

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

Efectul ultrasonoterapiei asupra stresului oxidativ la
pacienții artrozici

-Rezumatul tezei de doctorat-

Doctorand: **Rodica-Ana, Ungur**
Conducător doctorat: **Liviu Vladimir, Pop**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	15
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Stresul oxidativ în boala artrozică	19
1.1. Dovezi ale implicării stresului oxidativ în artroză	20
1.1.1. Sinteza speciilor reactive în structurile articulare	20
1.1.2. Producții de oxidare identificați în structurile articulare	21
1.1.3. Deficiențele apărării antioxidante în artroză	22
1.1.4. Eficiența terapiei antioxidante în artroză	24
1.2. Stresul oxidativ unul din mecanismele principale prin care factorii de risc acționează în geneza artrozei	25
1.2.1. Inflamația și stresul oxidativ în artroză	25
1.2.1.1. Artroza ca boală inflamatorie	25
1.2.1.2. Influența factorilor inflamatori asupra sinteze de radicali liberi și enzime antioxidante în artroză	25
1.2.1.3. Rolul radicalilor liberi în promovarea inflamației din boala artrozică	26
1.2.1.4. Rolul radicalilor liberi în semnalizarea intracelulară inițiată de stimulii inflamatori	27
1.2.1.5. Rolul radicalilor liberi în producerea efectelor de deteriorare exercitate de citokine asupra structurilor articulare	27
1.2.2. Supraîncărcarea articulară și stresul oxidativ în artroză	28
1.2.2.1. Mecanismele care declanșează sinteza de radicali liberi în articulații în condiții de stres mecanic	28
1.2.2.2. Mecanismele prin care speciile reactive acționează ca molecule semnalizatoare pentru a valida efectele stresului mecanic la nivel de cartilaj	29
1.2.3. Îmbătrânirea și stresul oxidativ în artroză	29
1.2.3.1. Îmbătrânirea cauzează stres oxidativ	30
1.2.3.2. Stresul oxidativ induce în condrocite senescența extrinsecă	30
1.2.3.3. Stresul oxidativ induce în condrocitele senescente stresul reticulului endoplasmatic	30
1.2.3.4. Stresul oxidativ modulează dezechilibrul fenomenelor anabolice și catabolice în condrocitele senescente	30
1.2.3.5. Stresul oxidativ contribuie la fibrozarea sinovialei	31
1.2.4. Obezitatea și stresul oxidativ în artroză	31
1.2.4.1. Leptina	31
1.2.4.2. Adiponectina	31
1.2.4.3. Visfatina	32
1.2.4.4. Acizii grași	32
1.2.5. Profilul genetic și stresul oxidativ în artroză	32
2. Efectele radicalilor liberi și produșilor de oxidare asupra structurilor articulare	33
2.1. Efectele radicalilor liberi și produșilor de oxidare asupra cartilajului	33
2.1.1. Efectele radicalilor liberi și produșilor de oxidare asupra condrocitelor	33
2.1.1.1. Reglarea căilor de semnalizare intracelulară	33
2.1.1.2. Sinteza de noi specii reactive	33
2.1.1.3. Inducerea fenotipului hipertrofic	34
2.1.1.4. Scăderea activității anabolice condrocitare	34
2.1.1.5. Deteriorarea structurii ADN nuclear	34

2.1.1.6. Deteriorarea morfofuncțională mitocondrială	34
2.1.1.7. Moartea condrocitară	35
2.1.2. Efectele radicalilor liberi și produșilor de oxidare asupra matricei extracelulare	36
2.1.2.1. Degradarea oxidativă a colagenului și proteoglicanilor	36
2.1.2.2. Sinteza și activarea metaloproteinazelor matriceale	36
2.1.2.3. Reducerea sintezei de inhibitori ai metaloproteinazelor matriceale	39
2.1.2.4. Reducerea sintezei proteinelor matriceale și a fenomenelor reparatorii	39
2.2. Efectele radicalilor liberi și produșilor de oxidare asupra membranei sinoviale	38
2.2.1. Inflamația sinovialei	38
2.2.2. Inducerea fenomenelor catabolice și apoptozei sinoviocitelor	38
2.2.3. Fibrozarea sinovialei	38
2.3. Efectele radicalilor liberi și produșilor de oxidare asupra structurilor osoase	39
3. Ultrasunetele. Noțiuni generale	39
3.1. Definiție. Parametrii fizici	39
3.2. Efectele ultrasunetelor și mecaismele prin care se produc	40
3.2.1. Efectele termice	40
3.2.2. Efectele netermice	41
3.2.2.1. Cavitația acustică	41
3.2.2.2. Mecanisme netermice și necavitaționale	41
3.2.2.3. Cavitația intramembranară	42
4. Efectele ultrasunetelor asupra stresului oxidativ	42
4.1. Efecte prooxidante	42
4.2. Efecte antioxidante	43
5. Efectele ultrasunetelor asupra cartilajului articular	44
5.1. Efectele ultrasunetelor asupra condrocitelor	44
5.2. Efectele ultrasunetelor asupra matricei extracelulare	44
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
1. Ipoteza de lucru. Obiective	47
2. Metodologie generală	48
3. Studiul 1 – Efectul ultrasunetelor cu intensitatea de 0,5W/cm², în emisie continuă, asupra balanței oxidanți/antioxidanți la pacienții cu gonartroză	55
3.1. Introducere	55
3.2. Ipoteza de lucru	57
3.3. Material și metodă	57
3.4. Rezultate	61
3.5. Discuții	79
3.6. Concluzii	94
4. Studiul 2 – Studiu comparativ privind efectele ultrasunetelor cu intensitatea de 0,5W/cm² și 1W/cm², în emisie continuă, asupra balanței oxidanți/antioxidanți la pacienții cu gonartroză	97
4.1. Introducere	97
4.2. Ipoteza de lucru	97
4.3. Material și metodă	98
4.4. Rezultate	99
4.5. Discuții	117

4.6. Concluzii	125
5. Studiul 3 - Efectele ultrasonoterapiei asupra degenerării cartilajului articular în artroza indusă experimental la iepure	127
5.1. Introducere	127
5.2. Ipoteza de lucru	127
5.3. Material și metodă	127
5.4. Rezultate	129
5.5. Discuții	140
5.6. Concluzii	143
6. Concluzii generale	145
7. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	147
REFERINȚE	148

REZUMAT

Cuvinte cheie: ultrasonoterapie, artroză, cartilaj, stres oxidativ

Artroza este o boală a cărei prevalență crește în întreaga lume prin asocierea fenomenului de îmbătrânire a populației cu un procent tot mai ridicat de persoane obeze. Numeroase studii de dată recentă susțin implicarea stresului oxidativ (SO) în patogeneza bolii artrozice. Condrocitele și sinoviocitele sintetizează în mod constitutiv specii reactive ale oxigenului (SRO) și specii reactive ale azotului (SRN) și au o apărare antioxidantă deficitară. Când producția de specii reactive (SR) depășește capacitatea antioxidantă și posibilitățile de reparare, la nivel celular, apare stresul oxidativ (SO).

În articulații, SO este implicat în deteriorarea cartilajului, inflamația sinovialei, scleroza osului subcondral și apariția durerii. La nivel de cartilaj, SR în exces stimulează sinteza citokinelor proinflamatorii, produc senescența și alterarea metabolismului condrocitar, reduc capacitatea de proliferare a condrocitelor și pot determina în final apoptoza acestora.

SR stimulează sinteza metaloproteinazelor matriceale, degradează oxidativ colagenul și proteoglicanii, inhibă sinteza colagenului de tip II și activarea inhibitorilor tisulari ai metaloproteinazelor matriceale, contribuind prin aceste acțiuni la degradarea matricei extracelulare.

Ultrasunetele (US) sunt utilizate de peste 60 de ani în tratamentul artrozei, dar efectele lor asupra balanței oxidanți/antioxidanți nu au fost încă pe deplin elucidate. Capacitatea US de a induce formarea de radicali liberi este recunoscută în literatura de specialitate și există studii care atestă prezența SR în diferite populații celulare expuse in vitro la doze de US similare celor utilizate în fizioterapie și ecografie, fapt ce ridică un semn de întrebare asupra siguranței utilizării US ca mijloc de diagnostic și tratament. Temerile sunt parțial moderate de studii care au demonstrat capacitatea celulelor idemne de a repara leziunile induse de agresiunea speciilor reactive, proprietate care le asigură rezistența la acțiunea prooxidantă și proapoptotică a US. Există de asemenea studii care neagă producerea SR și studii care susțin efectul antioxidant al US pentru expunerile realizate in vivo. Contradicția datelor din literatură nu este surprinzătoare deoarece s-a

demonstrat că efectele US variază foarte mult în funcție de specia expusă, parametrii undei ultrasonice și condițiile experimentale.

Pe de altă parte, există un număr redus de studii clinice cu design corespunzător care au confirmat eficiența US, și aceasta doar pentru US cu intensitatea de $1\text{W}/\text{cm}^2$ în administrare continuă și US cu intensitatea de $2\text{W}/\text{cm}^2$ în administrare pulsatilă.

În cercetarea prezentă ne-am propus să verificăm influențele ultrasonoterapiei asupra balanței oxidanți / antioxidanți la pacienții artrozici, dacă există o relație de tip doză-efect, care sunt efectele clinice la această categorie de pacienți și dacă există modificări structurale la nivel de cartilaj ca urmare a expunerii la ultrasunete.

Într-un **prim studiu**, analitic experimental de cohortă tip caz-martor, care a înrolat un număr de 64 pacienți diagnosticați cu gonartroză primară conform criteriilor ACR, stadiul radiologic I-III pe scala de clasificare Kellgren/Lawrence modificată, am apreciat efectele pe care US în emisie continuă, cu frecvența de $850\pm 5\%$ KHz și intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$ le au asupra principalilor markeri ai oxidării și apărării antioxidante la pacienții artrozici.

Pacienții au fost randomizați în lot martor, fără tratament, și lot tratat care a urmat exclusiv tratament cu US în emisie continuă, cu frecvența de $850\pm 5\%$ KHz și intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$, administrate 5 minute/câmp, timp de 10 zile.

Au fost determinați, în sângele periferic, înainte de expunerea la US, la sfârșitul expunerii și la 2 săptămâni de la încheierea expunerii la US: cuantificatorii oxidării, reprezentați de malondialdehidă (MDA) și proteinele carbonilate (PC), cuantificatorii apărării antioxidante enzimatic: superoxid dismutaza (SOD), catalaza (CAT) glutation peroxidaza (GPx), activitatea arilesterazică (AR-aza) a paraoxonazei (PON1) și activitatea paraoxonazică (PON-aza) a PON1, și cuantificatorii apărării antioxidante neenzimatic: capacitatea antioxidantă totală a serului (TAC), capacitatea de donator de hidrogen a plasmei (CDH), glutationul redus (GSH) și grupările tiol (SH). A fost apreciată concentrația plasmatică a monoxidului de azot (NO) moleculă care poate avea un comportament diferit, prooxidant, proinflamator, proapoptotic și proalgic sau antioxidant, antiinflamator, protector tisular și antialgic, în funcție de stimulii care au declanșat sinteza sa, enzima sintetizatoare și caracteristicile redox ale mediului în care a fost sintetizată. În paralel a fost determinată evoluția durerii apreciată pe scala analog vizuală (SAV) și evoluția performanțelor funcționale ale articulației genunchiului cuantificate prin scorul Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) și Indicele Lequesne (LI).

Rezultatele obținute au demonstrat că, la parametrii anterior amintiți, US:

1. cresc sinteza NO la pacienții cu gonartroză, cel mai probabil prin activarea enzimelor constitutive, nitric oxid sintetaza endotelială (eNOS) și nitric oxid sintetaza neuronală (nNOS). Nivelul NO se menține crescut și în primele 2 săptămâni după încheierea expunerii la US.
2. cresc apărarea antioxidantă neenzimatică prin creșterea CDH plasmatică.

3. cresc apărarea antioxidantă enzimatică prin creșterea activității arilesterazice a PON1.

4. asigură, la sfârșitul unui program de tratament de 10 zile, o capacitate crescută de regenerare a GSH care permite ca activitatea GPx, consumatoare de GSH, să se desfășoare fără reducerea concentrației plasmatice a GSH.

5. reduc durerea articulară apreciată pe SAV

8. ameliorează funcția articulară măsurată prin LI și scorul WOMAC

9. determină continuarea îmbunătățirii parametrilor clinici în primele 2 săptămâni după încheierea ultrasonoterapiei.

Al doilea studiu a fost un eseu de tip cross-over care a comparat, la același lot de pacienți, efectele US cu intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$ și cele ale US cu intensitatea de $1\text{W}/\text{cm}^2$ asupra balanței oxidanți/antioxidanți, asupra durerii, scorului WOMAC și LI. Studiul a înrolat, după o perioadă de wash-out și după reverificarea eligibilității cei 32 pacienți care au format lotul tratat cu US cu intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$ în studiul 1.

În studiul 2, lotul de pacienți a fost expus la US în emisie continuă, cu frecvența de $850\pm 5\%$ KHz și intensitatea de $1\text{W}/\text{cm}^2$, administrate 5 minute/câmp, timp de 10 zile. Variabilele determinate și momentul măsurării lor au fost identice cu cele din studiul 1.

Prin compararea evoluției parametrilor determinați ca urmare a expunerii la US administrate la cele două intensități, de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$ și $1\text{W}/\text{cm}^2$, am constatat următoarele aspecte:

1. US cu frecvența de $850\pm 5\%$ KHz în emisie continuă influențează diferit sinteza de NO în funcție de intensitatea de tratament. Sinteza de NO este crescută sub acțiunea US cu intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$ și scade în urma expunerii la US cu intensitatea de $1\text{W}/\text{cm}^2$.

2. US cu intensitatea de $1\text{W}/\text{cm}^2$ au o eficiență mai redusă în creșterea apărării antioxidante neenzimatică, cuantificată prin CDH și TAC plasmatică, comparativ cu US cu intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$.

3. US acționează în sens contrar asupra apărării antioxidante enzimatică în funcție de intensitate. US cu intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$ cresc activitatea arilesterazică a PON1, cele cu intensitatea de $1\text{W}/\text{cm}^2$ o scad.

10. Efectele prooxidante nu pot fi excluse în totalitate pentru intensitatea de $1\text{W}/\text{cm}^2$.

7. Reducerea durerii articulare apreciată pe SAV și reducerea scorului WOMAC sunt superioare pentru US cu intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$, comparativ cu US cu intensitatea de $1\text{W}/\text{cm}^2$.

8. Eficiența clinică este comparabilă pentru intensitățile US $0,5\text{W}/\text{cm}^2$ și $1\text{W}/\text{cm}^2$ în ameliorarea LI și a subscorurilor WOMAC pentru redoare și funcție articulară.

Al treilea studiu a fost realizat cu scopul de a verifica efectele US la nivel de cartilaj. Artroza a fost indusă experimental prin secționarea ligamentului încrucișat anterior și a fost confirmată radiologic la un număr de 25 de iepuri de rasă comună care au fost randomizați în 5 loturi. Primul lot, cu artroză indusă experimental, fără tratament cu US a fost sacrificat pentru confirmarea leziunii artrozice la nivel de cartilaj în ziua

începerii expunerii la US a loturilor tratate. Al doilea lot, fără tratament, a fost sacrificat la sfârșitul perioadei de ultrasonoterapie a loturilor tratate pentru a evidenția severitatea leziunilor artrozice cu o vechime identică cu cea a loturilor tratate. Loturile tratate au fost expuse la US cu intensitatea $0,5\text{W}/\text{cm}^2$, emisie continuă, US cu intensitatea $0,5\text{W}/\text{cm}^2$, emisie în impulsuri, respectiv US cu intensitatea $0,1\text{W}/\text{cm}^2$, emisie pulsatilă, administrate 5 minute/câmp, timp de 10 zile. Iepurii din loturile tratate au fost sacrificați după încheierea programului de ultrasonoterapie. Fragmentele de cartilaj recoltate au fost examinate la microscopul optic după o colorare prealabilă hematoxilină-eozină și la microscopul electronic prin tehnica microscopiei electronice de transmisie (TEM). Analiza comparativă a fragmentelor de cartilaj recoltate a evidențiat următoarele aspecte:

1. US de intensitate joasă și frecvența de $850\pm 5\%$ KHz pot determina regenerarea cartilajului în artroza indusă experimental la iepure.

2. La aceeași intensitate de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$ US administrate în impulsuri au o eficiență superioară celor în administrare continuă în ceea ce privește capacitatea de regenerare a cartilajului artrozic.

3. Este posibil ca US cu intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$, atât în administrare continuă cât și pulsatilă, să favorizeze, în cartilajul artrozic, apoptoza celulelor tinere care au parcurs recent ciclul de diviziune celulară.

4. US în administrare pulsatilă și intensitatea de $0,1\text{W}/\text{cm}^2$ sunt mai puțin eficiente pe termen scurt în refacerea leziunilor la nivel de cartilaj comparativ cu US cu intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$ în același regim de administrare.

5. Pentru US în administrare pulsatilă și intensitatea de $0,1\text{W}/\text{cm}^2$ TEM a evidențiat un număr mai mare de condrocite cu aspect normal, o rată scăzută a apoptozelor și un număr redus de picături lipidice intracelulare comparativ cu martorul și loturile expuse la intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$, aspecte care sugerează o eficacitate bună pe termen lung.

6. Mecanismul principal prin care US contribuie la regenerarea cartilajului artrozic în artroza indusă experimental este reprezentat de creșterea ratei de multiplicare a condrocitelor.

În concluzie, ultrasonoterapia cu frecvența de $850\pm 5\%$ KHz și intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$, în emisie continuă reprezintă o metodă sigură pentru pacienții cu boală artrozică, ea nefiind grevată de riscul intensificării SO. La pacienții cu gonartroză în stadiu ușor sau moderat, ale căror mecanisme de apărare antioxidantă nu sunt epuizate, ultrasonoterapia cu frecvența de $850\pm 5\%$ KHz și intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$ are efecte antioxidante la realizarea cărora participă mecanisme enzimatic și neenzimatic. Un efect important este reprezentat de stimularea sintezei de NO pe calea eNOS, prin intermediul căruia US își exercită o parte din mecanismele antialgice, antiinflamatorii, antiapoptotice și antioxidante. La intensitatea de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$, în administrare continuă, ultrasonoterapia este o metodă eficientă pentru ameliorarea simptomatologiei algice și îmbunătățirea funcției articulare la pacienții cu gonartroză. US cu intensitate mai mare, de $1\text{W}/\text{cm}^2$, au o eficiență clinică mai redusă comparativ cu cele de $0,5\text{W}/\text{cm}^2$ și sunt lipsite

de efectul de stimulare a apărării antioxidante la nivel enzimatic și neenzimatic. Ele nu induc creșterea sintezei de NO pe cale enzimatică constitutivă, lipsind cartilajul artrozic de efectele benefice ale NO în limitarea peroxidării lipidice, proces implicat în inducerea fenotipului hipertrofic și inducerea apoptozei condrocitare, dar și în degradarea MEC și în modificarea structurală a osului subcondral. În artroza indusă experimental la iepure US și-au confirmat eficiența clinică prin modificările induse la nivel de cartilaj unde au determinat regenerarea cartilajului artrozic printr-o stimulare intensă a multiplicării și activității anabolice condrocitare.

Expunerea la US a fost însoțită de prezența apoptozelor în rândul condrocitelor din ciorchinele de multiplicare clonală, fiind datorată, cel mai probabil, vulnerabilității celulelor care au parcurs recent ciclul de diviziune la stimularea prin unda ultrasonică. Pe termen scurt, administrarea US în regim pulsatil s-a dovedit mai eficientă decât cea continuă, iar intensitatea de $0,5 \text{ W/cm}^2$ a avut efecte superioare intensității de $0,1 \text{ W/cm}^2$.

US cu intensitatea de $0,5 \text{ W/cm}^2$ sunt susținute de studiile clinice și experimentale pentru a fi incluse în arsenalul de mijloace fizioterapice utilizate în tratamentul pacienților cu gonartroză. Sunt necesare studii clinice și experimentale pe termen mediu și lung pentru a verifica persistența efectelor induse de ultrasonoterapie în ameliorarea clinică și în susținerea fenomenelor reparatorii la nivelul cartilajului artrozic. Se impune aprecierea eficienței clinice a US în regim de administrare pulsatil având în vedere superioritatea sa în ceea ce privește regenerarea cartilajului artrozic.

Teza este următoarele originală prin următoarele realizări:

1. A fost determinată pentru prima dată influența pe care ultrasonoterapia o are asupra balanței oxidanți/antioxidanți și implicit a stresului oxidativ la pacienții artrozici.
2. A fost determinată în premieră eficacitatea clinică a US cu intensitatea de $0,5 \text{ W/cm}^2$, în administrare continuă, la pacienții artrozici.
3. A comparat efectele US la două intensități diferite din domeniul joasei frecvențe și a demonstrat că la diferențe relativ reduse efectele clinice au intensități diferite, iar efectele asupra balanței oxidanți/antioxidanți sunt divergente.
4. A stabilit superioritatea US cu intensitatea de $0,5 \text{ W/cm}^2$, în ameliorarea simptomatologiei clinice și reducerea SO la pacienții artrozici, comparativ cu US cu intensitatea de 1 W/cm^2 .
5. A realizat un studiu comparativ al eficienței ultrasonoterapiei în administrare continuă și pulsatilă în ameliorarea leziunilor din artroza indusă experimental la iepure.
7. A demonstrat capacitatea US de a stimula regenerarea cartilajului artrozic, cu o eficacitate maximă pentru intensitatea de $0,5 \text{ W/cm}^2$ în administrare pulsatilă.

CURRICULUM VITAE

A. Date personale:

- 1. Nume:** UNGUR
- 2. Prenume:** RODICA-ANA
- 3. Data și locul nașterii:** 01.05.1971, Tg-Lăpuș
- 4. Cetățenie:** ROMÂNĂ
- 6. Studii:**

<u>Institutia</u>	Liceul Sanitar Baia Mare	Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, Facultatea de Medicină Generală	Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, Facultatea de Medicină Generală	Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, Facultatea de Medicină Generală
Perioada	1986-1990	1991-1997	1999-2004	2004-2009
Grade /diplome obtinute	Diplomă de bacalaureat	Diploma de medic generalist	Medic specialist, Recuperare Medicală, Medicină Fizică și Balneologie	Medic primar, Recuperare Medicală, Medicină Fizică și Balneologie

- 7. Titlul științific:** doctorand cu frecvență, înscrisă din 01 noiembrie 2006

8. Experiența profesională:

Perioada:	1997-1999	2002-prezent	1999-2004	2004-2009	2009-prezent
Locul:	Cluj-Napoca	Cluj-Napoca	Cluj Napoca	Cluj-Napoca	Cluj-Napoca
Institutia:	Clinica Medicala V Spitalul de întreprinderi Clujana	U.M.F. "Iuliu Hațieganu"	U.M.F. "Iuliu Hațieganu"	Spitalul Clinic Recuperare, Secția Medicină Fizică-Recuperare Cluj-Napoca	Spitalul Clinic Recuperare, Secția Medicină Fizică-Recuperare Cluj-Napoca
Funcția:	Medic stagiar	Asistent universitar, Balneofizioterapie și Recuperare Medicală	Medic rezident	Medic specialist	Medic primar
Descriere:	Activitate medicală curativă și profilactică	Activitate didactică (stagii, cursuri), cercetare	Activitate medicală curativă și profilactică	Activitate medicală curativă și profilactică, studii clinice	Activitate medicală curativă și profilactică, studii clinice

- 9. Locul de muncă actual și funcția:** U.M.F. Cluj-Napoca „Iuliu Hațieganu”, Catedra de Balneofizioterapie și Recuperare Medicală - Asistent Universitar; Spitalul Clinic Recuperare Cluj- Medic primar

- 10. Vechime la locul de muncă actual:** 11 ani

- 11. Membru al asociațiilor profesionale:** Societatea Română de Medicină Fizică și Recuperare

- 12. Limbi străine cunoscute:** engleză, franceză

- 13. Alte competențe:** Managementul Serviciilor de Sănătate, Diploma cu nr. 26246/20 iulie 2009

14. Specializări și calificări:

Data	Localitatea/ țara	Instituția	Domeniu de specializare	Îndrumatori Direcți
2001	Cluj-Napoca/România	Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" , Cluj-Napoca	Actualități în fototerapie și biostimulare laser	Conf. Dr Liviu Pop
2001	Cluj-Napoca/România	Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" , Cluj-Napoca	Concepții actuale în tratamentul chirurgical și recuperarea mâinii traumatice și reumatice	Conf. Dr Liviu Pop Prof. Dr. Alexandru Georgescu
2002	Cluj-Napoca/România	Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca și Centrul de Pregătire în Ultrasonografie, Cluj-Napoca	Ecografie Musculo-Scheletală	Dr. Daniela Fodor
2005	Cluj-Napoca/România	Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca și Centrul de Pregătire în Ultrasonografie, Cluj-Napoca	Primul Curs Internațional de Chirurgia Mâinii și Recuperare Postoperatorie	Prof. Dr. Alexandru Georgescu
2006	București/ România	Societatea Română de Medicina Fizică și de Recuperare	Simpozionul Româno- Italian de Laserterapie	Conf. Dr Liviu Pop Conf. Dr. Mihai Berteanu
2008	Cluj-Napoca/România	Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" , Cluj-Napoca	Radio-Imagistica Genunchiului. Noțiuni Fundamentale și Actualități	Conf. Dr. Stelian Petcu
2009	Cluj-Napoca/ România	Ministerul Sănătății, Centrul Național de Perfecționare în Domeniul Sanitar, București	Managementul serviciilor de Sănătate	Catedra de Management, UMF Cluj-Napoca
2011	Cluj-Napoca/România	Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" , Cluj-Napoca, World Federation for Neurorehabilitation, European Federation Neurorehabilitation Societies, The Society of Neuroprotection and Neuroplasticity	European Teaching Course on Neurorehabilitation	Prof. Dr. Volker Homberg, Prof. Dr. Heinrich Binder, Prof. Dr. Dafin Muresanu
2011	Cluj-Napoca/România	Fondul Social European POSDRU 2007-2013	Instruire în noile tehnologii medicale și perfecționare pentru medici și asistenți medicali din ambulatorii de specialitate și spitale în brain aging	Conf. Dr. Luiza Spuru
2011	Cluj-Napoca/România	Universitatea de Medicină și	Metode actuale de	Conf. Dr. Stelian

		Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca	diagnostic și tratament în osteoporoză	Petcu
2011-2012	Cluj-Napoca/România	Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca	Ultrasonografie musculoscheletală	Conf. Dr. Dana Fodor

15. Participări la manifestări științifice

În țară: 21 congrese/conferințe naționale

În străinătate: 4 congrese internaționale

16. Cursuri postuniversitare urmate / susținute: începând din anul 2000 particip în calitate de colaborator la toate cursurile postuniversitare organizate de catedră

B. Contribuții științifice:

Capitole publicate în volume colective: **1**

Articole publicate **in extenso** în **reviste indexate** în baze de date internaționale: **1 (ISI)**

Articole publicate **in extenso** în **volumele** unor manifestări **internaționale: 5**

Articole publicate **in extenso** în **reviste** de circulație **națională** recunoscute: **38**

Articole publicate **in extenso** în **volumele** unor manifestări **naționale: 2**

Articole publicate **in rezumat** în **volumele** unor manifestări **internaționale: 5**

Granturi prin competiție: **3**, membru în colectiv

Trialuri clinice: 2, investigator

C. Contribuții didactice:

Cărți/cursuri publicate: **1**-coautor

UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY “IULIU
HATIEGANU”
CLUJ-NAPOCA

**EFFECT OF ULTRASOUND THERAPY ON
OXIDATIVE STRESS IN OSTEOARTHRITIS
PATIENTS**

- Abstract of PhD Thesis -

PhD candidate : **Rodica-Ana Ungur**
Scientific coordinator : **Liviu Pop**



CONTENTS

INTRODUCTION	15
CURRENT KNOWLEDGE	
1. Oxidative stress in osteoarthritis	19
1.1. Evidence of involvement of oxidative stress in osteoarthritis	20
1.1.1. Synthesis of reactive species in joint structures	20
1.1.2. Oxidation-products identified in joint structures	21
1.1.3. Deficiencies in antioxidant defense in osteoarthritis	22
1.1.4. Effectiveness of antioxidant therapy in osteoarthritis	24
1.2. Oxidative stress - one of the main mechanisms by which risk factors operate in the genesis of osteoarthritis	25
1.2.1. Inflammation and oxidative stress in osteoarthritis	25
1.2.1.1. Osteoarthritis as inflammatory disease	25
1.2.1.2. Inflammatory factors influence the synthesis of free radicals and antioxidant enzymes in osteoarthritis	25
1.2.1.3. The role of free radicals in promoting the inflammation in osteoarthritis	26
1.2.1.4. The role of free radicals in intracellular signaling initiated by inflammatory stimuli	27
1.2.1.5. The role of free radicals in damage effects exerted by cytokines on joint structures	27
1.2.2. Joint overloading and oxidative stress in osteoarthritis	
1.2.2.1. Mechanisms that trigger the synthesis of free radicals in the joints under mechanical stress	28
1.2.2.2. The mechanisms by which ROS and NO act as signaling molecules to validate the effects of mechanical stress in cartilage	28
1.2.3. Aging and oxidative stress in osteoarthritis	29
1.2.3.1. Aging causes oxidative stress	29
1.2.3.2. Oxidative stress induces extrinsic chondrocyte senescence	30
1.2.3.3. Oxidative stress induces endoplasmic reticulum stress in senescent chondrocytes	30
1.2.3.4. Oxidative stress modulates anabolic and catabolic imbalance phenomena in senescent chondrocytes	30
1.2.3.5. Oxidative stress contributes to synovial fibrosis	30
1.2.4. Obesity and oxidative stress in osteoarthritis	31
1.2.4.1. Leptin	31
1.2.4.2. Adiponectin	31
1.2.4.3. Visfatin	31
1.2.4.4. Fatty acids	32
1.2.5. Genetic profile and oxidative stress in osteoarthritis	32
2. Effects of free radicals and oxidation on joint structures	32
2.1. Effects of free radicals and oxidation of cartilage	33
2.1.1. Effects of free radicals and oxidation products of chondrocytes	33
2.1.1.1. Intracellular signaling pathways regulation	33
2.1.1.2. Synthesis of new reactive species	33
2.1.1.3. Induction of hypertrophic phenotype	33
2.1.1.4. Decline in anabolic chondrocyte activity	34
2.1.1.5. Damage to nuclear DNA structure	34
2.1.1.6. Mitochondrial morphological and functional damage	34
2.1.1.7. Chondrocytes death	34
2.1.2. Effects of free radicals and oxidation of extracellular matrix	35
2.1.2.1. Oxidative degradation of collagen and proteoglycans	36
2.1.2.2. Synthesis and activation of matrix metalloproteinases	36
2.1.2.3. Reduced synthesis of matrix metalloproteinases inhibitors	36
2.1.2.4. Reduction of matrix protein synthesis and repair phenomena	39
2.2. Effects of free radicals and oxidation products on synovial membrane	39

2.2.1. Synovial inflammation	38
2.2.2. Synoviocytes apoptosis induction and catabolic phenomena	38
2.2.3. Synovial fibrosis	38
2.3. Effects of free radicals and oxidation of bones	39
3. Ultrasound. General concepts	39
3.1. Definition. Physical parameters	39
3.2. Effects of ultrasound and generation mechanisms	40
3.2.1. Thermal effects	40
3.2.2. Non-thermal effects	41
3.2.2.1. Acoustic cavitation	41
3.2.2.2. Non-thermal and non-cavitation mechanisms	41
3.2.2.3. Intramembrane cavitation	42
4. Ultrasound effects on oxidative stress	42
4.1. Pro-oxidant effects	42
4.2. Antioxidant effects	43
5. Effects of ultrasound on cartilage	44
5.1. Effects of ultrasound on chondrocytes	44
5.2. Effects of ultrasound on the extracellular matrix	44
PERSONAL CONTRIBUTION	
1. Working hypothesis. Objectives	47
2. General methodology	48
3. Study 1 - Effect of continuous ultrasound at intensity of 0.5 W/cm² on the oxidant / antioxidant balance in osteoarthritis patients	55
3.1. Introduction	55
3.2. Working hypothesis	57
3.3. Materials and methods	57
3.4. Results	61
3.5. Discussion	79
3.6. Conclusions	94
4. Study 2 - Comparative study on the effects of continuous ultrasound at intensity of 0.5 W/cm² and 1W/cm², on oxidant / antioxidant balance in osteoarthritis patients	97
4.1. Introduction	97
4.2. Working hypothesis	97
4.3. Materials and methods	98
4.4. Results	99
4.5. Discussion	117
4.6. Conclusions	125
5. Study 3 – Effects of ultrasound therapy on joint cartilage degeneration in experimentally induced osteoarthritis in rabbits	127
5.1. Introduction	127
5.2. Working hypothesis	127
5.3. Materials and methods	127
5.4. Results	129
5.5. Discussion	140
5.6. Conclusions	143
6. General conclusions	145
7. Originality and innovative contributions of the thesis	147
REFERENCES	148

SUMMARY OF THE THESIS

Key words: ultrasound therapy, osteoarthritis, cartilage, oxidative stress

Osteoarthritis is a disease whose prevalence increases worldwide by associating an aging population with a higher percentage of obese people. Numerous recent studies support the involvement of oxidative stress (OS) in the pathogenesis of osteoarthritis.

Chondrocytes and synoviocytes produce basically reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (SRN) and have a poor antioxidant defense. When production of reactive species (RS) exceeds the antioxidant capacity and possibilities for repair at the cellular level, there is oxidative stress (OS). In joints, SO is involved in cartilage damage, inflammation of the synovia, subchondral bone sclerosis and occurrence of pain. At the level of cartilage, RS in excess stimulate pro-inflammatory cytokines, produce senescence and altered chondrocytes metabolism, reduce proliferation of chondrocytes and eventually cause their apoptosis. RS stimulate synthesis of matrix metalloproteinases, degrade collagen and proteoglycans, inhibit synthesis of collagen type II and activation of tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, thereby contributing to the degradation of extracellular matrix (ECM).

Ultrasound (US) are used for over 60 years to treat osteoarthritis, but their effects on oxidant/ antioxidant balance have not been fully elucidated yet. The ability of US to induce formation of free radicals is recognized in the literature and there are studies that show the presence of RS in different cell populations exposed in vitro at US, doses similar to those used in physiotherapy, and ultrasound examination. That raises the question of safety of using US as a means of diagnosis and treatment. Fears are partly moderated by studies that have demonstrated the ability of cells to repair lesions induced by RS aggression, property that provides resistance to prooxidant and proapoptotic action of the US. There are also studies that deny RS production and studies supporting the antioxidant effect of US exposures in vivo. Contradictive literature data are not surprising because it has been shown that the effects of US vary greatly depending on the species exposed, ultrasonic wave parameters and experimental conditions.

On the other hand, there are few clinical studies which have an appropriate design and that have confirmed the effectiveness of US, and that only for continuous US at $1\text{W}/\text{cm}^2$ intensity and pulsed US at $2\text{W}/\text{cm}^2$ intensity.

In the present research we intended to check ultrasound therapy influences on oxidant / antioxidant balance in osteoarthritis patients, if there was a dose-effect relationship, which were the clinical effects in this population of patients and whether structural changes occurred in the cartilage following exposure to US.

The first study, which enrolled and randomized a total of 64 patients diagnosed with primary knee osteoarthritis according to ACR criteria, in radiological stage I-III on the classification scale Kellgren/Lawrence, evaluated the effect of continuous US, with frequency of $850\pm 5\%$ KHz and intensity of $0.5\text{W}/\text{cm}^2$ on key markers of oxidation and antioxidant defense in osteoarthritis patients.

Patients were randomized to the control group without treatment, and test group which only followed the continuous US with $850\pm 5\%$ KHz frequency and $0.5\text{W}/\text{cm}^2$ intensity, 5 minute/field, administered for 10 days.

Quantifiers of oxidation, represented by malonyl dialdehyde (MDA) and carbonylated proteins (CP), enzymatic antioxidant defense quantifiers: superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), arylesterase activity (ARE-ase) of paraoxonase 1 (PON1) and paraoxonase activity (PON-ase) of PON1, and non-enzymatic antioxidant defense quantifiers: total antioxidant capacity of serum (TAC), hydrogen donor capacity of plasma (CDH), reduced glutathione (GSH), thiol groups (SH), were determined in peripheral blood before exposure to the US, at the end of exposure and 2 weeks after the end of exposure to US. It was also estimated the concentration of nitric oxide (NO), molecule which can behave differently, pro-oxidant, pro-inflammatory, pro-apoptotic and pro-algic or antioxidant, anti-inflammatory, ticular protective and antialgic, depending on the stimuli that triggered its synthesis, the synthesizing enzyme and the redox characteristics of the environment in which it was synthesized. In parallel there were evaluated also pain evolution, based on visual analogue scale (VAS), and functional performance of the knee joint, quantified by Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) score and Lequesne Index (LI)

The results showed that US had the following influences on the anterior mentioned parameters:

1. increased the concentration and synthesis of NO in patients with osteoarthritis, most likely through activation of constitutive enzyme, endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and neuronal nitric oxide synthase (nNOS). NO level remained high in the first 2 weeks after exposure to US.
2. increased non-enzymatic antioxidant defenses by increasing plasma CDH.
3. increased enzymatic antioxidant defenses by increasing the ARE-ase activity of PON1.
4. provided an increased capacity of GSH regeneration at the end of a treatment program of 10 days, allowing that GPx activity (consuming GSH) take place without reduction of GSH concentration.
5. reduced joint pain assessed on VAS
6. improved joint function, appreciated on WOMAC score and LI.
7. improved clinical parameters for the first 2 weeks after the end of ultrasound therapy.

The second study was a cross-over essay where the effects of continuous US at 0.5 W/cm^2 intensity and at 1 W/cm^2 intensity on the oxidant / antioxidant balance, pain, WOMAC score and LI were compared in the same group of patients. The study enrolled, after a wash-out period and eligibility re-check, the 32 patients who formed the group treated by US at intensity of 0.5 W/cm^2 in study 1.

In study 2, the group of patients was exposed to continuous US, with $850 \pm 5 \text{ KHz}$ frequency and 1 W/cm^2 intensity, 5minute/field, administered for 10 days. Variables and their measurement schedule were identical to those in study 1.

By comparing the evolution of the specified parameters following to US exposure (at the intensities of 0.5 W/cm^2 and 1 W/cm^2), it was found that:

1. Continuous US at frequency of $850 \pm 5 \text{ KHz}$ differently influenced NO synthesis, depending on the intensity of treatment. NO synthesis increased under the action of US at 0.5 W/cm^2 intensity and decreased after exposure to US at 1 W/cm^2 intensity.
2. Continuous US at 1 W/cm^2 intensity had lower effectiveness in increasing non-enzymatic antioxidant defense, measured by CDH and plasma TAC, compared to US at 0.5 W/cm^2 intensity.
3. Continuous US acted in the other sense on the enzymatic antioxidant defense, depending on their intensity. US at 0.5 W/cm^2 intensity increased ARE-ase activity of PON1, while US at 1 W/cm^2 intensity decreased it.
4. Pro oxidant effects could not be totally excluded for 1 W/cm^2 intensity.
5. Reduction of joint pain (assessed on VAS) and of WOMAC score was more important for US at 0.5 W/cm^2 intensity, compared to US at 1 W/cm^2 intensity.
6. Clinical effectiveness in improving LI and WOMAC sub-scales for stiffness and function was comparable for US intensities of 0.5 W/cm^2 and 1 W/cm^2 .

The third study was conducted to verify the effects of US at cartilage level. Osteoarthritis was experimentally induced by sectioning the anterior cruciate ligament and was confirmed radiologically in a number of 25 common breed rabbits that were randomized into 5 groups. The first group with experimentally induced osteoarthritis, without US treatment, has been sacrificed to confirm osteoarthritis lesions at cartilage level at the beginning of US exposure of the treatment groups. The second group, without treatment, was sacrificed at the end of ultrasound therapy period for the treated groups and highlighted the severity of osteoarthritis lesions, with identical evolution length to that of the treatment groups. Treatment groups were exposed to continuous US at 0.5 W/cm^2 intensity, pulsed US at 0.5 W/cm^2 intensity, and pulsed US at 0.1 W/cm^2 intensity, respectively, each one for 5minute/field, for 10 days. Rabbits in treatment groups were sacrificed after the end of ultrasound therapy program. Harvested cartilage fragments were examined by optical microscopy, after hematoxylin-eosin staining, and by transmission electron microscopy (TEM). Comparative analysis of harvested cartilage fragments highlighted the following aspects:

1. US of low intensity and frequency of $850\pm 5\%$ KHz produced cartilage regeneration in experimentally induced osteoarthritis in rabbits.
2. At the same intensity of $0.5\text{W}/\text{cm}^2$, pulsed US had better efficiency than continuous US, regarding osteoarthritis cartilage regeneration.
3. In osteoarthritis cartilage, it was possible that continuous US and pulsed US at $0.5\text{W}/\text{cm}^2$ intensity, promote apoptosis in young cell, that have recently gone through the cell division cycle.
4. In pulsed administration, US at $0.1\text{W}/\text{cm}^2$ intensity were less effective in short-term recovery of cartilage injuries, compared with pulsed US at $0.5\text{W}/\text{cm}^2$ intensity.
5. For pulsed US at $0.1\text{W}/\text{cm}^2$ intensity, TEM showed a greater number of chondrocytes with normal appearance, a low apoptosis rate and few fat droplets, compared to the control group and to the groups exposed to the intensity of $0.5\text{W}/\text{cm}^2$, aspects suggesting a good long-term efficacy.
6. The main mechanism by which the US contributed to the regeneration of cartilage in experimentally induced osteoarthritis was the increase in chondrocyte multiplication rate.

In conclusion, ultrasound therapy administrated by $850\pm 5\%$ KHz frequency and $0.5\text{W}/\text{cm}^2$ intensity was a safe method for patients with osteoarthritis, without increased risk of OS. In patients with mild or moderate stage of knee osteoarthritis, whose antioxidant defense mechanisms were exhausted, ultrasound therapy at $850\pm 5\%$ KHz frequency and $0.5\text{W}/\text{cm}^2$ intensity had antioxidant effects. That was achieved by enzymatic and non-enzymatic mechanisms. An important effect was stimulation of NO synthesis via eNOS, through which the US exercised some of the analgesic, anti-inflammatory, anti-apoptotic and antioxidant mechanisms. Continuous US therapy at $0.5\text{W}/\text{cm}^2$ intensity, was effective for pain relief and improvement of joint function in patients with knee osteoarthritis. Continuous US at $1\text{W}/\text{cm}^2$ intensity had a lower efficiency compared to US at $0.5\text{W}/\text{cm}^2$ intensity and lacked the effect of antioxidant defense stimulation at enzymatic and non-enzymatic level. They did not induce NO synthesis by constitutive enzyme, lacking the arthritic cartilage of its effects on limiting lipid peroxidation, that process being involved in inducing the hypertrophic phenotype and the apoptosis of chondrocytes, but also in ECM degradation and in subchondral bone structure modification. In experimentally induced osteoarthritis in rabbits, the clinical effectiveness of US was confirmed by cartilage changes, whose regeneration was determined by intense stimulation of multiplication and of chondrocyte anabolic activity.

Exposure to the US was accompanied by apoptosis among the chondrocytes of the clonal multiplication cluster. This was due, most likely, to the vulnerability of cells that have recently undergone the division cycle to ultrasonic wave stimulation. In short-term, pulsed US administration was more effective than continuous one, and the intensity of $0.5\text{W}/\text{cm}^2$ had better effect than that of $0.1\text{W}/\text{cm}^2$. US at $0.5\text{W}/\text{cm}^2$ intensity are supported by clinical and experimental studies to be included in the arsenal of physical

therapy methods for knee osteoarthritis patients. For medium and long term purpose, clinical and experimental studies are required to check the persistence of US effect on clinical improvement and on osteoarthritis cartilage repair processes. It is also mandatory to assess clinical efficiency of pulsed US, given its superiority in terms of cartilage regeneration.

The thesis is original because of the following accomplishments:

1. There has been assessed, for the first time, the influence of ultrasound therapy on the oxidant / antioxidant balance and hence on OS in osteoarthritis patients.
2. There has been assessed, for the first time, clinical efficacy of continuous US at 0.5W/cm² intensity, in osteoarthritis patients.
3. There have been compared the effects of two different intensities of US from low-frequency field, there have been demonstrated that at relatively small differences clinical effects varied in strengths and effects on balance oxidant/antioxidant have been divergent.
4. There have been shown the superiority of continuous US at intensity of 0.5W/cm² for improving clinical symptoms and for reducing OS in osteoarthritis patients, compared to continuous US at intensity of 1W/cm².
5. A comparative study on efficiency of ultrasound therapy in continuous and pulsed administration for improving lesions in experimentally induced osteoarthritis in rabbits has been performed.
6. There has been shown the ability of pulsed US to stimulate cartilage regeneration, with a maximum efficiency for 0.5W/cm² intensity.

CURRICULUM VITAE

1. **Surname:** UNGUR
2. **Name:** RODICA-ANA
3. **Date of birth:** 01.05.1971
4. **Nationality:** romanian
6. **Education**

<u>Institution</u>	School Health Baia Mare	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, Cluj Napoca, School of General Medicine	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, Cluj Napoca, School of General Medicine	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, Cluj Napoca, School of General Medicine
Period	1986-1990	1991-1997	1999-2004	2004-2009
Qualification	International baccalaureate	M.D	Specialist MD, Physical Medicine and Rehabilitation	Senior Specialist, Physical Medicine and Rehabilitation

7. Current studies: PhD from 01/11/2006

8. Professional appointments

Period	1997-1999	2002-prezent	1999-2004	2004-2009	2009-prezent
Place	Cluj-Napoca	Cluj-Napoca	Cluj -Napoca	Cluj-Napoca	Cluj-Napoca
Institution	5th Medical Clinic, Hospital Clujana	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy	Rehabilitation Clinic Department of Physical Medicine and Rehabilitation Cluj-Napoca	Rehabilitation Clinic Department of Physical Medicine and Rehabilitation Cluj-Napoca
Job title	Trainee MD	University Assistant, Department of Physical Medicine and Rehabilitation	Resident MD	Specialist MD	Senior Specialist
Job description	Medical activity-curative and prophylactic	Teaching activity (placements, research, seminars)	Medical activity-curative and prophylactic	Medical activity-prophylactic and curative, clinical studies	Medical activity-prophylactic and curative, clinical studies

9. Current appointment Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy , Department of Physical Medicine and Rehabilitation- University Assistant, Rehabilitation Clinic, Senior Specialist, Rehabilitation Clinic, Cluj-Napoca

10. Professional memberships: Romanian Society of Physical Medicine and Rehabilitation

11. Languages English, French

12. Other appointments:Health Services Management, Diploma nr. 26246/20, July 2009

13. Qualifications

Date	Place/country	Institution	Course/Specialty	Supervisor
2001	Cluj-Napoca/România	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy	Actualities in photo-therapy and laser stimulation	Conf. Dr Liviu Pop
2001	Cluj-Napoca/România	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy	Recent Concepts in Surgical treatment and rehabilitation of rheumatic and post-trauma hand	Conf. Dr Liviu Pop Prof Dr. Alexandru Georgescu
2002	Cluj-Napoca/România	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy Ultrasound Preparation Center Cluj Napoca	Musculoskeletal Ultrasound	Dr.Daniela Fodor

2005	Cluj-Napoca/România	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy	1St International Course in Hand Surgery and Post-operative Rehabilitation	Prof Dr. Alexandru Georgescu
2006	Bucuresti/ România	Romanian Society of Physical Medicine and Rehabilitation	Romanian-Italian Symposium in Laser Therapy	Conf. Dr Liviu Pop Conf.Dr. Mihai Berceanu
2008	Cluj-Napoca/România	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy	Fundamentals and Actualities in Knee Imagistics	Conf. Dr. Stelian Petcu
2009	Cluj-Napoca/ România	Health Ministry, National Center for Education in Health, București	Health Services management	Management Departament, UMF Cluj-Napoca
2011	Cluj-Napoca/România	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, World Federation for Neurorehabilitation, European Federation Neurorehabilitation Societies, The Society of Neuroprotection and Neuroplasticity	European Teaching Course on Neurorehabilitation	Prof Dr. Volker Homberg, Prof Dr. Heinrich Binder, Prof Dr. Dafin Muresanu
2011	Cluj-Napoca/România	Social European Fund POSDRU 2007-2013	Training in new medical technologies and training for doctors and nurses from hospitals and specialized outpatient in brain aging	Conf Dr. Luiza Spiru
2011	Cluj-Napoca/România	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy	Present methods of Treatment in Osteoporosys	Conf. Dr. Stelian Petcu
2011-2012	Cluj-Napoca/România	Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, Ultrasound Preparation Center Cluj Napoca	Musculoskeletal Ultrasound	Conf. Dr. Dana Fodor

14. National and International Congresses/Symposiums

In the country: 21 national conferences/symposiums

Abroad: 4 international congresses

15. Postgraduate courses: since 2000 I participate as a colaborator to all the courses thaught in our department

B. Scientific contributions:

Published chapters in :1

Published articles in extenso in international data base journals: 1 (ISI)

Published abstracts in extenso in international conferences/events : 5

Published articles in extenso in national journals:38

Published articles in extenso at national events: 2

Research grants as a team member:3

Clinical trials: 2 as Principal investigator and co investigator

L'UNIVERSITÉ DE MÉDECINE ET PHARMACIE "IULIU
HATIEGANU"
CLUJ-NAPOCA

L'EFFET DE L'ULTRASONOTHÉRAPIE SUR LE
STRESS OXYDATIF CHEZ LES PATIENTS
ARTHROSIQUES

- Le résumé de la thèse de doctorat -

Doctorant: **Rodica-Ana, Ungur**
Directeur de thèse: **Liviu, Pop**



TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	15
LE STADE ACTUEL DES CONNAISSANCES	
1. Le stress oxydatif dans l'arthrose	19
1.1. Des preuves de la participation du stress oxydatif dans l'arthrose	20
1.1.1. La synthèse des espèces réactives dans les structures articulaires	20
1.1.2. Les produits d'oxydation identifiés dans les structures articulaires	21
1.1.3. Les lacunes de la défense antioxydant dans l'arthrose	22
1.1.4. L'efficacité des thérapies anti oxydantes dans l'arthrose	24
1.2. Le stress oxydatif - un des principaux mécanismes par lesquels les facteurs de risque opèrent dans la genèse de l'arthrose	25
1.2.1. L'inflammation et le stress oxydatif dans l'arthrose	25
1.2.1.1. L'arthrose comme maladie inflammatoire	25
1.2.1.2. L'influence des facteurs inflammatoires sur la synthèse de radicaux libres et d'enzymes antioxydantes dans l'arthrose	25
1.2.1.3. Le rôle des radicaux libres dans l'inflammation de l'arthrose	26
1.2.1.4. Les radicaux libres impliqués dans la signalisation intracellulaire initiée par des stimuli inflammatoires	27
1.2.1.5. Les radicaux libres responsables des dégâts exercés par des cytokines sur les structures articulaires	27
1.2.2. Surcharge mixte et le stress oxydatif dans l'arthrose	28
1.2.2.1. Les mécanismes qui déclenchent la synthèse de radicaux libres dans les articulations sous stress mécanique	28
1.2.2.2. Les mécanismes par lesquels les ROS et le NO agissent comme des molécules de signalisation afin de valider les effets du stress mécanique sur le cartilage	29
1.2.3. Le vieillissement et le stress oxydatif dans l'arthrose	29
1.2.3.1. Le vieillissement entraîne un stress oxydatif	30
1.2.3.2. Le stress oxydatif induit la sénescence extrinsèque des chondrocytes	30
1.2.3.3. Le stress oxydatif induit un stress du réticulum endoplasmique dans les chondrocytes sénescents	30
1.2.3.4. Le stress oxydatif module les phénomènes de déséquilibre anaboliques et cataboliques dans les chondrocytes sénescents	30
1.2.3.5. Le stress oxydatif contribue à la fibrose de la synoviale	31
1.2.4. L'obésité et le stress oxydatif dans l'arthrose	31
1.2.4.1. La leptine	31
1.2.4.2. L'adiponectine	31
1.2.4.3. La Visfatine	32
1.2.4.4. Les acides gras	32
1.2.5. Le profil génétique et le stress oxydatif dans l'arthrose	32

2. Les effets des radicaux libres et l'oxydation des structures articulaires	33
2.1. Les effets des radicaux libres et de l'oxydation sur le cartilage	33
2.1.1. Les effets des radicaux libres et de l'oxydation sur les chondrocytes	33
2.1.1.1. La régulation des voies de signalisation intracellulaires	33
2.1.1.2. Synthèse de nouvelles espèces réactives	33
2.1.1.3. L'induction du phénotype hypertrophique	34
2.1.1.4. La baisse de l'activité anabolisante chondrocytaire	34
2.1.1.5. Les dégâts à la structure de l'ADN nucléaire	34
2.1.1.6. Les dégâts morphologiques et fonctionnelles des mitochondries	34
2.1.1.7. La mort des chondrocytes	35
2.1.2. Les effets des radicaux libres et de l'oxydation de la matrice extracellulaire	36
2.1.2.1. La dégradation par oxydation du collagène et des protéoglycanes	36
2.1.2.2. La synthèse et l'activation des métalloprotéases matricielles	36
2.1.2.3. La diminution de la synthèse d'inhibiteurs de métalloprotéases matricielles	39
2.1.2.4. Réduction de la synthèse de protéines de la matrice et les phénomènes de réparation	39
2.2. Les effets des radicaux libres et des produits d'oxydation sur la membrane synoviale	38
2.2.1. Inflammation de la synoviale	38
2.2.2. Induction de l'apoptose des synoviocytes et des phénomènes cataboliques	38
2.2.3. La fibrose synoviale	38
2.3. Les effets des radicaux libres et de l'oxydation des os	39
3. Ultrasons. Concepts généraux	39
3.1. Définition. Les paramètres physiques	39
3.2. Les effets des ultrasons et les mécanismes qui les produisent	40
3.2.1. Les effets thermiques	40
3.2.2. Les effets non thermiques	41
3.2.2.1. La cavitation acoustique	41
3.2.2.2. Les mécanismes non thermiques et non cavitationnels	41
3.2.2.3. La cavitation intra membraneuse	42
4. Les effets des ultrasons sur le stress oxydatif	42
4.1. Les effets pro-oxydants	42
4.2. Les effets antioxydants	43
5. Les effets des ultrasons sur le cartilage articulaire	44
5.1. Les effets des ultrasons sur les chondrocytes	44
5.2. Les effets des ultrasons sur la matrice extracellulaires	44
CONTRIBUTION PERSONNELLE	
1. Hypothèse de travail. Objectifs	47
2. Méthodologie générale	48
3. Étude 1 - Effet de l'intensité des ultrasons de 0,5 W/cm², en administration continue, sur la balance oxydant / antioxydant chez	55

les patients avec gonarthrose	
3.1. Introduction	55
3.2. Hypothèse de travail	57
3.3. Matériel et méthode	57
3.4. Résultats	61
3.5. Discussion	79
3.6. Conclusions	94
4. Étude 2 – Étude comparatif en ce qui concerne les effets des ultrasons à l'intensité de 0,5W/cm² et de 1W/cm², en administration continue, sur la balance oxydants / antioxydants chez les patients avec gonarthrose	97
4.1. Introduction	97
4.2. Hypothèse de travail	97
4.3. Matériel et méthode	98
4.4. Résultats	99
4.5. Discussions	117
4.6. Conclusions	125
5. Étude 3 – Les effets de l'ultrasonothérapie sur la dégénération du cartilage articulaire dans l'arthrose induite expérimentalement chez le lapin	127
5.1. Introduction	127
5.2. Hypothèse de travail	127
5.3. Matériel et méthode	127
5.4. Résultats	129
5.5. Discussions	140
5.6. Conclusions	143
6. Conclusions générales	145
7. L'originalité et les contributions innovantes de la thèse	147
REFERENCES	148

RÉSUMÉ

Mots clé: ultrasonothérapie, arthrose, cartilage, stress oxydatif

L'arthrose est une maladie dont la prevalence augmente dans le monde entier, grace au vieillissement de la population et à un pourcentage plus élevé de personnes obèses.

De nombreuses études récentes corroborent l'implication du stress oxydatif (SO) dans la pathogenèse de l'arthrose. Les chondrocytes et les synoviocytes synthétisent des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des espèces réactives de l'azote (ERN) et elles ont une défense anti-oxydante pauvre. Lorsque la production des espèces réactives (ER) dépasse la capacité anti-oxydante et les possibilités de réparation au niveau cellulaire, le stress oxydatif (SO) apparaît.

Dans les articulations, SO est impliqué dans les lésions du cartilage, l'inflammation de la synoviale, la sclérose sous-chondrale et la survenue de la douleur. De plus, au niveau du cartilage les ER stimulent la synthèse des cytokines pro-inflammatoires, produisent la sénescence et l'altération du métabolisme des chondrocytes, réduisent la prolifération des chondrocytes et finissent par provoquer leur apoptose.

ER stimulent la synthèse des métalloprotéases matricielles, dégradent le collagène et les protéoglycanes, inhibent l'activation du collagène de type II et des inhibiteurs tissulaires de métalloprotéases matricielles, contribuant ainsi à la dégradation de la matrice extracellulaire.

Les ultrasons (US) sont utilisés depuis plus de 60 ans pour traiter l'arthrose, mais leurs effets sur la balance oxydants / antioxydants n'ont pas encore été entièrement élucidés. La capacité des US d'induire la formation de radicaux libres est reconnue dans la littérature de spécialité et il y a des études qui montrent la présence d'ER de différentes populations cellulaires exposées *in vitro* à des doses de US similaires à celles utilisées en physiothérapie et échographie, ce qui pose la question de la sécurité d'utilisation des US comme moyen de diagnostic et de traitement. Les craintes sont en partie atténuées par des études qui ont démontré la capacité des cellules de réparer les lésions induites par l'agression des ER, ce qui offre une résistance à l'action pro-oxydante et pro-apoptotique des US. Il y a également des études qui nient la production d'ER et des études qui soutiennent l'effet antioxydant des US aux expositions réalisées *in vivo*. La contradiction des données de la littérature n'est pas surprenante, parce que pour les US on a montré que les effets varient selon les espèces exposées, les paramètres d'onde ultrasonore et les conditions expérimentales.

D'autre part, il existe peu d'études cliniques qui ont confirmé l'efficacité des US, et seulement pour les US avec l'intensité de $1\text{W}/\text{cm}^2$ en administration continue et les US avec l'intensité de $2\text{W}/\text{cm}^2$ en administration pulsatile.

Dans la présente recherche on a eu l'intention de vérifier l'influence de l'ultrasonothérapie sur la balance oxydants / antioxydants chez les patients arthrosiques, s'il y a un type de relation dose-effet, quels sont les effets cliniques dans cette population de patients et s'il y a des changements structurels sur le cartilage suite à l'exposition aux ultrasons.

Dans la **première étude**, expérimentale analytique de cohorte de type cas-témoins, dans laquelle on a inscrit 64 patients au total, avec le diagnostic d'arthrose primaire selon les critères de l'ACR, stade radiologique I-III selon la classification Kellgren / Lawrence modifiée, on a apprécié les effets des US en administration continue, avec la fréquence de $850\pm 5\%$ KHZ et l'intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$, sur les marqueurs clés de l'oxydation et de la défense anti-oxydante chez les patients arthrosiques.

Les patients ont été randomisés en 2 groupes: un groupe témoin, sans traitement, et un groupe de patients traités exclusivement par des US en administration continue, à la fréquence de $850\pm 5\%$ KHz et à l'intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$, 5minute/champ, pendant 10 jours.

Dans le sang périphérique on a déterminés les paramètres suivants, avant l'exposition aux US, à la fin de celle-là et 2 semaines après: les quantificateurs de l'oxydation, représentés par le malonyl dialdéhyde (MDA) et des protéines carbonylées (PC), les quantificateurs enzymatiques de défense anti-oxydante: superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxydase (GPX), l'activité arilesterasique (AR-aza) de la paraoxonase 1 (PON1) et l'activité paraoxonasique (PON-aza) de la PON1, et les quantificateurs de défense anti-oxydante non enzymatiques: la capacité anti-oxydante totale du sérum (TAC), la capacité de donneur d'hydrogène du plasma (CDH), le glutathion réduit (GSH), les groupes thiol (SH). Nous avons également estimé la concentration de monoxyde d'azote (NO) molécule qui peut se comporter différemment, comme pro-oxydant, pro-inflammatoire, pro-apoptotique et pro-algique ou antioxydant, anti-inflammatoire, protecteur tissulaire et antalgique, en fonction des stimuli qui déclenchaient sa synthèse, l'enzyme synthétisatrice et les caractéristiques redox de l'environnement dans lequel il était synthétisé. En parallèle, nous avons déterminé l'évolution de la douleur, évaluée en utilisant l'échelle visuelle analogique (EVA) et l'évolution de la fonctionnalité du genou quantifiée par le score Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) et l'indice de Lequesne (LI).

Les résultats obtenus ont démontré que les US:

1. augmentent la synthèse de NO chez les patients avec gonarthrose, plus probablement, par l'activation des enzymes comme nitrique oxid synthétase endothéliale (eNOS) et nitrique oxid synthétase neuronale (nNOS). Le niveau de NO se maintient aussi augmenté dans les 2 premières semaines après l'arrêt du traitement par US.

2. augmentent la défense anti-oxydante non enzymatique par la majoration de CDH plasmatiques.

3. augmentent la défense anti-oxydante enzymatique par la majoration de l'activité arilestérasique de PON1.

4. assurent, à la fin du traitement de 10 jours, une capacité augmentée de régénération du GSH, qui permet que l'activité GPx, consommatrice de GSH, soit faite sans diminution de la concentration plasmatique du GSH.

5. diminuent la douleur articulaire évaluée sur EVA.

6. améliorent la fonctionnalité de l'articulation mesurée par LI et le score WOMAC.

7. déterminent l'amélioration des paramètres cliniques dans les 2 premières semaines après l'arrêt de l'ultrasonothérapie.

Dans la **deuxième étude**, un essai en cross-over qui a comparé, chez le même groupe de patients, les effets des US à l'intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$ et des US à l'intensité de 1 W/cm^2 sur la balance oxydants / antioxydants, sur la douleur, le score WOMAC et LI.

On a inclus dans la deuxième étude, après une période de wash-out et après la réévaluation de l'éligibilité, les 32 patients qui formaient le groupe traité par des US à $0,5 \text{ W/cm}^2$ dans la première étude.

Dans la deuxième étude, le groupe de patients a été exposé aux US en administration continue, à la fréquence de $850 \pm 5\% \text{ KHz}$ et à l'intensité de 1 W/cm^2 , 5 minutes / champ, administrés pendant 10 jours. Les variables déterminées ont été identiques à celles de la première étude.

En comparant l'évolution des paramètres déterminés suite à une exposition aux US avec les deux intensités de $0,5 \text{ W/cm}^2$ et 1 W/cm^2 , nous avons constaté les suivants aspects :

1. Les US avec la fréquence de $850 \pm 5\% \text{ KHz}$ en administration continue, peuvent influencer différemment la synthèse de NO en fonction de l'intensité du traitement. La synthèse de NO est augmentée sous l'action des US avec l'intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$ et diminue suite à l'exposition aux US avec l'intensité de 1 W/cm^2 .

2. Les US avec l'intensité de 1 W/cm^2 ont une efficacité plus réduite sur la défense anti-oxydante non enzymatique, quantifiée par CDH et TAC plasmatique, par rapport aux US de $0,5 \text{ W/cm}^2$.

3. Les US agissent contrairement sur la défense anti-oxydante enzymatique en fonction d'intensité. Les US avec une intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$ majorent l'activité arilesterasique de PON1, et celles avec l'intensité de 1 W/cm^2 la diminuent.

4. Les effets pro-oxydants ne peuvent pas être exclus totalement pour l'intensité de 1 W/cm^2 .

5. L'amélioration de la douleur articulaire évaluée par EVA et la diminution du score WOMAC est supérieure pour les US avec une intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$ par rapport aux US de 1 W/cm^2 .

6. L'efficacité clinique est comparable pour les intensités de $0,5 \text{ W/cm}^2$ et 1 W/cm^2 en ce qui concerne l'amélioration du LI et des sous-scores WOMAC-raideur et WOMAC-fonctionnalité.

Le but de la **troisième étude était de vérifier les effets des US au niveau du cartilage**. L'arthrose a été induite expérimentalement par le sectionnement du ligament croisé antérieur et a été confirmée par des radiographies pour 25 lapins de race commune

qui étaient randomisés dans 5 groupes. Le premier groupe, avec arthrose induite, sans traitement par US, a été sacrifié pour confirmer la lésion arthrosique au niveau du cartilage dans le premier jour de traitement par US pour les groupes traités. Le deuxième groupe, sans traitement, a été sacrifié à la fin de la période de traitement par US pour les trois autres groupes. Ceci a montré que la sévérité des lésions arthrosiques avait la même ancienneté que dans les groupes traités. Les groupes traités ont été exposés aux US à l'intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$, en administration continue, aux US à l'intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$, en administration pulsatile, et aux US à l'intensité de $0,1 \text{ W/cm}^2$, en administration pulsatile, administrées pendant 5 minutes / champ et pendant 10 jours. Les lapins traités ont été sacrifiés après l'arrêt de l'ultrasonothérapie. Les fragments de cartilage ont été examinés au microscope optique après la coloration préalable à hématoxyline-éosine et au microscope électronique en utilisant la technique de la microscopie électronique de transmission (TEM). L'analyse comparative des fragments de cartilage a montré les aspects suivants:

1. Les US d'intensité basse et la fréquence de $850 \pm 5\% \text{ KHz}$ peuvent déterminer la régénération du cartilage dans l'arthrose induite expérimentalement chez le lapin.

2. A la même intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$, les US en administration pulsatile ont une efficacité supérieure aux celles en administration continue en ce qui concerne la capacité de régénération du cartilage arthrosique.

3. C'est possible que les US avec l'intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$, en administration continue et pulsatile, favorisent, dans le cartilage arthrosique, l'apoptose des cellules jeunes qui ont parcouru récemment le cycle de division cellulaire.

4. Les US en administration pulsatile et d'intensité de $0,1 \text{ W/cm}^2$ sont moins efficaces à court terme pour la régénération des lésions au niveau du cartilage par rapport aux US d'intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$.

5. Pour les US en administration pulsatile et d'intensité de $0,1 \text{ W/cm}^2$, TEM a mis en évidence un plus grand nombre de chondrocytes d'aspect normal, un bas nombre d'apoptoses et un nombre réduit de gouttes de graisse par rapport au témoin et aux groupes exposés à l'intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$, aspects qui suggèrent une bonne efficacité à long terme.

6. Le principal mécanisme par lequel les US contribuent à la régénération du cartilage arthrosique dans l'arthrose induite expérimentalement est la majoration de la multiplication des chondrocytes.

En conclusion, l'ultrasonothérapie avec une fréquence de $850 \pm 5\% \text{ KHz}$ et l'intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$, en administration continue, représente une méthode sûre pour les patients arthrosiques, elle n'étant pas accompagnée par la majoration du risque de SO. Chez les patients atteints de gonarthrose, en stade léger ou modéré, dont les mécanismes de défense anti-oxydante ne sont pas épuisés, l'ultrasonothérapie avec une fréquence $850 \pm 5\% \text{ KHz}$ et l'intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$ a des effets antioxydants. Un effet important est la stimulation de la synthèse de NO eNOS, à travers lequel les US exercent une partie des

mécanismes antalgiques, anti-inflammatoires, anti-apoptotiques et antioxydants. L'ultrasonothérapie avec une intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$, en administration continue, est efficace pour soulager la douleur articulaire et améliorer la fonctionnalité articulaire chez les patients atteints de gonarthrose. Les US avec une intensité de 1 W/cm^2 ont une efficacité clinique plus faible par rapport aux US de $0,5 \text{ W/cm}^2$ et n'ont pas l'effet de stimulation de la défense anti-oxydante enzymatique et non-enzymatique. Les US n'induisent pas la synthèse de NO par l'enzyme constitutive, en manquant le cartilage arthrosique de leur effets pour limiter la peroxydation lipidique, un processus crucial dans l'induction du phénotype hypertrophique et de l'apoptose des chondrocytes, mais aussi dans la dégradation de MEC et le changement structural de l'os sous-chondral. Dans l'arthrose induite expérimentalement chez le lapin on a confirmé l'efficacité clinique des US grâce à des changements induits au cartilage où elles ont déterminé la régénération du cartilage arthrosique en multipliant la stimulation intense et l'activité des chondrocytes.

L'exposition aux US a généré des apoptoses parmi les chondrocytes qui se multiplient clonalement, ceci du, le plus probablement, à la vulnérabilité aux US des cellules qui ont subi le cycle de division récemment. A court terme, l'administration pulsatile des US a été plus efficace qu'en continu, et à l'intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$ on a eu des effets supérieurs qu'avec les US de 1 W/cm^2 . Les US de $0,5 \text{ W/cm}^2$ ont été soumis à des études cliniques et expérimentales pour être inclus dans l'arsenal des moyens de thérapie physique utilisé pour traiter les patients arthrosiques. Des études cliniques et expérimentales sont nécessaires à moyen et long terme pour vérifier la persistance des effets induits par ultrasonothérapie, concernant l'amélioration clinique et les phénomènes de réparation du cartilage arthrosique. L'évaluation de l'efficacité clinique des US en administration pulsatile est nécessaire, étant donné sa supériorité en ce qui concerne la régénération du cartilage arthrosique.

La thèse est originale par les réalisations suivantes:

1. On a déterminé pour la première fois l'influence de l'ultrason thérapie sur la balance oxydants / antioxydants et du stress oxydatif chez les patients arthrosiques.
2. On a déterminé pour la première fois l'efficacité clinique des US de $0,5 \text{ W/cm}^2$, en administration continue, chez les patients arthrosiques.
3. On a comparé les effets des US de deux intensités différentes de basse fréquence et on a démontré que les effets cliniques sont différents, et que les effets sur la balance oxydants / antioxydants sont divergents.
4. On a établie la supériorité des US de $0,5 \text{ W/cm}^2$ par rapport aux US de 1 W/cm^2 , dans le sens de l'amélioration de la symptomatologie clinique et la diminution de SO chez les patients arthrosiques.
5. On a réalisé une étude comparative de l'efficacité de l'ultrasonothérapie en administration continue et pulsatile, pour améliorer les lésions d'arthrose induite expérimentalement chez le lapin.
6. On a montré la capacité des US de stimuler la réparation du cartilage arthrosique, avec une efficacité maximale pour l'intensité de $0,5 \text{ W/cm}^2$ en administration continue.

CURRICULUM VITAE

A. Données personnelles:

1. **Nom:** UNGUR

2. **Prénom:** RODICA-ANA

3. **Date et lieu de naissance:** 01.05.1971, Tg.-Lăpuș, Roumanie

4. **Nationalité:** Roumaine

6. **Études:**

Période	1986-1990	1991-1997	1999-2004	2004-2009
Institution:	Lycée Sanitaire de Baia Mare, Roumanie	Université de Médecine et de Pharmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, Faculté de Médecine Générale	Université de Médecine et de Pharmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, Faculté de Médecine Générale	Université de Médecine et de Pharmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, Faculté de Médecine Générale
Titres ou diplômes obtenus:	Diplôme de Baccalauréat	Diplôme de médecin généraliste	Médecin spécialiste, Réadaptation Médicale, Médecine Physique et Balnéologie	Médecin principal, Réadaptation Médicale, Médecine Physique et Balnéologie

7. **Titre scientifique:** doctorant régulier, enregistré le 1^{er} novembre 2006

8. Expérience professionnelle:

Période:	1997-1999	2002- à présent	1999-2004	2004-2009	2009- à présent
Lieu:	Cluj-Napoca	Cluj-Napoca	Cluj-Napoca	Cluj-Napoca	Cluj-Napoca
Institution:	5 ^{ème} Clinique Médicale, Hôpital d'entreprise „Clujana”	U.M.Ph. „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca	U.M.Ph. „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca	Hôpital Clinique de Réadaptation Cluj, Département de Médecine Physique – Réadaptation	Hôpital Clinique de Réadaptation Cluj, Département de Médecine Physique – Réadaptation
Fonction:	Médecin stagiaire	Assistent universitaire, Balnéophysiothérapie et Réadaptation Médicale	Médecin résident	Médecin spécialiste	Médecin principal
Description:	Activité médicale curative et prophylactique	Activité didactique (stages, cours), recherche	Activité médicale curative et prophylactique	Activité médicale curative et prophylactique, études cliniques	Activité médicale curative et prophylactique, études cliniques

9. Lieu de travail actuel et fonction: U.M.Ph. „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, Roumanie, Chaire de Balnéophysio-thérapie et Réadaptation Médicale - *Assistent Universitaire*; Hôpital Clinique de Réadaptation Cluj - *Médecin principal*

10. Continuité au lieu de travail actuel: 11 ans

11. Membre d'associations professionnelles: Société Roumaine de Médecine Physique et Réadaptation

12. Langues étrangères connues: anglais, français

13. Autres compétences: Le Management des Services de Santé, Diplôme No. 26246/20 juillet 2009

14. Spécialisations et qualifications:

Année	Localité/ Pays	Institution	Domaine de spécialisation	Instructeurs directs
2001	Cluj-Napoca/ Roumanie	Université de Médecine et de Pharmacie „Iuliu Hațieganu“, Cluj-Napoca	Actualités en photothérapie et biostimulation laser	Conf. Dr. Liviu Pop
2001	Cluj-Napoca/ Roumanie	Université de Médecine et de Pharmacie „Iuliu Hațieganu“, Cluj-Napoca	Traitement chirurgical et réhabilitation de la main traumatisée et rhumatique	Conf. Dr. Liviu Pop, Prof. Dr. Alexandru Georgescu
2002	Cluj-Napoca/ Roumanie	Université de Médecine et de Pharmacie „Iuliu Hațieganu“ et Centre de Formation en Ultrasonographie, Cluj-Napoca	Écographie musculo-squeletale	Dr. Daniela Fodor
2005	Cluj-Napoca/ Roumanie	Université de Médecine et de Pharmacie „Iuliu Hațieganu“ et Centre de Formation en Ultrasonographie, Cluj-Napoca	Premier Cours International de Chirurgie de la main et récupération postopératoire	Prof. Dr. Alexandru Georgescu
2006	Bucarest/ Roumanie	Société Roumaine de Médecine Physique et de Réadaptation	Symposium roumain-italien de laser thérapie	Conf. Dr. Liviu Pop Conf. Dr. Mihai Berteanu
2008	Cluj-Napoca/ Roumanie	Université de Médecine et de Pharmacie „Iuliu Hațieganu“, Cluj-Napoca	Radioimagerie du genou. Notions fondamentales et actualités	Conf. Dr. Stelian Petcu
2009	Cluj-Napoca/ Roumanie	Ministère de la Santé, Centre National de Perfectionnement dans le Domaine Sanitaire, Bucarest	Le management des services de santé	Catedra de Management, UMF Cluj-Napoca
2011	Cluj-Napoca/ Roumanie	Université de Médecine et de Pharmacie „Iuliu Hațieganu“, Cluj-Napoca, World Federation for Neurorehabilitation, European Federation Neurorehabilitation Societies, The Society of Neuroprotection and Neuroplasticity	Cours d'enseignement européen sur neuro-réhabilitation	Prof. Dr. Volker Homberg, Prof. Dr. Heinrich Binder, Prof. Dr. Dafin Muresanu
2011	Cluj-Napoca/ Roumanie	Le Fond Social Européen POSDRU 2007-2013	Formation pour les nouvelles technologies médicales et perfectionnement des médecins et des assistants médicaux d'ambulatoires de spécialité et hôpitaux pour le vieillissement	Conf. Dr. Luiza Spiru

			du cerveau	
2011	Cluj-Napoca/ Roumanie	Université de Médecine et de Pharmacie „Iuliu Hațieganu“, Cluj-Napoca	Méthodes actuelles de diagnostique et de traitement en ostéoporose	Conf. Dr. Stelian Petcu
2011- 2012	Cluj-Napoca/ Roumanie	Université de Médecine et de Pharmacie „Iuliu Hațieganu“, Cluj-Napoca	Ultrasonographie musculo-squeletale	Conf. Dr. Dana Fodor

15. Participations à des manifestations scientifiques:

- en Roumanie: 21 congrès/conferences nationales
- à l'étranger: 4 congrès internationaux

16. Cours postuniversitaires suivis / tenus: depuis l'année 2000, participation comme collaboratrice à tous les cours postuniversitaires organisés par la Chaire

B. Contributions scientifiques:

Chapitres publiés dans des **volumes collectifs:** **1**

Articles publiés **in extenso** dans des **journaux indexés** dans les bases de données internationales: **1**
(ISI)

Articles publiés **in extenso** dans les **volumes** des manifestations **internationales:** **5**

Articles publiés **in extenso** dans les **journaux** reconnus de circulation **nationale:** **38**

Articles publiés **in extenso** dans les **volumes** des manifestations **nationales:** **2**

Articles publiés **en résumé** dans les **volumes** des manifestations **internationales:** **5**

Bourses obtenues au cours des compétitions: **3**, membre dans le collectif

Trials cliniques: **2**, investigateur

C. Contributions didactiques:

Livres / cours publiés: **1** (co-auteur)