cu lotul martor și lotul I, respectiv o intensificare a proceselor de sinteză proteică, stimulare a metabolismului pentru o producție hormonală crescută, intensificarea metabolismului energetic în furnizarea energiei necesare producției crescute de hormoni, cât și datorită intensificării activității unor enzime mitocondriale observate prin studiile histoenzimologice se poate spune că există o stimulare a funcției glandei suprarenale. Glucocorticoizii au efecte antiinflamatoare, fiind larg utilizați în tratarea artritelor, în general a bolilor inflamatorii. Hormonii mineralocorticoizi asigură balanța și controlul fluidelor și al electroliților, respectiv aldosteronul și deoxicorticosteronul^{88, 89, 90}.

Datele din literatura de specialitate arată existența unei corelații între activitatea de secreție hormonală a corticosuprarenalei și fluxul sangvin în capilare⁹¹, care la experimentul nostru la lotul II prin studii histologice s-a observat o densitate mai mare a capilarelor, sugerând o mai intensă alimentare cu sânge, în primul rând a zonei glomerulare.

La animalele din lotul III (6/600 impulsuri/sec.) studiile de microscopie optică și electronică au remarcat mici zone de liză și necroză celulară cu scăderea numărului de granule hormonale, cu o diminuare a activității de sinteză și secreție hormonală.

La lotul III mitocondriile unor celule au matricea ușor rarefiată indicând scăderea capacității metabolismului lor energetic.

Am putea spune că pentru șobolani această doză de iradiere este prea puternică, inducându-se o stare de stres.

Totusi rezultatele obținute pe aceste animale nu pot fi extrapolate întocmai pentru organismul uman.

Mitocondria este un organit de conversie energetică. Energia este convertită într-o formă adecvată menținerii proceselor vitale, acesta fiind ATP-ul.

Mitocondria, în afara funcției energetice, are și alte funcții metabolice.

În mitocondrii, ATP-ul este produs prin oxidarea substraturilor organice în prezența oxigenului.

Toate funcțiile celulare sunt dependente de o continuă alimentare cu energie. Energia este obținută prin degradări succesive ale moleculelor organice în timpul procesului de respirație celulară. Energia eliberată prin ruperea legăturilor chimice care are loc în timpul acestui proces, este în final stocată sub formă de molecule de ATP.

În celulele cu respirație activă, ATP-ul constituie o sursă de energie ușor procurabilă pentru toate funcțiile metabolice ale celulei ^{93,94,95,96}.

3.6. Concluzii

Nu s-au evidențiat modificări macroscopice la niciunul dintre loturile care au fost supuse tratamentului cu unde scurte pulsatile, dar nici la lotul martor.

Studiile de microscopie optică și microscopie electronică efectuate în cadrul acestor cercetări au evidențiat modificări apărute la nivel celular și subcelular asupra suprarenalelor recoltate de la șobolani care au fost supuși unor tratamente cu unde scurte pulsatile aplicate la diferite intensități, comparativ cu același organ de la animalele martor, netratate.

La lotul martor nu au fost evidențiate modificări celulare și subcelulare.

La lotul I iradiat cu doza de 1/80 impulsuri/sec. studiile de microscopie optică și microscopie electronică au arătat o ușoară intensificare a proceselor metabolice față de lotul martor și o ușoară stimulare a procesului de sinteză și secreție hormonală mai ales la nivelul zonei fasciculate și reticulare. Mitocondriile erau normal structurate și prin numărul lor mare prezintă o activitate optimă a metabolismului energetic. Nu au existat efecte secundare.

La lotul II, iradiat cu doza de 4/400 impulsuri/sec. studiile structurale și ultrastructurale arată la nivelul tuturor celor trei zone ale corticosuprarenalei o intensificare a proceselor de sinteză și secreție hormonală, față de lotul martor și lotul I, intensificarea metabolismului energetic în furnizarea energiei necesare producției crescute de hormoni, o intensificare a proceselor de sinteză la nivelul capsulei a fibrelor de collagen, necesare pentru procesele de vindecare.

S-a demonstrat că la această doză există o intensificare a proceselor de sinteză și secreție hormonală, o stimulare a funcției suprarenaliene.

Tabloul de ansamblu al imaginilor obținute la nivelul tuturor zonelor corticosuprarenalei de la lotul III, iradiat cu doza de 6/600 impulsuri/sec. este de o ușoară diminuare a activității de sinteză și secreție hormonală, dar nu sub limitele existente la lotul martor. S-au remarcat mici focare de liză și necroză celulară. Mitocondriile unor celule au matricea mitocondrială ușor rarefiată, ceea ce indică o scădere a capacității metabolismului energetic.

Probabil pentru animalele de experiență această doză este prea puternică, inducându-le o stare de stres. S-a demonstrat o intensificare moderată a activității enzimelor mitocondriale: ATP-aza, CyOx, SDH, MAO, în special la lotul II (4/400 impulsuri/sec.) în comparație cu loturile martor și loturile experimentale I și III care au avut activități enzimactice asemănătoare.

Având în vedere că SDH participă la ciclul Krebs, CyOx participă la oxidarea terminală, iar ATP-aza participă la transportul prin membrană și metabolismul energetic, putem spune că la lotul II se remarcă o intensificare moderată a activității unor enzime care participă la metabolismul energetic.

Se poate constata o sensibilitate la acțiunea undelor scurte pulsatile a medulosuprarenalei.

Importanța studiilor de microscopie optică și electronică pentru a putea evidenția modificările morfologice și histologice după expunerea la undele scurte pulsatile, efectele biologice ale acestor curenți de înaltă frecvență la nivelul glandei suprarenale.

4. Studii histologice la nivelul de organe și țesuturi

Cercetarea de față a avut următoarele obiective:

1. De a studia efectele biologice, prin studii structurale și ultrastructurale asupra unor organe și țesuturi la animale de experiență după expunerea lor la unde scurte pulsatile aplicate la diferite doze.

2. Evidențierea modificărilor apărute la nivel celular și subcelular la nivelul organelor și țesuturilor recoltate de la animalele de experiență care au fost supuse unor tratamente cu unde scurte pulsatile la diferite doze, comparativ cu animalele martor netratate.

4.1. Cercetări structurale la nivelul tegumentului

Nu au existat modificări decât la lotul III, iradiat cu doza de 6/600 impulsuri/sec, respectiv hipercheratoză, infiltrat discret cu neutrofile, euzinofile și mastocite în dermul superficial. (fig. 38)

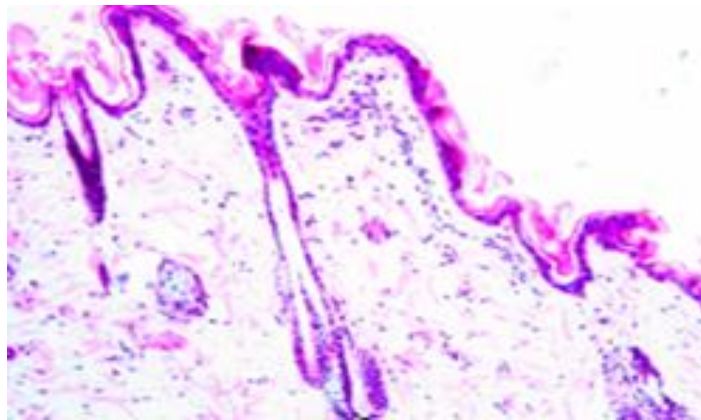


Fig. 38 Piele- epiderm și derm. Lot III. Hipercheratoză (ortocheratină), infiltrat discret cu neutrofile, euzinofile și mastocite în dermul superficial; col. HE x 100

4.2. Cercetări structurale la nivelul măduvei oasoase hematogene

Nu au existat la niciunul din loturi modificări histologice structurale (fig. 39).

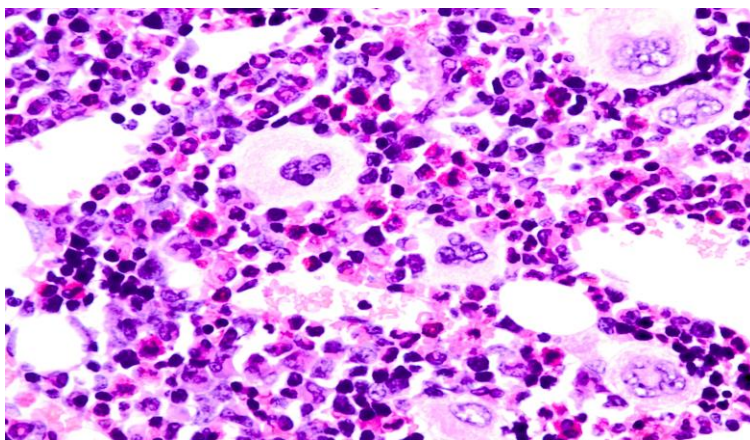


Fig. 39- Măduva oasoasă hematogenă. Aspect normal. Col. HE x 400

4.3. Cercetări structurale de țesut muscular striat

La nivelul țesutului muscular striat undele scurte pulsatile nu au indus modificări. (fig. 40)

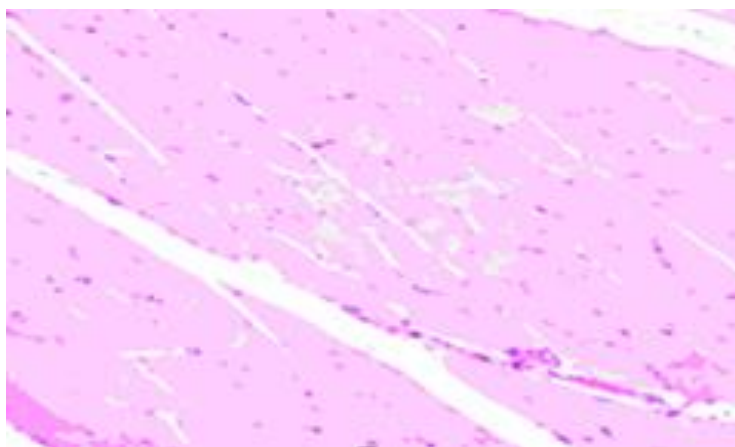


Fig. 40- Țesut muscular striat. Loturile I, II și III. Fără modificări. Col. HE x 100.

În ceea ce privește efectele undelor scurte pulsatile asupra unor organe interne s-au constatat următoarele modificări histologice-structurale:

4.4. Modificări celulare la nivelul ficatului

La lotul martor nu au existat modificări. La animalele iradiate cu doza 1/80 impulsuri/sec se constată infiltrație lipidică intracelulară sub formă de vacuole multiple, clare, de dimensiuni mici, hipertrofia hepatocitelor, incluzii acidofile intranucleare (fig. 41), congestie centrolobulară, hepatocite în stadiul de necroză incipientă (corpi acidofili) (fig. 42).

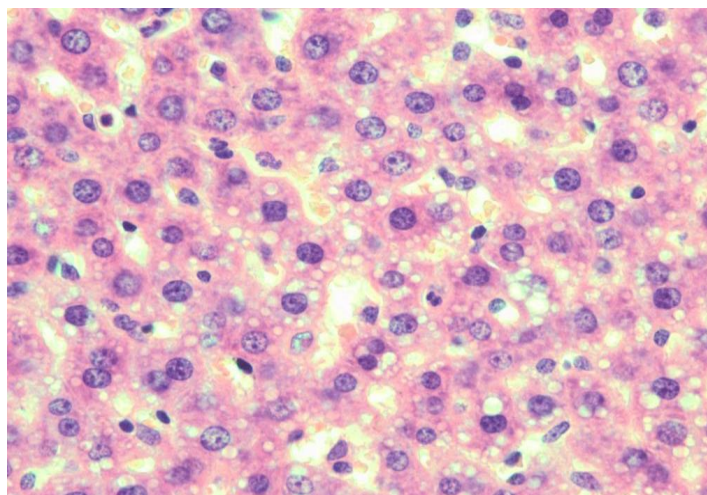


Fig. 41- Ficat. Lot I. Infiltrație lipidică intracelulară sub formă de vacuole multiple, hipertrofia hepatocitelor. Col. TM x 100.

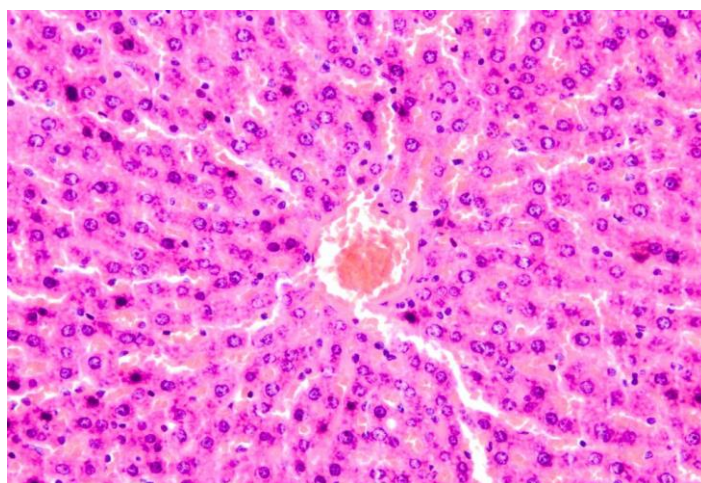


Fig. 42- Ficat. Lot I. Hepatocite în stadiul de necroză incipientă. Col. HE x 200

La animalele tratate cu doza de 4/400 impulsuri/sec s-a observat fibroză în punți porto-portale, necroză hepatocitară piecemeal, infiltrat inflamator periportal dominat de mononucleare (fig. 43), hiperplazie de ducte biliare, corpi apoptotici (fig. 44).

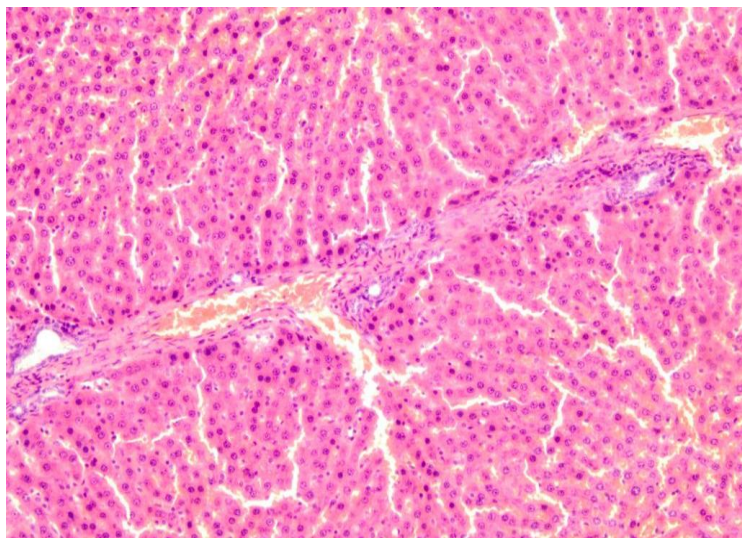


Fig. 43- Ficat. Lot II. Fibroză în punți potro-portale, necroză hepatocitară.
Col HE x 100.

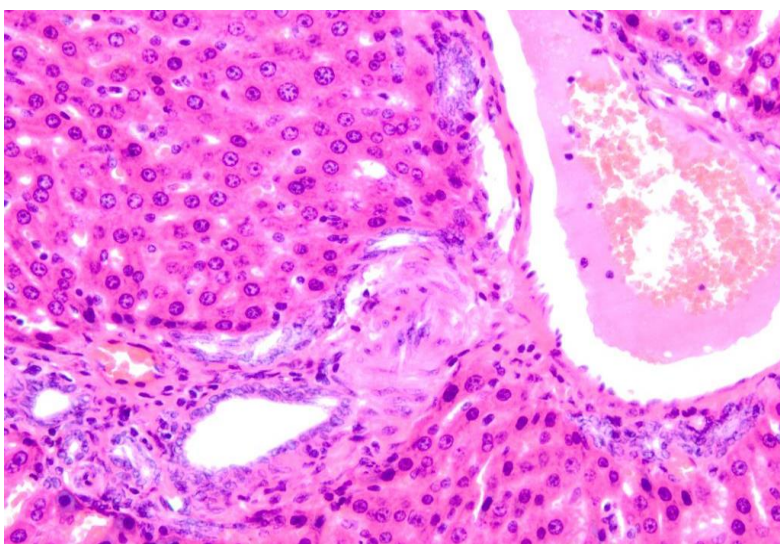


Fig. 44- Ficat. Lot II. Fibroză portală, hiperplazie ducte biliare, corpi apoptotici.
Col HE x 400.

S-a constatat la lotul tratat cu doza de 6/600 impulsuri/sec infiltrație lipidică intracelulară sub formă de vacuole, hipertorfie celulară. (fig. 45).

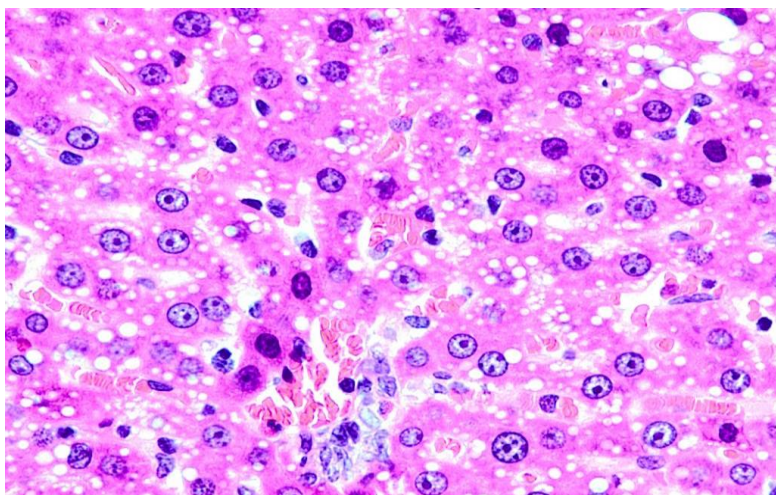


Fig.45- Ficat. Lot III. Infiltrație lipidică intracelulară, hipertrofie celulară.
Col.HE x 400.

4.5. Modificări celulare la nivelul splinei

Animalele iradiate cu 1/80 impulsuri/sec au prezentat la nivelul splinei proliferare de limfocite B, celule în diferite stadii de diviziune. (fig. 46) cele mai mari modificări au apărut la lotul iradiat cu doza de 6/600 impulsuri/sec la nivelul pulpei albe observându-se proliferare de limfocite B, multiple diviziuni mitotice. (fig. 47).

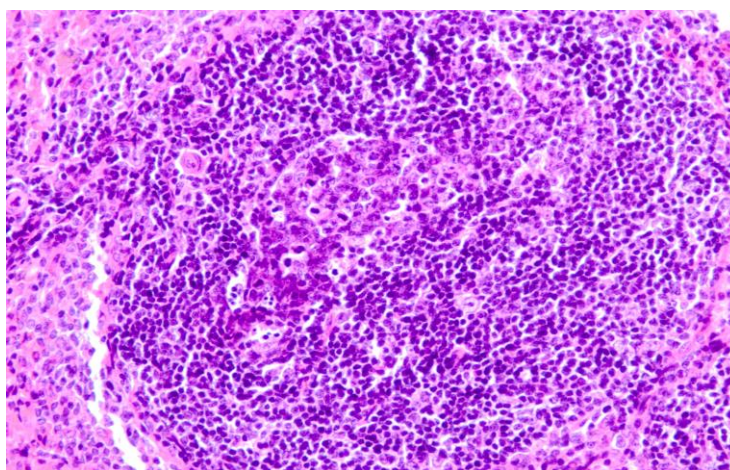


Fig. 46- Splină. Lot I. Pulpa albă-folicul limfoid cu centrul germinativ, proliferare de limfocite B, celule în diferite stadii de diviziune. Col. HE x 200

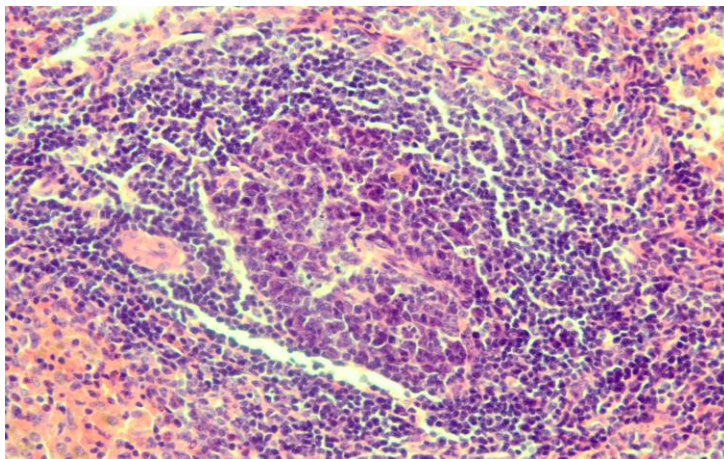


Fig. 47- Splină. Lot III. Pulpa albă. Folicul limfoid cu centru germinativ, multiple diviziuni mitotice, proliferarea limfocitelor de tip B. Col. HE x 200.

4.6. Studii structurale obținute asupra creierului

La lotul martor, în substanța cenușie neuronii erau normal structurați, s-a remarcat prezența unor neuroni îmbătrâniți, un proces care are loc în mod normal de-a lungul vieții fiecărui individ. În substanța albă axonii erau normal mielinizați.

La animalele iradiate cu doza de 4/400 impulsuri/sec s-a evidențiat o ușoară creștere a activității metabolismului creierului, evidențiată prin prezența a numărului mai mare de neuroni cu structură normal conformată (fig. 48), în substanța albă axonii prezintă un înveliș cu mielinizare normală.

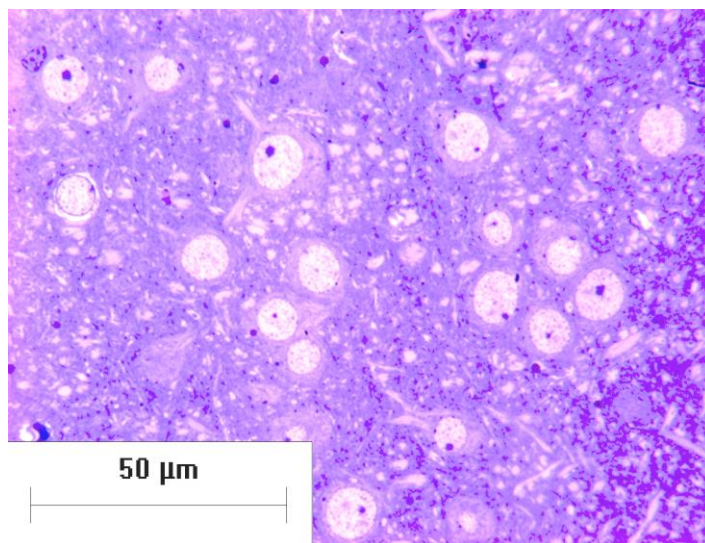


Fig. 48- Creier. Lot II. Neuroni normal conformați. 400 x.

La doza de 6/600 impulsuri/sec multitudinea de neuroni normal structurați indică o creștere semnificativă a metabolismului creierului comparativ cu loturile precedente. Neuronii sunt ceva mai numeroși raportați la unitate de suprafață pe volum de creier. (fig. 49). Numărul de neuroni îmbătrâniți și aflați în degenerare

sunt mai puțini decât la loturile anterioare, iar capilare sanguine sunt normal structurate. În substanța albă multitudinea de axoni prezintă o bună mielinizare ceea ce sugerează o mai bună protecție pentru rapiditatea conducerii influxurilor nervoase spre efectori (fig. 50).

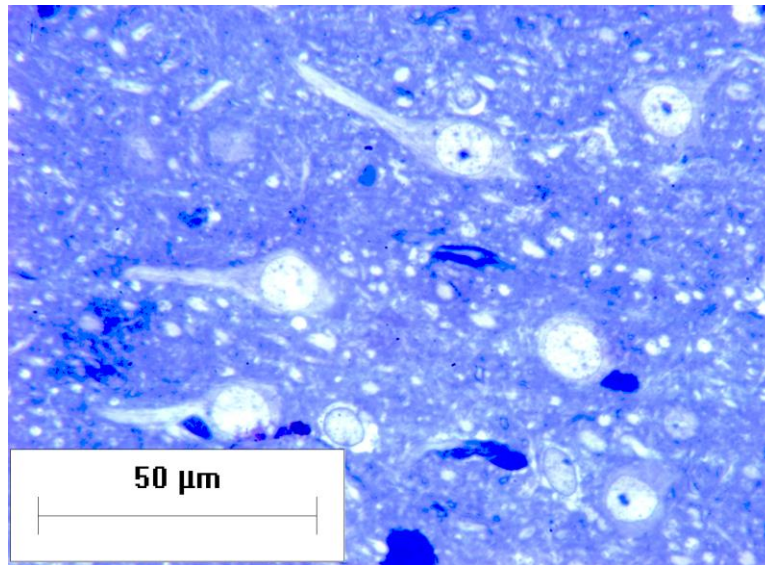


Fig. 49- Creier. Lot III. Neuroni normal structurați. 100 x

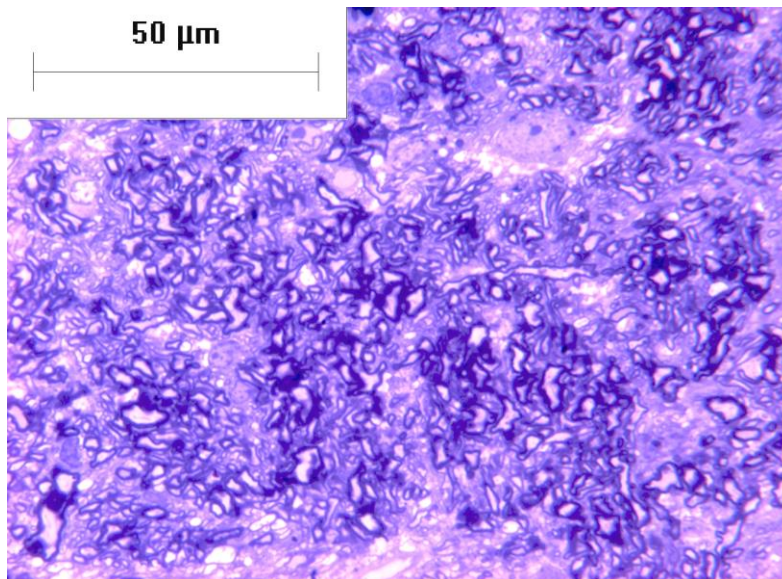


Fig. 50- Creier. Lot III. Axoni cu o buna mielinizare. 100 x

4.7. Studii ultrastructurale (microscopie electronică) efectuate asupra creierului

La lotul martor neuronii erau cu o structură normală. În citoplasmă sunt vizibile profile înguste de REG (corpi Nissl), mitocondrii, lizozomi, complex Golgi și ribosomi liberi. (fig. 51). De la fiecare neuron porneste câte un axon, în axoplasma căruia se disting numeroși neurotubuli ordonați paralel în lungul prelungirii axonale, mitocondrii și rare profile înguste de REG .

Din loc în loc au fost puși în evidență neuroni aflați în diferite faze ale procesului de degenerescență neuronală. Nucleii acestor neuroni și-au pierdut forma sferică, au devenit hipercromi, denși, iar în neuroplasmă se remarcă faptul că profilele REG și mitocondriile sunt dilatate și matricea citoplasmică este densă .

În substanța albă axonii sunt normal mielinizați, iar vasele de sânge prezintă o structură normală .

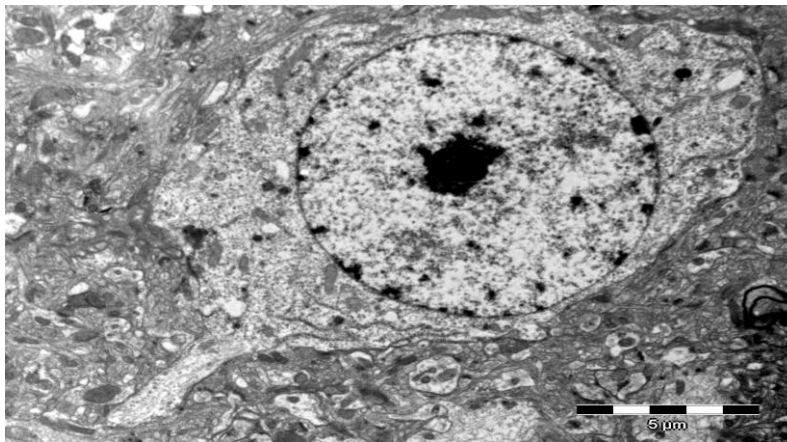


Fig.51- Creier. Lot martor. Neuroni cu structură normală.

Aspectele ultrastructurale ale creierului șobolanilor iradiați cu doza de 4/400 impulsuri/sec, lot II au fost asemănătoare cu cele din lotul martor. În neuroplasmă au fost prezente mai multe profile de REG și o densitate mai mare de ribosomi și polisomi ceea ce semnifică existența unui intens proces de sinteză proteice. Este evidentă prezența mitocondriilor și a lizosomilor, iar complexul Golgi este mai activ în zona conului de emergență al axonului. În lungul axonilor se remarcă prezența neurotubulilor și a neurofilamentelor .

În procesul de degenerescență neuronală, sunt evidențiate diferite aspecte de degenerare a unor neuroni, cu aceleași caracteristici ultrastructurale ca și la lotul martor .

În substanța albă, axonii prezintă o mielinizare normală.

Vasele de sânge, capilarele sanguine și venulele, sunt normal structurate. (Fig. 52, 53)

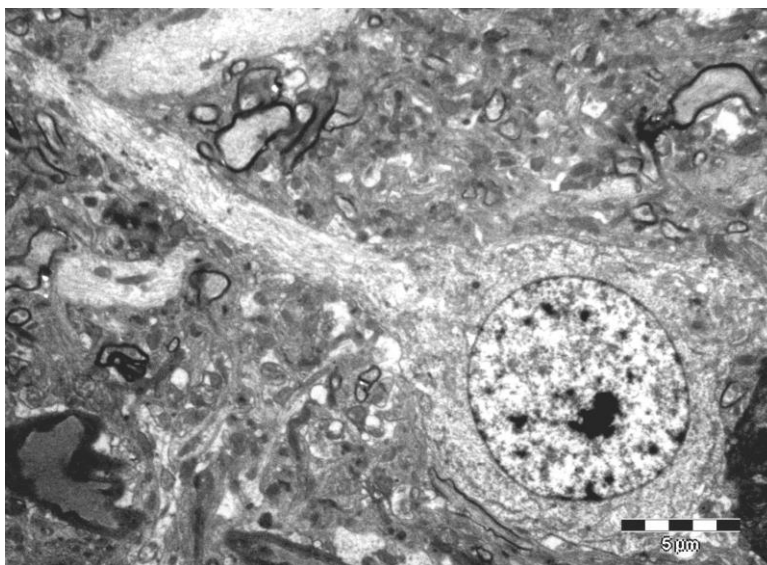


Fig. 52- Creier. Lot II (4/400 impulsuri/secunde)
Neuroplasmă cu profile de REG.

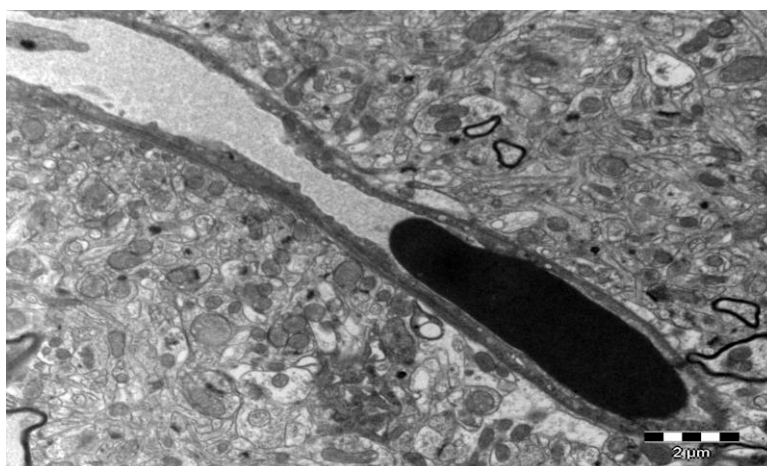


Fig. 53- Creier. Lot II (4/400 impulsuri/secunde)
Vas de sânge normal structurat.

La lotul iradiat cu doza de 6/600 impulsuri/sec. s-a observat o densitate mai mare de neuroni aflați într-o stare de activitate metabolică intensă. În citoplasmă REG este mai bine reprezentat sugerând o activitate intensă pentru sintezele proteice, mai evidente aici decât la lotul iradiat cu doza de 4/400 impulsuri/sec. (fig. 54). La nivelul axonului neurotubulii sunt dispuși paralel în axul lung al acestuia sugerând o bună dirijare și conducere a influxului nervos. (fig. 55). În substanța albă există o puternică mielinizare a axonilor astfel că la unii axomi stratul de mielină apare mai îngroșat, ceea ce conferă o mai bună protecție pentru transmiterea impulsurilor nervoase (fig. 56). Vasele de sânge, atât capilare sanguine, cât și venule, sunt normal structurate.

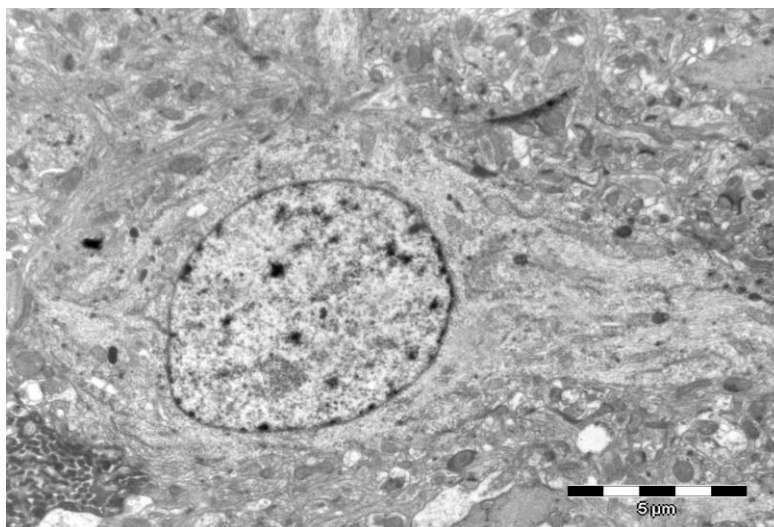


Fig. 54- Creier. Lot III (6/600 impulsuri/secunde)
Citoplasmă cu REG bine reprezentat.

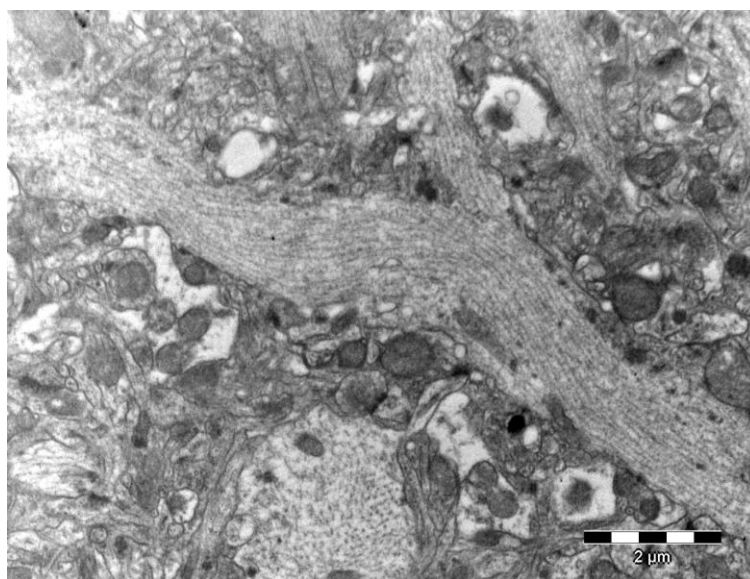


Fig. 55- Creier. Lot III (6/600 impulsuri/secunde)
Axon cu neurotubuli dispuși paralel.

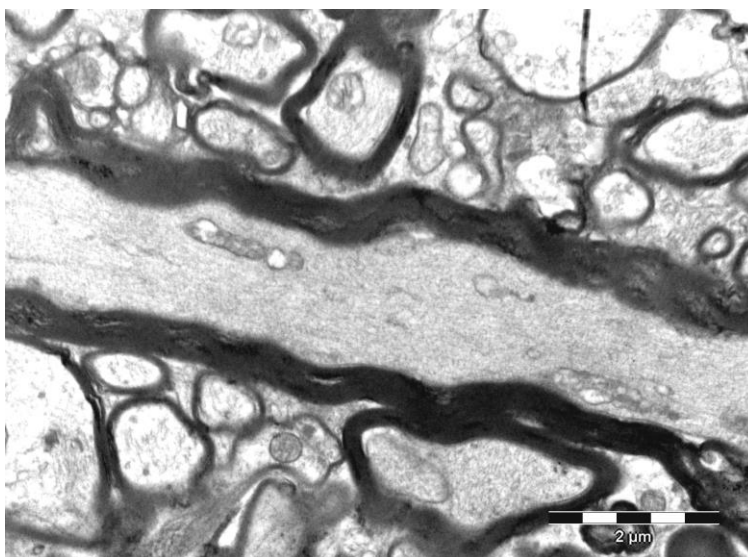


Fig. 56- Creier. Lot III. (6/600 impulsuri/secunde)
Substanța albă, puternică mielinizare a axonilor.

4.8. Concluzii

Putem spune că undele scurte pulsatile au produs modificări diferite la nivel de organ și țesut, modificări în funcție de doză.

Cele mai sensibile organe la acțiunea acestor unde au fost ficatul, splina, suprarenală și creierul.

La nivelul ficatului creșterea dozei de tratament este însoțită de accentuarea procesului de fibroză hepatică.

Creșterea dozei de tratament la nivelul splinei duce la o activare progresivă a centrului germinativ, folicular, cu multiple diviziuni mitotice și proliferare de limfocite B.

Prin creșterea dozei de tratament la nivelul glandei suprarenale s-au constatat modificări de necrobioză și citoliză cu degenerescență vacuolară. Dozele mari de tratament au constituit se pare un stres prea puternic pentru organism, la care capacitatea hormonală specifică de răspuns în stările de stres a medulei a fost depășită.

La nivelul creierului din analiza imaginilor de microscopie electronică a rezultat faptul că tratarea la doza de 6/600 impulsuri/sec a indus un efect benefic mai bun, sugerând o activitate intensă pentru sintezele proteice, mai evidente decât la lotul tratat cu doza de 4/400 impulsuri/sec, o puternică mielinizare a axonilor, astfel că la unii axoni stratul de mielină apare mai îngroșat, ceea ce conferă o mai bună protecție pentru transmiterea impulsurilor nervoase.

Studiile de microscopie optică și microscopie electronică efectuate în cadrul acestor cercetări, au vizat, în primul rând, evidențierea modificărilor apărute la nivel celular și subcelular asupra unor organe și țesuturi, recoltate de la animalele de experiență care au fost supuse unor tratamente cu unde scurte pulsatile aplicate cu

diferite intensități, comparativ cu aceleași organe recoltate de la animale martor, netratate.

Numai prin utilizarea unor tehnici și metodologii variate și complexe, se poate ajunge la obținerea unor rezultate semnificative, care prelucrate și corelate ulterior, pot oferi răspunsuri la obiectivele propuse. În același timp, datele obținute în urma acestor cercetări, pot oferi noi căi de cercetare pentru o mai bună înțelegere a mecanismelor de acțiune a acestor unde scurte pulsatile.

Existența unor rezultate favorabile după tratamentul cu unde scurte pulsatile într-o serie de afecțiuni, presupun obligatoriu modificări morfologice și histologice la nivelul țesuturilor tratate.

REFERINȚE

- ¹ Rădulescu A. Electroterapie. Editura Medicală București, 2004 .
- ² Drăgoi M. Curs de eletroterapie și fototerapie.Lito U.M.F. Timisoara, 2001 .
- ³ Drăgoi M, Milicin C, Gherman F, Drăgoi RG . Ghid practic și legislativ de electroterapie. Lito U.M.F. Timișoara , 2008.
- ⁴ Pop L. Cercetări clinico-experimentale asupra efectelor biologice și terapeutice ale undelor scurte pulsatile (Diapulse). Teză de doctorat. U.M.F. „Iuliu Hațieganu”. Cluj-Napoca, 1985.
- ⁵ Onose G. Recuperare, medicină fizică și balneoclimatologie. Editura Medicală București, 2008 .
- ⁶ Pop L. Curs de balneofizioterapie și recuperare medicală. U.M.F. „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca ,1994 .
- ⁷ Low J, Reed A. Electrotherapy Explained. Londra: Butterworth Heinemann 1990.
- ⁸ Sturza M, Băltăceanu Gh. Fizioterapie. Editura Medicală București ,1957.
- ⁹ Dumoulin J, Bisscop G . Electrothérapie, 4-ème edition 1980.
- ¹⁰ Carantino AM. Considerații morfologice cu valoare clinică și chirurgicală privind aponevroza palmară. Teză de doctorat. Universitatea „Ovidius” Constanța, 2006.
- ¹¹ Dumitru E, Pop L, Mureșan M. Sistemul renină-angiotensina și implicațiile în patologia umană. Com. USSM Fil. Cluj Balneologie 1980; 10-15.
- ¹² Raji ARM.,Bowden RE. Effects of high-peak pulsed electromagnetic field on the degeneration and regeneration of the common peroneal nerve in rats. J Bone Joint Surg Br. 1983; 65 (4): 478-92.
- ¹³ Raji ARM. An experimental study of the effects of pulsed electromagnetic field (Diapulse) on nerve repair. J Hand Surg Br. 1984; 9 (2): 105-112.
- ¹⁴ Siskin BF, Jacob JM, Walker JL. Acute treatment with pulsed electromagnetic fields and its effects on fast axonal transport in normal and regenerating nerve. J Neurosci Res. 1995; 42 (5): 692-699.
- ¹⁵ Siskin BF, Orgel M, Walker JL. Prospects on clinical applications of electrical stimulation for nerve regeneration. J Cell Biochem. 1993; 51 (4): 404-409.
- ¹⁶ Pedro JA, Coballer P, Dominiquez J, Collia F, Blanco J, Salvadoro M. Pulsed electromagnetic fields induce peripheral nerve regeneration and endplate enzymatic changes. Bioelectromagnetics 2005; 26: 20-27.
- ¹⁷ Wilson DH . The effects of pulsed electromagnetic energy on peripheral nerve regeneration. Annals of the New York Academy of Sciences 1974; vol. 238: 575-580.
- ¹⁸ Wilson DH, Jagadeesh P. Experimental regeneration in peripheral nerves and the spinal cord in laboratory animals exposed to a pulsed electromagnetic field. Paraplegia 1976; 14: 12-20.
- ¹⁹ Lieb RJ ,Regelson W, West B,Jordan RL, DePaolo DP. Effect of pulsed high frequency electromagnetic radiation on embryonic mouse palate in vitro. J Dent Res .1980; 59 (10): 1649-1652.

- ²⁰ Fenn J. Effects of pulsed electromagnetic energy (Diapulse) on experimental hematomas. *Canadian Med. Assoc J.* 1969; 100 (5): 251-254.
- ²¹ Erdman WJ. Peripheral blood flow measurements during application of pulsed high frequency currents. *American Journal of Orthopedics* 1960; 2: 196-197.
- ²² Ellis W. Pulsed subcutaneous electrical stimulation in spinal cord injury. *Bioelectromagnetics* 1987; 8 (2): 159-164.
- ²³ Kiwerski J, Chrostowska T, Weiss M. Clinical trials of the application of pulsating electromagnetic energy (Diapulse) in the treatment of spinal cord lesions. *Chir. Narz. Ortop. Pot.* 1980; 45 (3): 273-277.
- ²⁴ Young W. Pulsed electromagnetic fields alter calcium in spinal cord injury. *The society of neurological surgeons*, 1984.
- ²⁵ Constable JD, Scapicchio AP, Optiz B. Studies of the effects of Diapulse treatment of various aspects of wound healing in experimental animals. *J Surg Res.* 1971; 11 (5): 254-257.
- ²⁶ Matic M, Lazetic B, Poljacki M, Djuran V, Matic A, Gajinov Z. Influence of different types of electromagnetic fields on skin reparatory processes in experimental animals. *Lasers Med Sci.* 2009; 24:321-327.
- ²⁷ Badea MA, Vasilico R, Sandru D, Paslaru L, Jieanu V, Comorosan S. The effect of pulsed electromagnetic field (Diapulse) on cellular systems. *Rom J Physiol.* 1993; 30 (1-2): 65-71.
- ²⁸ Dogaru BG, Crăciun C, Cătoi C, Toader S, Pop L. Histological changes in organs and tissues of rats undergoing pulsed short wave treatment. *Annals of RSCB* 2009; XIV (2) : 73-79.
- ²⁹ Ghossaini SN, Spitzer JB, Mackins CC, Zschommlre A, Diamond BE, Wazen JJ. High-frequency pulsed electromagnetic energy in tinnitus treatment. *Laryngoscopie* 2004; 114(3): 495-500.
- ³⁰ Harris DJ, Gilbert M. Treatment modalities for soft tissue injuries of the ankle: a critical review. *Clin J Sport Med.* 1995; 5 (3): 175-86.
- ³¹ Pennington GM, Danley DL, Sumko MH, Bucknell A, Nelson JH. Pulsed, non-thermal, high frequency electromagnetic energy (Diapulse) in the treatment of grade I and grade II ankle sprains. *Military Medicine* 1993; 158: 101-104.
- ³² Pasila M, Visuri T, Sundholm A. Pulsating shortwave diathermy: value in treatment of recent ankle and foot sprains. *Arch Phys Med Rehabil.* 1978; 59 (8); 383-386.
- ³³ Comorosan S, Pana I, Pop L, Crăciun C, Cirlea AM, Paslaru L. The influence of pulsed high peak power electromagnetic energy (Diapulse) treatment on posttraumatic algoneurodystrophies. *Rew Roum Physiol.* 1991; 28 (3-4): 77-81.
- ³⁴ Livesley PJ, Mugglestone A, Whitton J. Electrotherapy and the management of minimally displaced fracture of the neck of the humerus. *Injury* 1992; 23 (5): 323-7.
- ³⁵ Trojel H, Lebech PE, Intermittent short waves (Diapulse) in the therapy of inflammatory pelvic disease. *Nord Med.* 1969; 81 (10): 307-310.
- ³⁶ Till M, Gibisch W, Frickert G, Reichert M, Schmidt KM. Postoperative management with pulsed high frequency electromagnetic energy. A clinical study of 38 patients with rhinoseptoplasty. *Handchir Mikrochir Plast Chir.* 1993; 25 (1): 26-32.

- ³⁷ Comoroşan S, Vasilico R, Arghiropol M, Pâslaru L, Jieanu V, Stelea S. The effect of diapulse therapy on the healing of decubitus ulcer. *Romanian Journal of Physiology* 1993; 30 (1-2): 41-45.
- ³⁸ Arghiropol M, Jieanu V, Pâslaru L, Vasilico R, Baciuc M, Popa N, et al. The stimulation of fibronectin synthesis by high peak power electromagnetic energy (Diapulse). *Rev Roum physiol* 1992; 26 (3-4): 77-81.
- ³⁹ Itoh M, Montemayor JS, Matsumoto E, Eason AL. Accelerated wound healing of pressure ulcers by pulsed high peak power electromagnetic energy (Diapulse). *Decubitus* 1991; 41(81): 22-34.
- ⁴⁰ Salzberg CA, Cooper SA, Perez F, Viehbeck MG, Byrne DW. The effects of Non-Thermal Pulsed Electromagnetic Energy (Diapulse) on wound healing of pressure ulcers in spinal cord-injured patients: A randomized, double-blind study. *Wounds* 1995; 7(1): 11-16.
- ⁴¹ Goldin J. The effects of Diapulse on the healing of wounds: A double-blind randomized controlled trial in man. *British Journal of Plastic Surgery*. 1981; 34: 267-270.
- ⁴² Ionescu A. Study of efficiency of Diapulse therapy on the dynamics of enzymes in burned wound. *The Bulletin and clinical Review of Burn Injuries* 1984; 1 (II):25-26.
- ⁴³ Debelle M. Effets thérapeutiques des ondes électromagnétiques de haute fréquence pulsées. *J. Belge Rhum Med. Phys* .1975; 30 (5-6): 330-349.
- ⁴⁴ Sambasivan M. Pulsed electromagnetic field in management of head injuries. *Neurology India* 1993; 41: 56-59.
- ⁴⁵ Silver N. Reduction of capsular contracture with two-stage augmentation mammoplasty and pulsed electromagnetic energy (Diapulse therapy). *Plast Reconstr Surg* .1982; 69 (5): 802-82.
- ⁴⁶ Sherman R, Robson L, Marden R . Explorations of pulsing electromagnetic fields in treatment of migraine headaches. *Headache* 1998; 38: 208-213.
- ⁴⁷ Sherman , Acosta M , Robson L. Treatment of migraine headaches with pulsing electromagnetic fields: A double blind, placebo controlled study. *Headache* 1999; 39: 567-575.
- ⁴⁸ Hakkinen AM, Blomqvist K, Spring E, Valtonen E. Simultaneous application of pulsed high frequency currents and gamma-rays to cultured melanoma cells. *Strahlentherapie* 1975; 149 (2): 205-207.
- ⁴⁹ Mindlin A, Williams E, Orloff S. Etude des fonctions hématologiques, hépatique et corticosuprénalienne, sous l'effet d'ondes électromagnétiques pulsées. *Acta Medica Belgica* .1975; 30 (5-6): 324-329.
- ⁵⁰ Nolan F, Barry C, Coughlan RJ, O'Connor P, Roden D. Pulsed high frequency (27MHz) electromagnetic therapy for persistent neck pain. A double blind, placebo- controlled study of 20 patients. *Orthopedics* 1990 .13 (4): 445-451.
- ⁵¹ Gray RJ, Qualye AA, Hall CA, Schofield MA. Physiotherapy in the treatment of temporomandibular joint disorders: a comparative study of four treatment methods. *Br Dent J*. 1994; 176 (7): 257-261.
- ⁵² Lee PB, Kim YC, Lim YJ, Lee CJ, Choi SS, Park SH, et al. Efficacy of pulsed electromagnetic therapy for chronic lower back pain: a randomized double-blind, placebo-controlled study. *J Int Med Res* .2006; 34 (2): 160-167.

- ⁵³ Callaghan J, Whittaker P, Grimes S, Smith L. Évaluation par la scintigraphie aux leucocytes marqués de l'efficacité des ondes courtes pulsées dans le traitement de l'arthrose du genou: étude randomisée, en double insu. *Revue du Rhumatisme* 2003 ; 231-236 .
- ⁵⁴ Zizic C, Hoffman P, Holt D, Hungerford J, O'Dell J, Jacobs M, et al. The treatment of osteoarthritis of the knee with pulsed electrical stimulation. *The Journal of Rheumatology* 1995; 22: 1757-1761.
- ⁵⁵ Kitchen S, Bazin S. Clayton's Electrotherapy. London: WB Saunders Company Ltd.; 1996.
- ⁵⁶ Clerin M. Ondes courtes pulsées. Synthèse des études fondamentales. *Acta Medica Belgica* 1981; 4 (3): 131-137.
- ⁵⁷ Pop L , Muresan M, Comorasan S, Paslaru L. The effect of pulsed, high frequency radio waves on rat liver (ultrustructural and biomedical observation). *Physiol Chem Phys Med NMR*. 1989; 21(1):45-55.
- ⁵⁸ Zundert JV, Louw A, Joosten EAJ, Kessels AGH, Honig W, Dederen P, et al. Pulsed and continous radiofrequency current adjacent to the cervical dorsal root ganglion of the rat induces late cellular activity in the dorsal horn. *Anesthesiology* 2005; 102: 125-31.
- ⁵⁹ Basset CA. Treatment of united tibial diaphyseal fractures with pulsing electromagnetic field. *The journal of bone and joint surgery* 1981; 63 (4): 511-523.
- ⁶⁰ Basset CA, Valdes MG, Hernandez E. Modification of fracture repair with selected pulsing electromagnetic fields. *The journal of bone and joint surgery* 1982; 64(6): 888-895.
- ⁶¹ Barclay V, Colier RJ, Jones A. Treatment of various hand injuries by pulsed electromagnetic energy (Diapulse). *Physiotherapy* 1983; 69 (6): 186-188.
- ⁶² Wilson DH. Treatment of soft tissue injuries by pulsed (high frequency) electrical energy. *British Medical Journal* 1972; 2 (29): 269-70.
- ⁶³ Bentall RHC, Eckstein HB. A trial involving the use of pulsed electromagnetic therapy on children under going orchiopexy. *Zeitschrift Fur Kinderchirurgie* 1975; 17 (4): 380.
- ⁶⁴ Rhodes LC. The adjunctive utilization of Diapulse therapy (pulsed high peak power electromagnetic energy) in accelerated tissue healing in oral surgery. *Quaterly of the National Dental Association* 1981;39(4): 166-175.
- ⁶⁵ Goatz GC. Pulsed electromagnetic (short-wave) energy therapy. *Br.J.Sports Med*. 1989;23:213-216.
- ⁶⁶ Ross J. Evolution, prevention and relief of acute and chronic pain with the application of Diapulse Therapy (Pulsed high Peak Power Electromagnetic Energy). Special Edition: Pain Report of Interdisciplinary Treatment of Chronic Pain (Schmerz) 1984; VFM (1): 6-9.
- ⁶⁷ Markow M S. Pulsed electromagnetic field therapy history, state of the art and future. *Environmentalist* 2007; 27: 465-475.
- ⁶⁸ Ryaby JT. Clinical effects of electromagnetic and electric fields on fracture healing. *Clin Orthopaedics* 1998.355 :205-215.
- ⁶⁹ Duma D, Buczynski AZ . Pulsed high frequense currents (Diapulse) applied in treatament of bed-sores. *Polski Tygodnik Lekarski (Warsaw)*.1978; 33:885-887.

- ⁷⁰ Ito H, Bassett CA. Effect of weak, pulsing electromagnetic fields on neural regeneration in the rat . Clinical Orthopaedics and Related Research 1983; 181:283-290.
- ⁷¹ Ito H , Shirai Y. The efficacy of ununited tibial fracture treatment using pulsing electromagnetic fields: Relation to biological activity on nonunion bone ends. Journal of Nippon Medical School 2001; 68:149-153.
- ⁷² Shandles I D. Heel neuroma: the enigma of recalcitrant heel pain and an innovative approach highlighting sixty surgical cases and a review of two hundred and fifty-seven symptomatic but non-surgical cases. The Foot 2002; 12: 10-20.
- ⁷³ Aronofsky DH. Reduction of dental postsurgical symptoms using non-thermal pulsed high-peak power electromagnetic energy. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology 1971; 32 (5): 688-696.
- ⁷⁴ Sanseverino ER. Membrane phenomena and cellular processes under the action of pulsating magnetic fields. Proceeding of the 2nd International Congress for Magneto-medicine, Rome, 1980.
- ⁷⁵ Frey AH. Differential biologic effects of pulsed and continuous electromagnetic fields and mechanisms of effect. Ann New York Acad Sci .1974; 238:273-279.
- ⁷⁶ Jenrich W. Pulsed short-wave therapy: Mechanism and applications. Eletromedica 1985; 53(4):165-168 .
- ⁷⁷ Valtonen EJ, Lilius HG, Tiula E. Disturbances in the function of cardiac pacemaker caused by short wave and microwave diathermies and pulsed high frequency current. Ann Chir Gynaecol Fenn.1975; 64 (5): 284-287.
- ⁷⁸ Crăciun C, Horobin R. A tissue processing schedule for parallel light and electron microscopy, Proc. Roy. Microsc. 1989 ; 24 (4) 223-224 .
- ⁷⁹ Hayat MA. Principles and techniques electron microscopy. Biological Appl. Fourth Ed., Ed. Cambridge Univ. Press. ,2000.
- ⁸⁰ Kay D. Techniques for electron microscopy. Second Ed., Blackwell Sci. Publ. Oxford, 1967.
- ⁸¹ Kuo J. Electron Microscopy. Methods and Protocols. Second Edition. Humana Press, 2007.
- ⁸² Pavelka M, Roth J. Functional ultrastructure. An atlas of tissue biology and pathology. Springer Wien-New York, 2005
- ⁸³ Ploaie P, Petre Z. Introducere în microscopia electronică cu aplicații în biologia celulară și moleculară. Editura Academică București, 1979
- ⁸⁴ Watt IM. The principles and practice of electron microscopy, Second Edition. Ed. Cambridge Univ. Press., 1997.
- ⁸⁵ Weakley BS . A beginning in biological TEM. Churchill Livingstone Edinburgh, 1981.
- ⁸⁶ Noorden C, Jonges G. Analysis of enzyme reactions in situ. Histochem. Journ. 1995 ; 27:101-118 .
- ⁸⁷ Mureșan E. Tehnici de histochimie normală și patologică. Editura Ceres București, 1976.
- ⁸⁸ Crăciun C. Elucidation of cell secretion : Pancreas led the way. Pancreatology 2004; 4: 487-489 .

- ⁸⁹ Ghadially F N. Ultrastructural pathology of the cell. Ed. Butterworths, London and Boston, 1978.
- ⁹⁰ Saragea M. Tratat de fiziopatologie. Vol I. Editura Academiei Romane 1985.
- ⁹¹ Floarea A, Crăciun C, Puică C. Modificări structurale și ultrastructurale produse în glandele suprarenale după administrarea experimentală a veninului de albine. *Studia Universitatis Babeș-Bolyai, Biologia* 2005; 2: 111-125.
- ⁹² Kis E, Crăciun C. Efecte secundare ale unor glucocorticoizi topici. Editura Risoprint Cluj-Napoca, 2005.
- ⁹³ Crăciun C. Citologie generală. Ed Risoprint Cluj-Napoca, 2007.
- ⁹⁴ Dogaru Gabriela, Crăciun C, Toader S, Tripon S, Pop L. Structural and ultrastructural changes in the adrenal glands of rats undergoing pulsed short wave treatment. *Annals of the romanian society for cell biology* 2009; dec XIV (2): 80-86
- ⁹⁵ Dogaru Gabriela, Crăciun C, Rusu M, Bódizs G, Călinici T, Pop L. Histoenzymological and biochemical cortisol and aldosterone changes in rats exposed to pulsed short waves (Diapulse). *Annals of the romanian society for cell biology* 2010; dec. XV (2): 79-86
- ⁹⁶ Dogaru Bombonica Gabriela. Taza doctorat: Contribuții experimentale și clinice privind rolul și locul curenților de înaltă frecvență pulsatiți în recuperarea pacienților cu afecțiuni reumatismale. Editura Medicală Universitară, "Iuliu Hațieganu". Cluj-Napoca, 2012.